

INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

NATHÁLIA DE SOUZA SANCHES

**ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA ENCAPSULADO COM  
POLÍMEROS NATURAIS**

LONDRINA

2019



**INSTITUTO FEDERAL**  
Paraná



Ministério da Educação

**NATHÁLIA DE SOUZA SANCHES**

## **CÁPSULAS DE POLÍMEROS NATURAIS COM RECHEIO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA**

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade  
Relatório de Pesquisa, apresentado ao curso  
Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino  
Médio do Instituto Federal do Paraná.

LONDRINA

2019

NATHÁLIA DE SOUZA SANCHES

## CÁPSULAS DE POLÍMEROS NATURAIS COM RECHEIO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Relatório de Pesquisa, apresentado ao Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Técnico em Biotecnologia.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Gleice Rocha dos Santos  
Almeida  
(IFPR)

Co-orientador: Prof. Leonardo Carmezini Marques  
(IFPR)

Banca: Prof<sup>a</sup> Lyssa Setsuko Sakanaka  
Departamento de Tecnologia de  
Alimentos, UTFPR - Campus  
Londrina

Prof. Denis Fabrício Marchi  
(IFPR)

Londrina, 13 de Dezembro de 2019.

Dedico esse trabalho a minha família e meus amigos que contribuíram para meu crescimento e amadurecimento como ser humano.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por proporcionar sabedoria e paciência para enfrentar todos os obstáculos em meu caminho.

A meus pais por me ensinarem a ser persistente e dedicada em tudo que eu faça. E realizar atividades com carinho e atenção.

À Professora Gleice por me orientar durante este ano. E agradeço a meu coorientador Professor Leonardo por me auxiliar na construção deste trabalho.

À professora Patrícia da UTFPR Campus Apucarana por auxiliar na produção da metodologia de meu trabalho.

À professora Kátia por sempre me incentivar ao longo de todo o curso a usar toda a minha criatividade e a acreditar em minha potencialidade.

À Giovana por ser minha “dupla” de TCC e sempre estar ao meu lado durante a construção deste trabalho.

À Emily e a Eduarda por me ajudarem em algumas práticas e por estarem ao meu lado durante estes quatro anos.

À turma 2016 BIOTEC que se tornou parte de minha família e permaneceu unida até o último ano.

Aos meus amigos por estarem junto de mim e me apoiarem em minhas decisões.

*“O problema pode ser modesto, mas se ele desafiar a curiosidade e puser em jogo as faculdades inventivas, quem o resolve por seus próprios meios, experimentará a tensão e gozará o triunfo da descoberta.”*

(George Polya, 1887)

## RESUMO

O progresso nas ciências possibilitou o desenvolvimento de diversas tecnologias em prol do auxílio humano. Ainda que existam avanços na busca de remediações contra epidemias, a saúde enfrenta inúmeros obstáculos na prevenção de doenças transmitidas por parasitas intermediários como a dengue, Chikungunya, Zika e febre amarela. Nelas, o mosquito contaminado, em grande parte as fêmeas, transmite o vírus no consumo de sangue necessário para seu ciclo de reprodução. Para a prevenção da proliferação deste parasita, é indicado a limpeza de recipientes contendo água parada, além da utilização de repelentes e inseticidas contra o mosquito e as demais fases de seu desenvolvimento. Os repelentes e inseticidas são formados por componentes químicos que podem levar à morte ou apenas os espantam do ambiente. Todavia, os componentes ativos presentes neles, podem causar sérios danos à saúde humana. Isso despertou à busca por outras formas de combater sua proliferação utilizando componentes naturais que são menos prejudiciais aos seres humanos como o óleo de eucalipto e o óleo de citronela. Com isso, este trabalho teve como objetivo a produção de cápsulas biodegradáveis a partir de polímeros naturais com o recheio de óleo essencial de citronela, que ao entrarem em contato com a água, se rompe liberando seu óleo, com ação a larvicida frente ao *Aedes aegypti*. As cápsulas foram produzidas com o gotejamento de uma solução gelificada de alginato de sódio e amido de mandioca nativo em solução aquosa de cloreto de cálcio. Como estes polímeros são naturais, de fontes renováveis e portanto biodegradáveis, as cápsulas podem ser liberadas em criadouros presentes no meio ambiente sem prejudicá-lo. A formação das capsulas foi registrada por fotografias e microscopia ótica. A partir da oxidação do óleo essencial de citronela com permanganato de potássio, houve a identificação de encapsulamento do óleo de citronela devido à formação de precipitado marrom, mostrando que os componentes contendo insaturações, presentes no óleo de citronela, reagem com o meio após o rompimento da cápsula.

**Palavras-chave:** Dengue. Criadouros de mosquitos. Encapsulamento. Biopolímeros.

## **ABSTRACT**

*The science progress made possible the development of many technologies in human aid. Even though there are several advances in search of remedies against epidemics, health faces countless obstacles to the prevention of diseases transmitted by intermediate parasites such as dengue, chikungunya, zika and yellow fever. On them, the contaminated mosquito, mostly female, transmits the virus in blood consumption that are necessary for their reproductive cycle. For the prevention of this parasite proliferation, it is recommended to clean containers containing standing water, besides the use of repellents and insecticides against the mosquito and the other stages of its development. Repellents and insecticides are made by chemical components that can lead them to death, or just scare them to not cause serious damage to human health. This has sparked a search for other ways to combat proliferation using natural components that are less harmful to human such as eucalyptus oil and citronella oil. This research aimed to produce biodegradable capsules from natural polymers filled with citronella essential oil that when in contact with water degrades the capsule releasing its oil and killing the larvae of Aedes aegypti. The capsule was made by dripping a gelled solution of alginate and starch into aqueous calcium chloride solution. Its composition originates from renewable raw materials, and therefore have a shorter life cycle than those derived from petroleum. Through this, the capsules can be released into breeding places in the environment without harming it. From rational potassium permanganate analyzes, the encapsulation of citronella oil was identified due to brown precipitate formation, showing that the unsaturated components in the citronella oil reacted with the medium after membrane rupture.*

**Key-words:** *Dengue. Mosquito breeding ground. Encapsulation. Biopolymers.*



## LISTA DE FIGURAS

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| FIGURA 1  | Ciclo de Vida dos <i>Culicidae</i> .....  | 15 |
| FIGURA 2  | Estrutura viral.....  | 17 |
| FIGURA 3  | Destilação por arraste de vapor d'água.....   | 20 |
| FIGURA 4  | Molécula de isopreno.....   | 21 |
| FIGURA 5  | Ácido Chiquímico.....   | 21 |
| FIGURA 6  | Principais terpenóides do óleo de citronela.....  | 22 |
| FIGURA 7  | Modelos de cápsulas.....  | 23 |
| FIGURA 8  | Estrutura da amilose e da amilopectina.....   | 27 |
| FIGURA 9  | Estrutura química dos monômeros constituintes do alginato.....  | 28 |
| FIGURA 10 | Protocolo de produção das cápsulas.....   | 30 |
| FIGURA 11 | Formato das capsulas (a) regulares; (b, c, d,e) irregulares.....  | 35 |
| FIGURA 12 | Bolhas presentes nas cápsulas Fotografia das cápsulas visíveis em microscópio óptico (objetiva 10X).....  | 36 |
| FIGURA 13 | Teste Bayer das cápsulas; (A) Ensaio 2; (B) Ensaio 4; (E) Ensaio 6; (C) Ensaio 8; (D) Ensaios 9,10 e 11; em comparação com os padrões (T1 e T2) | 37 |
| FIGURA 14 | Reação da citronela no teste de Bayer.....  | 37 |

## LISTA DE TABELAS

|          |   |    |
|----------|---|----|
| TABELA 1 | Métodos utilizados na produção de cápsulas.....                   | 23 |
| TABELA 2 | Material utilizado na matriz de revestimento.....                 | 26 |
| TABELA 3 | Níveis das variáveis do Planejamento Fatorial $2^3$ .....         | 31 |
| TABELA 4 | Delineamento estatístico para o Planejamento Fatorial $2^3$ ..... | 32 |
| TABELA 5 | Ensaio submetido ao teste de Bayer.....                           | 33 |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA - Agência de Vigilância Sanitária

ARBOVÍRUS - *Arthropod Borne Virus*

CaCl<sub>2</sub> - Cloreto de Cálcio

CHIKV - Vírus Chikungunya

CO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono

DDT - Diclorodifeniltricloroetano

DENV - Vírus da Dengue

En – Ensaio n

G - Ácido Gulopiranosilurônico

g - Gramas

IFPR – Instituto Federal do Paraná

KMnO<sub>4</sub> – Permanganato de Potássio

M - Ácido Manopiranosilurônico

mL - Mililitro

N - Nitrogênio

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

RNA - Ácido Ribonucleico

RPM/S - Rotações por Minuto por Segundo

S - Enxofre

ZIKV - Vírus da Zika

μL - Microlitro

°C - Graus Celsius

## SUMÁRIO

|          |  |    |
|----------|--|----|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO</b> .....                              | 12 |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....                               | 14 |
| 2.1      | OBJETIVO GERAL.....                                  | 14 |
| 2.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                           | 14 |
| <b>3</b> | <b>DESENVOLVIMENTO</b> .....                         | 15 |
| 3.1      | MOSQUITOS VETORES DE DOENÇAS.....                    | 15 |
| 3.1.1    | Vírus Transmitido pelo <i>Aedes Aegypti</i> .....    | 16 |
| 3.2      | Método de controle de Mosquitos.....                 | 18 |
| 3.2.1    | REPELENTES AMBIENTAIS.....                           | 19 |
| 3.2.1.1  | Óleo de citronela.....                               | 19 |
| 3.3      | ENCAPSULAÇÃO.....                                    | 22 |
| 3.4      | COMPONENTES DA CÁPSULA DE AMIDO + ALGINATO.....      | 25 |
| 3.4.1    | Amido.....   | 26 |
| 3.4.2    | Alginato.....  | 27 |
| <b>4</b> | <b>METODOLOGIA</b> .....                             | 29 |
| 4.1      | TESTE DE FORMAÇÃO DE CÁPSULA.....                    | 29 |
| 4.2      | PLANEJAMENTO FATORIAL.....                           | 31 |
| 4.3      | AVALIAÇÃO QUALITATIVA DAS CÁPSULAS DE CITRONELA..... | 32 |
| 4.3.1    | Avaliação Morfológica.....                           | 32 |
| 4.3.2    | Teste de liberação do núcleo.....                    | 33 |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                  | 34 |
| <b>6</b> | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....                    | 38 |
|          | <b>REFERÊNCIAS</b> .....                             | 39 |

## 1 INTRODUÇÃO

A epidemiologia é o estudo que determina a frequência da distribuição das doenças humanas. Dentre elas as transmitidas por mosquitos são desenvolvidas com o viés de identificação da eficácia do vetor (eficiência de certo vetor em transmitir determinado agente patógeno), sua competência vetor (os fatores genéticos que influenciam na regulação dos mecanismos fisiológicos) e sua capacidade vetorial (ALMEIDA, 2011).

