



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - ICF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LAISA CAROLINA GOMES DE BULHÕES

Desenvolvimento e caracterização de glóbulos de alginato carregados com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (Cravo-da-índia) obtidos pela técnica de gelificação iônica e avaliação da atividade antioxidante

MACEIÓ
2023

LAISA CAROLINA GOMES DE BULHÕES

Desenvolvimento e caracterização de glóbulos de alginato carregados com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (Cravo-da-índia) obtidos pela técnica de gelificação iônica e avaliação da atividade antioxidante

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador (a): Prof. Dr. Irinaldo Diniz B. Júnior

MACEIÓ
2023

Catlogação na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- B933d Bulhões, Laisa Carolina Gomes de.
Desenvolvimento e caracterização de glóbulos de alginato carregados com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (Cravo-da-india) obtidos pela técnica de gelificação iônica e avaliação da atividade antioxidante / Laisa Carolina Gomes de Bulhões. – 2023. 58 f. : il. color.
- Orientador: Irinaldo Diniz B. Júnior.
Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2023.
- Bibliografia: f. 52-58.
1. Syzygium . 2. Antioxidantes. 3. Gelificação iônica. 4. Liofilização. 5. Alginatos. I. Título.

CDU: 615.279:582.883

AGRADECIMENTO

A realização desse trabalho só foi possível com a colaboração e apoio de diversas pessoas e instituições.

Primeiramente eu gostaria de agradecer à Deus, por iluminar todo o meu caminho e me dar um pouco de sanidade para terminar esse curso, e a todos os santos e santas que fiz promessa para passar nas disciplinas.

Gostaria de agradecer à minha família principalmente aos meus pais por todo o apoio e motivação, por sempre serem minha inspiração e me dar suporte em todos os momentos que eu preciso, não sou capaz de agradecer o suficiente por tudo que eles têm feito por mim.

Agradeço a todos os meus amigos do laboratório LABTCOM, por sempre estarem dispostos a ajudar e por transformar o laboratório em um ambiente mais descontraído, agradeço a todos vocês.

Agradeço principalmente ao Valdemir, Fernanda e Naianny por terem me ajudado em todo esse tempo de laboratório, por serem pessoas ímpares e estarem sempre dispostos a ajudar, eu realmente não teria feito esse trabalho sem a ajuda dessas pessoas. Serei eternamente grata pela motivação e pelos ensinamentos.

Ao professor Irinaldo, pela confiança e pelo apoio, por estar disposto a ajudar sempre que procurado, por ser um exemplo de profissional e como pessoa e pela dedicação para manter o laboratório funcionando.

Ao Jefferson, a Yasmin e a Gabriela, pela amizade que levarei para a vida, por serem as pessoas que compartilharam momentos bons e ruins. O curso se tornou muito melhor com a presença de vocês.

A todos os amigos que a UFAL me deu, Gabriela Lombardi, Andressa, Juliana Sá e Maria Luiza

Para todos meus amigos de vida que vem me ajudando indiretamente Mirra, Larissa, Georgina, isabelle, Ana carla.

Agradeço a UFAL, ao ICF, ao programa de pós-graduação pela oportunidade e estrutura adequada para a conclusão desse mestrado.

RESUMO

Os óleos essenciais são substâncias complexas que possuem em sua composição diversos constituintes que conferem a esses óleos atividades biológicas. O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma planta arbórea da família Myrtaceae que vem sendo utilizada na medicina desde os tempos antigos, possuindo uma atividade antioxidante, anestésica, inseticida e antimicrobiana. As técnicas de encapsulação são muito utilizadas para a produção de fármacos, dando a esses produtos uma maior estabilidade protegendo os princípios ativos contra fatores extrínsecos e intrínsecos. A técnica de encapsulação por gelificação iônica consiste numa produção de esferas por interações eletrostáticas entre polímeros iônicos e íons com cargas diferentes, a fim de formar uma rede tridimensional, para o aprisionamento do composto ativo. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi desenvolver glóbulos de alginato carregados com óleo essencial de cravo-da-índia através da técnica de gelificação iônica, identificar e quantificar o principal marcador do óleo essencial de cravo, quantificar os fenóis totais e avaliar o potencial antioxidante e caracterizar termicamente os glóbulos de alginato carregados com o óleo essencial de cravo-da-índia. Os glóbulos foram obtidos pela técnica de gelificação iônica. O óleo essencial e glóbulos foram avaliados quanto a atividade antioxidante pelos métodos de DPPH. A quantificação dos fenóis totais foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu. A identificação e a quantificação do principal marcador do óleo foram feitas por CG-EM. As estabilidades termogravimétricas dos glóbulos foram avaliadas pelo TGA e DSC. Foram encontrados respectivamente no óleo essencial e glóbulos de alginato a 1% úmido e liofilizados e 2% úmido e liofilizado teores de 997,66, 714,84, 770,58, 433,43 e 534,03 mg EAG g⁻¹ de compostos fenólicos totais. O método antioxidante DPPH foram observadas atividades elevadas onde no OE o percentual foi de 28,16% a 80,27% e nos glóbulos de alginato a 1% 12,90% a 59,36%, glóbulos de alginato a 2% 11,19% a 31,79% já nos glóbulos liofilizados 22,19% a 71,35% para os de alginato a 1% e 17,79% a 61,24% para os glóbulos alginato 2%. O eugenol foi o composto majoritário do óleo essencial com um teor de 83,73. A eficiência de encapsulação foi de 14% na formulação de alginato 1% e de 9,78% na formulação de alginato 2%. Para as amostras liofilizadas a eficiência de encapsulação foi de 23,46% para alginato a 1% e 16,87 para alginato a 2%. Os glóbulos apresentaram com aparência translúcida, enquanto aquelas com o óleo apresentaram-se com coloração opaca, mais próxima ao branco. A análise térmica demonstrou uma boa estabilidade para os glóbulos. O processo de gelificação iônica obteve êxito dando uma maior estabilidade térmica ao óleo essencial de cravo, mantendo suas propriedades biológicas.

PALAVRAS CHAVES: *Syzygium aromaticum*, atividade antioxidante, gelificação iônica, liofilização, alginato de sódio

ABSTRACT

Essential oils are complex substances that have in their composition several constituents that give these oils biological activities. The clove (*Syzygium aromaticum*) is an arboreal plant of the Myrtaceae family that has been used in medicine since ancient times, possessing an antioxidant, anesthetic, insecticidal and antimicrobial activity. The encapsulation technique by ionic gelation consists of producing spheres by electrostatic interactions between ionic polymers and ions with different charges, in order to form a three-dimensional network, for the entrapment of the active compound. In this context, the objective of this work was to develop alginate globules loaded with clove essential oil through the ionic gelation technique, identify and quantify the main marker of clove essential oil, quantify the total phenols and evaluate the antioxidant potential and thermally characterize the alginate globules carried with clove essential oil. The blood cells were obtained by the ionic gelation technique. Essential oil and globules were evaluated for antioxidant activity by DPPH methods. Quantification of total phenols was performed using the Folin-Ciocalteu method. Identification and quantification of the main oil marker were performed by GC-MS. The thermogravimetric stabilities of the globules were evaluated by TGA and DSC. Contents of 997.66, 714.84, 770.58, 433.43 and 534.03 mg EAG g⁻¹ of total phenolics compounds were found in the essential oil and alginate globules at 1% wet and lyophilized and 2% wet and lyophilized, respectively. The DPPH antioxidant method showed high activities where in the EO the percentage was from 28.16% to 80.27% and in the 1% alginate globules 12.90% to 59.36%, 2% alginate globules 11, 19% to 31.79% already in the lyophilized globules 22.19% to 71.35% for the 1% alginate globules and 17.79% to 61.24% for the 2% alginate globules. Eugenol was the major compound in the essential oil with a content of 83.73. The encapsulation efficiency was 14% in the 1% alginate formulation and 9.78% in the 2% alginate formulation. For the lyophilized samples, the encapsulation efficiency was 23.46% for 1% alginate and 16.87 for 2% alginate. The globules presented a translucent appearance, while those with the oil presented an opaque color, closer to white. Thermal analysis showed good stability for the globules. The ionic gelling process was successful giving greater thermal stability to the clove essential oil, maintaining its biological properties.

KEY WORDS: *Syzygium aromaticum*, antioxidant activity, ionic gelation, lyophilization, sodium alginate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Principais constituintes do óleo essencial de <i>S. aromaticum</i> . Eugenol (1), acetato de eugenol (2), β -cariofileno (3), salicilato de metilo (4), pineno (5), vanilina (6), α -humulene (7).....	19
Figura 2 -Formação de radical (1) e não há formação de radical (2) do DPPH.....	21
Figura 3- Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu	22
Figura 4- Diagrama esquemático microcápsulas.	23
Figura 5- Formação de microcápsulas pelo método de gelificação por extrusão.....	24
Figura 6- Diferentes estágios de preparação de cápsulas de alginato pelo método de gelificação iônica por emulsificação	25
Figura 7- Unidades monoméricas de alginato de sódio.....	26
Figura 8- Modelo “caixa de ovo”	27
Figura 9- Perfil cromatográfico do óleo essencial de cravo-da-índia obtido por CG-EM.....	31
Figura 10- Perfil cromatográfico do glóbulos de alginato de sódio a 1% com OE de cravo-da-índia obtido por CG-EM.....	33
Figura 11- Perfil cromatográfico dos glóbulos de alginato de sódio a 1% com OE de cravo-da-índia liofilizado obtido por CG-EM.....	34
Figura 12- Perfil cromatográfico do glóbulos de alginato de sódio a 2% com OE de cravo-da-índia obtido por CG EM.....	34
Figura 13-Perfil cromatográfico dos glóbulos de alginato de sódio a 2% com OE de cravo-da-índia liofilizado obtido por CG-EM.....	35
Figura 14- Fotografia das microcápsulas em placas de petri produzidas por gelificação iônica. A – Glóbulos de alginato de sódio a 1% sem óleo essencial; B – Glóbulos de alginato de sódio a 2% sem óleo essencial; C – Glóbulos de alginato de sódio a 1% com óleo essencial a 5%; e D – Glóbulos de alginato de sódio a 2% com óleo essencial a 5%.	37
Figura 15– Fotografia das microcápsulas em placas de petri produzidas por gelificação iônica. E – Glóbulos de alginato de sódio a 1% liofilizados; F – Glóbulos de alginato de sódio a 2% liofilizados.....	38
Figura 16- Curva de calibração para quantificação de eugenol.	39

Figura 17- As curvas termogravimétricas (TG/DTG),mostram a perda de massa (%) de cada amostra em função da temperatura (°C).....	44
Figura 18- As curvas calorimétricas,mostram o fluxo de calor (mW) de cada amostra em função da temperatura (°C).....	45
Figura 19-As curvas termogravimétricas (TG/DTG), mostram a perda de massa (%) de cada amostra liofilizada em função da temperatura (°C).....	46
Figura 20- Curva padrão para fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteau ácido gálico.	47
Figura 21- Curvas para a determinação do IC ₅₀ para o Oe de cravo-da-índia	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Componentes presentes no óleo essencial de cravo-da-índia.....	35
Tabela 2- Peso médio dos glóbulos de alginato úmidos e liofilizados.....	39
Tabela 3- Dados termogravimétricos e calorimétricos das amostras.....	41
Tabela 4- Dados termogravimétricos dos glóbulos úmidos e liofilizados.....	45
Tabela 5- Conteúdo de fenóis totais em amostras do óleo essencial de cravo-da-índia e glóbulos de alginato com cravo-da-índia.....	47
Tabela 6- A Atividade antioxidante do óleo essencial e dos glóbulos de alginato e de cravo-da-índia (% Inibição do radical DPPH).	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG	Cromatografia Gasosa
DPPH	1,1- O difenil-2-picrilidrazil
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
OE	Óleo essencial
pH	Potencial Hidrogeniônico
RFC	Folin-Ciocalteu (RFC)
TGA	Análise termogravimétrica
ET	Evento térmico;
OEC	Óleo essencial de cravo;
GA1	Glóbulo de alginato a 1%;
GA2	Glóbulo de alginato a 2%;
GA1+O	Glóbulo de alginato a 1% + óleo essencial de cravo;
GA2+O	Glóbulo de alginato a 2% + óleo essencial de cravo.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
3	REVISÃO.....	17
3.1	Óleo essencial	17
3.2	Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	17
3.2.1	Composição química do cravo-da-índia	19
3.3	Métodos para a determinação da atividade antioxidante e fenóis totais	20
3.3.1	Atividade antioxidante.....	20
3.3.2	Quantificação de fenóis totais.....	21
3.4	Técnica de encapsulação	22
3.5	Técnica de gelificação iônica	23
3.6	Alginato de sódio.....	26
4	METODOLOGIA	29
4.1	Caracterização físico-química e identificação do OE	29
4.1.1	Obtenção do OE de cravo-da-índia	29
4.1.2	Determinação da densidade relativa do OE	29
4.1.3	Identificação química dos componentes.....	29
4.2	Desenvolvimento de formulações poliméricas e incorporação do OE	29
4.3	Caracterização físico-química das microglóbulos de <i>S.aromaticum</i>	30
4.3.1	Eficiência de encapsulação	30
4.3.2	Teor de umidade.....	30
4.3.3	Peso médio.....	30
4.3.4	Análise térmica	31
4.4	Determinação do teor de fenóis totais.....	31
4.5	Atividade antioxidante	31
4.5.1	DPPH.....	31
5	RESULTADOS e DISCUSSÃO	32
5.1	Caracterização físico-química e identificação do OE	32
5.1.1	Determinação da densidade relativa do OE	32
5.1.2	Identificação química dos componentes.....	32
5.2	Desenvolvimento de formulações poliméricas e incorporação do OE	36
5.2.1	Eficiência de encapsulação	39
5.3	Teor de umidade.....	40

5.3.1	Peso médio.....	40
5.3.2	Análise térmica	41
5.4	Fenóis totais.....	46
5.5	Atividade antioxidante	48
5.5.1	DPPH.....	48
CONCLUSÃO.....		52
6	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Óleos essenciais, são misturas complexas voláteis de origem animal ou vegetal que possuem um aroma intenso e agradável. Eles são constituídos por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides que conferem a esses óleos as características organolépticas e diversas atividades biológicas. Por conta dessas propriedades, os OEs são amplamente utilizados nas indústrias de perfumaria, farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos (LUPE, 2007; BIZZO *et al.*, 2009; TEODORO, 2016).

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma planta arbórea da família Myrtaceae originária da Indonésia. Os botões florais secos são utilizados como condimento no mundo todo, porém as propriedades anestésicas do cravo vêm sendo usada na medicina desde os tempos antigos (SANTOS, 2014; MBAVENG, KUETE, 2017).

O *Syzygium aromaticum* é uma das plantas que mais possui compostos fenólicos em sua composição, como flavonoides, ácidos hidroxibenzoicos, hidroxifenil propeno e terpenoides. O principal constituinte do óleo essencial de cravo-da índia é o eugenol, porém outros compostos também estão presentes incluindo acetato de eugenol, β -cariofileno, salicilato de metilo, pineno, vanilina, e α -humulene (CORTES-ROJAS *et al.* 2014; MBAVENG, KUETE, 2017).

Por conta dessa rica composição o cravo-da-índia possui diversas propriedades entre elas: controle de náuseas, vômitos, dispneias, tosse, espasmos gastrointestinais, diarreias, e contrações uterinas. Ademais é utilizado na medicina popular como: diurético, anestésico, tonicardico, condimento com efeitos carminativos, estimulantes e inseticidas (MBAVENG, KUETE, 2017).

