



**Estudo da Encapsulação de Micropartículas
de P(VAc-co-MMA) com Gelatina e Goma
arábica**

Beatriz Marci Neves

Projeto de Final de Curso

Orientadores

Márcio Nele de Souza, D.SC.

**Ana Carolina de Oliveira,
M.SC.**

Fevereiro de 2020

**Estudo de métodos de encapsulação de micropartículas de
PVAc-co-MMA para Embolização Vascular**
Beatriz Marci Neves

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharelado em Química Industrial.

Aprovado por:

Luciana Dutra, D.Sc

Gizele Batalha Freitas, D.Sc

Amaro Gomes Barreto Jr., D.Sc.

Orientado por:

Márcio Nele de Souza, D.Sc,

Ana Carolina de Oliveira, M.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Fevereiro de 2020

Ficha Catalográfica

Neves, Beatriz Marci.

Estudo da encapsulação de micropartículas de PVAc-co-MMA com gelatina e goma arábica / Beatriz Marci Neves Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2020.

x, 77 p.; il. (Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2020.

Orientadores: Márcio Nele de Souza e Ana Carolina de Oliveira

1. Embolização Vascular. 2. Microencapsulação. 3. PVAc-co-MMA. 4. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ).

I. Estudo da encapsulação de micropartículas de PVAc-co-MMA com gelatina e goma arábica

*Dedico esse trabalho aos meus pais,
Se cheguei aqui foi por vocês.*

“O jeito mais eficiente de fazer algo é fazendo.”
Amelia Earhart

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por se sacrificarem em vários momentos ao longo da minha criação para que eu tivesse uma educação de qualidade, mesmo sem saber direito o que significa um diploma de graduação. Por me acolherem mas também por me cobrarem que eu não desista mesmo quando o caminho parece duvidoso.

Ao casal de amigos Ana e Mateus que foram abrigo, foram leveza, foram incentivo e também foram consciencia. A ajuda de vocês pra que esse momento acontecesse foi essencial. Sem vocês eu estaria parada no mesmo lugar esperando um milagre cair do céu ou que tudo se resolvesse em um passe de mágica.

Aos meus orientadores Márcio e Ana, por aceitarem o desafio, pela paciência, por me darem uma luz quando tudo parecia escuridão e por confiarem em mim.

A equipe do Responde Aí, por me apoiarem, cederem os recursos que eu precisava, por me acalmarem e incentivarem. Obrigada por serem meu alicerce de todos os dias.

As equipes dos laboratórios LMSCP e EngePol que compartilharam as manhãs de trabalho, as falhas nos experimentos os resultados confusos mas também as alegrias quando algo dava certo.

Ao meus amigos que viraram anjos da guarda, Dalton por toda ajuda durante a graduação e vencer essas matérias juntos e Diogo por ouvir minhas lamúrias, me manterem sã e estar sempre disponível pra ajudar.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro durante a graduação.

À mim, por buscar sempre ser e fazer melhor e persistir até o fim.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de bacharelado em Química Industrial

**Estudo da encapsulação de micropartículas de PVAc-co-MMA com
gelatina e goma arábica**

NEVES, Beatriz Marci

Fevereiro de 2020

Orientadores: Prof. Márcio Nele de Souza, D.Sc.
Ana Carolina de Oliveira, M.Sc.

Diante a procura por procedimentos médicos menos invasivos, o estudo sobre a Embolização Vascular e o uso de materiais poliméricos no desenvolvimento de agentes embólicos vem crescendo nos últimos anos. O principal desafio está em encontrar agentes embólicos que possuam as propriedades morfológicas adequadas para a embolização. Buscando isso, microesferas de P(VAc-co-MMA) foram desenvolvidas e um dos problemas que ainda impede sua aplicação ao tratamento é a aglomeração de partículas causada ao longo do transporte via cateter. Com isso, torna-se necessário o estudo de um tratamento superficial que evite que a aglomeração ocorra. Assim, o objetivo deste trabalho é encontrar uma metodologia de recobrimento da superfície de microesferas do copolímero por meio da técnica de microencapsulação por coacervação, utilizando a gelatina e a goma arábica, visando reduzir a aglomeração que ocorre entre as partículas do copolímero após sua síntese. Foram avaliados os dois tipos de coacervação com variação das condições buscando a otimização do procedimento e o produto analisado por diversas técnicas de caracterização, no qual a condição de razão 1:2 de material de parede/núcleo e 60°C de temperatura de solubilização da gelatina na coacervação complexa mostrou sinais de alteração na superfície das microesferas estudadas pelos métodos de caracterização propostos.

Índice

Capítulo I. Introdução	1
I.1.1 Objetivo.....	3
Capítulo II. Revisão Bibliográfica.....	4
II.1 Embolização Vascular.....	4
II.1.1 Agentes Embólicos.....	7
II.1.2 Trabalhos Anteriores do Grupo.....	12
II.2 Métodos de Microencapsulação	13
II.2.1 Tipo de micropartículas.....	14
II.2.2 Classificação dos Métodos de Microencapsulação	16
II.2.3 Coacervação Simples e Complexa	19
II.3 Escolha do método de microencapsulação.....	19
II.4 Materiais de Recobrimento	24
II.4.1 Gelatina	25
II.4.2 Goma acácia (arábica).....	28
Capítulo III. Materiais e Métodos	32
III.1 Caracterização da Gelatina.....	32
III.1.1 Definição do Ponto Isoelétrico - Potencial Zeta.....	32
III.2 Preparo das microesferas de PVAc-co-MMA para a encapsulação.....	33
III.3 Coacervação Simples	33
III.3.1 Preparo da solução com material de parede	33
III.3.2 Produção dos Coacervados.....	34
III.4 Coacervação Complexa.....	34
III.4.1 Preparo da Solução com Material de Parede.....	34
III.4.2 Produção dos coacervados	35
III.4.3 Filtração e Secagem	37
III.5 Caracterização das Micropartículas	39
III.5.1 Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR	39
III.5.2 Microscopia eletrônica de varredura - MEV.....	40
III.5.3 Distribuição de tamanho de partícula.....	40
III.5.4 Ângulo de Contato	41
Capítulo IV. Discussão e Resultados	42
IV.1 Caracterização da gelatina.....	42
IV.1.1 Potencial Zeta.....	42
IV.2 Síntese das micropartículas encapsuladas.....	45
IV.2.1 Avaliação do Tamanho de Partícula - Coacervação Simples.....	45
IV.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - Coacervação Simples.....	46
IV.2.3 Aspectos visuais – Coacervação Complexa	47
IV.3 Caracterização das Micropartículas	48
IV.3.1 Composição do material.....	48
IV.3.2 Ângulo de contato	51

IV.3.3	Avaliação do Tamanho de Partícula - Coacervação complexa	53
IV.3.4	Microscopia Eletrônica de Varredura - Coacervação Complexa	55
Capítulo V.	Conclusões Finais.....	58
Capítulo VI.	Referências	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II-1 - Publicações sobre embolização vascular nos últimos 70 anos. Base de busca: Web of Science. Palavras chave: “vascular embolization” em 19 de janeiro de 2020.	5
Figura II-2 - Esquema de embolização de fibroma uterino utilizando partículas de PVA. (BANU e MANYONDA, 2004).....	6
Figura II-3 – Microscopia Óptica de PVA comercial – Ivalon (PEIXOTO et al., 2006).....	10
Figura II-4 - Etapas para obtenção do PVA.	10
Figura II-5 - Esquema ilustrativo das diferentes estruturas de micropartículas (FONTE: adaptado de SILVA et al., 2003).	15
Figura II-6 - Representação esquemática das etapas do processo de microencapsulação por coacervação (adaptado de VILA JATO, 1999).	21
Figura II-7 – Modelo compacto da estrutura de tripla hélice do colágeno (FONTE: adaptado de FERREIRA DA SILVA & BARRETO PENNA, 2012).....	27
Figura II-8 - Estrutura Simplificada da Goma Arábica. Adaptado de William e Phillips, 2009.....	29
Figura III-1- Fluxograma do processo de produção de microesferas de PVAc-co-MMA encapsuladas por coacervação complexa	37
Figura III-2 - Amostras de micropartículas obtidas após o tratamento de coacervação complexa ..	38
Figura IV-1 - Esquema representativo da dupla camada elétrica formada em partículas dispersas em solução (adaptado de DA SILVA et al., 2015)	42
Figura IV-2 – Gráfico do potencial zeta x pH do meio e indicação do PI	43
Figura IV-3 - Distribuição de do Tamanho de Particula da Amostra após o Tratamento de Coacervação Simples	45
Figura IV-4 – Imagens da Superfície das microesferas após o Tratamento de Coacervação Simples	46
Figura IV-5 - Sistema de microencapsulação por coacervação complexa após a refrigeração.....	47
Figura IV-6 - Amostra de microencapsulação por coacervação complexa após a filtração	48
Figura IV-7- Espectro FTIR amostra de PVAc-co-MMA liofilizada	49
Figura IV-8 - Comparação de espectros FTIR das amostras em diferentes condições	50
Figura IV-9 - Comparação de sinal de transmitancia entre amostras encapsuladas e o branco.....	51
Figura IV-10- Esquema do ângulo de contato de uma gota com uma superfície sólida	52
Figura IV-11 - Distribuição de do Tamanho de Particula da Amostra após o Tratamento de Coacervação Complexa.....	54
Figura IV-12 - Imagens da Superfície das microesferas após o Tratamento de Coacervação Complexa	56

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela II-1 - Resumo de agentes embólicos comerciais disponíveis	12
Tabela II-2 - Classificação dos principais métodos de microencapsulação	18
Tabela II-3 - Principais vantagens, desvantagens e aplicações dos métodos de microencapsulação.	19
Tabela II-4 - Classificação dos tipos de materiais de parede para encapsulação	24
Tabela III-1- Otimização das condições de microencapsulação	38
Tabela IV-1 - Resultados do potencial zeta da gelatina	43
Tabela IV-2- Nomenclatura de acordo com as condições de microencapsulação	48
Tabela IV-3 - Bandas características dos materiais de revestimento empregados na formação das microcápsulas (DONG et al., 2014; YANG et al., 2015).....	49
Tabela IV-4 – Resultados do ângulo de contato entre pastilhas de microesferas e água	52

Capítulo I. Introdução

O estudo de técnicas de tratamento endovasculares vem crescendo ao longo dos anos com o objetivo de encontrar procedimentos menos invasivos para o tratamento de pacientes. Uma das técnicas exploradas é a embolização vascular, que consiste na oclusão de vasos sanguíneos, pelo bloqueio da passagem da corrente sanguínea, com o objetivo de interromper ou minimizar o fluxo de sangue em uma região alvo no organismo. Esse procedimento tem aplicação em processos pré-operatórios, malformações arteriovenosas, na cessão de hemorragias e também no tratamento de tumores, impedindo o fornecimento de nutrientes ao tumor levando a necrose e encolhimento. (BRASSEL e MEILA, 2015; SISKIN et al., 2000, POURSAID et al., 2016).

Uma das aplicações principais da embolização vascular é o tratamento de miomas uterinos (OLIVEIRA, 2011). Um mioma uterino é um tumor sólido benigno formado por tecido muscular e fibroso que se situa no útero da mulher, podendo causar sintomas como fortes dores na região, assim como sangramento uterino anormal (menorragia). A forma mais difundida de tratamento de miomas uterinos é a histerectomia, retirada completa do útero. A embolização da artéria uterina (EAU) surge como uma alternativa a esse procedimento cirúrgico, diminuindo os riscos do tratamento e preservando a fertilidade da paciente.

Para o uso da EAU como o tratamento padrão de miomas uterinos no Brasil deve-se considerar o custo do procedimento, já que hoje os agente embólicos mais utilizados são importados. O agente embólico é o material a ser injetado na corrente sanguínea responsável por realizar a oclusão do vaso. O sucesso da realização dessa técnica está diretamente ligado ao desempenho do agente embólico, por isso, cada vez mais se tem estudado agentes que se adequem a cada tipo de aplicação.

O poli(álcool vinílico) (PVA) é um dos agentes embólicos mais utilizados na embolização vascular, sendo que sua obtenção é feita normalmente por raspagem, gerando um material de morfologia irregular, o que é considerado uma desvantagem para seu uso nesse procedimento (BASILE, 2004). Com o objetivo de contornar essa característica, foi explorada a síntese de micropartículas esféricas desse material em combinação com o poliacetato de vinila (PVAc) (PEIXOTO, 2007). A morfologia esférica foi alcançada, porém um inconveniente para o transporte do agente através cateter até a artéria surgiu, a aglomeração das partículas. Visando amenizar a aglomeração, o MMA foi adicionado como comonômero, o que trouxe melhorias, porém ainda se fazendo necessária a liofilização para que o material não aglomere na estocagem (DOS SANTOS, 2014)

A partir desse ponto, o tratamento da superfície das microesferas pode ser uma alternativa. Visando recobrir o polímero com um material que evita a aglomeração, como a formação de uma cápsula, é interessante explorar o procedimento de microencapsulação. A microencapsulação tem como objetivo formar partículas onde uma substância, em estado sólido, líquido ou gasoso, possa ser revestida por uma cápsula de tamanho micrométrico.

A técnica que originou o conceito de microencapsulação, a coacervação, também é conhecida como separação espontânea de fases, devido a formação de aglomerados das substâncias presentes no meio. Ela consiste na formação de unidades unicelulares, ou seja, uma camada fina que reveste um núcleo. (DONG e BODMEIER 2006). Essa formação ocorre quando há uma alteração no meio que desencadeia o processo, como alterações de temperatura e pH.

Existem dois tipos de coacervação, simples e complexa. A diferença entre elas está na composição do material que forma a cápsula, ou também chamado de material de parede. Na simples, a cápsula é formada por apenas um material de parede, enquanto na complexa, dois materiais formam um complexo que reveste o núcleo.

A escolha de quais materiais usar como material de parede influencia diretamente aplicação das micropartículas produzidas. No caso de aplicações médicas, biopolímeros são adequados para esse procedimento. A gelatina é um material biocompatível, que pode ser encontrado em abundância e com histórico de utilização em procedimentos de embolização. Seu uso juntamente com a goma arábica para a formação do sistema gelatina-goma arábica para produzir o material de parede na coacervação complexa é o sistema mais amplamente estudado.

I.1.1 Objetivo

O objetivo deste trabalho é encontrar uma metodologia de recobrimento da superfície de microsferas de PVAc-co-MMA por meio da técnica de microencapsulação por coacervação, utilizando a gelatina e a goma arábica, visando reduzir a aglomeração que ocorre entre as partículas de PVAc-co-MMA após sua síntese.

Capítulo II. Revisão Bibliográfica

II.1 Embolização Vascular

A embolização é um procedimento médico minimamente invasivo que consiste na injeção de um material biocompatível finamente dividido, chamado agente embolizante, na corrente sanguínea através do cateterismo, com o objetivo de causar a obstrução do vaso sanguíneo e impedir o fornecimento de nutrientes a um tecido, tumor ou órgão ou diminuir o fluxo de sangue de um vaso ou artéria, reduzindo uma hemorragia, por exemplo. (SMITH, 2000).

A embolização começou a ser utilizada como procedimento médico em meados dos anos 50, quando as primeiras pesquisas exploraram seu uso como alternativa a procedimentos para tratamento de problemas arteriais ao invés das cirurgias que eram realizadas nessa época. Um dos pioneiros a utilizar a embolização foram LIGHT e PRENTICE em 1945, com o uso de micropartículas de gelatina na oclusão de artérias durante um procedimento neurocirúrgico para o controle de hemorragia.

Com o passar dos anos, mais relatos de estudos sobre a aplicação da embolização vascular foi se difundindo e outras aplicações surgiram. Nos anos 70 e 80, a utilização desse procedimento para estancamento de hemorragias em procedimentos cirúrgicos, em pacientes com câncer e pacientes com hemorragia pulmonar começou a aparecer com mais frequência. (BOOKSTEIN e GOLDSTEIN, 1973; HATCH et al. 1980; HORAK et al. 1986).