A transmissão de doenças por insetos tem afetado milhões de pessoas ao redor do mundo, dentre as quais dengue, malária, leishmanioses, doença de Chagas, febre amarela, esquistossomose, filarioses, entre outras (STEFANI et al., 2009). Elas são transmitidas por consequência da necessidade de ingestão de sangue no ciclo de vida destes insetos tornando-os hospedeiros intermediários (CLEMENTS, 2012).

A infecção do mosquito por um vírus ocorre após a ingestão de sangue contaminado. Ele é espalhado para as glândulas salivares durante um período de 8 a 12 dias. Após este período de incubação, o vírus pode ser transmitido para os seres humanos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Dentre os agentes transmitidos pelo mosquito, pode-se elencar os protozoários, os plasmódios (agentes da malária humana), os helmintos (vermes), agentes das filarioses linfáticas (doença parasitária) e os arbovírus (vírus transmitidos por insetos) (ALMEIDA, 2011).

A partir de 2014 o ministério da saúde tomou a dengue como uma doença única, dinâmica e sistêmica, mostrando que ela pode evoluir para um estágio onde ela não apresente seus sintomas, ou pode agravar-se exigindo constante observação, para que as intervenções sejam oportunas e que os óbitos não ocorram (BRASIL, 2016). Os dados apresentados pelo Ministério da saúde em fevereiro de 2019 apontaram que o número de casos de dengue aumentou em 149% no mesmo período de 2018. Esses dados epistemológicos servem para alertar a necessidade de intensificação das ações de eliminação dos focos do *Aedes aegypti* em todas as regiões, e para isso é indicado manter tampados os tonéis, caixas e barris d'água; trocar água dos vasos de planta uma vez por semana; manter garrafas de vidro e latinhas de boca para baixo; e acondicionar pneus em locais cobertos (BRASIL, 2019).

Outros meios utilizados para a prevenção contra os fatores transmitidos por mosquitos são os repelentes e os inseticidas. Porém, eles possuem substâncias

químicas prejudiciais aos consumidores. Como alternativa aos repelentes químicos, existem diversos métodos naturais utilizando extratos vegetais como o de citronela e o óleo de eucalipto. Todavia, estes óleos essenciais tem alta volatilidade exercendo baixa função repelente.

O óleo essencial de citronela tem origem da planta *Cymbopogon* spp. O extrato obtido a partir de suas folhas é rico em aldeído citronelal e tem pequenas quantidades de geraniol, citronelol e ésteres. O citronelol tem caráter aromatizante e repelente de insetos, porém sua interação com o ar atmosférico faz com que ele perca suas propriedades. A utilização da técnica de encapsulação possibilita o desenvolvimento de esferas biodegradáveis podendo viabilizar a liberação do agente ativo em criadouros de mosquitos como repelente e larvicida. Dessa Forma, este trabalho teve como objetivo a encapsulação do óleo essencial de citronela a partir de polímeros naturais como a finalidade de desenvolver uma possível alternativa ao combate à proliferação do *Aedes aegypti*.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Encapsular óleo essencial de citronela a partir de polímeros naturais.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propor uma metodologia de produção de cápsulas biodegradáveis de baixo custo e fácil disponibilidade;
- Propor uma aplicação alternativa ao combate à proliferação do mosquito *Aedes aegypti*, a partir do uso das cápsulas recheadas com óleo essencial (ação larvicida);
- Avaliar as cápsulas quanto à microscopia óptica e a liberação do óleo em condições similares ao meio de desenvolvimento da larva do mosquito *Aedes aegypti*.

### 3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 Mosquitos vetores de doenças

Os mosquitos são pertencentes ao Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Diptera, Subordem Nematocera, Família *Culicidae meigen*. A família Culicidae pode ser classificada em três subgrupos: *Toxorhynchitinae* cujas fêmeas do mosquito se alimenta de seiva vegetal e não do sangue de vertebrados; *Anophelinae* e *Culicinae* cuja classe é de grande importância médica, visto que as fêmeas pertencentes a estes grupos são classificadas como hematófagas - se alimentam do sangue de vertebrados (ALMEIDA, 2011).

Estes insetos são holometabólicos, ou seja, tem um ciclo de metamorfose completo (Figura 1). Todavia, fazem parte deste ciclo as formas imaturas, o ovo, a larva e a pupa (ALMEIDA, 2011). Os ovos são depositados na água apresentando uma coloração esbranquiçada. Com a passagem do tempo escurecem até que haja sua eclosão. Em seguida passam pela fase de larva cuja a principal atividade realizada é a alimentação intensa durante 10 dias dentro da água. Com o fim do ciclo larval, o organismo passa a se chamar de pupa. Diferente da fase larval, a pupa não se alimenta e nada ativamente na superfície do criadouro durante 2 dias. Por fim, chegam à fase adulta contendo um par de asas e emerge à superfície ficando lá algumas horas até o endurecimento da cutícula (BRASIL, 2011).

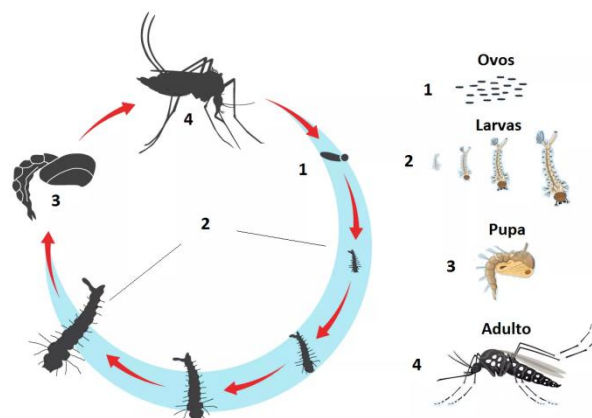


Figura 1 - Ciclo de Vida dos Culicidae.

Fonte: Casa da Ciência, 2017.



Na fase adulta, após 24 horas, a fêmea já está apta para a fecundação (BRASIL, 2011). Neste momento, elas passam a responder estímulos visuais, térmicos e olfativos em prol da identificação do organismo alvo para o consumo de sangue (FRADIN, 1998). Os estímulos olfativos são as principais formas de atração do inseto, principalmente pela liberação de Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) e do ácido láctico. O dióxido de carbono, liberado no processo de respiração, serve como um atrativo transportado pelo ar por longa distância e pode ser detectado em até 36 metros (FRADIN, 1998). Na superfície da pele humana, o ácido láctico é o produto final da glicólise durante o metabolismo anaeróbico das células mioepiteliais próximas às células das glândulas sudoríparas presentes em todo o corpo. Esse ácido Láctico em conjunto com outros compostos pode causar efeito atrativo a esses mosquitos (OLIVEIRA, 2008).

O sangue ingerido pela fêmea após a fecundação é destinado à produção de ovos. Ele pode servir como fonte proteica e energética, mas sua principal função é na aquisição de íons de sódio e potássio ocasionando na produção de mais ovos (CARVALHO, 2013). Em grande parte das espécies, a fêmea necessita ao menos de duas refeições sanguíneas para a primeira desova, além de levar à oviposição no quarto ou quinto dia de vida (ALMEIDA, 2011).

### 3.1.1 Vírus Transmitido pelo *Aedes Aegypti*

Alguns vírus dão início a epidemias urbanas tendo exclusivamente ser humano como amplificador vertebrado da doença. Dentre eles o vírus da Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e, mais recentemente, Zika (ZIKV). Os arbovírus (*Arthropod Borne Virus*) são um conjunto de vírus transmitidos aos seres humanos por meio dos insetos. Eles têm gerado inquietação à saúde pública principalmente a categoria presente em mosquitos hematófagos *Culicídeos* dos gêneros *Culex* e *Aedes* (DONALISIO, 2017).