Por se tratar de um composto volátil, os óleos essenciais, necessitam de uma proteção, para que assim suas atividades e composição sejam protegidas, para isso as técnicas de encapsulação servem para evitar que haja essa perda de atividade do material encapsulado por degradação enzimática ou por oxidação, aumentando a estabilidade dos produtos, além de promover uma liberação controlada do princípio ativo, em caso de medicamentos. O envoltório formado tem como função também, mascarar sabores e odores desagradáveis (SHAHIDI *et al.* 2003; SANSONE *et al.* 2011).

A técnica de encapsulação por gelificação iônica consiste numa na produção de esferas por interações eletrostáticas entre polímeros iônicos e íons com cargas

diferentes, afim de formar uma rede tridimensional, para o aprisionamento do composto ativo. É uma técnica simples comparado a outras técnicas, pois não há uso de solventes orgânicos e as partículas podem ser formadas em temperatura ambiente (ROCHA, 2017).

Entre os polímeros utilizados na técnica de gelificação iônica, o alginato é um dos mais utilizados como material encapsulante. O alginato é um polissacarídeo aniônico, e um polímero de ocorrência natural, e sua produção é proveniente de algas marrons de diversos gêneros. (HAY et al., 2013). Esse biopolímero é um excelente material para encapsulação, pois apresenta compatibilidade com quase todos os procedimentos de encapsulação, além de ser biocompatível, hidrofílico, biodegradável, ser inerte com a matriz encapsulada, e apresentar grande disponibilidade no mercado (ARRIOLA, 2017).

Tendo isto em vista, o presente estudo propõe-se desenvolver e caracterizar glóbulos de alginato carregados com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* para possível utilização como agente antioxidante.

2 OBJETIVOS

Objetivos Geral

Desenvolver e caracterizar glóbulos poliméricos carregadas com óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) para avaliação *in vitro* da atividade antioxidante

Específicos

1. Obter e caracterizar o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia)
2. Identificar os compostos presentes no óleo essencial de *S.aromaticum* pela técnica de cromatografia gasosa (GC-MS)
3. Desenvolver formulações poliméricas estáveis para a incorporação do óleo essencial de *S.aromaticum* e estabelecer as condições e agentes encapsulantes ideais;
4. Realizar caracterização físico-química dos microglóbulos por Análise térmica Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);
5. Avaliar a atividade antioxidante do óleo essencial e dos glóbulos, pela técnica de DPPH

3 REVISÃO

3.1 Óleo essencial

Os óleos essenciais são importantes matérias-primas, por possuírem aroma intenso e agradável, na sua maioria, são utilizados em grandes aplicações nas indústrias de perfumaria, farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos. São utilizados principalmente como fragrâncias, fixadores ou coadjuvantes de preparações orais (LUPE, 2007; BIZZO *et al.* 2009).

Esses óleos, são compostos produzidos através de uma extração por arraste de vapor, por solventes orgânicos, fluido supercrítico ou enfloração, onde flores, folhas, rizomas são usados como insumos para essa extração, ou são produzidos por prensagem de pericarpo, utilizando-se de frutos (BIZZO *et al.* 2009).

Os óleos essenciais são produtos voláteis, diferente dos óleos fixos, que são misturas lipídicas obtidas através da extração de sementes (TRANCOSO, 2013). Eles são solúveis em solventes orgânicos apolares, e em contato com a água há formação de hidrolatos, por conta da sua solubilidade limitada em solventes polares, são incolores ou amarelados, e não possuem boa estabilidade, são sensíveis a luz, calor, ar e umidade, havendo uma degradação dos mesmos, quando expostos à essas variáveis (SIMÕES, SPITIZER, 2004; SANTOS, 2014).

Os OEs podem ter vários constituintes, de 20 a 60, em diversas concentrações dependentes de vários fatores. Porém apenas 2 ou 3 constituintes estão presentes em concentrações mais elevadas, eles são chamados de compostos majoritários (TEODORO, 2016).

Esses óleos voláteis possuem diversas atividades, especialmente como inibidores de germinações, proteção contra predadores e parasitos, proteção contra perda de água e aumento de temperatura. Os principais constituintes são monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, que conferem a esses óleos as características organolépticas. Porém a composição química pode ser afetada pelas condições ambientais como: época de colheita, região de cultivo, a parte utilizada da planta, e o método de extração (LUPE, 2007).

3.2 Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

Syzygium aromaticum é uma árvore nativa da Indonésia, que pode medir em média 8 ou 10 metros de altura, é uma planta tropical tem um porte arbóreo e pertence à família Myrtaceae. Os botões secos aromáticos que conhecemos são chamados de cravos, e são utilizados como tempero em todo o mundo (SANTOS, 2014; MBAVENG, KUETE, 2017).

As árvores de cravo-da-índia são cultivadas geralmente em áreas costeiras em pelo menos 200 m acima do nível do mar, as produções dos botões florais começam com 4 anos após o plantio, onde a coleta pode ser feita manualmente ou através da adição de um produto químico como o gás etileno, para agilizar a maturação. No Brasil há grandes plantações dessa árvore na região nordeste do país (CORTES- ROJAS *et al.* 2014).

Os botões florais geralmente possuem a coloração pálida, porém perto da colheita sua cor muda para um marrom brilhante. Os cravos- da- índia são coletados quando atingem de 1 a 2 cm de comprimento, eles lembram um cálice longo e possuem 4 estruturas que lembram pétalas. A composição química do óleo essencial depende da região onde ele foi colhido e cultivado e do método de extração. No entanto alguns componentes, os chamados majoritários, estão presentes em todos os botões de cravo-da-índia, são eles: eugenol, β -cariofileno e acetato de eugenol (SHIVA-RAMAYONI, 2007; PREEDY, 2016).

O cravo-da-índia possui um forte aroma e é picante ao paladar, dando uma pequena anestesia, e seu nome em português provem do latim *clavus*, que significa “prego”, ele recebe esse nome devido a sua aparência (AFFONSO *et al.*, 2012; SANTOS, 2014).

O cravo vem sendo usado como medicamento desde os tempos antigos, nos países orientais, principalmente contra problemas orais e dentários. Além disso, o *Syzygium aromaticum* possui diversas propriedades entre elas: controle de náuseas, vômitos, dispneias, tosse, espasmos gastrointestinais, diarreias, contrações uterinas. Ademais é utilizado na medicina popular como: diurético, anestésico, tonicardico, condimento com efeitos carminativos, estimulantes e inseticidas (MBAVENG, KUETE, 2017).

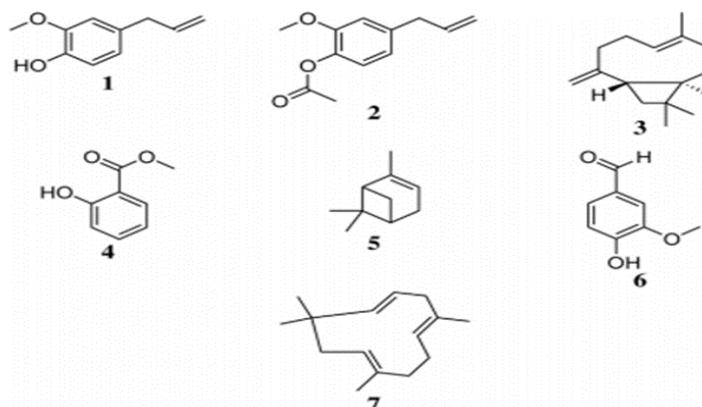
O óleo essencial derivado dessa planta não é só usado como agente aromático e fragrâncias, ele possui uma excelente atividade antioxidante, prevenindo diversas doenças causadas por radicais livres, assim como possui uma atividade

antimicrobiana e antifúngica contra diversas cepas de microrganismos (RADÜNZ *et al.* 2018).

3.2.1 Composição química do cravo-da-índia

Syzygium aromaticum é uma das plantas que mais possui compostos fenólicos em sua composição, como flavonoides, ácidos hidroxibenzoicos, hidroxifenil propeno e terpenoides. O principal constituinte do óleo essencial de cravo-da-índia é o eugenol, porém outros compostos também estão presentes incluindo acetato de eugenol, β -cariofileno, salicilato de metilo, pineno, vanilina, e α -humulene (CORTES- ROJAS *et al.* 2014; MBAVENG, KUETE, 2017). Na figura 1 estão demonstrados os principais constituintes do óleo essencial de cravo-da-índia.

Figura 1 -Principais constituintes do óleo essencial de *S. aromaticum*. Eugenol (1), acetato de eugenol (2), β -cariofileno (3), salicilato de metilo (4), pineno (5), vanilina (6), α -humulene (7).



Fonte: Adaptado de MBAVENG e KUETE (2017).

Jirovez *et al.* (2002) analisaram a composição química do OE de cravo-da-índia e encontraram 3 substâncias principais os chamados componentes majoritários que foram: o eugenol, β -cariofileno e α -humulene.

O eugenol cujo a nomenclatura química é 4-Alil-2-Metoxifenol, é o principal constituinte no óleo de cravo-da-índia, é um polifenol líquido de cor amarelada ou incolor, solúvel em clorofórmio, éter, álcool etílico e óleo e pouco solúvel em água, é responsável pelo forte odor das plantas (SANTOS, 2014).

O principal uso do eugenol é como fragrância e sabor, porém ele também é usado como pesticida. Esse composto é advindo de vários óleos essenciais, todavia o óleo de cravo é a principal fonte contendo cerca de 80-90% desse polifenol (BAKER, GRANT, 2017).

O eugenol pode ser sintetizado de várias formas, isso justifica sua presença nas essências, esse composto pode ser obtido também pelo processo de

hidrodestilação das folhas ou botões de cravo-da-índia ou pode ser extraído utilizando um solvente sintético como o diclorometano. (BAKER, GRANT, 2017).

Esse composto dispõe de várias propriedades terapêuticas, apresenta efeitos anti-inflamatórios, anestésico, antioxidante, cicatrizante, antibacteriano e antifúngico, principalmente no combate à frieiras e micoses (SANTOS, 2014).

O β -cariofileno é um sesquiterpeno bicíclico encontrado em óleos essenciais, esse composto tem atividades anti-inflamatórias, antiespasmódicas, melhora na asma, e além disso exibe uma atividade antimicrobiana contra bactérias gram positivas e gram negativas (YOO, JWA, 2019).

O α -humulene é um sesquiterpeno monocíclico, esse constituinte exibe várias atividades biológicas, como anti-inflamatório e efeitos antitumorais. Assim sendo um importante constituinte anticancerígeno, que contribui para a eficácia farmacológica do óleo de cravo (WEI, XIAO, YANG, 2016).

3.3 Métodos para a determinação da atividade antioxidante e fenóis totais

3.3.1 Atividade antioxidante

A oxidação é um processo onde há a perda de um os mais elétrons para outra substância. Essa transferência de elétrons é essencial para a sobrevivência celular, porém nesse processo há a formação de radicais livres, que são moléculas instáveis que se associam rapidamente com moléculas de carga positiva, também há formação de outras espécies reativas de oxigênio (ERO), que da mesma forma podem causar danos oxidativos (ALVES *et al.* 2010).

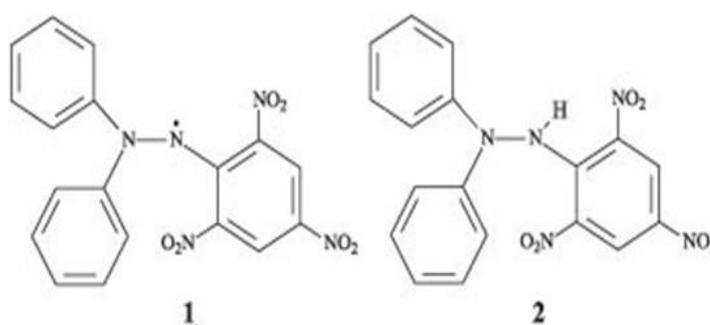
O excesso de radicais livres pode causar vários danos, principalmente ao DNA, além de serem altamente carcinogênicos causam doenças cardiovasculares, neurológicas e doenças degenerativas (ALVES *et al.* 2010).

O método de captação de radicais livres por DPPH (1,1- O difenil-2-picrilidrazil), vem sendo bastante utilizado, pois é um método analítico bastante versátil, de simples manejo e de baixo custo (CHEDEA, POP, 2019).

O DPPH um pó cristalino de cor escura, composto de moléculas de radicais livres, é solúvel em solventes orgânicos. Geralmente há uma diminuição na absorbância na presença de agentes antioxidantes num período fixo de 30 min (CHEDEA, POP, 2019).

O DPPH é caracterizado como um radical estável a medida que há um deslocamento do elétron sobre a molécula, esse elétron não permite que as moléculas façam uma dimerização, como acontece com os radicais livres. Esse deslocamento também dá a cor escura a solução de DPPH em etanol, quando a solução de DPPH é misturada com substâncias que podem doar hidrogênio, essas substâncias sequestram o DPPH e reduzem o mesmo a hidrazina, assim a solução perde a cor violeta e assume uma cor amarelada. (MARTINEZ *et al.* 2006; ALVES *et al.* 2010; CHEDEA, POP, 2019).

Figura 2 -Formação de radical (1) e não há formação de radical (2) do DPPH.



Fonte: ALVES *et al.* (2010)

A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumida pela substância antioxidante, quanto menor o consumo de DPPH por uma amostra, maior será sua atividade antioxidante (BORGES *et al.* 2011).

3.3.2 Quantificação de fenóis totais

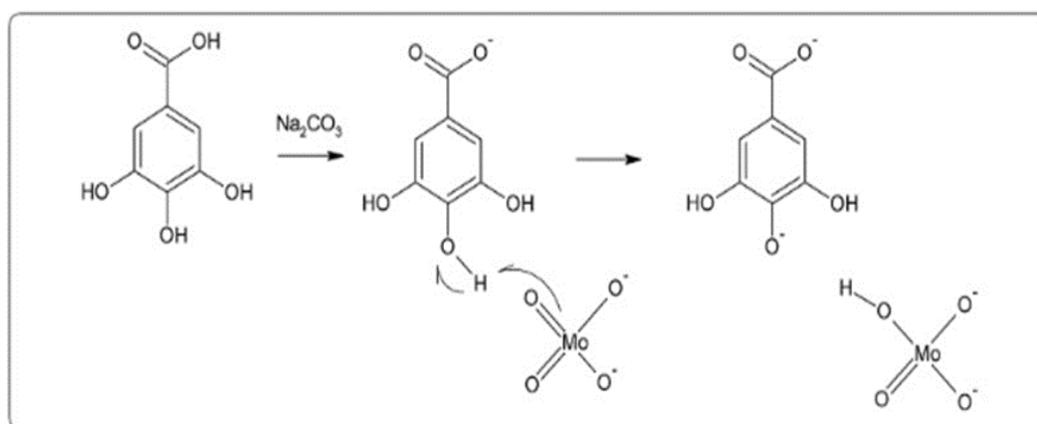
Os compostos fenólicos são metabolitos secundários que podem ser classificados como: ácidos hidroxicinâmicos, ácidos hidroxibenzóicos, estilbenóides, xantonóides, di-hidrocalos, flavonóides, fenóis ou aldeídos fenólicos. Eles são bastante importantes por conta das suas propriedades biológicas anti-inflamatórias, antioxidantes, antivirais e anticancerígenas. (LOPÉZ *et al.*, 2018)

Em meio a vários métodos para a quantificação de fenóis totais, o método que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC) é o mais empregado. Esse reagente tem a capacidade de mensurar a quantidade de fenóis totais numa amostra através de reações de oxi-redução (REZENDE, 2010)

O RFC é uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstico, o molibdênio está em estado de oxidação apresentando uma cor amarelada (complexo $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Porém na presença de agentes redutores, compostos fenólicos ou de natureza não fenólica, formam complexos molibdênio-tungstênio azul. A reação ocorre com a redução dos ácidos fosfomolibdico-fosfotungstico pelas hidroxilas fenólicas, originando óxidos azuis de tungstênio (W_8O_{23}) e de molibdênio (Mo_8O_{23}). A reação ocorre em meio alcalino e a solução de Na_2CO_3 é a base mais indicada (REZENDE, 2010; SILVA 2019).

