MICROCÁPSULAS DE POLÍMERO NATURAL CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO – CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA – UNISOCIESC / CAMPUS JOINVILLE

FREDDI, Maira Luiza [1]
WINTRICH, Manuella [2]
MIRANDA, Katiusca Wessler [3]

RESUMO

O eugenol é o principal constituinte do óleo de cravo, dando aroma, sabor e características ao cravo da Índia, sendo ele o responsável pela sua habilidade antiviral. O objetivo do trabalho é o estudo da possibilidade de microencapsulação de óleo de cravo com alginato de sódio como material encapsulante, pela técnica de coacervação simples, verificando-se a caracterização das cápsulas formadas, através de microscopia óptica. A concentração do alginato de sódio se manteve constante em todos os testes, já concentração do cloreto de cálcio teve variação, para a verificação da sua influência no processo. A concentração de óleo de cravo conservou-se constante em todos os testes. Como agente emulsificante, decidiu-se pelo Tween 80, do qual o volume utilizado também não foi alterado. O diâmetro das microcápsulas que estavam em contato com a solução de cloreto de cálcio de 2,5% ficaram entre 300µm-450µm, e já as de 5% entre 300µm-550µm, evidenciando, assim, que os diâmetros permaneceram praticamente idênticos.

Palavras-chave: Eugenol; oleo de cravo; alginato de sódio; microencapsulação.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o surto da variante SARS-COV-2, que iniciou-se em 30 de janeiro de 2020, é considerado Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional (Chaves, *et al.,* 2020). Neste sentido, a OMS divulgou diversas notícias sobre a importância do distanciamento social e da utilização de máscaras para proteção. Um estudo realizado em 2020 apontou que os profissionais de saúde que usavam máscaras de tecido de algodão tinham um risco aumentado de infecção comparados aos que usavam máscaras cirúrgicas do tipo N95/PFF2 (SOARES *et al.*, 2020). Sugerindo que as máscaras de algodão comumente utilizadas, não são suficientes para que contenha a transmissão do coronavírus, estreitando ainda mais os recursos para a proteção da população.

[1] Graduanda do Curso de Engenharia Química do Centro Universitário UNISOCIESC, mairaluizaf@gmail.com; [2] Graduanda do Curso de Engenharia Química do Centro Universitário UNISOCIESC, wintrich43@gmail.com; [3] Professora Orientadora: Doutora, Centro Universitário UNISOCIESC, katiusca.wessler@sociesc.com.br;

Joinville – SC XX de XX 2021.

Buscando maneiras para aumentar a eficácia das máscaras, estudos começaram a ser realizados, surgindo atribuições nas atividades biológicas do cravo da índia, como antimicrobiana (Nunez *et al.*, 2001; Velluti *et al.*, 2004; Viuda-Martos *et al.*, 2007), antioxidante (Bamdad *et al.,* 2006; Jirovetz *et al.*, 2007; Yanishlieva *et al.*, 2006) e anestésica (Altun *et al.*, 2006; Seol *et al.*, 2007), além disso ele permite uma penetração eficiente na membrana celular e penetra nos tecidos cerca de 100 vezes mais rapidamente comparado com a água (Affonso *et al*, 2012). O microencapsulamento é um procedimento que tem como objetivo o revestimento e proteção de substâncias como o óleo de cravo, apresentando vantagens como mascarar propriedades indesejáveis do material encapsulado como sabor, odor, pH, propriedades catalíticas e permitir mecanismos de liberação controlada das substâncias encapsuladas para fins específicos nos produtos onde é veiculada. (Shadini *et al*, 1993; Ré, 1998; FANGER, 1974).

Conciliando os benefícios do óleo de cravo de índia e do microencapsulamento, este trabalho tem como objetivo, portanto, produzir microcápsulas de alginato de sódio contendo o óleo essencial de cravo da índia, e caracterizá-las através da microscopia óptica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA

O cravo da índia é uma planta arbórea, considerada uma árvore de grande porte, podendo chegar até 15 metros de altura (AFFONSO et al., 2012). O óleo essencial de cravo possui cerca de 15 a 20% de óleo volátil, seu principal componente é o eugenol, além de outros componentes em menores proporções, como acetato de eugenol e β-cariofileno (MENESES, 2016; MAZZAFERA, 2003).

