



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Vanessa Meneghini

**Desenvolvimento de nanopartículas biopoliméricas de alginato/quitosana
carregadas com óleos essenciais de alecrim e lavanda**

Florianópolis
2023

Vanessa Meneghini

**Desenvolvimento de nanopartículas biopoliméricas de alginato e quitosana
carregadas com óleos essenciais de alecrim e lavanda**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Profa. Cristiane da Costa, Dra.

Florianópolis

2023

Meneghini, Vanessa

Desenvolvimento de nanopartículas biopoliméricas de alginato e quitosana carregadas com óleos essenciais de alecrim e laVandas~~á~~ Meneghini ; orientadora, Cristiane da Costa, 2023.
104 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Nanoencapsulação. 3. Biopolímeros.
4. Óleos essenciais. I. Costa, Cristiane da. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Vanessa Meneghini

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de alginato e quitosana carregadas com óleo essencial de alecrim e lavanda

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 26 de abril de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

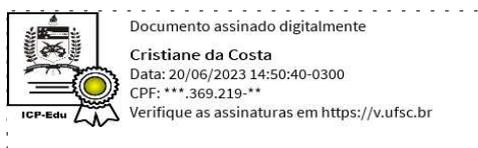
Profa. Andrea Cristiane Krause Bierhalz, Dra.
Instituição UFSC/PGETEX

Prof. Odinei Hess Gonçalves Dr.
Instituição UTFPR/PPGTA

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof.(a) Cristiane da Costa, Dr.(a)
Orientador(a)

Florianópolis, 2023

Este trabalho é dedicado aos meus pais e irmãos pelo apoio, incentivo, suporte e motivação dados à minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas oportunidades, desafios, aprendizagens e portas abertas durante esta jornada.

A minha família, especialmente, meus pais Valdecir e Carmem que sempre me apoiaram com tudo que eu precisava durante a minha vida, me incentivaram a estudar e ir atrás dos meus sonhos. Ao meu irmão Vanderson, que mesmo de longe me acompanhou nessa jornada e as minhas irmãs Vandrize e Viviana por me ouvir em momentos difíceis, puxar minha orelha quando necessário e vibrar com minhas conquistas.

Gostaria de agradecer minha orientadora de pesquisa, Cristiane da Costa, pela sua orientação, apoio e incentivo fundamentais para o sucesso deste trabalho. Agradeço também por sua expertise no tema da pesquisa, precisos feedbacks, apoio emocional e confiança. Serei sempre grata por sua contribuição para o meu crescimento profissional e pessoal.

Aos amigos que contribuíram direta ou indiretamente na minha formação, em especial Dayane, Anielle e Andrieli pelo apoio emocional. Quero também destacar meus colegas de laboratório Ígor, Jaqueline e Felipe, pela troca de conhecimento, apoio nos momentos difíceis e parceria durante o trabalho.

Agradeço aos meus colegas de trabalho da S3nano, especialmente Gilmar, Letícia e Douglas pelo apoio nesta fase final da dissertação e pela troca de conhecimento.

Agradecimento a Estela Nunes, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves onde realizei meu estágio na graduação, por ter me encorajado a ingressar no mestrado. Saiba que te admiro desde o nosso primeiro dia de trabalho e você foi parte essencial dessa trajetória.

Sou grato à Universidade Federal de Santa Catarina por me acolher desde 2015 e por ter proporcionado as condições necessárias para a realização deste trabalho. Estudar nesta renomada instituição de ensino me permitiu acesso ao conhecimento de alta qualidade, contato com professores e colegas de diversas áreas e desenvolvimento de habilidades acadêmicas e profissionais, contribuindo significativamente para o meu crescimento e desenvolvimento como pessoa e pesquisadora.

Agradeço aos membros da banca examinadora, pelo interesse e disponibilidade.

Agradecimento ao LCP, LINDEN, LATESC, LCME e CAEQA pela contribuição nas análises realizadas neste trabalho.

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Os óleos essenciais são compostos bioativos que possuem grande importância para a indústria devido às suas atividades biológicas. O óleo essencial de alecrim (OEA) apresenta propriedades antioxidantes e cicatrizantes enquanto o óleo essencial de lavanda (OEL) é conhecido por suas propriedades calmantes e relaxantes, além do uso para queimaduras e cicatrização de feridas. No entanto, muitos de seus componentes apresentam alta volatilidade e instabilidade química. Assim, o encapsulamento é uma estratégia desejável para protegê-los e melhorar sua eficácia. A gelificação iônica tem se destacado por ser uma abordagem baseada na interação entre cargas opostas de um polímero e contra-íons de um agente de reticulação. Neste estudo, nanopartículas de alginato (ALG) foram preparadas usando cloreto de cálcio como agente de reticulação para encapsular OEA e OEL. Para melhorar a barreira de proteção das nanopartículas, quitosana (CS) foi adicionada como uma segunda camada, formando um complexo polieletrólítico, e os sistemas foram comparados. Foram obtidas nanopartículas na faixa de 130 a 220 nm com distribuição de tamanho homogênea ($PDI < 0,35$). As dispersões de nanopartículas contendo ALG/CS alcançaram uma eficiência de encapsulamento de 82-85%, enquanto as dispersões contendo apenas ALG apresentaram uma eficiência de encapsulamento de 78-80% para ambos os óleos essenciais. Dessa forma, a quitosana contribuiu para melhor resistência do material de parede. Análises de FTIR e DSC confirmaram a encapsulação dos óleos essenciais nas nanopartículas biopoliméricas. As micrografias obtidas por TEM revelaram que a maioria das nanopartículas tem formato irregular e aparecem em estado agregado, um fenômeno comum em sistemas com biopolímeros. A estabilidade das nanopartículas avaliada por LUMiSizer sugere que as nanopartículas produzidas têm ótima estabilidade, com um tempo de vida de prateleira de pelo menos 90 dias e baixo índice de separação de fases. Assim, considerando as propriedades dos óleos essenciais encapsulados e as características das nanopartículas desenvolvidas, os sistemas carreadores desenvolvidos e avaliados neste estudo apresentam um alto potencial para aplicação nos setores têxtil, cosmético e alimentício.

Palavras-chave: nanoencapsulação; óleos essenciais; biopolímeros

ABSTRACT

Essential oils are bioactive compounds that are of great importance to the industry, especially in the food, textile, and cosmetic areas, due to their biological activities. For example, rosemary essential oil (REO) has antioxidant, stimulating, and healing properties, while lavender essential oil (LEO) is known for its calming and relaxing properties, as well as its use for burns and wound healing. However, many of their components have high volatility and chemical instability. Therefore, encapsulation is a desirable strategy to protect them and improve their effectiveness. Ionic gelation has stood out as an approach based on the interaction between opposite charges of a polymer and counterions of a crosslinking agent. In this study, alginate (ALG) nanoparticles were prepared using calcium chloride as a crosslinking agent to encapsulate REO and LEO. To improve encapsulation efficiency, chitosan (CS) was added as a second layer, forming a polyelectrolyte complex, and the systems were compared. Nanoparticles ranging from 130 to 220 nm with a homogeneous size distribution ($PDI < 0.35$) were obtained. The ALG/CS carrier systems showed higher encapsulation efficiency (82-85%) compared to systems containing only ALG (78-80%) for both essential oils. Thus, chitosan contributed to better wall material resistance. FTIR and DSC analyses confirmed the encapsulation of essential oils in biopolymeric nanoparticles. TEM micrographs revealed that most nanoparticles have an irregular shape and appear in an aggregated state, a common phenomenon in systems with biopolymers. The stability of the nanoparticles evaluated by LUMiSizer suggests that the produced nanoparticles have excellent stability, with a shelf life of at least 90 days and a low phase separation index. Therefore, considering the properties of encapsulated essential oils and the characteristics of the developed nanoparticles, the carrier systems developed and evaluated in this study have great potential for application in the textile, cosmetic, and food sectors.

Keywords: nanoencapsulation; essential oils; biopolymers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama esquemático da preparação das nanopartículas via gelificação iônica.....	26
Figura 2 – Representação do modelo “caixa de ovos” na gelificação do alginato de cálcio”	29
Figura 3 – Representação esquemática da estrutura química da quitosana.....	30
Figura 4 – Ilustração do procedimento experimental empregado para a preparação das nanopartículas.....	37
Figura 5 – Ilustração das dispersões de nanopartículas preparadas.....	38
Figura 6 – Ilustração do método de ultracentrifugação.....	40
Figura 7 – Dispersão de nanopartículas obtida através da metodologia de emulsificação/ gelificação iônica com complexação de polieletrólitos.....	49
Figura 8 – Diâmetro médio das dispersões de nanopartículas.....	50
Figura 9 – Índice de polidispersão das dispersões de nanopartículas.....	52
Figura 10 – Micrografias TEM das dispersões de nanopartículas.....	53
Figura 11 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato e óleo essencial de alecrim.....	56
Figura 12 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato e óleo essencial de lavanda.....	59
Figura 13 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato, quitosana e óleo essencial de alecrim.....	61
Figura 14 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato, quitosana e óleo essencial de lavanda.....	63
Figura 15 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato e óleo essencial de alecrim.....	65
Figura 16 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato e óleo essencial de lavanda.....	67
Figura 17 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato, quitosana e óleo essencial de alecrim.....	68
Figura 18 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato, quitosana e óleo essencial de lavanda.....	70
Figura 19 – Curva padrão para quantificação do teor de óleo essencial de alecrim	72

Figura 20 – Curva padrão para quantificação do teor de óleo essencial de lavanda.	73
Figura 21 – Eficiência de encapsulação das dispersões de nanopartículas.....	73
Figura 22 – Potencial zeta das dispersões de nanopartículas.....	76
Figura 23 – Estabilidade física das dispersões de nanopartículas em função do tempo a 25°C em termos de diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e eficiência de encapsulação.....	79
Figura 24 – Estrutura química dos principais componentes presentes no óleo essencial de alecrim.....	83
Figura 25 – Estrutura química dos principais componentes presentes no óleo essencial de lavanda.....	84
Figura 26 – Gráficos de impressão digital para as dispersões de nanopartículas.....	86
Figura 27 – Índice de instabilidade para os sistemas carreadores.	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estado da arte do encapsulamento dos óleos essenciais de alecrim e lavanda.....	22
Tabela 2 – Encapsulação de óleos essenciais em nanopartículas de alginato/quitosana por gelificação iônica.....	33
Tabela 3 – Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes tempos de sonicação para cada etapa de preparação das nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim.....	45
Tabela 4 – Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes concentrações de Tween 80 e CaCl ₂ para preparação das nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim.....	46
Tabela 5 – Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes amplitudes no dispersor ultrassônico para preparação das nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim.....	48
Tabela 6 – Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes tempos de sonicação para incorporação da quitosana nas nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim.....	49
Tabela 7 – Comparação dos valores de diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e eficiência de encapsulação de acordo com o tempo e os grupos....	81

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	18
3.2	ENCAPSULAÇÃO.....	20
3.3	GELIFICAÇÃO IÔNICA.....	24
3.3.1	<i>Alginato de sódio</i>	28
3.3.2	<i>Quitosana</i>	30
3.4	COMPLEXAÇÃO DE POLIELETRÓLITOS.....	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	MATERIAIS.....	35
4.2	METODOLOGIA PARA PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	35
4.2.1	<i>Testes iniciais</i>	35
4.2.2	<i>Preparo das nanopartículas</i>	38
4.3	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	39
4.3.1	<i>Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão</i>	39
4.3.2	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão</i>	39
4.3.3	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier	39
4.3.4	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial</i>	40
4.3.5	<i>Eficiência de encapsulação</i>	40
4.3.6	<i>Potencial zeta</i>	41
4.3.7	<i>Estabilidade física das dispersões de nanopartículas</i>	42
4.3.8	<i>Análise estatística</i>	42
4.3.9	<i>Estabilidade acelerada das dispersões de nanopartículas</i>	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E PREPARO DAS NANOPARTÍCULAS.....	45
5.2	DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS E ÍNDICE DE POLIDISPERSIDADE.....	50
5.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO.....	53

5.4	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	55
5.5	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA.....	64
5.6	EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO.....	72
5.7	POTENCIAL ZETA.....	75
5.8	ESTABILIDADE FÍSICA DAS DISPERSÕES DE NANOPARTÍCULAS.....	78
5.9	ESTABILIDADE ACELERADA DAS DISPERSÕES DE NANOPARTÍCULAS.....	85
6	CONCLUSÃO.....	89
	REFERÊNCIAS.....	90

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são constituídos por uma mistura complexa de substâncias e apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. O óleo essencial de alecrim tem diversas atividades biológicas, tais como propriedades antioxidantes, estimulantes, cicatrizantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e antitumorais. Por outro lado, o óleo essencial de lavanda é conhecido principalmente por suas propriedades calmantes e relaxantes, que podem ajudar a aliviar o estresse e a ansiedade, além de possuir ação analgésica, anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana. O óleo essencial de lavanda também é utilizado na indústria cosmética e dermatológica devido às suas propriedades cicatrizantes e regenerativas, podendo ser aplicado no tratamento de queimaduras e feridas (CUTILLAS et al, 2018; DA SILVA et al 2015; NEJATI et al, 2015; SAMUELSON et al, 2020; WELLS et al, 2018).

No entanto, devido à alta volatilidade e instabilidade na presença de oxigênio, luz e temperatura, a utilização dos óleos essenciais se torna limitada. A encapsulação é uma alternativa para superar essas limitações, proporcionando isolamento, aprisionamento e proteção dos ativos. As nanopartículas são capazes de proteger os óleos essenciais da degradação durante o armazenamento e transporte, bem como aumentar sua estabilidade e prolongar sua vida útil. Além disso, as nanopartículas podem ser projetadas para liberar os óleos essenciais de forma controlada e gradual, o que melhora sua eficácia e reduz possíveis efeitos colaterais (DESAI e JIN PARK, 2005; TAVARES et al, 2021).

O método de gelificação iônica é uma técnica de encapsulamento de ativos que envolve a formação de um gel por meio da interação entre íons positivos e negativos presentes em soluções aquosas. Esse método é amplamente utilizado na indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética para proteger, estabilizar e controlar a liberação de ingredientes ativos. É uma estratégia interessante para a encapsulação de óleos essenciais, pois o processo é mais brando, sem uso de solventes orgânicos e altas temperaturas, além de ser ambientalmente amigável (HU et al, 2021; JAVVAJI et al, 2011).

Alginato de sódio é um polímero amplamente utilizado na gelificação iônica devido à sua capacidade de formar géis fortes e estáveis em presença de íons de cálcio. A rede de hidrogel formada pelo método de gelificação iônica pode ser

aprimorada pela adição de outro polieletrólito de carga oposta às esferas de hidrogel, obtidas pelo mesmo método. Adicionando policátions, por exemplo, é possível formar uma membrana de complexo polieletrólito na superfície das partículas de alginato. A forte interação eletrostática dos grupos amina da quitosana com os grupos carboxila do alginato leva à formação do complexo quitosana-alginato (MOTWANI et al, 2008).

Ao utilizar diferentes formulações com sistemas de nanopartículas revestidas com alginato de cálcio e uma segunda camada de quitosana, é possível comparar a eficiência de encapsulação de cada sistema e escolher a formulação mais adequada para cada aplicação específica. A caracterização das nanopartículas é fundamental para avaliar a qualidade do produto final, incluindo tamanho de partícula, polidispersão, potencial zeta, análises de espectroscopia de infravermelho e calorimetria de varredura diferencial, morfologia e estabilidade física por tempo de armazenamento e estabilidade acelerada.

A combinação de alginato e quitosana é amplamente estudada na literatura. Porém, atualmente, há uma carência de estudos que abordem a nanoencapsulação de óleos essenciais utilizando alginato e quitosana por meio da técnica de gelificação iônica. No contexto de alimentos, filmes compostos por esses biopolímeros são mais frequentemente utilizados. Além disso, na literatura também existem estudos que relatam a encapsulação de óleo essencial em nanopartículas compostas apenas por quitosana ou alginato, bem como a combinação desses materiais com outros polímeros naturais ou reticulantes.

A principal motivação deste trabalho foi desenvolver nanocápsulas biopoliméricas com óleos essenciais em seu interior na tentativa de aumentar as propriedades bioativas derivadas dos óleos essenciais de alecrim e lavanda. Essas nanocápsulas podem ser impregnadas em tecidos, principalmente os que entram em contato com a pele. A indústria alimentícia também poderia se beneficiar dessa tecnologia devido à atividade antioxidante presente nesses óleos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho visa o desenvolvimento e caracterização de nanopartículas biopoliméricas de alginato e quitosana para encapsulamento dos óleos essenciais de alecrim e lavanda.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Desenvolver estratégias experimentais para a obtenção de nanopartículas de alginato e alginato/quitosana para encapsulamento dos óleos essenciais de alecrim e lavanda e caracterizá-las quanto ao tamanho de partícula, polidispersão, potencial zeta;
- II. Avaliar o tamanho e morfologia das nanopartículas através da micrografia TEM;
- III. Avaliar a interação entre os polímeros nas nanopartículas através de técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e calorimetria exploratória diferencial (DSC);
- IV. Avaliar a eficiência de encapsulação de cada sistema de nanopartículas desenvolvido através da quantificação dos óleos essenciais por espectroscopia UV-Vis;
- V. Realizar estudo de estabilidade física e acelerada das dispersões de nanopartículas;
- VI. Determina a atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim por DPPH.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Nos últimos anos, a tecnologia de encapsulamento vem avançando e encontrando seu caminho em vários campos industriais, protegendo substâncias de efeitos nocivos que levam à perda de função. Os óleos essenciais, por exemplo, são compostos com atividades biológicas importantes que apresentam sensibilidade a condições ambientais. Os benefícios adicionais do encapsulamento incluem prolongar a vida útil e promover a liberação controlada do material encapsulado (SILVA et al, 2014).

Diferentes materiais de encapsulamento tem sido objeto de pesquisas e aplicações em nível industrial, incluindo produtos farmacêuticos, cosméticos, produtos de limpeza, tecnologia, têxteis e alimentos. Inicialmente, a pesquisa é voltada para a otimização das condições de formação de micro e nanopartículas, seguida da caracterização, liberação, armazenamento e testes de aplicação em produtos. Além disso, o desenvolvimento de formulações naturais está se tornando mais importante à medida que os consumidores se tornam mais conscientes da sustentabilidade ambiental e buscam ativamente produtos à base de plantas e ingredientes naturais (BARROSO et al, 2021).

3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) são líquidos voláteis e hidrofóbicos extraídos de diferentes partes das plantas por vapor, hidrodestilação, entre outras técnicas (PEJIN et al, 2011). Esses compostos são metabólitos secundários produzidos como estratégia de adaptação da planta. Alguns regeneram plantas, outros afastam predadores ou atraem polinizadores, e existem compostos que auxiliam na adaptação ao calor. Como produtos naturais, possuem propriedades físico-químicas interessantes e com alto valor agregado.

Devido à sua composição química complexa, geralmente composta por mais de 100 terpenóides diferentes, os óleos essenciais possuem uma ampla gama de atividades biológicas que incluem atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antisséptica. Geralmente são representados por um componente principal ou proporções iguais de diferentes compostos. Podem proporcionar benefícios para a saúde e bem-estar físico e emocional por meio da aromaterapia

(RAMSEY et al, 2020; LIZARRAGA-VALDERRAMA, 2021). Podem acalmar, estimular, conservar alimentos, cicatrizar, desinfetar e até atuar como inseticida, fungicida, bactericida e repelente (BASER e BUCHBAUER, 2009; EL ASBAHANI et al, 2015; PLATI E PARASKEVOPOULOU, 2022; SHARMEEN et al, 2021).

Foi demonstrado que vários critérios afetam essa combinação. Plantas com o mesmo nome botânico (mesmo gênero e espécie) podem ter composições químicas diversas (SOILHI et al, 2019). A composição também pode variar dependendo do órgão vegetal do qual foi extraído (SOILHI et al, 2019), da composição do solo, a exposição, o clima, as práticas de cultivo, a precipitação e a presença de insetos ou outros estresses bióticos e abióticos (ALVES BORGES LEAL et al, 2022; CARVALHO FILHO et al, 2006).

Rosmarinus officinalis L., comumente conhecido como alecrim, pertence à família *Lamiaceae*. Sua capacidade antioxidante foi avaliada por meio de um estudo que mostrou a capacidade de absorção de radicais de oxigênio por β -pineno, limoneno, γ -terpineno, linalol, terpin-4-ol, α -terpineol e β -cariofileno (BORGES et al, 2019; CUTILLAS et al, 2018). Nejati et al (2015) mostraram que *Rosmarinus officinalis* L. aceleraram o processo de cicatrização em feridas infectadas. A atividade cicatrizante de *Rosmarinus* se deve às suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes.

Calabrese et al (2000) forneceram evidências de que um extrato alcoólico de folhas de alecrim é dotado de forte atividade antioxidante e, avaliado por sistemas *in vitro* e *in vivo*, é capaz de inibir alterações oxidativas nos lipídios da superfície da pele. Os extratos de alecrim e cítricos foram capazes de melhorar a proteção celular contra os raios UV (PÉREZ-SÁNCHEZ et al, 2014) e reduziu os danos à pele causados pelo sol (MARTIN et al, 2008).

Lavandula angustifolia também é uma espécie de planta da família *Lamiaceae*. Seus óleos essenciais são compostos majoritariamente por linalol e o acetato de linalila (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2002). Os óleos essenciais de lavanda têm implicações psicológicas notáveis com efeitos positivos no estresse, ansiedade, depressão, relaxamento e função neurológica (WELLS et al, 2018). Também provou ter grandes efeitos benéficos em feridas (SAMUELSON et al, 2020). Mori e colaboradores demonstraram que a aplicação tópica deste OE em camundongos feridos causou um fechamento mais rápido da lesão em comparação aos grupos não tratados e controle, sugerindo seu

uso potencial nos estágios iniciais da regeneração tecidual (MORI et al, 2016). Silva e colaboradores analisaram a atividade antioxidante do óleo essencial e do extrato de lavanda, indicando que a atividade antioxidante é dose-dependente, com pico de atividade associado à concentração de 150, 120 e 100 mg mL⁻¹ (DA SILVA et al, 2015).

Apesar dos benefícios, o desenvolvimento de formulações aquosas líquidas com óleos essenciais ainda é um desafio. Eles são geralmente insolúveis em água ou pouco solúveis, bem como propensos à degradação após exposição a altas temperaturas, oxigênio e luz. Dessa forma, pode haver dificuldades de manuseio, formulação e armazenamento. Nesse contexto, a micro e nanoencapsulação desses compostos voláteis é desejável para melhorar sua estabilidade em termos de aumento da vida útil e proteção contra fatores ambientais (DE MATOS et al, 2019; PAVONI et al, 2020).

3.2 ENCAPSULAÇÃO

O encapsulamento é um processo de transporte que envolve a construção de uma casca ou parede que aprisiona o composto ativo em uma cápsula (MAJEED et al, 2015). O sistema resultante é tipicamente uma dispersão de partículas contendo o material ativo em seu interior (STEINER et al, 2018). Com o uso da tecnologia de encapsulamento, é possível introduzir inovação, propriedades funcionais e, conseqüentemente, adicionar valor aos produtos (VALDÉS et al, 2018).

As tecnologias de encapsulamento são aplicadas com diversos objetivos, tais como: (a) reduzir ou retardar a evaporação ou a taxa de transferência do componente ativo para o ambiente externo; (b) preservar as características físico-químicas do material do núcleo e da parede da cápsula; (c) controlar a entrega e a liberação do material do núcleo; (d) mascarar sabores, aromas e outros aspectos desagradáveis do material do núcleo; (e) separar componentes dentro de uma mistura e evitar reações indesejadas; e (f) facilitar o manuseio durante a preparação da formulação, transporte e armazenamento (DESAI et al, 2005; TAVARES et al, 2021).

Com o intuito de prolongar a vida útil e atividades biológicas dos óleos essenciais, muitos métodos de encapsulamento têm sido desenvolvidos nos últimos anos. Existem diversas técnicas de encapsulamento que podem ser utilizadas para

óleos essenciais, cada uma com suas vantagens e desvantagens (EL ASBAHANI et al, 2015; MARTINS et al, 2014; ZHU et al, 2021). Algumas das técnicas mais comuns são:

- I. Gelificação iônica: técnica que utiliza a formação de ligações iônicas entre polímeros e íons para encapsular os óleos essenciais.
- II. Coacervação: técnica que utiliza a formação de duas fases líquidas imiscíveis, onde uma delas contém o óleo essencial, e a outra é composta por polímeros que formam uma película ao redor da fase contendo o óleo.
- III. *Spray drying*: técnica que utiliza um sistema de atomização para pulverizar uma solução de polímero contendo o óleo essencial, formando partículas secas e encapsuladas.
- IV. Lipossomas: técnica que utiliza a formação de vesículas lipídicas para encapsular o óleo essencial.
- V. Emulsificação: envolve a mistura de dois líquidos imiscíveis - geralmente uma fase oleosa e uma fase aquosa - com a ajuda de um agente emulsificante, formando uma emulsão estável. No caso de óleos essenciais, a fase oleosa é o óleo essencial puro ou diluído em um solvente, e a fase aquosa pode ser água ou outra solução aquosa.
- VI. Nanoprecipitação: também conhecida como deslocamento de solvente, é uma técnica de fabricação de nanopartículas que envolve a precipitação de um soluto a partir de uma solução em um solvente miscível em outro líquido imiscível.
- VII. Polimerização em miniemulsão: é uma técnica de síntese de polímeros que ocorre em uma emulsão de tamanho muito pequeno. Nesta técnica o monômero é disperso em uma mistura de água e um tensoativo, formando pequenas gotículas emulsionadas. Em seguida, é adicionado um iniciador de polimerização, que inicia a reação de polimerização dentro das gotículas.

Na Tabela 1 são apresentados os diferentes materiais e técnicas empregadas na encapsulação dos óleos essenciais de alecrim e lavanda.

Tabela 1 – Estado da arte do encapsulamento dos óleos essenciais de alecrim e lavanda.

Material de parede	Técnica de encapsulamento	Aplicação	Referência
Alecrim			
Goma arábica, maltodextrina e amido	<i>Spray drying</i>	Preservar o sabor em alimentos	(DE BARROS FERNANDES et al, 2014)
Amido de milho com alto teor de amilose	Ultrassonicação	Antibacteriano	(AMANI et al, 2021)
Policaprolactona	Nanoprecipitação	Multifuncional	(EPHREM et al, 2014)
B-ciclodextrina	Co-precipitação	Antibacteriano	(HALAHLAH et al, 2021)
Etilcelulose	Separação de fase	Têxteis multifuncionais	(VONCINA et al, 2009)
Melamina-formaldeído	Polimerização in situ	Têxtil perfumado	(GOLJA et al, 2013)
Quitosana-gelatina	<i>Spray drying</i>	Têxteis multifuncionais	(SINGH e SHEIKH, 2022)
Lavanda			
Quitosana	Polimerização em emulsão	Couro perfumado	(VELMRUGAN et al, 2017)

Poliacrilonitrila	Eletrofiação	Antibacteriano	(BALASUBRAMANIAN e KODAM, 2014)
Gelatina e goma arábica	Coacervação	Papel perfumado	(RUNGWASANTISUK e RAIBHU, 2020)
B-ciclodextrina, alginato e quitosana	Ultrassonicação	Têxteis multifuncionais	(ZHANG et al, 2020a)
Poli(óxido de etileno)-b-poli(ácido láctico)	Nanoprecipitação e deslocamento de solvente	Multifuncional	(POPIOLSKI et al, 2016)
Hidroxipropil- β -ciclodextrina	Ultrassonicação	Antibacteriano	(YUAN et al, 2019)
Goma acácia, caseinato de sódio, gelatina, quitosana, β -ciclodextrina e álcool polivinílico	<i>Spray-drying</i>	Indústria alimentícia e farmacêutica	ZHANG et al, 2020b
Poliuretano	Emulsificação com inversão de fase	Agricultura e têxteis funcionais	(CUI et al, 2018)
Alginato e caseína	Emulsificação/ Gelificação iônica	Aroma	(DENG et al, 2020)

Observa-se, por meio da Tabela 1, que existem diversos materiais que podem ser empregados na encapsulação de óleos, tanto polímeros sintéticos quanto naturais, utilizando-se técnicas como polimerização, emulsão e sonicação. Ademais, essa tecnologia é amplamente utilizada em indústrias alimentícias e têxteis, mas também encontra aplicação nos setores farmacêutico e agropecuário.

Cada uma dessas técnicas pode ser aplicada para obter diferentes tamanhos de partícula, eficiências de encapsulamento e morfologias, o que pode afetar o mecanismo de liberação e, portanto, a eficácia do sistema de entrega. É importante considerar a natureza do material do núcleo, do material da parede e do mecanismo de liberação desejado. A disponibilidade de equipamentos em laboratório também é um fator crucial para escolha da técnica de encapsulamento (EL ASBAHANI et al, 2015).