O método baseia-se no princípio de que, em meio alcalino, a mistura dos ácidos que constituem o reagente se reduz ao oxidar os compostos fenólicos, produzindo óxidos túngstico (W_8O_{23}) e molibdeno (Mo_8O_{23}) de cor azul, que absorvem no comprimento de onda de 760 nm (MONTEIRO et al., 2006).

Figura 3- Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu

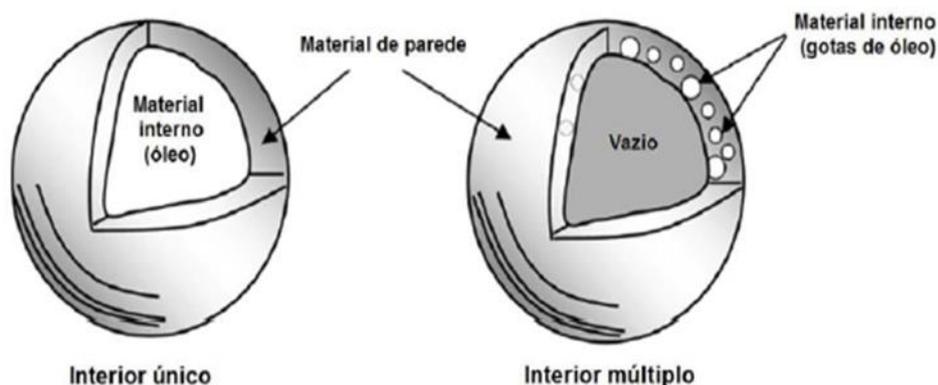


Fonte: BERNAL *et al.*, (2017)

3.4 Técnica de encapsulação

O encapsulamento consiste num processo de empacotamento de partículas em capsulas, onde o material encapsulado é chamado de núcleo e o material que cobre a capsula é chamado de material de parede ou cobertura. A estrutura da cápsula consiste em uma esfera cercada por uma parede, onde pode estar presente vários núcleos distintos dentro da parede ou embebido na mesma (TEODORO, 2016).

Figura 4: Diagrama esquemático microcápsulas.



Fonte: TEODORO (2016).

As cápsulas, servem para evitar que haja uma perda de atividade do material encapsulado por degradação enzimática ou por oxidação, reduz o teor de umidade, aumentando a estabilidade dos produtos, além de promover uma liberação controlada do princípio ativo, em caso de medicamentos. O envoltório formado tem como função também, mascarar sabores e odores desagradáveis (SHAHIDI et al. 2003; SANSONE et al. 2011).

3.5 Técnica de gelificação iônica

A técnica de encapsulação por gelificação iônica consiste numa na produção de esferas por interações eletrostáticas entre polímeros iônicos e íons com cargas diferentes, afim de formar uma rede tridimensional, para o aprisionamento do composto ativo. É uma técnica simples comparado a outras técnicas, pois não há uso de solventes orgânicos e as partículas podem ser formadas em temperatura ambiente (ROCHA, 2017).

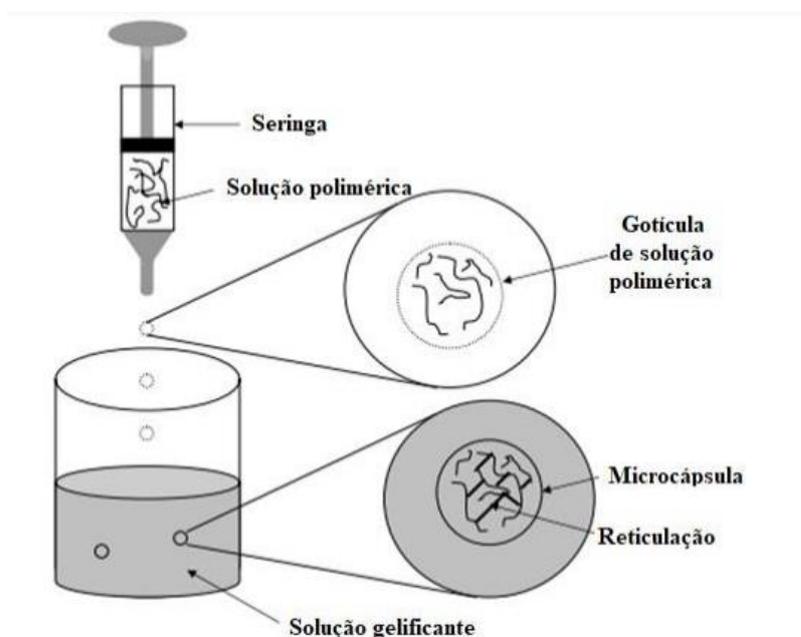
A gelificação iônica pode ser feita de duas maneiras, por extrusão/externa ou emulsificação/interna. A extrusão é o método mais comum para produzir partículas em gel, por meio de gotejamento de uma solução aquosa contendo um polímero através de um bico em um banho contendo CaCl_2 (OZKAN, et al. 2018).

Neste processo o cálcio se encontra difundido no interior da gota do polímero formada. As partículas formadas pela técnica de extrusão possuem o núcleo disperso na matriz encapsulante, podendo uma parte do material encapsulado ser encontrado na superfície da matriz. As micropartículas formadas por essa técnica apresentam uma textura suave, e uma boa biocompatibilidade com as membranas, uma vez que

possui uma natureza hidrofílica devido ao seu material e seu conteúdo de água (DE VOZ, et al.2010).

A técnica de gelificação iônica externa possui algumas limitações como o tamanho considerável das partículas formadas que podem variar de 500µm a 3mm dependo do bico/agulha que vai ser utilizado para a formação das partículas. Outros fatores que interferem nessa técnica é a viscosidade da solução, a concentração do material encapsulante, e a distância entre o gotejamento da solução polimérica e a solução de cloreto de cálcio (BUREY et al. 2008). Na figura 5, está representada a formação de microcápsulas pelo método de extrusão.

Figura 5: Formação de microcápsulas pelo método de gelificação por extrusão.



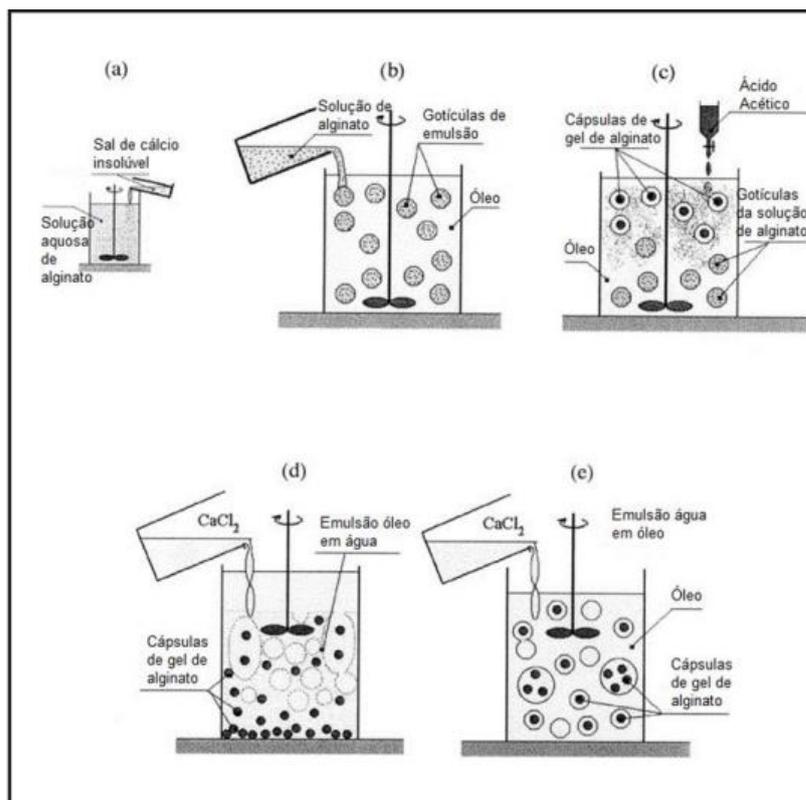
Fonte: Adaptado de Burey et al. (2008)

Já o método por emulsificação, pode ser feito de duas maneiras, a primeira envolve a produção de uma emulsão incluindo o componente ativo hidrofóbico em uma solução polimérica, em seguida fazendo o gotejamento dessa emulsão em uma solução de cálcio (OZKAN, et al. 2018). A segunda envolve a utilização de um ácido, ele é adicionado ao meio se propagando pela fase contínua para as gotículas, com isso há uma redução do pH e os íons de cálcio são liberados aprisionando o composto ativo (HOLKEM, et al. 2017).

Alguns fatores que influenciam no método de gelificação interna, é a velocidade de rotação na emulsão, a concentração de polímero, e a concentração de

emulsificante. Além disso fatores como volume da emulsão, índice de difusão dos solutos para dentro e fora da matriz, cinética de formação de gel, são importantes no processo de formação de partículas (MARTIN et al., 2013). Na figura 6 está representada os diferentes estágios de preparação de partículas pelo método de gelificação interna.

Figura 6- Diferentes estágios de preparação de cápsulas de alginato pelo método de gelificação iônica por emulsificação



Fonte: Holkem, Codevilla, Menezes (2015)

A gelificação iônica é uma técnica que permite a encapsulação de materiais hidrofílicos ou hidrofóbicos, protegendo o material ativo de possíveis alterações químicas e físicas, além de ter como vantagens, ser um processo simples e de baixo custo em relação às outras técnicas, não utiliza solventes orgânicos nem temperaturas ou pH extremos o que favorece a microencapsulação de fármacos, alimentos, células e compostos que serão empregados em aplicações biológicas (PATIL et al., 2010)

Por se tratar de compostos voláteis e passíveis de alteração por oxidação ou interações químicas, a encapsulação de óleos essenciais pode trazer muitas vantagens para indústrias alimentícias, cosméticas, farmacológicas e químicas. principalmente no processamento e armazenagem (BEIRÃO DA COSTA et

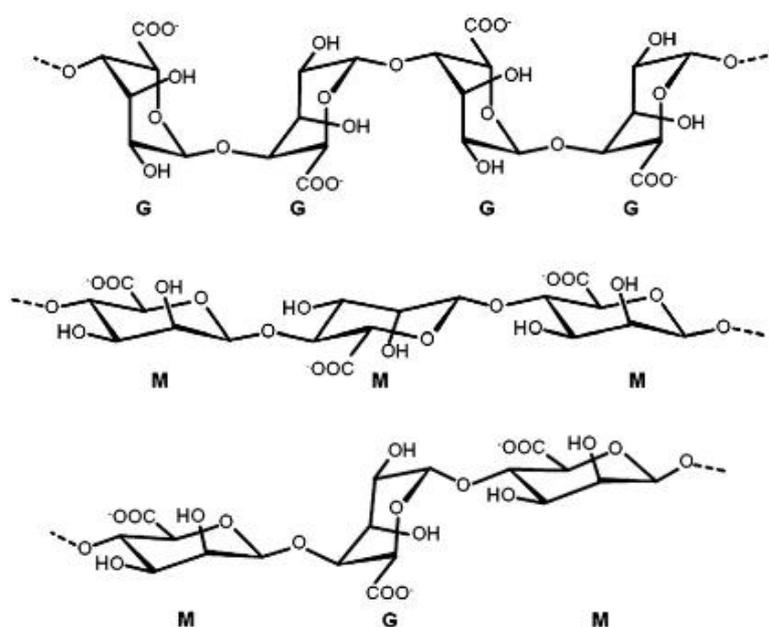
al., 2013). Além disso, a técnica de gelificação iônica é muito utilizada por ser uma excelente estratégia para mascarar aromas e sabores desagradáveis (RATHOD & KAIRAM, 2018).

3.6 Alginato de sódio

Alginato é a denominação dada a um a família de polissacarídeo aniônico que são considerados fibras alimentares, pois não são metabolizados pelo intestino humano (LEEAND E MOONEY, 2012). Esses polissacarídeos são de ocorrência natural, e sua produção é proveniente de algas marrons de diversos gêneros como por exemplo, *Laminaria hyperborean*, *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum*; menor extensão *Laminaria digitate*, *Laminaria japonica*, *Eclonia maxima*, *Lesonia negrescens*, *Sargassum sp.* (HAY et al., 2013).

Quimicamente, o alginato de sódio é um sal de sódio de ácido algínico. O ácido algínico é um polímero natural que formado de resíduos de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G) unidos por ligação (α -1 \rightarrow 4) (Figura 7), que se distribuem em seções, constituindo homopolímeros tipo blocos G (- GGG), blocos M (-MMM-) ou heteropolímeros onde os blocos M e G se alternam (-MGMG) (LEEAND E MOONEY, 2012).

Figura 7- Unidades monoméricas de alginato de sódio

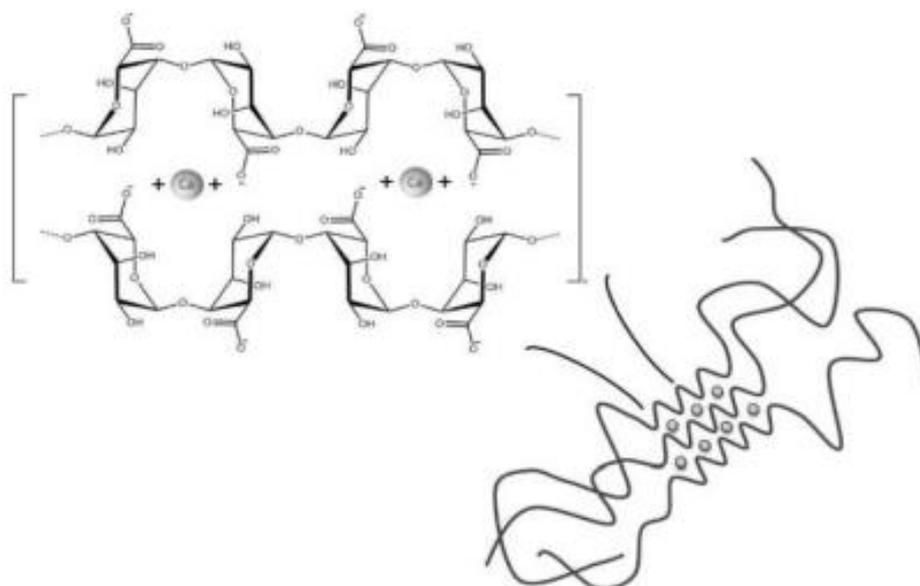


Fonte: Leeand e Mooney (2012).

Os blocos GG, são os mais rígidos quando comparados com o blocos MM, pois possuem impedimento estérico maior em torno das ligações glicosídicas, eles são insolúveis em água, e são os responsáveis por acontecer o fenômeno de gelificação (LARSEN, 2003).

Esses blocos GG têm ligações preferenciais com íons, que pode através de uma ligação cruzada, trocar íon de sua estrutura por um ion divalente, formando reticulações, formando uma rede tridimensional, denominada modelo “caixa de ovos” (CORONA HERNANDEZ et al., 2013). Cations bivalentes de Pb, Cu, Cd, Ba, Sr, Ca e Zn são altamente propensos a formar tais ligações (LIU, 2016), na figura 8 a representação é com íons de Ca.

Figura 8- Modelo “caixa de ovo”



Fonte: Adaptada de Corona Hernandez et al (2013)

Para aplicações em indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos, os íons de cálcio geralmente são empregados, pois são seguros à saúde, e junto com o alginato auxiliam para a formação de géis, íons metálicos, como o cloreto de cálcio, que é facilmente solúvel em água, originam cadeias lineares, onde é formada uma gelatina solúvel em forma de esfera. (SIMPSON, 2003).