O eugenol constitui cerca de 70 a 80% da composição do óleo, dando aroma, sabor e características ao cravo da índia, sendo responsável pela sua habilidade antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória (CHATTERJEE; BHATTACHARJEE, 2013). Segundo Jirovetz *et al.* (2002), ao analisarem a composição química do óleo de cravo da índia, comprovaram esses dados e afirmaram que o óleo possui atividade antioxidante maior que o o-butil hidroxitolueno (BHT).

Surgindo atribuições nas atividades biológicas do cravo da índia, como antimicrobiana (Nunez et al., 2001; Velluti et al., 2004; Viuda-Martos et al., 2007),

antioxidante (Bamdad et al., 2006; Jirovetz et al., 2007; Yanishlieva et al., 2006) e anestésica (Altun et al., 2006; Seol et al., 2007). Nas atividades antimicrobianas destacam-se sua capacidade antiviral e antibacteriana. (AFFONSO, RENNO, SLANA e FRANÇA, 2012).

De acordo com Silvestri *et al.* (2010), o óleo essencial do cravo da india se mostrou promissor no controle de bactérias, as suas concentrações inibitórias mínimas (CIM) do óleo variaram para as Gram-positivas de 0,2 $mg.mL^{-1}$ a 0,6 $mg.mL^{-1}$ e para as bactérias Gram-negativas é de 0,5 $mg.mL^{-1}$ a 0,8 $mg.ml^{-1}$, averiguando que as bactérias Gram-positivasforam mais sensiveis. O óleo de cravo possui grande sensibilidade à luz, oxigênio e ao calor, sendo assim a técnica de microencapsulação é uma alternativa muito viável para protegê-lo (CHATTERJEE; BHATTACHARJEE, 2013).

2.2 PROCESSAMENTO DE MICROENCAPSULAMENTO E TÉCNICAS PARA FABRICAÇÃO DE MICROCÁPSULAS

A microencapsulação é o processo onde existe o envolvimento do material ativo ou núcleo com o material de parede ou encapsulante, basicamente o composto de interesse é envolto por um filme de proteção, usualmente polimérico. As microcápsulas podem ter diâmetros variando entre unidades de micrometros até milímetros e também podem apresentar diversas formas, dependendo dos materiais e métodos usados para sua obtenção (MEBS *et al.*, (2020).

O microencapsulamento é capaz de alterar as propriedades do material encapsulado, fornecendo proteção e estabilidade por meio da película e permitindo uma liberação controlada da substância interior. Ainda neste sentido, existe o auxílio na diminuição da volatilidade de fármacos (Bansode *et al*,. 2010), e protege as substâncias de ações externas do ambiente (GAMBARI, 2014 apud LIMA C., 2017, p. 18).

A membrana, produzida através do polímero, degrada-se com um estímulo específico, liberando o ativo no local ou momento ideal (ZHANG et al., 2015 apud PEREIRA et al., 2018; SILVA et al., 2014). Desta maneira, autores como Pereira *et al.* (2018) e Silva *et al.* (2014) explicam que a escolha do material da cápsula influencia diretamente na qualidade e estabilidade da micropartícula e também na eficiência da microencapsulação, visto que o polímero ideal deve possuir algumas características específicas, tais como: não reativo com o núcleo; selante; fornecedor de proteção ao

núcleo contra condições adversas; viabilidade econômica.

As partículas podem ser classificadas de acordo com seu tamanho em macropartículas (≥ 5.000 µm), micropartículas (0,1 a 5.000 µm) e nanopartículas (≤ 0,1 µm) (Silva *et al*., 2014).

Suave *et al.*(2006) diz que a escolha do método mais adequado depende do tipo do material ativo, da aplicação e do mecanismo de liberação desejado para a sua ação. A diferença entre as técnicas de microencapsulamento está no tipo de envolvimento do material ativo com o agente encapsulante, já que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química.

> "Métodos físicos: spray drying, spray cooling, pulverização em banho térmico, leito fluidizado, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, cocristalização e liofilização.
>
> Métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial.
>
> Métodos físico-químicos: coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação e envolvimento lipossômico (Santos *et al.*, 2000). sendo que essa é a técnica escolhida pelos autores, seguindo o método de coacervação (SUAVE *et al.* 2006)"

Tendo em vista que no presente estudo a microencapsulação possui o propósito de conservar as propriedades físico/químicas do óleo essencial de cravo da índia, para que haja sua liberação controlada, aumentando, desta maneira, sua eficácia para fins antivirais, o método da coacervação foi o escolhido pelos autores.