A década de 90 foi marcada pela utilização da embolização vascular no tratamento de miomas uterinos, por um grupo liderado por RAVINA em 1995, que submeteu 16 pacientes ao tratamento usando a embolização vascular e apenas duas precisaram de cirurgia para o tratamento do mioma. A partir da realização de experimentos bem sucedidos, a técnica se popularizou ao longo das décadas seguintes, onde o volume total de estudos sobre o tema nos últimos 5 anos já correspondem a 128 % do total da produção considerando toda a

segunda metade do século XX e quadruplicando o número de publicações a partir dos anos 2000, o que mostra a importância do desenvolvimento de estudos que se relacionam a esse tipo de procedimento. A evolução do volume de publicações sobre o assunto ao longo dos anos poder ser observada na Figura II-1:

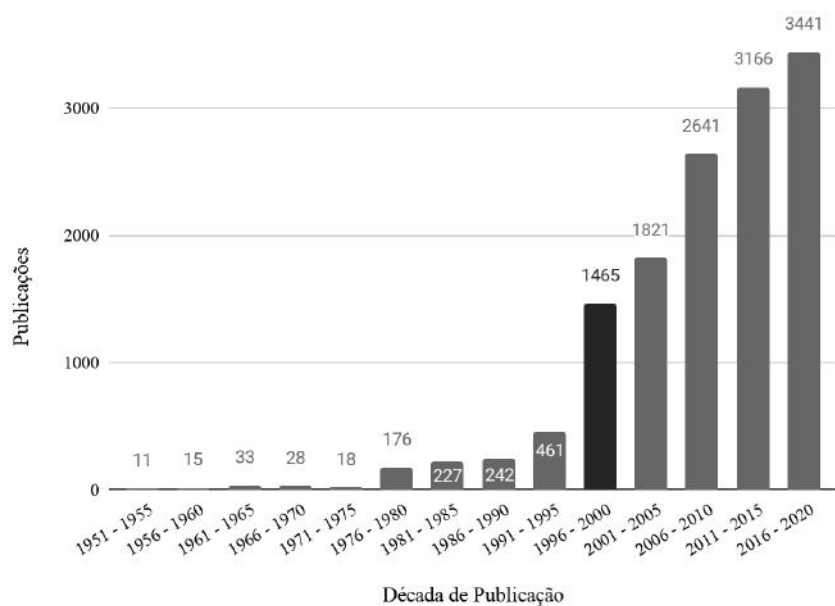


Figura II-1 - Publicações sobre embolização vascular nos últimos 70 anos. Base de busca: Web of Science. Palavras chave: "vascular embolization" em 19 de janeiro de 2020.

Atualmente a embolização vascular pode ser utilizada para interrupção de hemorragias, tratamento de aneurismas e outras malformações arteriovenosas, hemoptise, tumores em geral e procedimentos pré operatórios (BRASSEL e MEILA, 2015; SISKIN et al., 2000, POURS Aid et al., 2016). Sua principal aplicação se dá no tratamento de miomas uterinos, servindo como alternativa ao tratamento altamente invasivo e custoso utilizado, em último caso, a histerectomia (remoção completa do útero através de cirurgia). A partir do estudo de RAVINA et al em 1995, onde obtiveram grande sucesso utilizando essa técnica, a EAU foi, e continua sendo, bastante estudada e indicada como tratamento alternativo para casos de

miomas uterinos. (OLIVEIRA, 2011)

Por ser um procedimento pouco invasivo, a embolização aparece como uma alternativa bem menos agressiva que o tratamento mais utilizado, a histerectomia. Como todo procedimento cirúrgico, esse tratamento oferece risco às pacientes, além de poder causar sérios transtornos de ordem psicológica e emocional, principalmente em mulheres em idade reprodutiva. (JOLLEY, 2009).

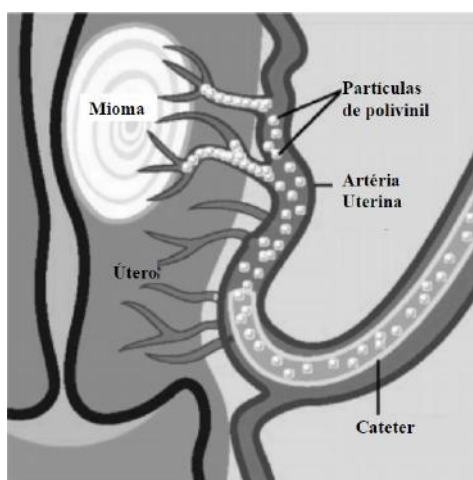


Figura II-2 - Esquema de embolização de fibroma uterino utilizando partículas de PVA.

(BANU e MANYONDA, 2004)

De acordo com LOBEL et al., 2006, estima-se que cerca de 77 % das mulheres na idade reprodutiva irão desenvolver a patologia, embora apenas 25 % delas apresentem os sintomas.

Segundo a reportagem de Cláudia Colucci na Folha de São Paulo em 2006, no SUS, a histerectomia é a segunda cirurgia mais frequente entre as mulheres em idade reprodutiva, só perdendo para as cesáreas. Em 2018, foram feitas 97 mil retiradas de útero, ao custo de R\$ 79,9 milhões. Um estudo feito pelo Instituto de Medicina Social da UERJ mostra que 90% das histerectomias feitas no país são feitas por causas benignas, como miomas e

sangramentos. Segundo médicos, muitas dessas causas poderiam ter um tratamento que evitasse a retirada do útero, mas que não estão disponíveis no serviço público em razão do alto custo. (DATASUS, 2020; COLLUCI, 2006)

II.1.1 Agentes Embólicos

O procedimento da embolização vascular tem a sua efetividade diretamente relacionada ao desempenho do agente embólico utilizado, sendo este responsável pela maior parte dos problemas dessa técnica quando a sua seleção não é adequada. O número crescente de estudos nessa área reflete a procura por agentes mais adequados a cada aplicação, por isso a seleção do mesmo para técnica realizada é de extrema importância.

Os principais fatores observados para a seleção irão depender principalmente do diâmetro do vaso a ser obstruído, duração da oclusão desejada e das condições clínicas do paciente (BRASSEL e MEILA, 2015). A consideração desses fatores no momento de escolha contribui para que a técnica tenha o efeito desejado.

De acordo com MEDSINGE et al. e SISKIN et al., 2015, os agentes embólicos podem ser classificados com base em seu estado físico: sólido ou líquido; o mecanismo de ação: físico ou químico; a origem do material: autólogo, sintético ou biosintético; a duração da oclusão: temporária ou permanente; a forma de aplicação: mecânicos (diretamente ao alvo) ou de fluxo direto (com auxílio de cateter).

Atualmente, no tratamento de miomas uterinos são utilizados, principalmente, três tipos de materiais: esponja gelatinosa; microesferas de gelatina trisacrílica e partículas de PVA. (GHIARONI, 2013; KISILEVZKY & MARTINS)

A esponja gelatinosa, mais conhecida por Gelfoam®, é um agente embólico fabricado pela Pharmacia & Upjohn Co (EUA) e distribuído comercialmente pela Pfizer. Se apresenta

como esponja hemostática de gelatina estéril absorvível, insolúvel em água. Sua produção é feita a partir de gelatina de pele de porco purificada e é capaz de absorver até 45 vezes o seu peso em sangue. A capacidade absorvível da gelatina é dada em função do seu tamanho físico, aumentando proporcionalmente ao aumento do tamanho da esponja de gelatina.

O mecanismo de ação deste agente se dá por impedimento físico da passagem de fluxo, através de suporte mecânico. Quando aplicado em superfície hemorrágicas, o Gelfoam® interrompe o sangramento através da formação de um coágulo artificial, além de produzir uma reação inflamatória na parede vascular que auxilia na coagulação. (Pfizer, 2012) A duração da oclusão é temporária, pois após a gelatina ser absorvida é permitida a recanalização da artéria em dias ou semanas. (BARTH et al., 1977)

As microesferas gelatinosas, mais conhecidas como Embosphere®, é um agente embólico fabricado pela Biosphere Medical (França) e distribuído Merit Medical pela Merit Medical, que consiste em microesferas de gelatina trisacrílica calibradas, biocompatíveis, hidrófilas, não absorvíveis, impregnadas com gelatina de origem suína, que previne a aglomeração de partículas no interior do cateter e garante a oclusão dos vasos onde ocorre a embolização por possuir uma penetração mais distal. (BEAUJEU et al., 1996; LAURENT et al. 1996; PEIXOTO 2007)

O mecanismo de ação dessas microesferas também se dá por impedimento físico, pela deposição das microesferas em vasos de diâmetro igual ou menor aos das microesferas. Sua aplicação é realizada utilizando cateter por fluxo direto, onde a corrente sanguínea carrega o agente para os pontos de oclusão. A duração da oclusão é permanente. (BARBOSA, 2009)

As microesferas possuem uma variedade de tamanhos que permite a oclusão de vasos de diferentes calibres, por isso, para a utilização em procedimentos cirúrgicos a escolha da faixa de tamanho deve ser feita de forma cuidadosa de acordo com o nível de oclusão pretendido.

(ANVISA - MERIT)

O poli (álcool vinílico), um dos agentes embólicos mais utilizados atualmente, tem sua primeira utilização endovascular para fechamento de defeitos cardíacos (PCA - persistência do canal arterial) por Portsmann et al em 1971. Desde então, esse material vem sendo amplamente utilizado em procedimentos de embolização vascular para tratamentos de malformações e tumores arteriovenosos de cabeça e pescoço, sangramento gastrointestinal inferior e neoplasias hepáticas. (SISKIN et al., 2000)

O PVA apresenta propriedades que reforçam sua vasta utilização na embolização, sendo o material mais escolhido como agente embólico. Além de sua biocompatibilidade, estabilidade química (inerte no sangue), estabilidade mecânica e baixo custo, o aumento de volume do PVA quando entra em contato com meios aquosos, por causa da absorção de água, permite que as partículas de PVA “inchem” e provoquem a oclusão do vaso embolizado. (TADARVARTHY et al., 1975; PEIXOTO, 2007)

Além disso, outra boa razão para seu uso se dá pelo baixo custo de produção, podendo levar a fabricação de um agente embólico de baixo custo, sendo acessível a tratamentos disponibilizados no serviço público para pessoas de baixa renda. (OLIVEIRA, 2011)

Contudo, o formato irregular das partículas de PVA, floculado/não-esférico, configura uma das principais desvantagens na utilização desse material. A agregação de partículas no cateter durante a aplicação, causando o entupimento do mesmo e atrapalhando o controle de fluxo, é provavelmente associada à sua morfologia (BASILE, 2004). Além disso, a morfologia irregular está associada a uma grande variabilidade de tamanhos de partícula, podendo prejudicar a especificidade da oclusão e impedir a administração correta das partículas. (SISKIN et al., 2003; CHUA et al., 2005). A Figura II-3 ilustra a morfologia encontrada no PVAc comercial.

Com o objetivo de contornar essas limitações do PVA comercial, PEIXOTO (2007) propôs a síntese de micropartículas de PVA/PVAc em formato esférico. As micropartículas foram produzidas seguindo uma estrutura casca/núcleo através da técnica de polimerização em suspensão do VAc, formando o núcleo esférico de PVAc, material mais facilmente obtido em morfologia esférica regular do que o PVA. Após esse procedimento, realizava-se a hidrólise alcalina da superfície para a formação da casca de PVA, conferindo a microesfera as vantagens das propriedades de superfície do PVA, como a boa interação com os fluidos orgânicos e com as paredes dos vasos, e um controle maior das propriedades de inchamento quando imersa no fluxo sanguíneo.

Entretanto, a polimerização em suspensão do acetato de vinila (VAc) possui um inconveniente relacionado a temperatura de transição vítrea (T_g) do PVAc formado. A temperatura de transição vítrea pode ser definida pela transição de fase que ocorre quando o polímero sai de um estado vítreo (duro, de pouca mobilidade) e passa para um estado com maior mobilidade (aspecto “borrachoso”), devido a mobilidade segmental das cadeias amorfas. (MANO e MENDES, 2004).

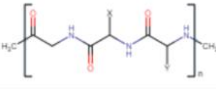
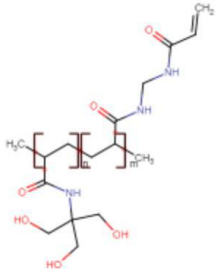
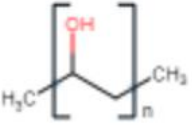
Apesar de ser um bom candidato a agente embólico, o material apresenta baixa T_g , próxima a 30°C , e como consequência aglomera durante o processo de pós-produção. Além disso, foi observada uma alta densidade das partículas formadas, acelerando o processo de sedimentação, o que pode levar a problemas durante o procedimento na sala cirúrgica.

Para contornar o problema causado pela baixa T_g do PVAc, PEIXOTO investigou em 2011 a copolimerização em suspensão do VAc e do metacrilato de metila (MMA), seguindo o princípio da equação de Gordon-Taylor, com o objetivo de aumentar a T_g do copolímero final. O material foi escolhido pois o PMMA apresenta T_g próxima a 100°C , além de ser biocompatível e estar presente em outros materiais biomédicos (Tadavarthy, 1975). Foi observado um resultado positivo, gerando o aumento da T_g e facilitando a manipulação do

material no processo de pós produção.

Os principais agentes embólicos para embolização da artéria uterina são exemplificados na Tabela II-1.

Tabela II-2 - Resumo de agentes embólicos comerciais disponíveis

Material	Estrutura do polímero	Nome comercial	Descrição
Colágeno Desnaturado		GelFoam® (Pfizer, Inc.)	Esponja hemostática, composta por um polímero natural da proteína (nota: o símbolo X representa qualquer aminoácido e X é principalmente prolina)
Poli (N-acryloyl-2-amino-1,3-diol hidroximetilpropano) - co-poli(N-metileno-bis-acrilamida)		Embosphere® (Merit Medical Systems Inc.)	Microesfera, a matriz está impregnada com gelatina porcina, e Embogold tem 2% de ouro elementar incorporados na esfera
Álcool poli vinílico (PVA)		Contour™ (Boston Scientific)	Partículas irregulares finamente divididas

II.1.2 Trabalhos Anteriores do Grupo

Em 2006 foi depositada a patente “Processo de Síntese de Poli (álcool vinílico) e/ou Poli (acetato de vinila) com Morfologia Esférica e Estrutura Casca-núcleo e seu uso na Embolização Vascular” de PINTO et al. que descreve a metodologia para a obtenção de microesferas de morfologia controlada de PVA/PVAc. No ano seguinte PEIXOTO

investigou a adição de solventes na etapa de polimerização em suspensão para reduzir a densidade das partículas, obtendo os melhores resultados com a adição de heptano. Em 2011, OLIVEIRA investigou a dopagem de micropartículas poliméricas com fármacos para utilização no procedimento de quimo embolização vascular, obtendo relevantes alterações na morfologia das partículas e nas propriedades moleculares dos polímeros sintetizados. A incorporação do metacrilato de metila (MMA) foi sugerida 3 anos depois com DOS SANTOS em 2014 para a síntese de um agente embólico carreador de fármacos para o tratamento de leucemia, obtendo micropartículas com atividade enzimática.

Nos anos seguintes, AZEVEDO estudou a morfologia das partículas de PVAc e a influência da alteração de parâmetros do sonicador sobre a cinética de polimerização em suspensão em 2015 e por meio do processo de copolimerização em suspensão em 2019, visando atacar principalmente a densidade e o tamanho das partículas produzidas, obtendo um material em condições mais próximas do que se deseja para a aplicação na embolização vascular. Também em 2019, OLIVEIRA estudou as condições operacionais em escala de bancada e piloto para a produção das micropartículas, obtendo um material com morfologia e tamanho adequados para a aplicação desejada.

II.2 Métodos de Microencapsulação

A encapsulação pode ser definida como uma tecnologia de empacotamento de substâncias sólidas, líquidas ou gasosas com uma cobertura, em geral polimérica, formando pequenas partículas chamadas de microcápsulas. (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). Na microencapsulação, essas partículas produzidas são na escala micrométrica. A substância que aprisiona pode ser chamada de revestimento, membrana, casca, material de suporte, material da parede, fase externa ou matriz. Já a substância aprisionada pode ser chamada de material de núcleo, agente ativo, fase de preenchimento, fase interna ou carga útil. (ZUIDAM e NEDOVIC, 2009). Neste trabalho adotamos os nomes de material de parede e

núcleo para descrever as substâncias usadas.

As substâncias a serem encapsuladas, podem apresentar-se no estado líquido ou sólido, podendo também ser um gás (TRINDADE et al.,2008).