Grande parte dos arbovírus pertence aos gêneros *Alphavirus* (família *Togaviridae*) e *Flavivirus* (família *Flaviviridae*) (DONALISIO, 2017). Esse grupo de vírus apresenta grande flexibilidade genética e alta frequência de mutações, podendo se adaptar a seu hospedeiro. Arbovírus, em geral, circulam entre os animais silvestres, com alguma especificidade por hospedeiros e mantendo-se em ciclos de vida em poucas espécies de vertebrados e invertebrados. O homem ou

animais domésticos geralmente são hospedeiros acidentais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Os vírus da dengue são membros do gênero *Flavivirus* e família *Flaviviridae* causadoras de encefalites e outras febres hemorrágicas em seres humanos e animais. Esse vírus tem como genoma uma fita simples de RNA. Seu *vírion* consiste em um nucleocapsídeo (associação do material genético e sua cápsula proteica) cúbico de simetria fechada (Figura 2). O vírus da Dengue (DENV) é constituído por 11644 nucleotídeos e possui três genes de proteínas estruturais que codificam os nucleocapsídeos: proteína associada à membrana, proteínas de envelope e proteínas não estruturais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

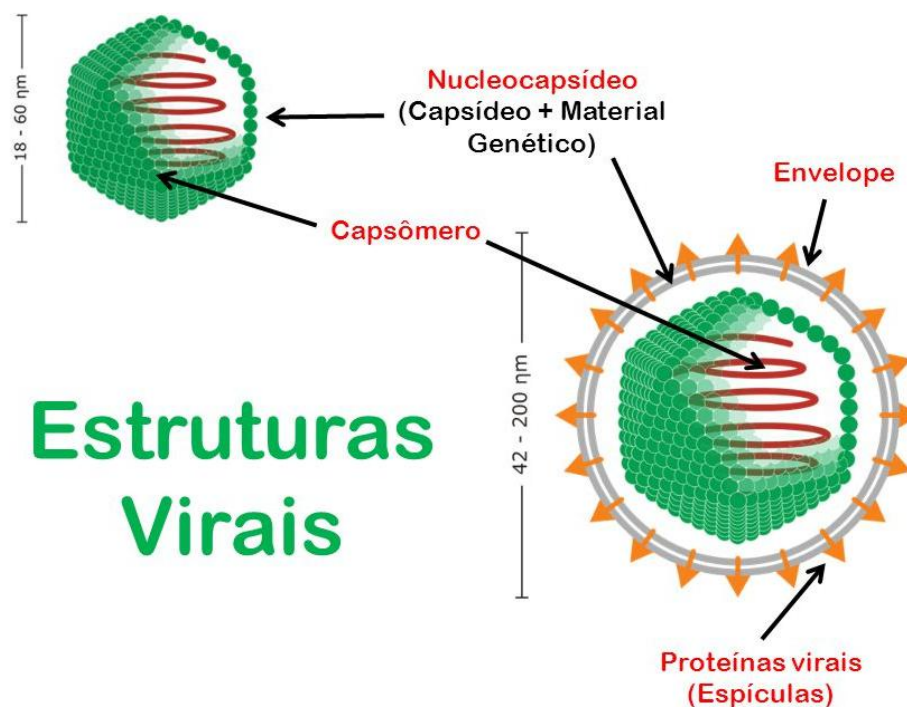


Figura 2 - Estrutura viral.

Fonte: Cinthia Costa, 2017.

O vírus da dengue se complexa dentro do gênero *Flavivirus* de acordo com o antígeno. A complexação dos antígenos promove a formação dos sorotipos DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. A infecção por qualquer sorotipo confere imunidade ao longo da vida ao indivíduo contaminado pelo sorotipo do vírus. Todavia, todos os quatro sorotipos sejam antigenicamente semelhantes, eles são diferentes o

suficiente para não desenvolverem proteção a todos os sorotipos. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

O mosquito *Aedes aegypti* como principal vetor da dengue transmite o vírus para os seres humano por meio da picada de fêmeas do mosquito infectadas. Este mosquito costuma viver em habitats urbanos e se reproduz principalmente em recipientes artificiais contendo água parada. Na atualidade, os principais métodos para controlar ou prevenir a transmissão do vírus da dengue é o combate à proliferação dos mosquitos vetores evitando que ele chegue aos criadouros, cobrindo e limpando recipientes que possam acumular água, e utilizando substâncias químicas espantando o mosquito (OPAS, 2019)

### 3.2 Método de controle de Mosquitos

Existem diversas alternativas que buscam a eliminação e expulsão dos insetos vetores de doenças. Dentre elas, as atividades de limpeza sanitária e atividades diárias para a diminuição de criadouros de mosquitos. Grande parte do tempo, estas atividades são acompanhadas pelo uso de inseticidas e repelentes químicos visando o controle dos vetores do mosquito ou interrompendo o contato humano-vetor (SILVA, 2015). Os inseticidas são classificados nas seguintes categorias: organofosforados, piretróides, carbamatos e organoclorados, sendo que os mais usados são os organofosforados e piretróides (BRAGA, 2007).

Os organofosforados foram descobertos após os organoclorados e inclui todos os insecticidas portadores de fósforo. Eles são muito utilizados na saúde pública por apresentar certas vantagens sobre os organoclorados como a biodegradabilidade e a não acumulação nos tecidos. No entanto, apresentam certa instabilidade química que o leva à renovação periódica e são altamente tóxicos à vertebrados. Os Piretróides sintéticos são produzidos a partir do piretro (substância extraída do crisântemo), são biodegradáveis e são muito ativos. Eles não são cumulativos e têm baixa toxicidade a aves e mamíferos. Todavia, são altamente tóxicos a animais marinhos e tem alto custo. Os carbamatos são derivados do ácido carbâmico que tem ação letal para insetos, porém possui um pequeno percentual de acumulação e são sistêmicos para plantas devido a sua solubilidade em água. Os organoclorados são inseticidas que contêm carbono, cloro e hidrogênio. Dentre esta

classe, pode-se encontrar um dos inseticidas mais eficientes, porém de alta toxicidade, o DDT (BRAGA, 2007).

Apesar de sua alta eficiência, os inseticidas e repelentes químicos apresentam atividades prejudiciais aos vertebrados. Suas características instáveis podem ocasionar a resistência de insetos a certas substâncias. Todavia, pode haver procura de alternativas ao uso destes componentes como os óleos essenciais (eucalipto, citronela, lavanda), incensos e velas.

### 3.2.1 REPELENTES

Segundo a ANVISA, os repelentes são substâncias utilizadas para a expulsão dos mosquitos, dentre eles: os em espirais, líquidos e em pastilhas. Davis (1985) enfatiza que o termo repelente é atribuído a substâncias químicas cuja a combinação de respostas comportamentais tem como resultado a prevenção da picada dos insetos. Estes repelentes atuam causando uma alteração nos receptores neurofisiológicos dos mosquitos. Em sua pesquisa, Davis (1985) realizou a caracterização dos mecanismos receptores dos mosquitos de acordo com a ação da substância aplicada como repelente sobre o inseto indesejado, dentre elas: (1) Inibição neural de um sinal químico atraente; (2) O efeito repelente contra insetos pode ser exercido por produtos atraentes em baixa quantidade; (3) Um receptor de comportamento da picada do mosquito, quando ativado, pode ser inibido por estímulos do repelente; (4) Ativação de receptores que registram a presença de substância prejudicial; (5) Ativação simultânea de inúmeros receptores mediando vários padrões de comportamento. Este trabalho mostrou que a composição do repelente faz com que ele aja de uma forma diferente em relação ao mosquito. Esta composição pode ser natural ou sintética. Dentre os naturais, destacam-se óleos essenciais de citronela, extratos de eucalipto, óleo de nem (ou andiroba), dentre outros.

#### 3.2.1.1 Óleo de citronela

As plantas têm a presença de diversas vias metabólicas secundárias que levam à formação de compostos importantes para a regulação de seu organismo. O conjunto dos metabólitos secundários nas plantas são balanceados durante a fase

de crescimento da planta, sendo que essa estabilidade é atingida a partir dos fatores bióticos e abióticos do ambiente como fatores genéticos e ambientais (luz, temperatura, tipo de solo, água, dentre outros). Os metabólitos secundários desenvolvem um papel importante nos vegetais, visto que eles mantêm a homeostase da planta. No entanto, sua associação ao organismo animal, causam variados efeitos, quando benéficos determina-se a planta como medicinal. Elas produzem compostos secundários que podem ser separados de acordo com as estruturas químicas dos compostos, dentre eles os óleos essenciais (CARDOSO, 2017).

Segundo a RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007, os óleos essenciais são substâncias voláteis de baixa solubilidade em água, porém alta solubilidade em solventes orgânicos obtidos pela técnica extrativa de arraste por vapor d'água (Figura 3). As determinações desta classe de biomoléculas derivam de características físico-químicas como sua aparência oleaginosa líquida a temperatura ambiente. Todavia, sua principal característica é sua volatilidade diferenciando-o dos óleos fixos - misturas lipídicas (HEINZMANN, SPITZER e SIMÕES, 2017).

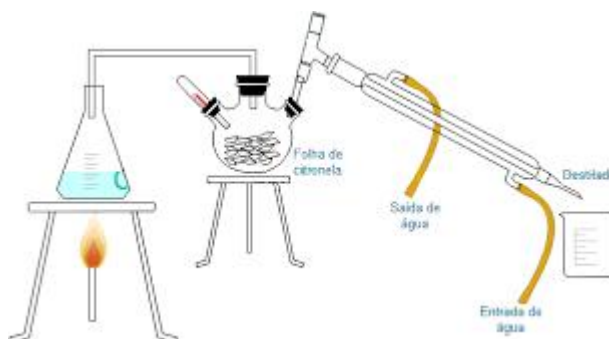


Figura 3 - Destilação por arraste de vapor d'água.

Fonte: Aline Bianca Albuquerque, 2018.

Grande parte dos óleos essenciais apresentam a estrutura química terpenóide ou fenilpropanóide. No entanto, os óleos voláteis também podem apresentar alcanos e alquenos em sua composição contendo heteroátomos de N e S (HEINZMANN, SPITZER e SIMÕES, 2017).