Quando o alginato de sódio entra em contato com uma solução de cálcio, ocorre a polimerização instantaneamente da interface, precipitando alginato de cálcio, que

vai gelificando gradualmente a medida que os íons de cálcio difundem no alginato. O tamanho dos glóbulos depende da viscosidade da solução polimérica (RACOVITA et al., 2009).

Vários tipos de sais de cálcio podem ser usados para gelificar partículas de alginato, eles se dividem em três tipos principais: facilmente solúveis, parcialmente solúveis e insolúveis. Onde o cloreto de cálcio, sal facilmente solúvel, pode causar gelificação espontânea, dessa forma são mais utilizados em mecanismos externos para preparar partículas de alginato. Já o uso de sais parcialmente solúveis como o sulfato de cálcio (CaSO_4), permite a dissociação lenta do íon de cálcio. Sais de cálcio insolúveis, por exemplo, carbonato de cálcio (CaCO_3), também podem ser usados quando é desejável a reticulação gradual ou controlada (LEONG et al, 2016)

O alginato sódico é um excelente material para encapsulação, pois apresenta compatibilidade com quase todos os procedimentos de encapsulação, além de ser biocompatível, hidrofílico, biodegradável, ser inerte com a matriz encapsulada, e apresentar grande disponibilidade no mercado (ARRIOLA, 2017).

Esse biopolímero é amplamente utilizado em várias indústrias, além de alimentos, bebidas, medicamentos, como agente espessante, estabilizador, agente de encapsulação, agente de suspensão, emulsificante e formador de géis, filmes e membranas (HAY et al., 2013).

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização físico-química e identificação do OE

4.1.1 Obtenção do OE de cravo-da-índia

O óleo essencial de cravo-da-índia foi obtido a partir da empresa Quinari (responsável técnico José Reinaldo de Souza – Jandira/SP).

4.1.2 Determinação da densidade relativa do OE

A densidade do OE foi determinada através de um picnômetro e expressa pela média de três determinações.

4.1.3 Identificação química dos componentes

A separação e identificação dos componentes presentes no OEE foram realizadas por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) modelo Shimadzu GCMS-QP 2010 Plus. A solução estoque foi preparada dissolvendo o OEE em hexano para a obtenção das concentrações de 10, 25, 50, 75 e 100 µg/mL. A coluna capilar cromatográfica foi de sílica apolar, tendo o Hélio como gás de arraste (1,5 mL/min.). A corrida cromatográfica iniciou em 60 °C com aumento de 10 °C/min. até 200 °C; a temperatura se elevará 20 °C/min. até 280 °C. O modo de injeção foi sem divisão de fluxo no volume de 1 µL.

4.2 Desenvolvimento de formulações poliméricas e incorporação do OE

O óleo essencial de cravo-da-índia foi encapsulado pela técnica de gelificação iônica. Para determinação da concentração de agente encapsulante ideal, foram preparadas diferentes soluções de alginato de sódio (1,0%, e 2,0%, p/v) em água destilada. As soluções foram deixadas sob agitação constante a 200 rpm em agitador magnético. O óleo essencial de cravo (5%, v/v em relação ao alginato) foi adicionados a solução de alginato e emulsionados por 3 minutos a 1200 rpm em agitador mecânico de hélice IKA RW 20 digital. A emulsão foi gotejada com seringa de 10 mL e agulha 30x7mm sobre uma solução de cloreto de cálcio a 3% (p/v) sob agitação constante por mais 15 minutos. Em seguida, as cápsulas formadas foram armazenadas em solução de cloreto de cálcio. Na sequência 2g das amostras serão congeladas em freezer -20 °C por 24 horas, e levados a liofilizador Terroni LS 3000, nas condições de pressão 5mm-

Hg e uma temperatura de -50 °C por 24 horas. Após a liofilização do material, será armazenado em dessecador.

4.3 Caracterização físico-química das microglóbulos de *S.aromaticum*

4.3.1 Eficiência de encapsulação

As eficiências de encapsulação foram identificadas e quantificados por CG/MS (SHIMADZU-QP2010). Para tanto, foram preparadas soluções da essência de cravo-da-india em diferentes concentrações: 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL e 75 µg/mL e 100 µg/mL. Através da diluição da essência de cravo em hexano. A partir dessas concentrações foi considerado o teor quantitativo de eugenol presente nas amostras. Através da quantificação do eugenol pela área, foi possível obter uma equação linear.

Equação linear

$$EE (\%) = (QEG/QET) * 100$$

EE= Eficiência de encapsulação; QEM= quantidade de eugenol no glóbulo;
QET= quantidade de eugenol teórica

4.3.2 Teor de umidade

Para esta análise, 1 g dos glóbulos foram submetidos ao infravermelho em analisador de umidade modelo MOC63u da Shimadzu, com ajuste da intensidade da radiação emitida de modo que a amostra atingisse 105°C. O teste foi realizado em triplicata.

4.3.3 Peso médio

Para a mensuração do peso, foi utilizada balança digital analítica da marca Shimadzu AUY220, de capacidade 0,001g-200g, foram pesadas 5 unidades de cada amostra e o peso médio foi definido pela média dos pesos obtidos.

4.3.4 Análise térmica

As análises termogravimétricas e calorimétricas foram obtidas em aparelho *Shimadzu* modelo TGA-50H e DSC-60, respectivamente. A temperatura foi de 25 a 600 °C (10 °C/minuto), sob atmosfera de nitrogênio e fluxo de 20 mL/min. ou 50 mL/min. A massa das amostras foram de $5,0 \pm 0,5$ mg e os dados foram analisados utilizando o software TasyS da *Shimadzu*.

4.4 Determinação do teor de fenóis totais

A determinação do conteúdo total de fenóis foi realizada em triplicata, de acordo com o método de Folin-Ciocalteu descrito por Woisky (1996), com algumas modificações. A curva padrão de calibração foi construída utilizando o ácido gálico (Sigma Aldrich) em diferentes concentrações (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 µg/mL).

Em cada balão volumétrico de 5 mL, adicionou-se 3,5 mL de água destilada, 400 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e uma alíquota da solução estoque de ácido gálico correspondente a concentração desejada, agitando-se levemente por alguns segundos. Em seguida, foram adicionados 600 µL da solução saturada de carbonato de sódio a 20% em intervalos de um minuto para cada balão e o volume foi completado com água deionizada. A reação ocorreu com o auxílio de banho-maria a 50 °C por 20 minutos, em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-Vis, modelo 1240 Shimadzu, no comprimento de onda de 760 nm. Calculou-se a equação da reta pelo método dos mínimos quadrados.

Para a determinação do teor de fenóis totais do óleo essencial de cravo-da-índia e dos glóbulos de alginato incorporados com cravo, foram preparadas soluções estoques diluídos em água destilada à 10%, foram utilizadas alíquotas com concentrações de 2 µg/mL obtidas por diluição do óleo essencial, seguindo-se a metodologia já descrita. O resultado foi expresso em Equivalentes de Ácido Gálico (EAG)

4.5 Atividade antioxidante

4.5.1 DPPH

O ensaio foi realizado de acordo com Sales (2012), com modificações. Em balões volumétricos serão acrescentadas 2 mL da solução de DPPH e alíquotas correspondentes a cada concentração das amostras: 5, 10, 25, 30,40 µg/mL. A reação

permanecerá no escuro por 30 min. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis em um comprimento de onda de 517 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química e identificação do OE

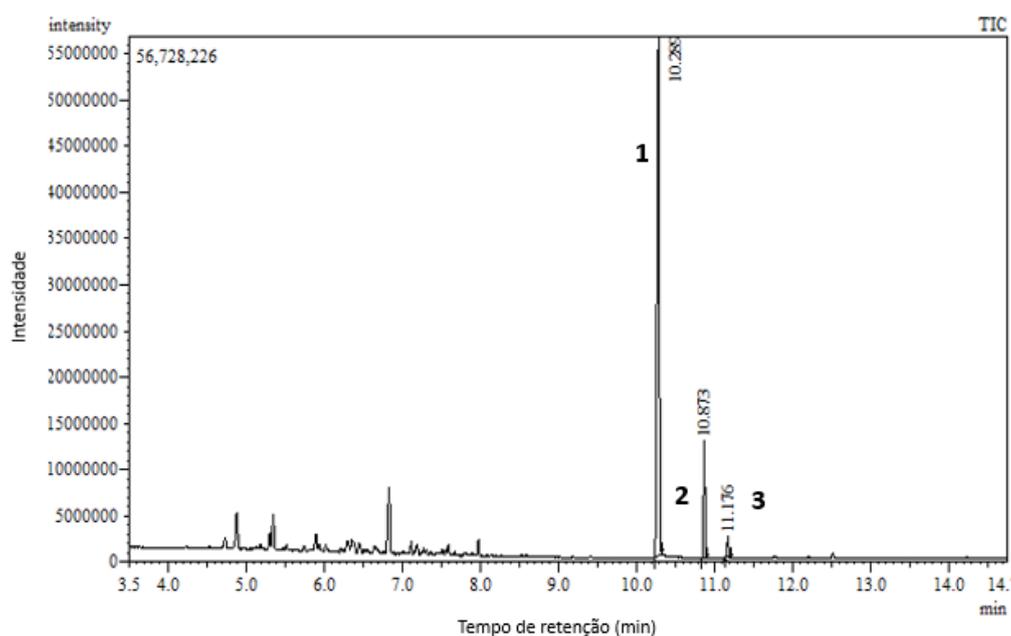
5.1.1 Determinação da densidade relativa do OE

A densidade relativa do óleo essencial de cravo-da-índia foi de 1,11 mg/mL, valor superior ao relatado por Gomes et al., 2018 e Teles et al., 2021. Levando em consideração que o volume sofre variação a depender da temperatura, e que, conseqüentemente, esses dados podem interferir na densidade, pequenas variações na densidade relativa é justificável.

5.1.2 Identificação química dos componentes

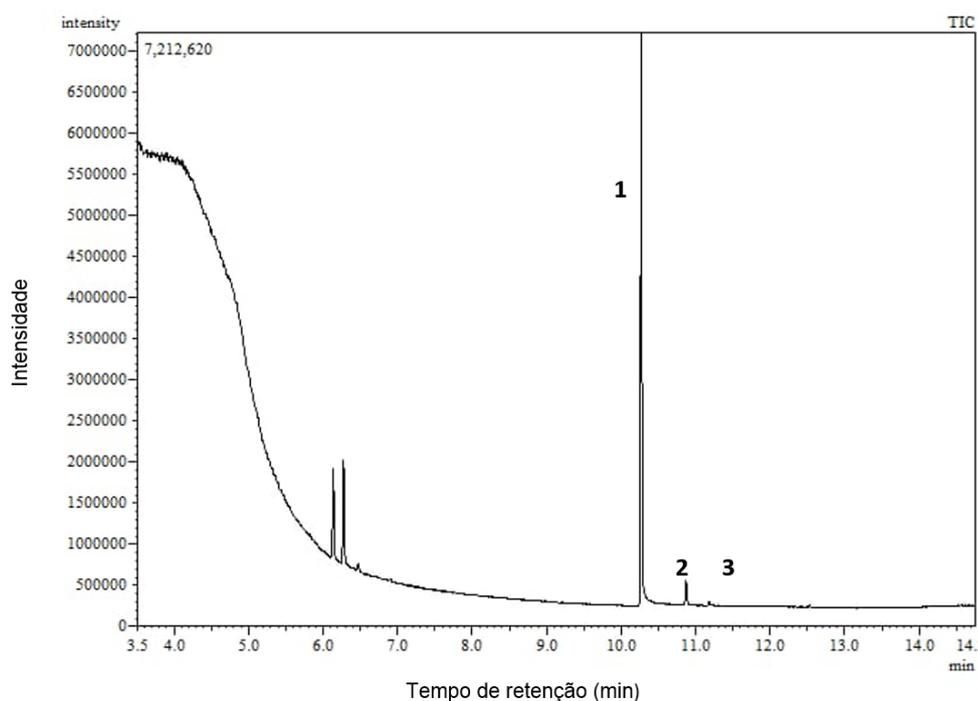
Na figura 9,10, 11, 12 e 13 estão ilustrados os perfis cromatográfico (CG-EM) do óleo essencial de cravo-da-índia e dos glóbulos de 1% e 2% úmidos e liofilizados respectivamente.

Figura 9- Perfil cromatográfico do óleo essencial de cravo-da-índia obtido por CG-EM.



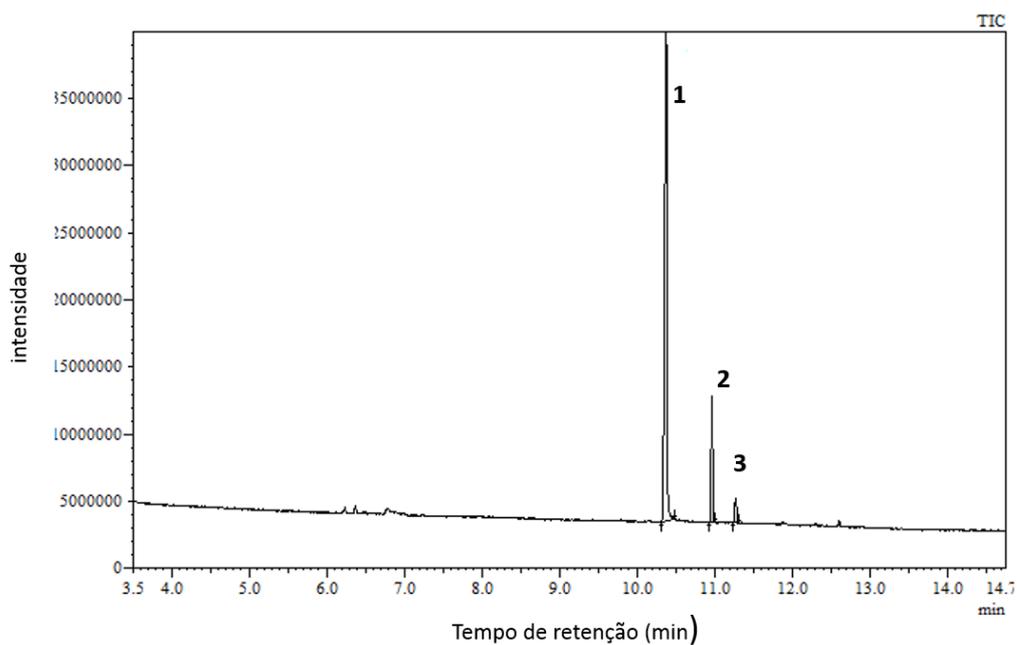
Fonte: Autor (2022).

Figura 10-Perfil cromatográfico do glóbulos de alginato de sódio a 1% com OE de cravo-da-índia obtido por CG-EM.