As pesquisas utilizando essa técnica datam de 1930, porém a primeira utilização da microencapsulação na produção de um material a ser comercializado surgiu em 1954 com a NCR (National Cash Register), uma empresa estadunidense que revolucionaria o mercado de formulários com um papel de cópia sem carbono. O produto consistia em um papel recoberto com um fino filme de micropartículas de diâmetro entre 1 e 10 micrômetros, onde o pigmento estava disperso em uma concentração de 2 a 6% em reagente incolor. O mecanismo para cópia era simples, a pressão do lápis ou caneta em cima de uma das faces do papel rompia as microcápsulas na outra, permitindo a liberação do pigmento que, quando em contato com o reagente, sofria uma mudança de pH, se tornando colorido. Assim a deposição do pigmento sobre a cópia causava a coloração no local onde havia sido pressionado, produzindo uma cópia idêntica do documento original. (RÉ, 2000)

Desde então as aplicações dessa técnica permearam diversas áreas. Ainda na década de 50, a indústria farmacêutica passou a explorar essa técnica para a liberação controlada de fármacos no organismo. Assim, um princípio ativo poderia percorrer o organismo sem se degradar e seria liberado gradativamente no local de atuação, quando estimulado de forma adequada, tais como mudança de pH, rompimento físico, dissolução etc. (SUAVE et al. 2006)

II.2.1 Tipo de micropartículas

Dois tipos básicos de estruturas de micropartículas são formados pelo processo de microencapsulação, diferenciados pela distribuição do material a ser encapsulado, estrutura tipo matricial e tipo reservatório. A estrutura matricial está presente na produção de microesferas, onde o material principal está disperso em uma matriz polimérica. Essa

dispersão pode se dar de forma homogênea, se o composto está dissolvido, ou heterogênea, quando está suspenso. (SILVA et al., 2003, THIES, 1995). Já a estrutura reservatória é encontrada nas microcápsulas, onde o material principal é envolto pelo material de parede de espessura variável, formando o núcleo da microcápsula. A microcápsula pode ser mononuclear, quando o núcleo não está dividido no interior da microcápsula, ou poli nuclear, quando o núcleo se encontra subdividido (AZEREDO, 2005; SILVA et al., 2003). O formato das microcápsulas ou microesferas pode variar de acordo com o material do núcleo, de parede e o método de microencapsulação utilizado. (BADKE et al.; 2017). A classificação foi esquematizada na Figura II-5:

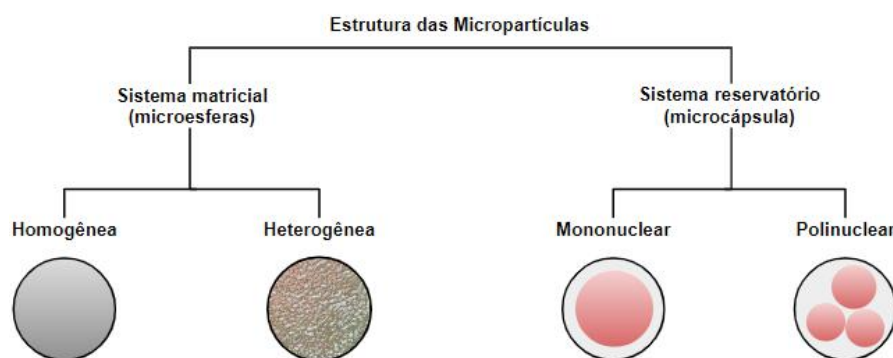


Figura II-5 - Esquema ilustrativo das diferentes estruturas de micropartículas (FONTE: adaptado de SILVA et al., 2003).

A evolução das técnicas de microencapsulação permitiu que microcápsulas e microesferas tivessem aplicação em diversas áreas, como farmacêutica, alimentar, cosmética e agroquímica (NASTRUZZI et al. 1994; WILSON E SHAH, 2007; JELVEHGARI et al. 2010; JYOTHI SRI et al.2012; ZHANG et al. 2016; ŠIPAILIENĖ E PETRAITYTĖ, 2018). Devido aos avanços, diversos métodos foram desenvolvidos, muitas vezes bem diferentes da técnica inicial, mas o fundamento permanecendo o mesmo. Assim, surge a necessidade de classificá-los, auxiliando também na escolha de qual método pode ser mais adequado para cada aplicação.

II.2.2 Classificação dos Métodos de Microencapsulação

Os métodos utilizados podem ser divididos de acordo com a seguinte classificação: físicos, como extrusão, *spray drying*, *spray chilling/cooling*, leite fluidizado, co-cristalização, liofilização; químicos como polimerização interfacial, inclusão molecular; físico-químicos como lipossomas, coacervação simples e complexa (SOUTHWEST RESEARCH INSTITUTE, 1991; SHAHIDI & HAN, 1993; DESAI & PARK, 2005; MADENE et al., 2006).

Os métodos físicos utilizam manipulação das propriedades físicas dos materiais, como o ponto de ebulição ou fusão de uma substância, para produzir as micropartículas. As mudanças de estado físico são exploradas nos processos de *spray drying* e *cooling*, seja com o ponto de ebulição do solvente no *spray drying* ou o de fusão do material de parede no *spray cooling*. Enquanto na técnica de leite fluidizado, os dois fenômenos acontecem ao mesmo tempo para que haja o revestimento, a sublimação do solvente, juntamente com a solidificação do material de parede. (BRASILEIRO, 2011)

Outra propriedade explorada nos métodos físicos de microencapsulação é o volume. No processo de extrusão, por exemplo, utiliza da quebra do material a ser revestido em pequenas gotículas a serem revestidas pelo material de parede. Similar a isso podemos novamente observar nos métodos de *spray drying* e *cooling*, onde ocorre a atomização pra formação das micropartículas. (RISCH, 1995)

Já os métodos químicos utilizam propriedades químicas das substâncias para promover a encapsulação. A diferença de eletronegatividade entre o material a ser encapsulado e o material de parede é explorada na inclusão molecular. A água presente na cavidade do

material de parede, normalmente a β -Ciclo dextrina, substância frequentemente usada nesse método, é substituída por uma substância menos polar que se deseja encapsular devido a afinidade da β -Ciclo dextrina com substâncias apolares. A diferença de polaridade entre as substâncias também é explorada na polimerização *in situ*. Graças a essa diferença é possível a formação de micelas em volta do núcleo que em seguida é revestido pela reação em cadeia dos monômeros na superfície da micela.

Nos métodos físico-químicos, as propriedades físicas e químicas das substâncias são exploradas para garantir que ocorra a encapsulação. Na coacervação, a carga líquida do sistema é o que vai gerar o recobrimento. Esta pode ser influenciada pela estequiometria, por parâmetros estruturais dos biopolímeros e pelas condições do meio como pH, força iônica, temperatura e natureza dos reagentes (PRATA, 2006). A manipulação dessas condições pode acarretar a atração dos materiais de parede ao núcleo e, como no caso da coacervação complexa, a alteração do pH, ou seja, o grau de ionização dos polímeros, é feita para aumentar as interações eletrostáticas entre os materiais de parede para formação de um complexo polimérico. (E KRUIF; WEINBRECK; DE VRIES, 2004). A formação de lipossomas acontece de forma espontânea em meio aquoso com cadeias de fosfolipídios graças a propriedade anfifílica dessas moléculas. Já a incorporação de substâncias nos lipossomas depende de fatores como a composição lipídica, tamanho, carga superficial, pH e força iônica. (NEW, 1995)

Diante da variedade de métodos, os critérios para escolha devem ser definidos de acordo com o tamanho desejado da micropartícula, aplicação que será dada à mesma, o mecanismo de liberação, as propriedades físico-químicas, tanto do material ativo, quanto do agente encapsulante e a proporção entre núcleo e material de parede na partícula (COOK et al., 2012; ASSUNÇÃO et al., 2014).

Sendo assim, a Tabela II-2 resume esses critérios por método de microencapsulação:

Tabela II-3 - Classificação dos principais métodos de microencapsulação.

Tipo	Método	Material do núcleo	Núcleo (%)	Tamanho de partícula (µm)
Físicos	<i>Spray Drying</i>	Líquido / Sólido	5-50	10-400
	Extrusão	Líquido / Sólido / Gás	6-20	200-2000
	Leito Fluidizado	Sólido	5-50	5-5000
	Spray <i>Chilling/Cooling</i>	Líquido / Sólido	10-20	20-200
Químicos	Inclusão Molecular	Líquido	5-20	5-50
	Polimerização Interfacial	Líquido / Sólido		1-500
Físico- químicos	Coacervação	Líquido / Sólido	40-90	20-500
	Lipossomas	Líquido / Sólido	5-50	0,02-3

Fonte: FAVARO-TRINDADE e ROCHA (2008); ZUIDAM e NEDOVIC (2009); DESAI e PARK (2005); MADENE et al. (2006)

Apesar das várias técnicas de microencapsulação atualmente existentes, o grande desafio é selecionar a mais eficiente e apropriada natureza do núcleo, a aplicação a que será destinada e, em especial, o tipo de material de revestimento (ANAL e SINGH, 2007).

II.3 Escolha do método de microencapsulação

Neste trabalho, o nosso interesse é revestir um material sólido, produzindo micropartículas de tamanho não muito diferente das partículas originais (220 - 300 μm), ou seja, uma fina camada de material de parede, buscando então uma proporção núcleo-material de parede elevada. Neste cenário, escolhemos 3 métodos que atendessem esses critérios e comparamos suas vantagens e desvantagens na Tabela II-3 para a escolha do método de encapsulação a ser utilizado: *spray drying*, extrusão e coacervação.

Tabela II-4 - Principais vantagens, desvantagens e aplicações dos métodos de microencapsulação.

Método	Vantagens	Desvantagens	Aplicação	Referências
Coacervação	Técnica versátil; maior controle do tamanho das partículas; aparelhagem simples	Aglomeração das partículas; utilização de reagentes	Industria de alimentos, vitaminas, enzimas, proteínas e medicamentos.	(JAMEKHORSHID; SADRAMELI; FARID, 2014)
<i>Spray Drying</i>	Acessível em escala industrial; estabilidade elevada das cápsulas	Cápsulas não uniformes; perda de materiais sensíveis ao calor; exige equipamento de atomização	Industria de alimentos, probióticos, farmacêutica e química	(MARTÍN et al., 2015) (SILVA et al., 2014) (KENT; DOHERTY, 2014)
Extrusão	Baixo custo; simplicidade; não envolve altas temperaturas	Método trabalhoso e de difícil aumento de escala; baixa proporção núcleo/material de parede - aumento do volume final	Industria de alimentos e probióticos	(FAVARO TRINDADE et al., 2011) (KENT; DOHERTY, 2014)

FONTE: Adaptado de VANISKI, 2017 - *Técnicas e materiais empregados na microencapsulação de probióticos*

Os 3 métodos escolhidos para comparação são amplamente utilizados, o que facilita a coleta de informação em trabalhos anteriores. Optamos por trabalhar com o método de coacervação pelas principais vantagens de não necessitar de uma aparelhagem específica, como na

atomização por spray drying, ser replicável sem ser trabalhoso e manter uma boa razão núcleo/parede, diferente da extrusão.

II.3.1 Coacervação Simples e Complexa

O conceito de encapsulação vem da idealização do modelo celular, descrito pela teoria dos coacervados, utilizada como uma das explicações da origem da vida por Haldane e Oparin. (EVREINOVA et al, 1974). Os coacervados formados pela ação da natureza seguem o princípio de um núcleo envolvido por uma membrana permeável, permitindo a troca de substâncias com o meio externo e ainda proporcionando a proteção do núcleo pela estrutura de célula. (RÉ, 2006)

A origem do termo coacervação vem do latim, onde “co” e “acervus” que significam união e agregação de partículas. (MENGER et al., 2000). Também chamada de separação espontânea de fases. A coacervação foi desenvolvida no início do século passado e por esse processo produzir partículas bem pequenas e unicelulares, o processo de coacervação é considerado por muitos como a técnica original e verdadeira de microencapsulação. (SHAHIDI & HAN, 1993; THIES, 1995; MENGER et al., 2000; DUCCEL et al., 2004; STRAUSS & GIBSON, 2004).

A coacervação foi inicialmente investigada por Bungenber de Jong e Kruyt (1929) para descrever o fenômeno de agregação macromolecular e foi classificada em dois sistemas: simples e complexa (SUAVE et al 2006). Em ambos os sistemas, a microencapsulação se dá pela formação de um sistema coloidal onde polieletrólitos se depositam na superfície da substância a ser encapsulada, podendo se apresentar em forma de bolhas, gotículas ou como no caso deste estudo, micropartículas. A diferença da coacervação complexa para a simples está na presença de dois polieletrólitos de cargas opostas na solução, essa se dá graças a formação de um complexo entre eles que se deposita na superfície do núcleo. (DONG e

BODMEIER, 2006)

O mecanismo geral da coacervação com base na separação de fases pode ser descrito em 3 etapas, como demonstrado na Figura II-6:

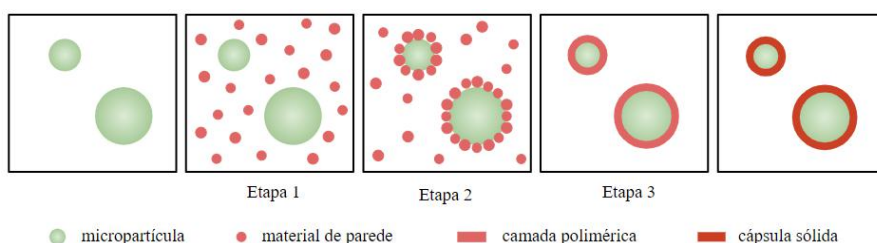


Figura II-6 - Representação esquemática das etapas do processo de microencapsulação por coacervação (adaptado de VILA JATO, 1999).

- A etapa 1 consiste na formação do sistema trifásico onde, inicialmente as três fases se encontram quimicamente imiscíveis - uma fase líquida que será o veículo do processo, uma fase do material de parede e uma fase no material a ser encapsulado.
- A etapa 2 consiste na deposição do material de parede, onde acontece graças a adsorção do material de parede na interface do núcleo com a fase líquida. Essa deposição é promovida devido a redução da energia livre interfacial total do sistema, provocada pela redução da superfície específica do material de parede, sendo este um pré-requisito para que haja o recobrimento e a formação da cápsula.
- A etapa 3 consiste na solidificação do recobrimento, onde após a adsorção do material de parede isso se solidifica ao redor do núcleo através de estímulos térmicos, reticulação ou dessolvatação, a fim de se formar as microcápsulas.

Ao final, as partículas podem ser recolhidas por filtração ou centrifugação, lavadas com solvente adequados e se necessário, secas por spray drying ou leito fluidizado. (WILSON e SHAH, 2007).

Sobre os parâmetros físicos dos processos, podemos considerar a temperatura como um dos

mais importantes, já que ela influencia os tipos de interações entre as macromoléculas envolvidas na reação. Ligações covalentes são favorecidas com o aumento da temperatura, por outro lado, sua diminuição leva a formação de pontes de hidrogênio e favorece a interação dos polímeros, já que agitação térmica dessas macromoléculas se reduz. (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; BUTSTRAEN & SALAÜN, 2014).

Outro parâmetro importante a se considerar é a velocidade de agitação. Nos casos em que a matriz se encontra na fase líquida, a velocidade de agitação influencia principalmente o tamanho das microcápsulas devido á forças de cisalhamento e turbulência do meio. Quando maior for a agitação, menores serão as microcápsulas formadas, pela redução das gotas do material a ser encapsulado. (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; BUTSTRAEN & SALAÜN, 2014). Em contrapartida, no caso de matrizes sólidas, a agitação do meio não é capaz de reduzir o tamanho de partícula e é usada apenas para mantê-lo em suspensão. Assim o parâmetro mais relevante a ser estudado nesses casos é a temperatura, por ser uma medida da agitação térmica das partículas.

Sobre os parâmetros físico-químicos do processo, um que tem grande influência é a densidade de carga. Quando as superfícies das partículas possuem cargas iguais, sejam elas positivas ou negativas, é gerada uma força de repulsão eletrostática entre elas, impedindo a formação de precipitado e favorecendo que essas partículas se mantenham em suspensão. O potencial gerado pelo íon no solvente está relacionado com a densidade de carga apresentada pelo íon. Uma vez que, em solução aquosa, o potencial do sistema é determinado pelo íon H^+ , podemos dizer que a densidade de carga do sistema está ligada ao pH do meio (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011).

A força motriz do método de coacervação é a atração eletrostática entre moléculas de cargas opostas. A eficiência da microencapsulação é diretamente proporcional ao aumento das cargas de superfície das moléculas envolvidas. Além disso, as ligações de hidrogênio afetam

de forma inversa a coacervação. Portanto, as características da superfície e a natureza química do material de parede tem grande influência no processo de microencapsulação. (FANG AND BHANDARI, 2010).

Dentre os tipos de coacervação, a complexa é a mais estudada e difundida. Este processo requer a mistura de duas macromoléculas em solução que, por meio de alterações no meio, como o ajuste de pH, promove a formação de cargas opostas, levando ao aumento de interações eletrostáticas entre elas. Um complexo poli eletrolítico é formado, favorecendo sua deposição na superfície do núcleo, formando assim o revestimento ao redor do material. O produto formado é o resultado de uma precipitação dos polímeros complexos, por conta da separação de fases formada, gerando partículas sólidas ou gotículas de líquido fechadas. (SIOW & ONG, 2013, SILVA et al., 2011; SHOJI et al., 2013, CHÁVARRI; MARAÑÓN; VILLARÁN, 2012).

O sistema de material de parede utilizado neste trabalho, complexo gelatina-goma arábica, requer um controle do pH para que a coacervação ocorra de fato. Seu ajuste é necessário para obter a gelatina em sua forma positivamente carregada, que ocorre na presença de um meio com pH abaixo de seu ponto isoelétrico (PI).