Os terpenóides são moléculas cuja estrutura deriva do 2 - metil butadieno - Isopreno (Figura 4). Ao realizar ligações com o radical fosfato, origina as moléculas de difosfato de isopentenila e difosfato de dimetilalila a partir dos quais os

terpenóides são biossintetizados. Estes dois precursores irão sofrer condensação gerando inicialmente moléculas acíclicas que podem sofrer alterações por enzimas se tornando cíclicas. Portanto, elas originam as diferentes classes de terpenos (HEINZMANN, SPITZER e SIMÕES, 2017).

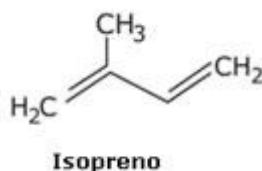


Figura 4: Molécula de isopreno.

Fonte: Jennifer Rocha Vargas Fogaça.

Os fenilpropanóides tem como precursores diferentes aminoácidos aromáticos dentre eles fenilalanina, tirosina e dihidroxifenilalanina que dão origem inicialmente ao ácido chiquímico (Figura 5). O ácido chiquímico dá origem a outras moléculas como o ácido cinâmico e p-cumarico, os processos de redução enzimática e oxidação destas moléculas dão origem a aldeídos aromáticos (HEINZMANN, SPITZER e SIMÕES, 2017).

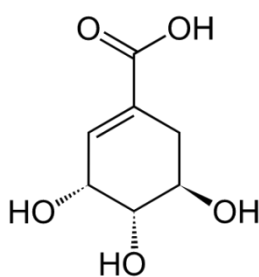


Figura 5: ácido chiquímico.

Fonte: Osvaldo Ferrarese Filho, 2016.

PAROUL (2011) obteve como resultado de uma cromatografia gasosa que o óleo essencial de citronela possui aproximadamente 35,28% de citronelal, 21,99% de geraniol e 10,90% citronelol (Figura 6) - os valores podem variar de acordo com as condições de tratamento da planta.

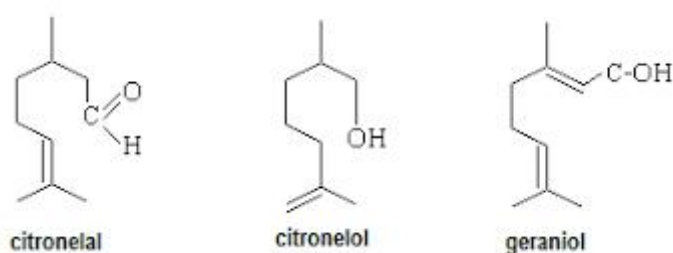


Figura 6: Principais terpenóides do óleo de citronela.

Fonte: Rocío Teresita García, 2014.

### 3.3 ENCAPSULAÇÃO

O método de encapsulação consiste na produção de um “sistema reservatório” contendo a substância ativa (sólido, líquido e gasoso) revestida por uma camada polimérica de espessura variável (NUNES, 2015). Sendo assim, a cápsula constitui-se de um material polimérico com ação de filme protetor, isolando a substância ativa. A membrana polimérica se rompe com estímulos específicos e libera a substância ativa, em condições desejáveis ou pré-determinadas.

A substância ativa encapsulada é referida como recheio ou núcleo, enquanto que o filme protetor: parede, revestimento e membrana (AZAREDO, 2005). As cápsulas podem ser distintas classificando-as em polinucleares e mononucleares, conforme a distribuição do núcleo no interior da partícula revestida (Figura 7). Sendo, ainda, diferenciadas em homogêneas ou heterogêneas, conforme estado molecular da substância ativa, dissolvido ou suspenso (Silva, 2003). Elas podem ser classificadas, também, de acordo com seu tamanho: Macro (> 5000  $\mu\text{m}$ ), Micro (0,2-5000  $\mu\text{m}$ ) e nanocápsulas (< 0,2  $\mu\text{m}$ ) (AZAREDO, 2005).

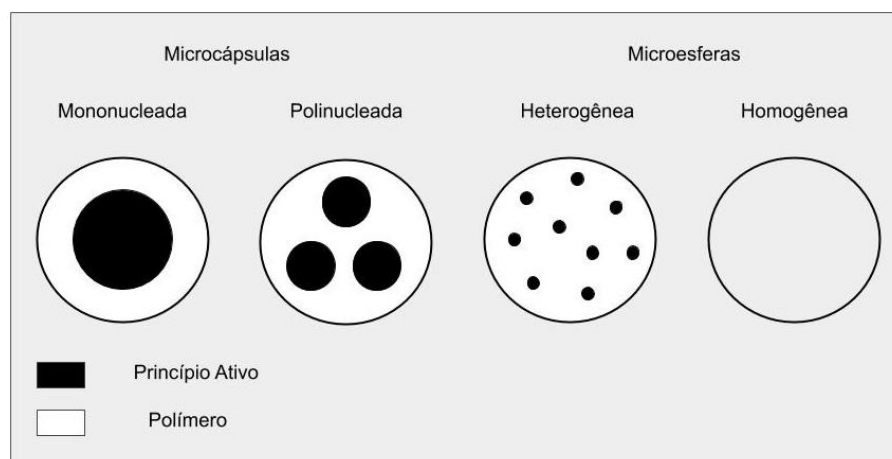


Figura 7: Modelos de cápsulas.

Fonte: Catarina Silva, 2003.

O encapsulamento é possível por diferentes metodologias, levando em consideração a características das cápsulas e do núcleo, como apresenta a Tabela 1 (NUNES, 2015).

Tabela 1 - Métodos utilizados na produção de cápsulas

| Métodos                        | Material do Núcleo | Tamanho da partícula |
|--------------------------------|--------------------|----------------------|
| <b>Métodos físicos</b>         |                    |                      |
| Extrusão estacionária          | Líquido/sólido/gás | 1.000 - 6.000        |
| Extrusão centrífuga            | Líquido/sólido/gás | 125 - 3.000          |
| <i>Spray drying</i>            | Líquido/sólido     | 5 – 150              |
| <i>Spray chilling</i>          | Líquido/sólido     | 20 – 200             |
| <i>Spray cooling</i>           | Líquido/sólido     | 20 – 200             |
| Leito fluidizado               | Sólido             | >100                 |
| Co-cristalização               | Sólido/líquido     | -                    |
| Liofilização                   | Líquido            | -                    |
| <b>Métodos químicos</b>        |                    |                      |
| Polimerização interfacial      | Líquido/sólido     | 1 – 500              |
| Inclusão molecular             | Líquido            | 5 – 50               |
| Polimerização <i>in situ</i>   | Líquido/sólido     | 1 – 500              |
| <b>Métodos físico-químicos</b> |                    |                      |



|                        |                |         |
|------------------------|----------------|---------|
| Coacervação            | Líquido/sólido | 1 – 500 |
| Lipossomas             | Líquido/sólido | 0,02-3  |
| Lipoesferas            | Líquido/sólido | 0,02-10 |
| Evaporação do solvente | Líquido/sólido | 1-5.000 |

---

Fonte: Nunes, 2015.

Dentre os métodos utilizados para a encapsulação destacam-se as técnicas de atomização, extrusão, Leito fluizado, Liofilização, coacervação e *Spray dryer* (AZEREDO, 2005). A diferença entre os métodos existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2013).

Os primeiros registros da aplicação de técnicas encapsulantes ocorreram nos anos de 1930, mas o primeiro produto com material microencapsulado só surgiu em 1954. Como pioneira na produção de mercadorias utilizando microencapsulação, a *National Cash Register* (NCR) foi a pioneira, ao comercializar um papel de cópia sem carbono. Esse papel recebeu uma fina camada de microcápsulas de tinta, contendo solução de um pigmento disperso em partículas com diâmetro de 1 até 10  $\mu\text{m}$ .

Na área farmacêutica, os estudos de encapsulamento também aconteceram na década de 50 pois a microencapsulação permitiu o desenvolvimento de fórmulas de liberação controlada, liberando os agentes ativos nos órgãos onde devem agir ou onde serão absorvidos. Nele, o princípio ativo protegido é liberado gradativamente por meio de estímulos adequados, tais como mudança de pH, rompimento físico, intumescimento, dissolução, dentre outros. A microencapsulação tem inúmeras outras aplicações, e uma delas no setor de encapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma (SUAVE,2006).

Os métodos de encapsulamento para substância com sensibilidade térmica, como óleos essenciais, são comuns às técnicas por gelificação iônica. A extrusão ou gelificação iônica é uma técnica baseada na capacidade de polissacarídeos aniônicos como pectina, alginato, goma carragena e goma gelana de formarem gel em contato com soluções iônicas contendo como por exemplo o íon cálcio. As

interações dos íons com os grupos carboxila dos polissacarídeos, resultam na formação de géis insolúveis onde o endurecimento das partículas ocorre instantaneamente, começando na superfície na qual os íons bivalentes reagem com as cadeias poliméricas mediada por cátion de polissacarídeos carregados negativamente, formando uma estrutura tridimensional rígida (ARANHA, 2015). A matriz gelificada por gelificação iônica é caracterizada por baixa resistência mecânica e alta porosidade e algumas estratégias, como o revestimento de micropartículas com um polieletrólito com carga oposta à do gel, foram propostas para melhorar essa funcionalidade através de interações eletrostáticas (SILVERIO, 2018).

As partículas de gelificação iônica podem ser preparadas pelos métodos de extrusão e atomização. No processo de extrusão, a solução, a solução polimérica e o material nuclear, são gotejadas em uma solução iônica por meio de uma agulha, com ou sem velocidade controlada. Na atomização, o ar comprimido mistura-se à solução a ser encapsulada, pressionando a passagem da solução por um orifício de tamanho controlado (ARANHA, 2015).