A gelificação iônica é uma técnica de encapsulação de ativos que utiliza polímeros naturais, como o alginato de sódio, para formar uma matriz gelatinosa ao redor dos compostos ativos, como óleos essenciais. Essa técnica é realizada em condições suaves, sem o uso de solventes orgânicos e altas temperaturas, o que a torna mais ambientalmente amigável do que outras técnicas de encapsulação (HU et al, 2021).

3.3 GELIFICAÇÃO IÔNICA

O método de gelificação iônica é uma técnica de encapsulamento de ativos que envolve a formação de um gel por meio da interação entre íons positivos e negativos presentes em soluções aquosas. Esse método é amplamente utilizado na indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética para proteger, estabilizar e controlar a liberação de ingredientes ativos (HU et al, 2021; JAVVAJI et al, 2011).

Dessa forma, o processo de gelificação iônica geralmente envolve três etapas principais: (i) dissolução do polímero carregado positivamente em uma solução aquosa; (ii) interação do agente de reticulação com os grupos carboxila do polímero dissolvido formando ligações iônicas e assim criando a estrutura de gel; e (iii) adição do ativo a ser encapsulado a solução contendo o gel que vai ser aprisionado dentro da matriz. O resultado é um material gelatinoso que contém o ativo encapsulado dentro dele. A estrutura do gel permite controlar a liberação do ativo, uma vez que a taxa de liberação é determinada pela taxa de dissolução do gel (SZABÓ et al, 2020).

Entretanto, existem variações dessa técnica e a ordem das etapas pode ser alterada. Uma delas é usar a emulsificação em conjunto com a gelificação iônica em algumas aplicações (NORCINO et al, 2022; WISSAM e SAMER, 2019). Na encapsulação de ativos, a emulsificação pode ser usada para dispersar um líquido

hidrofóbico, como um óleo, em uma solução hidrofílica contendo um polímero (emulsão óleo/água). O líquido hidrofóbico pode ser usado para encapsular o ativo, enquanto a solução hidrofílica contendo o polímero pode ser usada para formar a matriz de gel. Após a emulsificação, a solução é submetida ao processo de gelificação iônica, resultando na formação de um gel contendo as gotículas do líquido hidrofóbico e o ativo encapsulado dentro delas (KUROZAWA et al, 2017; MCCLEMENTS, 2004; TORRES et al, 2016).

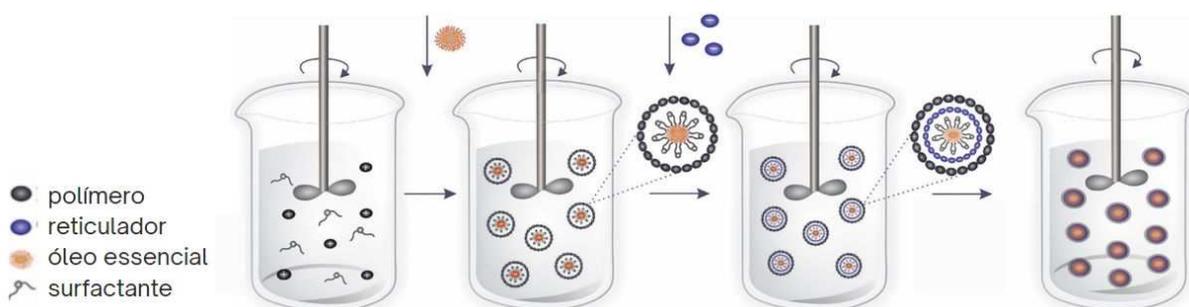
Além disso, existem dois tipos de gelificação iônica: a interna e a externa. A principal diferença entre elas é a localização da formação da rede polimérica. Na gelificação iônica interna, os íons responsáveis pela formação do gel estão presentes no interior das partículas, como em micelas ou partículas coloidais. Quando as cargas dos íons opostos são suficientemente próximas, eles se atraem e formam ligações iônicas, o que resulta na formação do gel. Já na gelificação iônica externa, os íons responsáveis pela formação do gel são adicionados externamente à solução. À medida que as cargas dos íons opostos se aproximam, eles se atraem e formam ligações iônicas, o que resulta na formação do gel (HOSSENI et al, 2013a; KUROZAWA e HUBINGER, 2017).

Algumas vantagens da gelificação iônica em relação a outras técnicas de encapsulamento para óleos essenciais incluem: (i) baixa temperatura de processo, pois pode ser realizada em temperatura ambiente ou em temperaturas moderadas, reduzindo o risco de degradação térmica dos óleos essenciais; (ii) ausência de solventes orgânicos, uma vez que utiliza água como solvente na maioria dos casos (algumas metodologias empregam solventes orgânicos para solubilizar o composto ativo e depois removem por evaporação); (iii) alta eficiência de encapsulamento, garantindo sua proteção e liberação controlada; (iv) controle das propriedades do gel encapsulante, tais como a viscosidade, a estabilidade e a capacidade de retenção de água, para atender às necessidades específicas da aplicação; (v) versatilidade, pois pode ser aplicada em diferentes materiais, incluindo polieletrólitos naturais e sintéticos, o que amplia o leque de possibilidades para a encapsulação de óleos essenciais (KUROZAWA e HUBINGER, 2017; PATIL et al, 2010).

No entanto, assim como outras técnicas de encapsulamento, a gelificação iônica apresenta algumas limitações, como a complexidade do processo e a sensibilidade das condições de preparação do gel encapsulante, o que pode afetar a uniformidade e a qualidade das partículas encapsuladas.

A Figura 1 mostra um diagrama esquemático da técnica de encapsulação por gelificação iônica externa. A solução contém um polímero e um surfactante em água, e um óleo essencial é adicionado como ativo. As cápsulas são criadas com o óleo essencial formando o núcleo, estabilizado pelo surfactante, enquanto o polímero forma a casca externa da cápsula. Finalmente, um agente reticulante é adicionado para formar uma rede tridimensional de gel, constituindo o material da casca da cápsula.

Figura 1 - Diagrama esquemático da preparação das nanopartículas via gelificação iônica.



Fonte: Adaptado de Valle et al (2021).

A sonicação é uma técnica amplamente utilizada na emulsificação e gelificação iônica. Na emulsificação, a sonicação é usada para produzir emulsões mais finas e estáveis, pois é capaz de quebrar as gotículas maiores de líquidos em gotículas menores, dispersando-as de maneira homogênea. Além disso, a sonicação também pode ajudar a diminuir a tensão superficial, permitindo que a emulsão permaneça estável por mais tempo (WANG et al, 2008).

Já na gelificação iônica, a sonicação pode ser usada para melhorar a homogeneidade e estabilidade da rede gelificada formada. A técnica pode ser utilizada para misturar os componentes da gelificação de maneira mais eficiente e uniforme, permitindo que as partículas de gel formem uma rede mais coesa. A sonicação também pode ajudar a acelerar o processo de gelificação, permitindo que a rede se forme mais rapidamente. No entanto, a sonicação excessiva pode levar à quebra da rede gelificada, prejudicando a estabilidade da gelificação, tornando essencial o estudo desse parâmetro durante a preparação das nanocápsulas (CIRO et al, 2019).

Na gelificação iônica, a estrutura formada dependerá do tipo de polímero utilizado e das condições de gelificação, além da aplicação desejada. Existem três tipos principais de estruturas que podem ser formadas: filamentos são formados quando o gel é extrudado através de uma agulha para criar estruturas em 3D, como esferas ou formas complexas (MARUYAMA et al, 1981); e os filmes são camadas finas de gel que podem ser aplicadas sobre superfícies para liberar ativos de forma controlada, por exemplo, em tratamentos de feridas ou cosméticos (AGUILAR et al, 2015).

Outra estrutura formada são as cápsulas que podem ser classificadas em duas categorias principais: as cápsulas de sistema do tipo reservatório e as cápsulas de sistema matricial. As cápsulas de sistema do tipo reservatório são as "verdadeiras cápsulas". Nesse tipo de cápsula, o núcleo (ou seja, o material encapsulado) é nitidamente concentrado na região central da cápsula, cercado por uma parede definida e contínua do material de parede. Esse tipo de cápsula é frequentemente usado em aplicações farmacêuticas, onde é necessário controlar a liberação de um fármaco. As cápsulas de sistema matricial são chamadas de microesferas ou micropartículas. Nesse tipo de cápsula, o núcleo é totalmente disperso em uma matriz, na qual uma pequena fração do material encapsulado permanece exposta na superfície. Esse tipo de cápsula é frequentemente usado em aplicações de liberação prolongada de fármacos (CORRÊA-FILHO et al, 2019; KIM et al, 2017).

Cápsulas também são classificadas de acordo com o tamanho, podendo ser macro ($> 1\text{mm}$), micro (entre $1\ \mu\text{m}$ e $1000\ \mu\text{m}$) ou nanocápsulas ($< 1\ \mu\text{m}$). A classificação das cápsulas por tamanho é importante porque o tamanho pode afetar a eficácia e a funcionalidade das cápsulas em diferentes aplicações. Por exemplo, cápsulas de tamanho nano podem ser mais eficazes em atravessar as barreiras biológicas do corpo humano, enquanto cápsulas de tamanho micro podem ser mais adequadas para liberação controlada de medicamentos em um determinado local do corpo (CONTRI et al, 2016; VALENTA e AUNER, 2004).

A gelificação iônica é uma técnica versátil que pode ser utilizada com uma ampla variedade de polímeros e agentes de reticulação. Pectina, goma arábica e carragena são polissacarídeos naturais bastante utilizados em aplicações alimentícias como espessante e estabilizante. Além desses, alginato de sódio é um

polímero amplamente utilizado na gelificação iônica devido à sua capacidade de formar géis fortes e estáveis em presença de íons de cálcio (WURM et al, 2020).

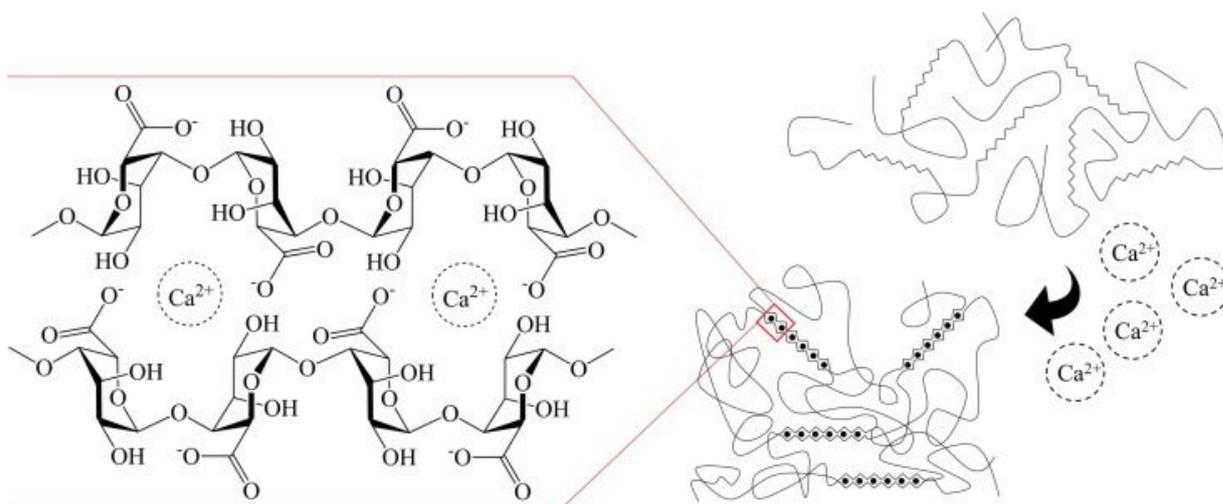
3.3.1 Alginato de sódio

O alginato de sódio é um polissacarídeo natural obtido a partir de algas marinhas marrons e certas espécies de bactérias e tem se mostrado altamente promissor devido à sua natureza não tóxica, biodegradável e biocompatível. Solúvel em água, é um sal de sódio do ácido algínico e um polímero linear composto por resíduos de ácido β -D-manurônico (M) e α -D-glurônico (G) ligados em 1,4 em proporções e arranjos variados.

As características físico-químicas do alginato de sódio dependem muito da sequência de composição monomérica, peso molecular e grupos funcionais ligados. Contêm muitos grupos hidroxilas (-OH) e carboxila (-COOH) livres, permitindo que eles formem ligações de hidrogênio intramoleculares. Além disso, suas cadeias são compostas por unidades de ácido manurônico e gulurônico cujos valores de pKa são publicados como 3,38 e 3,65, respectivamente. Dessa forma, geralmente precipitam abaixo de pH 3,6 à temperatura ambiente (SIMSEK-EGE et al, 2003).

Em solução aquosa, o alginato de sódio forma um gel na presença de cátions bivalentes, como o cálcio, formando ligações cruzadas e criando uma rede tridimensional. O modelo “*egg-box*” ou caixa de ovos, descrito inicialmente por Grant et al. (1973), explica essa junção pela intercalação dos blocos G do alginato, como mostra a Figura 2.

Figura 2 – Representação do modelo “caixa de ovos” na gelificação do alginato de cálcio.



Fonte: Fernando et al. (2020).

Quando o cálcio é adicionado a uma solução contendo alginato de sódio, ocorre uma reação de troca iônica, em que os íons de sódio presentes no alginato são substituídos por íons de cálcio. Essa reação cria ligações iônicas cruzadas entre as moléculas de alginato, resultando na formação de uma matriz de gel (ISKANDAR et al, 2019). A reticulação iônica e de coordenação entre o alginato e os cátions bivalentes também ocorre favorecida pelo alto teor de guluronato (PATIL et al, 2010).

O cálcio é frequentemente utilizado como agente de reticulação na gelificação iônica por causa de sua alta afinidade por polímeros carregados negativamente, como o alginato de sódio, que é um dos polímeros mais utilizados na gelificação iônica. O cálcio tem dois elétrons em sua camada de valência, o que permite que ele se ligue facilmente a grupos carboxila carregados negativamente nos polímeros (ISKANDAR et al, 2019).

O cálcio é uma opção popular como agente de reticulação na gelificação iônica porque é relativamente barato e seguro para uso em aplicações alimentícias e farmacêuticas. Além disso, a concentração de cálcio pode ser facilmente ajustada para controlar as propriedades do gel, como a dureza e a taxa de liberação de ativos encapsulados. No entanto, é importante lembrar que outros agentes de reticulação, como o íon zinco, também podem ser utilizados na gelificação iônica. A escolha do agente de reticulação dependerá das propriedades desejadas do gel e da

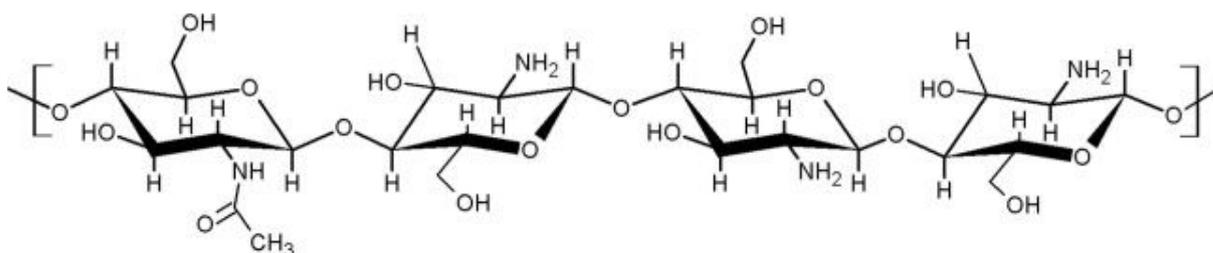
compatibilidade do agente com o polímero utilizado (ASLANI e KENNEDY, 1996; ISKANDAR et al, 2019).

O alginato de sódio, sendo um polímero aniônico, também têm sido amplamente estudado para produção de nanopartículas através da complexação de polieletrólitos com polímeros carregados positivamente, como a quitosana. A formação desses complexos ocorre pela reticulação iônica entre grupos amino carregados positivamente da quitosana e grupos carboxilato carregados negativamente presentes no alginato (MOTWANI et al, 2008).

3.3.2 Quitosana

A quitosana (CS) também é um biopolímero biodegradável, biocompatível e não tóxico, formado por resíduos de D-glucosamina unidos em β -1,4 (Figura 3). É produzida a partir da quitina, obtida de crustáceos, através de um processo de N-desacetilação alcalina. Devido aos grupos amino presentes em sua estrutura, a quitosana é naturalmente um polieletrólito com carga positiva e é facilmente solúvel em soluções ácidas (VIMAL et al, 2012). Entretanto, sua solubilidade depende também do grau de desacetilação, quanto maior mais solúvel em água.

Figura 3 – Representação esquemática da estrutura química da quitosana.



Fonte: Carreira et al (2010).

A precipitação de quitosana foi observada acima de pH 6 e a precipitação de alginato foi observada abaixo de pH 3,6. Portanto, o controle do pH é um fator importante a ser considerado durante a formação e estabilização de complexos polieletrólitos contendo quitosana e alginato (SIMSEK-EGE et al, 2003).

Durante a formação das nanopartículas, a solução aquosa de quitosana pode ser adicionada após o cloreto de cálcio, causando a estabilização das gotículas de alginato e impedindo que elas se fundam ou coalesçam. Foi constatado que a

quitosana macromolecular tem uma capacidade rápida de ligação à superfície das gotículas de alginato. No entanto, a sua capacidade de difusão para o núcleo interno da esfera é limitada. Portanto, a presença de íons de cálcio em solução pode ter um efeito significativo na capacidade da esfera de gel se ligar à quitosana. O processo de formação de nanopartículas pode ser otimizado ajustando-se a proporção entre os polímeros e a concentração dos íons de cálcio (PATIL et al, 2010).

A formação de complexos polieletrólitos ocorre quando polímeros catiônicos são misturados com polímeros aniônicos em soluções aquosas. Acredita-se que a força coulombiana seja a força de ligação primária para a formação desses complexos, com as interações ocorrendo principalmente entre grupos ionizáveis com cargas opostas (SÆTHER et al, 2008).

3.4 COMPLEXAÇÃO DE POLIELETRÓLITOS

A técnica de complexação de polieletrólitos (do inglês, *polyelectrolyte complexes* ou PEC) também pode melhorar a rede de hidrogel obtida pelo método de gelificação iônica. Polieletrólitos são macromoléculas que contêm muitos grupos funcionais carregados ou que podem se tornar carregados sob condições adequadas. A adição de outro polieletrólito com carga oposta pode contribuir para aumentar a resistência mecânica e a barreira de permeabilidade dos hidrogéis, resultando na formação de uma membrana de complexo polieletrólito na superfície das partículas de alginato (LANKALAPALLI e KOLAPALLI, 2009; PATIL et al, 2010).

Quando os polímeros catiônicos e aniônicos são misturados, os grupos funcionais carregados dos polímeros são atraídos um pelo outro. Isso leva à formação de agregados moleculares onde os grupos carregados opostamente se ligam entre si, resultando em uma rede interligada de polímeros. À medida que mais polímeros são adicionados à solução, mais ligações se formam e a rede se torna mais densa e resistente (ALSHARABASY et al, 2016).

Além da força coulombiana, as forças de ligação secundárias, como ligações de hidrogênio ou ligações covalentes, também podem ser importantes na formação de complexos polieletrólitos, dependendo dos polímeros envolvidos e das condições de mistura. O resultado é a formação de uma rede interligada de polímeros que pode ter propriedades físicas e químicas únicas e desejáveis, como alta

estabilidade, resistência mecânica e barreira de permeabilidade (LANKALAPALLI e KOLAPALLI, 2009).

Estudos realizados na literatura demonstram que a utilização do complexo polieletrólito quitosana-alginato reduz a porosidade das partículas de alginato, resultando em uma diminuição da difusão do fármaco encapsulado (GEORGE e ABRAHAM, 2006; PRASHANTH e THARANATHAN, 2007). Chen e colaboradores (2012) desenvolveram microcápsulas de quitosana, alginato e histidina para liberação controlada de hemoglobina. Micropartículas de alginato revestidas com quitosana foram responsáveis por uma liberação prolongada de ácido retinóico na pele, promovendo menor irritação dérmica. Além disso, as micropartículas ocasionaram uma permeação do fármaco até camadas mais profundas da pele, confirmando a viabilidade deste sistema para uso tópico (CHEN et al, 2012).

Quitosana e alginato são os polissacarídeos amplamente estudados usados na formação de complexos polieletrólitos. São descritos na literatura diversos trabalhos utilizando os polímeros quitosana e alginato de sódio na formação de nanopartículas por meio de interação iônica (CAFAGGI et al, 2007; LI et al, 2008; SANKALIA et al, 2007; SARMENTO et al, 2006). A Tabela 2 traz o estado da arte sobre o encapsulamento de óleos essenciais empregando alginato/quitosana como materiais de parede das cápsulas.

Tabela 2 – Artigos com encapsulação de óleos essenciais em nanopartículas de alginato/quitosana por gelificação iônica.

Óleo essencial	Principais resultados	Aplicação	Referência
Tomilho	Obteve partículas de 50nm com 1% óleo.	Antibacteriano	(HAMEDI et al, 2019)
Orégano	Obteve partículas de 320nm com 50% de eficiência de encapsulação	Antimicrobiano	(YONCHEVA et al, 2021)
Cúrcuma e Capim-limão	Obteve partículas com 256 e 226 nm com 71,1% e 86,9% de eficiência de encapsulação para cada óleo essencial, respectivamente	Aplicações biomédicas e farmacêuticas	(NATRAJAN et al, 2015)
Cúrcuma	Obteve partículas de 522nm e as formulações foram estáveis por 4 meses a 4°C e 25°C	Não especificou	(LERTSUTTHIWONG et al, 2009)
Citronela	Obteve partículas entre 100-200nm com 80% de eficiência de encapsulação	Repelente de insetos	(SANCHES et al, 2020)

No estudo realizado por Hamedi et al. (2019), a nanoemulsão de óleo de tomilho foi efetivamente incorporada em complexos polieletrólitos de quitosana e alginato como um veículo para medicamentos. Os filmes produzidos foram avaliados e os resultados obtidos são relevantes para o desenvolvimento e aplicação em áreas farmacêuticas, como no tratamento de feridas e sistemas de liberação controlada de medicamentos.

Yoncheva et al. (2021) realizaram um estudo com o objetivo de investigar a viabilidade de incorporar óleo essencial de orégano em uma dispersão aquosa de nanopartículas de quitosana-alginato e avaliar como essa incorporação afeta sua

atividade antimicrobiana. O processo de encapsulação do óleo foi realizado por meio de emulsificação seguida de gelificação iônica. Os resultados mostraram que o sistema de nanoentrega de óleo de orégano apresentou uma forte atividade antimicrobiana, o que o torna promissor para o desenvolvimento de aditivos alimentares.

Natrajan et al. (2015) conduziram um estudo com foco no desenvolvimento de um nanocarreador alginato/quitosana para o encapsulamento de óleos essenciais. Foram investigados os efeitos de parâmetros de processo, como as concentrações de alginato e quitosana, e realizadas diversas técnicas de caracterização físico-química. No trabalho de Sanches et al. (2020) nanoemulsões de óleo essencial de citronela foram preparadas com Pluronic®F127 e a PEC de alginato/quitosana. O sistema foi caracterizado quanto ao tamanho, potencial zeta e estabilidade ao longo do tempo.

Lertsutthiwong et al. (2009) conduziram um estudo onde as nanocápsulas de alginato/quitosana contendo óleo de cúrcuma foram preparadas por meio de emulsificação do óleo em uma solução aquosa de alginato de sódio, seguida de gelificação com cloreto de cálcio e quitosana, e posterior remoção do solvente. As características das nanocápsulas foram influenciadas pela massa molar e quantidade de quitosana utilizada no processo.

Atualmente, há uma carência de estudos na literatura que abordem a nanoencapsulação de óleos essenciais utilizando alginato e quitosana por meio da gelificação iônica. No contexto de alimentos, filmes compostos por esses biopolímeros são mais frequentemente utilizados para proteger os óleos essenciais do que as nanopartículas (NAIR et al, 2020). Além disso, na literatura também existem estudos que relatam a encapsulação de óleo essencial em nanopartículas compostas apenas por quitosana ou alginato, bem como a combinação desses materiais com outros polímeros naturais ou reticulantes. O desenvolvimento de partículas em escala micrométrica também foi relatado em alguns estudos (AHMADI et al, 2018; DIMA et al, 2013; FEYZIOGLU e TORNUK, 2016; HOSSENI, 2013b; LAI et al, 2007; MOSTAGHIMI et al, 2022).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Alginato de sódio de baixa viscosidade (Sigma-Aldrich) e quitosana de baixa massa molar (50,000-190,000 D; grau de desacetilação de 83%; viscosidade 108 cPs (c = 1%, 1% ácido acético)) (Sigma-Aldrich) foram utilizados como biopolímeros para produção das nanopartículas. Cloreto de cálcio P.A. dihidratado (Alphatec, P.A. – A.C.S.) foi usado como agente reticulante. Ácido acético glacial (Synth) foi utilizado para solubilizar a quitosana. Óleo essencial de alecrim e óleo essencial de lavanda (origem Bulgária) foram adquiridos da Ferquima e utilizados como núcleo das nanocápsulas. Tween 80 (Neon) foi empregado como surfactante não iônico e água destilada como meio de dispersão. Ácido clorídrico e hidróxido de sódio (Dinâmica, P.A. – A.C.S.) foram utilizados para ajuste de pH. Álcool etílico absoluto (Neon, 99,8% P.A.) utilizado para diluir os óleos essenciais na avaliação da eficiência de encapsulação. Para avaliar a atividade antioxidante foi utilizado o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich).

4.2 METODOLOGIA PARA PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

4.2.1 Testes iniciais

As dispersões de nanopartículas foram preparadas através da técnica de emulsificação/gelificação iônica. Foi utilizado o alginato de sódio como primeira camada de revestimento da cápsula, seguida de íons cálcio como agente de reticulação. Para a formação do complexo de polieletrólitos foi utilizada a quitosana. Baseando-se nos métodos descritos em Ghayempour e Mortazavi (2015) e Hamedi et al. (2019) foram estabelecidas as seguintes condições iniciais para os testes da formulação: a concentração de ALG e CS foi fixada em 1 % (m/v) e 2 % OEA. O agente de reticulação CaCl_2 foi avaliado em 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2 % e o surfactante Tween 80 foi testado em 0,1, 0,5, 1 ou 1,5 %. Essas porcentagens são em relação a cada solução individual. Importante ressaltar que os testes iniciais foram realizados apenas com OEA. Nenhuma das análises foi realizada em triplicata nos testes iniciais, apenas a formulação final de cada sistema de nanopartículas. Com relação

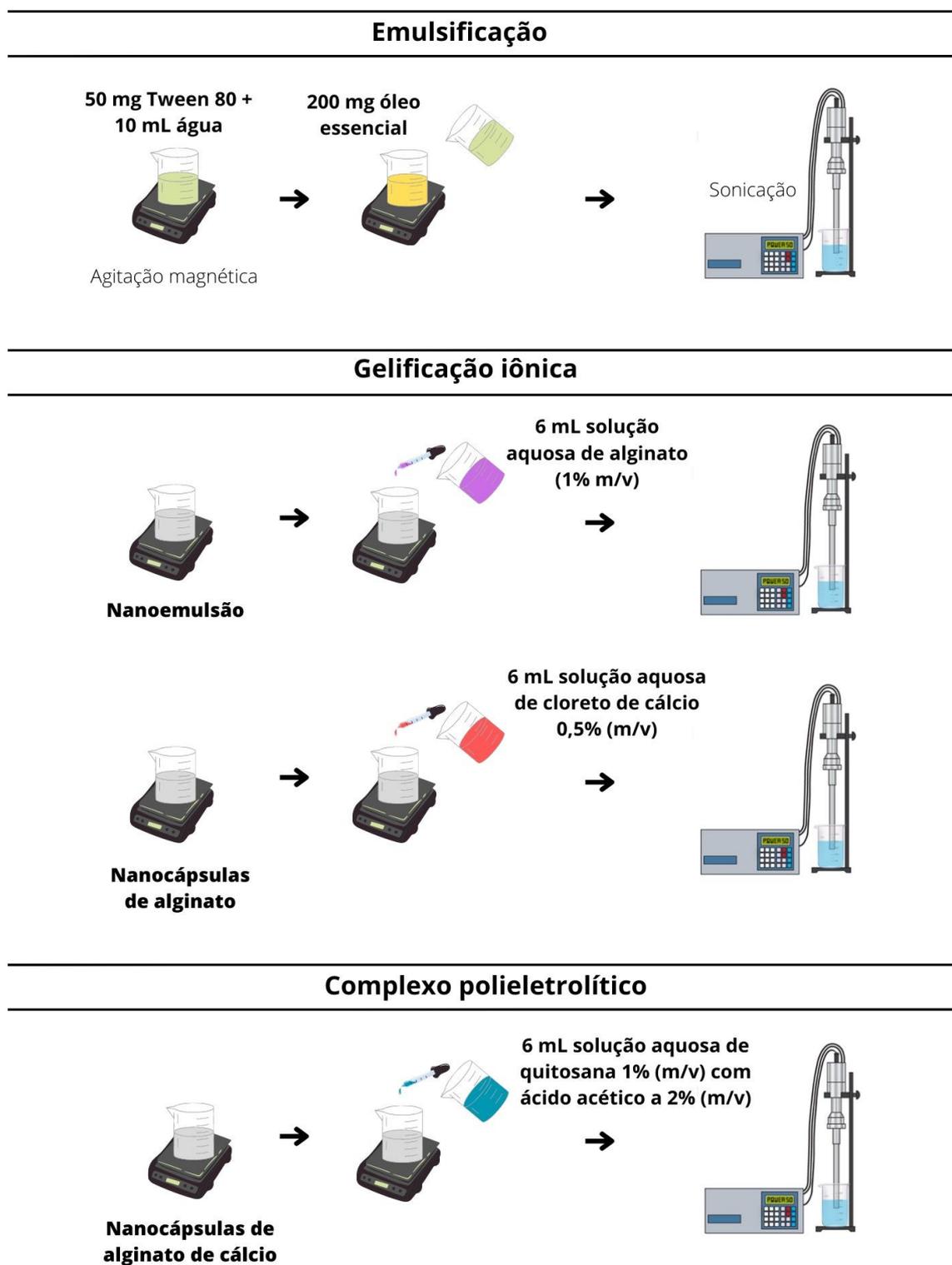
ao volume total, foram preparados 22mL para as nanopartículas de alginato e 28mL para as nanopartículas de alginato/quitosana.