Essa condição é necessária para garantir que existe a atração eletrostática entre as macromoléculas, já que a goma arábica nessas condições se apresenta carregada negativamente. Outro parâmetro controlado durante o processo é a temperatura. Temperaturas elevadas inicialmente auxiliam na solubilização dos materiais de parede, mas quando o objetivo é justamente provocar a separação de fases, o meio é submetido a temperaturas reduzidas. (THIES, 1995; SCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003).

Diante de uma variedade de métodos de microencapsulação apresentados na literatura, é possível destacar a coacervação complexa como uma técnica promissora, simples, de baixo custo, ecológica e sustentável. Isso se deve a possibilidade de utilização de temperaturas

amenas (~40°C), de solvente aquoso e de biopolímeros (polímeros naturais), além de ter sua eficácia comprovada. (YANG et al., 2015).

II.4 Materiais de Recobrimento

A seleção do material de parede leva em consideração quatro fatores: propriedades físicas e químicas do material de núcleo; método utilizado para obtenção das micropartículas; aplicação do produto; economicamente viável (KURIOKASE et al., 2015):

É importante ressaltar que, o material de parede e o núcleo não devem provocar nenhuma reação química em relação ao outro, para que não haja alteração em nenhuma propriedade dos materiais. Além disso, é importante garantir que o material possui a capacidade de encapsular e manter o núcleo no interior da partícula, ou seja, sem se dissolver facilmente ou se romper, fornecendo proteção as condições não favoráveis para o núcleo. (SILVA et al., 2014).

Ao longo dos anos foram estudados diversos tipos de materiais que podem se adequar a esse tipo de uso, aumentando a gama de materiais que podem ser recobertos pela técnica de microencapsulação. Os tipos de materiais utilizados podem ser carboidratos, celuloses, gomas, lipídeos ou proteínas e dependendo do método, mais de um tipo pode ser utilizado na encapsulação do mesmo material. (SHAHIDI e HAN, 1993; ZUIDAM e NEDOVIC, 2009). A Tabela II-4 mostra alguns exemplos de materiais para cada categoria.

Tabela II-5 - Classificação dos tipos de materiais de parede para encapsulação.

Carboidratos	Amido, Maltodextrinas, Xarope de milho, Dextrina, Sacarose, Ciclo dextrinas
---------------------	---

Celuloses	Carboxi metil celulose, Metil celulose, Etil celulose, Nitrocelulose, Acetilcelulose, Acetato-ftalato de celulose, Acetato-butirato-ftalato de celulose
Gomas	Goma acácia, Ágar, Alginato de sódio, Carragena
Lipídeos	Ceras, Parafina, Triestearina, Ácido esteárico, Diglicerídeos, Monoglicerídeos, Óleos, Gorduras, Óleos hidrogenados
Proteínas	Glúten, Caseína, Gelatina, Albumina, Hemoglobina, Peptídeos

Fonte: SHAHIDI e HAN, 1993; ZUIDAM e NEDOVIC, 2009

Os materiais mais recomendados para o uso na coacervação complexa são biopolímeros com propriedades coloidais hidrofílicas, de densidade de carga adequada e que possuem cadeia linear. (THIES 2003; JACOBS E MASON 1993). Diversas combinações de matérias de parede foram testadas a fim de formar o sistema de para a formação da coacervação complexa, mas o mais estudado e compreendido é o sistema gelatina-goma arábica. (GOUIN 2004; QV, ZENG e JIANG, 2011) .

II.4.1 Gelatina

A gelatina, que inicialmente surgiu como uma fonte de proteína alternativa a carne em tempos de guerra, hoje além de estar presente em diversos alimentos, possui uma vasta possibilidade de aplicação em diversas áreas. Por volta de 1833, seu uso na área biomédica já havia sido patenteado por Mothe para a fabricação de cápsulas para medicamentos (SCHRIEBER & GAREIS, 2007).

A gelatina é um polímero natural que pode ser encontrado em abundância, pois ela é obtida da hidrólise parcial do colágeno, substância que por sua vez é o maior constituinte de peles, ossos, tendões e tecido conjuntivo de animais. (DUCONSEILLE et al., 2015). A obtenção dessa proteína é feita ao passo que o colágeno é submetido a um pré-tratamento, podendo este ser ácido ou alcalino, onde cada processo produz um tipo de gelatina: Tipo A ou Tipo

B. (ZHANG et al, 2005)

A forma de obtenção define qual ponto isoelétrico (PI) - valor de pH no qual a carga elétrica líquida é igual a zero - ela apresentará. A gelatina tipo A, obtida pela hidrólise ácida do colágeno, apresenta PI entre 7 e 9. Enquanto a tipo B, obtida pela hidrólise alcalina, apresenta PI entre 4.8 e 5.2. (GÓMEZ - GUILLÉN et al., 2011; GMIA, 2012). Como no ponto isoelétrico, as proteínas apresentam carga nula, trabalhar nessa faixa de pH pode reduzir a solubilidade da gelatina devido à ausência de carga das moléculas. Dessa forma, o desconhecimento do processo de obtenção da gelatina a ser utilizada requer uma caracterização prévia para poder identificar qual tipo de gelatina a ser utilizada. (BARCELLOS, 2012)

Como sua obtenção é a partir de fontes ricas em colágeno, suas estruturas são similares (Figura II-7). Podemos encontrar a gelatina como uma mistura de aminoácidos que frequentemente se repetem em sequência, com predominância de duas cadeias similares e uma distinta (glicina, prolina e hidroxiprolina). Essas formam uma espiral em torno de um mesmo eixo, caracterizando uma estrutura de tripla-hélice (DUCONSEILLE et al., 2015; GÓMEZ - GUILLÉN et al., 2011).

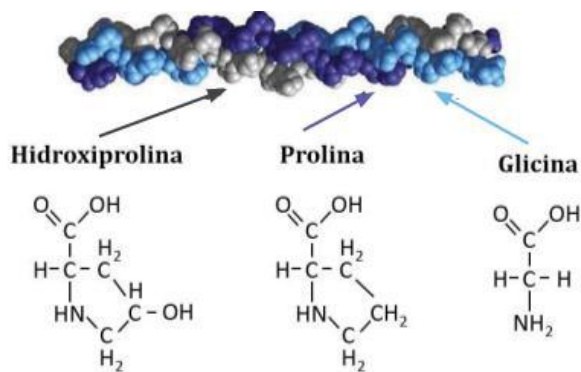


Figura II-7 – Modelo compacto da estrutura de tripla hélice do colágeno (FONTE: adaptado de FERREIRA DA SILVA & BARRETO PENNA, 2012).

A sua dissolução pode ser realizada de forma indireta, na qual há a fase de hidratação em água fria, seguida da solubilização em temperatura entre 50 e 60 °C; ou de forma direta, na qual solubilização ocorre a 80 °C. O primeiro método é utilizado quando procura-se evitar a aglomeração da gelatina, o que pode impedir sua dissolução completa. Após o resfriamento, a solução de gelatina retorna a estrutura de tripla-hélice característica do colágeno, formando um hidro gel. Isso acontece, pois as moléculas de água se posicionam nos interstícios e há a formação de pontes de hidrogênio com os grupamentos CO e NH (KATHATH & PARK, 1993).

Assim como outras proteínas, a gelatina é anfotérica, ou seja, pode se comportar como uma molécula aniônica ou catiônica dependendo do pH do meio. Na estrutura de colágeno, parte dos grupamentos ácidos estão em forma de amidas (35%), caracterizando o colágeno como uma proteína alcalina. Como os grupamentos carboxílicos e aminos em proporções diferentes afetam o ponto isoelétrico da gelatina, essa proporção irá definir se em um dado pH a gelatina terá uma carga líquida positiva ou negativa. (DUCONSEILLE et al., 2015; GÓMEZ - GUILLÉN et al., 2011).

O uso da gelatina tem servido como solução para uma variedade de problemas em diversas áreas como a prevenção da separação de fases em congelados ou emulsões esterilizadas, formação de filmes e revestimentos, formação e estabilização de emulsões e espumas. Sua utilização nessas soluções se dá por sua biodegradabilidade, baixo custo e baixa toxicidade. Dependendo do tipo de aplicação, é possível produzi-la em forma de cápsulas, filmes, membranas e até mesmo em micro e nanopartículas.

II.4.2 Goma acácia (arábica)

Comentado [B.1]: Mostrar estrutura

A goma arábica é um tipo de goma, que pode ser definida como polímero de cadeia longa, com peso molecular elevado e com a capacidade de se dissolver ou dispersar em água fria ou quente. As gomas são efetivas como espessantes ou gelificantes somente em emulsões tipo água e óleo, quando em solução com concentrações elevadas. (ZANALONI, 1992).

Também é possível encontrar a goma arábica com a nomenclatura de goma acácia ou goma indiana. Este nome é dado graças a sua origem, pois esse biopolímero é obtido através do exsudato gomoso de árvores de acácia. Sua obtenção é feita a partir da incisão no tronco e galhos da planta. Cerca de 75% da produção da goma vem da espécie Acácia Senegal (THEVENET, 1988).

Conhecida como uma das gomas mais antigas que se tem registro, segundo Osman et al. 1993, a goma arábica era usada no processo de mumificação no Egito, milhares de anos antes de Cristo. Recentemente, um de seus usos mais comuns é na colagem de selos postais além de seu amplo uso em aditivos alimentares. (PRAKASH & MANGINO, 1990; BUFFO et al., 2001).

Sua composição pode ser descrita pela combinação de uma mistura complexa de sais (íons cálcio, magnésio e potássio) do ácido arábico e um complexo polissacarídeo de estrutura altamente ramificada contendo pequenas quantidades de material nitrogenado. Sua estrutura

Algumas propriedades importantes são características da goma arábica, como sua capacidade de adsorção a superfícies lipofílicas, atuação como um agente formador de películas e ainda a formação de um coloide protetor contra a oxidação de voláteis. Além disso, ela não possui cheiro ou sabor, apresenta baixa viscosidade, alta solubilidade em água e comportamento newtoniano em soluções de concentração inferior a 35%. (LOPERA et al., 2009; KAUSHIK; ROOS, 2007; BUFFO; FINNEY, REINECCIUS, 2001; SANCHEZ et al., 2002). Em concentrações mais elevadas, próximo a 50%, a solução ainda é formada, mas dispersão apresenta o comportamento de gel. (BE MILLER; WHISTLER, 1996).

Devido a estas propriedades, a goma arábica é amplamente utilizada no ajuste de textura de alimentos processados, atuando no controle da viscosidade, na estabilidade de emulsões, na suspensão de partículas, na cristalização e na inibição da liberação de água, mantendo a hidratação do alimento. (GLICKSMAN, 1982). Coloides e gomas de base vegetal são frequentemente usadas na indústria alimentícia por serem comestíveis e se adequarem ao seu uso como materiais de parede na produção de microencapsulados, sendo a goma arábica e a gelatina os formadores de um dos complexos mais efetivos que se tem conhecimento. (ARSHADY, 1993).

Um aspecto importante para a microencapsulação é a carga superficial da molécula, que se apresenta negativamente carregada até em pHs baixos. A partir de valores de pH menores que 2,2, a molécula começa a apresentar a redução da dissociação dos grupos carboxilas. (ROSENBERG; TALMON, KOPELMAN, 1990).

Tradicionalmente, o uso do sistema gelatina-goma arábica em processos de coacervação vem sido utilizado em diversos estudos ao longo dos anos. Desde seu uso em uma das primeiras aplicações comerciais na produção de papel cópia sem a utilização de carbono em 1956 por Green e Schleicher em 1956, até em diversos estudos ao longo das décadas. (WEINBRECK, 2004). É possível encontrar diversos trabalhos que investigam esse uso em (LUZZI AND

GERRAUGHTY 1964, 1967, MADAN ET AL. 1972, 1974, NEWTON ET AL. 1977,
NIXON AND NOUH 1978, TAKENAKA ET AL. 1980, TAKEDA ET AL. 1981, FLORES
ET AL. 1992, JIZOMOTO ET AL. 1993, PALMIERI ET AL. 1996, 1999, IJICHI ET AL.
1997, LAMPRECHAT ET AL. 2000A, B, 2001)

Capítulo III. Materiais e Métodos

III.1 Caracterização da Gelatina

III.1.1 Definição do Ponto Isoelétrico - Potencial Zeta

A gelatina utilizada foi caracterizada pela análise de potencial zeta, com o objetivo de identificar o ponto isoelétrico (PI). Para isso, foram preparadas 4 amostras de solução de gelatina com diferentes valores de pH para a elaboração de uma curva.

O preparo da amostra foi feito com a dissolução de 10g de gelatina em 100 mL de água destilada em um bécher em aquecimento até 80°C com agitação constante até a solubilização completa da gelatina. Em seguida foram adicionados 100 mL de água destilada gelada, abaixo de 10°C e a solução foi mantida em agitação por uma hora.

Para a leitura, a solução foi diluída 20x em água milli-Q à temperatura ambiente e o pH de cada uma foi ajustado com auxílio de soluções de HCl e NaOH com a concentração de 0,5 e 0,1 mol/L. As amostras em solução foram dispostas em uma cubeta de vidro, previamente higienizada, a qual foi inserida no porta amostras do equipamento. As leituras foram feitas cinco vezes para cada triplicata no equipamento Zeta Plus Analyser Brookhaven Instruments Corporation, utilizando o modelo de Smoluchowski, com aproximação de Debye-Huckel do laboratório PAM (Laboratório de Permeação Através de Membranas do PEQ/COPPE) e a curva apresentada considera os pontos médios dos valores válidos, ou seja, dentre as 5 leituras, apenas as que tinham valores aceitáveis de erro e largura foram consideradas.

A caracterização do potencial zeta da gelatina foi utilizada na investigação do ponto isoelétrico pois seu valor varia de acordo com a carga da superfície do material, da natureza e da composição do meio que a circunda. Com a variação do pH do meio se busca avaliar

como isso interfere na distribuição de íons na vizinhança das moléculas de gelatina buscando o ponto em que a carga líquida da molécula se aproxima de zero. Nessa condição pode-se qualificar como ponto isoelétrico do material em análise.

III.2 Preparo das microesferas de PVAc-co-MMA para a encapsulação

A síntese das microesferas segue a metodologia de OLIVEIRA et al. (2015). Após o processo de liofilização utilizado na secagem das micropartículas, o material a ser encapsulado foi armazenado em local seco e sem presença de luz. A preparação do material a ser encapsulado se iniciou pelo peneiramento com auxílio de peneiras de 300 a 220 μm para garantir um tamanho de partícula médio controlado e evitar que este pudesse evitar a eficiência do processo. O material peneirado foi armazenado nas mesmas condições descritas anteriormente, e antes de cada experimento ser realizado, o material foi levemente macerado. O material em estoque possui uma tendência em formar aglomerados, então para garantir uma melhor dispersão das partículas no meio aquoso, um cadinho e um pistilo foram utilizados na maceração manual do material polimérico.

III.3 Coacervação Simples

III.3.1 Preparo da solução com material de parede

Com o objetivo de avaliar a proporção ideal entre o material de parede, gelatina, e o material do núcleo, microesferas de PVAc-co-MMA, foram preparadas duas soluções em concentrações diferentes. Dois béqueres contendo 100 mL de água destilada, cada, foram aquecidos até o atingir a temperatura de 70 °C com agitação magnética constante. Em seguida, foram pesados 5 g e 10 g de gelatina em pó e a cada amostra foi adicionada água aquecida de forma gradual, a fim de evitar a formação de aglomerados, facilitando a solubilização da gelatina, alcançando a homogeneização do meio e a formação do gel.

III.3.2 Produção dos Coacervados

Foram pesadas 20g de microesferas a serem encapsulada e adicionadas a um béquer contendo 100 mL água destilada resfriada por banho de gelo a 10 °C. O aquecimento da solução contendo os materiais de parede foi interrompido e a solução resfriada de microesferas foi adicionada ao meio, garantindo que todo o material a ser encapsulado foi transferido. A alteração de temperatura é um fator importante na coacervação, pois sua redução diminui a solubilidade da cápsula, facilitando a deposição do material de parede nas micropartículas. (BADKE, 2017)

Após a adição das micropartículas à solução de gelatina, o pH do meio foi ajustado com auxílio de uma solução de ácido acético 0,5 M. Foram realizados experimentos com pH 5 e pH 7 com o objetivo de investigar a influência desse parâmetro no processo de coacervação. Em seguida, o meio foi mantido sob agitação constante e a temperatura ambiente durante 60 min. Após esse tempo, foi realizada a filtragem a vácuo das micropartículas e as mesmas deixadas em repouso em estufa para secagem final, seguida de estocagem.