### 3.4 COMPONENTES DAS CÁPSULAS

A definição da escolha do material encapsulante deve considerar propriedades físico químicas, como: capacidade de formação de filme; baixa higroscopicidade; baixa viscosidade a altas concentrações de sólidos, além de compatibilidade com o núcleo, mecanismo de liberação. Os carboidratos, por exemplo, são comumente utilizados em técnicas de encapsulação devido a sua capacidade de se ligar à compostos aromáticos, além de sua diversidade em aplicações e baixo custo (AZEREDO, 2005).

Os materiais constituintes do revestimento, são selecionados de acordo com a matrizes nuclear a ser encapsulada. Dentre os revestimentos estão as proteínas, os carboidratos, as gomas, celulose e lipídeos citados na Tabela 2.

Tabela 2 – Material utilizado na matriz de revestimento

| Classe       | Matriz   |
|--------------|--|
| Proteínas    | Gelatina, Peptídeos, Caseína, Albumina;                  |
| Carboidratos | Amido Nativo, Amido Modificado, Maltodextrina, Sacarose; |
| Gomas        | Goma-arábica, Agar, Alginato de Sódio;                   |
| Celulose     | Carboxicelulose, Metilcelulose;                          |
| Lipídeos     | Cera, Parafina, óleos;                                   |

Fonte: Adaptação de Carvalho, 2009.

Ao longo de muitos anos, os produtos plásticos vêm produzindo toneladas de resíduos prejudiciais ao meio ambiente devido ao seu longo tempo de degradação. Diante disto, o avanço da Biotecnologia Branca, como setor que aplica recursos naturais para a produção industrial de bioprodutos, deu origem a inúmeras mercadorias de baixo impacto ambiental utilizando biopolímeros. Os biopolímeros são polímeros produzidos a partir de matéria renovável como o milho, a cana de açúcar, celulose, quitina entre outros (BRITO et al., 2011).

#### 3.4.1 Amido

O mercado de amidos tem crescido e se aperfeiçoado nos últimos anos, levando à busca de produtos com características específicas, que atendam às exigências das indústrias (FERNANDES, 2013). O amido é a fonte de reserva energética mais importante dos vegetais. Ele é encontrado nas raízes, nas sementes e nos tubérculos e pode ter origem em diversas fontes como o milho, a batata, a mandioca, entre outras. Por ter várias fontes, o amido é tido como a matéria prima mais barata e abundante na face da Terra (RIBEIRO, 2007). Em seu estado nativo, é insolúvel em água fria, no entanto, ao serem dispersados em água e com aquecimento suficiente para o rompimento dos grânulos, forma uma solução gelatinosa propícia para a formação de filme. No entanto, o amido não possui grupos hidrofóbicos, não exercendo, então, praticamente nenhum efeito estabilizante de emulsões, a não ser pelo aumento da viscosidade. (AZEREDO, 2005)

Este carboidrato é formado pela união dos polissacarídeos amilose e amilopectina. A amilose é uma molécula de cadeia linear (Figura 8) com unidades de

$\alpha$ -D-glicopirranose unidas por ligação glicosídica  $\alpha$  1,4, podendo conter de 350 a 1000 unidades de glicose em sua estrutura. Já a amilopectina apresenta estrutura ramificada (Figura 7) formada por 10 a 500 mil unidades de glicose apresentando uma estrutura esférica (RIBEIRO, 2007).

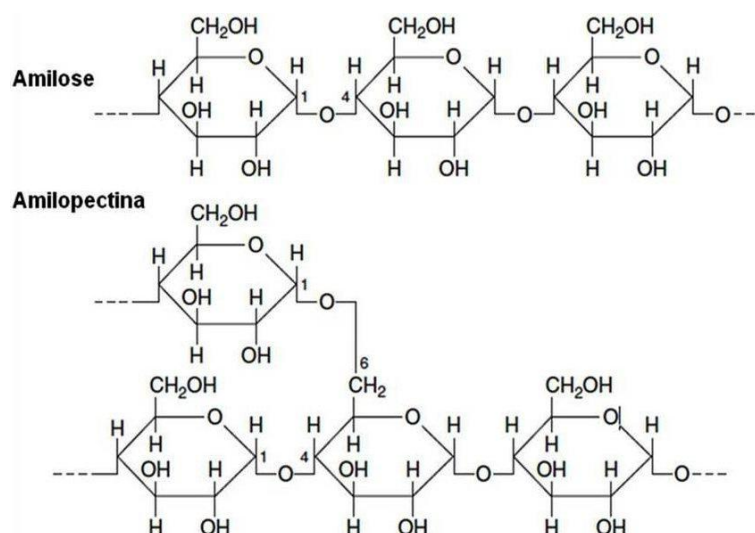


Figura 8: Estrutura da amilose e da amilopectina.

Fonte: Rayane de Tasso Moreira Ribeiro, 2014.

Naturalmente, o amido tem a presença de aproximadamente 12% de umidade. Em presença de água e temperaturas acima de 70 °C a molécula de amido ganha maior movimento, portanto as pontes de hidrogênio são quebradas permitindo com que a água penetre nas micelas dos grânulos de amido. O aquecimento contínuo com a presença de água resulta na perda das zonas cristalinas e a birrefringência do amido desaparece. Este fenômeno é denominado como ponto de gelatinização ou temperatura de gelatinização onde o amido se torna transparente (RIBEIRO, 2007)

### 3.4.2 Alginato

O alginato é uma substância extraída de algas marrons da classe *Phaeophyceae*. Sua estrutura é composta pela junção de ácido gulopiranosilurônico (G) e ácido manopiranosilurônico (M) (Figura 9) formando uma rede polimérica. A distribuição dos monômeros M e G determinam as propriedades estruturais e comportamentais do alginato. Os monômeros são geralmente unidos em “blocos” de

três tipos: M (homopoliméricos - contendo apenas monômeros M), G (homopoliméricos - apenas unidades de G) e MG (heteropoliméricos, alternando unidades M e G) (AZEREDO, 2011).

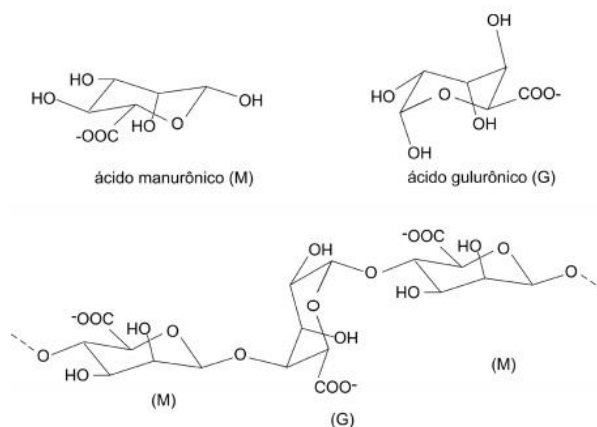


Figura 9: Estrutura química dos monômeros constituintes do alginato.

Fonte: Henriette Monteiro C. de Azeredo, 2011.

O sal de alginato é totalmente solúvel em água quente ou fria. Sua dispersão resulta em uma solução viscosa que pode se alterar com o acréscimo de temperatura. Ele forma gel em temperatura ambiente com a presença de pequenas quantidades de íons cálcio atingindo alta viscosidade (RIBEIRO, 2007).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 TESTE DE FORMAÇÃO DE CÁPSULA

Inicialmente foi feito um teste com solução polimérica puramente de amido. Nesse teste, 7 g de amido foram homogeneizados em 100 mL de água deionizada. Em seguida o amido foi submetido à 75°C durante 10 minutos sob agitação. Com o resfriamento do gel, ele foi gotejado em uma solução aquosa 2% de CaCl<sub>2</sub>. Os resultados do teste com amido deram início a um novo protocolo para a produção de cápsulas.

A produção de cápsula seguiu um protocolo com base na metodologia de Feltre (2015) e Reis (2009). No início do segundo teste (Figura 10), com uma micropipeta, foi adicionado 1000 µL de Álcool absoluto à uma porção de 3,5 g de alginato de sódio em um béquer de 150 mL. Posteriormente, foi adicionado à mistura de alginato de sódio e álcool absoluto, 100 mL de água deionizada. Após sua dissolução, foram introduzidos 3,5 g de amido nativo à solução formando uma proporção de 1:1 da solução polimérica da cápsula. Por fim, 3,5 g de óleo essencial de citronela foram homogeneizados formando a solução polimérica. Ela foi colocada em um agitador magnético a temperatura de 70°C durante 10 minutos.

