

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO–UFRJ
INSTITUTO DE MACROMOLÉCULAS PROFESSORA ELOISA MANO – IMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
POLÍMEROS

MARIANA DA SILVA ALVES

**SEMENTE DE CHIA: UM ALIMENTO FUNCIONAL CARACTERÍSTICO -
ANÁLISE DOS BIOATIVOS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E
NANOENCAPSULAMENTO POR NANOPRECIPITAÇÃO**

Rio de Janeiro

2019

MARIANA DA SILVA ALVES

SEMENTE DE CHIA: UM ALIMENTO FUNCIONAL CARACTERÍSTICO -
ANÁLISE DOS BIOATIVOS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E
NANOENCAPSULAMENTO POR NANOPRECIPITAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Inês Bruno Tavares

Rio de Janeiro

2019

CIP - Catalogação na Publicação

A474s Alves, Mariana d Silva
 Semente de Chia: um alimento funcional
 característico - análise dos bioativos por
 ressonância magnética nuclear e nanoencapsulamento
 por nanoprecipitação / Mariana d Silva Alves. --
 Rio de Janeiro, 2019.
 74 f.

 Orientador: Maria Inês Bruno Tavares.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
 Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas
 Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em
 Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2019.

 1. Nanoencapsulamento polimérico dos bioativos
 da semente de Chia. I. Tavares, Maria Inês Bruno ,
 orient. II. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

MARIANA DA SILVA ALVES

**SEMENTE DE CHIA: UM ALIMENTO FUNCIONAL CARACTERÍSTICO -
ANÁLISE DOS BIOATIVOS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E
NANOENCAPSULAMENTO POR NANOPRECIPITAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Aprovado em: 28 de junho de 2019

BANCA EXAMINADORA



Orientadora Prof.^a Dr.^a Maria Inês Bruno Tavares

Universidade Federal do Rio de Janeiro / IMA



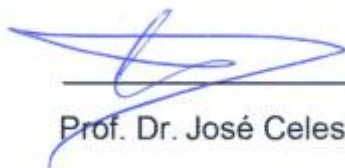
Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vieira Marques

Universidade Federal do Rio de Janeiro / IMA



Prof.^a Dr.^a Elizabeth Roditi Lachter

Universidade Federal do Rio de Janeiro / IQ



Prof. Dr. José Celestino de Barros Neto

Universidade Federal do Rio de Janeiro / IQ

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, pelo sustento de mais um sonho realizado, aos meus pais por todo carinho e compreensão, ao meu irmão e minha avó pelo apoio e a minha orientadora por acreditar no meu sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo sustento, permissão e proteção de mais um sonho realizado.

Agradeço aos meus pais e minha avó pelo apoio e incentivo.

Agradeço ao meu irmão Arthur, por ouvir todos os meus ensaios de apresentações.

Agradeço minha orientadora Professora Dr.^a Maria Inês Tavares Bruno, por todo apoio desde do primeiro momento sem mesmo me conhecer acreditou em mim e no meu sonho e esse apoio se estendeu em todos os momentos, muito obrigada pelo carinho e por todos os ensinamentos não só científicos como os da vida.

Agradeço aos professores presentes na banca pela disponibilidade e contribuições.

Agradeço ao Eduardo do RMN por todos os ensinamentos.

Agradeço aos amigos que fiz durante esse ciclo, que o tornou possível e com certeza mais leve e agradável.

Agradeço aos amigos antigos por sempre me incentivar a continuar.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram e fizeram parte desta minha caminhada, meu muito obrigada!

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltara ao seu tamanho original”

(Albert Einsten)

RESUMO

Esta Dissertação descreve a pesquisa sobre o encapsulamento dos bioativos da chia, que se deu a partir da extração dos bioativos da semente de chia (*Salvia hispânica*) com etanol e com clorofórmio, a frio via percolação e a quente via *Soxhlet*. Estes foram caracterizados e analisados por ressonância magnética nuclear (NMR) de ^{13}C e de ^1H em solução. As cascas das sementes de chia foram analisadas antes e depois da extração por análise termogravimétrica (TGA) e de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), para obter informações sobre a degradação da matéria orgânica e comprovar a eficiência da extração. Os extratos foram encapsulados com poli(caprolactona) (PCL) pela técnica de nanoprecipitação. As soluções nanoencapsuladas foram analisadas quanto a sua homogeneidade por ressonância magnética nuclear de baixo campo (NMR-DT), pela determinação do tempo de relaxação spin-rede do núcleo de hidrogênio, para confirmar o nanoencapsulamento, foi ainda realizada a análise por espalhamento de luz dinâmico (DLS) a fim de mensurar o tamanho das nanopartículas formadas. Pode-se concluir que os bioativos extraídos da chia corresponde a um triacilglicerídeo formado majoritariamente pelo ácido α -linolênico (C18:3) e pelo ácido linoleico (C18:2), foi observado ainda que o nanoencapsulamento demonstrou-se efetivo, produzindo partículas com tamanhos entre 203 a 430 nm, tamanho este apropriado para formulação de nutracêuticos e/ou para adição em preparações alimentícias. Esse sistema foi analisado por DLS após 3 meses e mostrou-se estável garantindo assim, a efetividade do mesmo.

Palavras-chaves: Encapsulamento. Compostos Bioativos. Encapsulamento polimérico. PCL.

ABSTRACT

This dissertation describes the research on the encapsulation of chia bioactives, which were extracted from the bioactive extraction of seed chia (Hispanic Salvia) with ethanol and chloroform, cold via percolation and hot via Soxhlet. These were characterized and analyzed by ^{13}C and ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) in solution. Chia seeds hulls were analyzed before and after extraction by thermogravimetric (TGA) and Fourier transform infrared (FT-IR) analysis to obtain information on the degradation of organic matter and to confirm the extraction efficiency. The extracts were encapsulated with poly(caprolactone) (PCL) by the nanoprecipitation technique. The nanoencapsulated solutions were analyzed for their homogeneity by low field nuclear magnetic resonance (NMR-DT), by determining the spin-lattice relaxation time of the hydrogen nucleus, to confirm the nanocapsulation, and the dynamic light scattering analysis (DSL) was also performed to measure the size of the formed nanoparticles. It can be concluded that the bioactive extracted from chia correspond to a triacylglyceride formed mainly by α -linolenic acid (C18:3) and linoleic acid (C18:2), it was observed that the nanocapsulation was effective, producing particles with sizes 203 to 430 nm, suitable for nutraceutical formulation and/or for addition to food preparations. This system was analyzed by DLS after 3 months and proved stable thus ensuring its effectiveness.

Keywords: Encapsulation. Bioactive compounds. Polymeric encapsulation. PCL.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	OBJETIVOS.....	13
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1.	HISTÓRICO.....	14
3.2.	BIOATIVOS.....	15
3.2.1.	Principais Bioativos.....	16
3.3.	ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS.....	20
3.4.	ENCAPSULAMENTO.....	21
3.4.1.	Métodos de Encapsulamento.....	22
3.4.2.	Sistemas Poliméricos de Encapsulamento.....	23
3.4.3.	Tipos de Encapsulamento.....	23
3.4.4.	Visão Geral de Algumas Técnicas de Encapsulamento.....	24
3.4.5.	Micro e Nanoencapsulamento.....	26
3.5.	SEMENTES DE CHIA.....	27
3.5.1.	Principal Bioativos da Chia.....	28
3.5.2.	Benefícios.....	29
3.6.	POLÍMEROS UTILIZADOS COMO BIOMATERIAIS.....	29
3.7.	POLICAPROLACTONA – PCL.....	31
3.7.1.	Características e Propriedades do PCL.....	32
3.7.2.	Biodegradabilidade do PCL.....	33
3.7.3.	Aplicação Usual do PCL.....	34
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1.	MATERIAIS.....	35
4.2.	EQUIPAMENTOS.....	36
4.3.	MÉTODOS.....	37
4.4.	CARACTERIZAÇÃO.....	39
5.	RESULTADOS E DISCURSSÃO.....	40
5.1.	<i>NMR DE ¹³C EM SOLUÇÃO.....</i>	40
5.2.	<i>NMR DE ¹H EM SOLUÇÃO.....</i>	48

5.3.	ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (<i>DLS</i>).....	51
5.4.	ANÁLISE VISUAL DAS SOLUÇÕES DE NANOPRECIPITAÇÃO.....	56
5.5.	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO DOMÍNIO DO TEMPO (<i>NMR-DT</i>) DAS CASCAS DE SEMENTE DE CHIA E DAS SOLUÇÕES DE NANOPRECIPITAÇÃO.....	56
5.6.	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (<i>TGA</i>).....	60
5.7.	ANÁLISE DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (<i>FT-IR</i>).....	62
6.	CONCLUSÃO.....	63
7.	SUGESTOES.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

Muito se tem falado na qualidade de vida nessa geração e cada vez mais a população tem cuidado de sua saúde e optado por mudanças para hábitos mais saudáveis, com vistas a uma maior preocupação em relação à prevenção de doenças. Buscando orientação médica, investigação, prática de atividades físicas e o consumo de alimentação mais saudável. Em face da importância de uma alimentação mais saudável, se busca alimentos nos quais contém compostos que trazem benefícios à saúde, que são denominados de alimentos funcionais. Esses alimentos possuem propriedades benéficas à saúde devido aos compostos bioativos, além do seu valor nutricional já avaliado. Dessa forma, o campo de estudos sobre os alimentos funcionais vem crescendo amplamente nas últimas décadas, no qual vem sendo estudado os principais bioativos dos alimentos e seus benefícios à saúde no que tange ao controle/prevenção das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como doenças cardiovasculares, diabetes e o câncer (REZA E KRISTEN, 2014).

Segundo os autores Reza e Kristen (2014), nos Estados Unidos, o mercado de produtos nutracêuticos tem previsão de crescimento entre 8,5 e 20% ao ano, um crescimento quatro vezes maior do que a indústria de alimentos em geral. Dessa forma, há a necessidade de desenvolvimento de novos produtos dessa área.

As dietas dos países industrializados têm apresentado baixos índices de ingestão de ácidos graxos ômega 3 e fibras, o que tem contribuído para grandes chances de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Tal classe de doenças é o fator número 1 em mortes nos Estados Unidos desde 1921, segundo a American Heart Association, 2009. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia, as doenças cardiovasculares representam a principal causa de mortes no Brasil, responsáveis por mais de 30% dos óbitos registrados. Dessa forma, se faz necessário a introdução de ingredientes nutracêuticos em alimentos de base ou suplementação na alimentação. Muitos desses ingredientes nutracêuticos apresentam efeito antioxidante que vem se relacionando diretamente à prevenção de diversas doenças (REZA E KRISTEN, 2014).

A indústria alimentícia vem investindo em formulações para melhorar as características dos produtos comercializados com a adição de vitaminas aos alimentos, assim como compostos nutracêuticos e também aditivos para maior durabilidade dos alimentos (ASSUNÇÃO *et al.*, 2014). Assim, os compostos bioativos têm se destacado por suas características como, por exemplo, propriedades antioxidantes, anti-inflamatória e antimicrobiana, dentre outras.

O encapsulamento dos bioativos se faz necessário para a proteção do composto, já que apresenta uma grande instabilidade no meio, degradando-se facilmente com a variação da temperatura, umidade e pH. O encapsulamento forma uma barreira física, na qual o composto isolado é preservado e envolto a uma membrana, geralmente polimérica, que em condições específicas, ocorre à ruptura dessa membrana em locais específicos, liberando assim o composto em questão (CARMO *et al.*, 2015). Além do fator de barreira física, o encapsulamento promove e controla a efetividade dos compostos a serem liberados, podendo ampliar sua faixa de aplicação e garantir a dosagem ótima diária de entrega (KUHN, 2013).

O encapsulamento na indústria alimentar é economicamente viável devido ao amplo ambiente competitivo de novas tecnologias, no qual se faz necessário um campo de inovações para ofertar um produto diferenciado no mercado (ASSUNÇÃO *et al.*, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Esta Dissertação teve como objetivo principal a extração dos bioativos da chia, para posterior nanoencapsulamento em poli(caprolactona) (PCL) por nanoprecipitação, para geração de nutracêuticos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar a técnica de extração em alimentos, por percolação e extração via *Soxhlet*.

- Caracterizar os bioativos por *NMR* em solução.
- Caracterizar a semente da chia antes e depois dos processos de extração.
- Gerar sistemas encapsulados por nanoprecipitação.
- Caracterizar os sistemas nanoencapsulados.
- Avaliar a estabilidade dimensional dos sistemas nanoencapsulados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

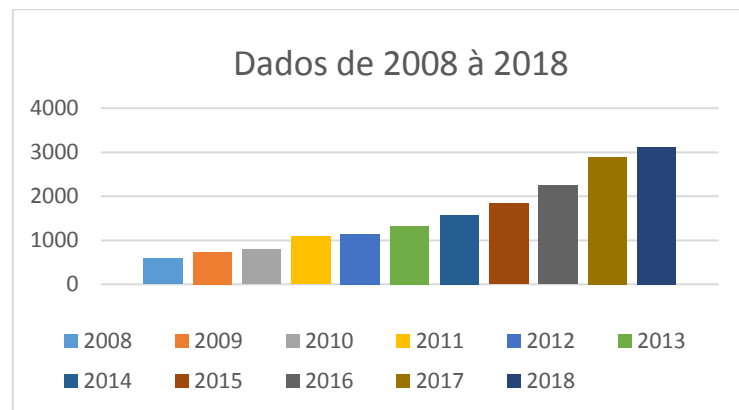
3.1. HISTÓRICO

Um dos primeiros estudos sobre encapsulamento de bioativos foi datado do início do século XX, quando Paul Ehrlich propôs o seu modelo que ficou conhecido por “Bala Mágica de Ehrlich” (Ehrlich’s Magic Bullet). Segundo dados retirados do site *Science Direct*, o número de artigos sobre encapsulamento de bioativos vem crescendo em uma grande proporção, como mostrado na Figura 1.

O número de artigos sobre encapsulamento de bioativos vem crescendo devido à alta demanda de inovação dessa área tecnológica, tanto no que tange ao encapsulamento na faixa micrométrica quanto na faixa nanométrica, considerando o grande interesse nacional e internacional das indústrias alimentícias.

Segundo dados de estudos de Lau e Colaboradores (2017), o mercado global de alimentos funcionais está se expandindo rapidamente e projeta-se alcançar US\$ 149 bilhões em 2018 de acordo com um relatório da Global Industry Analysts Inc., no Brasil, somente em 2016, este mercado movimentou cerca de US\$ 649 milhões e cresceu 8% em comparação ao ano anterior (Euromonitor International, 2016)

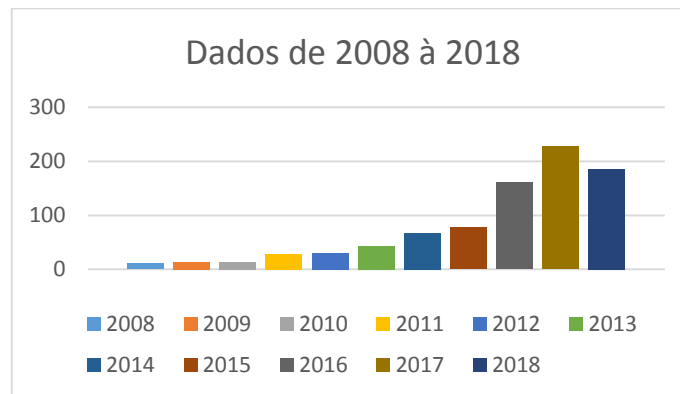
Figura 1: Número de Artigos publicado nos últimos 10 anos com o tema de encapsulamento de bioativos, dados até setembro de 2018.



Fonte: Elaborado pelo autor

Ainda segundo dados do site *Science Direct*, foi elaborada outra pesquisa sobre o número de estudos relacionado ao tema nanoencapsulamento de bioativos. Embora seja crescente o número de artigos desenvolvidos, ainda existem poucos estudos relacionados ao tema, como mostrado na Figura 2.

Figura 2: Número de Artigos publicado nos últimos 10 anos com o tema de nanocapsulamento de bioativos, dados até setembro de 2018.



Fonte: Elaborado pelo autor

3.2. BIOATIVOS

Bioativos são compostos naturais de origem vegetal ou animal com propriedades benéficas para a saúde, além da nutrição essencial. Os compostos bioativos podem apresentar atividades antioxidantes, antitumorais, antimicrobianas e anti-inflamatórias (SILVA *et al.*, 2015). Dessa forma, os compostos bioativos vêm sendo estudados de

acordo com os alimentos funcionais de sua origem, visando à manutenção da saúde e bem-estar dos seus consumidores.

Os compostos bioativos benéficos para a saúde que são utilizados como alimentos funcionais incluem vitaminas, minerais, peptídeos, ácidos graxos, probióticos, prebióticos, proteínas, fitoesteróis, fitoquímicos, fibras solúveis e insolúveis e antioxidantes (DE VOS *et al.*, 2010).

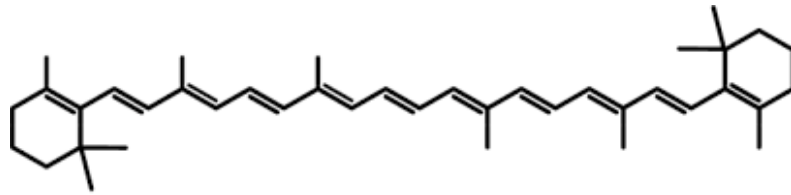
A legislação brasileira já prevê em lei algumas substâncias bioativas registradas com propriedades funcionais, tais como: ácidos fenólicos, ácidos graxos (monoinsaturados ω -3 e ω -6), betaglucana (fibra solúvel), carotenóides (licopeno, luteína e zeaxantina), dextrina resistente, fitoesteróis, frutooligossacarídeos (FOS), goma guar parcialmente hidrolisada, inulina, fibras alimentares, fitoesteróis, lactulose, polidextrose, polióis (manitol, sorbitol, xilitol), probióticos, proteína de soja e Psillium (*Plantago ovatae*) (ANVISA, 2008).

Esses compostos são muito suscetíveis à oxidação devido à presença de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados (PUFA), principalmente à perda dos principais componentes ativos durante um curto tempo de armazenamento (RODRÍGUEZ *et al.*, 2016).

3.2.1. Principais Bioativos

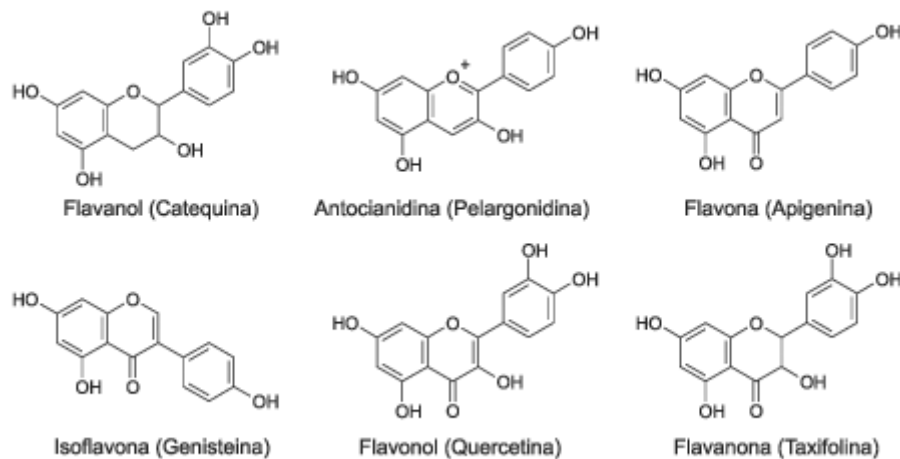
Dentre os principais compostos bioativos se destacam os terpenoides, compostos nitrogenados, metabólitos fenólicos e os ácidos graxos, oligossacarídeos, prebióticos e probióticos. A seguir, nas Figuras 3 e 4, estão alguns exemplos dessas classes de compostos bioativos, como por exemplo, o β -caroteno, as catequinas, flavonóis, flavonas, entre outras.