Inicialmente, foi preparada a solução estoque de ALG 1 % em água purificada com auxílio de um banho ultrassônico (Ultrasom Unique 750 A, 25kHz) e mantida a temperatura ambiente até o uso. Tween 80 (0,1, 0,5, 1 ou 1,5 % m/v) foi dissolvido em água sob agitação magnética a 550 rpm por 5 min. Em seguida, 10 mL da solução de Tween 80 foi adicionada a um béquer contendo 200 mg de OEA, sob agitação magnética, para formação de uma emulsão. A emulsão foi levada para sonicação. Os parâmetros usados no dispersor ultrassônico (Sonics Vibra-Cell VC 505, modelo CV334, 500W) foram 1, 2 ou 4 min de sonicação em todas as etapas, pulso 10 s *on*/5 s *off* e amplitude máxima de 50 ou 70 %. Foi utilizado banho de gelo para não superaquecer a ponteira de ultrassom. Logo depois, 6 mL da solução aquosa de ALG foi adicionada gota a gota na nanoemulsão formada, sob agitação magnética a 900 rpm e, em seguida, sonicada. Finalmente, 6 mL da solução aquosa de CaCl_2 (0,1, 0,5, 1, 1,5 ou 2 % m/v) foi gotejada na formulação para gelificação do alginato e formação da rede tridimensional, seguida pela sonicação.

Com a formação das nanopartículas de alginato de cálcio, foram realizados testes para incorporação da CS como segunda camada de revestimento. Uma solução aquosa de CS 1% m/v com ácido acético a 2% v/v (pH 4,86) foi adicionada gota a gota sob agitação magnética e, em seguida, foi levada ao sonicador por 1, 2 ou 4 min. Esse tempo de sonicação também foi avaliado.

A Figura 4 ilustra o procedimento experimental.

Figura 4 – Ilustração do procedimento experimental empregado para a preparação das nanopartículas.



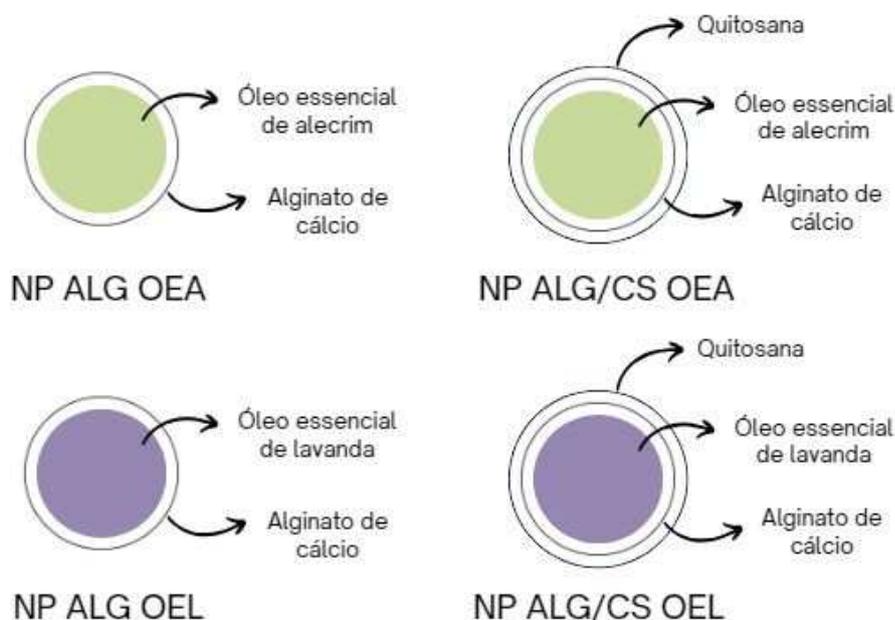
Fonte: Autoria própria.

Diferentes condições experimentais foram avaliadas para determinação da metodologia de preparo mais adequada das nanopartículas biopoliméricas contendo óleos essenciais. As condições avaliadas foram tempo de sonicação em cada etapa que um componente era adicionado, concentração de Tween 80, concentração de CaCl_2 e amplitude do sonicador.

4.2.2 Preparo das nanopartículas

Após determinadas as melhores condições experimentais (tempo e amplitude de sonicação, concentração de Tween 80 e CaCl_2) para preparo das nanopartículas com óleo essencial de alecrim, o mesmo procedimento experimental, usando apenas as melhores condições, foi aplicado para encapsulação do óleo essencial de lavanda. Portanto, foram preparados quatro sistemas de dispersões de nanopartículas, como ilustrado na Figura 5:

Figura 5 – Ilustração das dispersões de nanopartículas preparadas.



Fonte: Autoria própria.

Legenda: NP ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim. NP ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. NP ALG OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. NP ALG/CS OEL: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

4.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS

4.3.1 Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersidade

A determinação do diâmetro médio das partículas em intensidade (D_p), e do índice de polidispersão (PDI) foi realizada em equipamento Zetasizer Nano S, da Malvern Instruments, através da técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS). As análises foram realizadas no Laboratório de Controle de Processos (LCP) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). As medidas foram realizadas em cubetas de vidro, à 25°C, sem necessidade de diluição das amostras e com os valores determinados pela média de três medidas, obtidas a partir de 15 leituras.

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

As amostras para análise de microscopia eletrônica de transmissão (JEM 2100F, 100kV) foram preparadas depositando uma gota das dispersões diluídas (teor de sólidos 0,5%_m), em grid de cobre recoberto com carbono (300 *mesh*). As amostras foram analisadas após secagem a temperatura ambiente por 24 h, no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC.

4.3.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

Para obtenção dos espectros de FTIR, as dispersões aquosas de nanopartículas foram lavadas 3 vezes com água em uma centrífuga (Eppendorf MiniSpin®) por 20 min a 13.000 rpm e liofilizadas a $-55 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Foram utilizadas pastilhas de KBr e os espectros foram obtidos na faixa de 4000-400 cm^{-1} no espectrofotômetro, resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por análise. (Agilent Technologies – Cary 660 FTIR). As análises foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos (CAEQA) da UFSC.

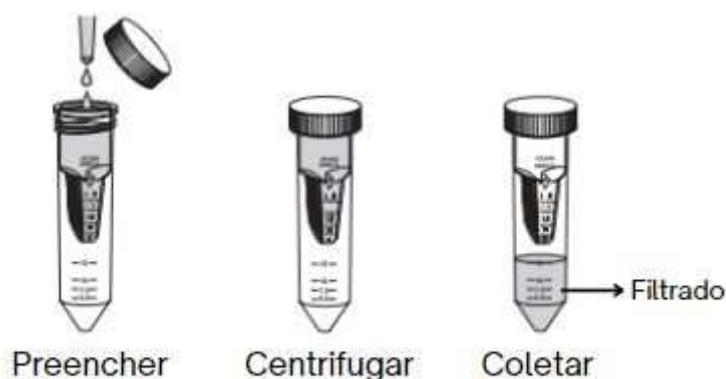
4.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial

As análises de DSC foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da UFSC no calorímetro Jade-DSC (Perkin Elmer) equipado com um Sistema Intracooler 2P. As dispersões aquosas de nanopartículas foram lavadas 3 vezes com água em uma centrífuga (Eppendorf MiniSpin®) por 20 min a 13.000 rpm e liofilizadas a $-55 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Foram utilizados porta amostras de alumínio com 10 mg de amostra analisadas em uma faixa de temperatura de 0°C à 400°C , a $10^\circ\text{C min}^{-1}$, sob atmosfera de nitrogênio (20 mL min^{-1}). Foi realizada apenas uma corrida de aquecimento.

4.3.5 Eficiência de encapsulação

A porcentagem de óleo essencial associado às nanopartículas foi determinada pelo método de ultrafiltração/centrifugação. As amostras de nanopartículas contendo OE foram centrifugadas em filtros de ultracentrifugação Amicon® Ultra constituídos de celulose regenerada com poro de exclusão molecular de 100 kDa acoplado a um *eppendorf*, com volume máximo de 500uL. A análise foi realizada pela adição de 400 μL da dispersão de nanocápsulas no filtro e centrifugação a 13.000 rpm por 30 min em uma mini centrífuga (Eppendorf, MiniSpin®). Uma alíquota do filtrado foi diluída em etanol, transferida para uma cubeta e analisada em triplicata por Espectroscopia de UV-vis (Hitachi, U1900). A Figura 6 ilustra o processo de ultracentrifugação.

Figura 6 - Ilustração do método de ultracentrifugação.



Fonte: Adaptado de Guia de usuário; Amicon® Ultra-0.5.

A quantidade de óleo essencial livre foi determinada comparando os resultados com uma curva de calibração preparada a partir de concentração definidas de cada OE. A eficiência de encapsulação dos óleos essenciais (EE_{OE}) foi obtida a partir da Equação 1, relacionando a concentração de ativo incorporado ($C_{OE,incorporado}$), obtida pela diferença entre a concentração teórica ($C_{OE,Teórica}$) e a concentração de ativo livre ($C_{OE,Livre}$), com a concentração teórica ($C_{OE,Teórica}$), multiplicado por 100.

$$EE_{OE}(\%) = \frac{C_{OE,incorporado}}{C_{OE,teórico}} \times 100 = \frac{C_{OE,teórico} - C_{OE,ivre}}{C_{OE,teórico}} \times 100 \quad (1)$$

Para construção das curvas de calibração, foram preparadas cinco soluções de cada óleo essencial, em etanol, em concentrações na ordem decrescente, iguais a 0,05 a 2,0 mg mL⁻¹ para o OEA e 0,01 a 1,3 mg mL⁻¹ para o OEL. Em seguida, as leituras foram realizadas à temperatura de 25 °C. Foi utilizada uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm e volume de 3 mL. Para identificar qual o comprimento de onda de absorção máxima ($\lambda_{máx}$) de cada óleo essencial, foram preparadas amostras na concentração de 3 mg mL⁻¹ e realizada uma varredura num comprimento de onda de 200 a 800 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. Para o OEA a faixa de concentração analisada foi de 0,05 a 2,0 mg mL⁻¹ com $\lambda_{máx} = 265$ nm. Para o OEL, a faixa de concentração analisada foi de 0,01 a 1,3 mg mL⁻¹ com $\lambda_{máx} = 267$ nm. A concentração de cada formulação utilizada na Equação 1 foi de 9,09 mg mL⁻¹ para nanopartículas preparadas com alginato de cálcio e 7,14 mg mL⁻¹ para nanopartículas preparadas com alginato de cálcio e quitosana, para ambos os óleos essenciais.

4.3.6 Potencial Zeta

Os valores de potencial Zeta (PZ) foram determinados por mobilidade eletroforética. Essa análise foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN), da UFSC, em um Zetasizer Nano ZS 3600 (Malvern Instruments). As análises foram realizadas a 25°C sem diluição.

4.3.7 Estabilidade física das dispersões de nanopartículas

Para avaliar a estabilidade estática das dispersões, foram realizadas medidas de diâmetro médio das partículas e PDI conforme descrito no item 3.2.3.1 para 1, 20 e 155 dias. A eficiência de encapsulação foi avaliada conforme descrito em 3.2.3.5 para 1 e 155 dias. Os valores foram analisados estatisticamente através de ANOVA como descrito em 2.3.3.10.

4.3.8 Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) por medidas repetidas foi utilizada para comparar os resultados entre os grupos (NP ALG OEA, NP ALG OEL, NP ALG/CS OEA, NP ALG/CS OEL) e o tempo (dia 1, dia 20 e dia 155), considerando o teste de esfericidade de Mauchly. Foram apresentados os resultados do teste F, p-valor e tamanho de efeito η^2 parcial ao quadrado (η^2) para a interação grupo*tempo e para os efeitos principais de grupo e tempo. O teste de Bonferroni foi utilizado para o ajuste por múltiplas comparações. O tamanho de efeito maior que 0,13 foi considerado como grande. Com exceção dos testes preliminares de formulação, os experimentos foram realizados com três repetições independentes e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão ou desvio padrão relativo. Os dados foram apresentados por meio da média e desvio padrão. Todas as análises foram realizadas no SPSS for Statistics v. 26.0. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

4.3.9 Estabilidade acelerada das dispersões de nanopartículas

Adicionalmente foram realizados ensaios de estabilidade acelerada na temperatura de 25 °C, em centrífuga analítica (LUMiSizer®, LUM GmbH, Alemanha) a uma velocidade de rotação de 3000 rpm, simulando a ação acelerada da gravidade. Perfis de transmissão de luz foram registrados a cada 27 s, gerando o gráfico de impressão digital da amostra e definindo o índice de instabilidade, com base na alteração da luz transmitida através da amostra em função do tempo. O

tempo total de análise foi 1,91 h simulando um período de 90 dias conforme a Equação 2 e 3.

$$xg_{req} = \left(\left(2\pi \frac{rpm}{60} \right)^2 \frac{R(m)}{9,81} \right) \quad (2)$$

$$xg_{req} = \frac{\textit{tempo de estabilidade}}{(n^{\circ} \textit{ de perfis})(\textit{intervalo de perfis})} \quad (3)$$

onde R = 0,113 m e xg é a força centrífuga.

A partir do gráfico de integração da porcentagem de transmitância em função do tempo, obteve-se o índice de instabilidade (IS).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversos fatores podem afetar a formação de nanopartículas, incluindo a concentração dos compostos, tempo e velocidade de agitação, ordem de gotejamento, equipamento e condições de dispersão, pH e outros. As condições experimentais foram estabelecidas através de testes preliminares para obtenção de uma boa distribuição de tamanho. A caracterização foi realizada por meio de medidas de DLS, que fornecem informações sobre o diâmetro médio das partículas e a distribuição de tamanho através do índice de polidispersão (do inglês, *polydispersity index* ou PDI). O PDI se refere à variedade do tamanho da amostra relativo à sua distribuição por intensidade (MALVERN, 2004). Esse valor é adimensional, varia de 0 a 1 e, quanto menor, mais monodispersa e, conseqüentemente, maior será a homogeneidade do diâmetro das partículas no sistema (LIU e WU, 2010).

Visando a aplicação nas nanopartículas em tecidos que ficam em contato com a pele, buscou-se um tamanho de partícula em torno de 200nm. Verma e colaboradores (2003) investigaram a influência do tamanho da vesícula na penetração de duas substâncias marcadas com fluorescência na pele humana. Neste estudo, foi relatado que formulações destinadas à aplicação tópica o ideal é que o tamanho das partículas seja inferior a 600 nm, isso porque partículas menores têm maior probabilidade de penetrar nas camadas mais profundas da pele. Partículas menores podem aumentar a eficácia de uma formulação tópica, pois podem aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade dos ingredientes ativos. Isso pode resultar em uma ação mais rápida e mais forte do produto na pele (VERMA et al, 2003).

Como mencionado, a escolha dos componentes da formulação e a faixa de concentração inicialmente proposta foram definidas de acordo com dados da literatura. Os complexos de polieletrólitos foram obtidos com o uso de alginato de sódio como polímero aniônico e quitosana como polímero catiônico. O cloreto de cálcio foi utilizado como agente reticulante em ambos os sistemas.

5.1 AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E PREPARO DAS NANOPARTÍCULAS

Foram avaliadas diferentes condições experimentais para determinar a metodologia de preparo mais adequada para as nanopartículas biopoliméricas contendo óleos essenciais. As condições avaliadas incluíram o tempo de sonicação em cada etapa que um componente era adicionado, a concentração de Tween 80 e CaCl_2 e a amplitude de sonicação. Os resultados da variação no tempo de sonicação são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes tempos de sonicação para cada etapa de preparação das nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.

Etapa	Tempo de sonicação (min) ^a	Dp (nm)	PDI
Emulsificação do OEA ^b	2	183	0,256
	4	163	0,214
Gelificação iônica – após ALG	1	107	0,291
	2	102	0,268
	4	96	0,427
Gelificação iônica – após CaCl_2 ^c	1	94	0,354
	2	102	0,268
	4	97	0,342

Legenda: ^aA amplitude do dispersor ultrassônico foi fixada em 70% com pulso 10s on/5 s off. ^bA concentração de Tween 80 foi fixada em 1%. ^cA concentração de CaCl_2 foi fixada em 1%. Dp: Diâmetro médio das partículas. PDI: Índice de polidispersão. OEA: Óleo essencial de alecrim. ALG: Alginato.

Emulsificação do óleo essencial e gelificação iônica após a adição de alginato e de CaCl_2 foram as etapas onde a sonicação foi incluída. Foram realizadas medidas de DLS em diferentes tempos de sonicação para avaliar o diâmetro médio das partículas e valores de PDI. Na etapa de emulsificação já foi possível observar que as gotas estavam na escala nanométrica. A condição que apresentou o menor PDI

foi selecionada para todas as etapas, ou seja, 4 min para emulsificação e 2 min para ambas as etapas de gelificação iônica.

É fundamental destacar que os valores escolhidos para PDI foram baseados em estudos anteriores, nos quais foi constatado que uma distribuição de tamanho uniforme é mais apropriada. É importante salientar também que não houve a realização de triplicatas nos testes iniciais, nem uma análise estatística aprofundada.

As concentrações de surfactante e reticulante também foram avaliadas, como observado na Tabela 4. As condições selecionadas foram 0,5% para ambos os componentes.

Tabela 4 - Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes concentrações de Tween 80 e CaCl₂ para preparação das nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.

Reagente	Concentração (% m/v)	Dp (nm)	PDI
Tween 80	0,1	225	0,366
	0,5	135	0,261
	1,0	102	0,268
	1,5	94	0,410
CaCl ₂	0,1	265	0,512
	0,5	159	0,224
	1,0	135	0,261
	1,5	165	0,287
	2,0	162	0,352

O tempo de sonicação na etapa de emulsificação foi de 4 min, na etapa de gelificação após adição de ALG e CaCl₂ foi de 2 min. Legenda: Dp: Diâmetro médio das partículas. PDI: Índice de polidispersão.

É possível observar que o tamanho da partícula diminui com o aumento da concentração de surfactante, uma vez que o surfactante é capaz de estabilizar as partículas através da formação de uma camada em torno delas. Essa camada pode reduzir a tensão interfacial entre a fase dispersa e a fase contínua, evitando a coalescência e aglomeração das partículas. Além disso, em concentrações mais altas, o surfactante pode reduzir a viscosidade da solução e aumentar a taxa de

agitação, o que pode levar a uma distribuição de tamanho mais homogênea e menor tamanho de partícula (FAYAD et al, 2015).

Com relação ao cloreto de cálcio, o aumento da concentração pode reduzir o tamanho médio das partículas devido à difusão do cálcio pelas cadeias poliméricas e formação de ligações iônicas com os grupos carboxilato do alginato, causando entrelaçamento das cadeias. A sonicação e agitação também podem contribuir para esse fenômeno. No entanto, o excesso de cálcio pode ser prejudicial, dificultando a difusão dos íons pelas cadeias poliméricas e levando à estabilização do tamanho em concentrações maiores de reticulante, como observado na Tabela 4.

Em Deng et al (2020), o óleo essencial de lavanda foi encapsulado por emulsificação/gelificação iônica empregando alginato e caseína como materiais de parede. A adição de cálcio com concentração crescente resultou na diminuição sucessiva do tamanho das partículas de hidrogel, sugerindo que, à medida que o grau de reticulação entre as cadeias moleculares de alginato de sódio e os íons de cálcio aumentou, a estrutura das partículas de hidrogel tornou-se mais compacta.

Como mencionado, a aplicação de ultrassom pode ter efeitos benéficos no preparo de nanopartículas de diversas maneiras. Uma das principais vantagens é a capacidade de dispersar e quebrar aglomerados de partículas em líquidos, permitindo que as partículas fiquem mais homogêneas distribuídas no meio contínuo. Além disso, a aplicação de ultrassom durante o preparo de partículas pode levar a uma redução no tamanho das partículas e uma maior uniformidade no tamanho. Isso ocorre porque a energia fornecida pelo ultrassom pode quebrar as partículas maiores em partículas menores, permitindo que elas sejam mais facilmente dispersas no meio contínuo.

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos na avaliação da amplitude de sonicação da dispersão de nanopartículas. Essa variação foi empregada em todas as etapas de sonicação (emulsificação e gelificação iônica) em um único teste e o valor obtido na tabela abaixo é referente a última etapa do procedimento (adição de CaCl_2).

Tabela 5 - Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes amplitudes no dispersor ultrassônico para preparação das nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.

Amplitude do sonicador (%)	Dp (nm)	PDI
50	180	0,349
70	159	0,224

O tempo de sonicação na etapa de emulsificação foi de 4 min, na etapa de gelificação após adição de ALG e CaCl₂ foi de 2 min. A concentração de Tween 80 e CaCl₂ foi de 0,5%. Legenda: Dp: Diâmetro médio das partículas. PDI: Índice de polidispersão.

Observou-se que o aumento da amplitude de 50 para 70 % levou a redução do tamanho das partículas e do PDI, sendo, portanto, a amplitude de 70 % selecionada para uso nas etapas subsequentes. Ciro et al (2019) também observou que a amplitude de sonicação afetou completamente as nanopartículas carregadas com ampicilina e em branco, onde o tratamento de maior energia levou a uma maior redução no tamanho da partícula.

Em seguida, foram conduzidos experimentos para incorporar a quitosana como uma segunda camada de revestimento nas nanopartículas de alginato de cálcio. Para isso, uma solução aquosa de quitosana a 1% m/v com ácido acético a 2% v/v (pH 4,86) foi adicionada gota a gota sob agitação magnética e, em seguida, foi submetida a 1, 2 e 4 min de sonicação, cujos resultados são apresentados na Tabela 6. Foram selecionados 2 min de sonicação para a solução de quitosana.

Tabela 6 – Diâmetro médio das partículas e índice de polidispersão obtidos em diferentes tempos de sonicação para incorporação da quitosana nas nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.

Material	Tempo de sonicação (min) ^a	Dp (nm)	PDI
CS	1	197	0,240
	2	189	0,241
	4	210	0,353

O tempo de sonicação na etapa de emulsificação foi de 4 min, na etapa de gelificação após adição de ALG e CaCl₂ foi de 2 min. A concentração de Tween 80 e CaCl₂ foi de 0,5%. Legenda: ^aA amplitude do dispersor ultrassônico foi fixada em 70%. Dp: Diâmetro médio das partículas. PDI: Índice de polidispersão. CS: quitosana.

Após o processo de preparo, as dispersões obtidas apresentaram-se visualmente homogêneas e com uma coloração branca translúcida, como mostra a Figura 7.

Figura 7 – Dispersão de nanopartículas obtida através da metodologia de emulsificação/ gelificação iônica com complexação de polieletrólitos.



Fonte: Autoria própria

As melhores condições definidas na avaliação experimental para preparo de nanopartículas de alginato de cálcio e alginato de cálcio/quitosana com o óleo essencial de alecrim também foram aplicadas para encapsulamento do óleo

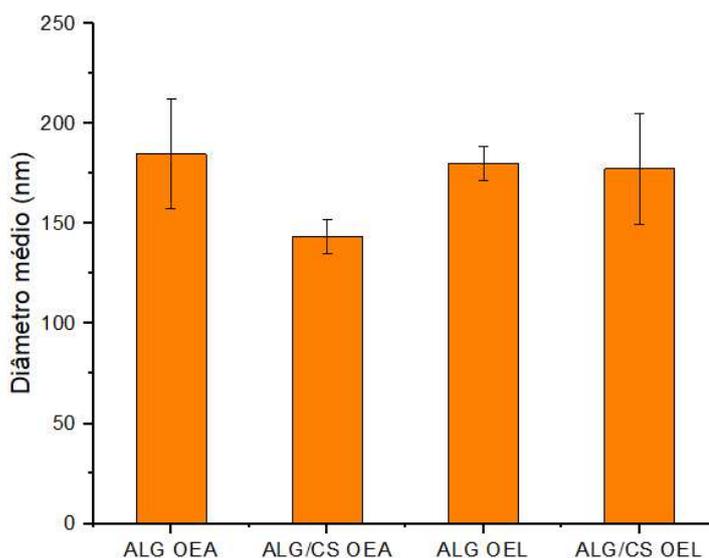
essencial de lavanda. Os resultados da caracterização das dispersões de nanopartículas para ambos os óleos estão apresentados e discutidos nos tópicos seguintes.

5.2 DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS E ÍNDICE DE POLIDISPERSIDADE

A técnica de espalhamento de luz dinâmico (do inglês, *Dynamic Light Scattering*, ou DLS) usa o movimento browniano de partículas em suspensão para determinar o diâmetro médio das partículas. No entanto, o diâmetro medido inclui a camada de solvatação na superfície das partículas e pode ser superestimado em comparação com técnicas de microscopia que medem partículas secas. Além disso, a técnica é adequada apenas para partículas esféricas menores que 1 μm , pois partículas maiores estão sujeitas ao movimento gravitacional, além do Browniano (MALVERN, 2004).

A Figura 8 mostra o diâmetro médio das partículas obtido para cada dispersão avaliada.

Figura 8 – Diâmetro médio das dispersões de nanopartículas.



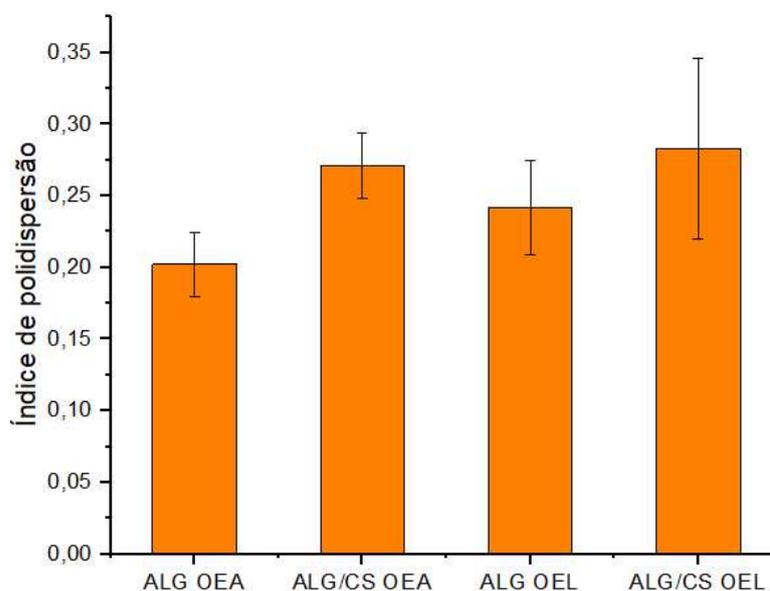
Legenda: ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.
ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. ALG OEL:
Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. ALG/CS OEL:
Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

Para as dispersões avaliadas, o tamanho das partículas variou de 130 a 220 nm. Epherem et al (2014) aplicou o método de nanoprecipitação para preparar nanocápsulas à base de policaprolactona carregadas com óleo essencial de alecrim que apresentaram um tamanho médio de 220 ± 10 nm. A técnica de polimerização em emulsão foi adotada para o encapsulamento do óleo essencial de lavanda usando quitosana como material de parede em Velmurugan et al (2017) e partículas com tamanho médio de $273,8 \pm 10,2$ nm foram obtidos para aplicação em couro.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as nanopartículas de alginato de cálcio e alginato de cálcio/quitosana ($p > 0,05$). No entanto, foi observada uma tendência de redução no tamanho das nanopartículas quando revestidas com quitosana em comparação com as nanopartículas contendo apenas alginato de cálcio. Conforme relatado na literatura, partículas menores e mais compactas são resultado de um maior entrelaçamento das cadeias de polieletrólitos, que é causado por uma interação eletrostática mais intensa (AELENEI et al., 2009; AVADI et al., 2010). Por outro lado, estudos conduzidos por Ribeiro et al. (2005) demonstraram um aumento no diâmetro médio das microesferas de alginato após a adição de quitosana devido à aglomeração durante a etapa de revestimento.