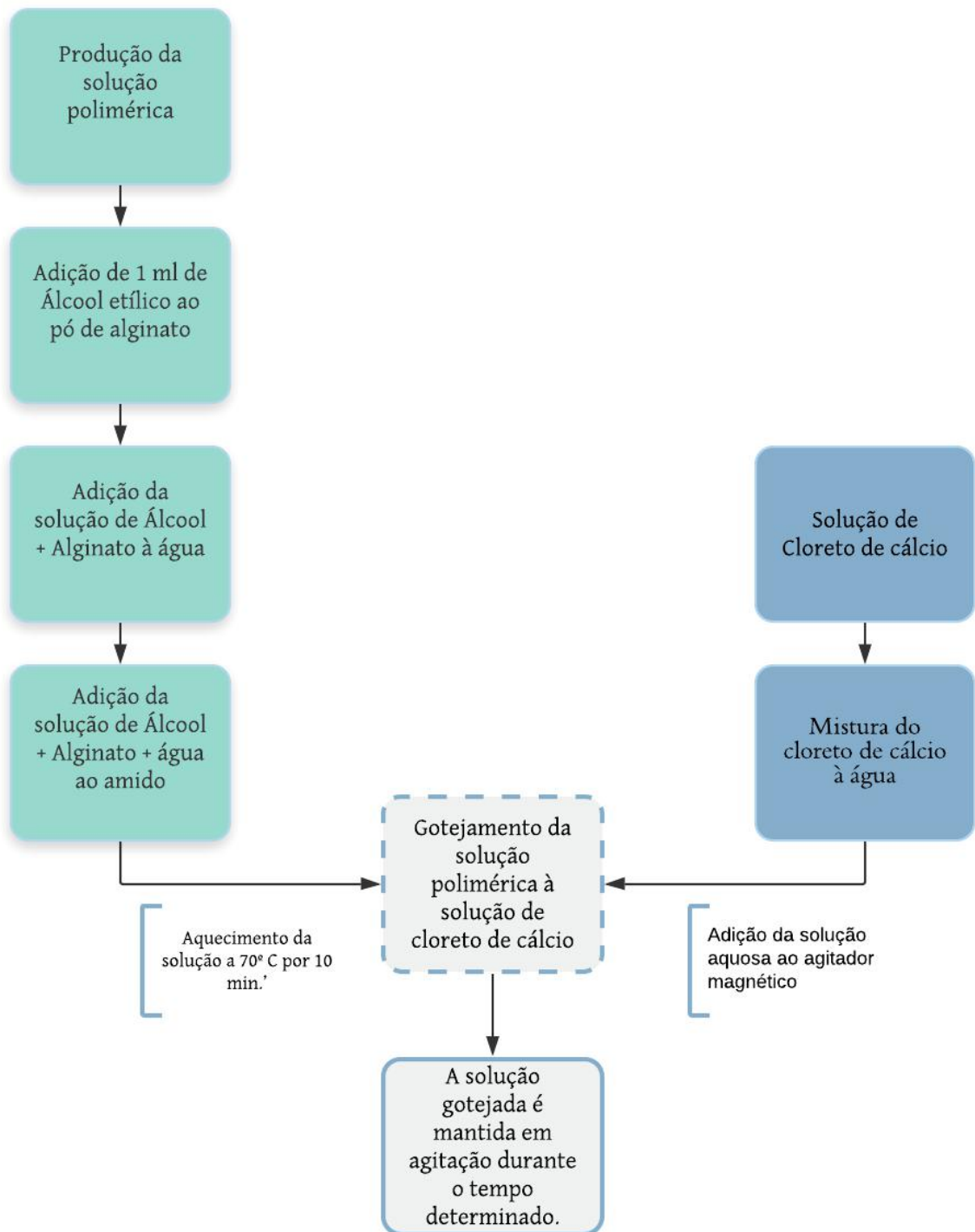


Figura 10: Protocolo de produção das cápsulas.

Fonte: Do Autor.

Paralelamente à produção da solução polimérica, foi confeccionado o meio de imersão. Este meio é constituído por uma solução aquosa de 4% de  $\text{CaCl}_2$  (4g de cloreto de cálcio para 100 mL de água deionizada).

Para a realização do gotejamento, foi colocada no agitador magnético a solução aquosa de  $\text{CaCl}_2$  4% a 300 rpm/s. Já em agitação, a solução polimérica foi gotejada utilizando uma seringa de 20 mL.

#### 4.2 PLANEJAMENTO FATORIAL

Para a realização do experimento utilizou-se um planejamento fatorial de  $2^3$ , em que, as variáveis independentes foram a proporção de amido de mandioca (St) e alginato de sódio (Alg), tempo de imersão das esferas na solução de  $\text{CaCl}_2$  (t – em minutos) e concentração da solução de imersão das cápsulas (força iônica - %) (Tabela 3).

Tabela 3 – Níveis das variáveis do Planejamento Fatorial  $2^3$ .

| Variáveis   | Níveis |       |       |
|-------------|--------|-------|-------|
|             | -1     | 0     | +1    |
| Alg:St      | 25:75  | 50:50 | 75:25 |
| t (min)     | 40     | 60    | 80    |
| [solução] % | 2      | 4     | 6     |

Fonte: Do Autor.

A fim de obter um estudo completo, foi necessária a realização de experimentos em todas as possíveis combinações dos 3 níveis de fatores agregados. Cada experimento submetido a um conjunto definiu-se como um ensaio, portanto um fatorial de  $2^3$  contém 8 ensaios mais a tripla repetição do ponto central (padrão inicial do experimento). Para o delineamento do planejamento fatorial foi utilizado o *software* “*statistic*”, na Tabela 4 a seguir.



Tabela 4 – Delineamento estatístico para o Planejamento Fatorial 2<sup>3</sup>.

| Ensaio | Variáveis codificadas |         |           | Variáveis reais |         |             |
|--------|-----------------------|---------|-----------|-----------------|---------|-------------|
|        | Alg:St                | t (min) | [solução] | Alg:St          | t (min) | [solução] % |
| 1      | -1                    | -1      | -1        | 25:75           | 40      | 2           |
| 2      | +1                    | -1      | -1        | 75:25           | 40      | 2           |
| 3      | -1                    | 1       | -1        | 25:75           | 80      | 2           |
| 4      | +1                    | 1       | -1        | 75:25           | 80      | 2           |
| 5      | -1                    | -1      | 1         | 25:75           | 40      | 6           |
| 6      | 1                     | -1      | 1         | 75:25           | 40      | 6           |
| 7      | -1                    | 1       | 1         | 25:75           | 80      | 6           |
| 8      | 1                     | 1       | 1         | 75:25           | 80      | 6           |
| 9      | 0                     | 0       | 0         | 50:50           | 60      | 4           |
| 10     | 0                     | 0       | 0         | 50:50           | 60      | 4           |
| 11     | 0                     | 0       | 0         | 50:50           | 60      | 4           |

Fonte: Do Autor.

Cada um dos 11 ensaios foi realizado de acordo com a metodologia do teste de formação de cápsula, utilizando a variável descrita no ensaio.

### 4.3 Avaliação qualitativa das cápsulas de citronela

#### 4.3.1 Avaliação morfológica

As cápsulas foram avaliadas quanto ao aspecto visual, tendo como principal critério o formato esférico, sendo também submetida a visualização em microscópio óptico.

### 4.3.2 Teste de liberação do núcleo

Para análise de liberação de citronela, em meio aquoso, foi realizado o teste de Bayer. O teste consiste no descoramento da solução de permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) quando presente no composto uma ligação dupla ou tripla de um alceno ou alcino, ou pela presença de grupos oxidáveis como álcoois primários e secundários ou aldeídos. O teste é positivo quando a solução violeta do íon permanganato se descora imediatamente com formação de precipitado marrom ( $\text{MnO}_2$ ). Para este teste, foram utilizados 2 mL de uma solução aquosa de  $\text{KMnO}_4$  a 1% e 5 cápsulas recém produzidas, ou desidratadas (através de sua exposição a um ambiente com humidade de aproximadamente 56% até sua massa atingir estabilidade), para cada tratamento (Tabela 5).

Tabela 5 – Codificação dos ensaios submetidos ao Teste de Bayer

| ENSAIO             | HIDRATADA              | DESIDRATADA                 |
|--------------------|------------------------|-----------------------------|
|                    | T1 ( $\text{KMnO}_4$ ) | T2 ( $\text{KMnO}_4$ +Óleo) |
| <b>E2</b>          | T3                     | T4                          |
| <b>E4</b>          | T5                     | T6                          |
| <b>E6</b>          | T7                     | T8                          |
| <b>E8</b>          | T9                     | T10                         |
| <b>E9, 10 E 11</b> | Sem identificação      | Sem identificação           |

Fonte: Do Autor.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por uma técnica rentável, de baixo impacto ambiental e fácil acesso orientou este trabalho para a utilização de um polímero de grande abundância, o amido de mandioca. A produção das cápsulas, contendo apenas amido, foi realizada com os mesmos parâmetros descritos no protocolo oficial de análise. Ao realizar o processo de gotejamento em solução de  $\text{CaCl}_2$ , a solução polimérica de amido se diluiu na solução de imersão, não formando as estruturas esféricas das cápsulas. Isso ocorreu, uma vez que, o amido em seu estado natural é praticamente insolúvel em água fria, porém, o aquecimento de sua mistura com a água faz com que o grânulo de amido inche e forme uma pasta de alta viscosidade e solúvel em água (KENYON, 1995).

A alta viscosidade e a ausência de grupos hidrofóbicos no amido não favoreceu a estabilização da emulsão, tampouco a formação de cápsulas (AZEREDO, 2005). Por esta razão, para obtenção das cápsulas, fez-se necessária a incorporação de um hidrocolóide aniônico, o alginato de sódio. O alginato é utilizado em técnicas de encapsulação por extrusão ou gelificação devido à sua capacidade de formação de gel em contato com íons  $\text{Ca}^+$  (gelificação iônica), sua alta versatilidade, biocompatibilidade e atoxidade na proteção do composto ativo (SILVA, 2018). Neste processo de teste foram realizadas algumas análises em relação aos aspectos de formação da cápsula. O tempo de imersão, a quantidade dos polímeros e a concentração da solução de  $\text{CaCl}_2$  poderiam interferir nas características estruturais da cápsula como o formato e espessura da matriz de revestimento.

A nova metodologia despertou questionamentos em relação às proporções entre amido e alginato na formulação da cápsula. Em vista disso, foi elaborado um planejamento fatorial em busca do limite mínimo de substituição do amido por alginato, visando a criação de um produto com baixo custo, já que o preço do alginato é significativamente mais alto que o do amido, que possui alta disponibilidade.

Além disso, a alta solubilidade em água do amido (altamente hidrofílico) facilitaria o rompimento das cápsulas e a consequente liberação do óleo essencial

com potencial ação larvicida, quando em contato direto com o criadouro do mosquito da dengue (água parada).