Figura 3: Estrutura Química do β -caroteno



Fonte: MORAES E COLLA, 2016

Figura 4: Estrutura Química dos Principais Flavonoides



Fonte: MARÇO *et al.*, 2008

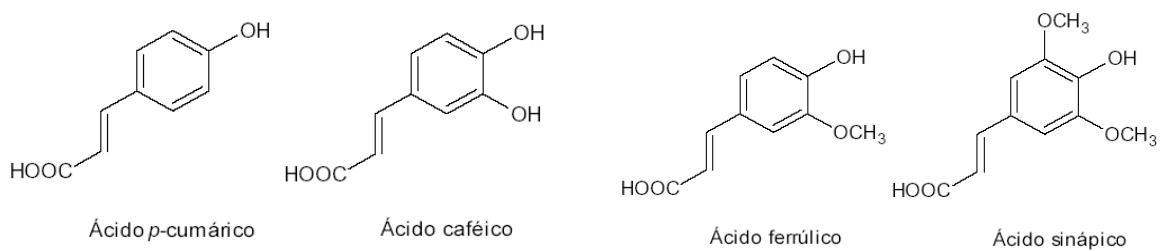
Os carotenoides são derivados de tetraterpenos, quando formados por hidrogênio e carbono são chamados de carotenos, precursores da vitamina A e quando contém algum heteroátomo são denominados xantofilas. Além do seu valor nutricional, o β -caroteno é o mais abundante em alimentos e o que apresenta a maior atividade de vitamina A. Os carotenoides apresentam ação protetora contra o câncer, sendo que os possíveis mecanismos de proteção são por intermédio do sequestro de radicais livres, modulação do metabolismo do carcinoma, inibição da proliferação celular, aumento da diferenciação celular via retinoides, estimulação da comunicação entre as células e aumento da resposta imune. O β -caroteno é um potente antioxidante com ação protetora contra doenças cardiovasculares (MORAES E COLLA, 2006).

Os compostos fenólicos, como por exemplo, o flavonoide, atuam como antioxidantes e, quando introduzido na dieta, reduzem o risco de desenvolvimento de patologias, como arteriosclerose e câncer. Os flavonoides captam os radicais livres como os

peróxidos, hidroperóxidos e lipídios peróxidos e como tal inibem os mecanismos de oxidação que conduzem a doenças degenerativas (MORAES E COLLA, 2006).

Ácidos hidroxicinâmicos são uma das classes dos ácidos fenólicos, sendo bem abundante e presente em vários alimentos e bebidas, como o café, erva mate, maçã, ameixa e outras frutas, crucíferas, cereais, entre outros alimentos (OLIVEIRA E BASTOS, 2011). Como exemplo de ácidos hidroxicinâmicos na Figura 5, os autores citam ácido *p*-cumárico, cafeico, ferrúlico e sinápico, esterificados ao ácido quínico, ácido tartárico ou carboidratos e derivados.

Figura 5: Exemplos de Ácidos Hidroxicinâmicos



Fonte: OLIVEIRA E BASTO, 2011

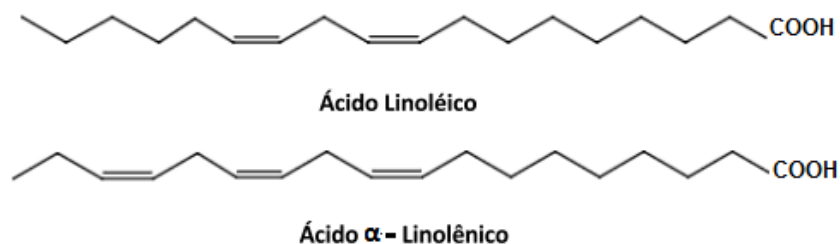
Estudos observaram um aumento na capacidade antioxidante do plasma após o consumo de alimentos ricos nestes compostos, apresentando propriedades antioxidantes (quer *in vitro*, como *in vivo*), bem como propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (OLIVEIRA E BASTOS, 2011).

Os ácidos graxos são de grande interesse devido aos inúmeros benefícios que trazem para saúde humana. Os ômega 3 e 6 na Figura 6, pertencem à família de ácidos graxos insaturados, que têm pelo menos uma dupla ligação colocada na cadeia de carbono. O ômega-3 - a primeira ligação dupla colocada no terceiro carbono a partir da extremidade metila da cadeia de carbono, por exemplo, ácido α -linolênico (ALA), ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaxanoico (DHA). O ômega-6 - a primeira ligação dupla colocada no sexto carbono a partir do fim da cadeia de carbono, por exemplo, ácido linoleico (LA), ácido araquidônico (AA) e ácido docosapentaenóico (DPA) (CHANG E NICKERSON, 2018). O ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido

eicosapentaenóico (EPA) são os ácidos graxos mais importantes para a saúde (KOMAIKO *et al.*, 2016).

Inúmeros estudos têm citado a importância dos ácidos graxos ômega 3-6 para prevenir doenças, tais como: doença arterial coronariana, hipertensão, diabetes, distúrbios inflamatórios e auto-imunes (CHANG E NICKERSON, 2018). Entretanto, existe uma grande dificuldade para sua inserção a dietas básicas e em produtos alimentares, devido à sua baixa solubilidade em água, assim como a baixa biodisponibilidade e instabilidade química. Dessa forma, surge à necessidade da geração de alguma forma de proteção, o encapsulamento atende essa necessidade, para que esses bioativos possam ser adicionados a produtos alimentares sem nenhum prejuízo (KOMAIKO *et al.*, 2016).

Figura 6: Estrutura Química dos Ácidos Graxos



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os probióticos são células vivas com diferentes características benéficas à saúde, sendo o *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* os principais da classe. Entretanto, na literatura são encontrados estudos significativos de outros probióticos, os quais possuem boas propriedades anti-inflamatórias, antialérgicas, podem estimular a imunidade e regular a flora bacteriana da microbiota (SOCCOL *et al.*, 2010).

A lista de benefícios de saúde relacionada aos alimentos funcionais vem crescendo e os probióticos são uma das categorias de crescimento mais rápido dentro desse grupo, para os quais as pesquisas científicas vêm evidenciando boas funcionalidades (SANDERS, 2006).

Já os prebióticos são alimentos que estimulam o crescimento de bactérias favoráveis, tais como: os oligossacarídeos como lactulose, galactoligossacarídeos, inulina, frutooligossacarídeos e outros carboidratos alimentares. Existe um potencial óbvio para um efeito sinérgico ao combinar probióticos e prebióticos adequadamente, para que os prebióticos promovam o crescimento e as atividades dos probióticos (RANADHEERA *et al.*, 2010).

3.3. ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS

O conceito de Alimentos Funcionais foi introduzido pela primeira vez no Japão em 1980, com a denominação e “*Foods for Specified Health Use*” (FOSHU), como sendo alimentos similares em aparência aos convencionais, mas que demonstravam benefícios à saúde (HASLER, 1998).

O mercado global de alimentos funcionais e fortificados movimentou cerca de 60 bilhões de dólares em 2002; 80 bilhões em 2005 e 110 bilhões em 2010. Com bases nesses dados, observa-se um grande investimento e crescimento das indústrias alimentícias e na área de pesquisa sobre os mesmos (MOTTA, 2006).

Na literatura há várias definições para Alimentos Funcionais, entre elas uma definição bem usual, segundo Zakir e Ereita (2015) é que são alimentos ou ingredientes alimentares que podem fornecer um benefício à saúde além dos tradicionais nutrientes já contidos.

Nutracêutico é um termo bem usual nos últimos anos, sendo reconhecido internacionalmente como produtos isolados ou purificados de alimentos geralmente sob forma farmacêutica contendo compostos bioativos de alimentos funcionais, os quais são alimentos que demonstram um benefício fisiológico à saúde humana, como prevenção, manutenção e tratamento de doenças (LIRA *et al.*, 2009) (ESPÍN *et al.*, 2007).

Há uma legislação e diversas diretrizes tanto brasileira quanto internacional envolvendo a utilização, assim como as condições de registros dos alimentos funcionais (LIRA *et al.*, 2009).

3.4. ENCAPSULAMENTO

O encapsulamento consiste em uma técnica em que partículas sólidas ou líquidas são aprisionadas em um agente encapsulante, fornecendo uma barreira física entre o composto principal e outros componentes do produto. Carboidratos, gomas, derivados de celulose semi-sintética e polímeros sintéticos são usualmente utilizados para o encapsulamento dos sistemas. Recentemente, tem sido utilizado também para encapsulamento a maltodextrina e derivados solúveis de amido modificado para encapsulamento de vitaminas ou extratos (GANGURDE *et al.*, 2016).

O encapsulamento se faz necessário já que os bioativos possuem baixa estabilidade, visto que é possível a degradação dos principais compostos ativos do composto pela ação do calor e da luz, até seu destino final e durante o armazenamento (RODRÍGUEZ *et al.*, 2016). Essa é uma prática bastante utilizada na indústria alimentícia devido à proteção fornecida ao bioativo no que se refere à degradação térmica, estabilidade microbiológica, além de proporcionar uma concentração adequada (SHISHIR *et al.*, 2018).

O encapsulamento é definido como a junção de partículas sólidas, líquidas e/ou gasosas em um material de revestimento, o qual permite a formação de uma barreira física entre o encapsulado e o meio, protegendo assim o composto encapsulado das adversidades do meio como, por exemplo, da variação de temperatura, pH, umidade e oxidação (CARMO *et al.*, 2015). O encapsulamento consiste em uma camada encapsulante, geralmente de origem polimérica atuando como um filme protetor com características ativas para tal propriedade, isolando a substância em questão do meio externo, esse filme sofre estímulos específicos em locais direcionados para a liberação da substância (CARMO *et al.*, 2015).

Exemplos de compostos bioativos encapsulados comumente encontrados são os óleos essenciais, como óleo de atum, ácidos graxos, óleo de girassol, licopeno e fibras, dentre outros. O tipo de encapsulamento selecionado é definido de acordo com o uso final do composto, visto que há vários tipos e sistemas de encapsulamento.

3.4.1. Métodos de Encapsulamento

Há vários métodos para encapsulamento, devido às diferenças encontradas em cada molécula dos compostos bioativos, que se diferenciam pela massa molar, estrutura química, solubilidade, entre outras características que afetam os requisitos químicos e físicos quando ocorre o encapsulamento (SILVA *et al.*, 2015).

Entre os diferentes métodos utilizados podem-se citar como métodos físicos: *spray-dryer*, *spray-cooling*, pulverização em banho térmico, leiteo fluidizado, centrifuga com múltiplos orifícios, e como métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial e entre os métodos físico-químicos estão os processos de: coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação e envolvimento lipossômico (ASSUNÇÃO *et al.*, 2014).

A escolha do método mais adequado depende do tipo do material, da aplicação e do mecanismo de liberação desejado para a sua ação. O encapsulamento também pode ser classificado de acordo com o tamanho da partícula encapsulada, podendo ser nanopartículas com tamanho entre 0,01 a 0,2 μm , micropartículas variando de e de 1 a 100 μm e para partículas acima de 100 μm elas são denominadas de macropartículas (ASSUNÇÃO *et al.*, 2014).

Segundo Carneiro (2011), o tipo de material de parede utilizado irá influenciar tanto na estabilidade, quanto na capacidade de proteção do produto em pó. O material de parede ideal deve ter propriedades de ser um bom formador de filme na interface; ter baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos; exibir baixa higroscopicidade; liberar o material encapsulado quando desejável no produto final; ter baixo custo; apresentar alta disponibilidade e oferecer boa proteção ao encapsulado.

Um exemplo é a grande dificuldade encontrada para o encapsulamento de substâncias altamente lipofílicas, que com tempo de processamento, armazenamento e utilização comercial sofrem oxidação (desenvolvendo rancidez e alterando as características sensoriais) e tendo perdas consideráveis em sua composição química (GANGURDE *et al.*, 2016).

3.4.2. Sistemas Poliméricos de Encapsulamento

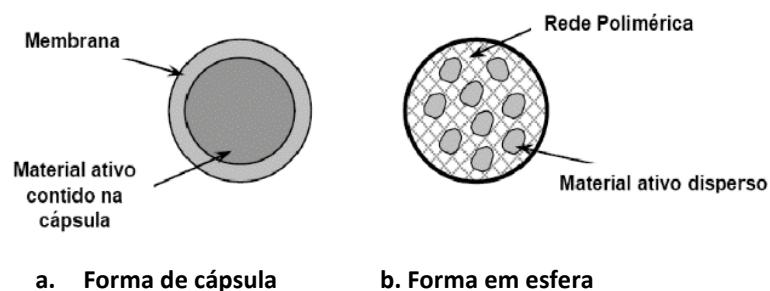
Os sistemas poliméricos são as bases de encapsulamento mais promissoras e versáteis que têm se destacado no mercado; sua eficácia depende restritamente das propriedades do polímero utilizado para tal fim.

O encapsulamento também pode ter múltiplos benefícios, como por exemplo, melhorar a biodisponibilidade do bioativo encapsulado com o uso de polímeros sensíveis ao pH, o que permitiria a entrega de bioativos para um local específico no sistema gastrointestinal (GIT), o que poderia potencialmente aumentar sua atividade farmacológica, assim como sua biodisponibilidade.

3.4.3. Tipos de Encapsulamento

O encapsulamento pode ser classificado quanto à morfologia, diferenciando-se pela sua estrutura, podendo ser de forma cápsula ou em forma de esfera como mostrado na Figura 7.

Figura 7: Tipos de Encapsulamento



Fonte: MATTÉ E ROSA, 2013

São classificados como cápsulas, quando o encapsulamento possuir um núcleo com material ativo rodeado por uma membrana polimérica. Já as partículas em esferas ocorrem quando o material ativo está disperso em toda a matriz polimérica, constituindo uma massa homogênea, podendo ser incorporado à matriz polimérica através do processo de adsorção, ou ligado covalentemente (MATTÉ E ROSA, 2013).

3.4.4. Visão Geral de Algumas Técnicas de Encapsulamento

Técnicas como *spray-dryer*, *spray-cooling*, *spray-chilling*, pulverização em banho térmico, leite fluidizado, coacervação, nanoprecipitação e emulsão são utilizadas para o encapsulamento de bioativos, visto que geralmente estes são encontrados na forma líquida. Tais técnicas são muito utilizadas na indústria alimentícia. A técnica de *spray-dryer* é a mais utilizada, e visa misturar o polímero com o composto ativo sendo pulverizados em câmara quente, a altas velocidades de alimentação da emulsão e sob as altas temperaturas do ar de entrada. Conta com uma produção contínua e alta, sendo amplamente aplicada em escala industrial (TRIFKOVIĆ *et al.*, 2016).

Nas técnicas de *spray-cooling* e de *spray-chilling* ocorrem a mistura de polímero e da solução de bioativos sendo resfriada até determinada temperatura. A diferença entre os dois processos está no material de suporte utilizado, mais precisamente em seu ponto de fusão (TRIFKOVIĆ *et al.*, 2016).

A pulverização em banho térmico é amplamente utilizada nas indústrias alimentícias. Entretanto, apresenta algumas desvantagens como, por exemplo, o difícil controle do tamanho das partículas e do diâmetro desejado e a difícil estabilidade térmica, pois o processo requer altas temperaturas que podem degradar os compostos durante a pulverização (TRIFKOVIĆ *et al.*, 2016).

A técnica de leite fluidizado é utilizada para aplicar um revestimento sobre as partículas já preparadas. É uma técnica potente, na qual as partículas obtidas possuem propriedades melhoradas, particularmente relacionadas à liberação de ativos. Uma das vantagens desta técnica é o tamanho de partícula controlável (TRIFKOVIĆ *et al.*, 2016).

A técnica de nanoprecipitação para a preparação de nanopartículas poliméricas é uma técnica simples, rápida e fácil de executar. Este método envolve uma rápida dissolução do polímero quando a fase orgânica é adicionada, sob agitação, à fase aquosa na presença de um surfactante. A precipitação do polímero é resultado de uma rápida difusão do solvente para o meio aquoso. O bioativo é imediatamente aprisionado ao polímero durante a precipitação (FESSI *et al.*, 1989). É uma técnica

muito utilizada para preparar portadores coloidais de encapsulados lipofílicos em nanoesferas ou em nanocápsulas (BARICHELLO *et al.*, 1999). Este método é basicamente aplicável a encapsulados lipofílicos devido à miscibilidade do solvente com a fase aquosa, o que diferencia o processo da emulsificação. Este método não necessita de um alto cisalhamento e nem de altas temperaturas (BILATI *et al.*, 2005).

As nanopartículas obtidas por nanoprecipitação variaram entre 85 e 550 nm de tamanho; vários resultados apresentados na literatura demonstram que a nanoprecipitação é uma técnica mais versátil e flexível do que se pensava anteriormente e que uma ampla gama de parâmetros podem ser modificados de acordo com a finalidade desejada (BILATI *et al.*, 2005)

A técnica de coacervação, segundo Ezhilarasi e Colaboradores (2013), é bem promissora, principalmente no que tange o ponto de vista industrial, dado que resulta em altas cargas úteis, em torno de 90%, podendo ser utilizado com proteínas e polissacarídeos. O processo dependerá da separação de fases dos hidrocolóides da solução inicial, seguida da deposição da fase de coacervação desenvolvida em torno do bioativo emulsionado. Se necessário, a cápsula hidrocolóide pode ser reticulada.

A coacervação como técnica de encapsulação resulta em excelente eficiência de encapsulamento chegando até 100%. Entretanto, esta tecnologia ainda não é totalmente aceita e aplicada na indústria de alimentos, principalmente devido à sua complexidade, bem como altos custos de processo. As cápsulas produzidas têm propriedades muito boas de liberação controlada / sustentada. Essa técnica é usada principalmente para o encapsulamento de ativos hidrofóbicos, enquanto os compostos hidrofílicos são dificilmente encapsulados (EZHILARASI *et al.*, 2013).

Processos de emulsificação envolvem a formação de emulsões de óleo em água. O polímero ligeiramente hidrofóbico é emulsionado em água, usando emulsionante de óleo em água. As partículas obtidas por essa técnica estão na faixa de tamanho 10-1000 nm, com uma boa esfericidade.

As técnicas de emulsão são mais fáceis de serem usadas industrialmente. Entretanto, são observadas algumas desvantagens, como controlar o processo de obtenção de

partículas de tamanho desejado e específico e o próprio processo de evaporação dos solventes utilizados, que pode ocasionar o aumento os custos do processo (TRIFKOVIĆ *et al.*, 2016).

3.4.5. Micro e Nanoencapsulamento

Ao longo dos anos, a técnica de encapsulamento foi desenvolvida a ponto de introduzir produtos encapsulados de micro e nanodimensões na forma de pós, emulsões, filmes, etc. O microencapsulamento e o nanoencapsulamento são as principais técnicas utilizadas e ambas visam o melhoramento da funcionalidade e da proteção do material encapsulado.

Os produtos encapsulados abrangem um amplo campo de aplicações, entre eles, o campo farmacêutico, industrial alimentício, agrícola, cosméticos, indústria têxtil, impressão, engenharia de biossensores, revestimentos ativos e construção (WANI *et al.*, 2017).

Para cada aplicação das cápsulas existe uma propriedade específica na tecnologia alimentícia, os ingredientes ativos são protegidos da decomposição causada pelo meio ambiente (no que se refere à poeira e microorganismos), com sabores melhorados e são impedidos de volatilização prematura; para as indústrias têxteis foram modificados com microcápsulas para liberação prolongada de fragrância e com introdução de retardadores de chamas, por exemplo (NEUBAUER *et al.*, 2014).

Atualmente há um grande interesse em sistemas de nanoencapsulamento devido suas funcionalidades exclusivas, como: a alta eficiência de encapsulamento, a capacidade de cargas funcionais para barateamento da produção, biodisponibilidade, estabilidade melhorada, perfil de liberação sustentada e mascaramento de sabores indesejáveis; também é importante considerar a funcionalidade, a concentração encapsulada e o destino de liberação (ESFANJANI & JAFARI, 2016).

Segundo Jaganathan e Godin (2012), as nanopartículas têm propriedades significativamente melhores do que as micropartículas, devido suas propriedades funcionais únicas relacionadas à escala nanométrica.

3.5. SEMENTES DE CHIA

A chia (*Salvia hispanica* L) é uma semente antiga, pesquisas datam de 3.500 anos a.C., foi um importante alimento de base para os mesoamericanos em tempos pré-colombianos, muito consumida pelos maias e astecas como alimento para aumentar a resistência física (COELHO E SALAS-MELLADO, 2014).

A chia é uma pequena semente de formato oval com cerca de 2 mm (Figura 8) e de cor castanha e suas variações, pertence à família *Labiatae*, sendo nativa da região sul do México e do norte da Guatemala, seus benefícios foram detectados há centenas de anos e há séculos as sementes de chia foram utilizadas como alimento principal dos índios do sudoeste da América (YUEDA, 2015).

Na época, a chia também estava atrelada a rituais sagrados e servia como oferenda aos deuses dessas civilizações, o que despertou a ira de espanhóis católicos que consideravam a cerimônia como um ritual pagão. Assim seu cultivo foi extinto por séculos e só foi retomado no início da década de 90 por um grupo de pesquisadores argentinos em parceria com a Universidade do Arizona (EUA) (AYERZA e COATES, 2005).