A Figura 9 mostra o índice de polidispersão obtido para cada dispersão avaliada.

Figura 9 – Índice de polidispersão das dispersões de nanopartículas.



Legenda: ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim. ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. ALG OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. ALG/CS OEL: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

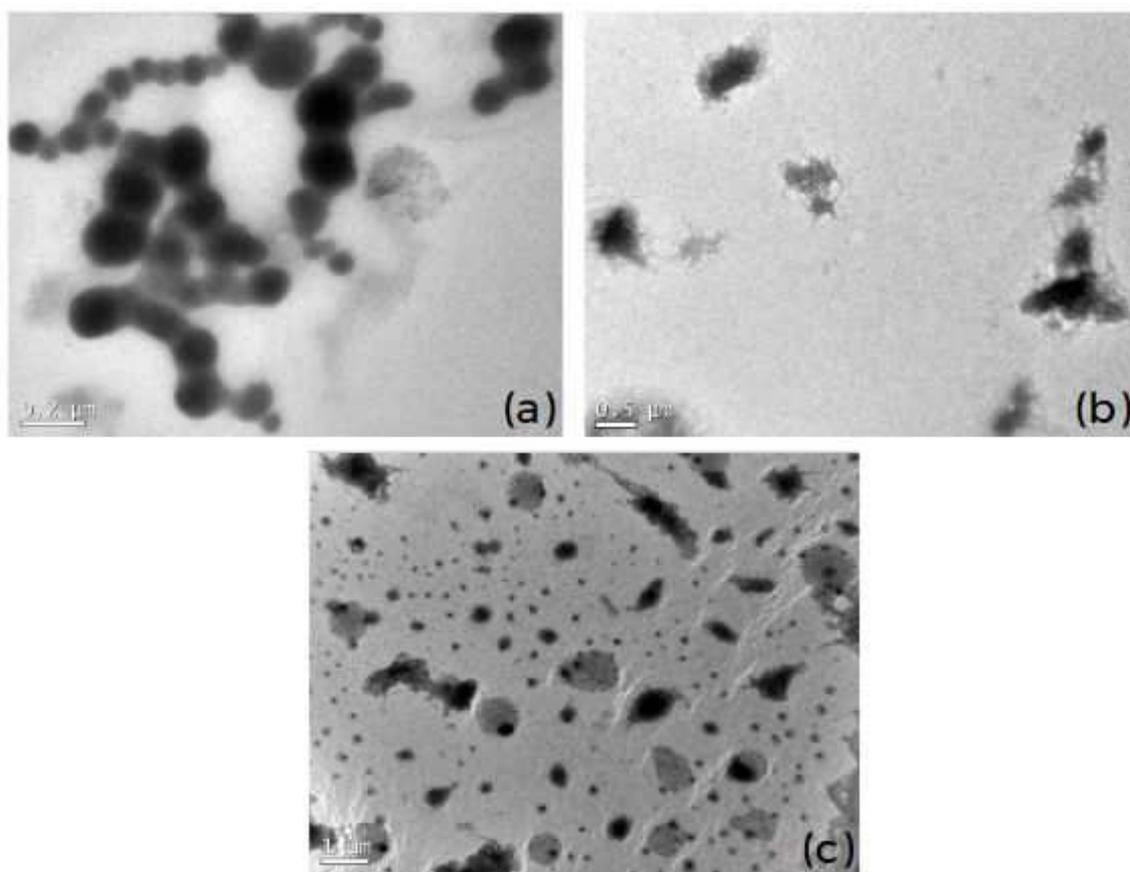
Uma desvantagem da gelificação iônica em comparação com outras técnicas de nanoencapsulação é a propensão a apresentar distribuições mais heterogêneas, com valores mais elevados de PDI (PEDROSO-SANTANA e FLEITAS-SALAZAR, 2020). Observou-se que o PDI médio permaneceu abaixo de 0,35 para as quatro dispersões analisadas, indicando um sistema com distribuição de tamanho heterogênea (MOHANRAJ e CHEN, 2006). Alguns fatores que contribuem para essa distribuição heterogênea são a possível ancoragem de moléculas presentes no óleo essencial na superfície das nanopartículas, o que pode levar à agregação. Além disso, o excesso de surfactante e cloreto de cálcio na solução também são fatores que contribuem para esse fenômeno.

As dispersões de alginato de cálcio exibiram valores médios de PDI menores em comparação com as dispersões de alginato de cálcio/quitosana. No entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos valores obtidos ($p > 0,05$). Portanto, é interessante avaliar a estabilidade ao longo do tempo para determinar se esses valores permanecem ou aumentam devido à agregação das nanopartículas.

5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

A microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *Transmission Electron Microscopy* ou TEM) tem sido muito empregada na obtenção de informações relativas à forma e ao tamanho das nanopartículas. Nesse sentido, a análise por TEM foi realizada com o objetivo de avaliar a morfologia das partículas e confirmar o tamanho das partículas, medido por DLS, uma vez que, de acordo com a literatura, é aconselhável que se utilize mais de um tipo de metodologia para a determinação do tamanho de partículas (REIS et al, 2006). As micrografias obtidas para cada dispersão de nanopartículas são apresentadas na Figura 10.

Figura 10 – Micrografias TEM das dispersões de nanopartículas.



Fonte: Autoria própria

Legenda: (a) Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim. (b) Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. (c) Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim.

Nas micrografias obtidas para as nanopartículas de alginato com óleo essencial de alecrim (Figura 10a), foram obtidas partículas mais esféricas, em estado agregado e com um limite mais claro entre o óleo encapsulado e o polímero, semelhante a estrutura de reservatório. Na Figura 10b, não é possível determinar o limite entre óleo e polímero. Já para as nanopartículas de alginato e quitosana contendo óleo essencial de alecrim (Figura 10c), são observadas regiões mais claras e regiões mais escuras com diferentes estruturas. Na Figura 10c é possível observar a formação de um filme durante a secagem, que dificultou a visualização do real formato das partículas. Esse filme também pode ser resultado do excesso de surfactante.

Em um estudo realizado por Bajpai et al (2019), nanossorventes de quitosana e alginato foram preparados através da reticulação com cloreto de cálcio e tripolifosfato. O autor também observou a presença de partículas com formato irregular e em estado agregado, que podem ser explicadas pela presença de macromoléculas de cargas opostas.

Devido à grande área de superfície e força atrativa entre as nanopartículas, há maior chance de agregação porque a probabilidade de interação entre elas é maior (HOTZE et al, 2010). O excesso de cálcio e surfactante em solução pode fazer com que as cápsulas grudem umas nas outras (ABANG, 2012; BARNWELL et al 2006). O cálcio pode agir como agente de reticulação para formar ligações entre as cápsulas, enquanto o surfactante pode afetar a repulsão eletrostática.

Os tamanhos de partícula observados nas micrografias de TEM mostraram tendência semelhante aos resultados de DLS para as três formulações analisadas. Porém, tamanhos menores para as nanopartículas podem ser observados por TEM, em comparação com a técnica de DLS, principalmente para as nanopartículas de alginato com óleo essencial de alecrim (Figura 10a). Chuah et al (2009) estudaram a formação de nanopartículas biocompatíveis via automontagem de quitosana e lecitina modificada e observaram que o tamanho de partícula obtido com TEM parecia ser menor em comparação com o resultado determinado por espalhamento de luz.

Essa discrepância pode ser provavelmente explicada pelo encolhimento das nanopartículas durante o processo de secagem ao ar antes da observação do TEM. O espalhamento de luz dinâmico avalia o raio hidrodinâmico das partículas em uma suspensão, enquanto o TEM fornece a área da superfície com base na quantidade

de elétrons incidentes transmitidos através de uma amostra, ou seja, os valores obtidos por DLS normalmente são superiores quando comparados aos de TEM (BHATTACHARJEE, 2016).

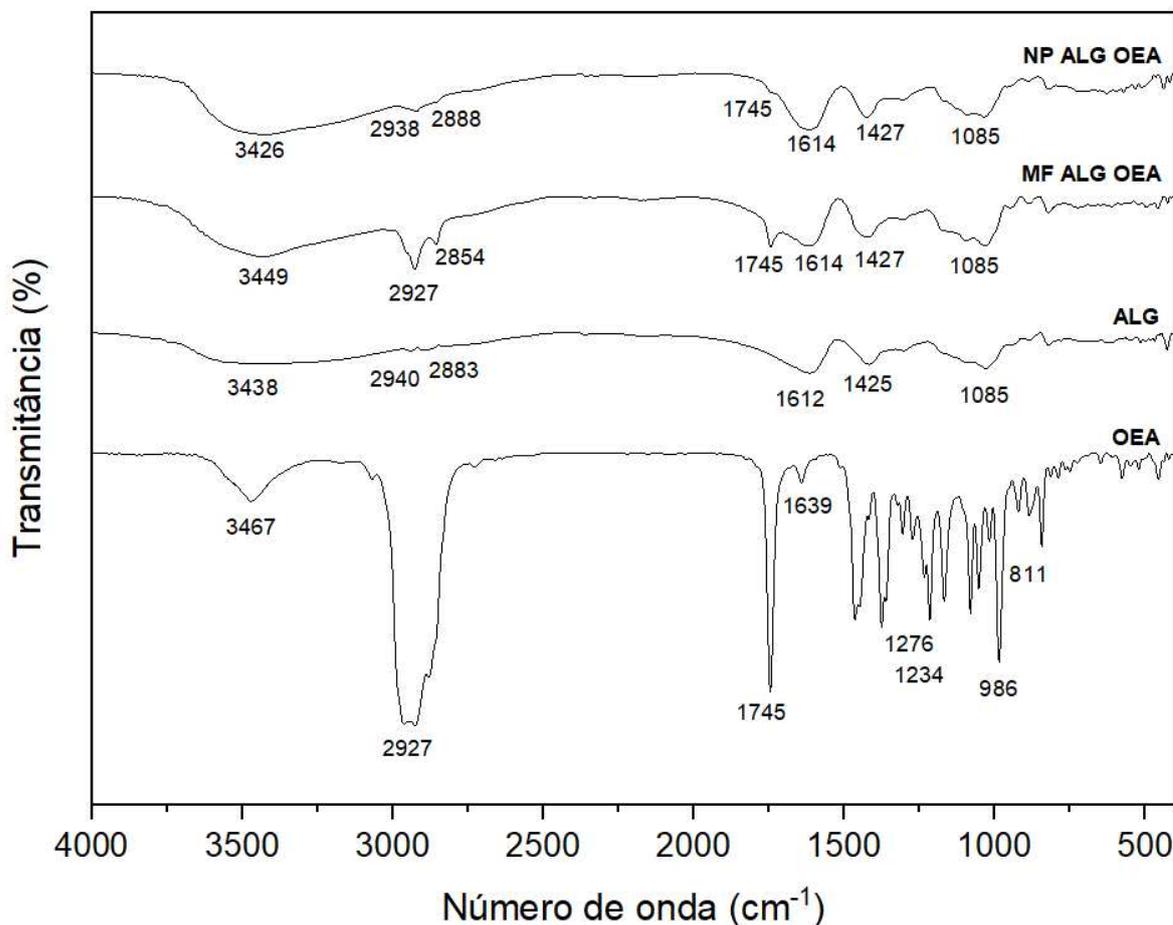
Entretanto, esta interpretação não pode ser conclusiva, devido às limitações da técnica de microscopia, e a sensibilidade dos polímeros às condições analíticas usadas. Além disso, embora a parte escura nas microscopias eletrônicas de transmissão de nanopartículas possa indicar a presença do ativo encapsulado, é importante avaliar cuidadosamente outras características da imagem para confirmar a distribuição do ativo dentro da nanopartícula.

5.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia no infravermelho, fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular. Dessa forma, os espectros de infravermelho são utilizados para identificação de grupos funcionais a partir da localização das diferentes bandas no espectro (BOUGHENDJIOUA e BOUGHENDJIOUA, 2017), podendo assim ser empregado para explicar a interação entre os grupos funcionais dos polieletrólitos de carga oposta (SIMSEK-EGE et al, 2003). Esses resultados também podem ajudar a confirmar a presença de óleo nas nanopartículas (NATRAJAN et al, 2015).

A análise FTIR dos polímeros e óleos essenciais puros, da mistura física dos componentes (MF) e nanopartículas (NP) de cada sistema carreador foi realizada. Para melhor visualização, os espectros foram divididos de acordo com o polímero utilizado e o óleo essencial encapsulado. Nas Figuras 11 e 12, são mostrados os espectros obtidos para o encapsulamento de óleo essencial de alecrim e lavanda, respectivamente, sem o revestimento com quitosana.

Figura 11 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato e óleo essencial de alecrim.



Legenda: OEA: Óleo essencial de alecrim. ALG: Alginato. MF ALG OEA: Mistura física com alginato e óleo essencial de alecrim. NP ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.

Os picos característicos do óleo essencial de alecrim puro são específicos, incluindo um pico amplo centrado em 3467 cm⁻¹ que corresponde ao alongamento dos grupos OH do borneol, juntamente com pequenas quantidades de terpineol e terpineno-4-ol no óleo essencial de alecrim. Além disso, o pico em 2927 cm⁻¹ correspondeu às bandas de alongamento C-H alifáticas dos grupos CH, CH₃ e CH₂ (ESTEVEZ-ARECO et al., 2018; GARCIA-SOTELO et al., 2019). O pico em 1745 cm⁻¹ correspondeu ao alongamento do grupo carbonil (C=O) em terpenóides (por exemplo, acetato de bornil, acetato de terpineol e pinanona). A banda de alongamento C=C dos constituintes no óleo essencial foi observada em 1639 cm⁻¹ (GARCIA-SOTELO et al., 2019). A banda de alongamento C-O ocorreu em 1276 cm⁻¹. Os picos em 1234 cm⁻¹ e 986 cm⁻¹ corresponderam ao alongamento C-C e bandas

de alongamento C-O-C. O pico em 811 cm^{-1} existe devido a um alongamento C-H fora do plano do alceno (LUO et al., 2019). Hosseini et al (2021) também obtiveram resultados semelhantes para o espectro puro do óleo essencial de alecrim.

O alginato exibiu banda de absorção em 3438 cm^{-1} devido ao grupo OH e em torno de 2940 e 2883 cm^{-1} relacionadas ao alongamento C-H. As bandas em 1612 e 1425 cm^{-1} correspondem à vibração de estiramento e simétrico de grupos COO^- referente ao ácido carboxílico. O pico em 1085 cm^{-1} corresponde ao alongamento assimétrico C-O-C (KUMAR, 2015; SANCHES, 2020).

O comportamento das bandas de infravermelho na mistura física e nas nanopartículas foi semelhante a obtida para o alginato puro. Em 1745 cm^{-1} foi observado a banda referente ao alongamento do grupo carbonil (C=O) do óleo essencial de alecrim em ambos os espectros da MF e NPs. Em torno de 2800 e 2900 cm^{-1} foram observadas as bandas referentes tanto ao óleo essencial quanto ao polímero. Na MF elas aparecem com maior intensidade que nas NPs. As bandas observadas no alginato em 1612 e 1425 cm^{-1} aparecem em 1614 e 1427 cm^{-1} na MF e NPs.

O aparecimento de algumas bandas menos intensas do óleo essencial nessas curvas sugere que o óleo foi encapsulado com sucesso e, possivelmente, houve interação química entre o polímero e o óleo, uma vez que a análise de FTIR é feita na superfície das nanopartículas. Amani et al (2021) encapsularam óleo essencial de alecrim em nanoestruturas de amido de milho. Na análise de FTIR do óleo encapsulados foi relatada a presença de novas bandas e ligeiro aumento de intensidade de algumas. Essas alterações estão relacionadas à presença de óleo que interagiu com o amido.

Faidi et al (2019) encapsularam óleo essencial de cravo com alginato de sódio por emulsificação modificada. Nas microesferas, os compostos aromáticos do óleo essencial de cravo estavam presentes com intensidades menores e provavelmente cobertos por outros sinais afirmando a presença das interações eletrostáticas entre os diferentes grupos da matriz. Além disso, a incorporação de óleo essencial de cravo em microesferas de alginato resultou em uma maior intensidade para o sinal referente ao alongamento CH em $2850\text{-}2922\text{ cm}^{-1}$. Esses resultados revelaram a presença de óleo essencial de cravo nas microesferas de alginato, embora não tenham sido observadas interações químicas entre o óleo essencial de cravo e o alginato de sódio (FAIDI et al, 2019).

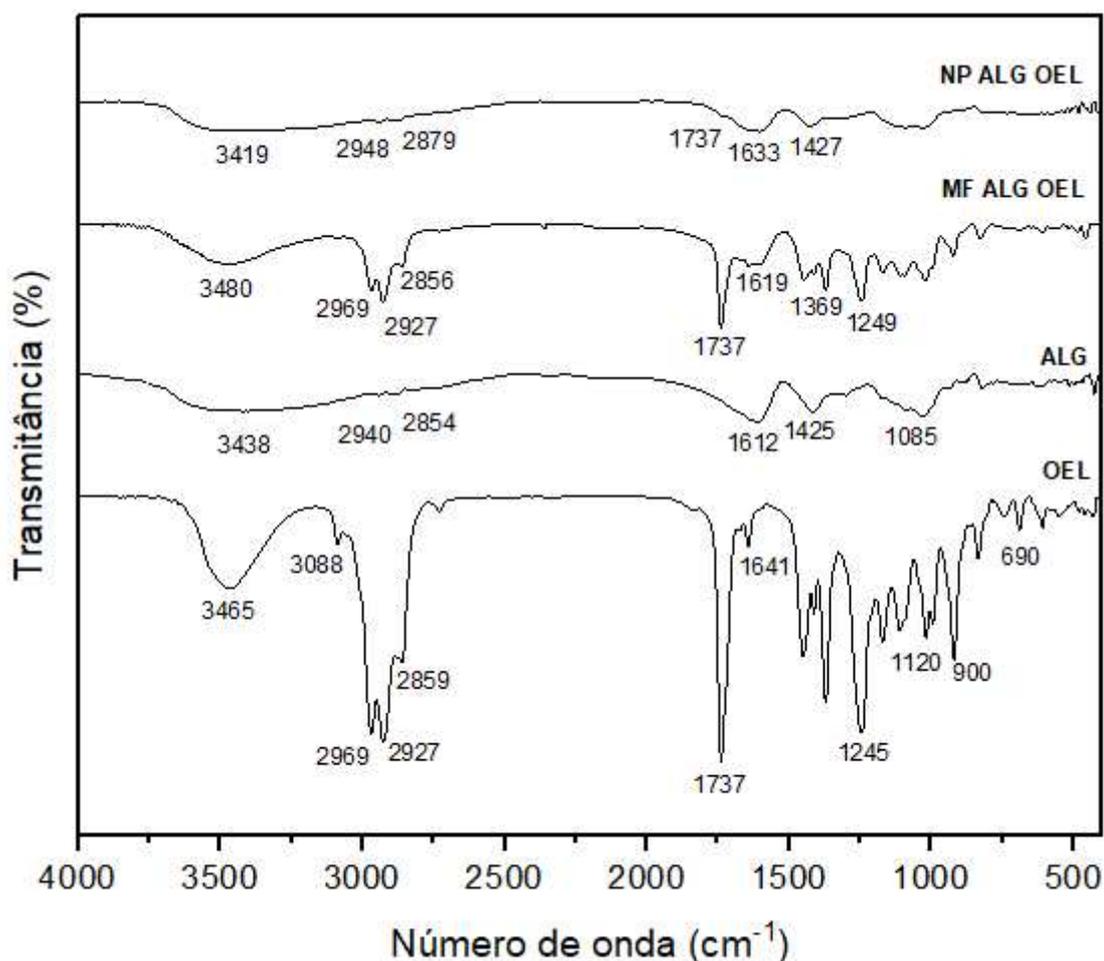
Shabkhiz et al. (2021) encapsularam ácido glicirrízico e óleo essencial de tomilho em β -ciclodextrina e alginato para produzir grânulos de hidrogel. Não houve interação entre os compostos ativos e os grupos funcionais do alginato, mas a interação entre os componentes pode ser explicada por fracas interações de Van der Waals. Isso preserva a natureza dos compostos bioativos e pode aumentar sua taxa de liberação dos hidrogéis.

Não foi realizada a análise de FTIR do cloreto de cálcio usado como reticulador. Dessa forma, a diferença da mistura física para as nanopartículas pode ser devido a formação do complexo de alginato de cálcio. Salmieri e Lacroix (2006) observaram que para bandas de alginato, os houve uma diminuição da intensidade de pico relacionada ao alongamento e flexão de O-H e alongamentos COO⁻ e C-O-C à medida que a concentração de CaCl₂ aumenta. Neste estudo, óleos essenciais de orégano, segurelha e canela foram incorporados separadamente como agentes antioxidantes naturais em filmes à base de alginato/policaprolactona.

Conforme descrito por Wong et al. (2002), as interações entre alginato e Ca²⁺ são caracterizadas principalmente por uma diminuição no número de onda do pico da carbonila de 1600 para 1590 cm⁻¹ e uma redução nas intensidades de pico associadas aos grupos carboxilatos livres do alginato (1600 e 1410 cm⁻¹) e os grupos hidroxila do alginato.

Prasetyaningrum et al (2021) relatou a diminuição considerável da intensidade na banda correspondente ao grupo OH. Este fenômeno pode ser devido à substituição de prótons nos grupos carbonila por íons cálcio durante o processo de reticulação, diminuindo significativamente a quantidade de hidroxila na cadeia polimérica. Em seu estudo, as propriedades do alginato de sódio/k-carragenina foram melhoradas com a reticulação de CaCl₂ incorporado ao óleo essencial de cravo-da-índia. Esse resultado também está de acordo com o relato anterior de Giz et al. (2020).

Figura 12 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato e óleo essencial de lavanda.



Legenda: OEL: Óleo essencial de lavanda. ALG: Alginato. MF ALG OEL: Mistura física com alginato e óleo essencial de lavanda. NP ALG OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda.

No espectro do óleo de lavanda puro, o pico amplo em 3465 cm^{-1} corresponde ao alongamento O-H, o que indica a presença de álcoois (por exemplo, linalol e terpeno-4-ol). A banda forte em 1737 cm^{-1} corresponde ao estiramento C=O, o que indica a presença de grupos carbonil de componentes éster, como acetato de linalil, cânfora e acetato de lavandulil (BALASUBRAMANIAN e KODAM, 2014; DAFERERA, 2002; SAMFIRA, 2015). A presença desses componentes éster é ainda confirmada pelas bandas fortes em 1245 e 1120 cm^{-1} , representando o alongamento de C-O dos grupos éster (BALASUBRAMANIAN e KODAM, 2014; DAFERERA, 2002; SAMFIRA, 2015). As bandas em 1641 e 2969 cm^{-1} estão associadas ao alongamento C=C em componentes como linalol, acetato de linalil, terpeno-4-ol e β -cariofileno no óleo de lavanda (BALASUBRAMANIAN e KODAM, 2014). As vibrações em 690 e 900 cm^{-1} representam as deformações C-H como a da cânfora

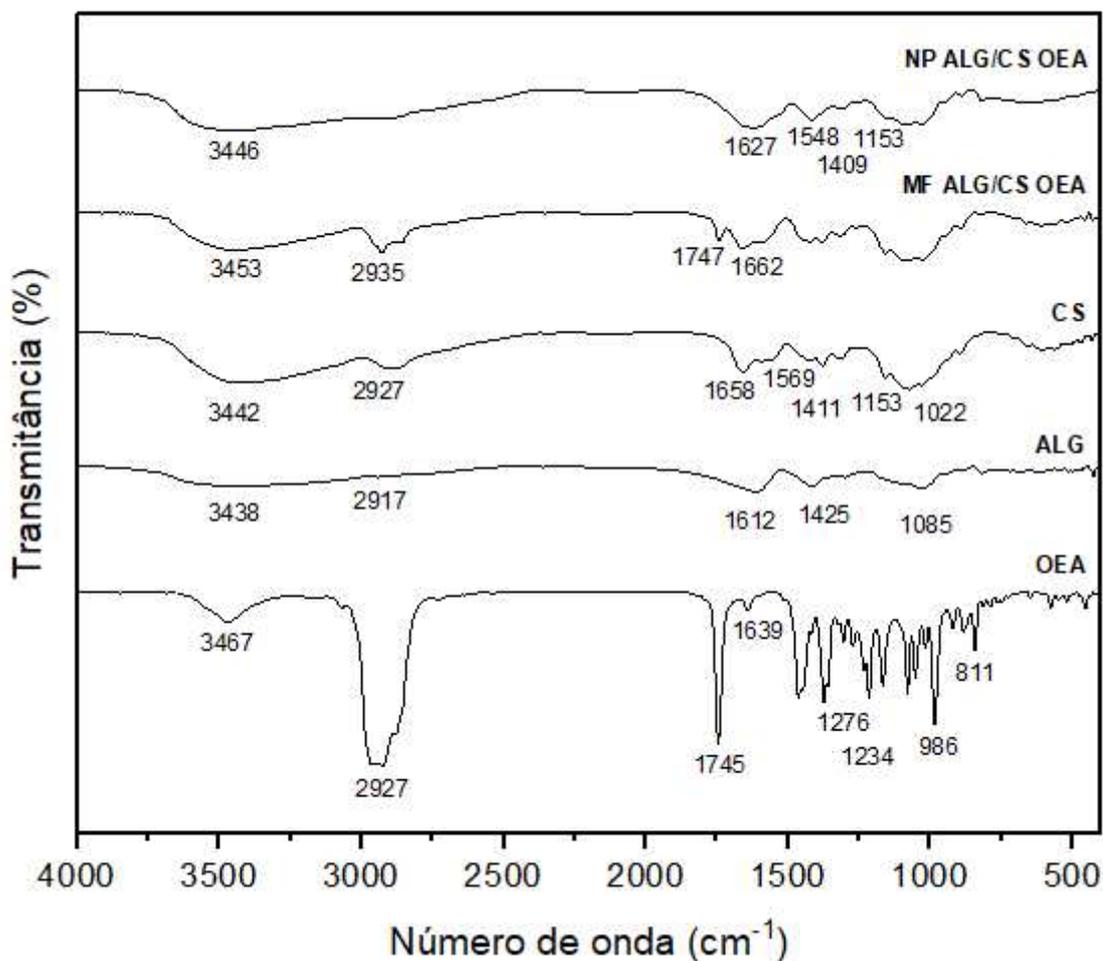
(DAFERERA, 2002; SAMFIRA, 2015; SCHULZ, 2005). O estiramento de metila devido a componentes como terpeno-4-ol, linalol e acetato de linalila também é observado em 2927 e 2859 cm^{-1} (BALASUBRAMANIAN e KODAM, 2014).

Observou-se, em ambos os espectros da mistura física e das nanopartículas, a banda referente ao alongamento do grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) do óleo essencial de lavanda em 1737 cm^{-1} , porém com menor intensidade nas nanopartículas. As bandas em torno de 2800 e 2900 cm^{-1} , referentes ao óleo essencial e ao polímero, foram observadas em ambos os casos, sendo mais intensas na mistura física do que nas nanopartículas, como já havia sido observado anteriormente. A banda observada no alginato em 1612 cm^{-1} apareceu em 1619 cm^{-1} na mistura física e em 1633 cm^{-1} nas nanopartículas, enquanto a banda em 1425 cm^{-1} no alginato apareceu em 1427 cm^{-1} nas nanopartículas. Embora a mistura física tenha apresentado diferenças significativas nas bandas na região entre 700-1600 cm^{-1} em comparação com o espectro do alginato, nas nanopartículas a semelhança entre os espectros é maior, sugerindo um sucesso no encapsulamento do óleo.

Microcápsulas carregadas com óleo essencial de perilla foram preparadas por gelificação iônica por Li et al. (2018). Espectros de misturas físicas de alginato de sódio e óleo essencial exibiram picos de alginato de sódio e óleo essencial com pequenas mudanças e diferenças no número de onda e altura da banda. Esses resultados confirmaram a presença do óleo em microcápsulas de alginato.

Também foram realizadas as análises de FTIR para os sistemas carreadores compostos por alginato/quitosana para o óleo essencial de alecrim e lavanda, como mostrado nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

Figura 13 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema com alginato, quitosana e óleo essencial de alecrim.



Legenda: OEA: Óleo essencial de alecrim. ALG: Alginato. CS: quitosana. MF ALG/CS OEA: Mistura física com alginato, quitosana e óleo essencial de alecrim. NP ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio/quitosana contendo óleo essencial de alecrim.

Para a quitosana, a banda larga de absorção em torno de 3442 cm⁻¹ está ligada a vibração de estiramento N-H e O-H (QUIROZ-CASTILLO et al, 2014). Em 2927 cm⁻¹ o estiramento C-H. As bandas de absorção em 2873 cm⁻¹ e entre 1658 e 1569 cm⁻¹ estão relacionadas ao estiramento C=O do grupo amida da quitosana. As bandas de absorção em 1377 e 1067 cm⁻¹ correspondem a vibração de estiramento C-N e C-O-C, respectivamente (CHANDRA et al, 2015). Vibrações de deformação de aminas geralmente produzem bandas fortes a muito fortes na região de 1658–1569 cm⁻¹. A banda em 1583 cm⁻¹ é a vibração de flexão N-H que se sobrepõe à vibração da amida II e que a banda de 1645 cm⁻¹ é a vibração da amida I (HOSSEINI et al, 2013; LAWRIE et al, 2007).