2.3 MÉTODO DE COACERVAÇÃO

De acordo com Leiman (2008), a coacervação é comumente utilizada para encapsular óleos, óleos essenciais e flavorizantes. Este método pode ser descrito como um fenômeno de separação espontânea de fases, que contenham hidrocolóides, ocorrendo quando polieletrólitos são misturados em um meio aquoso. Com a saída do solvente, as moléculas do polímero aproximam-se formando aglomerados (Gonçalves *et al*. 2009). O resultado é a formação de dois sistemas coloidais, que transformam-se em dois líquidos imiscíveis, uma das fases é rica em colóide e a outra é pobre (MEBS *et al*. 2020). Leiman (2008) diz que a fase mais concentrada no componente coloidal é

o que chamamos de coacervado, que é o próprio nome do método em questão, e a outra fase é conhecida como solução de equilíbrio. Além disso, a coacervação pode ser simples ou complexa, onde há apenas um polímero envolvido ou onde há dois ou mais polímeros com cargas diferentes, respectivamente (MISHRA, 2015).

O fator crucial para que a separação de fases ocorra na solução coloidal é a mudança de pH, que pode ocorrer através da inserção de um eletrólito, como o sulfato de sódio (LEIMAN, 2008), ácido clorídrico ou qualquer ácido orgânico, esta separação pode se dar ainda através da mudança de temperatura, adição de sal, polímero incompatível ou insolúvel na solução, ou algum método que acarrete a diminuição da solubilidade dos sólidos dispersos, que serão posteriormente os constituintes da capa da microcápsula. Podem-se, ainda, serem adicionados elementos auxiliares nesse processo, como por exemplo agentes tensoativos, com o propósito de que ocorra a redução da tensão de superfície da fase contínua e a diminuição da coalescência, garantindo uma maior estabilidade da emulsão formada (MEBS *et al*. 2020).

Depois da separação das fases, o colóide, então, deposita-se ao redor das gotículas do material a ser encapsulado, insolúvel na solução, gerando as microcápsulas (LEIMAN, 2008).

A autora Leiman (2008) obtive êxito quanto a utilização do método de coacervação simples para encapsular óleo essencial de capim limão, ela destacou ainda, que os principais compostos que apresentam atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão não se perderam durante a microencapsulação.

Os autores optaram por esta técnica graças a facilidade de execução, visto que não há necessidade de equipamentos complexos, além disso, pode ser realizada em laboratório, garantindo resultados satisfatórios em pequena escala.

2.4 MECANISMO DE LIBERAÇÃO

Para que as microcápsulas possam garantir eficiência e atingir seu principal objetivo é necessário levar em consideração diversos critérios como temperatura, variação do pH e também o mecanismo de liberação (LOPES, LOBO e COSTA; 2005). Existem dois principais tipos de mecanismos de liberação, difusão e erosão.

Segundo Silva (2016) na difusão, o agente biotivo encontra-se envolvido por um filme ou membrana polimérica ou disperso uniformemente em uma matriz. De acordo com Pereira *et al.*(2018) a difusão ocorre quando há um gradiente de concentração no sistema, ocorrendo deslocamento molecular da zona mais concentrada. No mecanismo

de erosão, Silva (2016) afirma que nesse processo o controle químico ocorre por meio da degradação da matriz, sendo a taxa de liberação dependente da escolha do polímero, nesse caso a liberação é mais demorada, sendo liberada à medida que as camadas poliméricas mais externas sofrem hidrólise, diminuindo o tamanho da cápsula.

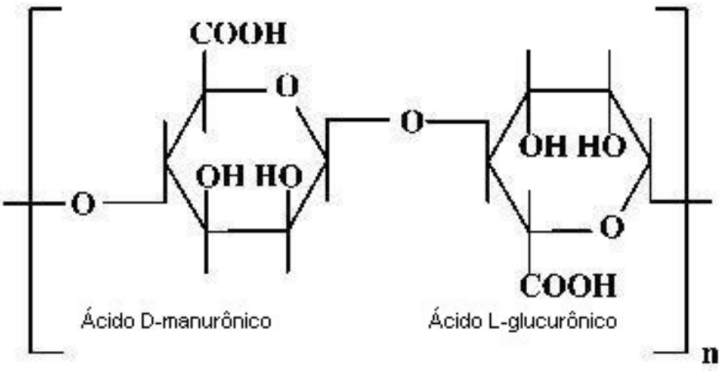
2.5 ALGINATO DE SÓDIO COMO AGENTE ENCAPSULANTE

O alginato de sódio, é o alginato mais empregado na indústria, por ser um polímero natural, ter fácil obtenção e manipulação, apresentar caracteristicas como gelificação, estabilização e ser biocompatível e biodegradável, além disso, têm um baixo custo (SCHOUBBEN et al., 2010, GOH et al. , 2012). É frequentemente utilizado como agente desintegrante em comprimidos, suspensor e espessante em géis, além de seu emprego em sistemas de liberação controlada (TU et al., 2005).