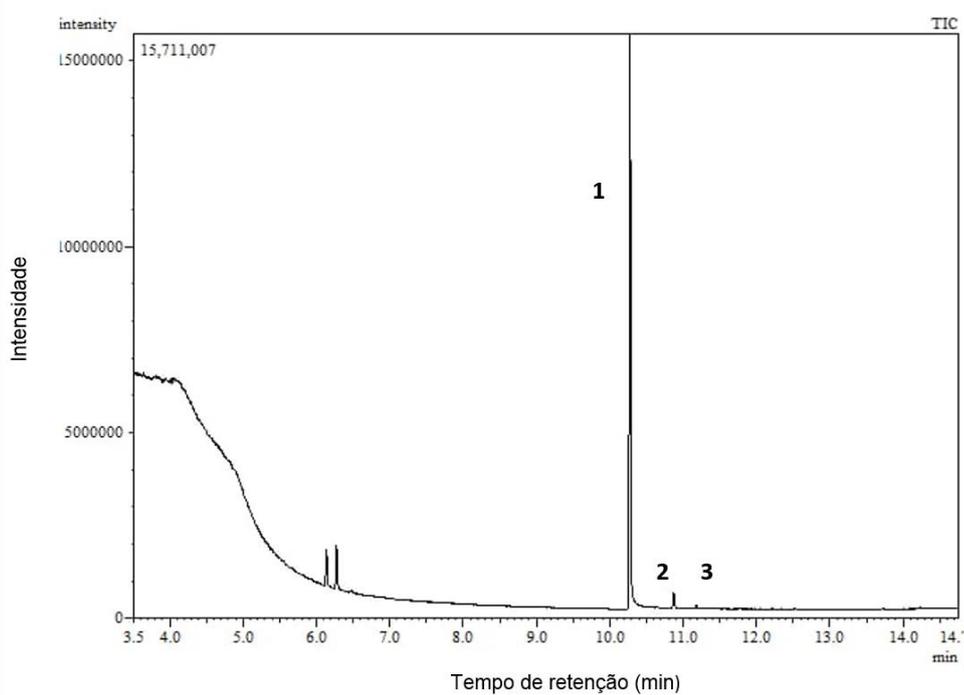
Fonte: Autor (2022).

Figura 11-Perfil cromatográfico dos glóbulos de alginato de sódio a 1% com OE de cravo-da-índia liofilizado obtido por CG-EM.



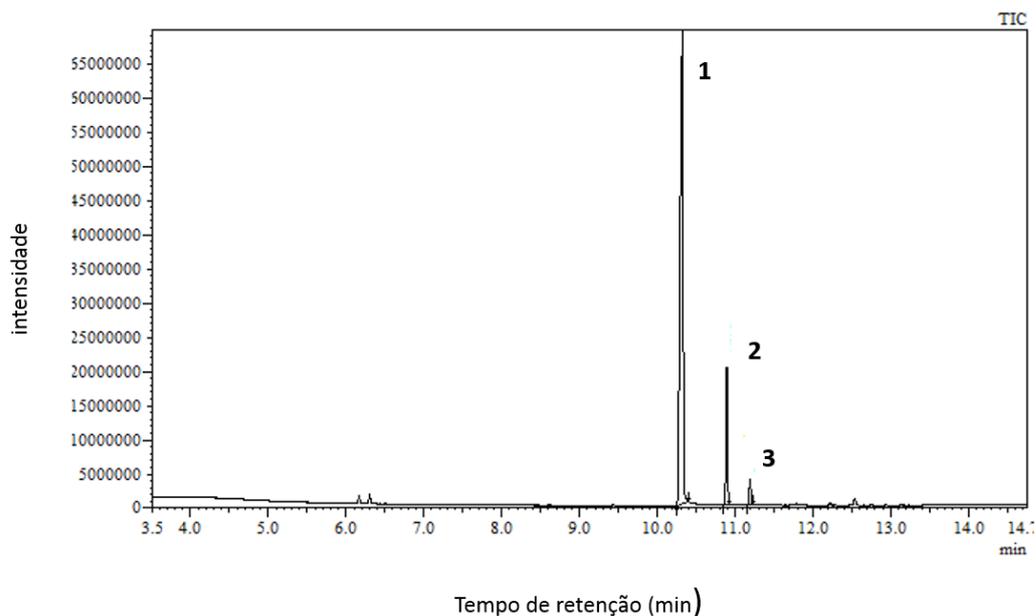
Fonte: Autor (2023).

Figura 12- Perfil cromatográfico do glóbulos de alginato de sódio a 2% com OE de cravo-da-índia obtido por CG-EM.



Fonte: Autor (2022).

Figura 13- Perfil cromatográfico dos glóbulos de alginato de sódio a 2% com OE de cravo-da-índia liofilizado obtido por CG-EM.



Fonte: Autor (2023)

Os principais componentes químicos presentes no OE de cravo-da-índia foram identificados através de CG/EM. A Tabela 1 demonstra o tempo de retenção de cada componente, bem como a porcentagem na composição.

Tabela 1- componentes presentes no óleo essencial de cravo-da-índia

Picos	Compostos	Tempo retenção (min)	Teor (%)*	Estrutura química
1	Eugenol	10.28	83,73	
2	β -cariofileno	10.87	13,76	
3	Humuleno	11.176	2,51	

*Correspondente a 1 μ L (0,36 μ g/mL) do óleo essencial de cravo-da-índia injetado.

Fonte: Autor (2022).

O eugenol foi o componente majoritário, mas outras substâncias como o β -cariofileno e humuleno apresentaram-se relevantes na composição do óleo essencial.

O percentual de eugenol encontrado nas amostras, corresponde à 83,73% da composição do óleo essencial de cravo-da-índia, já o percentual de β -cariofileno e humuleno foram de 13,76% e 2,51% respectivamente.

A quantidade de β -cariofileno e eugenol atendeu aos requisitos de óleos de cravo aceitáveis pela Farmacopéia Européia, 5 a 14% e 75 a 88%, respectivamente (MARTINS et al.,2011). Em um estudo recente realizado por Kacániová et al. (2021), os constituintes majoritários no OEC também foram o eugenol (82,4%) e o (E)-cariofileno (14,0%).

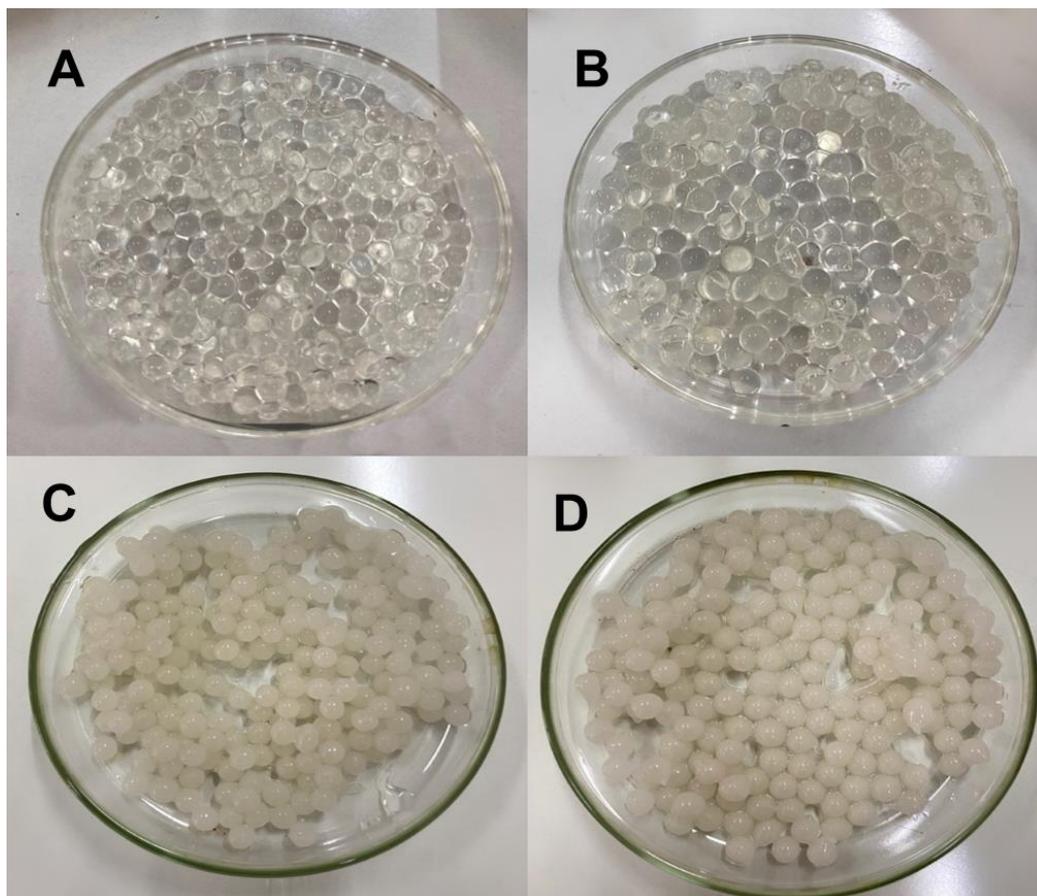
Baker e Grant (2017), em seus estudos afirmam que o óleo de cravo é a principal fonte de eugenol, contendo cerca de 80-90% desse polifenol, e como o eugenol pode ser sintetizado de várias formas isso explica seu percentual exorbitante no óleo essencial de cravo-da-índia.

Sabe-se que a concentração dos componentes dos óleos essenciais de plantas de uma mesma espécie pode variar devido a fatores ecológicos e as condições do meio ambiente, interferindo inclusive nas propriedades farmacológicas do produto. Aqui está a importância da análise cromatográfica como controle de qualidade no desenvolvimento de novas formulações.

5.2 Desenvolvimento de formulações poliméricas e incorporação do OE

No presente estudo, as esferas produzidas estão representadas na figura 14 abaixo. Os glóbulos produzidos sem o óleo essencial ficaram com aparência translúcida, enquanto aquelas com o óleo apresentaram-se com coloração opaca, mais próxima ao branco. Além disso, a maior concentração de alginato de sódio presente nas formulações (Figura 14 B e D) proporcionou uma característica mais rígida ao toque. Além disso as esferas que possuíam o OE em sua composição demonstraram um aroma característico do cravo-da-índia.

Figura 14– Fotografia das microcápsulas em placas de petri produzidas por gelificação iônica. A – Glóbulos de alginato de sódio a 1% sem óleo essencial; B – Glóbulos de alginato de sódio a 2% sem óleo essencial; C – Glóbulos de alginato de sódio a 1% com óleo essencial a 5%; e D – Glóbulos de alginato de sódio a 2% com óleo essencial a 5%.



Fonte: Autor (2022).

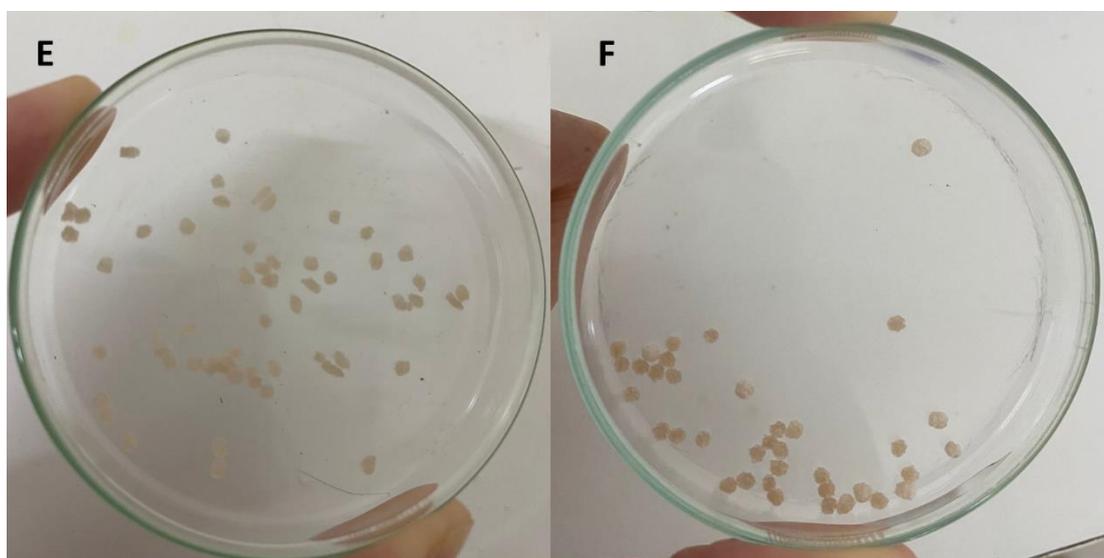
Santos (2012) estudou os fatores que influenciam a produção e as características de esferas de alginato e concluiu que concentrações elevadas de alginato originaram esferas superiores em massa e firmeza e inferiores em adesividade do que menores concentrações deste composto. Ao observar o cloreto de cálcio, concentrações maiores deram origem a esferas mais firmes e com maior adesividade. Por outro lado, um aumento na concentração de cloreto de cálcio, mantendo a concentração de alginato constante, não afetou significativamente a espessura ou o comprimento das esferas produzidas por Rajmohan e Bellmer (2019).

De acordo com Pasqualim e colaboradores (2011), o aspecto dos glóbulos pode variar a depender de alguns fatores: quantidade de óleo encapsulado, tempo de permanência das esferas na solução carbonato de cálcio, velocidade de agitação, homogeneidade e temperatura da mistura e concentração dos componentes da formulação.

Em um estudo realizado por Pasqualim e colaboradores (2011), percebeu-se que a utilização de 0,5% tanto de alginato de sódio quanto de cloreto de cálcio para encapsular óleo de semente de uva, resultou em glóbulos de aparência menos homogênea que as demais. Além disso, elas aparentavam baixa resistência mecânica, estourando mais rapidamente quando pressionadas pelas mãos, em comparação às formulações mais concentradas de agentes encapsulantes. Durante a formação desses glóbulos pelos referidos autores, observou-se que, ao gotejar a solução de alginato de sódio + óleo na solução de cloreto de cálcio, as mesmas já se mostravam deformadas, pela baixa concentração dos reagentes. Esses dados são importantes, pois mostram a importância de uma boa camada de proteção.

Já as esferas liofilizadas apresentaram característica mais enrugada e com sulcos bem definidos, indicando a perda de água que é a consequência do processo de secagem como mostra a figura abaixo.

Figura 15– Fotografia das microcápsulas em placas de petri produzidas por gelificação iônica. E – Glóbulos de alginato de sódio a 1% liofilizados; F – Glóbulos de alginato de sódio a 2% liofilizados.



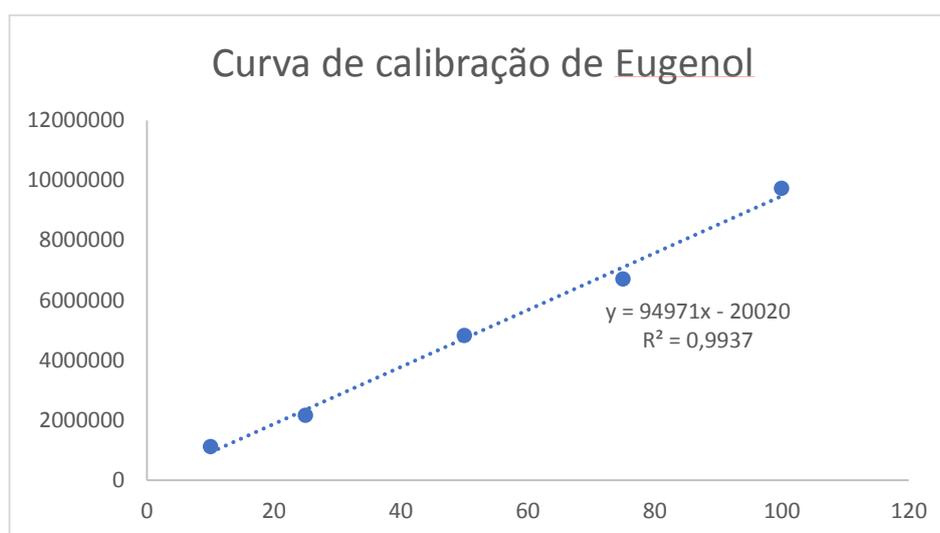
Fonte: Autor (2023).