III.4 Coacervação Complexa

III.4.1 Preparo da Solução com Material de Parede

Inicialmente foram preparadas as soluções dos materiais utilizados na coacervação, gelatina e goma arábica, separadamente, que posteriormente quando misturadas iniciam o processo de encapsulação.

Para o preparo da solução de goma arábica, foram pesados 2,5 g do material em um béquer e adicionados gradualmente 50 mL de água destilada a 25 °C. Com um auxílio de um bastão de vidro, a goma foi dissolvida de forma a evitar aglomerados e logo levada a agitação,

utilizando um agitador magnético, onde permaneceu por pelo menos 24 horas antes do procedimento de encapsulação.

Após esse tempo, o pH da solução foi ajustado para um valor acima de 5,5, com o objetivo de garantir que o pH da solução estivesse acima do ponto isoelétrico (PI) da gelatina, o que poderia causar a coacervação antecipada.

Em seguida, para o preparo da solução de gelatina, um béquer com 50 mL de água destilada a 25 °C foi aquecido até a temperatura de solubilização da gelatina (40 ou 60 °C), mantendo agitação constante. Em seguida, pesou-se 2,5 g de gelatina em um vidro de relógio e foi adicionada gradualmente a água aquecida.

Após sua solubilização, o pH da solução foi ajustado para um valor acima de 5,5, ou seja, em um valor acima do ponto isoelétrico (PI) da gelatina, garantindo que a gelatina no meio estivesse carregada negativamente. Como a goma arábica em solução possui carga negativa, mesmo a gelatina sendo uma substância anfótera, em um pH acima do seu PI, ela apresenta carga negativa também, evitando a atração entre as moléculas das duas substâncias.

III.4.2 Produção dos coacervados

Após o preparo das duas soluções, a solução de goma arábica foi adicionada a solução de gelatina aquecida e mantida em aquecimento (40 ou 60 °C) e agitação durante 5 minutos. Para o recobrimento das microesferas de PVAc-co-MMA, este material foi peneirado utilizando as peneiras de 300 e 220 µm de diâmetro para garantir uma maior uniformidade nos tamanhos de partícula. Deste material, foi pesada a quantidade a ser encapsulada (5 ou 10 g) em um vidro de relógio e adicionada a um béquer contendo 100 mL água destilada resfriada por banho de gelo a 10 °C.

Após 5 minutos de agitação das duas soluções de parede, garantindo a completa mistura das

substâncias, o aquecimento foi interrompido e a solução resfriada de microesferas foi adicionada à solução contendo os dois materiais de parede, garantindo que todo o material a ser encapsulado foi transferido. Assim como na coacervação simples, a alteração de temperatura é um fator importante, pois sua redução diminui a solubilidade do complexo e facilita a deposição do material de parede nas micropartículas. (BADKE, 2017)

Com agitação constante e imediatamente após a adição das micropartículas, o pH da solução foi ajustado com uma solução de HCl 0,1 M para valores abaixo de 5,2, garantindo que a gelatina apresentasse carga positiva em solução, causando a atração entre moléculas de gelatina e goma arábica, envolvendo o material do núcleo. O sistema foi mantido sob agitação durante 1 hora a temperatura ambiente, e em seguida levado ao resfriamento em geladeira, sem agitação, por mais 30 minutos.

O fluxograma do processo de microencapsulação por coacervação complexa pode ser observado na Figura III-1.

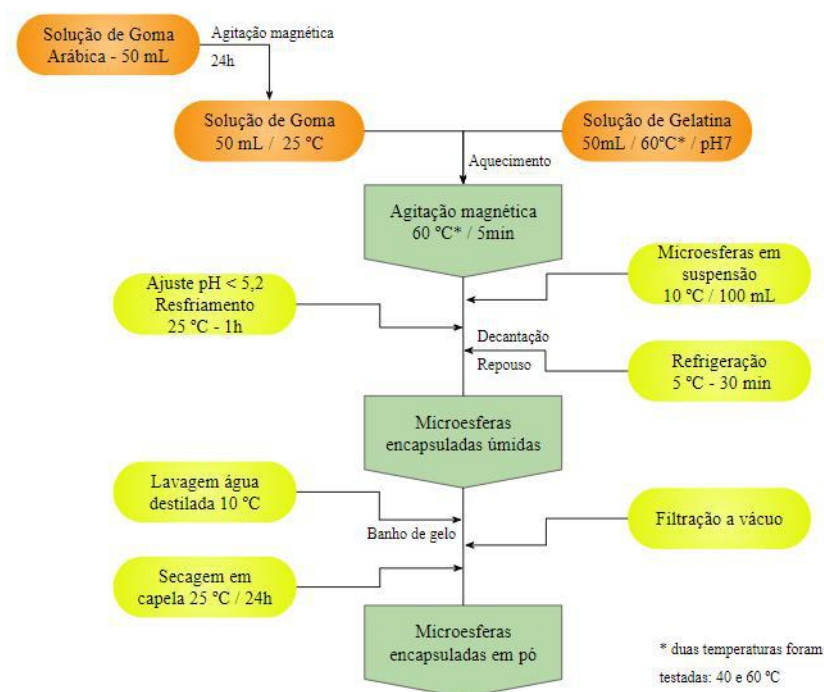


Figura III-2- Fluxograma do processo de produção de microesferas de PVAc-co-MMA encapsuladas por coacervação complexa

Comentado [B.2]: Esperou a T chegar a 60? Pq quando mistura a t cai

III.4.3 Filtração e Secagem

Após o resfriamento, foi realizada filtração a vácuo com auxílio da lavagem com água resfriada, 10 °C. A amostra apresentou a formação de três fases na qual, inicialmente, foi filtrado o sobrenadante, em seguida a camada gelatinosa formada foi retirada com auxílio de espátula e posta para secagem em placa de petri em capela. O material depositado no fundo foi filtrado e lavado com água destilada, seguindo por uma raspagem do papel filtro para coleta do material. Em seguida, foi depositado em placa de petri para secagem em capela por pelo menos 24 horas antes de ser macerado, e armazenado em sacos herméticos, como é se observa na Figura III-2.



Figura III-3 - Amostras de micropartículas obtidas após o tratamento de coacervação complexa

Para a otimização da microencapsulação, buscando condições favoráveis a coacervação, foram produzidas 4 microcápsulas diferentes de acordo com as condições apresentadas na Tabela III-4, em triplicata. Duas variáveis foram analisadas: Temperatura e proporção parede núcleo, com base na literatura científica.

Tabela III-1- Otimização das condições de microencapsulação

Amostra	Proporção parede/núcleo	Temperatura (°C)
GAG1	1:1	40
GAG2	1:1	60
GAG3	1:2	40
GAG4	1:2	60

III.5 Caracterização das Micropartículas

As micropartículas possivelmente encapsuladas utilizando a técnica de coacervação simples e coacervação complexa foram caracterizadas por Microscopia Óptica, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Distribuição de Tamanho de Partícula.

O preparo das amostras para cada caracterização segue a metodologia descrita nos itens a seguir.

III.5.1 Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR

Foram obtidos espectros de FTIR de cada condição testada além da amostra usada como branco. Esta continha microesferas de PVAc-co-MMA sem nenhum tratamento de superfície, apenas secagem. O objetivo desta análise foi avaliar, qualitativamente, mudanças na composição química do material pré e pós tratamento nas diferentes condições testadas.

O preparo das amostras para análise foi realizado inicialmente pela produção de pastilhas de KBr compactadas com a amostra sólida e seca. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro FT-IR (Mid-IR), modelo Nicolet 6700 (ThermoElectron Corporation, Massachusetts, USA), em uma faixa de observação de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} , onde cada espectro apresentado representa o resultado de 64 varreduras e de fundo e as varreduras das amostras foram coletadas 128 vezes. A partir dos espectros coletados, foi calculada uma média das varreduras feitas para cada amostra.

Esta metodologia se aplica com a finalidade de comparar o produto do processo de coacervação com o branco. O espectro de infravermelho de uma amostra pode ser dito como sua impressão digital, devido a absorção em frequências correspondentes a vibração das

ligações de uma molécula. Como cada molécula representa uma única combinação de átomos ligados entre si; dessa maneira, dois materiais de composição diferentes não podem ter o mesmo espectro de infravermelho. Sendo assim possível identificar alterações na composição; por meio da detecção dos grupos funcionais característicos de cada composto puro e pela correlação das curvas obtidas em cada espectro.

III.5.2 Microscopia eletrônica de varredura - MEV

A superfície das micropartículas produzidas foi observada através da análise de a microscopia eletrônica de varredura (MEV), assim como a amostra sem o procedimento da coacervação. O objetivo dessa análise foi avaliar visualmente alterações presentes na superfície das microesferas, como sua textura e presença de deformações. Além disso, avaliar a presença de aglomerados na amostra tratada.

O preparo das amostras para análise foi realizado com a metalização das micropartículas pela deposição de uma fina camada de ouro. Foi utilizado um metalizador Emitech K550 e as amostras foram mantidas por dois minutos sob corrente de 35 mA e taxa de deposição de 50nm/min e tamanho de partícula de 5 nm. A metalização ocorre com a finalidade de garantir uma boa resolução das imagens obtidas, pois o aumento da condução da superfície do material favorece a leitura. A realização da análise foi feita em um microscópio eletrônico de varredura da marca JEOL Milestones (modelo 6460LV), equipado com filamento de tungstênio e resolução de 10 nm, operando com tensão máxima de 30 kV.

III.5.3 Distribuição de tamanho de partícula

A distribuição do tamanho de partículas foi investigada através da técnica de difração de luz. Nesta técnica é possível medir a distribuição pela variação angular da intensidade de luz espalhada pelas partículas dispersas na amostra. Basicamente, pode-se observar que partículas maiores possuem uma menor capacidade de dispersar a luz, causando apenas uma

pequena variação no ângulo do feixe, enquanto partículas menores dispersam a luz em ângulos grandes. (PAPINI, 2003). A distribuição apresentada aproxima o resultado assumindo que as micropartículas seguem um modelo esférico de volume similar.

A medição das distribuições do tamanho de partícula foi realizada utilizando o equipamento Mastersizer 2000 (Malvern, Worcestershire, REINO UNIDO). Um laser de hélio-neon atuava como fonte de luz, com comprimento de onda de 632,8 nm, permitindo a caracterização de tamanhos de partícula na faixa de 0,01 a 3000 μm . O preparo das amostras foi basicamente dispersar as micropartículas em água destilada, dentro de um recipiente do próprio equipamento onde as medições foram realizadas à temperatura ambiente.

III.5.4 Ângulo de Contato

A alteração no ângulo de contato das partículas foi investigada através do método de Wilhelmy. Este método é frequentemente utilizado na medição da molhabilidade entre um líquido e uma superfície sólida. O valor do ângulo de contato observado irá depender de forças de adsorção e dessorção de acordo com o avanço e recuo do líquido sobre uma superfície sólida. (EXTRAND, 2002; REDON, 2005)

Este método consiste na imersão de uma fina pastilha de material sólido em um líquido, pendurada por um fio de metal ligado a uma balança. A medida que a amostra se aproxima da superfície do líquido, a balança detecta a diferença de peso quando o contato é atingido, iniciando a medição. Com 5 mm de profundidade de imersão da pastilha, a medição é finalizada. (RUIZ e ESPERIDIÃO, 2005)

A medição do ângulo de contato foi feita pelo equipamento da KrussProcess (modelo K100, Hamburgo-Alemanha), que além de medir o ângulo de contato também pode ser utilizado como tensiômetro. As medidas foram feitas em cinco ciclos a uma velocidade de 0,20 mm/seg. O preparo das amostras foi feita pela produção de pastilhas de

aproximadamente 12,6 mm de diâmetro e 1,7 mm de espessura.

Capítulo IV. Discussão e Resultados

IV.1 Caracterização da gelatina

IV.1.1 Potencial Zeta

Quando um material particulado está disperso em um líquido, geralmente há a formação de uma carga elétrica superficial. É chamada de camada de Stern a camada formada na superfície da partícula, que pode estar carregada positiva ou negativamente, dependendo da natureza da partícula. Os íons presentes no meio formam uma segunda camada, externa a camada de Stern, composta por contra-íons, chamada Camada Difusa. Por conta da mobilidade dos íons em solução há a formação de um plano de cisalhamento, onde o potencial elétrico é reduzido conforme o afastamento da camada de Stern. O valor do potencial elétrico em relação a referência no plano de cisalhamento pode ser medido, sendo este o que chamamos de Potencial Zeta. (DA SILVA et al., 2015; HONARY & ZAHIR, 2013). O esquema ilustrativo pode ser observado na Figura IV-1.

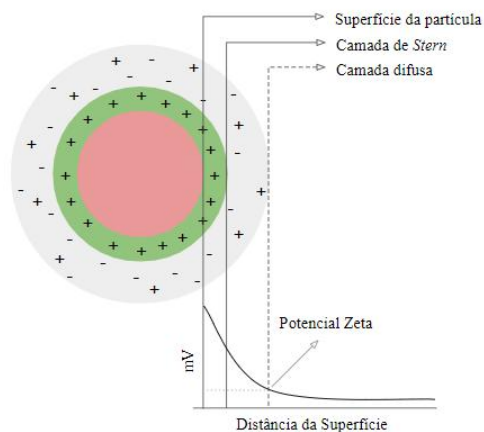


Figura IV-1 - Esquema representativo da dupla camada elétrica formada em partículas dispersas em solução (adaptado de DA SILVA et al., 2015)

Uma vez que o potencial muda de intensidade conforme a distância e muda de sinal conforme a polaridade, pode-se dizer que o Potencial Zeta é uma medida indireta da carga superficial de uma partícula. Sendo assim uma forma de encontrar o valor de pH ideal para realizar a técnica de coacervação utilizando a gelatina e caracteriza-la como Tipo A ou tipo B, que apresentam PI entre 7 – 9 e 4,8 - 5,2 respectivamente. Para isso, foi realizada uma análise do comportamento do potencial zeta da gelatina em função do pH do meio. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela IV-1.

Tabela IV-2 - Resultados do pontencial zeta da gelatina

pH	A	B	C	Potencial ζ (mV)
4	12,86	19,51	16,28	16,22
5	0,92	1,14	0,80	0,95
6	-5,22	-3,35	-3,10	-3,89
7	-6,49	-7,74	-7,28	-7,17

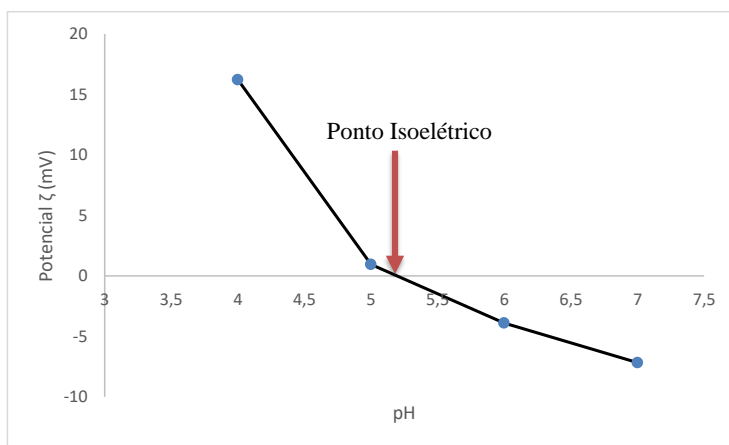


Figura IV-2 – Gráfico do potencial zeta x pH do meio e indicação do PI

A figura IV-2 apresenta o momento em que o potencial é igual a zero, caracterizando o valor do ponto isoelétrico da gelatina. É possível dizer que esta é uma gelatina tipo B e que em valores de pH menores que 5,2 esta molécula se encontrará carregada positivamente. (GMIA, 2012). Por ser uma molécula anfótera, acima deste valor a mesma se encontra carregada negativamente. Esta variação ocorre devido aos seus grupamentos ácidos e básicos, grupos carboxílicos e aminas, que quando em mesma proporção se anulam, ou seja, a carga superficial gerada pelos grupamentos ácidos se iguala à carga gerada pelos grupamentos básicos.

Na coacervação simples, onde só a gelatina é utilizada como material de parede, o parâmetro de controle principal do processo é o pH, uma vez que esse define se as moléculas de gelatina estarão atraídas ou não pela superfície das microesferas, composta principalmente de PVAc-co-MMA. Segundo Su (2008), as interações íon-dipolo da gelatina com o PVA acontecem quando os grupos amina da gelatina, carregados positivamente, são atraídos pelos grupos hidroxilas. Sendo assim, para esse tipo de gelatina, condições em pH neutro, ou seja, acima do PI da gelatina, são favoráveis para encontrar os resíduos de aminoácido carregados negativamente, no caso, os grupos carboxílicos desprotonados, causando a repulsão pelos grupos hidroxila presentes. (ABRAHÃO, 2017)

Na coacervação complexa, existe a preocupação em relação a formação do complexo goma arábica-gelatina. A goma arábica, por ser um polissacarídeo aniônico, apresenta carga superficial negativa em solução, inclusive em condições ácidas. Esse comportamento dos materiais de parede permite que a variação de pH possa ser utilizada como forma de controle do início e da dimensão da interação que ocorre na formação do complexo eletrolítico. A encapsulação da microesfera de PVAc-co-MMA ocorre pela atração dos grupos amina da gelatina aos seus grupos hidroxila, como mencionado anteriormente, quando o pH é levado as condições ácidas que dão início ao processo de formação dos coacervados.