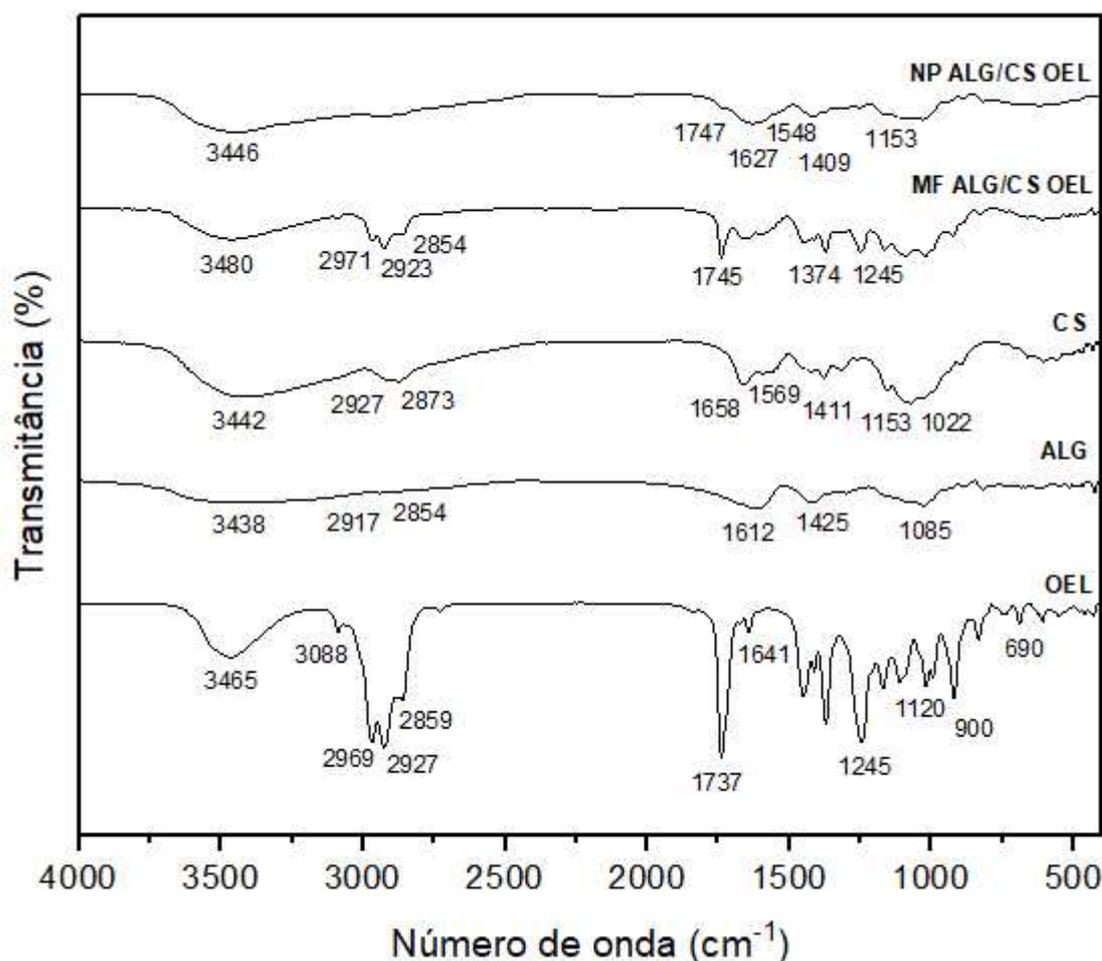
Na mistura física foi observado uma banda em 1747 cm⁻¹ referente ao alongamento do grupo carbonil (C=O) do óleo essencial de alecrim. As bandas em

3453, 2927 e 1662 cm^{-1} aparecem deslocadas com relação aos componentes individuais, sugerindo uma interação entre os componentes, mesmo na mistura física.

Após a complexação com quitosana, as bandas correspondentes a carboxila do alginato em 1612 cm^{-1} (vibração de alongamento COO^- simétrica) e 1425 cm^{-1} (vibração de alongamento COO^- assimétrico) estão ampliados e deslocados ligeiramente de 1612 para 1627 cm^{-1} e de 1425 para 1409 cm^{-1} , respectivamente, nas nanopartículas. O espectro FTIR da quitosana apresenta um pico de ligação amida em 1658 cm^{-1} e um forte pico de amina protonada em 1569 cm^{-1} devido à sua obtenção a partir da N-desacetilação parcial da quitina. No entanto, após a complexação com alginato, ambos os picos foram deslocados de forma semelhante em alguns números de onda, com o pico de amida em uma banda singleto em 1627 cm^{-1} e o pico de amina em 1548 cm^{-1} . Sarmiento et al. (2006) preparou nanopartículas contendo insulina por meio da pré-gelificação ionotrópica de alginato com cloreto de cálcio, seguida de complexação entre alginato e quitosana. A avaliação das interações dos polieletrólitos por meio de FTIR resultou em conclusões semelhantes.

Conforme descrito por Wong et al. (2002), uma redução nas intensidades de pico associadas aos grupos carboxilatos livres do alginato (1600 e 1410 cm^{-1}) e os grupos hidroxila do alginato indica que a gelificação iônica aumentou a extensão das interações polímero-polímero por meio de porções hidroxila e carbonila. Wang et al. (2001) observaram uma evolução semelhante e mostraram que os coacervados de alginato de quitosana apresentaram bandas de IV com intensidades maiores à medida que os filmes eram mantidos em condições mais úmidas. Conseqüentemente, uma redução significativa da intensidade da banda de alongamento O-H pode estar relacionada a uma redução das interações polímero-água via reticulação de alginato que aumenta a ligação de hidrogênio intermolecular do polímero e, conseqüentemente, reduz sua suscetibilidade à hidratação.

Figura 14 – Espectro de FTIR correspondente ao sistema contendo alginato, quitosana e óleo essencial de lavanda.



Legenda: OEL: Óleo essencial de lavanda. ALG: Alginato. CS: quitosana. MF ALG CS OEL: Mistura física com alginato, quitosana e óleo essencial de lavanda. NP ALG/CS OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

Em 1737 cm⁻¹, a banda correspondente ao estiramento C=O do óleo essencial de lavanda apareceu na mistura física e com intensidade muito baixa nas nanopartículas. Além disso, as demais bandas destacadas na mistura física aparecem deslocadas com relação aos componentes individuais, sugerindo uma interação entre os componentes.

Nas nanopartículas, assim como observado na Figura 13, as alterações observadas nas bandas de absorção dos grupos amino, grupos carboxila e ligações amida podem ser atribuídas a uma interação iônica entre o grupo carbonila do alginato e o grupo amino da quitosana (RIBEIRO et al, 2005). Além disso, o pico de absorbância dos grupos amino da quitosana em 1153 cm⁻¹ também estava presente após a complexação e ausente no alginato. Observações semelhantes foram relatadas anteriormente (MITREVEJ et al, 2001). Esses resultados sugerem uma

interação efetiva entre os polímeros e parecem estar de acordo com as razões estequiométricas entre eles, indicando a presença de alginato na blenda final.

5.5 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA

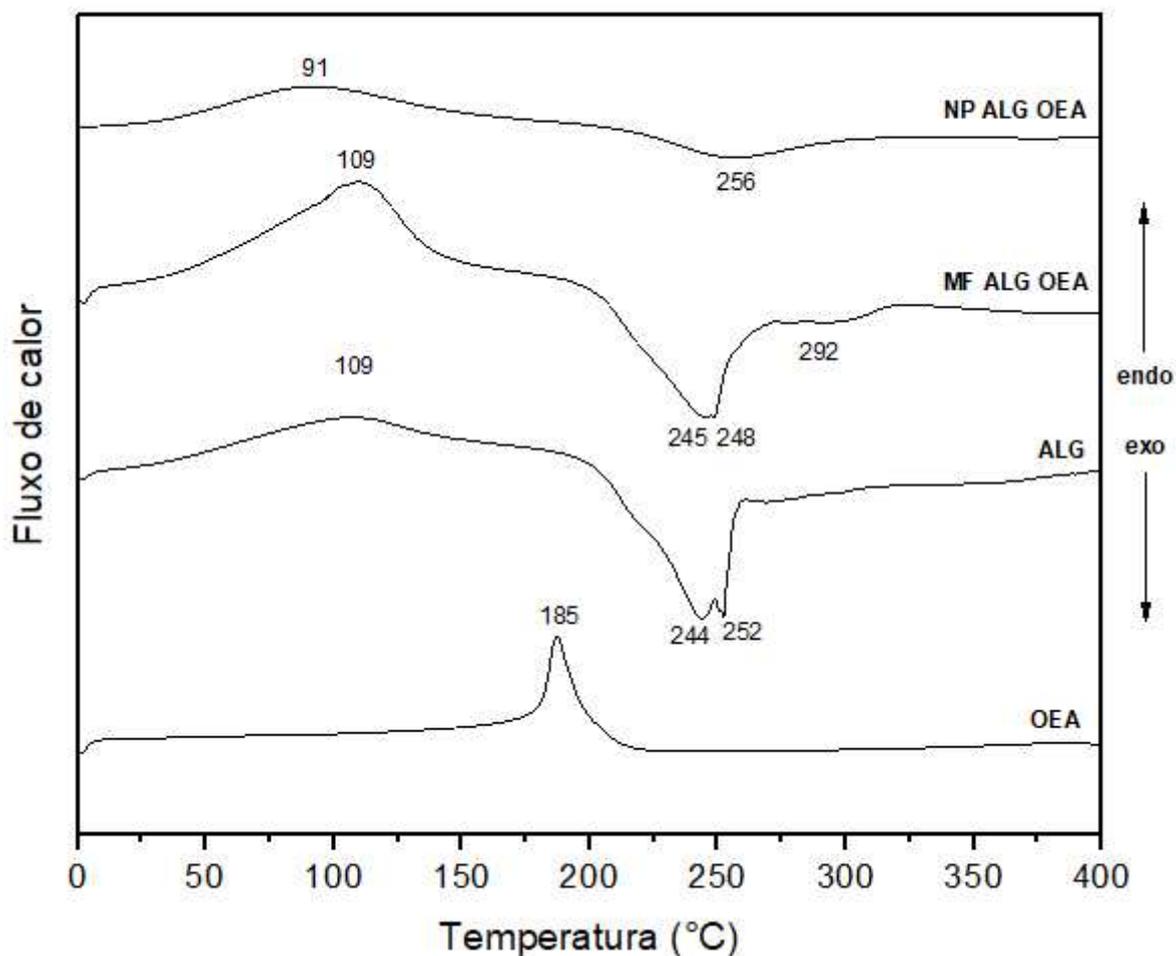
A técnica de Calorimetria de Varredura Diferencial (do inglês, *Differential Scanning Calorimetry*, ou DSC), pode ser definida como uma técnica que mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Tais medidas fornecem informações qualitativas e quantitativas sobre mudanças físicas e químicas que envolvem processos endotérmicos, exotérmicos ou mudanças de capacidade calorífica (BORGES et al., 2005).

Pode ser empregada para avaliar o comportamento térmico de polieletrólitos e biomoléculas, cuja estrutura, propriedades hidrofílicas e estado de associação podem estar relacionados a esse comportamento. O método se baseia na medição da capacidade térmica da amostra em função da temperatura. Através deste procedimento, é possível obter o perfil completo da variação de energia de Gibbs associada à perda de água em polímeros, desnaturação em proteínas e despolimerização em altas temperaturas. As mudanças nos picos exotérmicos e endotérmicos são frequentemente associadas a interações entre o ativo e os polímeros (RIBEIRO et al., 2005; WONG et al., 2002).

A análise DSC dos polímeros e óleos essenciais puros, mistura física dos componentes (mesma proporção das nanopartículas) e nanopartículas de cada sistema carreador foi realizada. Para melhor visualização, os termogramas foram divididos de acordo com o polímero utilizado e o óleo essencial encapsulado. Cada termograma é então composto pelo óleo essencial puro, polímero puro, mistura física dos componentes e nanopartículas.

As curvas dos sistemas carreadores contendo alginato e óleo essencial de alecrim e lavanda são apresentados nas Figuras 15 e 16, respectivamente. Nos termogramas, eventos endotérmicos aparecem primeiro e com o pico para cima enquanto nos eventos exotérmicos o pico aponta para baixo e vem em seguida (LEMOS, 2003).

Figura 15 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato e óleo essencial de alecrim.



Legenda: OEA: Óleo essencial de alecrim. ALG: Alginato. MF ALG OEA: Mistura física com alginato e óleo essencial de alecrim. NP ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.

É possível observar um pico endotérmico referente à evaporação do óleo essencial de alecrim em 185°C. O termograma do alginato mostra um pico endotérmico em 109°C e picos exotérmicos em 244°C e 252°C, respectivamente. Os picos endotérmicos estão relacionados com a perda de água associada a grupos hidrofílicos de polímeros, enquanto os picos exotérmicos resultaram da degradação de polieletrólitos devido a reações de desidratação e despolimerização, provavelmente à descarboxilação parcial dos grupos carboxílicos protonados dos polieletrólitos (MIMMO et al, 2005; SOARES et al, 2004; ZOHURIAAN e SHOKROLAHI, 2004). Já os picos exotérmicos se referem à decomposição da cadeia polimérica (DE OLIVEIRA et al, 2014).

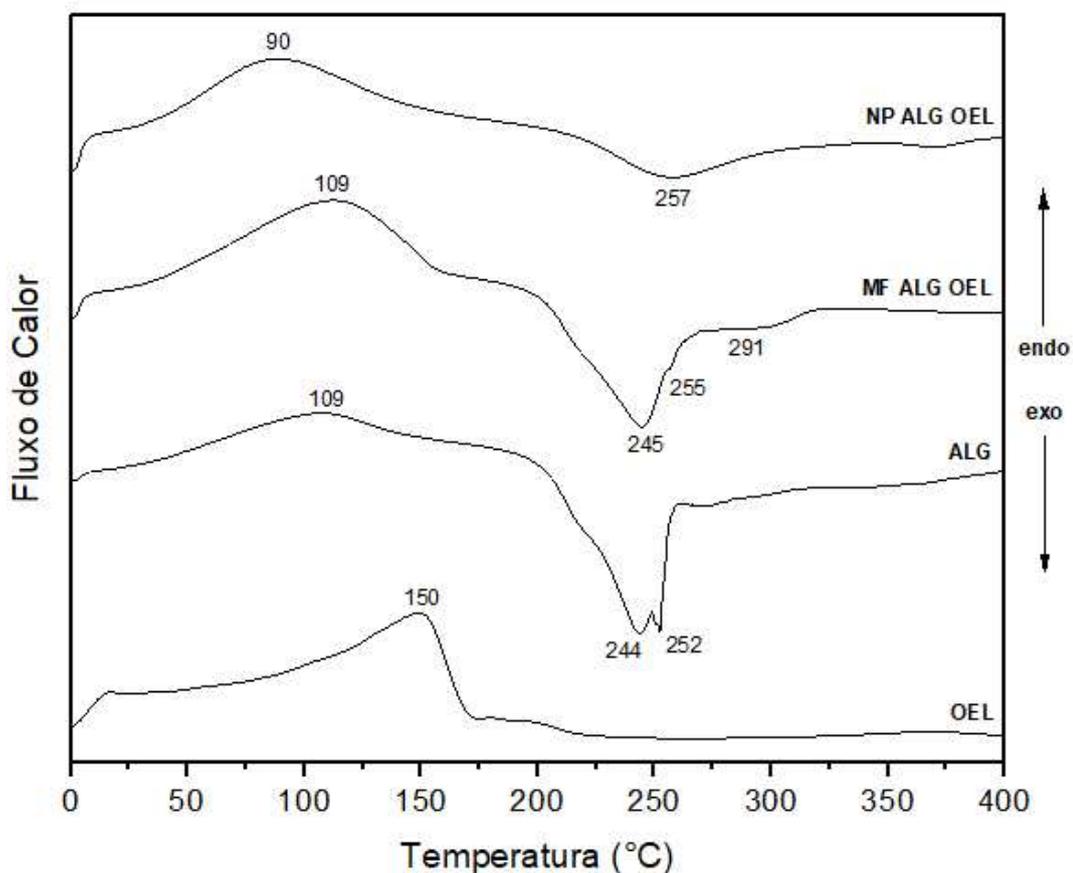
O pico exotérmico duplo em 244 e 252°C passou para 245 e 248°C e ocorreu a formação de um ombro em 292°C, sugerindo que houve alguma interação entre o

polímero e o óleo essencial mesmo na mistura física. Nota-se ainda que o pico referente ao óleo essencial de alecrim não apareceu na MF. Biopolímeros tem estrutura amorfa, podendo levar a sobreposição dos picos e isso pode influenciar na visualização do pico do óleo essencial no DSC. Outra hipótese é a fusão e interação dos componentes no porta amostra durante a análise da mistura física.

Para as nanopartículas de alginato de cálcio foram obtidos um pico endotérmico em 91°C e um exotérmico em 256°C. Observa-se, portanto, que houve um deslocamento para uma temperatura maior do pico exotérmico. Baek et al (2018) utilizaram alginato como material de base para filmes biodegradáveis. Cloreto de cálcio foi usado como agente de reticulação e várias concentrações de óleo de folha de canela ou óleo de casca de canela foram incorporadas para preparar filmes ativos. Neste estudo, foi relatado que a reticulação do alginato com CaCl_2 desloca pico exotérmico para uma temperatura mais alta.

Su et al (2011) investigaram a interação entre alginato e colágeno semelhante ao humano e desenvolveram microesferas para aumentar a sobrevivência de bifidobactérias no suco gastrointestinal. O alginato de sódio apresentou um pico exotérmico a 239 °C. A curva DSC dos grânulos de alginato de cálcio foi semelhante à do alginato de sódio, enquanto a forma do pico endotérmico dos grânulos de alginato de cálcio foi mais estreita do que a do alginato de sódio e o pico exotérmico moveu-se para 248 °C no espectro das esferas de alginato de cálcio.

Figura 16 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato e óleo essencial de lavanda.

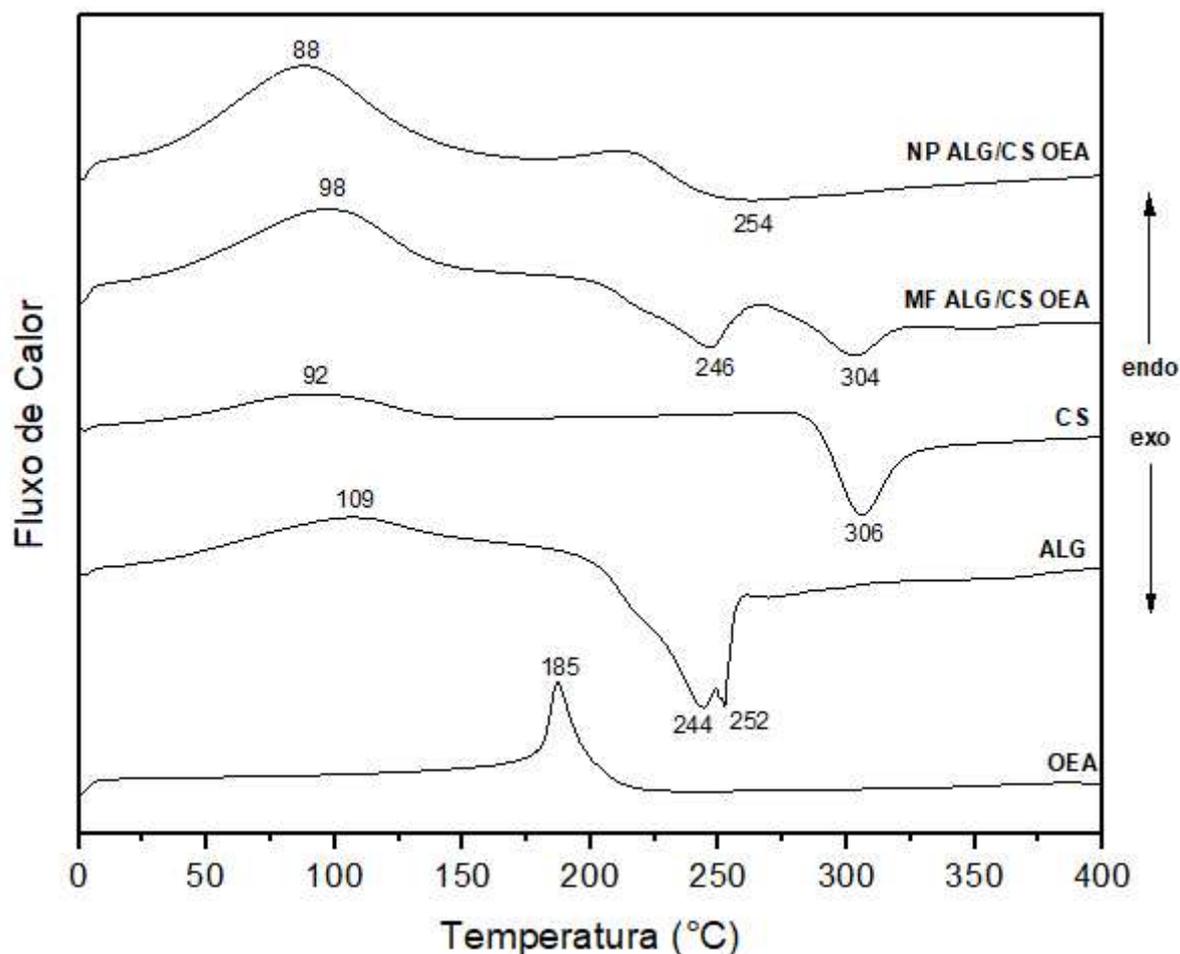


Legenda: OEL: Óleo essencial de lavanda. ALG: Alginato. MF ALG OEL: Mistura física com alginato e óleo essencial de lavanda. NP ALG OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda.

Na Figura 15, o pico endotérmico referente a volatilização de componentes do óleo essencial de lavanda foi em 150°C. Novamente na mistura física, nota-se que o pico referente ao óleo essencial de lavanda não apareceu. Além disso, houve um aumento na intensidade do pico endotérmico correspondente ao alginato em 109°C, o pico exotérmico duplo em 244 e 252°C passou para 245 e 255°C e ocorreu a formação de um ombro em 291°C, sugerindo que houve alguma interação entre o polímero e o óleo essencial mesmo na mistura física. No termograma das nanopartículas foi observado o deslocamento do pico endotérmico para 90°C e a formação de um pico exotérmico em 257°C. Os mesmos argumentos feitos anteriormente para as nanopartículas de alginato de cálcio com óleo essencial de alecrim podem ser consideradas aqui para o termograma das nanopartículas de alginato de cálcio com óleo essencial de lavanda.

Nas Figuras 17 e 18 são apresentadas as curvas dos sistemas carreadores de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim e lavanda, respectivamente.

Figura 17 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato, quitosana e óleo essencial de alecrim.



Legenda: OEA: Óleo essencial de alecrim. ALG: Alginato. CS: quitosana. MF ALG/CS OEA: Mistura física com alginato, quitosana e óleo essencial de alecrim. NP ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio/quitosana contendo óleo essencial de alecrim.

O termograma da quitosana mostra um pico endotérmico em 92°C e um pico exotérmico em 306°C. A curva da mistura física de alginato/quitosana mostra um pico endotérmico mais amplo em 98°C, o que provavelmente representa a coalescência de picos de polímeros endotérmicos isolados e picos exotérmicos a 246°C e 304°C resultantes da contribuição individual de alginato e quitosana, respectivamente (SARMENTO et al, 2006). Já as nanopartículas de

alginate/quitosana sofreram um deslocamento do pico endotérmico para 88°C e a formação de um único pico exotérmico em 254°C.

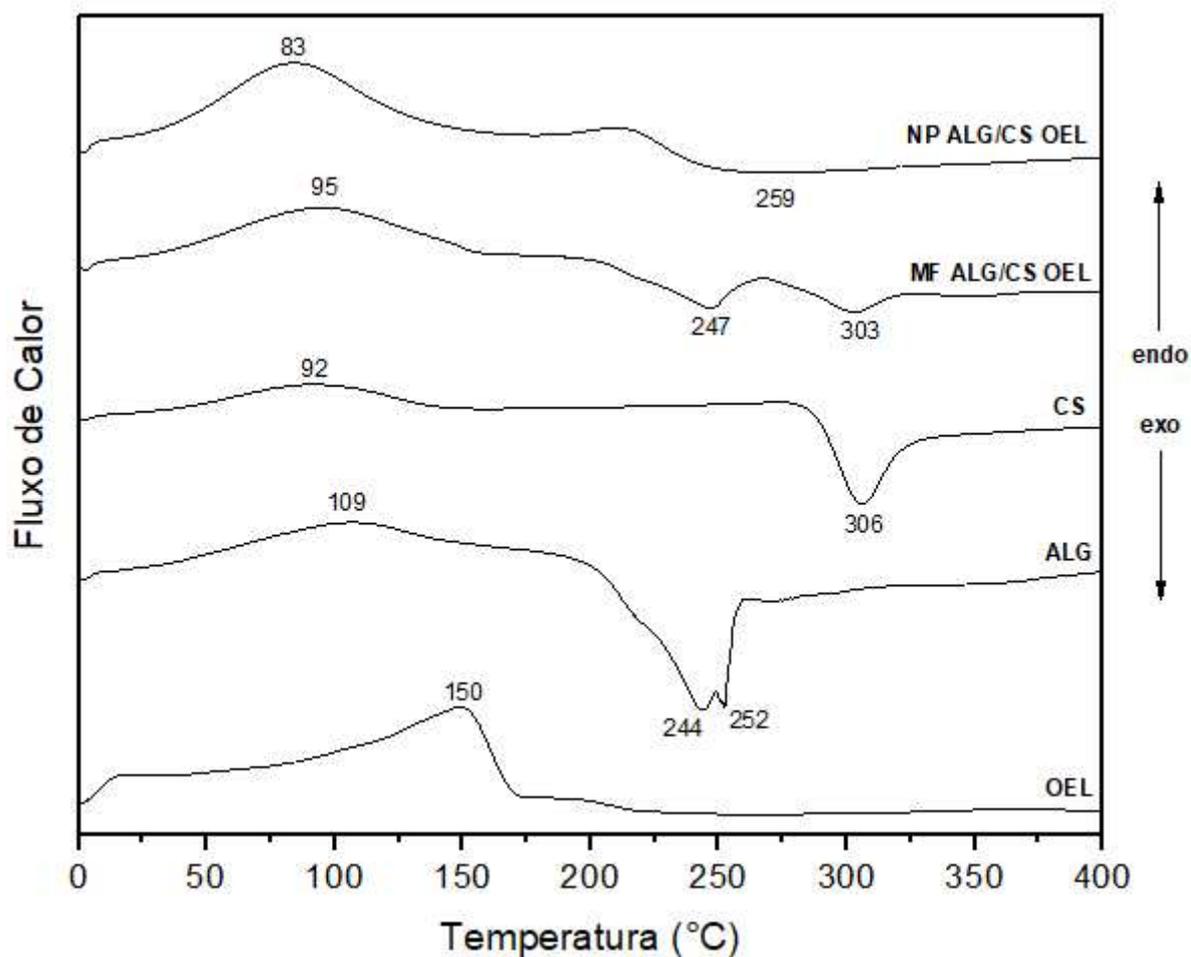
Bagre e colaboradores (2013) relataram em seu estudo com nanopartículas de quitosana revestidas com alginato que o termograma da mistura física de alginato e quitosana mostrou um pico endotérmico mais amplo em 81,72°C, o que provavelmente representa a coalescência de picos poliméricos endotérmicos isolados e picos exotérmicos resultantes da contribuição individual de alginato e quitosana, respectivamente. Além disso, os picos dos complexos foram deslocados daqueles da mistura física. A interação do alginato com a quitosana devido à complexação dos polímeros resultou na formação de novas ligações químicas. Um pico endotérmico em 80,6°C e um pico exotérmico de nanopartículas de quitosana de alginato foram registrados em 286,99°C, um valor de pico intermediário e mais amplo em comparação com polieletrólitos isolados, que foi interpretado como uma interação entre os dois polímeros (BAGRE et al, 2013)

Como relatado em Sarmiento et al (2006) para nanopartículas de alginato/quitosana produzidas em pH 4,7, os picos dos complexos foram deslocados daqueles da mistura física. Os picos de mistura física parecem ser combinações de cada material, mas são diferentes dos das nanopartículas, provavelmente porque a complexação dos polieletrólitos resultou em novas ligações químicas. O pico exotérmico das nanopartículas de alginato/quitosana foi registrado a 254°C, um valor de pico intermediário e mais amplo em comparação com os polieletrólitos isolados, o que foi interpretado como uma interação entre ambos os componentes.