Zimmermann (2001) relata que a formação desses sulcos pode ser originária da secagem do alginato. Durante o processo de secagem por liofilização há a formação de cristais de gelo, devido à temperatura baixa que as esferas de géis de polissacarídeos são submetidas, a sublimação desses cristais sob pressão reduzida forma um produto seco poroso, semelhante a uma esponja (DOLLY et al., 2011)

5.2.1 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação é um teste realizado para averiguar a quantidade de substâncias contida no interior da partícula. Para o cálculo de eficiência de encapsulação uma curva de calibração para a quantificação do eugenol foi construída para avaliar o percentual de eficiência de encapsulação dos glóbulos.

Figura 16- Curva de calibração para quantificação de eugenol



Fonte: Autor (2022).

Neste estudo, a eficiência de encapsulação foi de 14% na formulação de alginato 1% e de 9,78% na formulação de alginato 2%. Para as amostras liofilizadas a eficiência de encapsulação foi de 23,46% para alginato a 1% e 16,87 para alginato a 2%. Esses valores de encapsulação podem ser considerados inferiores aos obtidos por outras técnicas de encapsulação. No entanto, o baixo custo da técnica de gelificação iônica, além da facilidade e praticidade na produção dos glóbulos, faz dessa metodologia uma importante ferramenta na encapsulação de diversos ativos.

A capacidade de encapsulação de um ativo é dependente da concentração da parede protetora formada pelo alginato de sódio. Nas formulações obtidas por Pasqualim e colaboradores (2011), quando se utilizava 0,5% de alginato de sódio e cloreto de cálcio, o máximo de encapsulação do óleo de semente de uva era de 12%. Ao tentar aumentar a concentração de óleo retido, os glóbulos não se formavam, formando uma película oleosa sobre a solução de cloreto de cálcio. Os autores sugerem que quanto maior a concentração de óleo essencial encapsulado, menor a espessura e resistência dos glóbulos.

Por outro lado, quando se compara os glóbulos desenvolvidos no presente estudo percebe-se que aqueles com menor concentração de alginato na composição (1%), apresentaram maior poder de encapsulação. Já Kim e colaboradores (2016) obtiveram eficiência de encapsulação de 22,54% ao encapsular óleo de girassol. Logo, esses dados apontam para a interferência de outros fatores referentes à metodologia utilizada. Vários fatores podem alterar essa eficiência de encapsulação como: concentração dos materiais utilizados, incompatibilidade entre os materiais encapsulantes e os princípios ativos e a viscosidade das emulsões (RÉ, 2006).

5.3 Teor de umidade

O teor de umidade das microcápsulas obtidas por gelificação iônica foi de 89% \pm 0,02%. Outros autores obtiveram resultados inferiores: 79,37 \pm 0,06% (CUTRIM; ALVIM; CORTEZ, 2019); 77,03 \pm 0,01% (MOURA et al., 2018). Em estudos com microcápsulas de oleorresina de páprica a umidade chegou a 96% (SILVERIO et al., 2018). Esses valores são esperados, visto o alto teor de água retido na matriz.

Para as amostras liofilizadas o teor de umidade foram de 4,92 nos glóbulos a 1% e 4,13 nos glóbulos a 2%, esses valores corroboram a literatura pois a legislação encontrada para produtos liofilizados (Resolução CNNPA n 12) estabelece que os produtos liofilizados obtenham máximo de 5% de umidade (BRASIL, 2023).

Tratando-se de material liofilizado, era esperada uma percentagem baixa de umidade, visto que a maior parte da água foi removida por sublimação.

5.3.1 Peso médio

Os pesos médios dos glóbulos úmidos e liofilizados estão expressos na tabela abaixo:

Tabela 2- peso médio dos glóbulos de alginato úmidos e liofilizados

Amostras	Peso (g)			
	GA1+O	GA2+O	GA1+0 (lio)	GA2+0 (lio)
I	0,011	0,021	0,0015	0,0027
II	0,012	0,018	0,0020	0,0032
III	0,012	0,020	0,0018	0,0031
IV	0,016	0,021	0,0012	0,0033
V	0,014	0,018	0,0015	0,0027
Média (g)	0,013	0,019	0,0016	0,003

Fonte: Autor (2023)

Os glóbulos que possuíam uma maior concentração de alginato de sódio, tiveram o maior peso, isso se deve a espessura mais rígida da parede protetora formada através da interação alginato+ cloreto de cálcio. Estudos realizados por Ferreira e colaboradores (2021) encontraram valores semelhantes onde o peso médio encontrado foi de 0,0012g para encapsulados de extrato de beterraba obtidos pelo processo de gelificação iônica

5.3.2 Análise térmica

Os principais eventos termogravimétricos e calorimétricos das amostras estão representados na tabela a seguir, onde foi correlacionada a perda de massa ou o fluxo de calor com a temperatura.

Tabela 3 - Dados termogravimétricos e calorimétricos das amostras.

Amostras	ET	Termogravimetria			ET	Calorimetria de Varredura			
		Intervalo de temperatura (°C)	PM (°C) ¹	Perda de massa (%)		Intervalo de temperatura (°C)	PM (°C) ¹	ΔH (J/g)	
OEC	I	25,0 - 292,6	179,0	99,5	I	26,7 – 210,4	176,9	-623,2	
						II	233,7 – 290,2	272,9	-103,8
						III	392,6 – 433,2	400,9	+67,4
A	I	28,6 – 351,6	248,9	57,9	I	27,9 – 168,2	80,9	-573,9	
						II	351,6 – 899,9	253,6	+218,6
						III	417,9 – 434,9	433,7	+13,4
GA1	I	23,1 – 191,9	72,1	95,2	I	26,9 – 89,5	57,7	-586,6	
GA2	I	22,0 – 180,4	72,7	93,6	I	24,3 – 89,6	53,7	-346,2	
GA1+O	I	46,1 – 90,8	71,9	86,5	I	24,3 – 76,3	55,0	-534,1	
									II

							83,8	
GA2+O	I	49,2 – 100,5	65,8	90,6	I	61,9 – 112,4	118,	-1.030
	II	251,8 – 299,3	274,	9,3	II	116,9 – 126,7	7	-5,76
			3		III	233,9 – 244,8	238,	-0,74
							2	

ET: evento térmico; OEC: óleo essencial de cravo; A: alginato em pó; GA1: glóbulo de alginato a 1%; GA2: glóbulo de alginato a 2%; GA1+O: glóbulo de alginato a 1% + óleo essencial de cravo; GA2+O: glóbulo de alginato a 2% + óleo essencial de cravo. ¹ponto médio de temperatura; ²variação de entalpia

Fonte:Autor (2022).

Um dado importante a ser exaltado nessa análise é a volatilização do óleo essencial de cravo-da-índia. Segundo Gonzales-Rivera et al. (2015), o conhecimento a respeito deste parâmetro se dá por técnicas termoanalíticas capazes de detectar eventos de perda de massa, polimerização e degradação oxidativa. A volatilidade dos óleos, de uma forma geral, desempenha um fator crítico para a manutenção das propriedades biológicas destes produtos até a utilização pelo consumidor final.

O óleo essencial apresenta baixa estabilidade frente o aumento da temperatura, sendo degradado quase que completamente a 292 °C com um único evento térmico. Em um estudo realizado por Santos *et al.* (2009), houve total degradação do eugenol a uma temperatura de, aproximadamente, 274,5 °C. Essa informação é importante, pois o eugenol é o componente majoritário do óleo essencial de cravo-da-índia. Em análises realizadas por outros autores o eugenol foi totalmente degradado a uma temperatura bem mais baixa, aproximadamente, 195 °C (SHAO et al., 2018) e 190 °C (DA SILVA et al. 2019).

Por outro lado, após a encapsulação do óleo essencial observa-se um aumento acentuado da estabilidade térmica, sendo os componentes perdidos de forma mais lenta após dois eventos térmicos marcantes. A perda de massa mais intensa aconteceu até 100 °C, chegando até 90,6% de perda de massa, o que é de se esperar visto que os glóbulos possuem um conteúdo majoritariamente aquoso (solução de alginato de sódio).

No gráfico calorimétrico, há um declínio abrupto na linha de base com formação posterior de um pico assimétrico (T: 176,9 °C / ΔH -632,2 J/g) ocasionado, provavelmente, pela variação da capacidade calorífica da amostra; em seguida, a 272,9 °C ocorre mais um evento endotérmico de absorção de calor e total vaporização do óleo essencial (ΔH -103,8 J/g).

As curvas TG/DTG do óleo essencial e dos glóbulos de alginato (1% e 2%) mostraram apenas um evento de perda de massa, sendo que o OEC apresentou um alto pico de temperatura de degradação, 179 °C, em comparação aos glóbulos de alginato, com pico em aproximadamente 72 °C. Sabendo-se que os glóbulos são formados em grande parte por água, esse resultado é de se esperar. Inicialmente, ocorre a liberação da água adsorvida na superfície do glóbulo, em seguida, este perde a água internamente ligada a estrutura do alginato de sódio. De forma geral, os polissacarídeos, incluindo o alginato de sódio, possuem grupos hidroxila em sua estrutura molecular, favorecendo a ligação do hidrogênio com a água e a perdas de características importantes quando essas ligações são desfeitas. Após a desidratação, acontece a degradação do polímero e a carbonização das cadeias poliméricas. Por outro lado, a matéria-prima alginato de sódio, na sua forma de pó é mais estável termicamente do que o OEC.

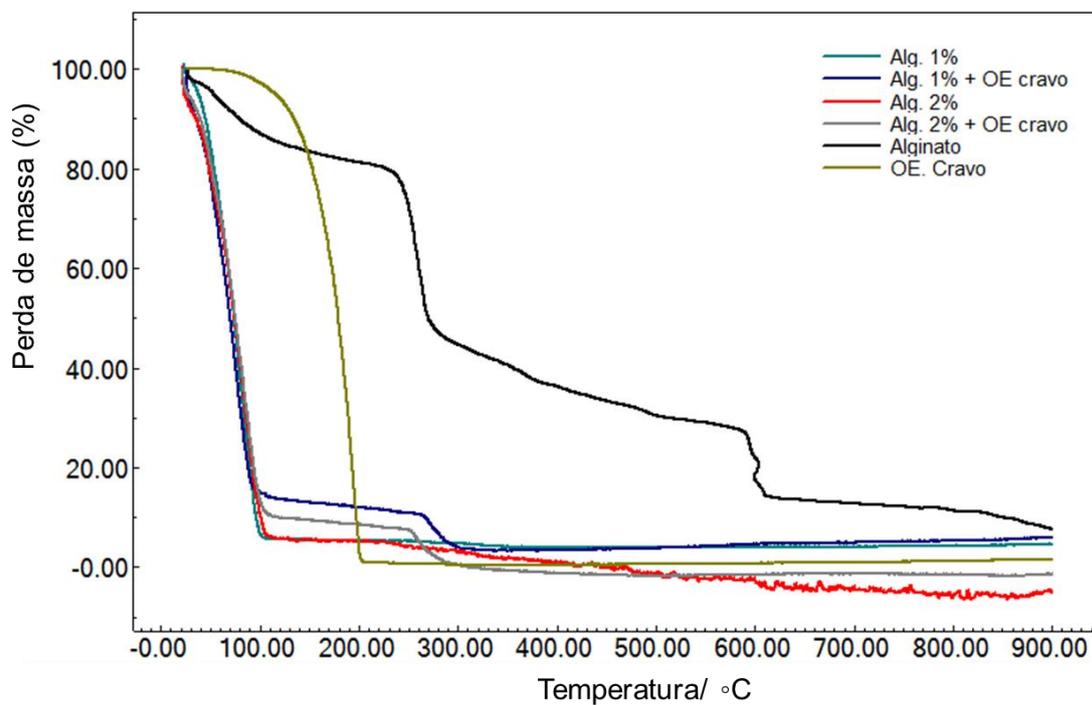
Paula et al. (2010) obtiveram resultados divergentes em relação as esferas de alginato. Na compreensão dos autores, podem-se citar cinco eventos térmicos na análise termogravimétrica, sendo o primeiro deles a 85 °C.

Na análise calorimétrica, os glóbulos de alginato (1% e 2%) apresentaram apenas um evento, com característica endotérmica, referente à desumidificação e degradação do anel glicosídico presente na estrutura do alginato (pouco mais de 50 °C). Segundo Salisu et al. (2016), a degradação do alginato de sódio resulta na liberação de água, gás metano e dióxido de carbono.

A formulação GA1+O pode ser considerada a mais estável, já que seu pico de degradação (71,9 °C) acontece após o pico correspondente à formulação GA2+O (65,8 °C). É importante lembrar que essa formulação apresentou maior eficiência de encapsulação (14%), em comparação à formulação GA2+O (9,78%). A maior concentração de óleo na formulação poder ser fator determinante para o aumento da estabilidade térmica, garantindo uma barreira de calor em função do óleo presente na formulação. A termodecomposição se inicia com o aquecimento e, a perda de massa inicial corresponde ao declínio da água adsorvidas e de cristalização presente nos componentes. Devido a menor higroscopicidade dos glóbulos contendo o óleo essencial (GA1+O e GA2+O), o início do primeiro evento acontece de forma mais tardia, sugerindo que a presença do óleo essencial foi vantajosa à formulação que adquiriu maior estabilidade às temperaturas mais altas. Em termos de estabilidade térmica, as formulações desenvolvidas são semelhantes, aparentando discreta

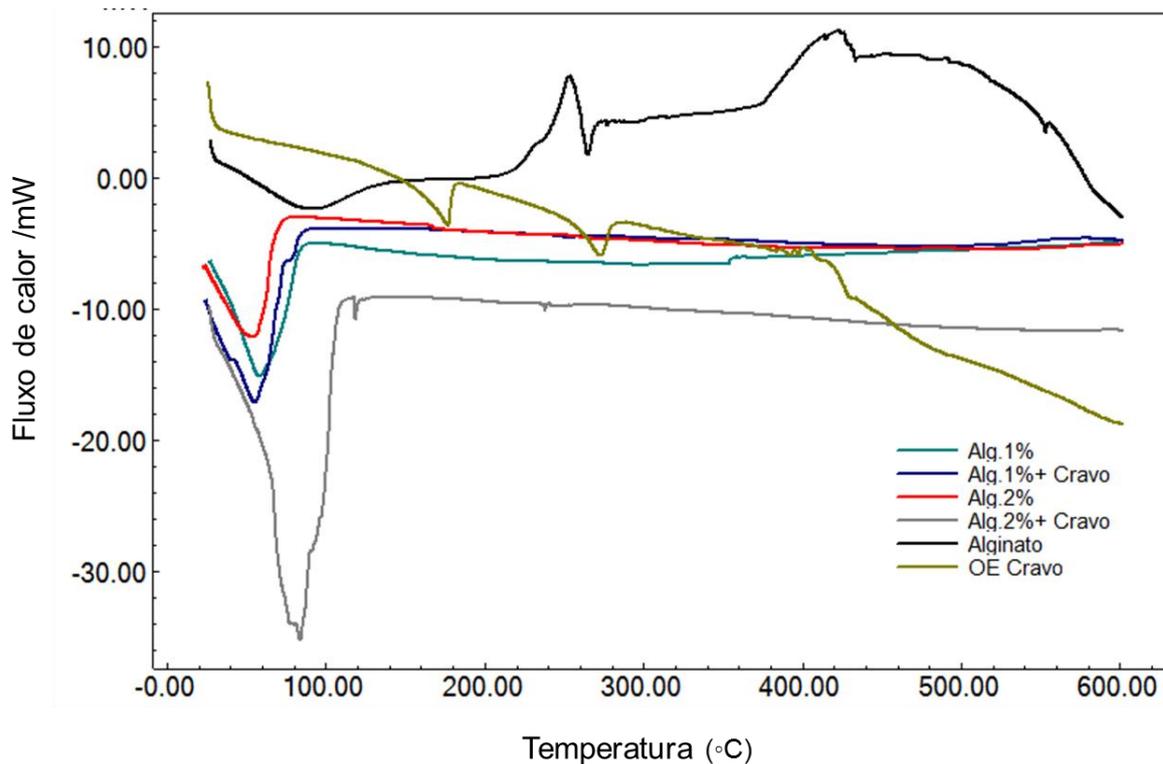
redução de massa na segunda formulação (alginato 2%), em comparação a primeira (alginato 1%).