Figura 8: a. Plantação de chia; b. Sementes de chia



(a)



(b)

Fonte: Google Imagens

Segundo dados de uma matéria publicada por *El Economista*, do México, em 2013, a chia tem sido redescoberta e movimentada no mundo em torno de 50 bilhões de dólares anuais, um número que está em expansão. Seus principais produtores são o México,

Bolívia, Paraguai, Argentina, Equador, Nicarágua, Guatemala e Austrália, os quais estão ampliando os mercados de exportação, antes dominados com certa exclusividade pelos Estados Unidos, mas que hoje incluem várias nações europeias e países como Canadá, China, Malásia, Singapura e Filipinas.

3.5.1. Principal Bioativo da Chia

As sementes de chia são ricas em ácidos graxos, principal bioativo, entre eles o ácido α -linolênico precursor dos ácidos docosaenoico (DHA) e o ácido eicosapentaenoico (EPA). Proporcionalmente, uma semente de chia apresenta quantidades significativas de lipídios, cerca de 40% do peso total da semente, sendo quase 60% de ômega 3 e 6, mais de 30% do peso total de fibra dietética, 19% de proteínas, além de minerais, vitaminas e antioxidantes naturais (COELHO E SALAS-MELLADO, 2014). A Tabela 1 apresenta a composição da semente de chia.

Tabela 1: Composição da semente de chia.

Componentes	Conteúdo
Lipídios (g. 100g ⁻¹)	33,9
Proteínas (g. 100g ⁻¹)	20,2
Cinzas (g. 100g ⁻¹)	2,33
Fibra dietética (g. 100g ⁻¹)	43,1
Niacina (μ g.g ⁻¹)	82,5
Riboflavina (μ g.g ⁻¹)	2,13
Tiamina (μ g.g ⁻¹)	14,42
Vitamina A (μ g.g ⁻¹)	43,1

Fonte: Adaptado de Puig e Haros (2011) e Bushway *et al.*, (1981).

Ainda com relação à composição da semente de chia, a tabela a seguir (Tabela 2), apresenta a composição lipídica da semente de chia e sua composição de ácidos graxos, destacando o teor de ácido α -linolênico e do ácido linoleico com um teor de 62,02 e 17,36 g.100 g⁻¹, respectivamente.

3.5.2. Benefícios

Os benefícios de uma dieta rica em ácidos graxos e da suplementação específica são inúmeros, entre eles vale ressaltar os benefícios associados às doenças cardiovasculares, redução dos níveis de lipídios, resistência à insulina induzida, e redução da adiposidade visceral. Produz benefícios na microcirculação visando melhor oxigenação dos tecidos (MENDONÇA, 2010), ajuda a tratar e prevenir o mal de Alzheimer (MORAES e COLLA, 2006), importante função na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina no período materno-gestacional (MARTIN *et al.*, 2006).

Tabela 2: Contém um resumo do teor de Lipídeos e Ácidos Graxos da semente de chia.

Teor de Lipídios e Ácidos Graxos	g.100 g ⁻¹
Lipídios	34,39
Gorduras saturadas	9,74
Ácido pentadecanoico (C15:0)	0,03
Ácido palmítico (C16:0)	6,69
Ácido esteárico (C18:0)	2,67
Gorduras monoinsaturadas	10,76
Ácido pentadecenoico (C15:1)	0,03
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,09
Ácido oleico (C18:1- ω -9)	10,55
Ácido cis-eicosenoico (C20:1)	0,09
Gorduras poli-insaturadas	79,47
Ácido <i>linoleico</i> (C18:2- ω -6)	17,36
Ácido α - <i>linolênico</i> (C18:3- ω -3)	62,02
Ácido cis-eicosadienoico (C20:2)	0,03
Ácido cis-eicosatrienoico (C20:3)	0,03
Gordura trans	0,03
Ácido elaidico (C18:1)	0,03
Gorduras insaturadas	90,26

Fonte: Adaptado de Coelho e Salas-Mellado (2014)

3.6. POLÍMEROS UTILIZADOS COMO BIOMATERIAIS

Muitos polímeros vêm sendo estudados para utilização como biomateriais, devido a sua boa interação com os tecidos naturais.

Helmus e Tweden (1995) definiram *biomateriais* como qualquer substância (outra que não fármaco) ou combinação de substâncias, sintéticas ou naturais em origem, que são usadas por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo.

Dessa forma, visto a alta compatibilidade de alguns materiais poliméricos com o organismo humano, muitos polímeros vêm atuando em diversas áreas da medicina, farmacologia, odontologia, dentre outras com as mais diversas aplicações (Tabela 3) (RATNER *et al.*, 2004).

A policaprolactona também se destaca em meio aos polímeros para utilização como biomateriais devido as suas características e propriedades químicas, sendo tenaz; dúctil e biocompatível, o que possibilita o seu uso nas áreas biomédica e farmacêutica para aplicações para liberação de fármacos e na engenharia tecidual (ROA *et al.*, 2010).

Tabela 3: Polímeros utilizados como biomateriais e suas aplicações.

Polímeros	Aplicação
Poli(etileno) (PE)	Cateteres e tubos de drenagens.
Polimetilmetacrilato (PMMA)	Lentes oculares; dentes postiços; cimento ósseo; bombas sanguíneas; membranas para diálise, e o poli(hidroxietil)metacrilato (PHEMA) é usado em lentes de contato macias (forma hidrogel).
Poli(tereftalato de etileno) (PET)	Enxertos vasculares, reconstrução de ligamentos e fixação de implantes.
Polipropileno (PP)	Suturas e reparos de hérnias.
Poli(cloreto de vinila) (PVC)	Dispositivos médicos como tubos de circulação sanguínea e sacos para armazenamento de sangue.
Polidimetilsiloxano (PDMS)	Suporte para crescimento celular.
Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA)	Suturas e suporte para crescimento celular.
Quitossana (QTS)	Curativos, suporte para crescimento celular e dispositivo para liberação de fármacos.
Policaprolactona (PCL)	Dispositivo para liberação de fármacos e suporte para crescimento celular.
Poli(Nisopropilacrilamida) (PNIPAAm)	Sistema de liberação controlada de fármacos, músculos artificiais, biosseparação, culturas de células, engenharia de tecidos.

Fonte: Adaptado de Machado, 2016.

3.7. POLI(CAPROLACTONA) (PCL)

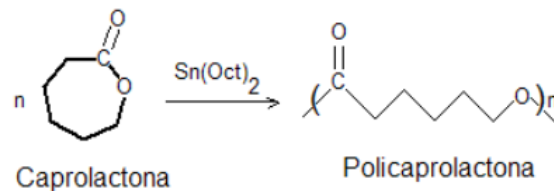
A poli(caprolactona) é um poliéster alifático sintético e biodegradável, um dos polímeros sintéticos mais estudados no mundo e o FDA – *Food and Drug Administration* aprovou-o para aplicações médicas nos Estados Unidos da América (TAVARES, 2011).

Os poliésteres podem ser sintetizados por policondensação do hidroxíácido ou por polimerização por abertura de anel. O processo via policondensação é desvantajoso, pois exige condições extremas, e a polimerização requer longos tempos de reação e resulta na produção de cadeias com comprimento amplamente variável, já o processo

de abertura de anel é o método preferido para produzir poliésteres de elevada massa molar (AMASS *et al.*, 1998).

Em 1958, foi descrita a primeira síntese do PCL, devido à abertura do anel do monômero pela adição de carbonato de potássio, em uma temperatura de 150 °C por 5 horas, sintetizando a primeira poli(ϵ -caprolactona) (NATTA, 1958). O PCL pode ser obtido por polimerização de abertura do anel da ϵ -caprolactona, utilizando um catalisador como o octanoato de estanho (YANJUN *et al.*, 2004).

Figura 9: Polimerização da caprolactona.



Fonte: Google Imagens

O PCL se destaca pelas boas características para área biomédica devido à sua compatibilidade com tecidos moles e duros e pelo fácil processamento, por ser atóxico e por seus produtos de degradação serem metabolizados ou excretados por via renal (WAN *et al.*, 2009).

3.7.1. Características e Propriedades da PCL

A PCL é um polímero semicristalino (média de 60% de cristalinidade), com temperatura de transição vítrea (T_g) de -60°C e com de fusão variando de 59° a 64°C, compreendendo sua natureza cristalina. A massa molar numérica média (\overline{Mn}) das amostras de PCL pode variar de 10.000 a 42.500, sendo graduada de acordo com sua massa molar.

Quanto à solubilidade, a PCL é solúvel em clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono, benzeno, tolueno, ciclohexanona e 2-nitropropano a temperatura ambiente, apresenta uma baixa solubilidade em acetona, 2-butanona, acetato de etila,

dimetilformamida e acetonitrila e é insolúvel em álcool, éter de petróleo e éter dietílico (SINHA *et al.*, 2004).

3.7.2. Biodegradabilidade da PCL

Os polímeros biodegradáveis de origem sintética ganharam um importante espaço na área de biomedicina, na fabricação de cápsulas para liberação controlada de fármacos, como fixadores em cirurgias (suturas, clips, pinos para ossos) e embalagens especiais. Dentre estes polímeros, se destacam o poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido glicólico-ácido láctico) (PGLA) e o PCL (AMASS *et al.*, 1998).

De acordo com a Norma ASTM 6400-04, a biodegradação de um material acontece quando o mesmo é usado como nutriente por um determinado conjunto de micro-organismos (bactérias, fungos ou algas) que existem no meio ambiente onde o material será degradado.

A biodegradabilidade da PCL foi identificada e estudada pela primeira vez em 1973 (SINHA, 2004). A PCL também apresenta uma taxa de degradação lenta em comparação com outros poliésteres alifáticos devido ao seu alto caráter cristalino, sendo muito adequado para a liberação de fármacos devido, também, à sua alta permeabilidade e a não toxicidade (WAN *et al.*, 2008).

Os materiais poliméricos dentro do organismo humano podem ser classificados como: biodegradáveis, bioerodíveis, bioreabsorvíveis e bioabsorvíveis (VERT, 1993). Os polímeros biodegradáveis são aqueles nos quais ocorre a degradação macromolecular, porém sem a eliminação dos produtos e subprodutos pelo organismo; os bioerodíveis são caracterizados por uma perda de massa, sendo os produtos e subprodutos reabsorvidos pelo organismo; os bioreabsorvíveis são degradados através da redução de tamanho e são reabsorvidos *in vivo*, sendo eliminados por vias metabólicas; quando sua dissolução ocorre em fluídos sem qualquer clivagem das cadeias moleculares ou por uma diminuição da massa molecular, classificam-se como bioabsorvíveis (MIDDLETON e TIPTON, 2000).

Quando implantado, o PCL sofre um processo de bioreabsorção auto catalítico (RAMOS, 2011).

Muitos fatores podem influenciar a degradação polimérica, como por exemplo, o local de implantação do implante, solitação mecânica no local, massa molar do polímero, distribuição da massa molar, composição química, cristalinidade, morfologia, pH do meio biológico, entre muitos outros (MIDDLETON e TIPTON, 2000).

A cristalinidade dos polímeros é proporcional à velocidade de degradação, devido à disposição espacial das cadeias poliméricas nas regiões amorfas e cristalinas, sendo muito mais difícil ocorrer uma hidrólise em uma estrutura compactada e organizada (cristalina) do que em uma região desorganizada e espaçada (amorfa) (DUEK, 1999).

A degradação do PCL é lenta e ocorre em três estágios, no primeiro estágio o material passa por um processo de degradação não enzimática resultando na susceptibilidade das ligações éster à hidrólise, no segundo estágio, oligômeros de cadeia curta são formados, reduzindo a massa molar do PCL, e na última etapa, o PCL de baixa massa molar é fagocitado por macrófagos e rapidamente degradado em ácido ϵ -hidróxi-capróico, que é metabolizado entrando no ciclo do ácido tricarbóxico (TCA), finalmente sendo eliminado por excreção renal (SALGADO *et al.*, 2011).

3.7.3. Aplicação Usual da PCL

Os poliésteres biodegradáveis sintéticos, como o poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA) e a poli(caprolactona) (PCL), e seus copolímeros, foram fabricados e estudados para usos biomédicos desde a década de 1970 (AMASS *et al.*, 1998).

Em 2016, Gomes e Colaboradores estudaram um material de policaprolactona com trimetileno (PCL-TMC) e poliuretana para desenvolvimento de prótese meniscal, a escolha do PCL foi devido a sua grande relevância na engenharia de tecidos, pois apresenta elevadas propriedades viscoelásticas e reológicas, frente a outros polímeros bioreabsorvíveis. Tais características tornam a sua manipulação mais simples, sendo possível a confecção de diversas estruturas (GOMES *et al.*, 2016).

Wan e Colaboradores (2008) estudaram o desenvolvimento de arcabouços porosos para engenharia de tecidos com misturas de PCL com quitosana empregando solução de ácido acético concentrado como solvente. Os arcabouços mostraram estruturas porosas bem controladas e interconectadas.

Gurler e Colaboradores (2019) estudaram o desenvolvimento de microcápsulas de PCL para o encapsulamento de melatonina através do encapsulamento por *electrospinning*, que mantiveram a liberação sustentável por até 8 horas com cerca de 73% de eficiência, visando o desenvolvimento de novos sistemas similares para a remodelação e enxerto ósseo.

Piazza e Colaboradores (2018), desenvolveram um sistema de liberação de fármaco com copolímero de éter monometílico de polietilenoglicol-co-policaprolactona (mPEG-co-PCL), visando encapsular o metotrexato (MTX), um medicamento usado para o tratamento de câncer, com características hidrofóbicas. O copolímero formado foi eficiente na liberação controlada, mantendo uma taxa de liberação de 16 horas, avaliando assim que sistemas utilizando o PCL podem ser eficientes no transporte e na liberação de fármacos hidrofóbicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

Para esta Dissertação foram utilizados os seguintes materiais:

- Semente de chia (*Salvia hispanica*)
- Álcool etílico absoluto P.A. (Etanol)
- Clorofórmio P.A.
- Policaprolactona (PCL) (Mn = 10000) – Aldrich Chemistry
- Polietilenoglicol-b-poli(propilenoglicol)-b-poli(etilenoglicol) - Pluronic® F-68 – Aldrich Chemistry
- Acetona P.A. - Isofar

4.2. EQUIPAMENTOS

Para esta Dissertação foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Ressonância Magnética Nuclear – Varian Mercury VX 300, Sonda 5mm universal, utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente.

Condições de aquisição do núcleo de H:

Frequência de H a 300,06 Hz
Janela Espectral (SW): 4800 Hz
Tempo de aquisição AT: 2,5
Intervalo entre os pulsos de 90° D1: 20s
Número de transientes NT: 16
Temperatura de Análise: 40°C

Condições de aquisição do núcleo de ^{13}C

Frequência de ^{13}C : 75,4 Hz
Janela Espectral (SW): 20,700 Hz
Tempo de aquisição: AT: 1
Intervalo entre os pulsos de 90°: D1: 2s
Número de transientes: NT: 5200
Temperatura de Análise: 40°C

- Analisador de Partículas - Potencial Zeta (Nanosizer Zeta) – Modelo: Nicomp ZLS Z3000 - DLS / PALS
- Analisador Térmico – TGA – Modelo TGA Q500 V6.7 Build 203 – Universal V4.5A TA Instruments
- Espectrômetro de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (*FT-IR*) – Modelo Frontier *FT-IR/FIR*
Número de varreduras: 4
Resolução: 4
- Ressonância Magnética Nuclear de Baixo Campo: MARAN Ultra 0,54 T (23,4 MHz para o ^1H), Oxford Instruments, sonda de 18 mm.

Temperatura: $30 \pm 2^\circ \text{C}$

Sequência de Pulso 1: Inversão-Recuperação (p180 - t - p90 - acq)

Tempos de espera na recuperação (ms): 0,1-5000

Sequência de Pulsos 2: CPMG: Carr-Purcell-Meiboom-Gill [p90x – (t – p180y - t)n]

Tempo entre os ecos (2t, us): 1200

4.3. MÉTODOS

Extração do bioativo da semente de chia

O bioativo da semente de chia moída foi extraído por percolação com diferentes solventes, com etanol e com clorofórmio, após 3 dias, as amostras passaram por um processo de filtração à vácuo para separação do extrato e das cascas (Figura 10). Posteriormente foi realizada a extração via *Soxhlet*, com sementes de chia moída em diferentes solventes, ocorrendo a extração com etanol e com clorofórmio, evaporou-se o solvente e reservou-se os extratos.

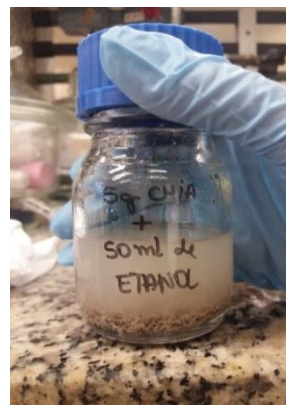
Figura 10: a. Moagem da semente de chia; b. Extração via *Soxhlet*; c. Extração por percolação com etanol; d. Extração por percolação com clorofórmio.



(a)



(b)



(c)



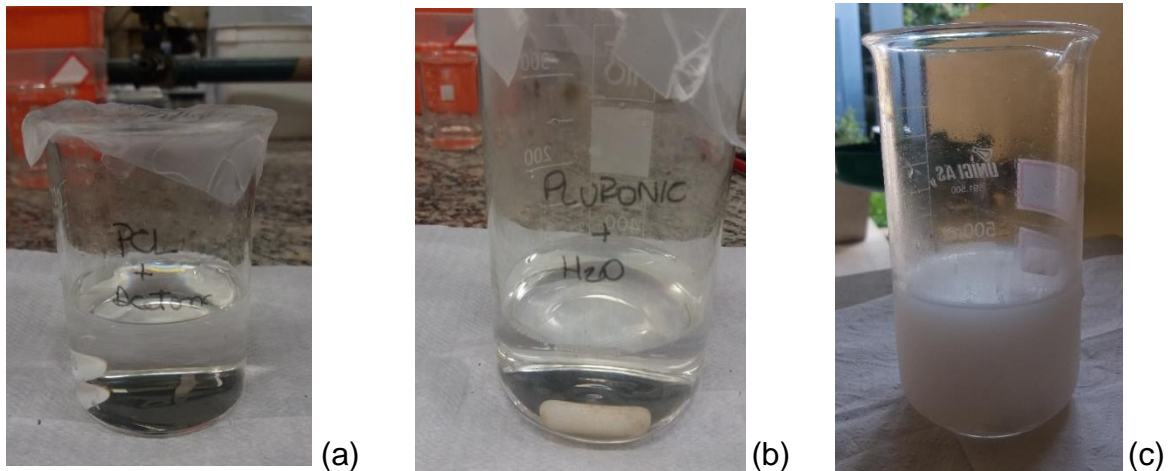
(d)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Preparação das nanopartículas de PCL

Foi realizada uma reação de nanoprecipitação (Figura 11) para a produção de nanopartículas poliméricas. Uma solução padrão foi preparada sem a adição do bioativo extraído, com 0,2g de PCL em 50mL de acetona, sob aquecimento e agitação magnética até dissolução do polímero. Em seguida foi preparada uma solução 0,2g de Pluronic® F-68 e 100mL de água destilada. A solução 1 foi preparada misturando 0,4g de PCL em 100mL de acetona, acrescido de 0,002mL de óleo de chia, sob aquecimento e agitação magnética até dissolução do polímero. Em seguida foi preparada uma solução 0,4g de Pluronic® F-68 e 200mL de água destilada sob agitação magnética. A solução 2 de nanoprecipitação foi realizada nas mesmas condições, entretanto adicionou-se 0,04g de óleo de chia. A solução orgânica foi vertida com fluxo constante na solução aquosa com agitação magnética constante por 3 dias até a evaporação do solvente. A formação das nanopartículas ocorre instantaneamente, os dois solventes são miscíveis (acetona e água), o polímero e o bioativo são solúveis apenas na acetona, sob aquecimento, já em solução aquosa não são solúveis. O pluronic® F-68, que é o surfactante, atua na formação de dispersões mais estáveis, assim, ocorre uma rápida difusão do solvente para fase aquosa, e a deposição do polímero na interface, formando pequenas gotas, incorporando o bioativo. Essa rápida formação de nanopartículas é devido às turbulências interfaciais que ocorrem na interface entre a fase orgânica e a fase aquosa o que resulta na diminuição da tensão superficial e um aumento na área superficial. A turbidez da solução formada deve se à presença de nanopartículas.

Figura 11: Preparação da nanoprecipitação – a. Solução de PCL com acetona; b. Solução de pluronic® F-68 com água destilada; c. Solução de nanoprecipitação.



Fonte: Elaborado pelo autor

4.4. CARACTERIZAÇÃO

- Caracterização do Óleo da Chia

O óleo extraído da semente de chia foi caracterizado quimicamente quanto a sua composição por análise de *NMR* de ^{13}C e ^1H em solução.