A metodologia adotada, neste estudo, possibilitou a obtenção de cápsulas com geometria esférica e diâmetro variável em 4,08 - 4,72 mm, (Figura 11a) e umidade 70,82% m/m. Balata et al. (2015), obtiveram cápsulas de óleo de citronela com revestimento de 100% de alginato, em condições similares de produção, com umidade de 66% m/m, aproximando-se aos valores deste estudo. No entanto, os ensaios que continham maior proporção de amido em relação ao alginato (E1, E3, E5 e E7) apresentaram formato irregulares (Figura 11) devido a sua alta viscosidade que não permitiu a estabilização da emulsão, e por esta razão não foram consideradas para os ensaios seguintes.

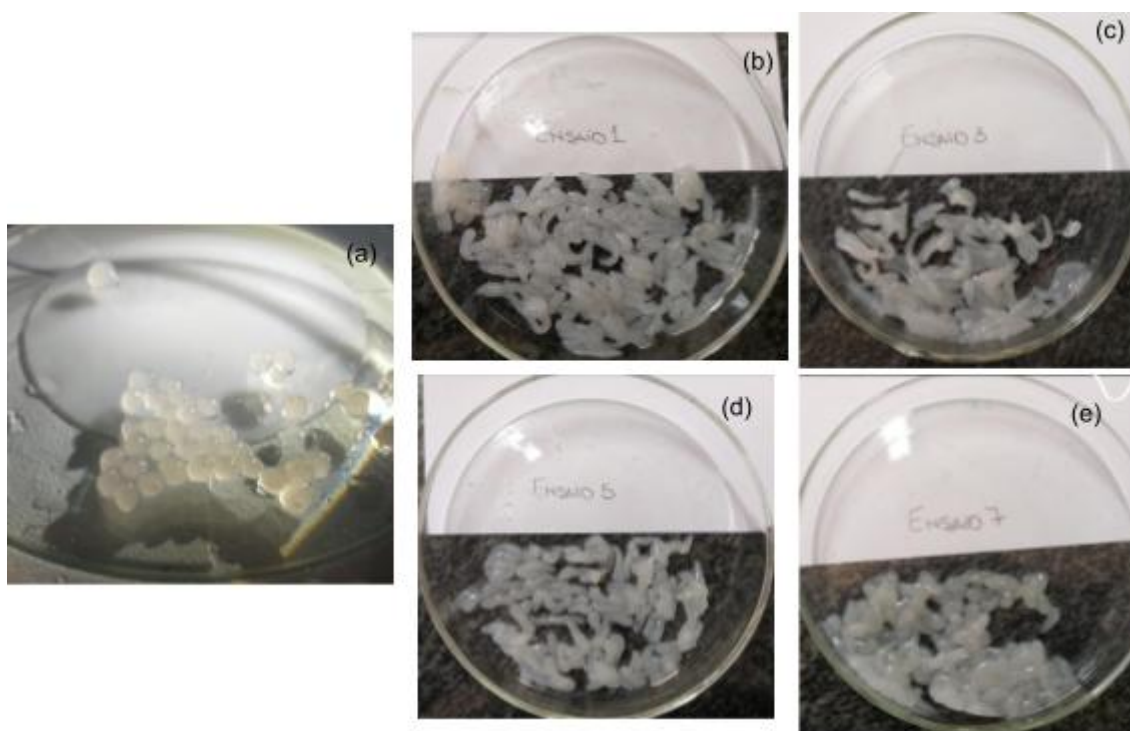


Figura 11 – Formato das capsulas (a) regulares; (b, c, d, e) irregulares.

Fonte: Do Autor.

Ao analisar as cápsulas, no microscópio óptico e lupa, foi possível observar formação de bolhas, confirmando a encapsulação do óleo de citronela (Figura 12), além do seu odor característico. No entanto, as bolhas mostram-se como núcleos volumosos e apresentam-se em quantidades restritas. Ao considerar que o efeito da liberação do núcleo de forma gradativa seja interessante ao estudo e favorecido pelo

processo de emulsificação, uma vez que interfere na formação de cápsulas, sugere-se necessidade de uma emulsificação intensa neste protocolo.

Há de se considerar, que a baixa eficiência da encapsulação possa ser atribuída ao processo de obtenção das cápsulas, uma vez que a etapa de emulsificação do óleo possui muita importância para este tipo de estudo. Entretanto, a fotografia das cápsulas (Figura 12) no microscópio óptico sugere o potencial destes polímeros na produção de cápsulas contendo óleo de citronela.

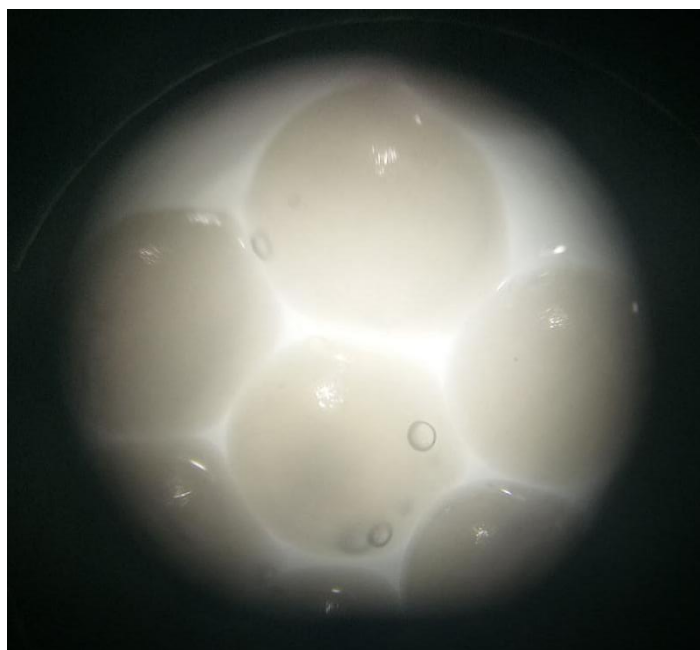


Figura 12 - Bolhas presentes nas cápsulas Fotografia das cápsulas visíveis em microscópio óptico (objetiva 10X).

Fonte: Do Autor.

O teste de Bayer resultou em dados positivos em todos ensaios avaliados (E2, E4, E6, E8, E9, E10, E11). Nesta análise, foram avaliadas as cápsulas secas por 24 horas e hidratadas, na presença da solução de permanganato de potássio. O teste positivo é caracterizado pela formação de um precipitado marrom ( $MnO_2$ ) (Figura 13).

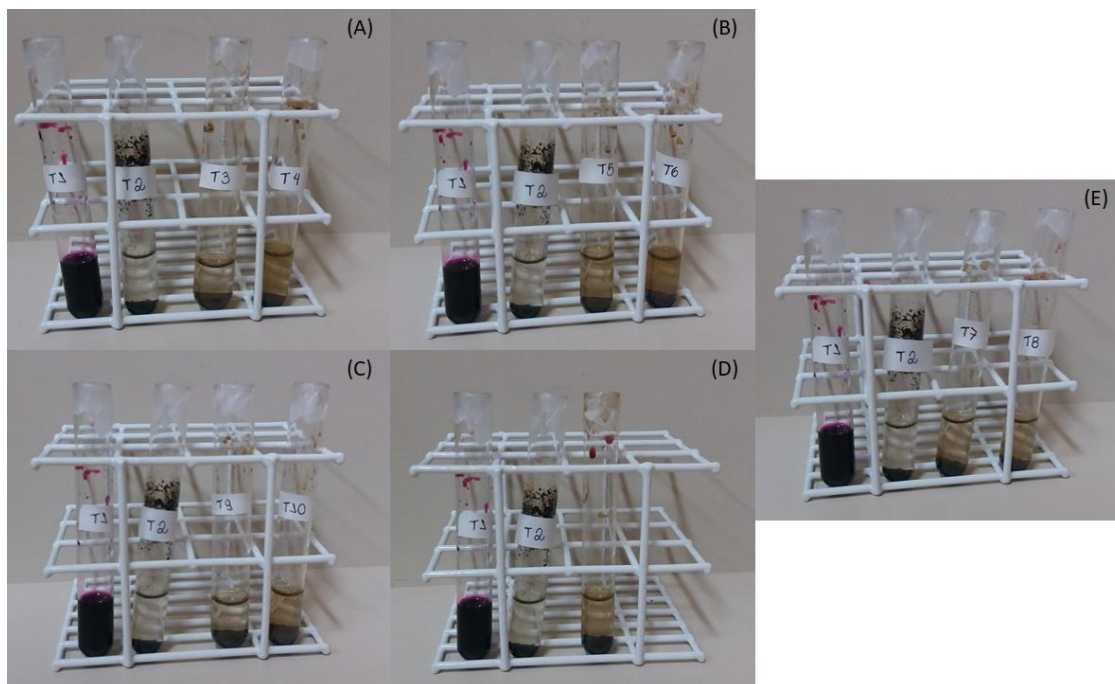


Figura 13: Teste Bayer das cápsulas; (A) Ensaio 2; (B) Ensaio 4; (E) Ensaio 6; (C) Ensaio 8; (D) Ensaio 9,10 e 11; em comparação com os padrões (T1 e T2).

Fonte: Do Autor.

O teste positivo ocorre pela interação do citronelol, citronelal e geraniol, presentes no óleo de citronela, com o permanganato de potássio, devido à presença de insaturações., que oxidam formando um precipitado de coloração marrom, conforme observado na Figura 14.