Ribeiro et al. (2005) encapsularam proteínas em microesferas de alginato por emulsificação/gelificação interna. A formulação das microesferas foi realizada usando condições de pH e aplicando um revestimento de quitosana nas microesferas de alginato para favorecer o encapsulamento de proteínas. As curvas DSC mostraram um amplo pico endotérmico entre 25 e 100°C para polieletrólitos isolados e sua mistura física. Os complexos quitosana-alginato apresentaram um pico endotérmico duplo entre 50 e 100°C. Todas as amostras apresentaram picos exotérmicos entre 236 e 345°C. Primeiro pico exotérmico em alginato e sua mistura física com quitosana, em torno de 252-253°C, foi deslocado para 237 °C no complexo CS-ALG.

A seleção de polímeros com cargas opostas nos compartimentos de núcleo e casca facilita a complexação de polieletrólitos por meio de interações eletrostáticas entre eles (SHAMSADEH et al, 2022).

Figura 18 – Curvas de DSC obtidas para o sistema contendo alginato, quitosana e óleo essencial de lavanda.



Legenda: OEL: Óleo essencial de lavanda. ALG: Alginato. CS: quitosana. MF ALG CS OEL: Mistura física com alginato, quitosana e óleo essencial de lavanda. NP ALG/CS OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

Na Figura 18, a curva da mistura física de alginato/quitosana mostra um pico endotérmico mais amplo em 95°C, o que provavelmente representa a coalescência de picos de polímeros endotérmicos isolados e picos exotérmicos a 247°C e 303°C resultantes da contribuição individual de alginato e quitosana, respectivamente, como observado também na Figura 17.

O pico endotérmico das nanopartículas de alginato/quitosana sofreram um deslocamento para 83°C e a formação de um único pico exotérmico em 259°C. Shamszadeh e colaboradores (2022) relataram o aparecimento de um pico endotérmico mais amplo no termograma DSC de micropartículas núcleo-casca entre os picos de quitosana pura e alginato, mostrando interação física dos polímeros.

A ausência do pico endotérmico dos óleos essenciais para as amostras de nanopartículas nos quatro sistemas carreadores sugere que os óleos estão interagindo com os polímeros. Policaprolactona foi empregada no encapsulamento do óleo essencial de orégano pelos métodos de nanoprecipitação e dupla emulsão por Fraj et al (2019). Em ambos os casos, o desaparecimento do pico endotérmico do óleo essencial nesta curva indica que ele estava disperso dentro do sistema polimérico das nanocápsulas e microesferas, ou está confinado em um núcleo oleoso e/ou adsorvido à parede do polímero.

O óleo essencial de canela foi encapsulado pelo método milifluídico utilizando alginato, cloreto de cálcio e quitosana no estudo conduzido por FARAHMAND et al. (2022). O pico de evaporação do solvente residual em óleos desapareceu nos termogramas das cápsulas revestidas com quitosana e carregadas com óleo essencial. Isso revelou a incorporação bem-sucedida do óleo no polímero encapsulante e maior estabilidade térmica do óleo encapsulado. Além disso, a ausência de picos adicionais nas cápsulas em comparação com as amostras puras não indicou interação entre óleo/alginato/quitosana (HADIDI et al, 2020)

Rezaeinia et al (2019) também observaram o desaparecimento do pico endotérmico referente a evaporação do óleo essencial o que comprova o encapsulamento bem-sucedido, segundo os autores. Além disso, a comparação do termograma de amostras puras com o das nanocápsulas não indica nenhum pico adicional, o que é uma indicação de ausência de interação entre os componentes.

Assim, o DSC demonstra ser uma técnica eficaz na avaliação da formação de nanopartículas, visto que é possível observar a ausência de eventos térmicos nas moléculas de óleo essencial e a presença de novos picos deslocados, indicando a interação entre os polímeros e o óleo. No entanto, é recomendável utilizar outras técnicas de caracterização para obter uma avaliação mais precisa.

5.6 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

A eficiência de encapsulação (EE) é um parâmetro importante para avaliar a capacidade da partícula em reter o composto ativo. As técnicas utilizadas para determinar a eficiência de encapsulação podem ser técnicas analíticas de separação, identificação e quantificação como cromatografia de alta eficiência (CLAE) ou técnicas de identificação e quantificação por espectroscopia do UV-vis (MORA-HUERTAS et al, 2010). É importante mencionar que quando se analisam óleos essenciais com componentes similares em sua composição, a quantificação pode ser indireta. Isso ocorre porque mais de um componente pode estar absorvendo no mesmo comprimento de onda e, portanto, ser quantificado como tal.

A avaliação da eficiência de encapsulação dos óleos essenciais de alecrim e lavanda em alginato de cálcio e alginato de cálcio/quitosana foi realizada através da construção de curvas de calibração de cada óleo essencial no espectrofotômetro UV-Vis. Inicialmente foi realizada uma varredura de cada óleo essencial diluído em etanol de 200 a 800 nm. A concentração de teste foi de 1 mg mL⁻¹. Foram testadas concentrações acima e abaixo desse valor e o pico com melhor ajuste linear foi selecionado como o comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$).

As Figuras 19 e 20 mostram a curva padrão obtida para a quantificação dos óleos essenciais de alecrim e lavanda, respectivamente.

Figura 19 – Curva padrão para quantificação do teor de óleo essencial de alecrim.

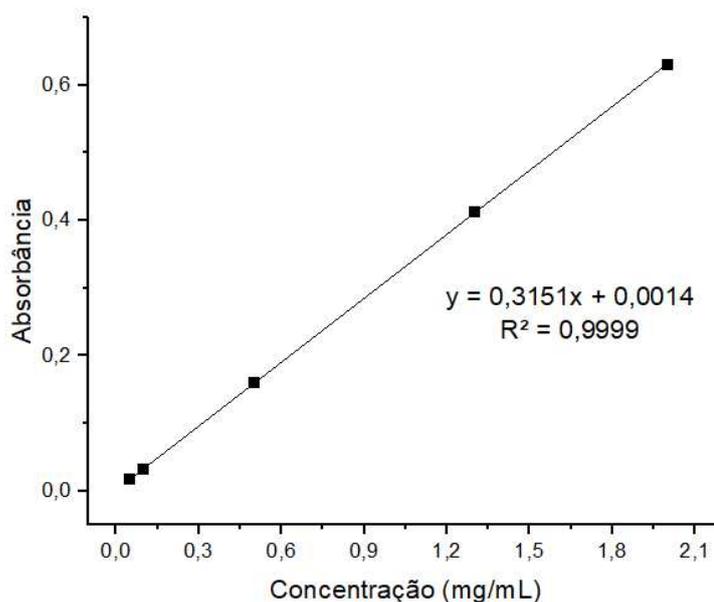
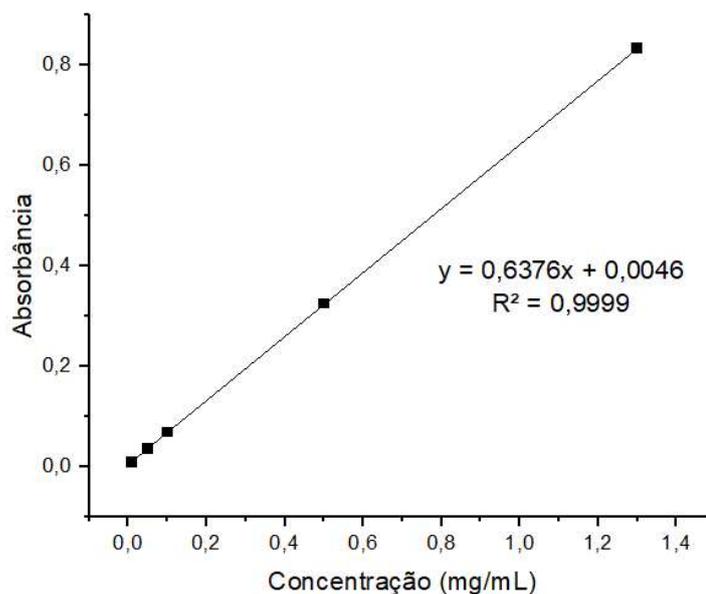
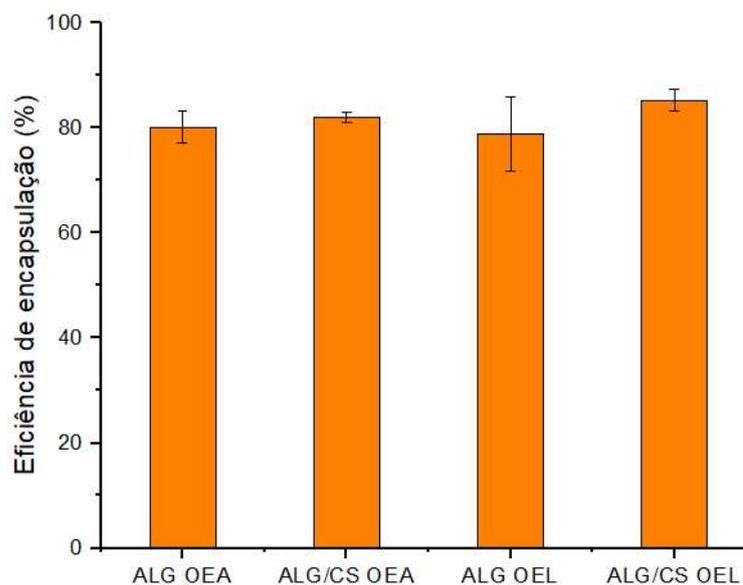


Figura 20 – Curva padrão para quantificação do teor de óleo essencial de lavanda.



O gráfico da Figura 21 mostra a % eficiência de encapsulação obtida para cada dispersão de nanopartículas.

Figura 21 – Eficiência de encapsulação obtida para as dispersões de nanopartículas.



Legenda: ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.
 ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. ALG OEL:
 Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. ALG/CS OEL:
 Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

Todos os sistemas de nanopartículas apresentaram eficiência de encapsulação acima de 70 %, o que é considerado um resultado positivo. Toprakçi e Şahin (2022) produziram microesferas de alginato-quitosana na encapsulação do extrato de folha de oliveira com desempenho altamente satisfatório (>70% de eficiência). Em Kim et al., (2008), a eficiência de aprisionamento de isotiocianato de alilo foi determinada como sendo 81%, 57% e 56% para esferas de gel de alginato de cálcio, alginato de cálcio revestidas com quitosana e complexo quitosana-alginato de cálcio.

De forma geral, a eficiência de encapsulação pode ser influenciada por diversos parâmetros, como proporção polímero:óleo, a concentração do polímero, técnica de encapsulação utilizada e outros parâmetros de processo (pH, agitação etc.). Outros fatores importantes são o número de camadas depositadas, tipo de revestimento utilizado, a interação deste com o composto ativo, sua natureza química e polaridade (RIVERA et al, 2015).

Não houve diferença significativa entre os sistemas de alginato e alginato/quitosana ($p > 0,05$). Entretanto, as nanopartículas com revestimento adicional de quitosana apresentaram um valor médio de eficiência maior para ambos os óleos essenciais. Omer et al (2021) utilizaram alginato, carboximetil quitosana e derivados de quitosana aminada para desenvolver microcápsulas sensíveis ao pH capazes de transportar e liberar eficientemente o medicamento diclofenaco sódico. A técnica de gelificação iônica foi empregada para formular as microcápsulas de PECs, protegendo as microcápsulas de alginato da rápida desintegração nas condições do cólon e reduziu sua porosidade, além de serem capazes de encapsular efetivamente 95,4 % do fármaco em comparação com 86,3 e 68,6 % das microcápsulas de alginato e alginato-carboximetil quitosana.

Um dos fatores que afetam a liberação precoce do óleo nas nanopartículas de alginato de cálcio são baixas concentrações de alginato e cloreto de cálcio. Essas condições favoreceriam um tamanho maior de poro e criação de uma estrutura porosa. Assim, o movimento das gotas de óleo para a superfície das partículas é facilitado resultando em alta liberação de óleo essencial, como observado por Gholamian et al (2021).

De acordo com Praveen et al. (2015) e Cong et al. (2018), a fabricação de grânulos de alginato em alta concentração resulta em uma matriz de grânulos mais apertada, o que aumenta a eficiência de aprisionamento devido à difusão mais lenta.

Além disso, um aumento na quantidade de alginato pode proporcionar uma maior disponibilidade de sítios ativos na cadeia polimérica do alginato e criar um maior grau de reticulação entre o íon cálcio e o alginato, o que leva a um aumento na capacidade de carga.

Os resultados obtidos indicam que os sistemas de nanopartículas foram eficientes na encapsulação dos óleos essenciais e que a escolha dos materiais de parede e da técnica de encapsulação foi adequada. A avaliação da liberação dos óleos essenciais das nanopartículas, portanto, se torna importante para validar a hipótese de que uso de quitosana realmente melhora a barreira de proteção da nanopartícula uma vez que a liberação controlada do óleo essencial também é um fator crucial para a eficácia do sistema de nanopartículas em diversas aplicações.

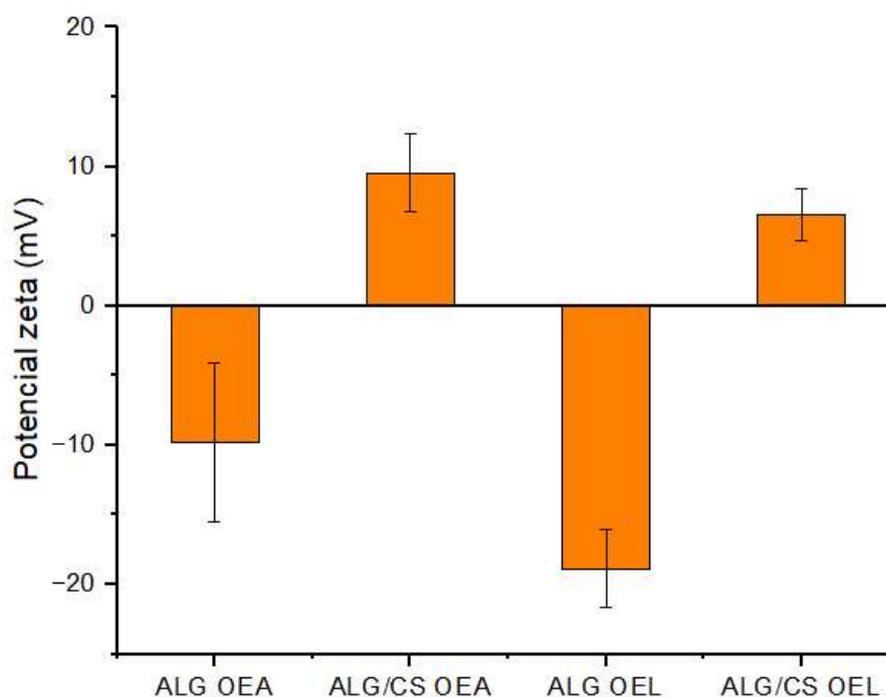
5.7 POTENCIAL ZETA

Quando uma partícula coloidal entra em contato com um meio polar, como em um sistema aquoso, ocorre um aparecimento de cargas elétricas na sua superfície. Isto se deve a efeitos como a ionização dos grupos presentes na superfície do coloide ou da adsorção de íons que fornecem as cargas superficiais (HUNTER, 2013). Um método de se medir a carga da partícula é pela aplicação de um campo elétrico à dispersão, de modo a determinar a velocidade com que as partículas se movimentam no processo conhecido como eletroforese. Quanto maior a carga na superfície, maior a velocidade com que as partículas se deslocam (BARANY et al, 1998).

Dessa forma, o potencial zeta representa a carga superficial da partícula, sendo uma medida indireta da carga das partículas (CAI et al., 2006; DELGADO et al., 2005; GÜNGÖR et al. (2001). Dependendo da natureza química dos polímeros utilizados, as partículas com superfícies iônicas podem ser classificadas como aniônica (negativa) ou catiônica (positiva) (SANTANDER-ORTEGA et al., 2010).

A Figura 22 mostra o potencial zeta obtido para cada dispersão avaliada.

Figura 22 – Potencial zeta das dispersões de nanopartículas.



Legenda: ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim. ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. ALG OEL: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. ALG/CS OEL: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

Foram obtidos valores negativos de potencial zeta para as nanopartículas revestidas com alginato e valores positivos para as nanopartículas revestidas com alginato/quitosana. Essa já era um resultado esperado, uma vez que os grupos carboxílicos presentes nas extremidades das cadeias de alginato são carregados negativamente e os grupos amino protonados da quitosana possuem carga positiva. Essa inversão de cargas após a adição de quitosana indica uma montagem bem sucedida dos biopolímeros como materiais de parede.

Bagre et al (2013) desenvolveram nanopartículas de quitosana revestidas com alginato e observaram a inversão do potencial zeta de positivo (+39,3 mV) para negativo (-31,0 mV). Li e colaboradores (2008) fizeram relatos semelhantes em seus estudos de preparação de micrcápsulas de quitosana revestidas com alginato para carrear uma proteína modelo.

O potencial zeta é um importante indicador da estabilidade de dispersões de nanopartículas, onde uma carga elétrica mais elevada na superfície dos

nanocarreadores impede a agregação das partículas devido às fortes forças repelentes entre elas (KEDAR et al. 2010; SAWANT e DODIYA, 2008). Em geral, valores absolutos de potencial zeta acima de 30 mV são considerados indicativos de boa estabilidade (JACOBS et al. 2000; WISSING et al. 2004), enquanto valores acima de 60 mV indicam excelente estabilidade. Valores na faixa de -5 mV a +5 mV indicam uma rápida agregação das partículas, enquanto valores em torno de 20 mV fornecem apenas estabilidade de curto prazo.

No entanto, é importante notar que essa regra geral é aplicável apenas a surfactantes de baixo peso molecular e estabilização elétrica pura, e não para estabilizadores de peso molecular alto ou grande, que atuam principalmente por estabilização estérica. Em tais casos, valores de potencial zeta de apenas 20 mV ou até mais baixos podem fornecer estabilização suficiente. É importante destacar que as camadas adsorvidas de polímeros ou moléculas grandes deslocam o plano de cisalhamento para uma distância maior da superfície da partícula, o que pode resultar em uma redução do potencial zeta medido. Isso significa que, mesmo para superfícies de partículas altamente carregadas, pode-se medir um potencial zeta relativamente baixo. Apesar disso, as suspensões ainda podem ser consideradas estáveis (QUAGLIA et al. 2009).

Nanopartículas de quitosana-alginato foram preparadas pela formação de uma pré-gelificação iônica de um núcleo de alginato que aprisiona a insulina, seguida pela complexação do polieletrólito de quitosana. O potencial zeta do complexo na proporção de peso 3:1:1 foi de +3,89 mV. Já na proporção de peso 3:2:1 e 3:3:1 aumentou ainda mais para +9,62 e +16,42 mV, respectivamente, devido ao acúmulo de cargas positivas excessivas de quitosana (MUKHOPADHYAY et al. 2015).

A reticulação com íons cálcio também pode afetar o potencial zeta em nanopartículas de alginato. Isso ocorre porque os íons cálcio podem interagir com as cargas negativas na superfície das partículas de alginato, reduzindo a densidade de carga e, conseqüentemente, tornando o potencial zeta menos negativo (ZOU et al. 2016). A redução na densidade de carga pode ser atribuída à ligação dos íons cálcio com as cargas negativas na superfície das partículas de alginato, o que leva a uma neutralização parcial das cargas negativas. Essa redução no potencial zeta pode ter um efeito na estabilidade das nanopartículas de alginato e deve ser considerada no desenvolvimento de formulações baseadas em alginato.

O estudo realizado por Mirtič e colaboradores (2018) analisou a formação de nanopartículas através da complexação do alginato com diferentes classes de reticuladores. Os resultados mostraram que o potencial zeta das nanopartículas de alginato reticuladas com cálcio foi de -10mV. Quando a complexação foi realizada utilizando quitosana/alginato, o potencial zeta obtido foi de -20mV. Além disso, os pesquisadores observaram que a mudança do potencial zeta de negativo para positivo ocorreu quando a razão molar atingiu 0,4, momento em que os agregados começaram a se formar.

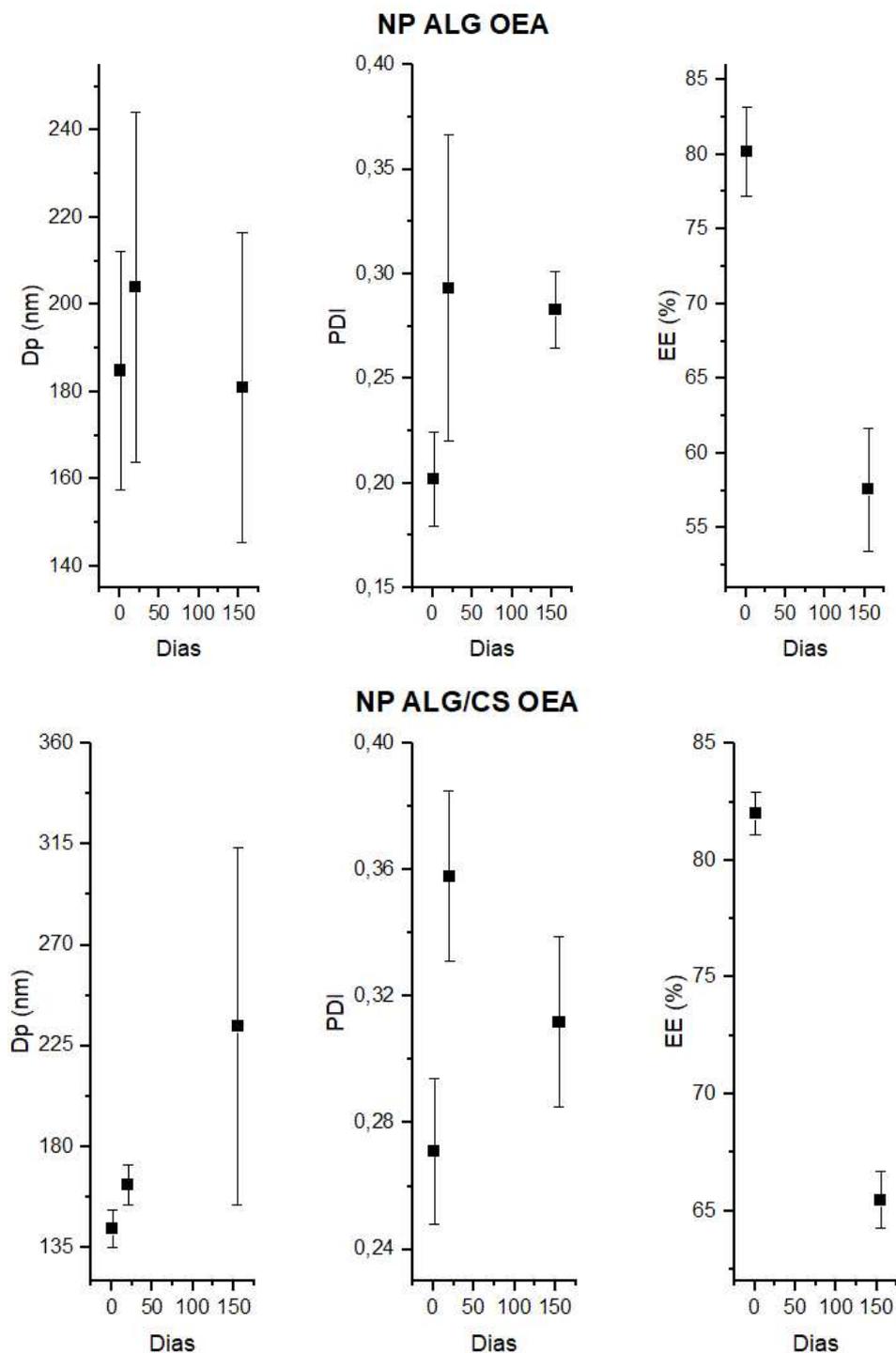
É importante lembrar que a estabilidade da formulação é afetada por vários fatores, como pH, temperatura e outros ingredientes presentes na formulação. Portanto, é importante avaliar cuidadosamente a estabilidade da formulação como um todo, em vez de depender de apenas um ingrediente para fornecer estabilidade.

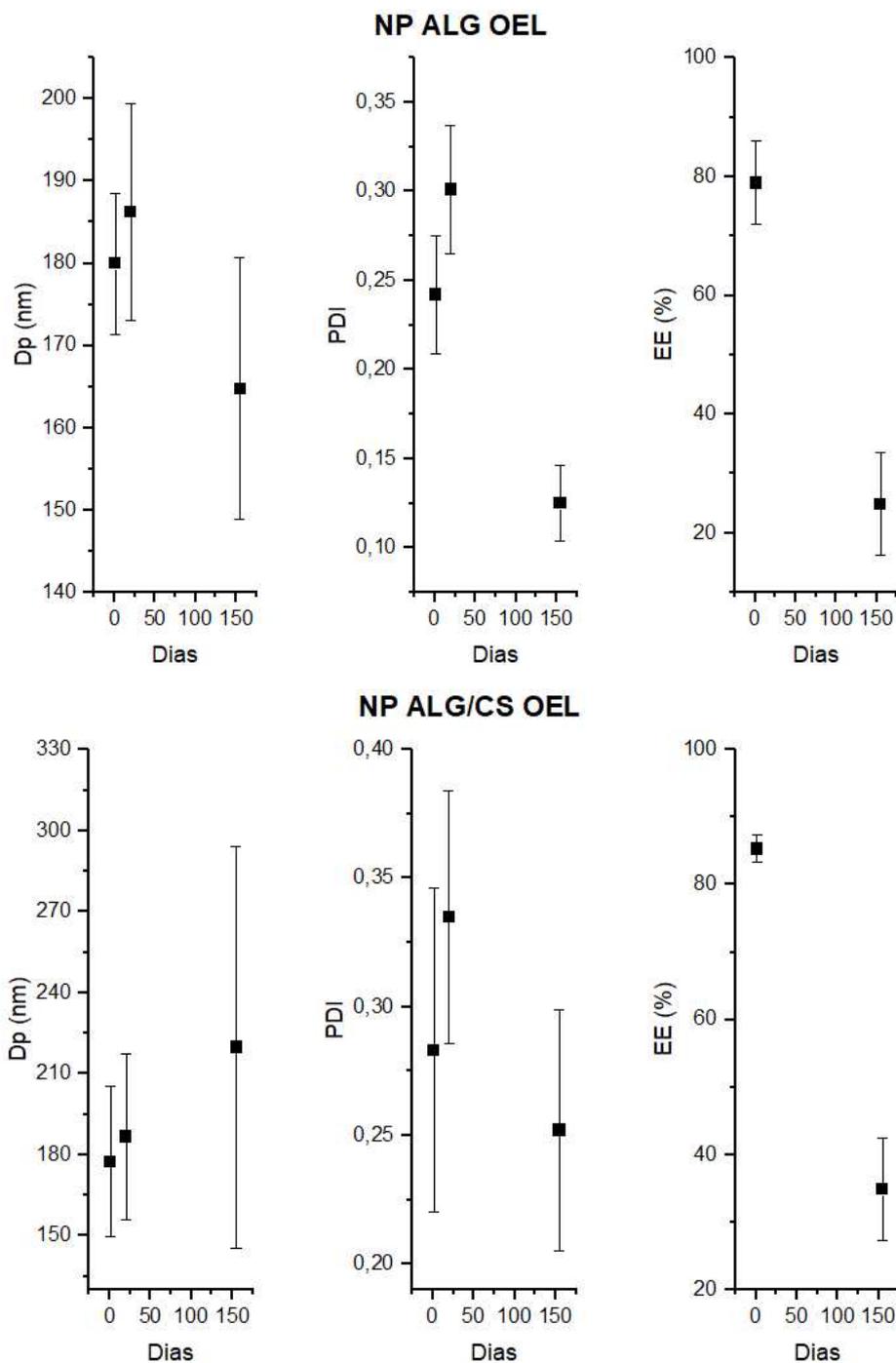
5.8 ESTABILIDADE FÍSICA DAS DISPERSÕES DE NANOPARTÍCULAS

A estabilidade de nanopartículas é um aspecto crítico na formulação de sistemas carreadores, pois afeta diretamente a eficácia e segurança do ativo. Uma das principais características de uma dispersão estável é a sua capacidade de resistir a mudanças nas propriedades físico-químicas ao longo do tempo. Por exemplo, as mudanças na distribuição de tamanho das partículas podem ser usadas para monitorar a estabilidade da dispersão. A formação de agregados e a sedimentação das nanopartículas podem ser sinais de instabilidade química do polímero ou demais matérias-primas (PHAN e HAES, 2019; SCHAFFAZICK et al, 2003).

Os dados de diâmetro, PDI e eficiência de encapsulação expressos em função do tempo (1, 20 e 155 dias) são apresentados na Figura 23 para os sistemas de nanopartículas. A temperatura ambiente parece ser a condição ideal para avaliar a estabilidade devido ao custo, de forma que não será necessário investir em condições de armazenamento.

Figura 23 – Estabilidade física das dispersões de nanopartículas em função do tempo a 25°C em termos de diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e eficiência de encapsulação.