Figura 17-As curvas termogravimétricas (TG/DTG), mostram a perda de massa (%) de cada amostra em função da temperatura (°C).



Fonte:Autor (2022).

Figura 18-As curvas calorimétricas mostram o fluxo de calor (mW) de cada amostra em função da temperatura (°C).



Fonte:Autor (2022).

Para as amostras liofilizadas uma nova curva termogravimétrica foi realizada

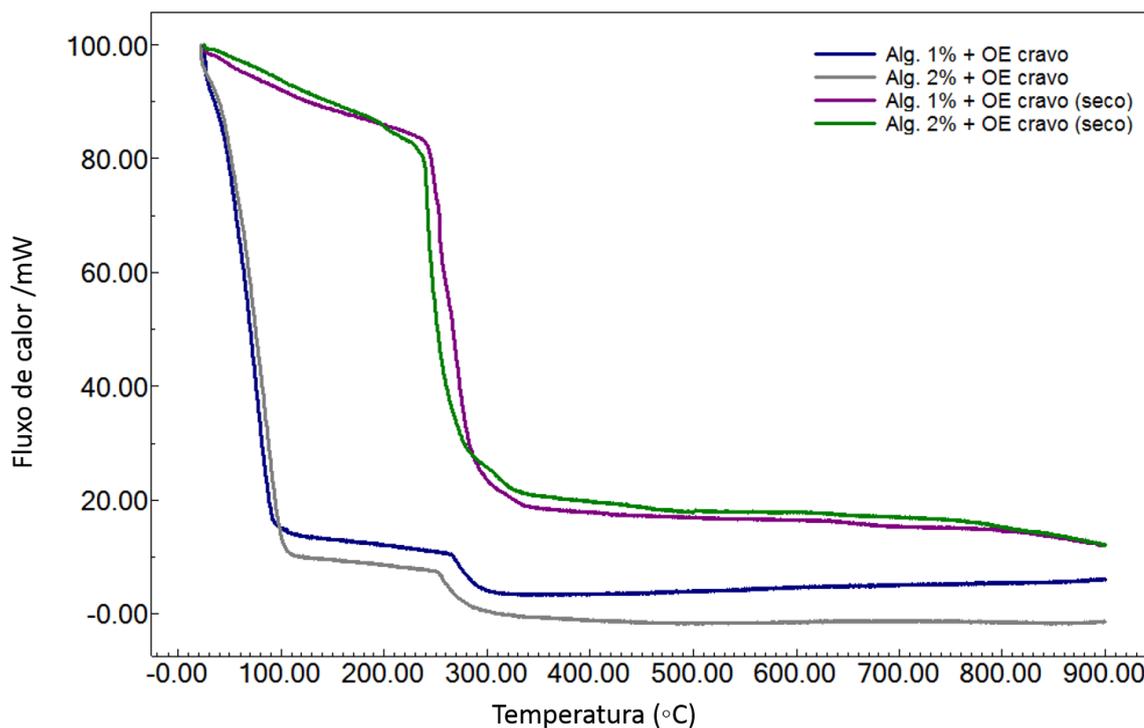
Tabela 4- dados termogravimétricos dos glóbulos úmidos e liofilizados

Amostras	ET	Termogravimetria		
		Intervalo de temperatura (°C)	PM (°C) ¹	Perda de massa (%)
GA1+O	I	46,1 – 90,8	65,8	86,5
	II	261,8 – 293,5	273,3	6,7
GA2+O	I	49,2 – 100,5	71,9	90,6
	II	251,8 – 299,3	274,3	9,3
GA1+O liofilizado	I	24,91 – 366,05	258,92	81,83
	II	366,05 – 899,88	422,47	6,25
GA2+O liofilizado	I	26,27 – 379,07	234,80	79,49
	II	379,07 – 899,88	392,15	8,02

ET: evento térmico; GA1+O: glóbulo de alginato a 1% + óleo essencial de cravo; GA2+O: glóbulo de alginato a 2% + óleo essencial de cravo. ¹ponto médio de temperatura

Fonte:Autor (2023).

Figura 19-As curvas termogravimétricas (TG/DTG), mostram a perda de massa (%) de cada amostra liofilizada em função da temperatura (°C).

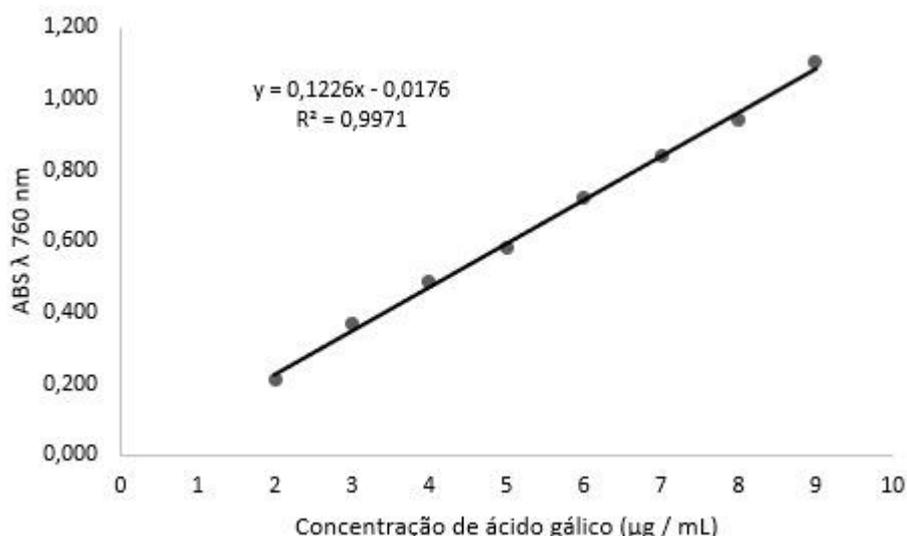


Fonte: Autor (2023)

As amostras liofilizadas apresentaram dois eventos térmicos principais, o primeiro evento ocorre de 24,91 – 366,05 °C no glóbulo a 1% e 26,27-379,07 no glóbulo 2% evidenciando a perda dos constituintes voláteis do óleo essencial, é possível observar que os materiais encapsulantes deram um maior tempo de prateleira ao óleo essencial, tendo em vista que o OE se degradava quase que completamente a 292 °C com um único evento térmico. O segundo evento térmico evidencia a perda dos compostos sólidos restantes nas amostras

5.4 Fenóis totais

Para a determinação da quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras foi utilizada a técnica de espectrofotometria. De forma geral, a solução colorida formada pela reação de Folin-Ciocalteu é composta por solutos que se comportam como cromóforos. Quando a luz monocromática é incidida sobre essa solução que contém o cromóforo, parte da reação luminosa será absorvida; sendo assim, quanto maior a concentração de soluto na solução, maior será a absorção. O espectrofotômetro mede a intensidade dessa absorção e revela um valor denominado absorbância. A solução padrão de ácido gálico foi utilizada.

Figura 20- Curva padrão para fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu ácido gálico.

Fonte: Autor (2022).

Tabela 5- Conteúdo de fenóis totais em amostras do óleo essencial de cravo-da-índia e glóbulos de alginato com cravo-da-índia.

AMOSTRAS	FENÓIS TOTAIS (mg EAG g ⁻¹)
Óleo essencial	997,66± 2,92
G.Alginato 1%	714,84±0,97
G.Alginato 1% (liofilizado)	770,58±2,36
G.Alginato 2%	433,43± 1,72
G.Alginato 2%(liofilizado)	534,03±2,12

Média ±, CV = Coeficiente de Variação;

1 - Expressos como equivalente de ácido gálico (m/m);

Fonte: Autor (2022).

Os valores de compostos fenólicos totais encontrados no presente estudo foram superiores aos encontrados na literatura para o óleo essencial de cravo-da-índia: 845 mg EAG g⁻¹ (BARAKAT, 2014), 185,9 mg EAG g⁻¹ (BABAUGLU et al., 2017) e 9,07 mg EAG g⁻¹ (RADÜNZ et al., 2019).

Já para os glóbulos os valores apresentados foram inferiores ao óleo essencial, a formulação que apresentava o alginato a 1% apresentou um valor superior a formulação com maior concentração de alginato, isso se deve possivelmente pela maior encapsulação dessa formulação evidenciando que a segunda formulação que

deve possuir maior interação entre o composto ativo e o material encapsulante, dificultando assim a liberação.

Para os glóbulos liofilizados o valor encontrado foi superior ao glóbulo úmido, uma vez que as amostras foram liofilizadas, o teor de fenóis totais superior é esperado tendo em vista que a quantidade de água é reduzida drasticamente favorecendo uma maior concentração do óleo nas amostras liofilizadas.

Quando comparados a literatura os glóbulos obtiveram um valor superior aos achados do estudo de Chatterjee e Bhattacharjee, (2013), onde o valor encontrado foi de 37,06 mg EAG g⁻¹ para microencapsulados de cravo obtidos pela técnica de *spray dryer*.

É importante ressaltar que o teor de polifenóis totais do óleo essencial pode variar devido a parte da planta utilizada para a extração, o método utilizado e as características da amostra (OLIVEIRA et al., 2009).

5.5 Atividade antioxidante

5.5.1 DPPH

Por ser uma metodologia rápida, simples e eficiente, as análises antioxidantes utilizando o radical de DPPH vem sendo muito empregada para verificar a capacidade sequestradora de radicais de muitos produtos naturais (RABÊLO et al., 2014).

No presente trabalho, a tabela 6 demonstra os resultados obtidos da avaliação da atividade antioxidante para o óleo essencial e para os glóbulos de cravo-da-índia. O percentual de inibição do radical DPPH no OE foram de (28,16% e 80,27) analisando as concentrações mínimas e máximas respectivamente. Nos glóbulos de alginato a 1% os percentuais foram de (12,90% e 59,36) e nos glóbulos de alginato a 2% os percentuais foram de (11,19 e 31,79). Para os glóbulos secos por liofilização os percentuais foram de (22,19 e 71,35) 1% e (17,79 e 61,24) para os glóbulos 2%.

Tabela 6- Atividade antioxidante do óleo essencial e dos glóbulos de alginato e de cravo-da-índia (% Inibição do radical DPPH).

Concentração (µg/mL)	(% IR DPPH)				
	Óleo essencial	Alginato 1%	Alginato 2%	Alginato 1% (liofilizado)	Alginato 2% (liofilizado)
5	28,16 ±0,21	12,90±0,52	11,19±0,65	22,19±0,31	17,79±0,17
10	45,35 ±1,30	19,89±0,37	13,63±0,50	38,67±0,59	30,81±0,87
25	69,21 ±0,83	42,22±0,92	24,41±0,59	58,90±0,81	51,31±1,63
30	75,89 ±0,49	47,64±1,37	27,49±0,29	64,51±1,24	56,84±1,06
40	80,27±0,57	59,36±1,89	31,79±0,82	71,35±0,69	61,24±1,67

IC₅₀ (µg/mL)	18,07	32,26	77,36	20	22,02
--------------------------------	-------	-------	-------	----	-------

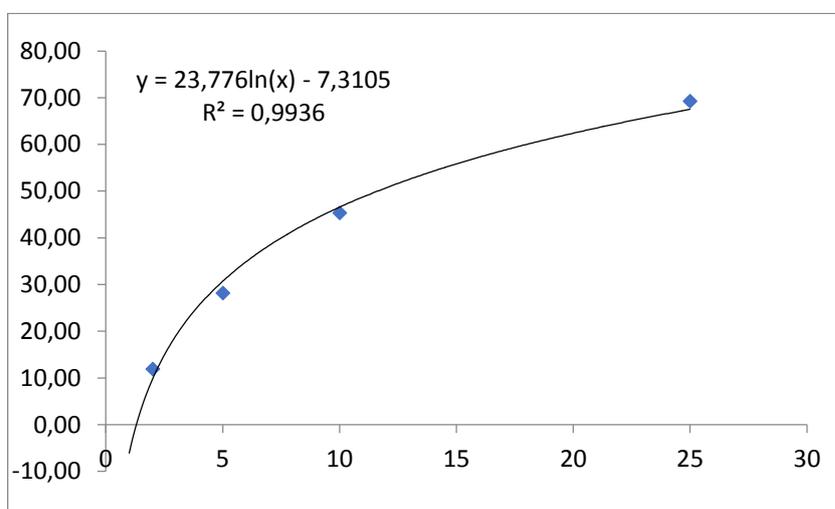
Média ±, CV= Coeficiente de variação

IC₅₀= capacidade de inibir o radical DPPH em 50%- (µg/mL)

Fonte:Autor (2022).

O IC₅₀, correspondente a concentração da amostra necessária para inibir 50 % da atividade do radical livre. Na figura 21 é possível observar as curvas feitas para a determinação do IC₅₀, onde a concentração do IC₅₀ é calculada por meio da equação onde y representa a %A.A. e x a concentração da amostra.

Figura 21- Curvas para a determinação do IC₅₀ para o Oe de cravo-da-índia



Fonte:Autor (2022).

A IC₅₀ obtida para o óleo essencial foi 18,07 µg/mL, já os glóbulos de alginato carregados com o óleo essencial de cravo apresentaram um valor de IC₅₀ superior de 32,26 µg/mL para a formulação de 1% de alginato úmido e 20 µg/mL para a amostra liofilizada e 77,36 µg/mL para a formulação de 2% de alginato úmido e 22,02 µg/mL 2% liofilizado

A concentração do óleo essencial capaz de inibir o radical DPPH em 50% (IC₅₀) foi maior que à relatada por outros autores: 5,76 µg/mL (FARIAS et al., 2019), e estudos realizados por Alfikri et al. (2020), indicam que o cravo na fase de floração produziu o melhor óleo essencial, bem como a fonte mais eficiente de antioxidantes naturais, com IC₅₀ de 15,8 µg/mL, resultado semelhante ao encontrado neste estudo. Esse dado é importante, pois sugere que a eficácia farmacológica do óleo essencial é bastante variável.

Estudos realizados por Alawiyah et al. (2019) relataram que o óleo essencial das folhas de cravo-da-índia demonstrou um IC₅₀ de 8,22 µg/mL um valor superior de inibição para os radicais livres em comparação ao presente estudo. Por outro lado, Babaoglu et al. (2017) observou poder de inibição de DPPH de 25,2% a uma concentração de 50 µg/mL. Raduz et al., 2019 relataram que as altas inibições de radicais livres (94,9%) aconteciam apenas em concentrações superiores (484,7 µg/mL) a do presente estudo. É importante ressaltar que a atividade antioxidante do óleo essencial pode variar devido a parte da planta utilizada para a extração, o método utilizado e as características da amostra (OLIVEIRA et al., 2009).

Para os glóbulos os valores obtidos para atividade antioxidante foram menores do que os achados na literatura para os encapsulados de cravo. Foi observado nos estudos realizados por Sebaaly et al., (2016) atividades antioxidantes de 89,3 a 92,31 em óleos essenciais de cravo encapsulados com ciclodextrina. Meneses et al., (2017) observaram um atividade antioxidante de 80% para óleos de cravo encapsulados com lipídios. Estes resultados foram provavelmente devido as poucas interações dos materiais de parede com os princípios ativos, resultando em uma maior liberação do óleo. Porém neste trabalho os materiais utilizados para as encapsulações provavelmente possuem uma interação mais forte entre as substâncias de parede e o óleo provocando uma maior retenção do princípio ativo.