IV.2 Síntese das micropartículas encapsuladas

IV.2.1 Avaliação do Tamanho de Partícula - Coacervação Simples

A distribuição do tamanho de partícula do material foi medida a fim de se obter informações a respeito da aglomeração que as microesferas apresentam quando em contato com a água e a respeito da espessura da camada formada. Como foi selecionada uma faixa de tamanho para as micropartículas que foram submetidas ao tratamento, através do peneiramento, é esperado que as partículas apresentem uma distribuição próxima da faixa selecionada, entre 220 e 300 μm .

A distribuição das amostras com pH 5 – G1 e pH 7 – G2 em triplicata (A, B e C) analisadas e a comparação com a amostra liofilizada são apresentadas na Figura IV-3:

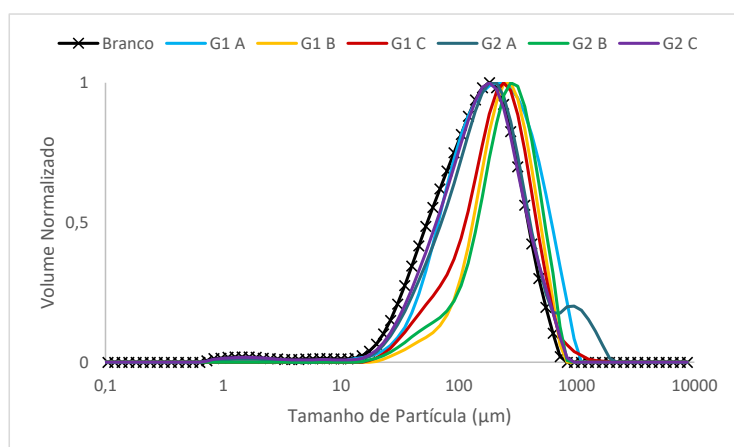


Figura IV-3 - Distribuição de do Tamanho de Partícula da Amostra após o Tratamento de Coacervação Simples

É possível observar pouca variação das distribuições obtidas pela análise das amostras tratadas em relação a amostra de microesferas não tratada, apenas liofilizada. As amostras produzidas em meio neutro apresentaram um leve deslocamento para direita, podendo significar um aumento da aglomeração, enquanto as amostras produzidas em meio ácido

apresentaram distribuição bem semelhante a amostra sem tratamento.

Não era esperado um aumento significativo no tamanho de partículas devido ao recobrimento, dado que a camada superficial formada não precisa ser espessa para garantir as propriedades de superfície que são objetivo deste trabalho, evitando a aglomeração. Dado as semelhanças, não foi possível afirmar que houve mudança significativa na superfície das microesferas que produzisse algum resultado que mostrasse um comportamento desejado, atuando de forma a evitar a aglomeração nas microesferas.

IV.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - Coacervação Simples

Informações a respeito da superfície da partícula, formato, rugosidade, porosidade podem ser obtidas através das imagens produzidas pela microscopia eletrônica de varredura.

As imagens de cada amostra após o tratamento e do material apenas liofilizado são apresentadas na Figura IV-4:

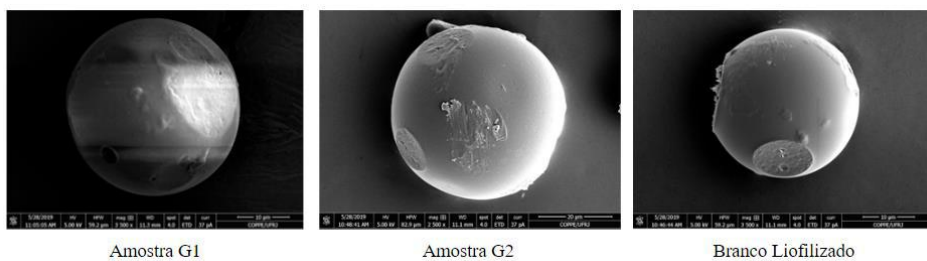


Figura IV-4 – Imagens da Superfície das microesferas após o Tratamento de Coacervação Simples

A Figura IV-4 contém as imagens de MEV das microesferas encapsuladas com gelatina variando o pH e da amostra antes do processo de coacervação. Como pode ser observado, todas as amostras apresentam morfologia esférica uniforme com deformações em forma de

crateras, possivelmente provenientes da aglomeração que ocorre na síntese das microesferas; superfície lisa ou com pouca rugosidade e porosidade. Ainda que as condições da microencapsulação tenham sido variadas, não é possível distinguir com clareza alguma alteração significativa na superfície da partícula.

IV.2.3 Aspectos visuais – Coacervação Complexa

Após a refrigeração, o meio formou um sistema bifásico, onde havia uma fase sobrenadante gelatinosa e uma depositada ao fundo sólida, onde se encontravam as micropartículas a serem encapsuladas. Independente da proporção núcleo/material de parede utilizado, o que pode caracterizar um excesso do material de parede em solução.

O repouso antes da filtração fez com que a fase gelatinosa se separasse do líquido sobrenadante, formando um filme entre o líquido e o sólido depositado ao fundo. Este filme não foi filtrado e foi deixado apenas para a secagem. É possível observar esse sistema trifásico na Figura IV-5.



Figura IV-5 - Sistema de microencapsulação por coacervação complexa após a refrigeração

Ao final da filtração, as micropartículas obtidas continuavam com a coloração branca como antes do tratamento, porém agora as mesmas apresentaram um aspecto brilhoso e reluzente.

O mesmo aspecto permaneceu após a secagem. Não foi possível capturar esse aspecto com a câmera utilizada, mas sua característica como pó permaneceu após o tratamento, como apresentado na Figura IV-6.



Figura IV-6 - Amostra de microencapsulação por coacervação complexa após a filtração

A nomenclatura das amostras para caracterização segue a tabela de otimização de condições:

Tabela IV-3- Nomenclatura de acordo com as condições de microencapsulação

Amostra	Proporção parede/núcleo	Temperatura (°C)
GAG1	1:1	40
GAG2	1:1	60
GAG3	1:2	40
GAG4	1:2	60

IV.3 Caracterização das Micropartículas

IV.3.1 Composição do material

Os espectros de infravermelho são capazes de fornecer informações a respeito das composição química, pois através dessa técnica é possível identificar grupamentos presentes

no material analisado através de bandas características. No caso dos materiais de parede utilizados, as bandas características dos grupamentos que os compõem seguem de acordo com a Tabela IV-3:

Componente	Banda (cm ⁻¹)	Ligação	Grupamento característico
Goma Arábica	3284	-OH (estiramento)	
	2925	CH ₂	
	1604	C=O	Ácido carboxílico
	1414	C=O	Ácido glucurônico
	1014	-CO-	Ácido carboxílico
Gelatina	3298	-NH-	Amida A
		-OH	
	2838	=C-H	Amida B
	1637	C=O	Amida I
	1552	C-N	Amida II

Tabela IV-4 - Bandas características dos materiais de revestimento empregados na formação das microcápsulas (DONG et al., 2014; YANG et al., 2015).

Para identificar alterações na composição do material de origem, foi feita a análise do material a ser encapsulado, como apresentado no espectro na Figura IV-7:

Comentado [B.3]: Trocar esse gráfico

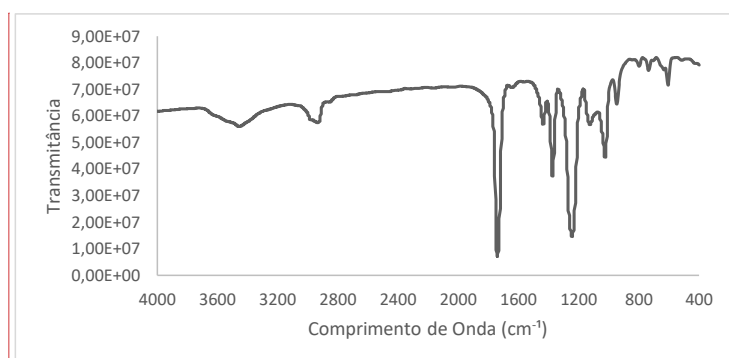


Figura IV-7- Espectro FTIR amostra de PVAc-co-MMA liofilizada

Na Figura IV-7 é possível observar que dentro das bandas características (principalmente na faixa de 1552 e 1637 cm^{-1} para gelatina e 1014 e 1414 cm^{-1} para a goma arábica), onde se busca observar a presença ou ausência de picos com o objetivo de verificar a eficiência do recobrimento das microesferas, existem outros picos característicos do material do núcleo, o que pode dificultar a identificação.

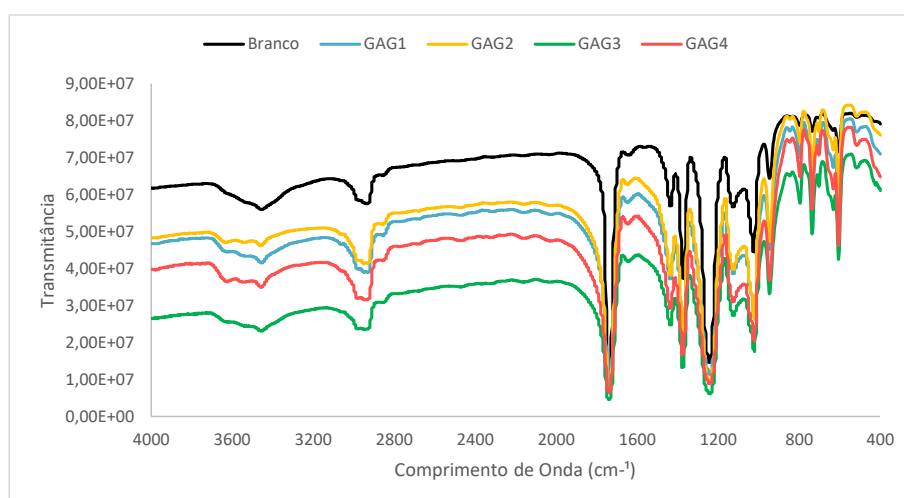


Figura IV-8 - Comparação de espectros FTIR das amostras em diferentes condições

Para efeitos comparativos, na Figura IV-8 é possível observar o espectro do material do núcleo antes do procedimento de encapsulação e os espectros das amostras em diferentes condições. Embora não seja possível observar alterações significativas em relação aos espectros, quando as transmitâncias são observadas em relação a transmitância do material antes do tratamento é identificada uma alteração na composição, como mostra o gráfico na Figura IV-19.

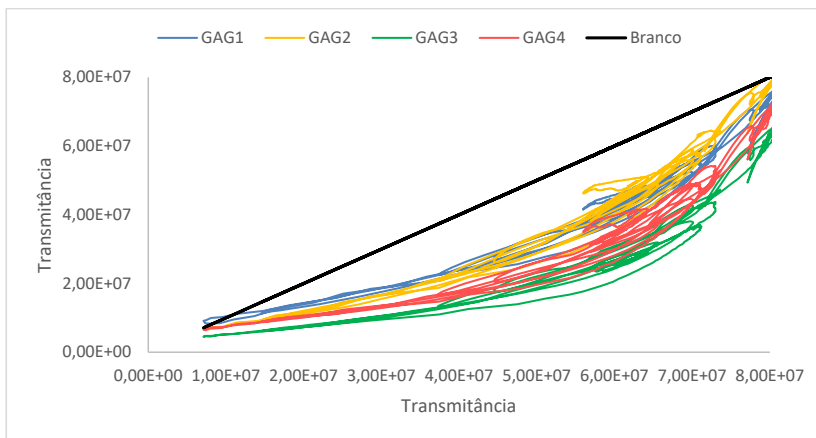


Figura IV-9 - Comparação de sinal de transmitância entre amostras encapsuladas e o branco

Assim, é possível observar que todas as amostras possuem algum grau de alteração de composição em relação às partículas originais. As amostras GAG3 e GAG4, que apresentavam proporção 1:2 do material de parede/núcleo apresentaram uma variação maior em relação a amostra original, 85% e 90% de correlação respectivamente, o que pode indicar uma variação na superfície do material, mesmo com uma disponibilidade de material de parede menor do que nas amostras GAG1 e GAG2.

Como a coacervação é uma técnica de microencapsulação capaz de formar partículas de até 90% compostas por núcleo, é possível que a baixa concentração de material de parede no material como um todo possa ter influenciado no destaque dos picos nas faixas de bandas característica em relação aos picos originais das micropartículas de PVAc-co-MMA. Apesar de ter um forte indício de que houve alteração a composição da partícula, outras análises se tornam necessárias para afirmar que as micropartículas foram encapsuladas.

IV.3.2 Ângulo de contato

O ângulo de contato (θ) é uma propriedade que define a hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade de um material através da medida quantitativa da molhabilidade do sólido em relação ao

líquido, nesse caso a água. Esse ângulo pode ser definido pelo ângulo formado entre as interfaces líquido-vapor e sólido-líquido em um sistema sólido-líquido-vapor. (DECKER et al, 1999). A Figura IV-10 apresenta o ângulo medido.

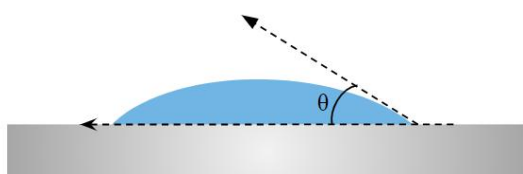


Figura IV-10- Esquema do ângulo de contato de uma gota com uma superfície sólida

O ângulo de contato da superfície dos materiais estudados foi investigado com o objetivo de se obter informações sobre uma propriedade intrínseca da superfície do material, ao invés da micropartícula como um todo. Pode-se dizer que a variação do ângulo de contato entre a micropartícula de PVAc-co-MMA antes do tratamento e as amostras estudadas representa uma variação também do material que compõe a sua superfície.

Visto isso, os resultados obtidos para o ângulo de contato do material antes do tratamento e as variações dos tratamentos depois seguem a Tabela IV-4:

Tabela IV-5 – Resultados do ângulo de contato entre pastilhas de microesferas e água

Amostras	Ângulo	Varição
Branco	$36,2 \pm 0,05$	0
GAG1	$34,7 \pm 0,05$	de 4,0% a 4,3%
GAG2	$27,3 \pm 0,05$	de 24,5% a 24,7%
GAG3	$38,9 \pm 0,05$	de 7,6% a 7,3%
GAG4	$27,7 \pm 0,05$	de 23,3% a 25,6%

É possível observar que algumas das amostras apresentaram uma variação relevante em relação à amostra original. Principalmente as amostras GAG2 e GAG4 que apresentaram próximo a 9 graus de variação. Um comportamento atípico pode ser observado na amostra GAG3, onde o ângulo de contato sofreu um leve aumento, o que pode acontecer devido a algum tipo de impureza na fabricação da pastilha. Considerando uma margem de erro de 3 graus, é possível sugerir que as amostras GAG1 e GAG3 não apresentaram variação significativa em relação ao ângulo de contato referente ao PVA presente na superfície das microesferas de PVAc.

Comentado [B.4]: O erro do método é muito grande pra poder afirmar algo

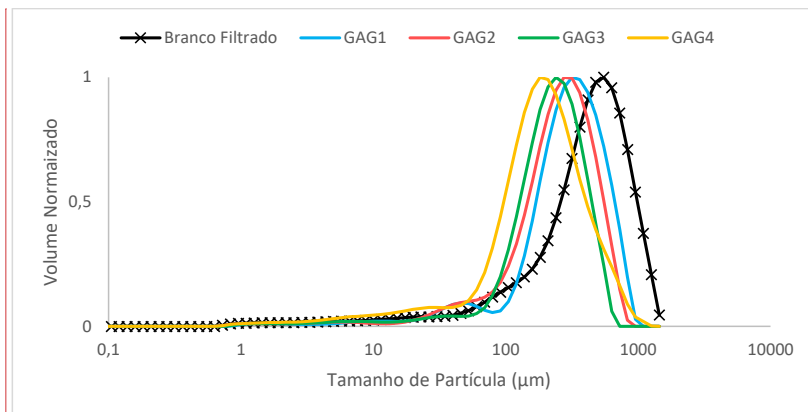
Comentado [B.5]: Mudar esse gráfico – tirar grade

IV.3.3 Avaliação do Tamanho de Partícula - Coacervação complexa

A distribuição do tamanho de partícula do material foi medida a fim de se obter informações a respeito da aglomeração que ocorre quando as micropartículas de PVAc-co-MMA entram em contato com a água. Como foi selecionada uma faixa de tamanho para as micropartículas que foram submetidas ao tratamento, através do peneiramento, é esperado que as partículas estejam com uma distribuição próxima da faixa selecionada, entre 220 e 300 μm .