Legenda: Dp: Diâmetro médio das partículas. PDI: Índice de polidispersão. EE: Eficiência de encapsulação. NP ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim. NP ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. NP ALG OEL: Nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de lavanda. NP ALG/CS OEL: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

A análise de variância (ANOVA) por medidas repetidas foi utilizada para comparar os resultados entre os grupos (NP ALG OEA, NP ALG OEL, NP ALG/CS OEA, NP ALG/CS OEL) e o tempo (dia 1, dia 20 e dia 155), considerando o teste de

esfericidade de Mauchly. ANOVA é uma técnica estatística utilizada para avaliar se as médias de três ou mais grupos são estatisticamente diferentes. A Tabela 7 apresenta a comparação dos valores de diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e eficiência de encapsulação de acordo com o tempo e os grupos.

Tabela 7 – Comparação dos valores de diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e eficiência de encapsulação de acordo com o tempo e os grupos.

	Dia 1	Dia 20	Dia 155	F _{df} ; p-valor; ES
Dp (n=3)				
NP ALG OEA	184,8 (27,3)Aa	204,0 (40,1)Aa	181,0 (35,6)Aa	Interação: F _{3,2} = 2,14; p= 0,167; ES= 0,45 Tempo: F _{1,1} = 2,28; p= 0,167; ES= 0,22 Grupo: F ₃ = 0,28; p= 0,837; ES= 0,10
NP ALG OEL	180,0 (8,5)Aa	186,2 (13,2)Aa	164,8 (15,9)Aa	
NP ALG/CS OEA	143,3 (8,6)Aa	163,1 (9,0)Aa	233,6 (79,6)Aa	
NP ALG/CS OEL	179,0 (19,8)Aa	186,7 (30,7)Aa	219,8 (74,3)Aa	
PDI (n=3)				
NP ALG OEA	0,202 (0,022)Aa	0,293 (0,073)Ab	0,283 (0,018)Ab	Interação: F ₆ = 6,28; p= 0,002; ES= 0,70 Tempo: F ₂ = 19,60; p< 0,001; ES= 0,71 Grupo: F ₃ = 5,89; p= 0,020; ES= 0,69
NP ALG OEL	0,242 (0,033)Aa	0,301 (0,036)Aa	0,125 (0,021)Bb	
NP ALG/CS OEA	0,271 (0,023)Aa	0,358 (0,027)Ab	0,312 (0,027)Aab	
NP ALG/CS OEL	0,304 (0,058)Aa	0,335 (0,049)Aa	0,252 (0,047)Aa	
EE (n=3)				
NP ALG OEA	80,2 (3,0)Aa	-	59,3 (4,1)Ab	Interação: F ₃ =25,8; p< 0,001; ES= 0,91 Tempo: F ₁ = 314,1; p< 0,001; ES= 0,98 Grupo: F ₃ = 17,1; p= 0,001; ES= 0,87
NP ALG OEL	78,9 (7,1)Aa	-	24,9 (8,7)Bb	
NP ALG/CS OEA	80,2 (3,0)Aa	-	65,5 (1,2)Ab	
NP ALG/CS OEL	85,2 (1,4)Aa	-	34,8 (7,6)Bb	

Legenda: Apresentação dos dados: média (desvio padrão). Letras maiúsculas diferentes representam diferenças entre os grupos; letras minúsculas diferentes representam diferenças no tempo. Teste de ajuste por múltiplas comparações: Bonferroni. ES: tamanho de efeito. Df: graus de liberdade.

Não houve diferenças estatísticas significativas para a variável Dp (Interação: F_{3,2}= 2,14; p= 0,167; ES= 0,45).

A variável PDI apresentou diferenças estatísticas significativas para interação (F₆= 6,28; p= 0,002; ES= 0,70). Na comparação entre os grupos, o grupo NP ALG OEL apresentou valores significativamente mais baixos ($\chi = 0,125 \pm 0,021$) que os outros grupos na avaliação de 155 dias. Na comparação de tempo, os grupos NP

ALG OEA e NP ALG/CS OEA apresentaram valores mais elevados de PDI nas avaliações de 20 ($\chi=0,293 \pm 0,073$ e $\chi=0,358 \pm 0,027$, respectivamente) e 155 dias ($\chi=0,283 \pm 0,018$ e $\chi=0,312 \pm 0,027$, respectivamente), quando comparados com a avaliação do dia 1 ($\chi=0,202 \pm 0,022$ e $\chi=0,271 \pm 0,023$, respectivamente). O grupo NP ALG OEL apresentou valores menores de PDI na avaliação do dia 155 ($\chi=0,125 \pm 0,021$), quando comparado com as avaliações dos dias 1 e 20 ($\chi=0,242 \pm 0,033$ e $\chi=0,301 \pm 0,036$, respectivamente). Não houve diferenças significativas ao longo do tempo para o grupo NP ALG/CS OEL. Portanto, os valores de PDI foram menores que 0,36 mesmo após 155 dias. A dispersão com distribuição de tamanho mais heterogênea foi a NP ALG/CS OEA e a mais homogênea foi a NP ALG OEL.

Para a variável EE, houve diferenças estatisticamente significativas para interação entre grupo e tempo ($F_3=25,8$; $p < 0,001$; $ES= 0,91$). Nas comparações múltiplas, os grupos NP ALG OEA ($\chi=59,3 \pm 4,1$) e NP ALG/CS OEA ($\chi=65,5 \pm 1,2$) apresentaram valores mais elevados de EE do que os grupos NP ALG OEL ($\chi=24,9 \pm 8,7$) e NP ALG/CS OEL ($\chi=34,8 \pm 7,6$) na avaliação do dia 155. Todos os grupos apresentaram reduções estatisticamente significativas no EE entre as avaliações do dia 1 e do dia 155.

A diminuição da eficiência de encapsulação também indica que houve liberação do óleo encapsulado ao longo do tempo. A complexidade da mistura de substâncias e a afinidade dos componentes com a camada polimérica podem afetar a facilidade de difusão das moléculas do óleo. Além disso, a estrutura química dos componentes individuais pode influenciar a estabilidade da emulsão após a imobilização na rede polimérica. De acordo com Oussalah et al. (2004), a polaridade, a configuração estrutural e os grupos funcionais dos componentes do óleo essencial podem ter influência na estabilidade da emulsão após a imobilização na rede polimérica (URUAKPA e ARNTFIELD, 2005).

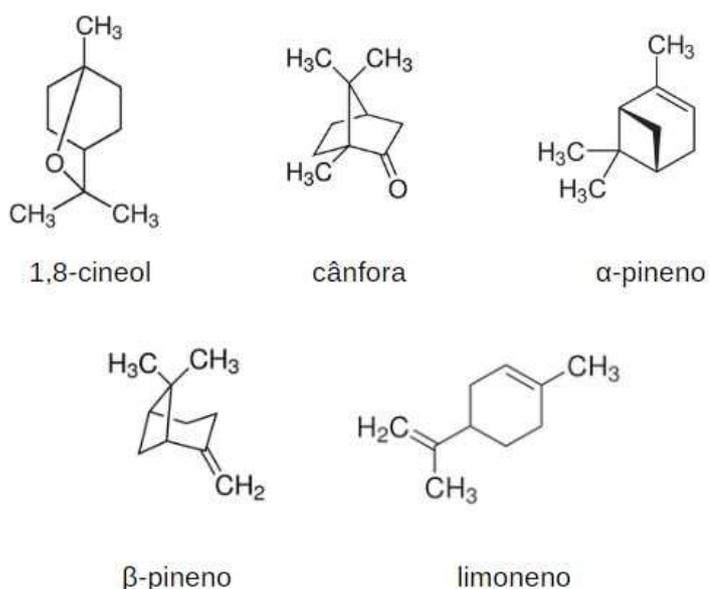
Ademais, verifica-se que as amostras com o ativo, no decorrer do tempo de estudo, permaneceram dentro da faixa de tamanho pretendida, mesmo considerando o erro das medidas. Como exposto anteriormente, alterações no diâmetro médio das partículas ou PDI ao longo do tempo podem ser indício de agregação, sedimentação, flotação, ou até mesmo a decomposição das mesmas (SCHAFFAZICK et al. 2003).

Lertsutthiwong e colaboradores (2009) encapsularam óleo de cúrcuma por emulsificação do óleo em solução aquosa de alginato de sódio e gelificação com

cloreto de cálcio e quitosana, seguida da remoção do solvente. Nanocápsulas de alginato se agregam prontamente a 25 °C, portanto, foi levantada a hipótese de que a reticulação na superfície das nanocápsulas de alginato com quitosana poderia melhorar a estabilidade física do produto da cápsula. A suspensão de nanocápsulas resultante foi armazenada a 4 °C e 25 °C e avaliada após 0, 60 e 120 dias. Os dados de estabilidade física mostraram que os tamanhos das nanocápsulas carregadas com óleo de açafraão não diferiram significativamente ($P > 0,05$) em qualquer temperatura durante o armazenamento. Esses resultados sugerem que o uso de quitosana nas condições estudadas fornece nanocápsulas com boa estabilidade física. Isso pode ser devido ao efeito estabilizador do complexo polieletrólito de alginato e quitosana, que reduz a porosidade das partículas de alginato.

Os óleos essenciais podem apresentar uma composição complexa e diversificada de compostos químicos, incluindo uma grande variedade de grupos funcionais. No entanto, os principais grupos encontrados incluem hidrocarbonetos alifáticos, cetonas, ésteres, álcoois e éteres. Outros grupos funcionais que podem estar presentes em menor quantidade incluem terpenos, fenóis, aldeídos, ácidos carboxílicos, entre outros. Na Figura 24 são apresentadas as estruturas químicas dos principais componentes presentes no óleo essencial de alecrim (MICIĆ et al, 2021).

Figura 24 – Estrutura química dos principais componentes presentes no óleo essencial de alecrim.

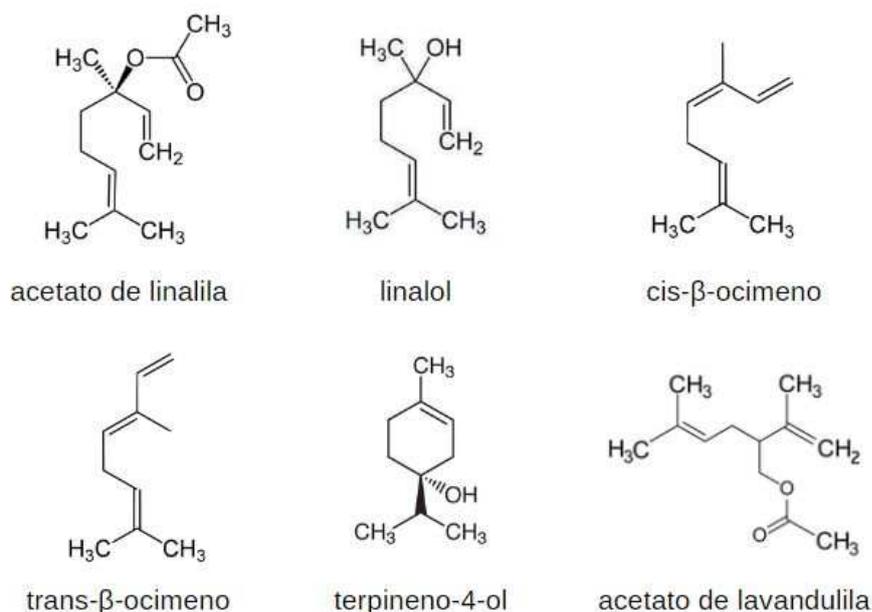


Fonte: Autoria própria.

Os monoterpenos, como o α -pineno e o 1,8-cineol, podem interagir por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals com outros compostos ou com a matriz polimérica utilizada em um processo de encapsulação. Algumas moléculas apresentam um anel cicloexano, que confere uma maior rigidez à sua estrutura e permite interações por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals. Além disso, o óleo essencial de alecrim também contém ácidos fenólicos, que podem interagir com outros compostos por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals.

Na Figura 25 são apresentadas as estruturas químicas dos principais componentes presentes no óleo essencial de lavanda (WESOLOWSKA et al, 2010).

Figura 25 – Estrutura química dos principais componentes presentes no óleo essencial de lavanda.



Fonte: Autoria própria.

Os componentes majoritários do óleo essencial de lavanda são os ésteres, principalmente o acetato de linalila, e os alcoóis, especialmente o linalol. Os ésteres podem interagir por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals com outros compostos ou com a matriz polimérica utilizada em um processo de encapsulação, enquanto os alcoóis podem formar ligações de hidrogênio com outras moléculas, como ácidos carboxílicos, por exemplo. Além disso, o óleo essencial de

lavanda também contém pequenas quantidades de terpenos e cetonas, que podem interagir por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals.

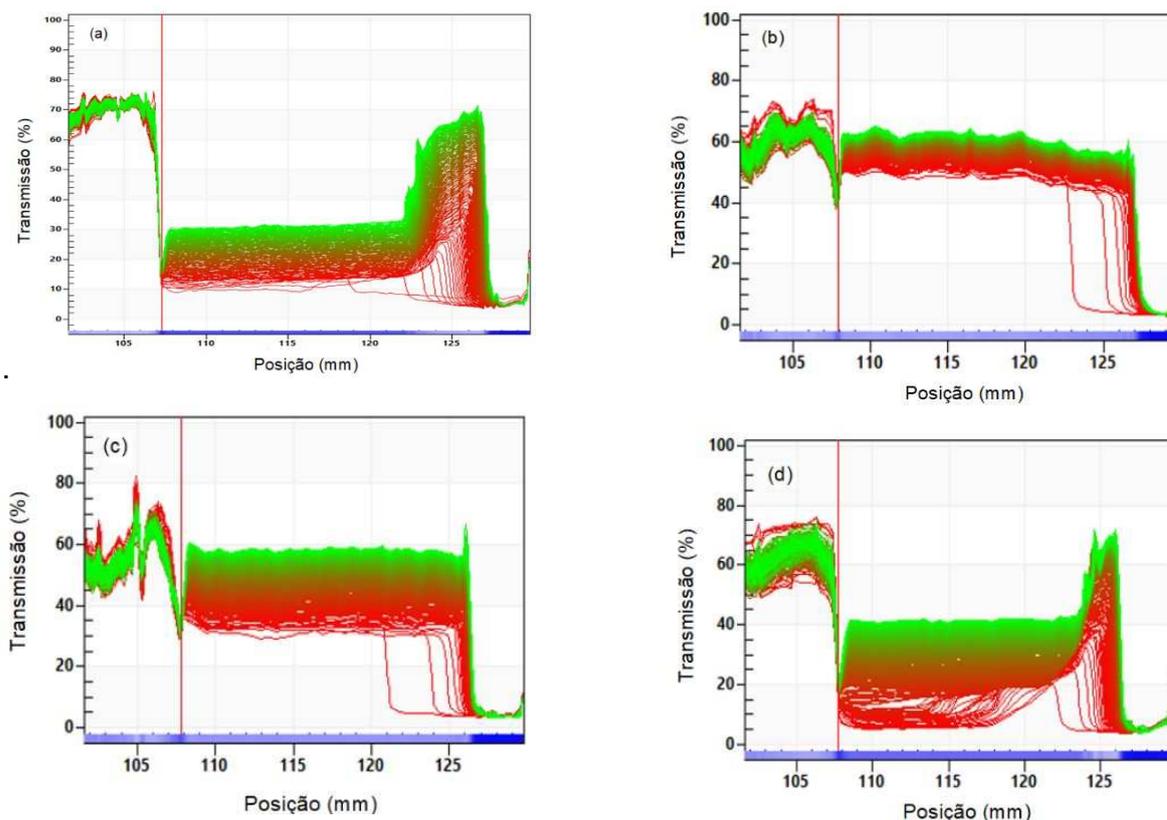
Não foi realizada a variação das concentrações de óleos essenciais nos testes iniciais de formulação. Esse fator, entretanto, poderia influenciar na eficiência de encapsulação. Seria também uma forma de avaliar se esse sistema suportaria uma maior quantidade de óleo essencial. Vale ressaltar que a eficiência de encapsulação pode também diminuir à medida que o teor de óleo aumenta, pois a capacidade de saturação do polímero em óleo pode ocorrer em concentrações mais baixas de óleo essencial. Assim, é importante ter quantidades suficientes do material de revestimento para encapsular o óleo essencial (HOSSEINI et al, 2013a; HOSSEINI et al, 2013b).

5.9 ESTABILIDADE ACELERADA DAS DISPERSÕES DE NANOPARTÍCULAS

A estabilidade acelerada é outra forma de avaliar a estabilidade das dispersões e mensura sua capacidade de permanecer inalterada frente a aplicação de uma força centrífuga. No equipamento, uma luz no comprimento de onda de 865 nm ilumina toda a célula contendo a amostra e a medida de transmissão da luz é feita em função do tempo enquanto uma força gravitacional é aplicada, acelerando assim os fenômenos de instabilidade como sedimentação, agregação, coagulação, floculação ou *cremeação* (formação do *creaming*) (CAVALCANTE et al. 2020).

A alteração no perfil de transmitância descreve o movimento na interface entre duas fases: a fase dispersa e o sedimento ou a fase dispersa e o *creaming* (LERCHE, 2002). A união desses perfis gera um gráfico denominado de impressão digital, uma vez que fornece informações sobre a cinética do processo de separação (PEREIRA et al. 2018). O ensaio para a obtenção do gráfico de impressão digital foi realizado para os quatro sistemas de nanopartículas, como mostra a Figura 26, realizado com dispersões sem diluição prévia e simulando um tempo de armazenamento de 90 dias.

Figura 26 - Gráficos de impressão digital para as dispersões de nanopartículas.



Legenda: (a) Nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim, (b) Nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de lavanda, (c) Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim e (d) Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

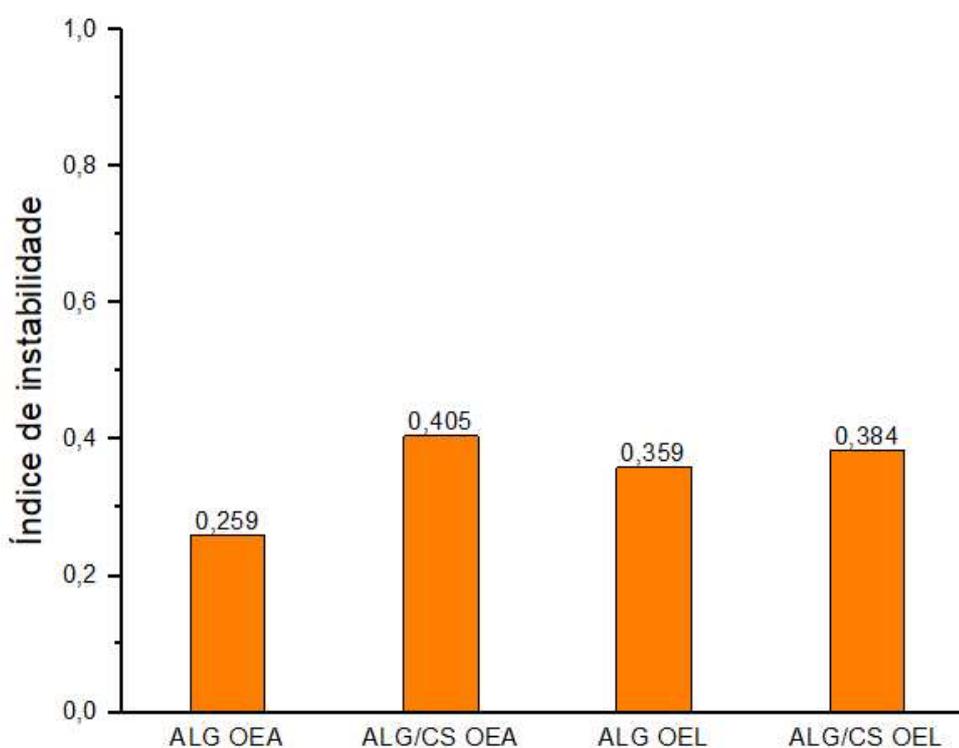
Nos gráficos de impressão digital, o eixo das abcissas representa a posição a partir do centro de rotação da centrífuga até o fundo da cubeta contendo a amostra. O início da cubeta é em torno de 108 mm e o fundo, em 127 mm. Já no eixo das ordenadas é definida a porcentagem de luz transmitida através da amostra. Os perfis de transmissão são representativos da variação da concentração de partículas dentro da amostra (baixa transmissão significa alta concentração, alta transmissão significa baixa concentração) (SOBISCH e LERCHE, 2008). Conforme exposto anteriormente, através do gráfico de impressão digital é possível caracterizar o fenômeno de desestabilização e o tipo de dispersão característica. Uma transmissão nula significa um elevado teor de sólidos e aspecto leitoso das dispersões, que impossibilitam a passagem da luz. Os perfis em verde, por exemplo, aumentam a transmissão de luz.

O comportamento constante dos sistemas carreadores com relação a alta % inicial de transmissão indica que eles se mantêm estáveis. Para a Figura 26b e 26c, esse comportamento se mantém durante toda a cubeta. Em 26a e 26d também é

observado um comportamento estável inicialmente, mas próximo ao fundo da cubeta há um aumento da transmissão de luz, o que pode indicar que as nanopartículas se deslocaram para superfície da dispersão, característico de *creaming*.

O software da LUMiSizer® fornece ainda um parâmetro quantitativo, definido a partir dos perfis de transmissão, que permite comparar diferentes amostras em estudo, o índice de instabilidade ou separação, como mostra a Figura 27.

Figura 27 – Índice de instabilidade para os sistemas carreadores. Ensaio realizado com dispersões sem diluição prévia.



Legenda: ALG OEA: Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de alecrim.
ALG/CS OEA: Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim. ALG OEL:
Nanopartículas de alginato de cálcio contendo óleo essencial de lavanda. ALG/CS OEL:
Nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de lavanda.

Quando ocorre a desestabilização do sistema, devido à formação de creme, sedimentação, floculação, coalescência, aglomeração ou separação de fases, a luz transmitida através da amostra aumenta, causando maior separação dos perfis. Esse processo é chamado de clarificação e o índice de separação é calculado com base na clarificação em um determinado tempo de separação, dividido pela

clarificação máxima. O índice de separação (IS) é um número adimensional e varia de 0 (mais estável) a 1 (mais instável) (LUM GMBH, 2020; ZIELIŃSKA et al 2018).

O valor de IS se comporta de maneira inversamente proporcional a velocidade de perda de estabilidade dos sistemas, ou seja, quanto menor o índice, menor a presença de fenômenos de desestabilização e vice-versa (LERCHE, 2019). Neste estudo, as nanopartículas de alginato contendo óleo essencial de alecrim apresentaram o menor valor de IS provavelmente pelo fato de ser o sistema empregado para realização dos testes iniciais para determinação das melhores condições experimentais. A dispersão de nanopartículas de alginato/quitosana contendo óleo essencial de alecrim apresentou maior valor de IS, sendo assim o sistema menos estável dentre os avaliados. Esse também foi o sistema que apresentou anteriormente o maior valor de PDI em 150 dias.

Portanto, a estabilidade das nanopartículas avaliada por LUMiSizer sugere que as nanopartículas produzidas têm boa estabilidade, com um tempo de vida de prateleira de pelo menos 90 dias e baixo índice de separação de fases.

6 CONCLUSÃO

Neste estudo, utilizou-se a técnica de emulsificação/gelificação iônica para preparar dispersões de nanopartículas contendo óleos essenciais de alecrim e lavanda. As formulações consistiram em Tween 80 como surfactante, alginato como primeira camada de revestimento e cloreto de cálcio como agente de reticulação. A quitosana foi utilizada como segunda camada de revestimento, formando um complexo polieletrólítico. As dispersões de nanopartículas apresentaram-se visualmente homogêneas e translúcidas, com tamanho variando entre 130 e 220 nm. Os valores de PDI foram inferiores a 0,35, indicando um sistema polidisperso, conforme verificado pela técnica DLS.

As micrografias obtidas por TEM confirmam a formação de nanopartículas com distribuição heterogênea de tamanho. Algumas dessas partículas apresentam uma forma irregular e estão em estado agregado. A eficiência de encapsulação foi maior que 70% para as quatro dispersões de nanopartículas avaliadas, tanto para o óleo essencial de alecrim quanto para o óleo essencial de lavanda, sendo considerado um desempenho satisfatório quando se emprega biopolímeros como material de parede.

Com relação a estabilidade física, as dispersões mantiveram a faixa de tamanho ao longo de 155 dias. As nanopartículas contendo óleo essencial de alecrim apresentaram maior agregação do que as que continham óleo essencial de lavanda, evidenciado pelos valores de PDI obtidos. Além disso, a eficiência de encapsulação das nanopartículas com óleo essencial de alecrim foi maior que as contendo óleo essencial de lavanda.

Dessa forma, os sistemas carreadores desenvolvidos e analisados neste estudo demonstram grande potencial para serem aplicados nas indústrias têxtil, cosmética e alimentícia, levando em consideração as propriedades dos óleos essenciais encapsulados e as características das nanopartículas desenvolvidas.

REFERÊNCIAS

- ABANG, Sariah et al. Effects of process variables on the encapsulation of oil in calcium alginate capsules using an inverse gelation technique. **Journal of microencapsulation**, v. 29, n. 5, p. 417-428, 2012.
- AELENEI, Neculai et al. Tannic acid incorporation in chitosan-based microparticles and in vitro controlled release. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, p. 1095-1102, 2009.
- AGUILAR, Karla Córdova et al. Protein adsorption onto alginate-pectin microparticles and films produced by ionic gelation. **Journal of Food Engineering**, v. 154, p. 17-24, 2015.
- AHMADI, Zeinab et al. Achillea millefolium essential oil and chitosan nanocapsules with enhanced activity against *Tetranychus urticae*. **Journal of pest science**, v. 91, n. 2, p. 837-848, 2018.
- ALSHARABASY, Amir M. et al. Physical preparation of alginate/chitosan polyelectrolyte complexes for biomedical applications. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 30, n. 7, p. 1071-1079, 2016.
- ALVES BORGES LEAL, Antonio Lincoln et al. Seasonal variation of the composition of essential oils from *Piper cernuum* Vell and *Piper rivinoides* Kunth, ADMET study, DFT calculations, molecular docking and dynamics studies of major components as potent inhibitors of the heterodimer methyltransferase complex NSP16-NSP10 SARS COV-2 protein. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 1-19, 2022.
- AMANI, Fateme et al. Characterization and antibacterial activity of encapsulated rosemary essential oil within amylose nanostructures as a natural antimicrobial in food applications. **Starch-Stärke**, v. 73, n. 7-8, p. 2100021, 2021.
- ASLANI, Parisa; KENNEDY, Ross A. Studies on diffusion in alginate gels. I. Effect of cross-linking with calcium or zinc ions on diffusion of acetaminophen. **Journal of controlled release**, v. 42, n. 1, p. 75-82, 1996.
- ASUA, Jose M. Miniemulsion polymerization. **Progress in polymer science**, v. 27, n. 7, p. 1283-1346, 2002.
- AVADI, Mohammad Reza et al. Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 58-63, 2010.
- BAEK, Su-Kyoung; KIM, Sujin; SONG, Kyung Bin. Characterization of *Ecklonia cava* alginate films containing cinnamon essential oils. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 11, p. 3545, 2018.
- BAGRE, Archana Pataskar et al. Alginate coated chitosan core shell nanoparticles for oral delivery of enoxaparin: in vitro and in vivo assessment. **International journal of pharmaceutics**, v. 456, n. 1, p. 31-40, 2013.

- BAJPAI, A. K. Facile preparation of ionotropically crosslinked chitosan-alginate nanosorbents by water-in-oil (W/O) microemulsion technique: optimization and study of arsenic (V) removal. **Journal of Water Process Engineering**, v. 32, p. 100920, 2019.
- BALASUBRAMANIAN, K.; KODAM, Kisan M. Encapsulation of therapeutic lavender oil in an electrolyte assisted polyacrylonitrile nanofibres for antibacterial applications. **Rsc Advances**, v. 4, n. 97, p. 54892-54901, 2014.
- BARANY, Sandor et al. Superfast electrophoresis of conducting dispersed particles. **Journal of colloid and interface science**, v. 207, n. 2, p. 240-250, 1998.
- BARNWELL, S. G. et al. **Soluble unit dose of laundry detergent**. Depositor: Unilever. WO2006002755A1. Deposit: 12 jan. 2006. Concession: 14 jun 2005.
- BARROSO, Tiago Linhares Cruz Tabosa et al. Tecnologia de encapsulamento na área de alimentos: Uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, e6210716240, 2021.
- BASER, K. Husnu Can; BUCHBAUER, Gerhard. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC press, 2009.
- BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. **Journal of controlled release**, v. 235, p. 337-351, 2016.
- BORGES, Olga et al. Preparation of coated nanoparticles for a new mucosal vaccine delivery system. **International journal of pharmaceutics**, v. 299, n. 1-2, p. 155-166, 2005.
- BORGES, Raphaelle Sousa et al. Rosmarinus officinalis essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. **Journal of ethnopharmacology**, v. 229, p. 29-45, 2019.
- BOUGHENDJIOUA, Hicham; BOUGHENDJIOUA, Zahra. Fourier transformed infrared spectroscopy analysis of constituents of Rosmarinus officinalis L. essential oil from Algeria. **Inorganic materials**, v. 14, p. 15, 2017.
- CAFAGGI, S. et al. Preparation and evaluation of nanoparticles made of chitosan or N-trimethyl chitosan and a cisplatin–alginate complex. **Journal of Controlled Release**, v. 121, n. 1-2, p. 110-123, 2007.
- CAI, Kai et al. Influence of polyelectrolyte dispersants on the surface chemical properties of aluminum in aqueous suspension. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 284, p. 458-463, 2006.
- CALABRESE, V. et al. Estudos bioquímicos de um antioxidante natural isolado do alecrim e sua aplicação em dermatologia cosmética. **Revista internacional de reações teciduais**, v. 22, n. 1, pág. 5-13, 2000.
- CARREIRA, A. S. et al. Temperature and pH responsive polymers based on chitosan: applications and new graft copolymerization strategies based on living radical polymerization. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 618-630, 2010.