- Caracterização das Nanopartículas

A solução resultante de nanopartículas foi analisada quanto a sua distribuição de partículas e seus tamanhos, pelo equipamento de *DLS*. Foi caracterizada ainda por técnica de relaxometria para analisar a eficiência do nanoencapsulamento.

- Caracterização da Semente de Chia

As sementes de chia foram analisadas por *NMR-DT*, *TGA* e *FT-IR*, antes e após a extração para comparar a sua organização estrutural e após os eventos para comprovar a extração do seu bioativo.

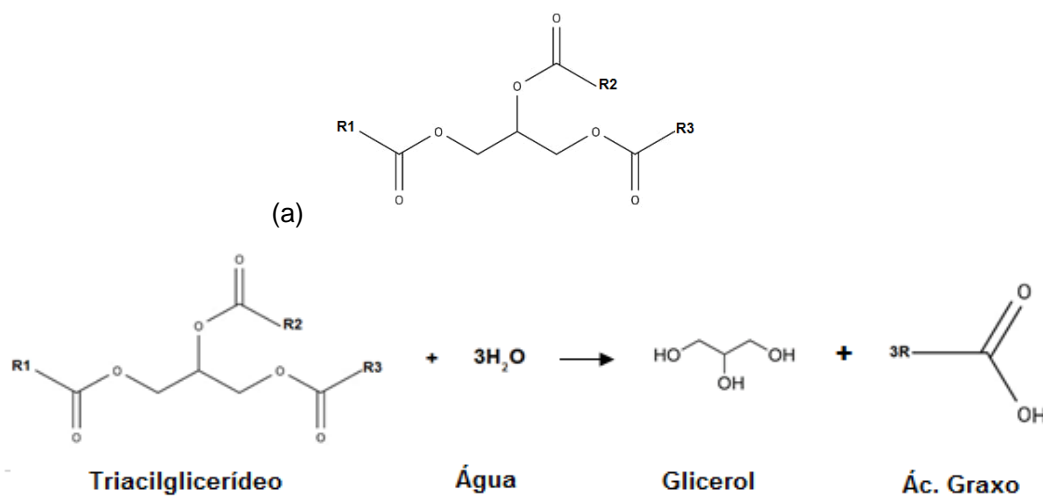
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta sessão serão apresentados os resultados e discussão acerca da pesquisa realizada para a elaboração desta Dissertação.

5.1. NMR DE ^{13}C EM SOLUÇÃO

A análise dos espectros mostrou que o material extraído refere-se à um triacilglicerídeo (Figura 12) como componente majoritário, indicando os principais compostos encontrados na semente de chia, a qual é rica em ácido graxo, pela literatura (BUSHWAY, 1981), sendo especificamente o ácido α -linolênico (C18:3 – estrutura contendo 18 carbonos e 3 insaturações na cadeia carbônica) e o ácido linoleico (C18:2 – estrutura contendo 18 carbonos e 2 insaturações na cadeia carbônica).

Figura 12: a. Estrutura química do triacilglicerídeo; b. Formação do triacilglicerídeo



(b)

Fonte: Elaborado pelo autor.

No espectro de NMR de ^{13}C em solução foram detectadas 4 regiões correspondentes à extração da molécula do triacilglicerídeo (Figura 13).

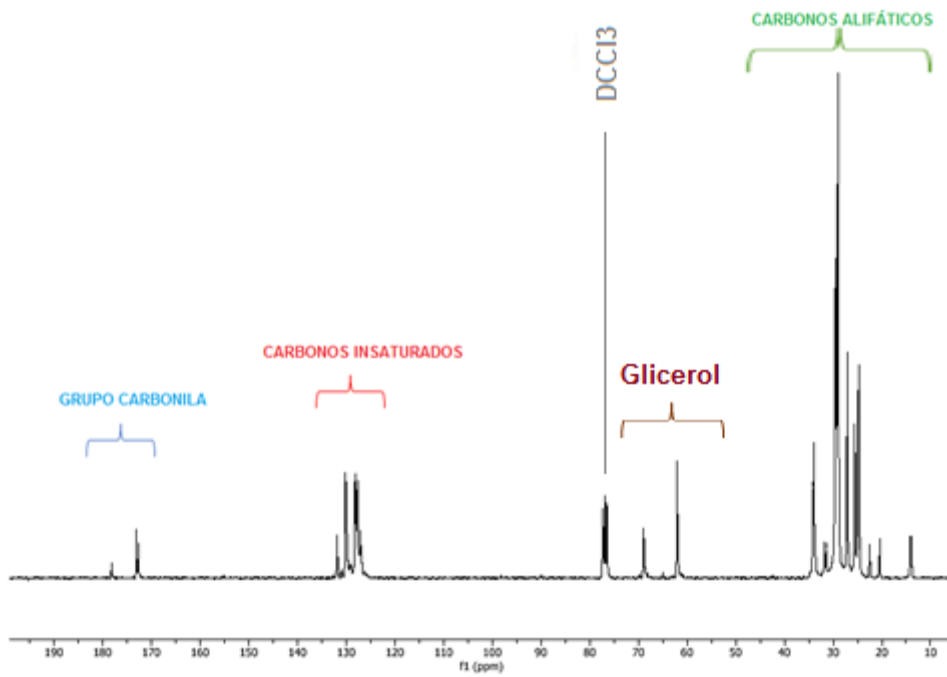
A região 1 de carbonos alifáticos, entre 10 a 40 ppm, é referente a parte alifática da cadeia carbônica, compreendendo um sinal de CH_3 e CH_2 – metilas e metilenos de cadeias longas do tipo C-18; a região 2, do glicerol, compreende de 60 a 80 ppm,

correspondendo as regiões de carbono ligado à oxigênio CH-O e CH₂-O; uma 3ª região entre 110 e 135 ppm apresenta apenas sinais na área de carbonos insaturados C=C presente na cadeia de éster de ácido graxos, apresenta também a ausência de sinais na área correspondente às insaturações terminais na ponta da cadeia carbônica, sugerindo que as insaturações estão localizadas no interior da cadeia, a 4ª e última região é correspondente ao grupamento carbonila (C=O).

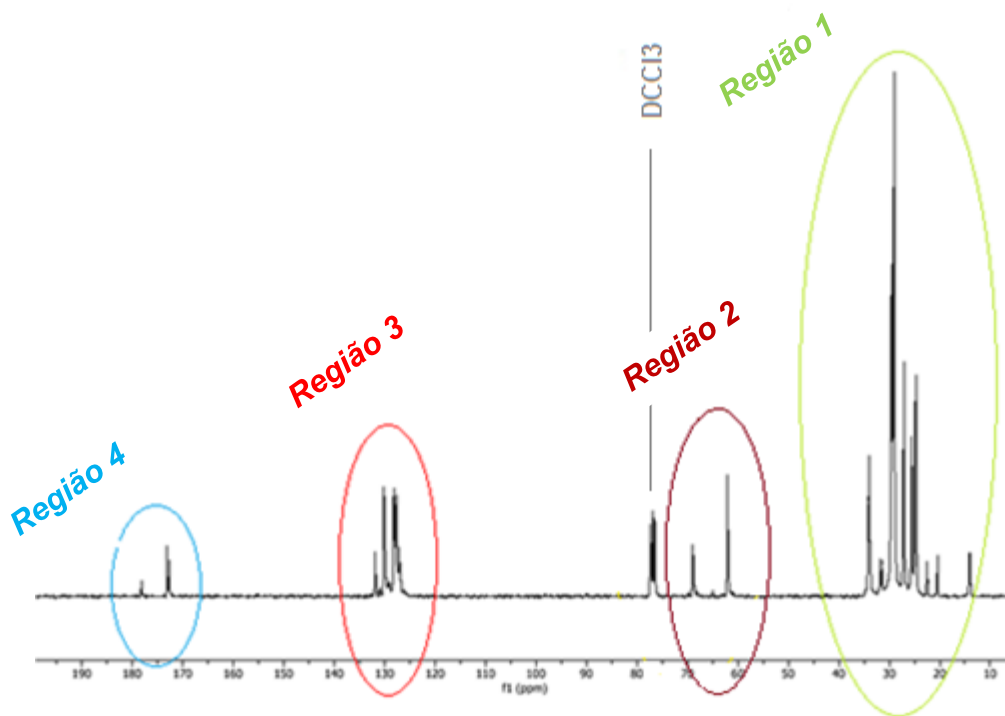
O extrato da chia foi extraído com etanol e com clorofórmio, por percolação (à frio) e por extração via *Soxhlet* (à quente). As amostras também foram analisadas pela técnica de *APT* (*Attached Proton Test*) para melhor detalhamento dos sinais, sendo uma técnica de simplificação espectral, na qual apresenta os carbonos do tipo CH₂ e carbonos quaternários na fase e os carbonos do tipo CH e CH₃ na anti-fase.

No espectro da análise do óleo de chia por percolação com clorofórmio (Figura 14 a), pode se observar as regiões de carbono alifático -CH₃ e -CH₂ de 13,91 à 33,91 ppm, presente na cadeia saturada do ácido graxo formador do triacilglicerídeo; região de CH-O e CH₂-O de 61,99 à 68,89 ppm, correspondentes a estrutura do glicerol, observa-se também a região correspondente à carbonos insaturados de 127,02 à 131,81 ppm, correspondendo as duplas ligações dos ácidos graxos e na região de carbonila entre 172,61 à 173,02 ppm, se observam 2 sinais correspondentes aos dois tipos de éster de ácidos graxos presentes. O espectro da análise de *APT* (Figura 14 b) apresenta na anti-fase as metilas -CH₃, grupamentos -CH-O, e os carbonos insaturados do grupo funcional do ácido graxo, e na fase todos os compostos com número par de hidrogênios (CH₂, CH₂-O, grupamento carbonila). Os assinalamentos dos sinais seguem na Tabela 4.

Figura 13: a. Espectro de NMR de ^{13}C em solução do extrato de semente de chia contendo triacilglicerídeo; b. Espectro de NMR de ^{13}C separado por regiões de interesse.



(a)



(b)

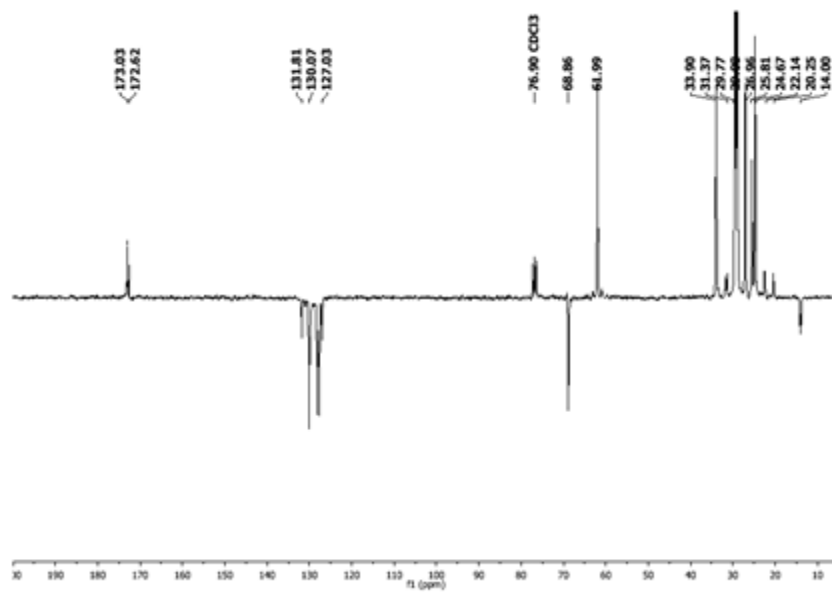
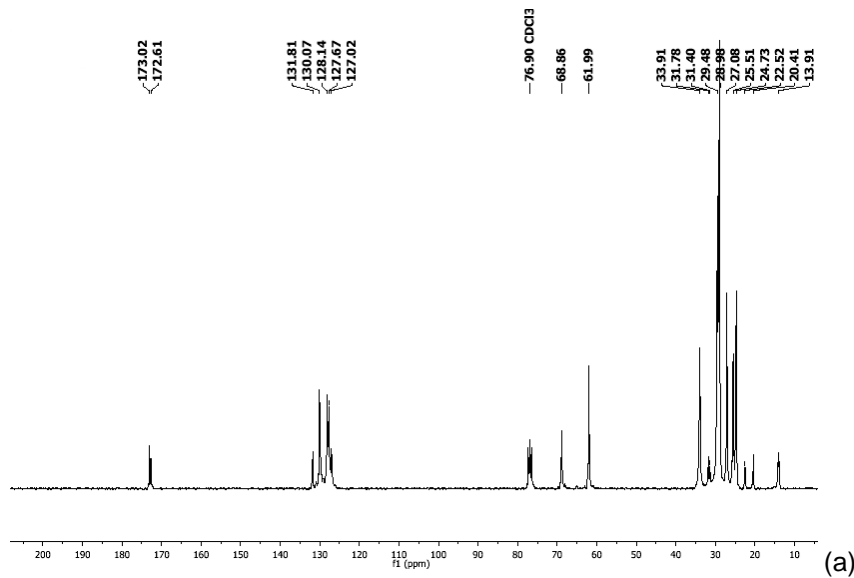
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4: Assinalamento dos sinais do $NMR^{13}C$ do extrato da semente de chia extraído com clorofórmio por percolação.

δ (ppm)	Tipos de Carbonos
13,91 - 33,91	CH_3 e CH_2
61,99 - 68,89	CH_2-O e $CH-O$
127,02-131,81	$C=C$
172,61 - 173,02	$C=O$

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14: a. Espectro de NMR de ^{13}C em solução do extrato de semente de chia em clorofórmio por extração de percolação a frio. b. Espectro de NMR de ^{13}C com APT em solução do extrato de semente de chia em clorofórmio por extração de percolação a frio



(b)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi analisado ainda por *NMR* de ^{13}C , o óleo de chia extraído via *Soxhlet* com clorofórmio, com os assinalamentos na Tabela 5. O espectro confirma a presença de ácido α -linolênico, ácido linoleico, formadores do triacilglicerídeo com sinais de carbonila em 172,64 e 173,05 ppm e a presença de um ácido graxo livre com sinal em 178,18 ppm, visto que na literatura o sinal correspondente ao mesmo é em 180 ppm. Esse deslocamento é devido à interação do solvente, correspondendo ao ácido oleico (Figura 15 a. espectro de *NMR* ^{13}C ; b. espectro de *NMR* ^{13}C com *APT*), o espectro com *APT*, indica na fase os compostos com números pares de hidrogênio e na anti-fase os compostos com números ímpares de hidrogênio.

Tabela 5: Assinalamento dos sinais do *NMR* ^{13}C do extrato da semente de chia extraído com clorofórmio via *Soxhlet*.

δ (ppm)	Tipos de Carbonos
13,93 - 34,07	CH_3 e CH_2
62,01 - 68,87	$\text{CH}_2\text{-O}$ e CH-O
127,04 - 131,83	C=C
172,64 - 178-18	C=O

Fonte: Elaborado pelo autor.

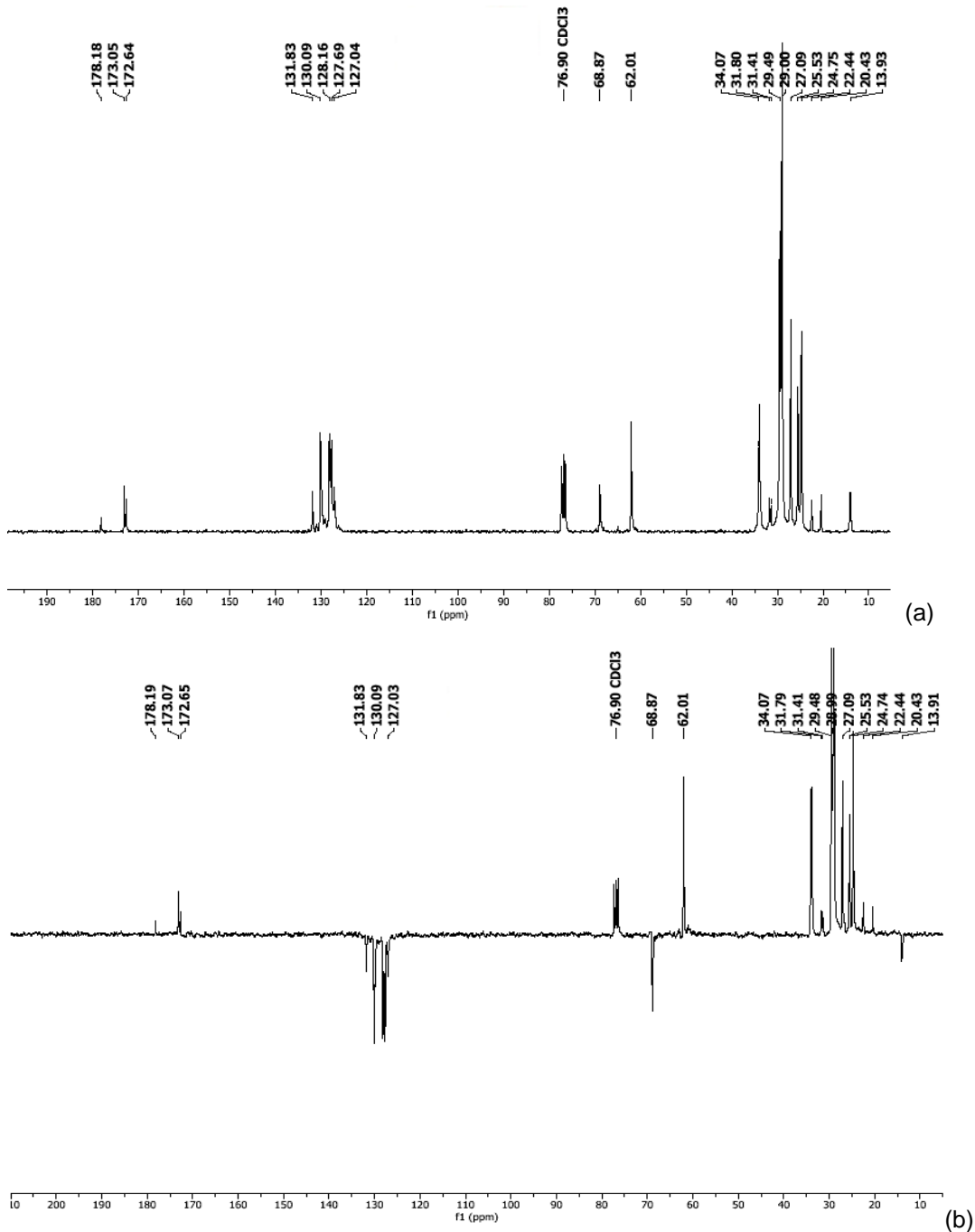
A Tabela 6, apresenta os assinalamentos do espectro de ^{13}C (Figura 16 a), correspondente as análises realizadas com o extrato das sementes de chia extraído com etanol via *Soxhlet* e o espectro com *APT* (Figura 16 b) para simplificação da análise, o qual apresenta uma ligeira diferença com relação aos espectros anteriores, apresentando sinais correspondentes a presença de etanol e ao ácido graxo livre encontrado.

Tabela 6: Assinalamentos dos sinais do espectro de ^{13}C do extrato de chia extraído em etanol.

δ (ppm)	Tipos de Carbonos
14,12 - 33,96	CH_3 e CH_2
57,95 - 68,82	$\text{CH}_2\text{-O}$ e CH-O
126,96 - 131,72	C=C
172,63 - 177,05	C=O

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15: a. Espectro de NMR de ^{13}C em solução do extrato de semente de chia em clorofórmio por extração via *Soxhlet*. b. Espectro de NMR de ^{13}C com APT em solução do extrato de semente de chia em clorofórmio por extração via *Soxhlet*.