Com essa informação em vista, é possível observar esse tipo de comportamento nas amostras em análise através das distribuições apresentadas na Figura IV-11:

Comentado [B.6]: Colocar escala no eixo x



Comentado [B.7]: Filtrado?

Figura IV-11 - Distribuição de do Tamanho de Particula da Amostra após o Tratamento de Coacervação Complexa

A dispersão é um fator importante na análise de partículas, pois quando há uma boa dispersão agregados e aglomerados tem menos risco de serem interpretados como partículas individuais. (GERMAN, 1996). Esse risco está particularmente presente na amostra do branco pois como já avaliado por OLIVEIRA, 2019, quando filtrado o material apresenta problemas de aglomeração, formando placas de microesferas agregadas que mesmo após a maceração não são completamente separadas.

As distribuições das amostras que passaram pelo processo de encapsulação se apresentam concentradas em valores próximos a 300 µm ou menor. Destaque para as amostras GAG3 e GAG4 que apresentaram o menor tamanho médio. Para fins de comparação, uma amostra de microesferas de PVAc-co-MMA foi apenas ressuspensa em água e filtrada, assim como é feito com as amostras ao final do processo de encapsulação. Esta amostra sem tratamento apresentou o maior volume de partículas na faixa dos 500 µm, o que pode caracterizar a formação de aglomerados pois, assim como as outras amostras, o peneiramento realizado para preparar as microesferas seleciona partículas na faixa de 220 a 300 µm. Com esse aumento significativo no tamanho médio das partículas, claramente deslocado para a direita

e com base mais larga, em uma amostra sem tratamento, existe a possibilidade de ter ocorrido a formação de aglomerados, o que se espera evitar com o processo de encapsulação, refletindo os resultados obtidos na qual as amostra tratadas não apresentam o mesmo comportamento.

Comentado [B.8]: Co mo vc sabe?

Apenas em casos onde a superfície formada pelo complexo gelatina-goma arábica seja espessa o suficiente para alterar seu diâmetro, pode ser esperado o aumento do tamanho da partícula. Para obter essa informação, outras análises são necessárias para investigar se a proporção do núcleo está próxima à 90% , já que a coacervação pode produzir partículas de 40 a 90% de proporção do núcleo, na qual o deslocamento do tamanho médio causado pela espessura da camada formada é pouco relevante.

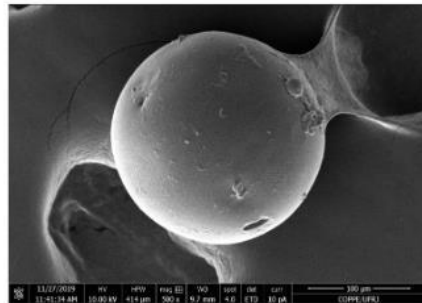
Comentado [B.9]: Pq esse número?

Comentado [B.10]: Discutir sobre difração do feixe de luz

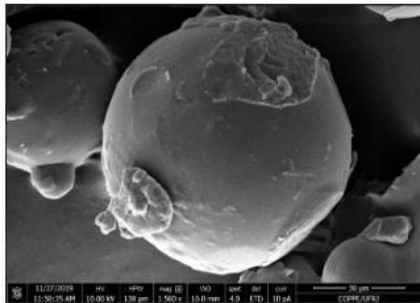
IV.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura - Coacervação Complexa

As fotos obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura são capazes de fornecer informações a respeito da superfície da partícula, formato, rugosidade, porosidade além de trazer algumas informações sobre a dispersão das partículas.

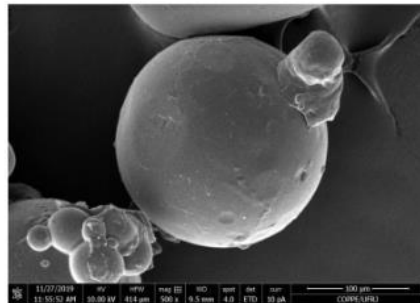
As imagens de cada amostra após o tratamento e do material apenas liofilizado são apresentadas na Figura IV-12:



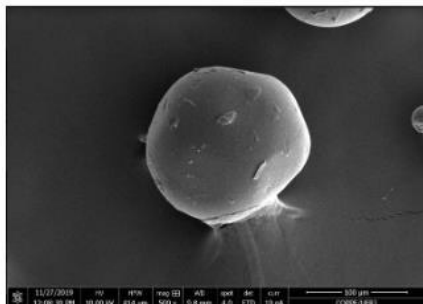
Branco Liofilizado



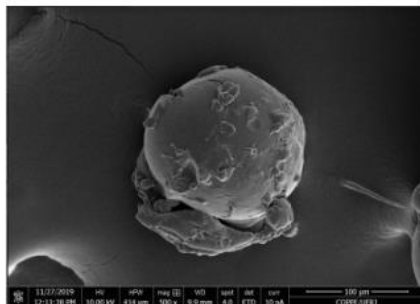
Amostra GAG 1



Amostra GAG 2



Amostra GAG 3



Amostra GAG 4

Figura IV-12 - Imagens da Superfície das microesferas após o Tratamento de Coacervação Complexa

A Figura IV-12 mostra a superfície da amostra de PVAc-co-MMA sem modificação (Amostra Branco) e das amostras após o tratamento. A amostra do branco é possível observar que praticamente não há presença de nenhuma deformação na sua superfície, dando

um aspecto de superfície lisa. É importante observar uma característica relevante das partículas de PVAc-co-MMA que é a uniformidade. Esse aspecto é perdido em diferentes graus nas amostras pós encapsulação. Destaque para a amostra GAG4, que apresenta pouca superfície com aspecto liso, como na amostra inicial.

Em casos de uma encapsulação não uniforme ou parcial, existe a possibilidade dos complexos de gelatina-goma arábica se formarem se depositando na superfície do material, dando um aspecto rugoso a esfera, e deixando espaços com superfície ainda lisa, pois não houve a encapsulação total da partícula observada.

A respeito do formato, também é importante observar novamente a uniformidade das partículas de PVAc. A morfologia esférica, próxima a idealidade, é perdida em diferentes intensidades nas amostras pós encapsulação. As amostras GAG1 e GAG2 apresentaram deformações, como se estivessem levemente amassadas, enquanto as amostras GAG3 e GAG4 já não podem mais serem qualificadas como esferas, devido a fortes deformações em sua morfologia.

Esse comportamento pode ser esperado devido a uma encapsulação formando uma casca de espessura irregular, o que faria com que o outro lado apresentasse maior deposição do material de parede, gerando um acúmulo de volume em certas partes da partícula.

Capítulo V. Conclusões Finais

Visando encontrar uma metodologia de recobrimento da superfície de microesferas de PVAc-co-MMA aplicando a técnica de microencapsulação por coacervação, com a gelatina e a goma arábica como materiais de parede, é possível observar resultados que podem indicar o recobrimento.

A amostra GAG4, proveniente da microencapsulação por coacervação complexa utilizando a proporção de núcleo/material de parede em 2:1 e com a temperatura de solubilização da gelatina em 60° C, apresentou maior variação em relação a composição do material antes do tratamento; maior redução no valor do ângulo de contato; maior redução no tamanho médio de partícula; além de apresentar a maior intensidade na deformação da superfície da partícula quando comparada com a amostra de PVAc-co-MMA sem o tratamento. Diante das caracterizações realizadas e dos resultados obtidos, pode-se especular que essas condições são as mais favoráveis para garantir o recobrimento das microesferas.

Como sugestão para trabalhos futuros, é possível investigar uma razão núcleo/material de parede ainda maior, com o objetivo de reduzir a quantidade de material utilizado para encapsular por quantidade de microesferas. Também seria válida a caracterização das micropartículas investigando a espessura da cápsula formada através da análise por Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC). Outra investigação que poderia ser realizada é utilizando as microesferas de PVAc-co-MMA antes de serem liofilizadas, reduzindo ainda mais o seu custo de produção. Além disso, o objetivo do recobrimento é minimizar a aglomeração que ocorre após a síntese, então testes que confirmem que não há entupimento no cateter durante o transporte das micropartículas até a vasculatura alvo a ser embolizada se tornam necessários para garantir o sucesso do tratamento.

Capítulo VI. Referências

ABRAHÃO, Michelle Ferreira da Costa. Desenvolvimento de blendas reticuladas de gelatina e PVA para uso em phantoms para treinamento em procedimentos médicos guiados por ultrassom. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2017.

ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends In Food Science & Technology*, v. 18, n. 5, p. 240-251, 2007.

ARAÚJO, A.L. Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa. 52 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

ARSHADY, R. Microcapsules for food. *Journal of Microencapsulation*, v.10, n.4, p. 413-435, 1993

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

AZEREDO, HMC de. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2008.

AZEVEDO, G. D., Estudo das propriedades de micropartículas de Poli(Acetato de vinilico-Metacrilato de metila) para embolização vascular. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2019.

BADKE, Luiza Brescovici. Síntese e caracterização de microcápsulas de gelatina/goma arábica contendo óleos essenciais ou ácidos graxos de microalgas empregados na cosmetologia pelo método de coacervação complexa. Tese de Mestrado, Universidade

Federal do Paraná (UFPR), Curitiba 2017.

BANU, Nassera S.; MANYONDA, Isaac T. Myometrial tumours. *Current Obstetrics & Gynecology*, v. 14, n. 5, p. 327-336, 2004.

BASILE, Antonio et al. Trisacryl gelatin microspheres versus polyvinyl alcohol particles in the preoperative embolization of bone neoplasms. *Cardiovascular and interventional radiology*, v. 27, n. 5, p. 495-502, 2004.

BARTH, Klemens H.; STRANDBERG, JOHN D.; WHITE, Jr RI. Long term follow-up of transcatheter embolization with autologous clot, oxycel and gelfoam in domestic swine. *Investigative radiology*, v. 12, n. 3, p. 273-280, 1977.

BARBOSA, Leandro de Assis. Estudo experimental dos efeitos da embolização renal com partículas de trisacryl e de polivinil acetato recoberto com polivinil álcool. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2009.

BE MILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O. R. *Food Chemistry*. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1996. cap. 4, p. 157-224.

BEAUJEU, Rémy et al. Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization, II: preliminary clinical evaluation in tumors and arteriovenous malformations. *American journal of neuroradiology*, v. 17, n. 3, p. 541-548, 1996.

BOOKSTEIN, Joseph J.; GOLDSTEIN, Harvey M. Successful management of post biopsy arteriovenous fistula with selective arterial embolization. *Radiology*, v. 109, n. 3, p. 535-536, 1973.

BRAGA, Andréa Helena Ferreira et al. Elaboração e caracterização de filmes coacervados à base de gelatina/quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica. Universidade de

Campinas, Campinas, 2013.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:
[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/REL/REL\[50660-1-19851\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/REL/REL[50660-1-19851].PDF)

BRASIL, Ministério da Saúde [Internet]. Secretaria Executiva. Datasus [acesso em jan. 2020]. Informações de Saúde. Informações epidemiológicas e morbidade. Disponível em:
<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/qiuf.def>

BRASILEIRO, Joana Sofia Lima. Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas. Tese de Doutorado, 2011.

BRASSEL, F.; MEILA, D. Evolution of embolic agents in interventional neuroradiology. *Clinical neuroradiology*, v. 25, n. 2, p. 333-339, 2015.

BUFFO, R. A.; FINNEY, J.; REINECCIUS, G. A. Effects of type of atomization and processing temperatures on the physical properties and stability of spray-dried flavors. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 67, n. 3, p. 1108-1114, 2002.

BUFFO, R. A.; PROBST, K.; ZEHENTBAUER, G.; REINECCIUS, G. A. Effects of agglomeration on the properties of spray-dried encapsulated flavours. *Flavour and Fragrance Journal*, v.17, p.292-299, 2002.

BUTSTRAEN, C. & SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, v.99, p. 608-616, 2014

CHÁVARRI, María; MARAÑÓN, Izaskun; VILLARÁN, María Carmen. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. In: *Probiotics*. IntechOpen, 2012.

CHUA, G. C. et al. Comparison of particle penetration with non-spherical polyvinyl alcohol versus trisacryl gelatin microspheres in women undergoing premyomectomy uterine artery

embolization. *Clinical radiology*, v. 60, n. 1, p. 116-122, 2005.

COLLUCI, C., Custo alto de tratamento alternativo de doença em órgão faz com que paciente de baixa renda se sujeite a riscos de morte e infecção. *Folha de São Paulo*, 2006.

Disponível em: <https://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff2703200611.htm>

COOK, M.T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, v.162, p.56-67, 2012.

DA SILVA, Thaianne Marques et al. Coacervação complexa: uma técnica para a encapsulação de probióticos. *Ciência e Natura*, v. 37, n. 5, p. 49-55, 2015.

DA SILVA, Bruno C. et al. Polyelectrolyte complexes from gum arabic and gelatin: Optimal complexation pH as a key parameter to obtain reproducible microcapsules. *Food hydrocolloids*, v. 46, p. 201-207, 2015.

DE KRUIF, Cornelus G.; WEINBRECK, Fanny; DE VRIES, Renko. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current opinion in colloid & interface science*, v. 9, n. 5, p. 340-349, 2004.

DECKER, E. L. et al. Physics of contact angle measurement. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 156, n. 1-3, p. 177-189, 1999.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, London, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005

DO NASCIMENTO, Daniel Luis. Preparo E Caracterização De Biomateriais De Colágeno E Gelatina Com Adição De Resina De Jatobá. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

DOHERTY, S. B. et al. Application of whey protein micro-bead coatings for enhanced strength and probiotic protection during fruit juice storage and gastric incubation. *Journal of*

microencapsulation, v. 29, n. 8, p. 713-728, 2012.

DONG, Chunfa et al. Synthesis and characterization of monodisperse copper nanoparticles using gum acacia. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, v. 57, p. 12-20, 2014.

DONG, W.; BODMEIER, R. Encapsulation of lipophilic drugs within enteric microparticles by a novel coacervation method. *International journal of pharmaceutics*, v. 326, n. 1-2, p. 128-138, 2006.

DUCEL, V. et al. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. *Colloids and Physicochemical and Engineering Aspects, Amsterdam*, v. 232, n. 2-3, p. 239-247, 2004.

DUCONSEILLE, Anne et al. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 360-376, 2015.

EVREINOVA, T. N. et al. Coacervate systems and origin of life. In: *Cosmo chemical Evolution and the Origins of Life*. Springer, Dordrecht, 1974. p. 201-205, 1974.

EXTRAND, C. W. Water contact angles and hysteresis of polyamide surfaces. *Journal of colloid and interface science*, v. 248, n. 1, p. 136-142, 2002.

FANG, Zhongxiang; BHANDARI, Bhesh. Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, n. 10, p. 510-523, 2010.

FÁVARO-TRINDADE, Carmen Silvia et al. Developments in probiotic encapsulation. *CAB Rev*, v. 6, p. 1-8, 2011.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. Lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the

stomach and in bile. *Journal of Microencapsulation*, London, v. 19, n. 4, p. 485-494, 2002.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.

FIORI, Cintia Zappe; DE OLIVEIRA, Viviani Ruffo. AVALIAÇÃO DE FRUTAS E SUCOS TRATADOS TERMICAMENTE EM FORNO DE MICROONDAS (FM): UMA ALTERNATIVA PARA MINIMIZAR RISCOS MICROBIOLÓGICOS. 2012.

FLORES, R. J. et al. An investigation of internal phase losses during the microencapsulation of fragrances. *Journal of microencapsulation*, v. 9, n. 3, p. 287-307, 1992.

GERMAN, Randall M. A measure of the number of particles in agglomerates. *International journal of powder metallurgy* (1986), v. 32, n. 4, p. 365-373, 1996.

GHARSALLAOUI, A. et al. Properties of spray-dried food flavours microencapsulated with two-layered membranes: Roles of interfacial interactions and water. *Food Chemistry*, v.132, n.4, p.1713-1720, 2012.

GHIARONI, Juraci et al. Embolização das artérias uterinas com partículas de PVA-PVAC esférico como preparo para posterior ressecção cirúrgica de miomas. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 40, n. 5, p. 386-391, 2013.

GLICKSMAN, M. Functional properties of hydrocolloids. In: *Food Hydrocolloids*, Florida, CRC Press, v. 1, p. 219, 1982.

GMIA, *Gelatin Handbook*. Gelatin Manufacturers Institute of America. New York, 2012.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food hydrocolloids*, v. 25, n. 8, p. 1813-1827, 2011.