CARVALHO FILHO, José Luiz S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 24-30, 2006.

CAVALCANTE, Leonardo Lobo Ribeiro et al. Conjugate of chitosan nanoparticles with chloroaluminium phthalocyanine: Synthesis, characterization and photoinactivation of *Streptococcus mutans* biofilm. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 30, p. 101709, 2020.

CHANDRA, Swarnendu et al. Chitosan nanoparticles: a positive modulator of innate immune responses in plants. *Scientific reports*, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2015.

CHEN, Ai-Zheng et al. Poly (L-histidine)-chitosan/alginate complex microcapsule as a novel drug delivery agent. **Journal of applied polymer science**, v. 124, n. 5, p. 3728-3736, 2012.

CHOI, Chang W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant science**, v. 163, n. 6, p. 1161-1168, 2002.

CHUAH, Ai Mey et al. Formation of biocompatible nanoparticles via the self-assembly of chitosan and modified lecithin. **Journal of food science**, v. 74, n. 1, p. N1-N8, 2009.

CIRO, Yhors et al. Synthesis, characterisation and biological evaluation of ampicillin–chitosan–polyanion nanoparticles produced by ionic gelation and polyelectrolyte complexation assisted by high-intensity sonication. **Polymers**, v. 11, n. 11, p. 1758, 2019.

CONG, Zhaotong et al. A novel controlled drug delivery system based on alginate hydrogel/chitosan micelle composites. **International journal of biological macromolecules**, v. 107, p. 855-864, 2018.

CONTRI, R. V. et al. Skin penetration and dermal tolerability of acrylic nanocapsules: Influence of the surface charge and a chitosan gel used as vehicle. **International journal of pharmaceutics**, v. 507, n. 1-2, p. 12-20, 2016.

CORRÊA-FILHO, Luiz C. et al. Advances in the application of microcapsules as carriers of functional compounds for food products. **Applied Sciences**, v. 9, n. 3, p. 571, 2019.

CRUZ, Pollyanna N. et al. Antioxidant and antibacterial potential of butia (*Butia catarinensis*) seed extracts obtained by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 229-237, 2017.

CUI, Guangwen et al. Preparation and properties of narrowly dispersed polyurethane nanocapsules containing essential oil via phase inversion emulsification. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 41, p. 10799-10807, 2018.

CUTILLAS, Ana-Belen et al. *Rosmarinus officinalis* L. essential oils from Spain: Composition, antioxidant capacity, lipoxygenase and acetylcholinesterase inhibitory

capacities, and antimicrobial activities. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology**, v. 152, n. 6, p. 1282-1292, 2018.

DA SILVA, Gabriela L. et al Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, vol. 87, núm. 2, agosto, 2015, pp. 1397-1408. Academia Brasileira de Ciências Rio de Janeiro, Brasil.

DAFERERA, Dimitra J. et al. Characterization of essential oils from Lamiaceae species by Fourier transform Raman spectroscopy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 20, p. 5503-5507, 2002.

DE BARROS FERNANDES, Regiane Victória et al. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate polymers**, v. 101, p. 524-532, 2014.

DE MATOS, Sheila P. et al. Essential oils and isolated terpenes in nanosystems designed for topical administration: a review. **Biomolecules**, v. 9, n. 4, p. 138, 2019.

DE OLIVEIRA, Erick F. et al. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146-151, 2014.

DELGADO, Angel V. et al. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 77, n. 10, p. 1753-1805, 2005.

DENG, Xiaoli et al. Hydrogel particles as a controlled release delivery system for lavender essential oil using pH triggers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 603, p. 125134, 2020.

DESAI, Kashappa Goud H.; JIN PARK, Hyun. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DIMA, C. et al. Encapsulation of coriander essential oil in alginate and alginate/chitosan microspheres by emulsification external gelation method. In: **Inside food symposium**. 2013. p. 1-6.

EL ASBAHANI, A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

EPHREM, Elissa et al. Optimisation of rosemary oil encapsulation in polycaprolactone and scale-up of the process. **Journal of microencapsulation**, v. 31, n. 8, p. 746-753, 2014.

ESTEVEZ-ARECO, Santiago et al. Release kinetics of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) polyphenols from polyvinyl alcohol (PVA) electrospun nanofibers in several food simulants. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 18, p. 42-50, 2018.

FAIDI, Adel et al. Application of sodium alginate extracted from a Tunisian brown algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation,

characterization and in vitro release study. **International journal of biological macromolecules**, v. 136, p. 386-394, 2019.

FARAHMAND, Atefeh et al. Droplet-based millifluidic technique for encapsulation of cinnamon essential oil: Optimization of the process and physicochemical characterization. **Food Hydrocolloids**, v. 129, p. 107609, 2022.

FAYAD, Samira J. et al. Nanopartículas de proteína isolada de soja em água: efeito da força iônica e das concentrações de proteína e surfactante. **Química Nova**, v. 38, p. 91-96, 2015.

FERNANDO, Ilekuttige Priyan Shanura et al. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 391, p. 123823, 2020.

FEYZIOGLU, G. Cansu; TORNUK, Fatih. Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. **LWT**, v. 70, p. 104-110, 2016.

FRAJ, Asma et al. A comparative study of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil-based polycaprolactone nanocapsules/microspheres: Preparation, physicochemical characterization, and storage stability. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111669, 2019.

GARCIA-SOTELO, Dalila et al. Antimicrobial activity and thermal stability of rosemary essential oil: β -cyclodextrin capsules applied in tomato juice. *Lwt*, v. 111, p. 837-845, 2019.

GEORGE, Meera; ABRAHAM, T. Emilia. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan—a review. **Journal of controlled release**, v. 114, n. 1, p. 1-14, 2006.

GHAYEMPOUR, Soraya; MORTAZAVI, Sayed Majid. Preparation and investigation of sodium alginate nanocapsules by different microemulsification devices. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 17, 2015.

GHOLAMIAN, Setareh; NOURANI, Moloud; BAKHSHI, Nafiseh. Formation and characterization of calcium alginate hydrogel beads filled with cumin seeds essential oil. **Food Chemistry**, v. 338, p. 128143, 2021.

GIZ, Ayse Su et al. A detailed investigation of the effect of calcium crosslinking and glycerol plasticizing on the physical properties of alginate films. **International journal of biological macromolecules**, v. 148, p. 49-55, 2020.

GOLJA, Barbara et al. Fragrant finishing of cotton with microcapsules: comparison between printing and impregnation. **Coloration Technology**, v. 129, n. 5, p. 338-346, 2013.

GRANT, Gregor T. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. **Febs Lett.**, v. 32, p. 195-198, 1973.

GUAN, X. L. et al. Study on the Release Process for Lavender Essential Oil Microcapsule by FTIR. *Guang pu xue yu Guang pu fen xi= Guang pu*, v. 37, n. 1, p. 65-69, 2017.

Guia de usuário; Amicon® Ultra-0.5, Centrifugal Filter Devices.

GÜNGÖR, N. et al. The effect of SDS surfactant on the flow and zeta potential of bentonite suspensions. **Materials Letters**, v. 51, n. 3, p. 250-254, 2001.

HADIDI, Milad et al. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydrate polymers**, v. 236, p. 116075, 2020.

HALAHLAH, Abedalghani et al. Synthesis and characterization of inclusion complexes of rosemary essential oil with various β -cyclodextrins and evaluation of their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 65, p. 102660, 2021.

HAMEDI, Hamid et al. Preparation and characterization of chitosan–alginate polyelectrolyte complexes loaded with antibacterial thyme oil nanoemulsions. **Applied Sciences**, v. 9, n. 18, p. 3933, 2019.

HOSSEINI, Faeghe et al. Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 9, p. 4070-4086, 2021.

HOSSEINI, Seyed Fakhreddin et al. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate polymers**, v. 95, n. 1, p. 50-56, 2013b.

HOSSEINI, Seyede Marzieh et al. Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. **International journal of biological macromolecules**, v. 62, p. 582-588, 2013a.

HOTZE, Ernest M. et al. Nanoparticle aggregation: challenges to understanding transport and reactivity in the environment. **Journal of environmental quality**, v. 39, n. 6, p. 1909-1924, 2010.

HU, Chuhuan et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 578-588, 2021.

HUNTER, Robert J. **Zeta potential in colloid science: principles and applications**. Academic press, 2013.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 3515: Oil of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). Genebra, 2002.

ISKANDAR, Lilis et al. The effect of chelation of sodium alginate with osteogenic ions, calcium, zinc, and strontium. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 34, n. 4, p. 573-584, 2019.

JACOBS, C. et al. Nanosuspensions as a new approach for the formulation for the poorly soluble drug tarazepide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 196, n. 2, p. 161-164, 2000.

JAVVAJI, Vishal et al. Light-activated ionic gelation of common biopolymers. **Langmuir**, v. 27, n. 20, p. 12591-12596, 2011.

oKAVOOSI, Gholamreza et al. Microencapsulation of zataria essential oil in agar, alginate and carrageenan. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 418-425, 2018.

KEDAR, Uttam et al. Advances in polymeric micelles for drug delivery and tumor targeting. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 6, n. 6, p. 714-729, 2010.

KIM, Jeong Un et al. Encapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* by ionic gelation with electrostatic extrusion for enhancement of survival under simulated gastric conditions and during refrigerated storage. **International journal of food science & technology**, v. 52, n. 2, p. 519-530, 2017.

KIM, Won-Tae et al. Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 4, p. 566-573, 2008.

KING, A. H. Evaluation of the mechanism associated with the release of encapsulated flavor materials. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**, p. 1-160, 1995.

KUMAR, Ajeet; DIXIT, Chandra Kumar. Methods for characterization of nanoparticles. In: **Advances in nanomedicine for the delivery of therapeutic nucleic acids**. Woodhead Publishing, 2017. p. 43-58.

KUMAR, Sandeep et al. Development and evaluation of alginate–chitosan nanocapsules for controlled release of acetamiprid. *International journal of biological macromolecules*, v. 81, p. 631-637, 2015.

KUROZAWA, Louise Emy; HUBINGER, Miriam Dupas. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 50-55, 2017.

LAI, Francesco et al. *Artemisia arborescens* L essential oil loaded beads: preparation and characterization. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 3, p. E126-E132, 2007.

LANKALAPALLI, S.; KOLAPALLI, V. R. M. Polyelectrolyte complexes: A review of their applicability in drug delivery technology. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 71, n. 5, p. 481, 2009.

LAWRIE, Gwen et al. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*, v. 8, n. 8, p. 2533-2541, 2007.

LEMOS, Aline Brionísio. Generalidades da Análise Térmica. ITAL Instituto de Tecnologia de Alimentos–Boletim de Tecnologia e de Desenvolvimento de Embalagens. Julho/agosto/setembro, v. 15, 2003.

LERCHE, D. Dispersion stability and particle characterization by sedimentation kinetics in a centrifugal field. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 23, n. 5, p. 699-709, 2002.

LERCHE, Dietmar. Comprehensive characterization of nano-and microparticles by in-situ visualization of particle movement using advanced sedimentation techniques. **KONA Powder and Particle Journal**, v. 36, p. 156-186, 2019.

LERTSUTTHIWONG, Pranee et al. Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 3, p. 856-860, 2009.

LI, Na et al. Microcapsules biologically prepared using *Perilla frutescens* (L.) Britt. essential oil and their use for extension of fruit shelf life. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 3, p. 1033-1041, 2018.

LI, Ping et al. Chitosan-alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. **International journal of biomedical science: IJBS**, v. 4, n. 3, p. 221, 2008.

LI, XingYi et al. Preparation of alginate coated chitosan microparticles for vaccine delivery. **BMC biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2008.

LIU, Chi-Hsien; WU, Chao-Ting. Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 353, n. 2-3, p. 149-156, 2010.

LIZARRAGA-VALDERRAMA, Lorena R. Effects of essential oils on central nervous system: Focus on mental health. **Phytotherapy research**, v. 35, n. 2, p. 657-679, 2021

LUM GMBH. Stability: The NEXT STEP® in Dispersion Analysis. 2020.

LUO, Xiaoyu; SEDMAN, Jacqueline; ISMAIL, A. Microencapsulation of oregano (*Origanum vulgare* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) essential oils in β -lactoglobulin. **J. Food Sci. Technol**, v. 4, n. 9, p. 970-985, 2019.

MAJEED, Hamid et al. Essential oil encapsulations: Uses, procedures, and trends. **Rsc Advances**, v. 5, n. 72, p. 58449-58463, 2015.

MALVERN. Zetasizer Nano Series User Manual. User Manuals, England, 2004.

MARTIN, Richard et al. Photoprotective effect of a water-soluble extract of *Rosmarinus officinalis* L. against UV-induced matrix metalloproteinase-1 in human dermal fibroblasts and reconstructed skin. **European Journal of Dermatology**, v. 18, n. 2, p. 128-135, 2008.

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

MARUYAMA, Koscak et al. Rheological studies on calcium-sensitive gelation of actin filaments by actinogelin. **The Journal of Biochemistry**, v. 89, n. 1, p. 317-319, 1981.

MCCLEMENTS, David Julian. **Food emulsions: principles, practices, and techniques**. CRC press, 2004.

MICIĆ, Darko et al. Rosemary essential oils as a promising source of bioactive compounds: Chemical composition, thermal properties, biological activity, and gastronomic perspectives. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2734, 2021.

MIMMO, Tanja et al. Characterisation of Ca–and Al–pectate gels by thermal analysis and FT-IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, v. 340, n.16, p. 2510-2519, 2005.

MIRTIČ, Janja et al. Influence of different classes of crosslinkers on alginate polyelectrolyte nanoparticle formation, thermodynamics and characteristics. **Carbohydrate polymers**, v. 181, p. 93-102, 2018.

MITREVEJ, Ampol et al. Multiunit controlled-release diclofenac sodium capsules using complex of chitosan with sodium alginate or pectin. **Pharmaceutical development and technology**, v. 6, n. 3, p. 385-392, 2001.

MOHANRAJ, V. J., CHEN, Y. "Nanoparticles-a review". *Tropical journal of pharmaceutical research*, v. 5, n. 1, pp. 561-573, 2006.

MORA-HUERTAS, Claudia E. et al. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 385, n. 1-2, p. 113-142, 2010.

MORI, Hiroko-Miyuki et al. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- β in a rat model. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2016.

MOSTAGHIMI, Mahsa et al. Characterization of Alginate Hydrogel Beads Loaded with Thyme and Clove Essential Oils Nanoemulsions. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 30, n. 4, p. 1647-1661, 2022.

MOTWANI, Sanjay K. et al. Chitosan–sodium alginate nanoparticles as submicroscopic reservoirs for ocular delivery: Formulation, optimisation and in vitro characterisation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 3, p. 513-525, 2008.

MUKHOPADHYAY, Piyasi et al. pH-sensitive chitosan/alginate core-shell nanoparticles for efficient and safe oral insulin delivery. **International journal of biological macromolecules**, v. 72, p. 640-648, 2015.

NAIR, M. Sneha et al. Enhancing the functionality of chitosan-and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A

review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 304-320, 2020.

NATRAJAN, Dheebika et al. Formulation of essential oil-loaded chitosan–alginate nanocapsules. **Journal of food and drug analysis**, v. 23, n. 3, p. 560-568, 2015.

NEJATI, Hosein et al. Topical Rosemary officinalis essential oil improves wound healing against disseminated *Candida albicans* infection in rat model. **Comparative Clinical Pathology**, v. 24, n. 6, p. 1377-1383, 2015.

NORCINO, Laís Bruno et al. Development of alginate/pectin microcapsules by a dual process combining emulsification and ultrasonic gelation for encapsulation and controlled release of anthocyanins from grapes (*Vitis labrusca* L.). **Food Chemistry**, v. 391, p. 133256, 2022.

OMER, Ahmed M. et al. pH-sensitive alginate/carboxymethyl chitosan/aminated chitosan microcapsules for efficient encapsulation and delivery of diclofenac sodium. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 3, p. 338, 2021.

OUSSALAH, Mounia et al. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 18, p. 5598-5605, 2004.

PATIL, J. S. et al. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: a review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241-248, 2010

PAVONI, Lucia et al. An overview of micro- and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability. **Nanomaterials**, v. 10, n. 1, p. 135, 2020.

PEDROSO-SANTANA, Seidy; FLEITAS-SALAZAR, Noralvis. Ionotropic gelation method in the synthesis of nanoparticles/microparticles for biomedical purposes. **Polymer International**, v. 69, n. 5, p. 443-447, 2020.

PEJIN, Boris et al. Preliminary data on essential oil composition of the moss *Rhodobryum ontariense* (Kindb.) Kindb. **Cryptogamie, Bryologie**, v. 32, n. 2, p. 113-117, 2011.

PEREIRA, Irina et al. Optimization of linalool-loaded solid lipid nanoparticles using experimental factorial design and long-term stability studies with a new centrifugal sedimentation method. **International journal of pharmaceutics**, v. 549, n. 1-2, p. 261-270, 2018.

PÉREZ-SÁNCHEZ, A. et al. Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 136, p. 12-18, 2014.

PHAN, Hoa T.; HAES, Amanda J. What does nanoparticle stability mean?. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 123, n. 27, p. 16495-16507, 2019.

PLATI, Fotini; PARASKEVOPOULOU, Adamantini. Micro-and Nano-encapsulation as Tools for Essential Oils Advantages' Exploitation in Food Applications: the Case of Oregano Essential Oil. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1-29, 2022.

POPIOLSKI, Tatiane M. et al. Preparation of polymeric micelles of poly (ethylene oxide-b-lactic acid) and their encapsulation with lavender oil. **Materials Research**, v. 19, p. 1356-1365, 2016.

PRASETYANINGRUM, Aji et al. Alginate/ κ -carrageenan-based edible films incorporated with clove essential oil: physico-chemical characterization and antioxidant-antimicrobial activity. **Polymers**, v. 13, n. 3, p. 354, 2021.

PRASHANTH, KV Harish; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential—an overview. **Trends in food science & technology**, v. 18, n. 3, p. 117-131, 2007.

PYRZYNSKA, Krystyna; PEKAL, Anna. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. **Analytical Methods**, v. 5, n. 17, p. 4288-4295, 2013.

QUAGLIA, Fabiana et al. The intracellular effects of non-ionic amphiphilic cyclodextrin nanoparticles in the delivery of anticancer drugs. **Biomaterials**, v. 30, n. 3, p. 374-382, 2009.

QUIROZ-CASTILLO, J. M. et al. Preparation of extruded polyethylene/chitosan blends compatibilized with polyethylene-graft-maleic anhydride. **Carbohydrate polymers**, v. 101, p. 1094-1100, 2014.

RAMSEY, J. Tyler et al. Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 93, n. 2, p. 291, 2020.

REIS, Catarina Pinto et al. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 8-21, 2006.

REZAEINIA, Hassan et al. Electrohydrodynamic atomization of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum for the fast-release of *Mentha longifolia* L. essential oil: Characterization of nano-capsules and modeling the kinetics of release. **Food Hydrocolloids**, v. 93, p. 374-385, 2019.

RIBEIRO, António J. et al. Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 25, n. 1, p. 31-40, 2005.

RIVERA, M. C. et al. Hollow chitosan/alginate nanocapsules for bioactive compound delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 79, p. 95–102, 2015.

RUNGWASANTISUK, Areeya; RAIBHU, Soranat. Application of encapsulating lavender essential oil in gelatin/gum-arabic complex coacervate and varnish screen-printing in making fragrant gift-wrapping paper. **Progress in Organic Coatings**, v. 149, p. 105924, 2020.

SÆTHER, Heidi Vogt et al. Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 4, p. 813-821, 2008.

SALMIERI, Stéphane; LACROIX, Monique. Physicochemical properties of alginate/polycaprolactone-based films containing essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 26, p. 10205-10214, 2006.

SAMFIRA, I. et al. Characterization and identity confirmation of essential oils by mid infrared absorption spectrophotometry. **Digest journal of nanomaterials and biostructures**, v. 10, n. 2, p. 557-566, 2015.

SAMUELSON, Rachel et al. The effects of lavender essential oil on wound healing: A review of the current evidence. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 26, n. 8, p. 680-690, 2020.

SANCHES, Mariele P. et al. Chitosan-sodium alginate polyelectrolyte complex coating Pluronic® F127 nanoparticles loaded with citronella essential oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 803-812, 2020.

SANKALIA, Mayur G. et al. Reversed chitosan–alginate polyelectrolyte complex for stability improvement of alpha-amylase: Optimization and physicochemical characterization. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals**, v. 65, n. 2, p. 215-232, 2007.

SANTANDER-ORTEGA, Manuel J. et al. Novel core-shell lipid-chitosan and lipid-poloxamer nanocapsules: stability by hydration forces. **Colloid and Polymer Science**, v. 288, p. 159-172, 2010.

SARMENTO, Bruno et al. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. **Carbohydrate polymers**, v. 66, n. 1, p. 1-7, 2006.

SAWANT, Krutika K.; DODIYA, Shamsunder S. Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles. **Recent patents on drug delivery & formulation**, v. 2, n. 2, p. 120-135, 2008.

SCARFATO, Paola et al. Synthesis and characterization of polyurea microcapsules containing essential oils with antigerminative activity. *Journal of applied polymer science*, v. 105, n. 6, p. 3568-3577, 2007.

SCHAFFAZICK, Scheila Rezende et al. Physicochemical characterization and stability of the polymeric nanoparticle systems for drug administration. **Química Nova**, v. 26, p. 726-737, 2003.

SCHIRRA, Mario et al. Influence of postharvest hot water treatment on nutritional and functional properties of kumquat (*Fortunella japonica* Lour. Swingle Cv. Ovale) fruit. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 2, p. 455-460, 2008.

SCHULZ, Hartwig et al. Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 39, n. 2, p. 249-256, 2005.

SHABKHIZ, Mohammad Ali et al. Alginate hydrogel beads containing *Thymus daenensis* essential oils/Glycyrrhizic acid loaded in β -cyclodextrin. Investigation of structural, antioxidant/antimicrobial properties and release assessment. **Journal of Molecular Liquids**, v. 344, p. 117738, 2021.

SHAMSZADEH, Sayna et al. Size-dependent bioactivity of electrosprayed core-shell chitosan-alginate particles for protein delivery. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 20097, 2022.

SHARMEEN, Jugreet B. et al. Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 666, 2021.

SILVA, Pablo Teixeira da et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1304-1311, 2014.

SIMSEK-EGE, Fatma A. et al. Polyelectrolyte complex formation between alginate and chitosan as a function of pH. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 88, n. 2, p. 346-351, 2003.

SINGH, Nagender; SHEIKH, Javed. Novel Chitosan-Gelatin microcapsules containing rosemary essential oil for the preparation of bioactive and protective linen. **Industrial Crops and Products**, v. 178, p. 114549, 2022.

SOARES, João da Paixão et al. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. **Eclética Química**, v. 29, p. 57-64, 2004.

SOBISCH, T.; LERCHE, D. Thickener performance traced by multisample analytical centrifugation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 331, n. 1-2, p. 114-118, 2008.

SOILHI, Zayneb et al. Essential oil chemical diversity of Tunisian *Mentha* spp. collection. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 330-340, 2019

STEINER, Benjamin M. et al. Encapsulation systems for lutein: A review. **Trends in food science & technology**, v. 82, p. 71-81, 2018.

SZABÓ, Luca et al. Strategies to functionalize the anionic biopolymer Na-alginate without restricting its polyelectrolyte properties. **Polymers**, v. 12, n. 4, p. 919, 2020.

TAVARES, Loleny et al. Bioactive compounds of garlic: A comprehensive review of encapsulation technologies, characterization of the encapsulated garlic compounds and their industrial applicability. **Trends in Food Science & Technology**, v. 114, p. 232-244, 2021.

TOPRAKÇI, İrem; ŞAHİN, Selin. Encapsulation of olive leaf antioxidants in microbeads: Application of alginate and chitosan as wall materials. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 27, p. 100707, 2022.

TORRES, Ophelie et al. Emulsion microgel particles: Novel encapsulation strategy for lipophilic molecules. **Trends in Food Science & Technology**, v. 55, p. 98-108, 2016.

URUAKPA, Florence O.; ARNTFIELD, Susan D. Emulsifying characteristics of commercial canola protein–hydrocolloid systems. **Food Research International**, v. 38, n. 6, p. 659-672, 2005.

VALDÉS, Arantzazu et al. Recent trends in microencapsulation for smart and active innovative textile products. **Current Organic Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 1237-1248, 2018.

VALENTA, Claudia; AUNER, Barbara G. The use of polymers for dermal and transdermal delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 279-289, 2004.

VALLE, José Alexandre Borges et al. Chitosan microcapsules: methods of the production and use in the textile finishing. **Journal of applied polymer science**, [S.L.], v. 138, n. 21, p. 50482, 18 jan. 2021.

VELMURUGAN, Punitha et al. Encapsulation of orange and lavender essential oils in chitosan nanospherical particles and its application in leather for aroma enrichment. **Surfaces and Interfaces**, v. 9, p. 124-132, 2017.

VERMA, Dr D. et al. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. **International journal of pharmaceutics**, v. 258, n. 1-2, p. 141-151, 2003.

VIMAL, S. et al. Synthesis and characterization of CS/TPP nanoparticles for oral delivery of gene in fish. **Aquaculture**, v. 358, p. 14-22, 2012.

VONCINA, B. et al. Encapsulation of rosemary oil in ethylcellulose microcapsules. **Textile and Polymer Journal**, v. 1, n. 1, p. 13-19, 2009

WANG, Lishan et al. Chitosan–alginate–CaCl₂ system for membrane coat application. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 8, p. 1134-1142, 2001.

WANG, Xiaoqin et al. Sonication-induced gelation of silk fibroin for cell encapsulation. **Biomaterials**, v. 29, n. 8, p. 1054-1064, 2008.

WELLS, Rebecca et al. Lavandula essential oils: A current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 10, p. 1934578X1801301038, 2018.

WESOLOWSKA, A. et al. Influence of distillation time on the content and composition of essential oil isolated from lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). **Herba Polonica**, v. 56, n. 3, 2010.

WISSAM, Zam; SAMER, Housheh. Encapsulation of flaxseed oil extract in alginate-salep system by ionic gelation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, 2019.

WISSING, S. A. et al. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 56, n. 9, p. 1257-1272, 2004.

WONG, Tin Wui et al. Design of controlled-release solid dosage forms of alginate and chitosan using microwave. **Journal of Controlled Release**, v. 84, n. 3, p. 99-114, 2002.

WURM, Florian et al. Multivalent ions as reactive crosslinkers for biopolymers—a review. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1840, 2020.

YONCHEVA, Krassimira et al. Improvement of the antimicrobial activity of oregano oil by encapsulation in chitosan—Alginate nanoparticles. **Molecules**, v. 26, n. 22, p. 7017, 2021.

YUAN, Chao et al. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 104-110, 2019.

ZHANG, Rui et al. Preparation and release mechanism of lavender oil microcapsules with different combinations of coating materials. **Flavour and fragrance journal**, v. 35, n. 2, p. 157-166, 2020b.

ZHANG, Ting et al. Double-layered microcapsules significantly improve the long-term effectiveness of essential oil. **Polymers**, v. 12, n. 8, p. 1651, 2020a.

ZHENG, Yongli et al. Preparation, characterization, and drug release in vitro of chitosan-glycyrrhetic acid nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical sciences*, v. 95, n. 1, p. 181-191, 2006.

ZHU, Yulin et al. Encapsulation strategies to enhance the antibacterial properties of essential oils in food system. **Food Control**, v. 123, p. 107856, 2021.

ZIELIŃSKA, Aleksandra et al. Anti-inflammatory and anti-cancer activity of citral: Optimization of citral-loaded solid lipid nanoparticles (SLN) using experimental factorial design and LUMiSizer®. **International journal of pharmaceutics**, v. 553, n. 1-2, p. 428-440, 2018.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. J. P. T. Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer testing*, v. 23, n. 5, p. 575-579, 2004.

ZOU, Liqiang et al. Encapsulation of protein nanoparticles within alginate microparticles: Impact of pH and ionic strength on functional performance. **Journal of Food Engineering**, v. 178, p. 81-89, 2016.