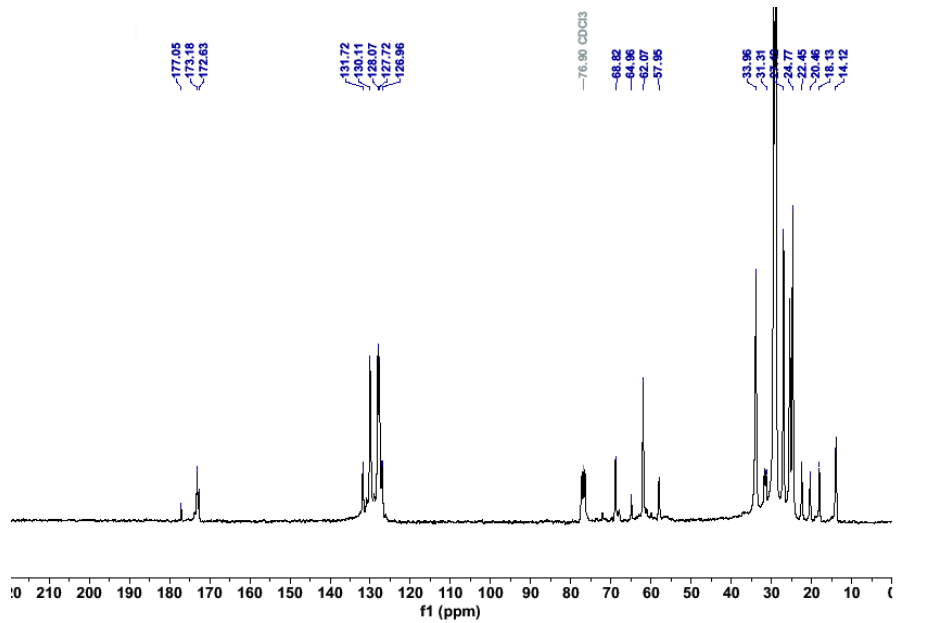


Fonte: Elaborado pelo autor

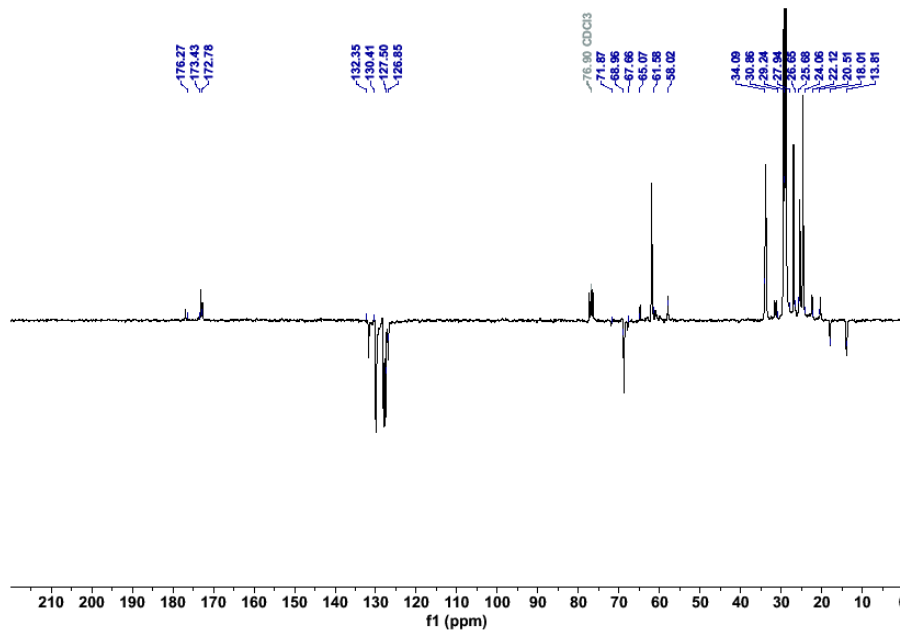
Foi observado que na extração com etanol à quente foi possível extrair os compostos majoritários, com os assinalamentos na região da carbonila de éster em 172,63 e 173,18 ppm, correspondendo a presença do éster de ácido α -linolênico na posição 1

e 3 do triacilglicerídeo e o linoleico na posição 2, de acordo com comparação na literatura (ALEXANDRI *et al.*, 2017) (BONNET *et al.*, 2007) e com a presença de um ácido graxo livre com assinalamento em 177,05 ppm correspondente ao ácido oleico.

Figura 16: a. Espectro de NMR de ^{13}C em solução do extrato de semente de chia em etanol por extração via *Soxhlet*. b. Espectro de NMR de ^{13}C com *APT* em solução do extrato de semente de chia em etanol por extração via *Soxhlet*.



(a)

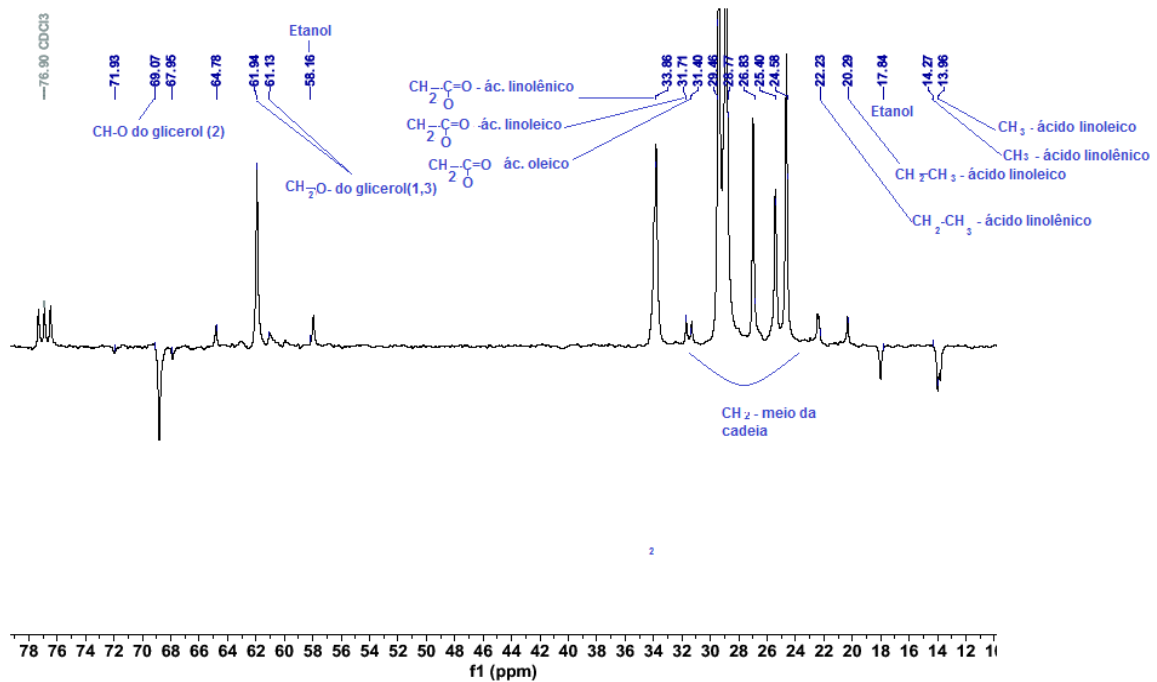


(b)

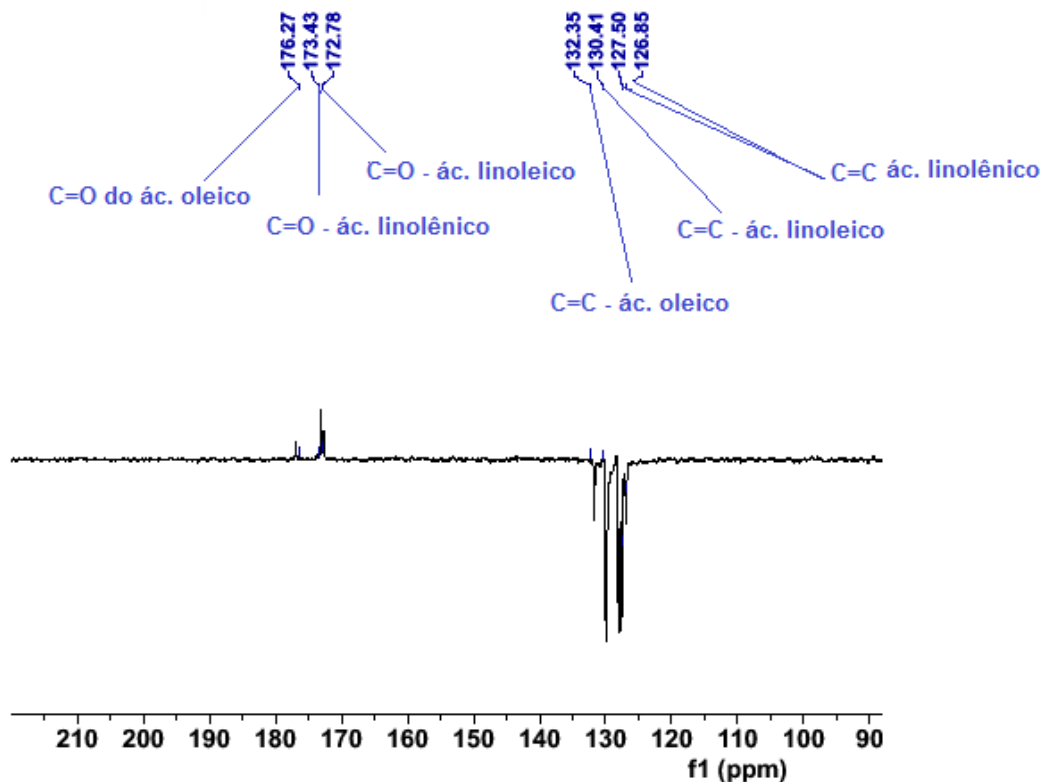
Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao realizar um estudo mais detalhado do espectro de extração com etanol a quente é possível identificar os sinais com seus respectivos grupamentos (Figura 17).

Figura 17: a. Espectro de ^{13}C de APT com expansão e assinalamento dos sinais entre 10 à 78 ppm, b. espectro de APT com expansão de 90 à 180 ppm.



(a)



(b)

Fonte: Elaborado pelo autor

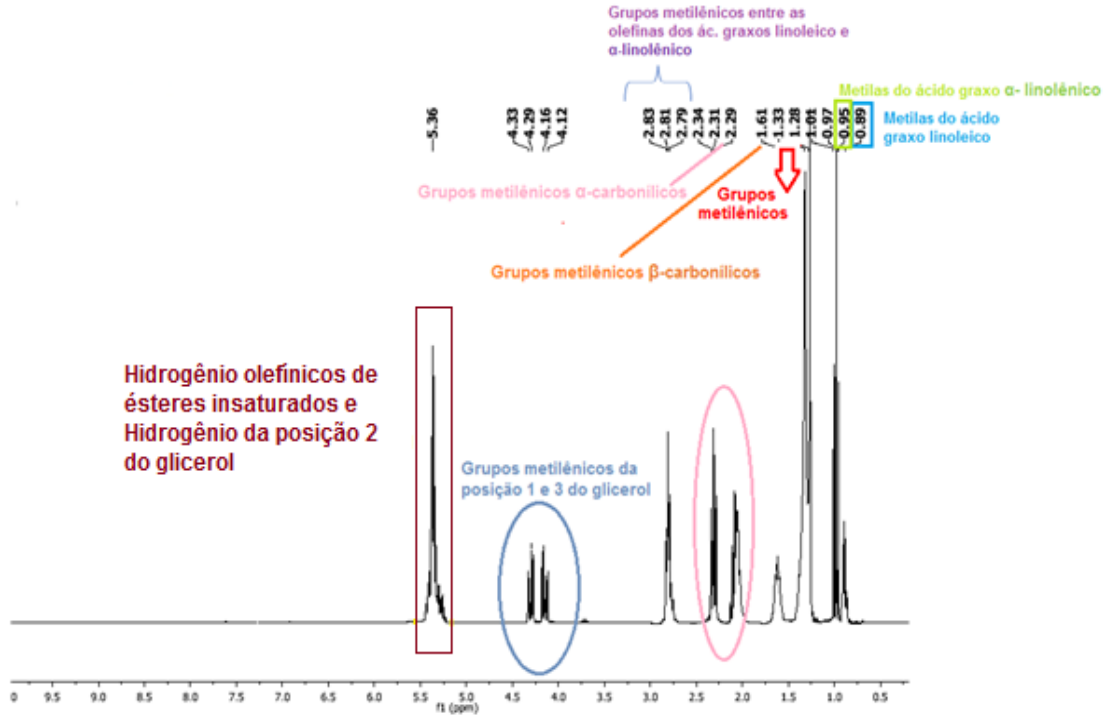
Ao analisar os espectros com diferentes solventes e diferentes sistemas, observa-se que todos os sistemas foram capazes de extrair o triacilglicerídeo composto por ácido α -linolênico e por ácido linoleico, que são os compostos majoritários e o objeto de estudo desse trabalho, entretanto foi possível observar que sistemas via *Soxhlet* (extração à quente) foram capazes de extrair um ácido graxo livre com deslocamento mais próximo à 180 ppm que a literatura se refere para tal composto. (ALEXANDRI *et al.*, 2017)

Em síntese, os espectros de MNR ^{13}C do extrato de semente de chia provindo do uso de clorofórmio e de etanol via *Soxhlet*, pode-se corroborar os dados da literatura com os dados experimentais que o sinal de em torno de 173,05 – 173,18 ppm corresponde ao ácido graxo α -linolênico correlacionando seu teor encontrado na semente de chia (Tabela 2) e na posição 1 e 3 do glicerol de origem, e ao sinal em torno de 172,64 ppm correspondente ao ácido graxo linoleico na posição 2 (BONNET *et al.*, 2007).

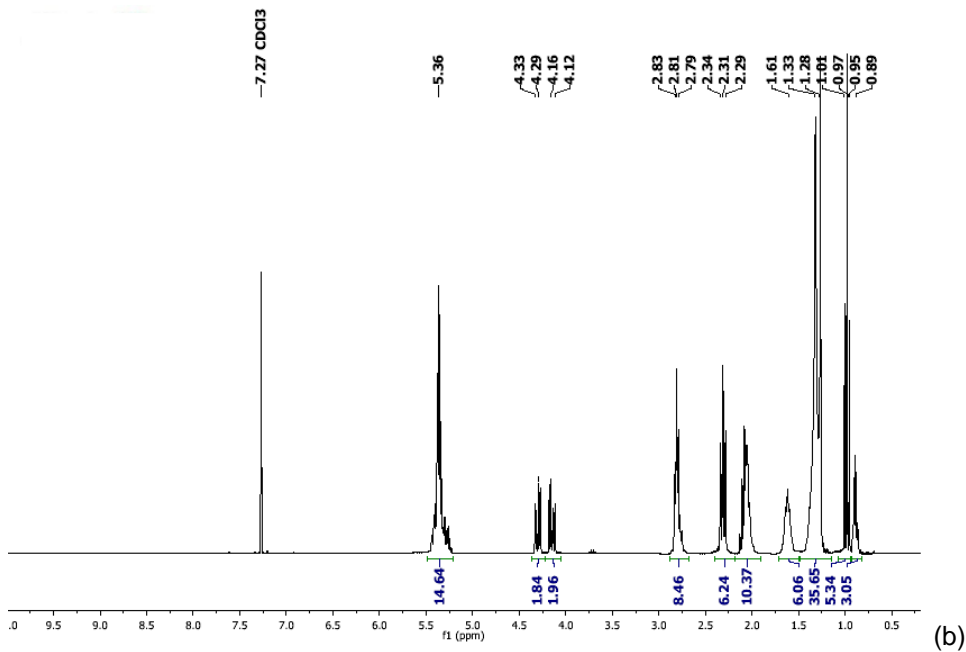
5.2. NMR DE ^1H EM SOLUÇÃO

Foi realizado a análise de *NMR* de núcleo de hidrogênio para melhor detalhamento dos resultados obtidos, visto que é uma técnica extremamente sensível à densidade eletrônica e à população de hidrogênios que gerou o sinal. Hidrogênios em ambientes eletrônicos diversos mostram diferentes deslocamentos químicos e a intensidade do sinal é estritamente proporcional à quantidade de hidrogênios (REDA E CARNEIRO, 2006). Ao comparar o espectro obtido (Figura 18), com os espectros padrões da literatura (SACCHI *et al.*, 1996) (Figura 19), se observam sinais nas mesmas áreas, sugerindo que os compostos encontrados na extração foi o ácido α -linolênico e o ácido linoleico, com maior teor do α -linolênico.

Figura 18: a. Espectro de NMR^1H separado por regiões do extrato de semente de chia extraído por etanol via Soxhlet, b. Espectro de NMR^1H do extrato de semente de chia extraído por etanol via Soxhlet.



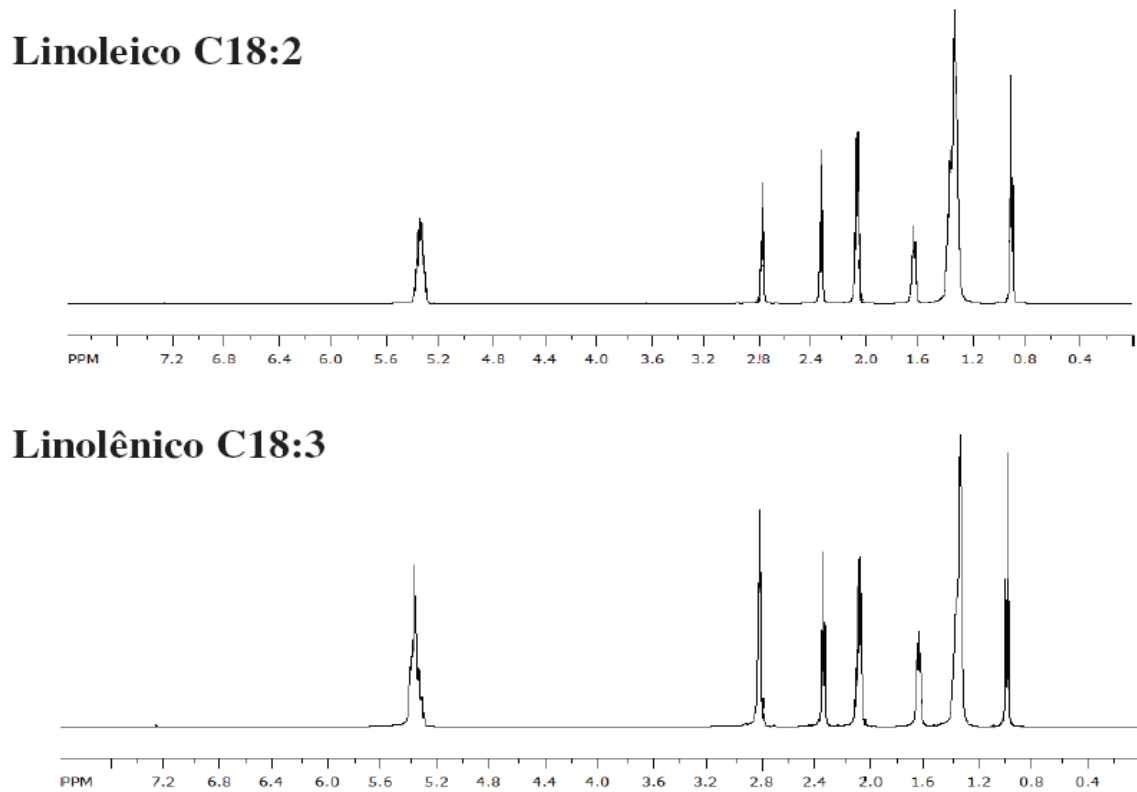
(a)



(b)

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 19: Espectros de NMR^1H padrão de ácido α -linolênico e ácido linoleico encontrados na literatura.



Fonte: Adaptado de Sacchi (1997).

No espectro de NMR^1H , pode se observar o tripleto do CH_3 característico ao éster de ácido linoleico em 0,89 ppm e o tripleto de metilas característico do ácido α -linolênico em 0,97 ppm; observa se ainda que o deslocamento de 1,28 a 1,33 ppm corresponde os grupamentos metilênicos (CH_2) exceto dos α -carbonílicos e β -carbonílicos, o deslocamento em 1,61 ppm corresponde aos grupos metílicos β -carbonílicos, em 2,29 à 2,83 ppm são os sinais dos grupos metílicos localizados entre as olefinas dos ésteres, os sinais compreendidos entre 4,12 à 4,33 ppm são dos hidrogênios metilênicos da posição 1 e 3 do glicerol e os sinais registrados em 5,36 ppm são os hidrogênios olefínicos de ésteres insaturados ($H-C=C-H$) e dos hidrogênios da posição 2 do glicerol. Assim após a análise desse espectro corrobora a extração de um triacilglicerídeo composto pelos ácidos graxos α -linolênio, majoritariamente, e o linoleico.

5.3. ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS)

A técnica de espalhamento de luz dinâmica (DLS – *Dynamic Light Scattering*), foi utilizada para medir o tamanho das partículas formadas por nanoprecipitação, e para analisar o estudo da estabilidade das mesmas, tendo em vista a distribuição de tamanhos. Foram realizadas duas análises com diferentes amostras e uma solução padrão, segue na Tabela 7.