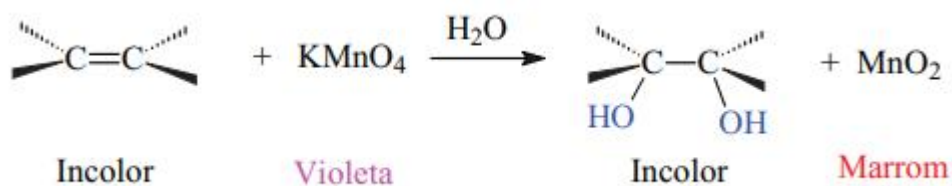


Figura 14 – Reação da citronela no teste de Bayer.

Fonte: Química orgânica experimental.

As cápsulas secas tiveram um tempo relativamente superior as hidratadas para a eclosão e liberação do núcleo. Contudo, a utilização das cápsulas, neste teste, mostraram-se efetivas na liberação do óleo, mesmo após a perda de sua umidade. Sendo assim, a proposta do uso das cápsulas em criadouros podem ser

eficientes na ação repelente dos mosquitos, uma vez que a perda de umidade não interferiu na preservação e liberação do núcleo.

Os ensaios preparados com gotejamento em concentrações distintas de solução de  $\text{CaCl}_2$  não apresentaram diferenças em aspectos visuais na formação de cápsulas. Em contrapartida, o maior período de tempo de imersão em solução de cloreto de cálcio, na encapsulação, favoreceu a formação de membranas relativamente mais rígidas.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa apresenta uma aplicação de grande importância social e ambiental. Considerando o apelo de saúde pública, foi proposto de um produto alternativo e eco-amigável para o controle e desenvolvimento de larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

Além da busca por uma alternativa ao uso de componentes de alta toxicidade para o extermínio dos mosquitos, este trabalho foi capaz de propor uma cápsula com quantidade considerável de amido em sua composição, o que diminui o custo do produto final, uma vez que amido é um polímero natural de alta renovabilidade e disponibilidade.

Com este trabalho foi possível a produção de cápsulas a partir de polímeros naturais contendo como recheio óleo essencial de citronela. Como proposta ao uso destas cápsulas, foi elencados sua utilização como larvicida sendo uma alternativa ao combate à proliferação do mosquito *Aedes aegypti*. Além da sugestão como larvicida, foi possível a realização de análises óticas com a finalidade da caracterização morfológica deste produto, e para a comprovação da presença de óleo em seu interior.

Apesar da autenticação da produção de cápsulas contendo óleo de citronela, ainda são necessárias análises que apresentem a eficácia do uso dessas cápsulas em criadouros, conseqüentemente expulsão das fêmeas evitando a oviposição e influências negativas no ambiente onde as cápsulas são depositadas. Além das análises de eficácia do uso destas cápsulas, é necessária a implementação de metodologias de maior precisão para as descrições fisiológicas e morfológicas.



## REFERÊNCIAS:

ALMEIDA, A. Paulo Gouveia. **OS MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE) E A SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA EM PORTUGAL: Desafios para o Século XXI**. Acta Med, Portugal, v. 6, n. 24, p.961-974, 2011.

A MICROENCAPSULAÇÃO A SERVIÇO DA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA. **Food Ingredients Brasil**, Brasil, n. 25, p.30-36, 2013.

Andrade, C.F.S., 2008. Repelentes de Mosquitos – Base Técnica para Avaliação. **Artigos Técnicos - UNICAMP, Inst. de Biologia, Dep. de Zoologia**, Campinas, 2008. Site Ecologia Aplicada, 9pp.

ARANHA, Caroline Pereira Moura. **Microencapsulação por gelificação iônica e interação eletrostática do corante de buriti (Mauritia flexuosa L. f.)**. 2015. 117 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.

AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro de. **ENCAPSULAÇÃO: APLICAÇÃO À TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 16, n. 1, p.89-97, mar. 2005.

AZEREDO, Henriette Monteiro C. et al. Filmes comestíveis de alginato e goma de cajueiro. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2011.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. **Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência**. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v.16, n.4, p.279-293, out-dez, 2007.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução - **RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 09 set 2019

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adultos e criança** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 58 p.: il.

Brasil. Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde alerta para aumento de 149% dos casos de dengue no país**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45257-ministerio-da-saude-alerta-para-aumento-de-149-dos-casos-de-dengue-no-pais>> Acesso em: 23 out 2019.

Brasil. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância do Culex quinquefasciatus**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Francisco Anilton Alves Araújo, Marcelo Santalucia. – 3ª ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em:

<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_culex\\_quinquefasciatus.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_culex_quinquefasciatus.pdf)> Acesso em: 11 jun 2019.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p.127-139, 31 set. 2011.

CARDOSO, Maria das Graças et al. **Óleos essenciais**. 10 ago. 2017. Disponível em: [https://docgo.net/detail-doc.html?utm\\_source=oleos-essenciais-pdf](https://docgo.net/detail-doc.html?utm_source=oleos-essenciais-pdf). Acesso em: 20 ago. 2019.

CARVALHO, Joana Sanches Roque de. **Encapsulamento de Óleo Essencial de *Origanum virens* L. em Matrizes de Gelatina e Gelatina/Sacarose**. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Alimentar, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

CARVALHO, Gabriela Cristina de. **Investigação de fontes alimentares de culicídeos coletados em parques municipais de São Paulo pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

DAVIS, Edward E. Insect Repellents: Concepts of their Mode of Action Relative to Potential Sensory Mechanisms in Mosquitoes (Diptera. **Journal of Medical Entomology**, [s.l.], v. 22, n. 3, p.237-243, 24 maio 1985. Oxford University Press (OUP).

DONALISIO, Maria Rita; FREITAS, André Ricardo Ribas; VON ZUBEN, Andrea Paula Bruno. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 51, p.1-6, 2017. FapUNIFESP (SciELO).

FELTRE, Gabriela; DACANAL, Gustavo Cesar; MENEGALLI, Florencia Cecilia. ALTERAÇÕES DAS PARTÍCULAS DE AMIDO DE MILHO AGLOMERADAS COM ALGINATO DE CÁLCIO PELO MÉTODO "DRIPPING". **Anais do Xxxvii Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados**, [s.l.], p.1-8, out. 2015. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/enemp2015-tc-431>.

FRADIN, Mark S. **Mosquitoes and Mosquito Repellents: A Clinician's Guide**. American College of Physicians, Md, v. 128, n. 11, p.931-940, 1 jun. 1998. Anal.

HEINZMANN, Berta Maria; SPITZER, Volker; SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira. Óleos voláteis. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 167-184.

KENYON, Melanie M. Modified Starch, Maltodextrin, and Corn Syrup Solids as Wall Materials for Food Encapsulation. **Encapsulation and Controlled Release Of Food Ingredients**, [s.l.], p.42-50, 24 mar. 1995. American Chemical Society. <http://dx.doi.org/10.1021/bk-1995-0590.ch004>.

OLIVEIRA, Sandra Luiza de. **MÉTODOS DE ANÁLISE DE REPELÊNCIA EM *Aedes aegypti* (CULICIDAE, DIPTERA) UTILIZANDO PRODUTOS NATURAIS**.

2008. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

OPAS (Brasil). **Folha informativa – Dengue e dengue grave**. 2019. Disponível em: <[https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812)>. Acesso em: 30 out. 2019.

PAROUL, Natália. **Síntese enzimática de ésteres aromáticos a partir de diferentes substratos em sistemas livres de solventes orgânicos**. Tese. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, 2011.

PRINCÍPIOS DE ANÁLISE ORGÂNICA. Disponível em: <[http://www.cesadufs.com.br/ORBI/public/uploadCatalogo/10345204042012Quimica\\_Organica\\_Experimental\\_Aula\\_6.pdf](http://www.cesadufs.com.br/ORBI/public/uploadCatalogo/10345204042012Quimica_Organica_Experimental_Aula_6.pdf)>. Acesso em: 05 nov. 2019.

RIBEIRO, Eliana Paula. **Química de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007. 184 p.

REIS, Everton Amazonas dos. **PRODUÇÃO DE CÁPSULAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA PARA FINS DE BIORREMEDIAÇÃO DE AMBIENTES CONTAMINADOS POR HIDROCARBONETOS DO PETRÓLEO**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

SILVA, Catarina et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, Coimbra, v. 39, n. 1, p.1-20, jan. 2003.

SILVA, Leila Eid Imad da. **NOVO MÉTODO DE CONTROLE DO MOSQUITO *Aedes aegypti* UTILIZANDO UMA ARMADILHA COM PANO PRETO IMPREGNADO COM FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium anisopliae* ASSOCIADO A UM ATRAENTE SINTÉTICO**. 2014. 87 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2015.

SILVA, Cassiane Araujo. **Produção de grânulos de amido-alginato por meio da gelificação iônica de gotas em sistemas bifásicos**. 2018. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência de Materiais., Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

SILVERIO, Gabriela Barros et al . Production and characterization of alginate microparticles obtained by ionic gelation and electrostatic adsorption of concentrated soy protein. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 48, n. 12, e 20180637, 2018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782018001200750&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018001200750&lng=en&nrm=iso)>. access on 03 Dec. 2019. Epub Dec 03, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180637>.

STEFANI, Germana Pimentel et al. **Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças**. Rev Paul Pediatr, São Paulo, v. 1, n. 27, p.81-89, 2009.

Suave, J., Dall'Agnol, E. C., Pezzin, A. P. T., Silva, D. A. K., Meier, M. M., & Soldi, V. (2006). Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal*, 7(2), 12-20.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue control: The mosquito**. Disponível em: <<https://www.who.int/denguecontrol/mosquito/en/>>. Acesso em: 01 ago. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Comprehensive guidelines for prevention and control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever**. New Delhi: WHO, 2011. *E-book*