Segundo Hadidi et al. (2020), o processo de encapsulamento por gelificação iônica protege o óleo essencial da degradação pelo oxigênio e temperatura, preservando sua atividade antioxidante. No presente estudo, o óleo essencial de cravo-da-índia demonstrou forte capacidade de eliminação do radical DPPH, com valor de inibição chegando a 80%, variando conforme a concentração do óleo utilizada. Essa atividade pode ser atribuída à capacidade de doação de hidrogênio exibida por uma ampla gama de constituintes presentes no óleo essencial, sobretudo pelos compostos fenólicos e terpênicos, como eugenol e β-cariofileno. De forma geral, a ação antioxidante dos compostos fenólicos aumenta com o grau de hidroxilação, ou seja, com a quantidade de grupos hidroxila presentes na estrutura química. A substituição do grupo hidroxila no anel aromático por um grupo metoxil, por exemplo, reduz a atividade antioxidante do composto.

O grupo hidroxila disponível no anel aromático do eugenol é responsável pela atividade antioxidante. Os compostos fenólicos transferem elétrons ou átomos de

hidrogênio e neutralizam os radicais livres, resultando em um processo oxidativo bloqueado (SHAHBAZI, 2019).

A encapsulação do óleo essencial em um sistema polimérico inerte contendo alginato de sódio proporcionou maior proteção aos componentes fenólicos das possíveis reações de degradação favorecidas pelo contato com o meio externo (ar, luz e calor).

Diante dos resultados expostos, observa-se o óleo essencial do cravo-da-índia apresenta propriedades medicinais que podem atuar como fonte alternativa de antioxidantes naturais. O óleo essencial pode ser utilizado como uma fonte acessível de antioxidantes naturais e como um possível suplemento alimentício ou em aplicações farmacêuticas. Além disso, pode ser utilizado como um aditivo contra a deterioração oxidativa

CONCLUSÃO

O desenvolvimento dos glóbulos de alginato carregados com OE de cravo-da-índia se mostrou promissor, uma vez que os principais marcadores do OE Foram identificados nos glóbulos.

Apesar da baixa eficiência de encapsulação os glóbulos apresentaram boa atividade antioxidante sendo, portanto, um produto alternativo para esses fins.

Os glóbulos apresentaram boa esfericidade e ausência de cavidades, demonstrando a formação de um filme contínuo sobre o óleo essencial

Os glóbulos liofilizados favoreceram uma estabilidade térmica ao óleo essencial de cravo-da-índia atribuindo um maior tempo de prateleira para o produto.

A formulação GA1+O foi a que apresentou melhor atividade antioxidante e um teor maior de polifenóis quando comparada com a formulação GA2+O. Sendo, portanto, a melhor formulação.

6 REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R.S. *et al.* Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**: Rio de Janeiro, v. 4, p. 146-161, 2012.
- ALAWIYAH, A L; SENANIA, A; SARI, H; PERDANA, F; MUSTHAFA, I. Antioxidant activity of volatile compounds from *Syzygium aromaticum* (L.) leaves. **Journal of Physics: Conference Series**. v.1402, n. 1, p.1-6, 2019.
- ALFIKRI, F.N.; PUJIARTI, R.; WIBISONO, M.G.; HARDIYANTO, E.B. YIELD. Quality, and Antioxidant Activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Bud Oil at the Different Phenological Stages in Young and Mature Trees. **Scientifica**. v.2020, p.1-6, 2020.
- ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010.
- BABA OGLU, H.C.; BAYRAK, A.; OZDEMIR, N.; OZGUN, N. Encapsulation of clove essential oil in hydroxypropyl beta-cyclodextrin for characterization, controlled release, and antioxidant activity. **Food Processing and Preservation**, v. 41, p. 1-8, 2017.
- BAKER, B. P.; GRANT, J. A. "Eugenol Profile" Active Ingredient Eligible for Minimum Risk Pesticide Use. **Integrated pest management program**, New York, v.1, p. 1-15, 2017.
- BARAKAT, H; Composition, Antioxidant, Antibacterial Activities and Mode of Action of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Buds Essential Oil. **British Journal of Applied Science & Technology** v.4, n.13, p. 1934-1951, 2014.
- BEIRÃO-DA-COSTA, Sara *et al.* Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 199-206, 2013.
- BIZZO, H.R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova** v. 32, p. 588–594, 2009.
- BORGES, L.; LÚCIO, T.; GIL, E.; BARBOSA, E. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**. Centro Científico Conhecer Goiânia, v. 7, p. 1-20, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – CNNPA n.12, de 24/07/1978 – Dispõe sobre normas técnicas especiais. Disponível em: www.anvisa.gov.br Acesso em 18 de março 2023.

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

CHATTERJEE, D.; BHATTACHARJEE, P. Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. **Journal of Food Engineering**, v.117, n.4, p. 545–550, 2013

CHEDEA, V.; POP, S. Total Polyphenols Content and Antioxidant DPPH Assays on Biological Samples. **Polyphenols in Plants**, v. 1, p. 169–183, 2019.

CORONA-HERNANDEZ, Rocío I. et al. Structural stability and viability of microencapsulated probiotic bacteria: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 6, p. 614-628, 2013.

CORTES-ROJAS, D.F.; SOUZA, C.R.; OLIVEIRA, W.P. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian Pac J Trop Biomed**, v. 2, p. 90–96, 2014.

DA SILVA, C. G., KANO, F. S., & DOS SANTOS ROSA, D. ; Thermal stability of the PBAT biofilms with cellulose nanostructures/essential oils for active packaging. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**.v.1, p 22-37,2019.

DE GROOT, A.C.; FROSCH, P.J. Adverse reactions to fragrances. A clinical review. **Contact Derm**, v.36, p.57–86, 1997.

DE VOS, P.; FAAS, M.M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components, **International Dairy Journal**, v. 20, p.292–302, 2010.

DOLLY, P.; ANISHAPARVIN, A.; JOSEPH, G. S.; ANANDHARAMKRISHNAN, C. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) by spray-freezedrying method and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Microencapsulaion**, v. 28, n. 6, p.568-574, 2011

FARIAS, P.K.S.; LOPES SILVA, J.C.R.; DE SOUZA, C.N.; DA FONSECA, F.S.A.; BRANDI, I.V.; MARTINS, E.R.; AZEVEDO, A.M.; DE ALMEIDA, A.C. Antioxidant activity of essential oils from condiment plants and their effect on lactic cultures and pathogenic bacteria. **Cienc. Rural** ,v. 49,p. 2-17, 2019.

G. RATHOD.; N. KAIRAM. Preparation of omega 3 rich oral supplement using dairy and non-dairy based ingredients **Journal of Food Science & Technology**, v.55, n. 2, p. 760-766, 2018.

HADIDI, M.; POURAMIN, S.; ADINEPOUR, F.; HAGHANI, S.; JAFARI, S.M. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydr. Polym**, v.142, p.172–180, 2020.

HAY, I.D.; REHMAN, Z.U.; MORADALI, M.F.; WANG, Y.; REHM, B.H.A. Microbial alginate production, modification and its applications. **Microbial Biotechnology**, v. 6, p. 637–650, 2013.

HOLKEM, A. T.; RADDATZ, G. C.; BARIN, J. S.; FLORES, É. M. M.; MULLER, E. I.; CODEVILLA, C. F.; DE MENEZES, C. R. Production of microcapsules containing Bifidobacterium BB-12 by emulsification/internal gelation. **LWT-Food Science and Technology**, v. 76, p.216-221, 2017

HOLKEM, A.T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C.R. Emulsificação/gelificação iônica interna: Alternativa para microencapsulação de compostos bioativos .**Rev Ciência e Natura** ,v.37 n.1, p. 116– 124, 2015.

JIROVETZ L. *et al.* Aroma compound analysis of Piper nigrum and Piper guineense essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction-gas chromatography, solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry. **Journal of Chromatography A**, v. 976, p. 265–275, 2002.

KAČÁNIOVÁ, M.; GALOVIČOVÁ, L.; BOROTOVÁ, P.; VALKOVÁ, V.; ĎÚRANOVÁ, H.; KOWALCZEWSKI, et al. Chemical Composition, in Vitro and in Situ Antimicrobial and Antibiofilm Activities of *SyzygiumAromaticum* (Clove) Essential Oil. **Rev Plants** , v.10, n1, p. 2185-2195,2021

KIM, E. S.; LEE, J; LEE, H. G. Calcium-alginate microparticles for sustained release of catechin prepared via an emulsion gelation technique. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 1337–1343, 2016.

LARSEN, Bjorn et al. Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast. **Carbohydrate research**, v. 338, n. 22, p. 2325-2336, 2003.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**. v.37, p. 106-126, 2012.

LEONG, JUN-YEE et al. Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particuology**, v. 24, p. 44-60, 2016.

LIU, Sijun et al. Scaling law and microstructure of alginate hydrogel. **Carbohydrate polymers**, v. 135, p. 101-109, 2016.

LUPE, F. Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia. Campinas: **Dissertação de mestrado em Química Orgânica da Universidade Estadual de Campinas**. 120f. Campinas-SP 2007.

MARTIN, M.J.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, M.A.; MORALES, M.E. Effect of unmodified starch on viability of alginate-encapsulated *Lactobacillus fermentum* CECT5716. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53,n.2, p.480–486, 2013

MARTINEZ, S.; VALEK L.; RESETIÉ, J.; RUZÍE, D.F. Cyclic voltammetry study of plasma antioxidant capacity—comparison with the DPPH and TAS spectrophotometric methods. **J Electroanal Chem**, v.588, p. 68–73, 2006.

MARTINS A.P.; NOGUEIRA M.T.; COSTA M.C.; SALGUEIRO L.;Requisitos de qualidade em óleos essenciais: a importância das monografias da Farmacopeia Europeia e das Normas ISO. **Rev Fitoterapia**, v.11, n.1, p. 133–145, 2011.

MBAVENG, A.T.; KUETE, V. *Syzygium aromaticum*. **Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases**, v. 1, p 611-625, 2017.

MENESES, A. C., DOS SANTOS, P. C. M., MACHADO, T. O., SAYER, C., DE OLIVEIRA, D., & DE ARAÚJO, P. H. H. Poly (thioether-ester) nanoparticles entrapping clove oil for antioxidant activity improvement. **Journal of Polymer Research**, v.24,n.11,p.202-220,2017

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; LINS-NETO, E.M.F.; ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE, M.M.; AMORIM, E.L.C. The effects of seasonal climate changes in the caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p. 338-344, 2006.

MUÑOZ-BERNAL, Ó. A.; TORRES-AGUIRRE, G. A.; NÚÑEZ-GASTÉLUM, J. A. et al. Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de folin-ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. **TIP**, v.20, p. 23–28, 2017.

OZKAN G.;FRANCO P.;DE MARCO I.;XIAO J.;CAPANOGLU E. Microencapsulation Methods for Food Antioxidants: Principles, Advantages, Drawbacks and Applications, **Food Chemistry**, v. 1, p. 1-50, 2018.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCO, I.; XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A Review of 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.

PREEDY, V.R. Clove (*Syzygium aromaticum*) Oils .**Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, Academic Press**, v. 1, p. 349-357, 2016.

RABÊLO, S.V.; ARAÚJO, C.S.; COSTA, V.C.O.;TAVARES, J.F.;SILVA, M.S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; ALMEIDA, J.R.G.S. Occurrence of alkaloids in species of the genus *Annona* L. (Annonaceae): a review. In: Brar, S.K., Kaur, S., Dhillon, G.S. (Org.), **Nutraceuticals and Functional Foods: Natural Remedy, Nova Science Publishers**, Inc., New York, USA, v.1, p. 41–60, 2014.

RACOVITȚĂ, S. et al. Polysaccharides based on micro-and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 54, n. 9, p. 709-718, 2009.

RADÜNZ, M., DA TRINDADE, M. L. M., CAMARGO, T. M., RADÜNZ, A. L., BORGES, C. D., GANDRA, E. A., HELBIG, E.; Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food Chemistry**. v.1, p-45-64, 2018

RADÜNZ, M.; DA TRINDADE, M.L.M.; CAMARGO, T.M.; RADÜNZ, A.L.; BORGES, C.D.; GANDRA, E.A.; HELBIG, E. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Unencapsulated and Encapsulated Clove (*Syzygium aromaticum*, L.) Essential Oil. **Food Chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2018.

RÉ, M. I. Formulating Drug Delivery Systems by Spray Drying, Drying Technology.

REZENDE, L.C. de. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEIS FRUTAS TROPICAIS CONSUMIDAS NA BAHIA**. 118 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

ROCHA, L. C. R. Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2017.

SALES, B. A. **Produção de Sucedâneos de Cereais de Pequeno-Almoço ricos em compostos bioativos a partir de subprodutos da indústria agroalimentar.** 97f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Alimentar, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

SANSONE F.; MENCHERINI T.; PICERNO P.; D'AMORE M.; AQUINO R. P.;

LAURO M. R. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 468–476, 2011.

SANTOS, A. L., CHIERICE, G. O., ALEXANDER, K. S., RIGA, A., & MATTHEWS, E. Characterization of the raw essential oil eugenol extracted from *Syzygium aromaticum* L. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.96, n.3, p. 821–825,2009

SANTOS, T. A. F. Extração, caracterização e aplicações do óleo essencial do cravo-da-índia (*syzygium aromaticum*). **Monografia, Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Pindamonhangaba- SP : FAPI : Faculdade de Pindamonhangaba, 2014** p 63 . Pindamonhangaba – SP. 2014.

SEBAALY, C.; JRAIJ, A.; FESSI, H.; CHARCOSSET, C.; GREIGE-GERGES, H. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. **Food Chemistry**, v. 178, p. 52–62, 2015.

SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of food ingredients. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, p. 501-547, 1993.

SHAO Y, WU C, WU T, LI Y, CHEN S, YUAN C, et al. Eugenolchitosan nanoemulsions by ultrasound-mediated emulsification: formulation characterization and antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers** .v.193p.144–52, 2018

SHIVA-RAMAYONI, C. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. **Tesis Doctoral. Departamento de Sanidad y Anatomía de Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona**, v.1, p. 173, 2007.

SILVA, V. da C. **Desenvolvimento de membrana polimérica impregnada com nanopartículas de PLA (ácido láctico) carregadas com própolis vermelha: produção e caracterização.** 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-

Graduação Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019.

SIMÕES, C.M.O.; SPTIZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre.v.5, p. 467- 495, 2004.

SIMPSON, N. E.; GRANT, S. C.; BLACKBAND, S. J.; CONSTANTINIDIS, I. NMR properties of alginate microbeads. **Biomaterials**, v. 24, n. 27, p. 4941- 4948, 2003.

TEODORO, R. A. R. **Microencapsulação do óleo essencial de cravo-da-índia (Caryophyllus aromaticus L.) por secagem por atomização**. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

TRANCOSO, M.D. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**: Rio de Janeiro, v. 9, p. 89-96, 2013.

WEI, M.-C.; XIAO, J.; YANG, Y.-C. Extraction of α -humulene-enriched oil from clove using ultrasound-assisted supercritical carbon dioxide extraction and studies of its fictitious solubility. **Food Chemistry**, v. 210, p. 172–181, 2016.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis : some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, São Paulo, SP. v. 37, p. 99–105, 1998.

YOO H.-J.; JWA S.-K. Efficacy of -caryophyllene for periodontal disease related factors, **Archives of Oral Biology**, v.100, p. 113-118, 2019.

ZIMMERMANN, Ana L. S. Desenvolvimento e avaliação de micropartículas contendo microrganismos viáveis utilizados como bioinseticida. 2001. 165 f. Tese (Doutorado – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2001.