Tabela 7: Composição das amostras analisadas por DLS

NANOPRECIPITAÇÃO			
AMOSTRAS	PCL (g)	PLURONIC F 68 (g)	ÓLEO DE CHIA (mL)
AMOSTRA PADRÃO	0,2	0,2	---
AMOSTRA 1	0,4	0,4	0,002
AMOSTRA 2	0,4	0,4	0,04

Fonte: Elaborado pelo autor

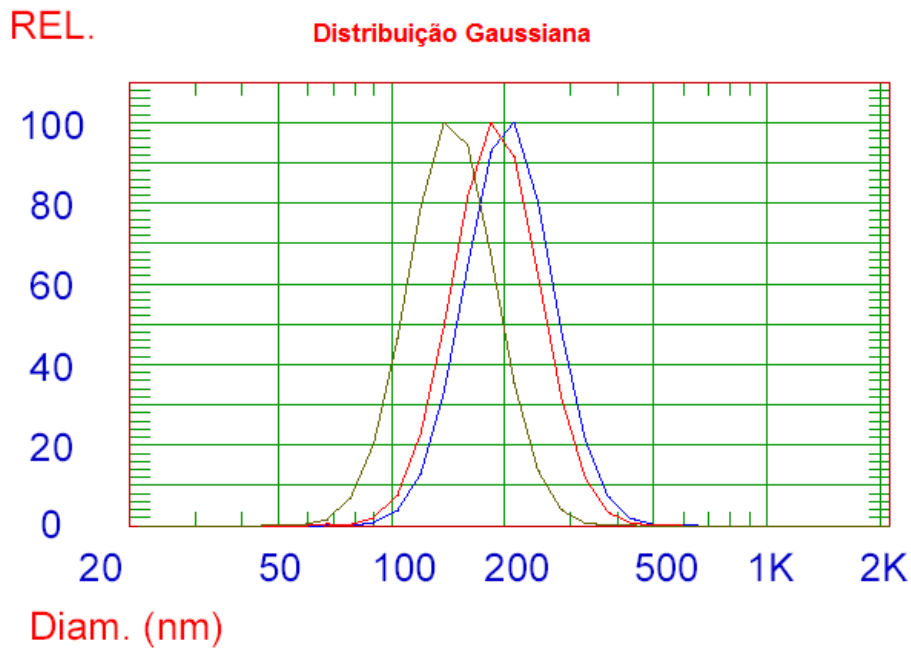
Na amostra padrão, sem adição do bioativo estudado, podem se observar partículas com diâmetros de valor médio de 212,8 nm, e com a distribuição entre 175,4 a 385,6 nm (Tabela 8); os gráficos a seguir apresentam os resultados encontrados (Figura 20 e 21).

Tabela 8: Distribuição dos tamanhos das partículas da solução padrão.

Distribuição (%)	Tamanho (nm)
25	175,4
50	212,8
75	251,4
90	293,7
99	385,6
80	262,3

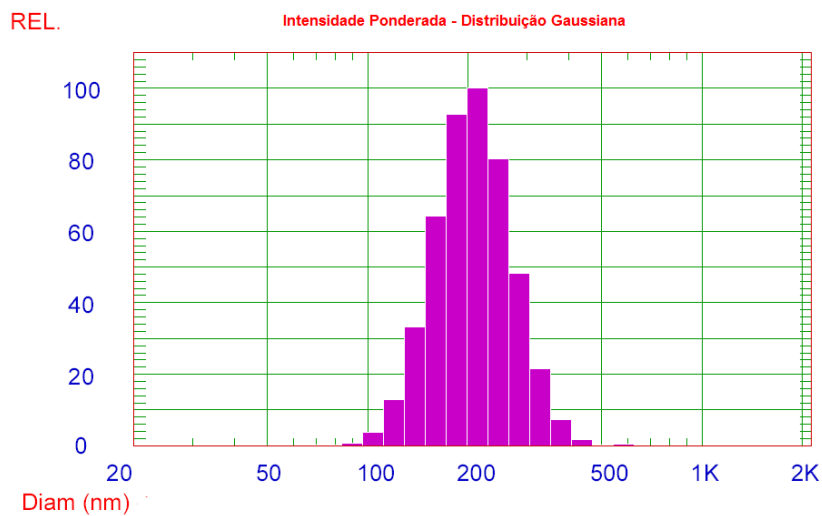
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 20: Distribuição Gaussiana da Solução Padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor

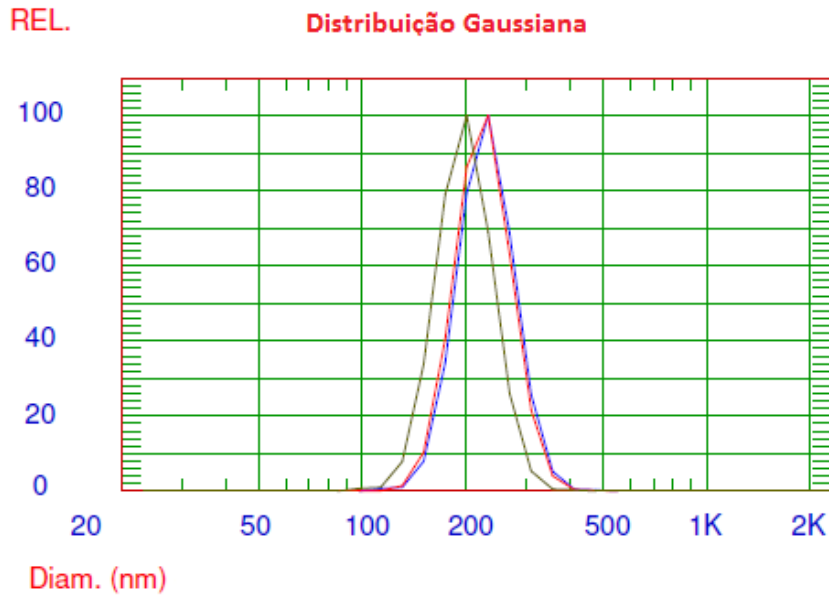
Figura 21: Intensidade Ponderada – Distribuição Gaussiana da solução padrão



Fonte: Elaborado pelo autor.

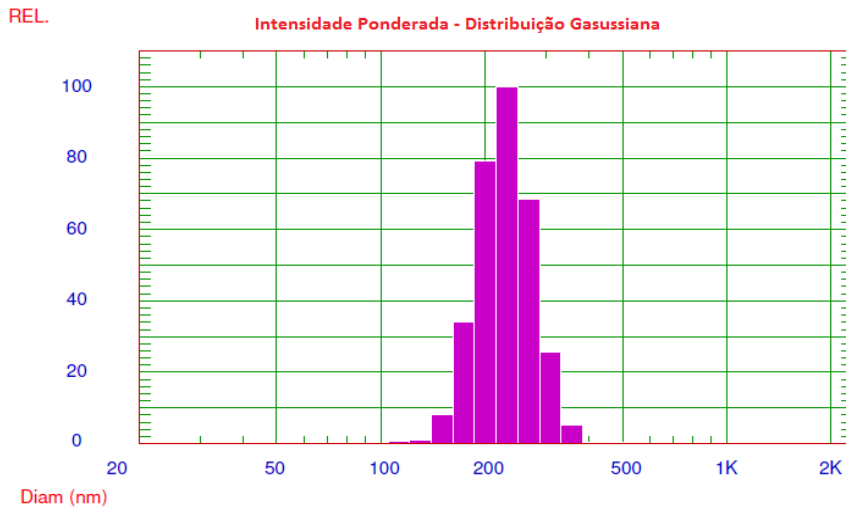
Na amostra 1 foram obtidas partículas com tamanhos variando de 203,4 à 351,5 nm, com valor médio em 231,9 nm, podendo ser observado nas Figuras 22 e 23 e a distribuição dos tamanhos são apresentados na Tabela 9.

Figura 22: Distribuição Gaussiana da amostra 1.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23: Intensidade Ponderada – Distribuição Gaussiana da amostra 1.



Fonte: Elaborado pelo autor

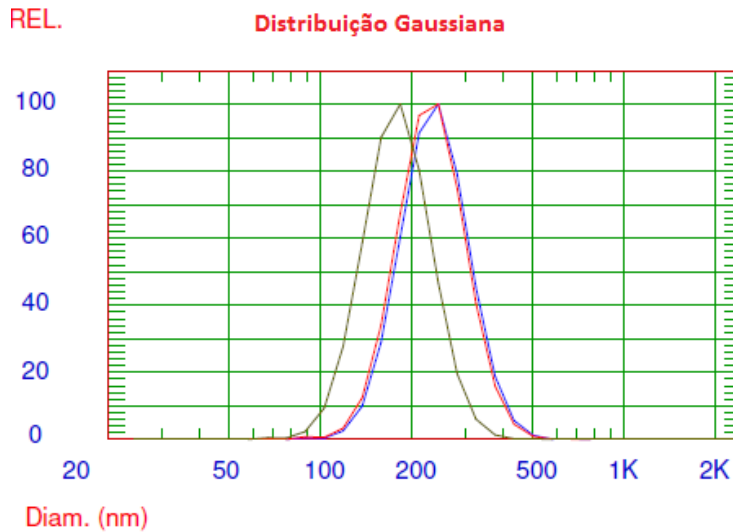
Tabela 9: Distribuição dos tamanhos das partículas da amostra 1

DISTRIBUIÇÃO (%)	TAMANHO (nm)
25	203,4
50	231,9
75	260,9
90	290,8
99	351,5
80	268,7

Fonte: Elaborado pelo autor

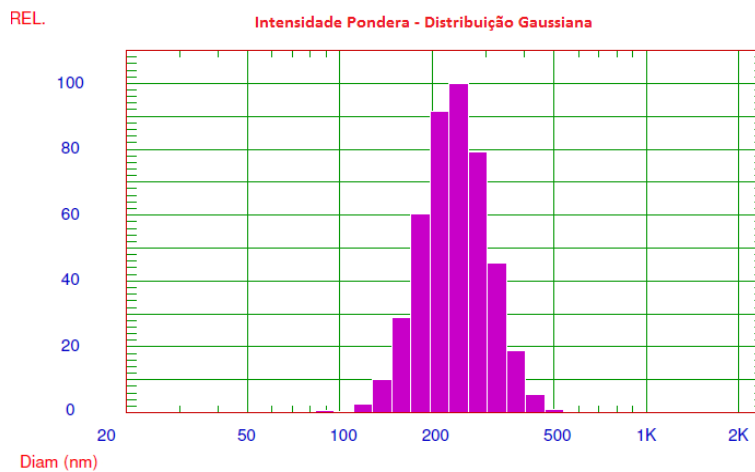
A amostra 2 também foi analisada por *DLS*, onde foram analisados os tamanhos das partículas, quando comparado com a amostra 1 foi observado um pequeno aumento do tamanho das mesmas, segue nas Figuras 24 e 25.

Figura 24: Distribuição Gaussiana da amostra 2.



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 25: Intensidade Ponderada – Distribuição Gaussiana da amostra 2.



Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a Tabela 10, se observa que as partículas da amostra 2 variaram de 203,2 a 429,9 nm, com valor médio em 244,1 nm, tamanho também apropriado para esse tipo de sistema de encapsulamento de bioativos.

Tabela 10: Distribuição dos tamanhos das partículas da amostra 2

DISTRIBUIÇÃO (%)	TAMANHO (nm)
25	203,2
50	244,1
75	286,2
90	331,8
99	429,9
80	298,0

Fonte: Elaborado pelo autor

As análises demonstram que as nanopartículas foram formadas com tamanhos apropriados para sistema de encapsulamento de bioativos, foi notada uma produção de nanopartículas maiores na amostra 2 ao ser comparada com a amostra padrão, caracterizando o encapsulamento do bioativo em estudo.

Após 3 meses, foi realizada outra medição das partículas formadas por nanoprecipitação, para verificar a estabilidade do sistema formado. Assim foi observado que as partículas com menor distribuição apresentaram uma leve diminuição do seu tamanho tanto na amostra 1 como na 2, esse fato se explica possivelmente pela evaporação do solvente residual e pela degradação natural do PCL, visto que é uma de suas características observadas (Tabela 11). Outras partículas com uma maior distribuição e com maiores diâmetros, tenderam a um leve aumento de tamanho, apresentando uma tendência à agregação.

Tabela 11: Distribuição e tamanho das nanopartículas na amostra 1 e 2 após 3 meses.

Distribuição (%)	Tamanho (nm)	
	Amostra 1	Amostra 2
25	152,1	171,3
50	206,2	233,4
75	263,1	298,7
90	331,3	377,4
99	498,2	570,8
80	280,1	318,3

Fonte: Elaborado pelo autor.

Entretanto as variações não foram significativas, podendo considerar que os sistemas propostos são estáveis e efetivos.

5.4. ANÁLISE VISUAL DAS SOLUÇÕES DE NANOPRECIPITAÇÃO

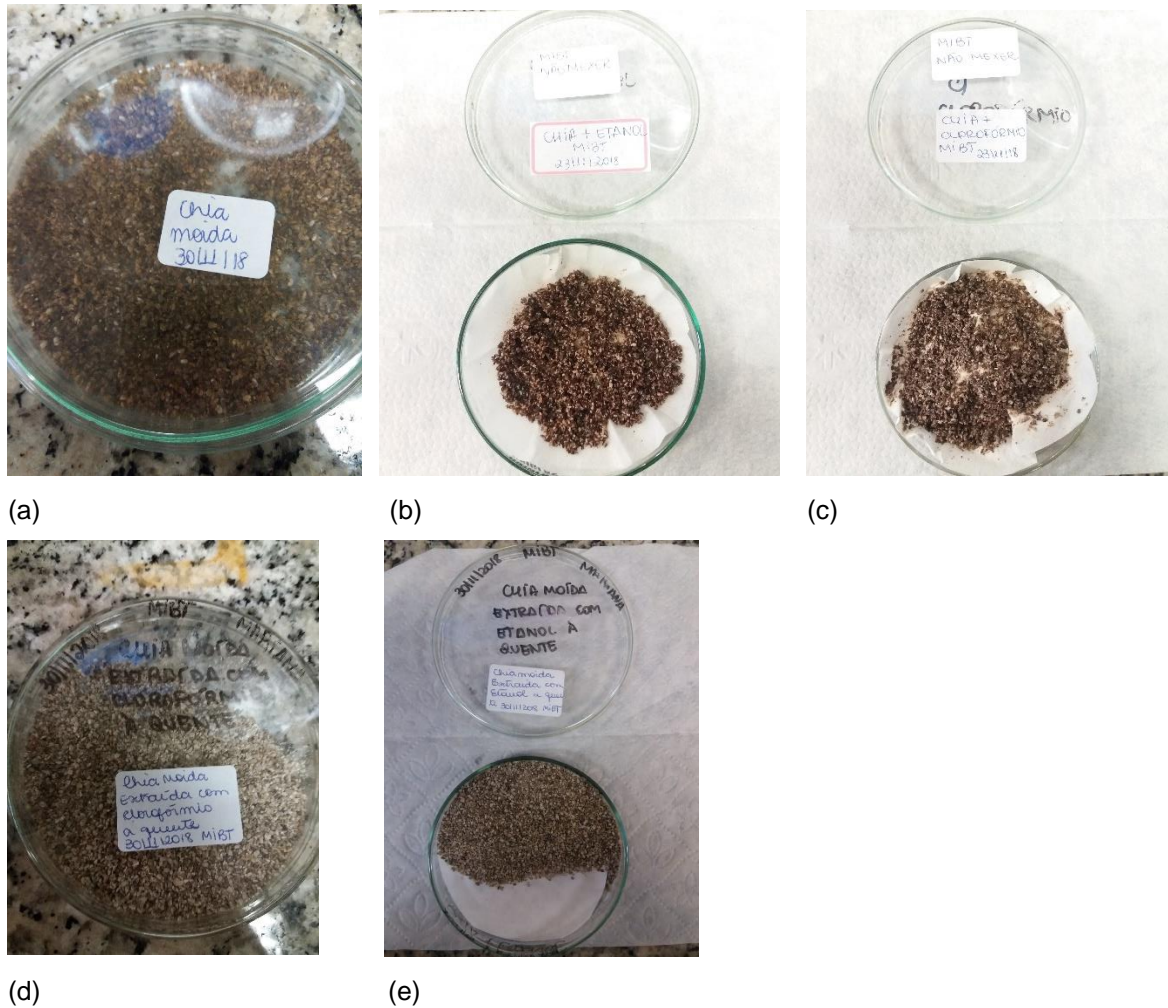
Após 3 meses, as amostras foram analisadas quanto alteração de coloração. Foi observado que as soluções se mantiveram com a mesma coloração, apresentada desde a sua preparação, possuindo uma coloração branca e também não apresentou nenhuma modificação no aspecto da solução.

5.5. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO DOMÍNIO DO TEMPO (*NMR-DT*) DAS CASCAS DE SEMENTE DE CHIA E DAS SOLUÇÕES DE NANOPRECIPITAÇÃO

Uma das aplicações da *NMR-DT* é a análise de sementes para determinação do teor de óleo, dessa forma as cascas das sementes de chia utilizadas com diferentes solventes (Figura 26) foram analisadas por relaxometria, por T_1H para comprovar a extração do bioativo em questão.

Na Tabela 12, se observa o valor dos tempos T_1H das seguintes amostras: **casca CCF** – cascas de sementes de chia extraída com clorofórmio por percolação, **casca CCQ** - cascas de sementes de chia extraída com clorofórmio via *Soxhlet*, **casca CEF** – cascas de sementes de chia extraída com etanol por percolação, **casca CEQ** – cascas de sementes de chia extraída com etanol via *Soxhlet* e **casca CP** – casca de sementes de chia padrão.

Figura 26: a. chia moída, b. chia por percolação com etanol, c. chia por percolação com clorofórmio, d. chia por via Soxhlet com clorofórmio, e. chia por via Soxhlet com etanol.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 12: Valores do tempo de relaxação T_{1H} para as cascas das sementes de chia com diferentes solventes, obtidas pelo método de inversão-recuperação (tempo médio)

Amostra	T_{1H}
Casca CCF	69 ms
Casca CCQ	54 ms
Casca CEF	85 ms
Casca CEQ	61 ms
Casca CP	109 ms

Fonte: Elaborado pelo autor

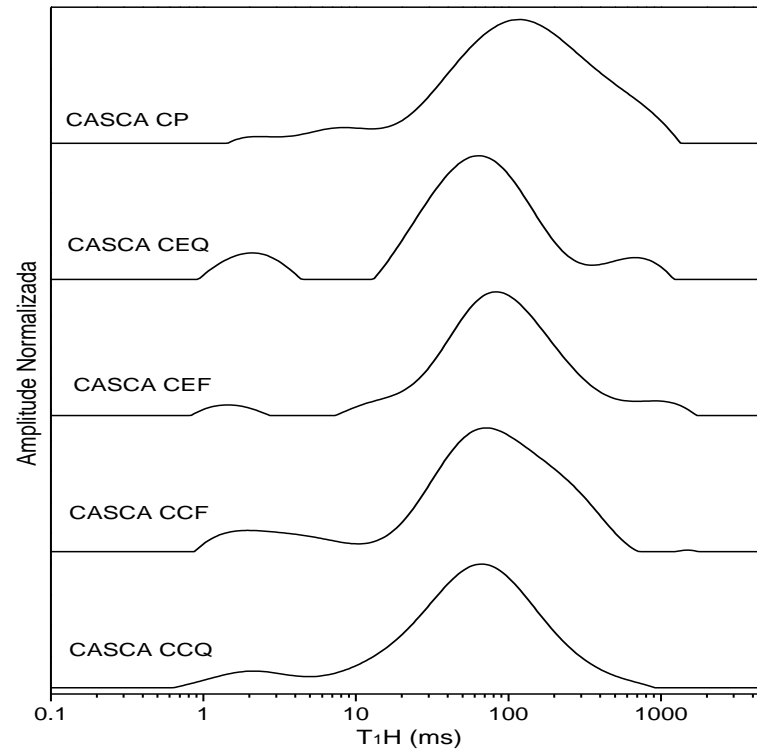
Observa-se a diminuição do tempo de relaxação T_{1H} para as cascas de semente de chia após as extrações e nota-se que são menores do que o tempo de relaxação para as cascas de semente de chia padrão, da qual não houve extração, mostrando assim, uma mudança organizacional/estrutural pela retirada dos compostos após a extração.

Comparando os métodos de extração a frio (percolação) e a quente (*Soxhlet*), as variações nos tempos de relaxação T_{1H} mostram que houve uma extração maior (maior teor de componentes) nos sistemas a quente em função da diminuição do tempo de relaxação, gerando uma reorganização estrutural nos componentes restantes.

Comparando os sistemas de extração com etanol, o mesmo comportamento foi observado, porém os valores de relaxação são maiores do que os valores obtidos com o sistema de extração com o clorofórmio, o que indica que os solventes extraíram componentes diferentes e com teores diferentes. Além disso, a extração com clorofórmio mostrou-se mais efetiva do que com o etanol, ou os componentes extraídos pelo etanol podem estar em menores proporções. Para os sistemas de extração, independente dos solventes utilizados, o sistema de extração a quente mostrou-se mais efetivo.