GOUIN, Sebastien. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.

HATCH, K. D., TAYLOR, P. T., SHINGLETON, H. M., Selective Arterial Embolization for Control of Bleeding in Gynecologic Malignancy, *Gynecologic Oncology*, v. 289, n. 3, pp. 279–289, 1980.

HONARY, Soheyla; ZAHIR, Foruhe. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 1). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 12, n. 2, p. 255-264, 2013.

HORAK, Daniel et al. Hydrogels in endovascular embolization. II. Clinical use of spherical particles. *Biomaterials*, v. 7, n. 6, p. 467-470, 1986.

IJICHI, Kazuya et al. Multi-layered gelatin/acacia microcapsules by complex coacervation method. *Journal of chemical engineering of Japan*, v. 30, n. 5, p. 793-798, 1997.

JACOBS, I.C.; MASON, N.S. Polymer delivery systems concepts. In *Polymeric Delivery Systems*; El-Nokaky; M.A., Piatt, D.M., Charpentier, B.A.Eds.; American Chemical Society: Washington, p.1-17, 1993

JAMEKHORSHID, A.; SADRAMELI, S. M.; FARID, Mohammed. A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 31, p. 531-542, 2014.

JIZOMOTO, Hiroaki et al. Gelatin-acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic drugs and ready disintegration in the gastrointestinal tract. *Pharmaceutical research*, v. 10, n. 8, p. 1115-1122, 1993.

JOLLEY, Sue. An overview of uterine fibroids. *Nursing Standard*, v. 24, n. 6, 2009.

JYOTHI SRI.S, SEETHADEVI, A.; PRABHA, K.S., MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P., 2012, "Microencapsulation: a review", *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, v.3, pp. 509-531

KAUSHIK, V.; ROOS, Y. H. Lipid encapsulation in glassy matrices of sugar-gelatin systems in freeze-drying. *International Journal of Food Properties*, Philadelphia, v. 11, n. 2, p. 363-378, 2007.

KENT, Robert M.; DOHERTY, Sinéad B. Probiotic bacteria in infant formula and follow-up formula: Microencapsulation using milk and pea proteins to improve microbiological quality. *Food Research International*, v. 64, p. 567-576, 2014.

KIM, Joon Ho et al. Surface free energy analysis of poly (vinyl alcohol) films having various molecular parameters. *Journal of applied polymer science*, v. 105, n. 2, p. 424-428, 2007.

KIZILAY, E.; KAYITMAZER, A.B.; DUBIN, P.L. Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. *Advances in colloid and interface science*, v. 167, n. 1, p. 24-37, 2011.

KURIOKASE, A. B.; SATHIREDDY, P.; PRIYA, S. Padma. A Review on microcapsules. *Global Journal of Pharmacology*, v. 9, n. 1, p. 28-39, 2015.

LAMPRECHT, A.; SCHÄFER, U. F.; LEHR, C.-M. Visualization and quantification of polymer distribution in microcapsules by confocal laser scanning microscopy (CLSM). *International journal of pharmaceutics*, v. 196, n. 2, p. 223-226, 2000.

LAMI'RKCHT, A.; SCILAFER, U. F.; LEHR, C. M. Characterization of microcapsules by confocal laser scanning microscopy: structure, capsule wall composition and encapsulation rate. *European Journal of Pharmacy and Biopharmacy*, v. 49, p. 1-9, 2000.

LAMPRECHT, A.; SCHÄFER, U.; LEHR, C.-M. Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for O-3 unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition. *Journal of Microencapsulation*, v. 18, n. 3, p. 347-357, 2001.

LAURENT, Alexandre et al. Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization, I: development and in vitro evaluation. *American journal of neuroradiology*, v. 17, n. 3, p. 533-540, 1996.

LIGHT, Richard U.; PRENTICE, Hazel R. Surgical investigation of a new absorbable sponge derived from gelatin for use in hemostasis. *Journal of Neurosurgery*, v. 2, n. 5, p. 435-455, 1945.

LIZ, C. Costa C. et al. X-ray reflectivity studies of liquid films stabilized by mixed β -lactoglobulin—Acacia gum systems. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 282, p. 109-117, 2006.

LOBEL, Melissa K.; SOMASUNDARAM, Priya; MORTON, Cynthia C. The genetic heterogeneity of uterine leiomyomata. *Obstetrics and Gynecology Clinics*, v. 33, n. 1, p. 13-39, 2006.

LOPERA, S. et al. Desarrollo y caracterización de micropartículas de ácido fólico formadas por secado por aspersión, utilizando goma arábiga y maltodextrina como materiales de pared. *Vitae, Medellín*, v. 16, n. 1, p. 55-65, 2009

LUESSENHOP, Alfred J.; VELASQUEZ, Alfredo C. Observations on the tolerance of the intracranial arteries to catheterization. *Journal of neurosurgery*, v. 21, n. 2, p. 85-91, 1964.

LUZZI, Louis A.; GERRAUGHTY, Robert J. Effects of selected variables on the extractability of oils from coacervate capsules. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 53, n.

4, p. 429-431, 1964.

LUZZI, Louis A.; GERRAUGHTY, R. J. Effects of selected variables on the microencapsulation of solids. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 56, n. 5, p. 634-638, 1967.

MADAN, P. L.; LUZZI, L. A.; PRICE, J. C. Factors influencing microencapsulation of a waxy solid by complex coacervation. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 61, n. 10, p. 1586-1588, 1972.

MACHADO, Fabricio; LIMA, Enrique L.; PINTO, José Carlos. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. *Polímeros*, v. 17, n. 2, p. 166-179, 2007.

MADAN, P. L.; LUZZI, L. A.; PRICE, J. C. Microencapsulation of a waxy solid: wall thickness and surface appearance studies. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 63, n. 2, p. 280-284, 1974.

MADENE, A.; MURIEL, J.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, Oxford, v. 41, n. 1, p. 1-21, 2006

MANGOLD, D. J. A Capability Statement for Microencapsulation. Southwest Research Institute, San Antonio, Texas, USA, 1974.

MANO, E. B., MENDES, L. C., *Introdução a Polímeros*. 2 ed. São Paulo, Edgard Blucher, 2004.

MARK, H. F. *Encyclopedia of polymer science and technology*, 15 volume set. New York, NY, USA: Wiley, 2014.

MARTÍN, María José et al. Microencapsulation of bacteria: A review of different

technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 27, p. 15-25, 2015.

MARTINS, Milene Heloisa et al. Encapsulação e caracterização de lipossomas contendo isotretinoína para aplicação dermatológica. 2007.

MEDSINGE, Avinash et al. A case-based approach to common embolization agents used in vascular interventional radiology. *American Journal of Roentgenology*, v. 203, n. 4, p. 699-708, 2014.

MENEZES, Cristiano Ragagnin de et al. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. *Ciência Rural*, v. 43, n. 7, p. 1309-1316, 2013.

MENGER, F. M. et al. A sponge morphology in an elementary coacervate. *Langmuir*, Washington, DC, v. 16, p. 9113-9116, 2000.

NASTRUZZI, Claudio et al. Production and in vitro evaluation of gelatin microspheres containing an antitumor tetra-amidine. *Journal of microencapsulation*, v. 11, n. 3, p. 249-260, 1994.

NEW, Roger RC. Influence of liposome characteristics on their properties and fate. CRC Press, New York, NY, USA, 1995.

NEWTON, David W.; MCMULLEN, Jean N.; BECKER, Charles H. Characteristics of medicated and unmedicated microglobules recovered from complex coacervates of gelatin-acacia. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 66, n. 9, p. 1327-1330, 1977.

NIXON, J. R.; NOUH, A. The effect of microcapsule size on the oxidative decomposition of core material. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 30, n. 1, p. 533-537, 1978.

OLIVEIRA, Alessandra Cristina et al. Microencapsulation of *B. lactis* (BI 01) and *L.*

acidophilus (LAC 4) by complex coacervation followed by spouted-bed drying. *Drying Technology*, v. 25, n. 10, p. 1687-1693, 2007.

OLIVEIRA, Ana Carolina Couto, Estudo das Condições Operacionais na Produção de Micropartículas de PVAc-co-MMA para Embolização Vascular. Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química – UFRJ. p.1-82. 2019.

OLIVEIRA, Marco Antonio M. et al. In-Situ Incorporation of Amoxicillin in PVA/PVAc-co-PMMA Particles during Suspension Polymerizations. In: *Macromolecular Symposia*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, p. 34-40. 2011.

OLIVEIRA, Marco Antonio M. Produção de micropartículas e nanopartículas poliméricas para aplicações biomédicas em sistemas heterogêneos de polimerização. Engenharia Química/COPPE, p. 1-286, 2011.

PALMIERI, Giovanni Filippo et al. Gelatin-acacia complex coacervation as a method for ketoprofen microencapsulation. *Drug development and industrial pharmacy*, v. 22, n. 9-10, p. 951-957, 1996.

PALMIERI, Giovanni Filippo et al. Methoxybutropate microencapsulation by gelatin-acacia complex coacervation. *Drug development and industrial pharmacy*, v. 25, n. 4, p. 399-407, 1999.

PAPINI, CLAUDEMIR J. Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2003.

PEIXOTO, Luciana S. et al. Produção De Partículas Esféricas De Pva/Pvac Com Morfologia Casca-núcleo E Densidade Controlada Para Uso Em Embolização Vascular.

PEIXOTO, Luciana S. et al. Synthesis of Spherical Core-Shell PVAc-co-PMMA/PVA

Particles for Use in Vascular Embolization. In: Macromolecular Symposia. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2011. p. 132-138.

PHILLIPS, Glyn O. et al. (Ed.). Handbook of hydrocolloids. Boca Raton, FL: CRC press, 2000.

POURSAID, Azadeh et al. Polymeric materials for embolic and chemoembolic applications. Journal of Controlled Release, v. 240, p. 414-433, 2016.

PRAKASH, A.J.M.; MANGINO, M.E. The effects of added proteins on the functionality of gum arabic in soft drink emulsion systems. Food Hydrocolloids, v.4, n.3, p.177-187, 1990.

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

QV, Xiao-Ying; ZENG, Zhi-Ping; JIANG, Jian-Guo. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. Food Hydrocolloids, v. 25, n. 6, p. 1596-1603, 2011.

RAVINA, J. H. et al. Arterial embolisation to treat uterine myomata. The Lancet, v. 346, n. 8976, p. 671-672, 1995.

RÉ, M.I. Microencapsulação: em busca de produtos inteligentes'. Ciência hoje, p. 24-31, 2000.

RÉ, Maria-Inês. Formulating drug delivery systems by spray drying. Drying Technology, v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006.

REDON, Rocio et al. Contact angle studies on anodic porous alumina. Journal of colloid

and interface science, v. 287, n. 2, p. 664-670, 2005.

RISCH, Sara J. Encapsulation: overview of uses and techniques. 2-7, 1995

ROCHA, Gláucia Aguiar et al. Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microcápsulas de licopeno. 2009.

RODRIGUES-HUEZO, M.E.; PREDROZA-ISLAS, R.; PRADO-BARRAGAN, L.A.; BERISTAIN, C.I. VERNON-CARTER, E.J. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal of Food Science*, v. 69, E351- E359, 2004.

ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J. The microstructure of spray-dried microcapsules. *Food Microstructure*, v. 7, p. 15-23, 1988

RUIZ, Johana IR; ESPERIDIÃO, Maria Cecília A. Estudo De Ângulo De Contato Dinâmico Em Superfícies Poliméricas, 2005.

SCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, Campinas, v. 23, p. 1-6, 2003.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993

SHOJI, A. S.; OLIVEIRA, A. C.; BALIEIRO, J. C. C.; FREITAS, O.; THOMAZINI, M.; HEINEMANN, R. J. B.; OKURO, P. K.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. *Food and Bioproducts Processing*. 91, p. 83-88, 2013.

SILVA, Catarina et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. *Revista Brasileira de ciências farmacêuticas*, v. 39, n. 1, p.

1-20, 2003.

SILVA, Pablo Teixeira da et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. *Food Research International*, v. 61, p. 132-143, 2014.

SILVA, G.O.; TAKIZAWA, F.F.; PEDROSO, R.A.; FRANCO, C.M.L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S.B.S.; DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 1, p. 188-197, 2006

SLOW, Lee-Fong et al. Effect of pH on garlic oil encapsulation by complex coacervation. *J. Food Process. Technol.*, v. 4, p. 199-204, 2013.

SISKIN, Gary P. et al. Embolic agents used for uterine fibroid embolization. *American Journal of Roentgenology*, v. 175, n. 3, p. 767-773, 2000.

ŠIPAILIENĖ, Aušra; PETRAITYTĖ, Sigita. Encapsulation of probiotics: Proper selection of the probiotic strain and the influence of encapsulation technology and materials on the viability of encapsulated microorganisms. *Probiotics and antimicrobial proteins*, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2018.

SMITH, Steven Janney. Uterine fibroid embolization. *American family physician*, v. 61, n. 12, p. 3601-3607, 2000.

SOUSA, Isadora Reis et al. Filme ativo produzido a partir da blenda amido de gengibre e pva, incorporado com óleo essencial de gengibre (*zingiber officinale*). Universidade Federal

Do Mato Grosso, Barra do Garças, 2018.

SOUZA, Volnei Brito de. Extração e encapsulação por coacervação complexa das proantocianidinas da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016

STRAUSS, G.; GIBSON, S. M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v.18, p. 81-89, 2004.

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

TADAVARTHY, S. Murthy et al. Therapeutic transcatheter arterial embolization. *Radiology*, v. 112, n. 1, p. 13-16, 1974.

TADAVARTHY, S. Murthy; MOLLER, JAMES H.; AMPLATZ, KURT. Polyvinyl alcohol (Ivalon)—a new embolic material. *American Journal of Roentgenology*, v. 125, n. 3, p. 609-616, 1975.

TAKEDA, YUTAKA; NAMBU, NAOKI; NAGAI, TSUNEJI. Microencapsulation and Bioavaliability in Beagle Dogs of Indomethacin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 29, n. 1, p. 264-267, 1981.

TAKENAKA, H.; KAWASHIMA, Y.; LIN, Shan Yang. Micromeritic properties of sulfamethoxazole microcapsules prepared by gelatin–acacia coacervation. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 69, n. 5, p. 513-516, 1980.

THEVENET, F. Acacia gums: Stabilizers for flavor encapsulation. 1988.

THIES, C. How to Make Microcapsules Lecture and Laboratory Manual. St. Louis, MO,

1995.

THIES, C. Microcapsules. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2nd ed, p.3892-3903, 2003

THIES, C. Complex coacervation. In: THIES, C. (Ed.). How to make microcapsules: lecture and laboratory manual. Sant Louis, Chap. 5, p. 1-43, 1995.

TIRARD, Stéphane. JBS Haldane and the origin of life. Journal of genetics, v. 96, n. 5, p. 735-739, 2017.

VILA JATO José. Tecnología Farmacéutica, Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas. Volumen II. Editorial Sintesis. SA, 1999.

WILSON, N.; SHAH, N. P. Microencapsulation of vitamins. ASEAN Food Journal, v. 14, n. 1, p. 1, 2007.

WAY, D. Estudo da Reação de Produção de Partículas de Gelatina para Aplicação na Liberação Controlada de Doxiciclina. Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

WEINBRECK, Fanny; MINOR, M.; DE KRUIF, C. G. Microencapsulation of oils using whey protein/gum arabic coacervates. Journal of microencapsulation, v. 21, n. 6, p. 667-679, 2004.

WILSON, N.; SHAH, N. P. Microencapsulation of vitamins. ASEAN Food Journal, v. 14, n. 1, p. 1, 2007.

WU, Hong et al. Preparation and drug release characteristics of pingyangmycin-loaded dextran cross-linked gelatin microspheres for embolization therapy. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for

Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, v. 78, n. 1, p. 56-62, 2006.

YANG, Bo et al. Exposure to common food additive carrageenan leads to reduced sulfatase activity and increase in sulfated glycosaminoglycans in human epithelial cells. *Biochimie*, v. 94, n. 6, p. 1309-1316, 2012.

YANG, X.; GAO, N.; HU, L.; LI, J.; SUN, Y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, v.161, p.87-93, set.,2015.

ZANALONI, E. Uso de gelificantes y espesantes en heladería. *Heladeria Panaderia Latinoamericana*, v. 19, n. 107, p. 39-46, 1992.

ZHANG, Yanzhong et al. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, v. 72, n. 1, p. 156-165, 2005.

ZHANG, Zipei et al. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release. *Food Hydrocolloids*, v. 58, p. 308-315, 2016.

ZUANON, Larissa Angélica Cirelli. Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (curcuma longa l.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado. 2012.

ZUIDAM, N. J; NEDOVIC, V.A. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. New York: Springer, 2009.400 p