Esse resultado também pode ser observado nas curvas de distribuição de domínios de relaxação na Figura 27. De acordo com a distribuição das curvas de domínio, a curva que apresenta um domínio mais estreito, apresenta um comportamento mais homogêneo. A amostra CP mostra um material bastante heterogêneo, com curva de base bastante alargadas, o que era de se esperar em função dos diferentes componentes e as interações múltiplas entre eles, diferente das curvas apresentadas para as cascas após a extração, as quais apresentam um material mais homogêneo, nova estrutura organizacional e novas interações devido a saída de componentes extraído. Dessa forma é possível observar curvas com bases mais estreitas. Comparando as curvas após as extrações com diferentes solventes e métodos, foi possível corroborar os estudos anteriores que o sistema de clorofórmio via *Soxhlet* aparenta ser o sistema mais efetivo, pois apresenta uma curva de domínio CCQ com a base mais estreita ao ser comparada.

Figura 27: Curvas de distribuição de domínios de relaxação longitudinal obtidas por Inversão-Recuperação.



Fonte: Elaborado pelo autor

Os produtos oriundos da nanoprecipitações também foram analisados por relaxometria, para verificação do encapsulamento foram determinados o tempo de relaxação spin-spin por ser melhor representativo para materiais em solução, os valores de T_2H correspondentes são apresentados na Tabela 13.

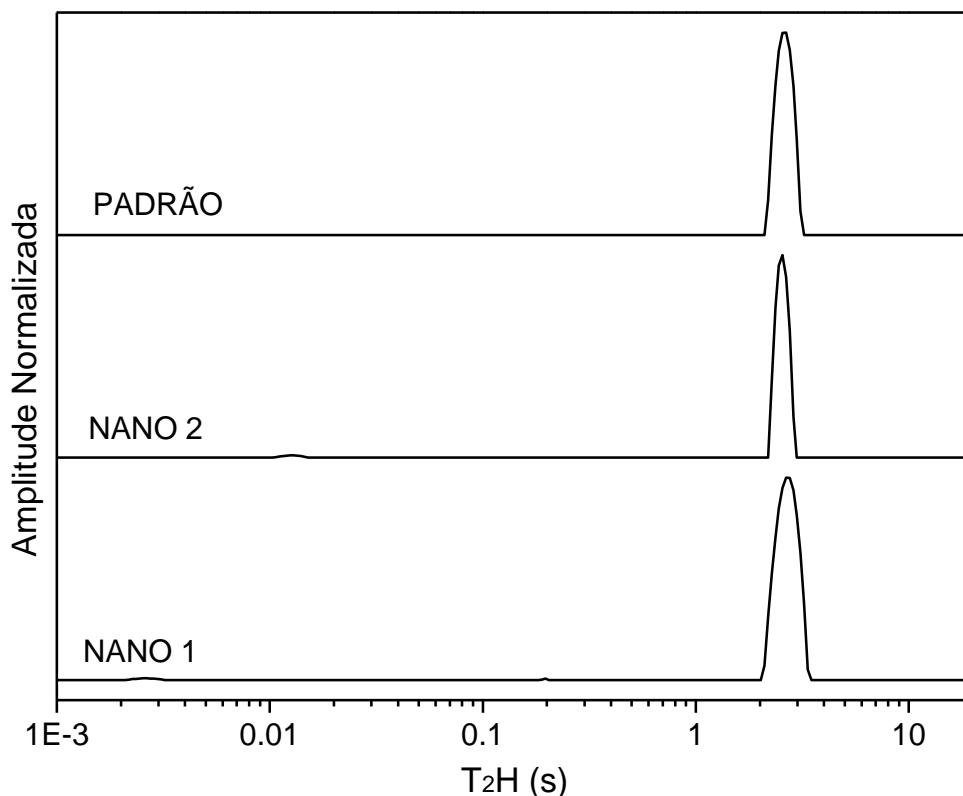
Tabela 13: Valores de T_2H das soluções de nanoprecipitações determinado pela técnica de CPMG (tempo médio)

Amostra	T_2H
Solução Padrão	2,6 s
Nano 1	2,7 s
Nano 2	2,5 s

Fonte: Elaborado pelo autor

Analisando os sistemas de nanoencapsulamento observa-se que o valor do tempo de relaxação T_{2H} é da ordem de segundos em função da água e as curvas de domínios. A Figura 28 mostra um sistema muito homogêneo, indicando que o encapsulamento foi mais efetivo na solução Nano 2, pois apresenta uma curva mais estreita e com maior intensidade, demonstrando um sistema mais homogêneo e com melhor interação bioativo-polímero.

Figura 28: Curvas de distribuição de domínios de relaxação transversal obtidas por CPMG.

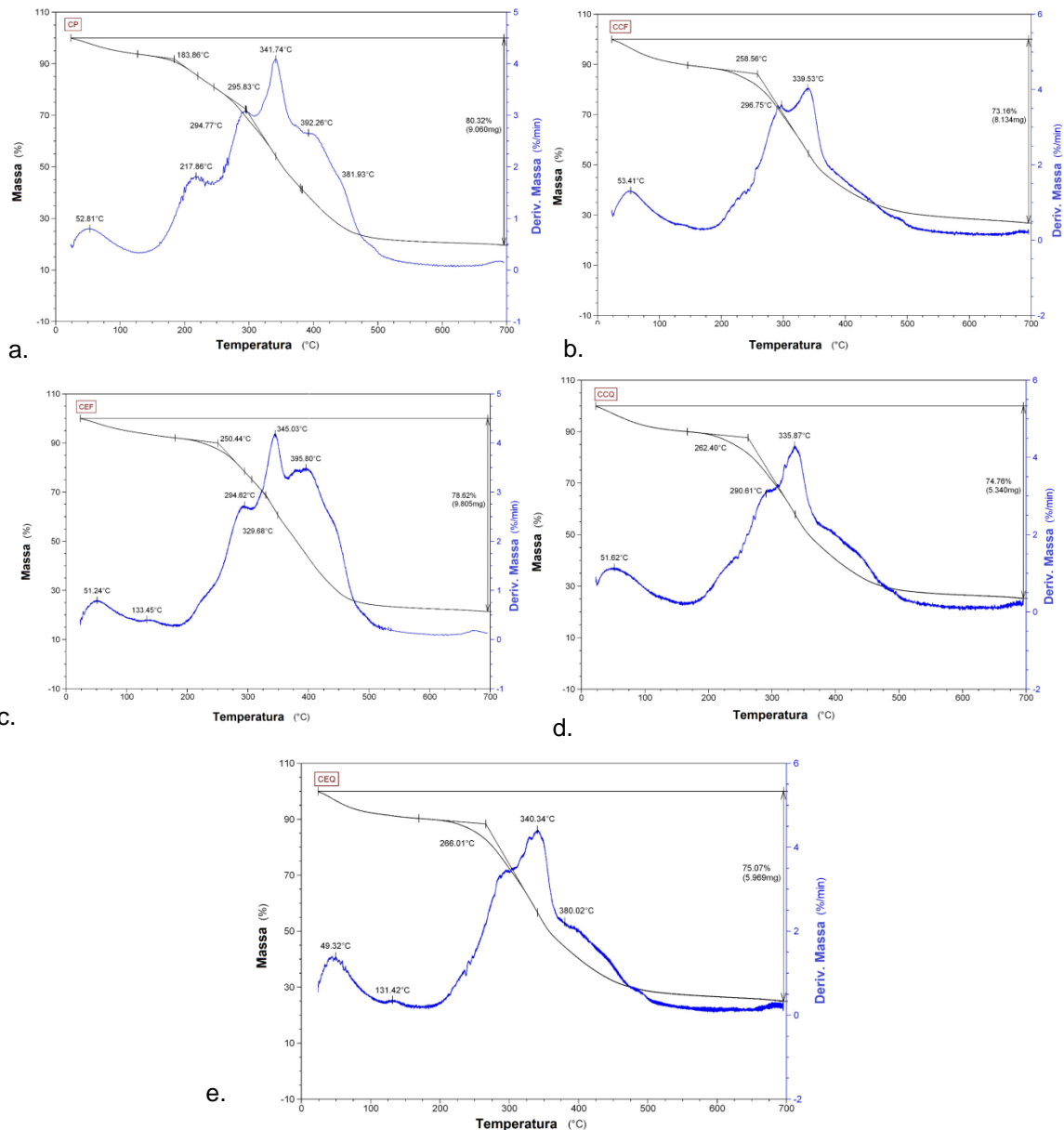


Fonte: Elaborado pelo autor

5.6. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

Foi realizada a análise termogravimétrica - TGA das cascas de semente de chia, para confirmar a extração do bioativo em estudo através dos diferentes métodos de extração, (Figura 29). De acordo com a análise, tanto a quente, quanto a frio o bioativo foi extraído, podendo ser observados ao comparar a análise de TGA da CP (casca padrão) e das outras amostras, na qual fica evidenciado tal extração promove uma mudança na organização estrutural sendo mais significativa na extração a quente.

Figura 29: a. Curvas de TGA da Casca de Chia Padrão, b. Casca de Chia Extraída com clorofórmio à frio, c. Casca de Chia extraída com etanol à frio, d. Casca de Chia extraída com clorofórmio à quente, e. Casca de Chia extraída com etanol a quente.



Fonte: Elaborado pelo autor

A extração a quente com etanol foi bastante significativa ocasionando uma grande reorganização estrutural, além de se notar o aumento no teor de resíduos.

A extração com clorofórmio também ocasionou uma grande reorganização estrutural e a diminuição nos eventos de degradação para os sistemas após a extração, o que confirma a extração do bioativo e a mudança na organização estrutural.

5.7. ANÁLISE DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (*FT-IR*)

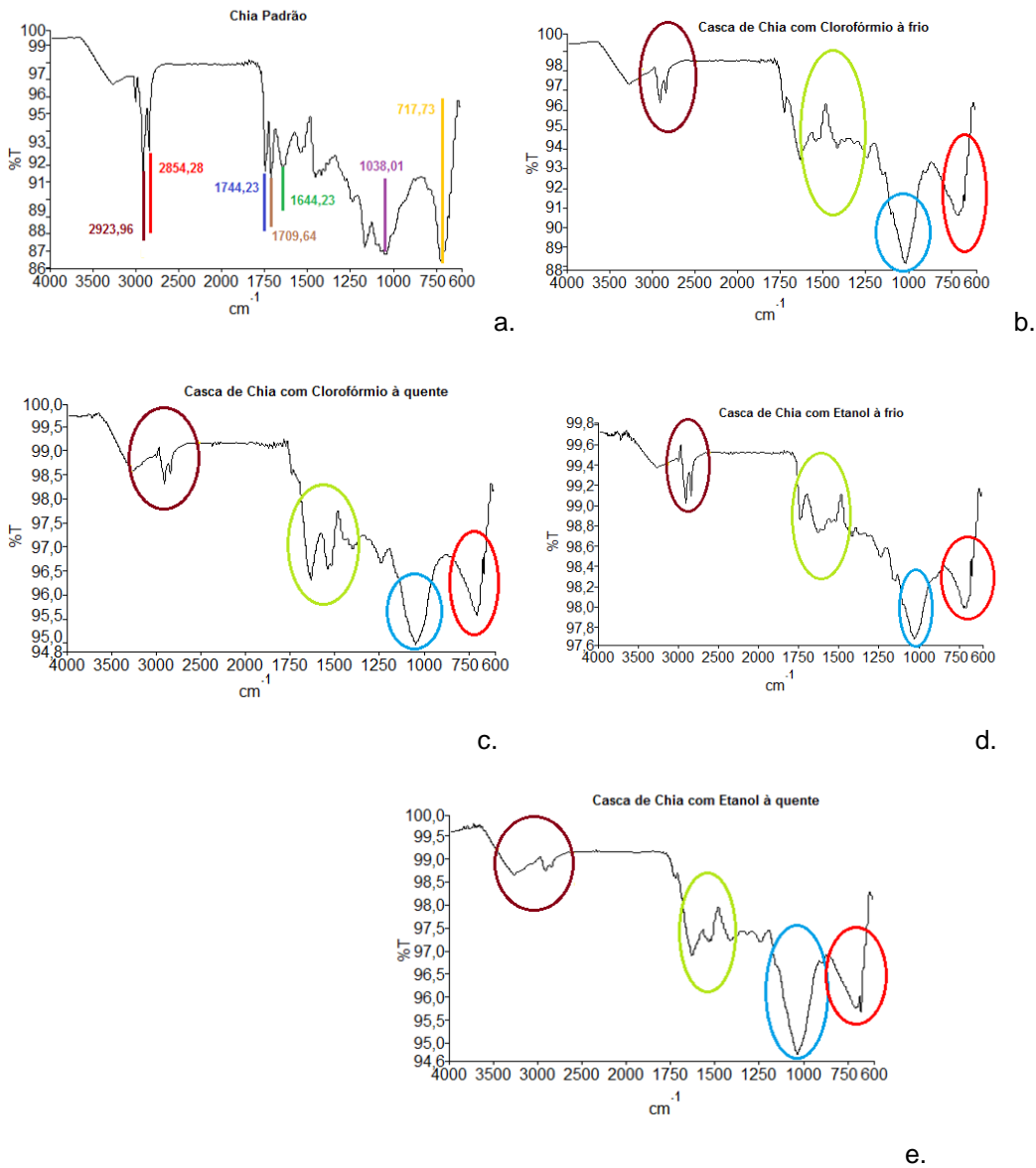
As amostras das cascas de semente de chia foram analisadas por espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (*FT-IR*), para comprovação da extração do bioativo em estudo.

Tomando o espectro da casca de chia padrão como referência, é possível observar a ausência dos mesmos picos existente na amostra padrão e os picos das amostras após a extração (Figura 30), comprovando a saída de alguns compostos do interior da semente.

Ao analisar os espectros, os dados sugeriram que as diferenças entre as extrações à frio e à quente são sutis, em função da efetividade da extração, entretanto nota-se uma diferença mais acentuada no espectro da extração de etanol à quente.

No espectro padrão é possível observar picos na faixa de 2923 e 2854 cm^{-1} correspondendo ao estiramento da CH dos ésteres de ácido graxos, na faixa de 1744 a 1709 cm^{-1} é possível observar picos referentes ao estiramento de C=O de éster, em 1644 cm^{-1} pode se atribuir à ligação C=C dos ácidos graxos, comprovando a existência do bioativo estudado e a ausência desses picos nos outros espectros comprovam a extração do mesmo.

Figura 30: a. Espectro de *FT-IR* da semente de chia padrão, b. Espectro de *FT-IR* da casca de chia extraída com clorofórmio à frio, c. Espectro de *FT-IR* da casca de chia extraído com clorofórmio à quente, d. Espectro da casca de chia extraída com etanol à frio, e. Espectro da casca de chia extraída com etanol à quente.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

6. CONCLUSÕES

Através desse trabalho pode-se estudar a extração dos bioativos da semente de chia, visto seus inúmeros benefícios para saúde, onde foi caracterizado por diversas análises, confirmando sua composição química rica em ácidos graxos. Através de diferentes solventes para extração, e diferentes técnicas, foi possível extrair da

semente de chia, o triacilglicerídeo formado pelos ácidos graxos α -linolênico, majoritariamente de acordo com a composição da semente, e o linoleico. A caracterização por *NMR* de ^{13}C e de ^1H , com auxílio da técnica de *APT*, foi a técnica mais efetiva para caracterização dos bioativo. A técnica de nanoprecipitação empregada para o encapsulamento dos bioativos foi efetiva, sendo comprovada pela técnica de *NMR-DT* e o tamanho das nanopartículas foi determinado pelo *DLS*, apresentando tamanho ideal para finalidade desejada. A avaliação da estabilidade das mesmas, 3 meses depois, foi efetiva, atingindo assim o objetivo da Dissertação.

7. SUGESTÕES

- Avaliar a utilização de outras técnicas de encapsulamento, como por exemplo o *spry-dryer*, empregando polímeros hidrossolúveis.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRI, E.; AHMED, R.; SIDDIQUI, H.; CHOUDHARY, M.; TSIAFOULIS, C.; GEROTHANASSIS, I. High Resolution *NMR* Spectroscopy as a Structural and Analytical Tool for Unsaturated Lipids in Solution. **Molecules**, [S.l.], v. 22, n.10, p.1663-2007, 2017. DOI:10.3390/molecules22101663. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28981459>. Acesso em: 16 jun. 2019.

AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. **Polymer International**, [S.l.] v. 47 n.2, p. 89-144, 1999. DOI:10.1002/(sici)1097-0126(199810)47:2<89::aid-pi86>3.0.co;2-f. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291097-0126%28199810%2947%3A2%3C89%3A%3AAID-PI86%3E3.0.CO%3B2-F>. Acesso em 20 fev. 2019.

ASSUNÇÃO, L. S.; FERREIRA, C. D.; CONCEIÇÃO, E. J. L.; NUNES, I. L. Estudo Prospectivo sobre Encapsulamento de Compostos Bioativos. **Revista GEINTEC**, São Cristóvão/SE, v. 4, n. 4, p. 1382-1391, 2014. DOI: 10.7198/S2237-0722201400040011. Disponível em: <http://www.revistageintec.net/index.php/revista/article/viewFile/564/472>. Acesso em: 20 ago. 2018.

AYERZA, R.; COATES, W.; LAURIA, M. Chia Seed (*Salvia hispanica L*) as an Omega-3 Fatty Acid Source for Broilers: Influence on Fatty Acid Composition, Cholesterol and Fat Content of White and Dark Meats, Growth Performance, and Sensory Characteristics. **Poultry Science**, Oxford, v. 81, n. 6, p. 826-837, 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ps/81.6.826>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12079050>. Acesso em 03 jun. 2019.

BARICHELLO, J. M.; MORISHITA, M.; TAKAYAMA, K.; NAGAI, T. - Encapsulation of Hydrophilic and Lipophilic Drugs in PLGA Nanoparticles by the Nanoprecipitation Method. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [S.l.], v. 25, n. 4, p. 471-476, 1999. DOI:10.1081/ddc-100102197. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10194602>. Acesso em: 28 maio 2019.

BILATI, U.; ALLÉMANN, E.; DOELKER, E. Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S.l.], v. 24, n. 1, p. 67-75, 2005. DOI:10.1016/j.ejps.2004.09.011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15626579>. Acesso em 28 maio 2019.

BONNET, M.; DENOYER, C.; RENOU, J. P. High resolution ^{13}C NMR spectroscopy of rendered animal fats: degree of saturation of fatty acid chains and position on glycerol. **International Journal of Food Science & Technology**, [S.l.], v. 25, n. 4, p. 399-408, 2007. DOI:10.1111/j.1365-2621.1990.tb01097.x Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01097.x>. Acesso em: 15 jun. 2019.

BORTOLOZO, E. A. F. Q.; SAUER, E.; SANTOS, M. DA S.; BAGGIO, S. R.; SANTOS JUNIOR, G.; FARAGO, P. V.; CÂNDIDO, L. M. B.; PILATTI, L. A. Supplementation with the omega-3 docosahexaenoic acid: influence on the lipid composition and fatty acid profile of human milk. **Revista de Nutrição**, [S.l.], v. 26, n. 1, p. 27–36, 2013. DOI:10.1590/s1415-52732013000100003. Disponível em: <https://doaj.org/article/4b502cf8132a49808a5c9b708ea945df?frbrVersion=4>. Acesso em 20 out. 2018.

BUSHWAY, A. A.; BELYEA, P. R.; BUSHWAY, R. J. Chia Seed as a Source of Oil, Polysaccharide, and Protein. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n.5, p. 1349-1350, 1981. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04171.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04171.x>. Acesso em 20 fev. 2019.

CARMO, E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por Spray Drying, Novos Biopolímeros e Aplicações na Tecnologia de Alimentos, **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, [S.l.], v. 1, n. 2, p. 30-44, 2015. DOI:10.18540/jcecvl1iss2pp30-44 Disponível em: <https://doaj.org/article/f6e8081ae4f54a3bb13d6debfb02f01e>. Acesso em: 14 ago. 2018.

CHANG, C.; NICKERSON, M. T. Encapsulation of Omega 3-6-9 Fatty Acids-Rich Oils Using Protein-Based Emulsions With Spray Drying. **Journal of Food Science and Technology**, [S.l.], v. 55, n. 8, p. 2850–2861, 2018. DOI:10.1007/s13197-018-3257-0, Disponível em: <https://ez29.capes.proxy.ufrj.br/article/10.1007/s13197-018-3257-0>. Acesso em: 10 ago. 2018.

CHICCO, A. G.; D'ALESSANDRO, M.E.; HEIN, G.J.; OLIVA, M.E.; LOMBARDO, Y.B. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in α -linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. **British Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 101, n. 1, p. 41-50, 2008. DOI: 10.1017/S000711450899053X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18492301>. Acesso em 18 nov. 2018.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. M. Review: Chemical composition, functional properties and technological applications of chia (*Salvia hispanica* L) seeds in foods. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 259-268, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.1814>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232014000400259&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 12 fev. 2019.

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**, [S.l.], v. 20, n.4, p. 292–302, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694609002167> Acesso em: 08 ago. 2018.

DUEK, E.A.R.; ZAVAGLIA, C.A.C.; BELANGERO, W.D. In vitro study of poly(lactic acid) pin degradation. **Polymer**, [S.l.], v. 40, p. 6465-6473, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00846-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00846-5). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386198008465?via%3Dihub>. Acesso em 06 mar. 2019.

ESFANJANI, A. F.; JAFARI, S. M. Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S.l.], v. 146, p. 532–543, 2016. DOI:10.1016/j.colsurfb.2016.06.053. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez29.capes.proxy.ufrj.br/science/article/pii/S0927776516304830?via%3Dihub>. Acesso em 26 nov. 2018.

ESPÍN, J.C.; GARCÍA-CONESA M.T.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Nutraceuticals: Facts and fiction. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 68, p. 2986 – 3008, 2007. DOI:10.1016/j.phytochem.2007.09.014. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/med/17976666>. Acesso em: 17 maio 2019.

EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 628-647, 2013. DOI:10.1007/s11947-012-0944-0. Disponível em: <https://link-springer-com.ez29.capes.proxy.ufrj.br/content/pdf/10.1007%2Fs11947-012-0944-0.pdf>. Acesso em: 26 nov. 2018.

FAHAMI, A.; FATHI, M. Development of cress seed mucilage/PVA nanofibers as a novel carrier for vitamin A delivery. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v.81, p. 31 – 38, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.008>. Disponível em: www.elsevier.com/locate/foodhyd. Acesso em: 22 nov. 2018.

FESSI, H.; PUISEUX, F.; DEVISSAGET, J.; AMOOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v. 55, n. 1, p. R1–R4, 1989. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(89\)90281-0](https://doi.org/10.1016/0378-5173(89)90281-0). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378517389902810>. Acesso em: 28 maio 2019

GANGURDE, A. B.; ALI, M. T.; PAWAR, J. N.; AMIN, P. D. Encapsulation of vitamin E acetate to convert oil to powder microcapsule using different starch derivatives. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, [S.l.], v. 47, n. 6, p. 559–574, 2016. DOI:10.1007/s40005-016-0287-3/2016. Disponível em: <https://link-springer-com.ez29.capes.proxy.ufrj.br/content/pdf/10.1007%2Fs40005-016-0287-3.pdf>. Acesso em: 02 set. 2018.

GOMES, R. C.; KOMATSU, D.; MOTTA, A. C.; MISTURA, D. V.; DUEK, E. A. R. Síntese e Caracterização da PCL-TMC Poliuretana para Utilização como Biomaterial. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS*, 22., 2016, Natal. **Anais [...]** Natal: CBECiMat, 2016. p. 9205-9215. Disponível em: <http://www.metallum.com.br/22cbecimat/anais/PDF/408-098.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2019.

GURLER, E. B.; ERGUL, N. M.; OZBEK, B.; EKREN, N.; OKTAR, F. N.; HASKOYLU, M. E.; GUNDUZ, O. Encapsulated melatonin in polycaprolactone (PCL) microparticles as a promising graft material. **Materials Science and Engineering: C**, [S.l.], v. 100, p. 798-808, 2019. DOI:10.1016/j.msec.2019.03.051 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928493118329187>. Acesso em 14 jun. 2019.

HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, [S.l.], v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3285>>. Acesso em: 25 maio 2019.

HELMUS MN & Tweden K, Materials Selection, *In: Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, Part A, vol.1, p. 27-59, 1995.

JAGANATHAN, H.; GODIN, B. Biocompatibility assessment of Si-based nano- and micro-particles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], v. 64, n. 15, p. 1800–1819, 2012. DOI: 10.1016/j.addr.2012.05.008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez29.capes.proxy.ufrj.br/science/article/pii/S0169409X12001895?via%3Dihub>. Acesso em: 26 nov. 2018.

JIA, Z.; DUMONT, M. J.; ORSAT, V. Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. **Food Bioscience**, [S.l.], v. 15, p. 87–104, 2016. DOI: 10.1016/j.fbio.2016.05.007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429216300359>. Acesso em 26 nov. 2018.

KOMAIKO, J.; SASTROSUBROTO, A.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of Ω -3 Fatty Acids in Nanoemulsion-Based Delivery Systems Fabricated from Natural Emulsifiers: Sunflower Phospholipids. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 203, p. 331–339, 2016. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.02.080. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26948622>. Acesso em: 22 out. 2018.

LAU, H. H.; MURNEY, R.; YAKOVLEV, N. L.; NOVOSELOVA, M. V.; LIM, S. H.; ROY, N.; SINGH, H.; SUKHOUKOV, G. B.; HAIGH, B.; KIRYUKHIN, M. V. Protein-tannic acid multilayer films: A multifunctional material for microencapsulation of food-derived bioactives. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S.l.], v. 505, p. 332–340, 2017. DOI: 10.1016/j.jcis.2017.06.001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez29.capes.proxy.ufrj.br/science/article/pii/S0021979717306574?via%3Dihub>. Acesso em: 26 nov. 2018.

LIRA, C. R. G.; ZUCCO, F.; NEGRÃO, A. N.; SILVA, M. A. S.; MURAKAMI, F. S. Nutracêuticos: aspectos sobre segurança, controle de qualidade e legislação. **Revista Brasileira de Farmácia**, [S.l.], v. 90, n.1, p. 45-49, 2009. Disponível em: http://rbfarma.org.br/files/pag_45a49_180_nutraceuticos. Acesso em: 17 maio 2019.

LUO, Y.; TENG, Z.; WANG, Q. Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, [S.l.] v. 60, n. 3, p. 836–843, 2012. DOI: 10.1021/jf204194z. Disponível em: <https://pubs-acsc-org.ez29.capes.proxy.ufrj.br/doi/abs/10.1021/jf204194z>. Acesso em: 22 nov. 2018.

LUO, Y.; WANG, T. T.; TENG, Z.; CHEN, P.; SUN, J.; WANG, Q. Encapsulation of indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane in zein/carboxymethyl chitosan nanoparticles with controlled release property and improved stability. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 139, n.1-4, p. 224–230, 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.01.113. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613001490?via%3Dihub>. Acesso em 22 nov. 2018.

MANNINA, L.; SOBOLEV, A. P.; SEGRE, A. Olive oil as seen by NMR and chemometrics, **Spectroscopy Europe**, [S.l.], v. 15, n. 3, 2003. Disponível em: <https://www.spectroscopyeurope.com/article/olive-oil-seen-nmr-and-chemometrics>. Acesso em: 19 jun. 2019.

MARÇO, P.H.; POPPIL, R. J.; SCARMINIOLL, I. S. Analytical procedures for identifying anthocyanins in natural extracts. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000500051>, Disponível em: <https://doaj.org/article/84f17c4dcdc146e1978575a06d582e23?frbrVersion=2>. Acesso em: 25 nov. 2018.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rn/v19n6/10.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2018.

MATTÉ, G. M.; ROSA, S. A Tecnologia da Microencapsulação através das Microesferas de Quitosana. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, [S.l.], v. 14, n. 5, p. 206-218, 2013. Disponível em: <https://www.observatorioplastico.com/ficheros/articulos/120760257206030829.pdf>. Acesso em 01 nov. 2018.

MENDONÇA, S. N. T. G. **Nutrição**. Curitiba: Livro Técnico, p. 84-96, 2010.

MIDDLETON, J.C.; TIPTON, A.J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. **Biomaterials**, [S.l.], v. 21, p. 2335-2346, 2000. DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00101-0. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11055281>. Acesso em 06 mar. 2019.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Functional Foods and Nutraceuticals: Definition, Legislation and Health Benefits. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 99-112, 2006. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000108&pid=S1517...Ing. Acesso em: 01 jun. 2019.

MOTTA, M. Panorama do mercado de funcionais. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE ALIMENTOS FUNCIONAIS – CIÊNCIAS, INOVAÇÃO E REGULAMENTAÇÃO, 1., 2006, São Paulo. **Palestra** [...] São Paulo: FIESP, 2006. Disponível em: http://www.fiesp.com.br/alimentos_funcionais>. Acesso em: 23 maio 2019.

NATTA, G. Stereospecific polymerizations by means of coordinated anionic catalysis: Introductory Lecture. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, [S.l.], v.8, p. 589-611, 1958. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1902\(58\)80234-1](https://doi.org/10.1016/0022-1902(58)80234-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022190258802341>. Acesso em: 06 mar. 2019.

NEUBAUER, M.P.; POEHLMANN, M.; FERY, A. Microcapsule mechanics: From stability to function. **Advances in Colloid and Interface Science**, [S.l.], v. 207, n. 1, p. 65-80, 2014. DOI: 10.1016/j.cis.2013.11.016. Disponível em <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84901244371&origin=inward&txGid=0d8981c75bc76714fcc34c0312961fc8>. Acesso em: 26 nov. 2018.

NOLASCO, M. A. L. La chía, un cultivo muy rentables, **Inforural**, mar/2013. Disponível em: <http://www.inforural.com.mx/la-chia-un-cultivo-muy-rentable/>. Acesso em: 12 fev. 2019.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de Ácidos Fenólicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-4042201100600023>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-4042201100600023. Acesso em: 29 ago. 2018.

Vitamins and Dietary Supplements in Brazil. **Euromonitor International**, 2016. Disponível em: <https://www.infomoney.com.br/patrocinados/noticias-corporativas/abbott-entra-no-mercado-nacional-de-nutraceuticos/>. Acesso em: 28 ago. 2018.

PIAZZA, R. D.; BRANDT, J. V.; GOBO, G. G.; TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; MARQUES, R. F. C.; JUNIOR, M. J. mPEG-co-PCL nanoparticles: The influence of hydrophobic segment on methotrexate drug delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.l.], v. 555, p. 142–149, 2017. DOI:10.1016/j.colsurfa.2018.06.076. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927775718305934>. Acesso em: 14 jun. 2019.

PUIG, E. I.; HAROS, M. La Chia en Europa: El Nuevo Ingrediente en Productos de Panadería. **Alimentaria**, Lugo, v. 420, p. 73-77, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.1814>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232014000400259 Acesso em 28 maio 2019.

RAMOS, S. L. F. **Membranas de Policaprolactona obtidas por eletrofição para utilização em engenharia tecidual**. Univerdade Estadual de Campinas, Campinas, 2011. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/263469/1/Ramos_SergioLopesFernandes_M.pdf. Acesso em: 03 jun. 2019.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, [S.l.], v. 43, n. 1, p. 1-7, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>, Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996909002749>. Acesso em: 04 dez. 2018.

RATNER, B. D.; HOFFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. **Biomaterials Science – an introduction to Materials in Medicine**, Elsevier Academic Press,[S.l.], v. 2, p.23-28, 2004. Disponível em: <http://ilkerpolatoglu.cbu.edu.tr/docs/Introduction%20to%20Materials.pdf>. Acesso em: 06 mar. 2019.

REDA, S. Y.; CARNEIRO, P. I. B. Physicochemical parameters of maize oil *in natura* and after heating calculated by means of the proteus *NMR* H¹ program. **Publicatio UEPG**, Ponta Grossa, v. 12, n. 2, p. 31-36, 2006. Disponível em: www.revistas2.uepg.br/index.php/exatas/article/download/867/750. Acesso em: 16 jun. 2019.

REIS C. P.; NEUFELD R. J.; RIBEIRO A. J.; VEIGA F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [S.l.], v. 2, p. 8-21, 2006. DOI:10.1016/j.nano.2005.12.003. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4310276/mod_resource/content/0/nanoencapsulation%20in%20Polymeric%20nanoparticles%20methods.pdf. Acesso em: 19 jun.19.

REZA, T.; KRISTEN, E. M.; JACEK, J. Fish protein isolate: Development of functional foods with nutraceutical ingredients. **Journal of functional foods**, [S.l.], v. 18, Part A, p. 746-756, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.05.006> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464614001777> Acesso em: 10 set. 2018.

RIGON, C.; GIULIANI, L. M.; STANGARLIN, M. F. L.; MATTIAZZI, J.; GOMES, F. P.; PEGORARO, N. S.; CRUZ, L.; FERREIRA, L. M. Sistemas Nanoestruturados Contendo Óleo de Linhaça: Desenvolvimento Tecnológico e Caracterização Físico-Química de Nanoemulsões e Nanocápsulas Poliméricas, **Revista Saúde**, Santa Maria, v. 43, n. 1, p. 153-161, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/2236583422819>. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/revistasaude/article/view/22819>. Acesso em: 23 set. 2018.

ROA, J. P. B.; MANO, V.; FAUSTINO, P. B.; FELIX, E. B.; SILVA, M. E. S. R.; FILHO, J. D. S. Síntese e Caracterização do Copolímero Poli(3-Hidroxi butirato-co-ε-Caprolactona) a Partir de Poli(3-Hidroxi butirato) e Poli(ε-Caprolactona), **Polímeros**, [S.l.], v. 20, n. 3, p. 221-226, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282010005000038>. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/po/v20n3/aop_0637.pdf. Acesso em 06 mar. 2019.

RODRÍGUEZ, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives, **Food Research International**, [S.l.], v. 83, p. 41–59, 2016 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996916300333> Acesso em: 29 set. 2018.

ROUSSAKI, M.; GAITANAROU, A.; DIAMANTI, P. C. H.; VOUYIOUKA, S.; PAPANAYIDES, C.; KEFALAS, P.; DESTSI, A. Encapsulation of the natural antioxidant aureusidin in biodegradable PLA nanoparticles. **Polymer Degradation and Stability**, [S.l.], v. 108, p. 182–187, 2014. DOI:10.1016/j.polymdegradstab.2014.08. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391014002948> Acesso em 22 nov. 2018.

SACCHI, R.; PATUMI, M.; FONTANAZZA, G.; BARONE, P.; FIORDIPONTI, P.; MANNINA, L.; SEGRE, A. L. A high-field ¹H nuclear magnetic resonance study of the minor components in virgin olive oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [S.l.], v. 73, n. 6, p. 747–758, 1996. DOI:10.1007/bf02517951. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02517951>. Acesso em: 14 jun. 2019.

SALGADO, C. L.; SANCHEZ, E. M. S.; MANO, J. F.; MORAES, A. M. Characterization of chitosan and polycaprolactone membranes designed for wound repair application. **Journal of Materials Science**, [S.l.], v. 47, n. 2, p. 659–667, 2011. DOI:10.1007/s10853-011-5836-6. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/55625234.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2019.

SANDERS, M.E. Summary of probiotic activities of Bifidobacterium lactis HN019. **Journal of Clinical Gastroenterology**, [S.l.], v. 40, p. 776–783, 2006. DOI: 10.1097/01.mcg.0000225576.73385.f0. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1701613>. Acesso em 04 dez. 2018.

SANTOS, N. C.; CASTANHO, M. A. R. B. Lipossomas: A bala mágica acertou?, **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6b, p. 1181-1185, 2002. DOI:10.1590/S0100-40422002000700019, Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000700019, Acesso em 25 nov. 2018.

SHISHIR, M. R. I.; XIE, L.; SUN, C.; ZHENG, X.; CHEN, W. Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 78, p. 34–60, 2018. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.05.018. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez29.capes.proxy.ufjf.br/science/article/pii/S092422441730777X?via%3Dihub> Acesso em: 25 nov. 2018.

SILVA, T. M.; RODRIGUES, L. Z.; NUNES, G. L.; CODEVILLA, C. F.; SILVA, C. B.; MENEZES, C. R. Encapsulação de Compostos Bioativos por Coacervação Complexa. **Ciência e Natura**, [S.l.], v. 37, p. 56– 64, 2015. DOI:10.5902/2179-460X19715 Disponível em:

<https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/19715/pdf>, Acesso em: 25 nov. 2018.

SINHA, V. R.; BANSAL, K.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; TREHAN, A.; Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v. 278, n. 1, p. 1–23, 2004.

DOI:10.1016/j.ijpharm.2004.01.044. Disponível

em:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517304001693?via%3Dihub>. Acesso em 21 fev. 2019.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S, M.; SPIER, M. R.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGUISHI, C. T.; LINDNER, J. D.; PANDEY, A.; SOCCOL, V. T. The Potential of Probiotics: A Review. **Food Technology and Biotechnology**, [S.l.], v. 48, n. 4, p. 413–434, 2010. Disponível em: <https://hrcak.srce.hr/file/92463>. Acesso em 26 nov. 2018.

SOCIEDADE Brasileira de Cardiologia, Disponível em:

<http://www.cardiometro.com.br/>, Acessado em: 26 nov. 2018

SOUZA, A. L. R.; RODRIGUES, F. M.; SILVA, G. V.; SANTOS, R. R.; Microencapsulação de Sucos e Polpas de Frutas por *Spray-Drying*: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 17, n. 3, p. 327-338, 2015. Disponível em:

<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev173/Art17314.pdf>. Acessado em 17 nov. 2018.

TAVARES, V. A. C. D. B. **Matrizes de Policaprolactona e Quitosana para aplicação em Engenharia de Tecidos**, 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa, 2011. Disponível em: <https://run.unl.pt/bitstream/10362/7090/1/Tavares-2011.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2018.

TOSCO, G. Os Benefícios da “Chia” em Humanos e Animais. **Atualidades Ornitológicas**, [S.l.], v. 119, p. 7, 2004. Disponível em:

<http://www.ao.com.br/download/tosco.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2019.

TRIFKOVIĆ, K.; TADIĆ, G.; BUGARSKI, B. Short Overview of Encapsulation Technologies for Delivery of Bioactives to Food. **Journal of Engineering & Processing Management**, [S.l.], v. 8, n.1, p. 103-111, 2016. DOI:

10.7251/JEPMEN1608103T. Disponível em:

<https://doaj.org/article/30c801b20fd84d79b27dc96c547bae3f>. Acesso em: 02 set. 2018.

VERT, M.; LI, S. M.; SPENLEHAUER, G.; GUERIN, P. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [S.l.], v. 3, p. 432-436, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00701240>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00701240>. Acesso em 06 mar. 2019.

WAN, Y.; XIAO, B.; DALAI, S.; CAO, X.; WU, Q. Development of polycaprolactone/chitosan blend porous scaffolds. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [S.l.], v.20, n. 3, p. 719–724, 2009. DOI:10.1007/s10856-008-3622-z, Disponível em: <https://ez29.capes.proxy.ufrj.br/article/10.1007/s10856-008-3622-z>. Acesso em: 20 fev. 2019.

WANG, L.; GAO, Y.; LI, J.; SUBIRADE, M.; SONG, Y.; LIANG, L. Effect of resveratrol or ascorbic acid on the stability of α -tocopherol in O/W emulsions stabilized by whey protein isolate: Simultaneous encapsulation of the vitamin and the protective antioxidant. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 196, p. 466–474, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.071. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615014144>. Acessado em 22 nov. 2018.

WANI, T. A.; MASOODI, F. A.; WANI, I. A. The possible nomenclature of encapsulated products. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 234, n. 1, p. 119-120, 2017. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.04.121. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez29.capes.proxy.ufrj.br/science/article/pii/S030881461730701X?via%3Dihub#bb0030>. Acesso em: 26 nov. 2018.

WILLIAMSON, K.; HATZAKIS, E. NMR Spectroscopy as a Robust Tool for the Rapid Evaluation of the Lipid Profile of Fish Oil Supplements. **Journal of Visualized Experiments**, [S.l.], v. 123, 2017. DOI: 10.3791/55547. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/28518102>. Acessado em: 15 jun. 2019.

YANJUN C.; XIAOMEI M.; XIAOZHEN T.; YINPEI L. Synthesis, characterization, and thermal stability of star-shaped poly(ϵ -caprolactone) with phosphazene core. **European Polymer Journal**, [S.l.], v.40, n. 2, p. 299-305, 2004. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2003.09. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/256701590_Synthesis_characterization_and_thermal_stability_of_star-shaped_polye-caprolactone_with_phosphazene_core. Acesso em: 23 maio 2019.

ZAKIR, M. M.; FREITAS, I. R. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. **Journal of Bioenergy and Food Science**, [S.l.], v. 2, n. 3, p. 107-116, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.18067/jbfs.v2i3.50>. Disponível em: <http://periodicos.ifap.edu.br/index.php/JBFS/article/view/50>. Acesso em 20 maio 2019.