É um polissacarídeo linear (Figura 1), formado pela ligação de resíduos dos ácidos β-D-manurônico (M) e α-L-gulurônico (G), distribuídos em diferentes proporções ao longo da cadeia e unidos por ligações glicosídicas, em três tipos de segmentos poliméricos (YWAKI, 2010):

- Blocos M: constituídos por monossacarídeos de ácido D-manurônico;
- Blocos G: constituídos por monossacarídeos de ácido L-gulurônico;
- Blocos MG: constituídos por monossacarídeos de ácido D-manurônico e ácido L-gulurônico.

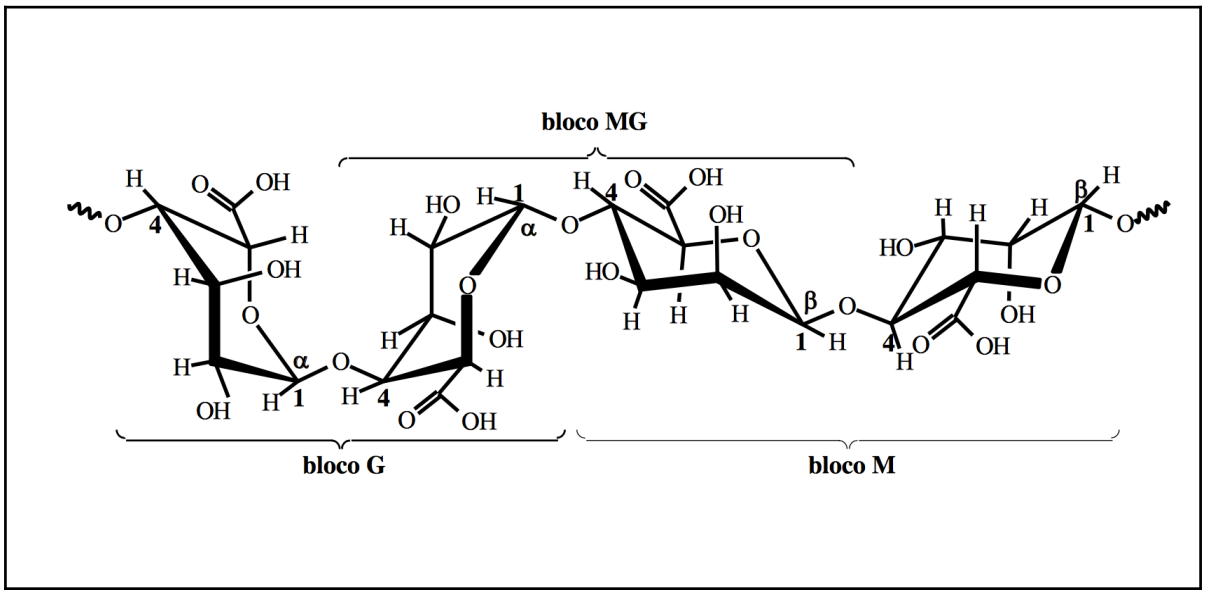
Figura 1- Fórmula estrutural do alginato.



Fonte: Iwaki (2010).

Os blocos podem apresentar-se como sequência M e G ou sequências alternadas de MG (Figura 2), a sequência dos blocos e massa molecular são responsáveis pelas propriedades físicas dos alginatos (YWAKI, 2010).

Figura 2 - Fragmento da cadeia de um alginato formada por blocos M, G e MG.



Fonte: Iwaki (2010).

2.6 TESTE *IN VITRO* ANTIVIRAL ATRAVÉS DA SALIVA HUMANA

O teste *in vitro* é o indicador inicial que designa todos os processos biológicos que são feitos fora dos sistemas vivos, em um ambiente controlado e fechado de um laboratório, que usualmente são manipulados em recipientes de vidro, como por exemplo as placas de Petri (PADILHA, 2020). Os ensaios *in vitro* promovem a possibilidade de medir a eficácia e a toxicidade de fármacos antes de administrá-los para então a posterior usabilidade em humanos. Esses estudos fornecem apoios para que as empresas farmacêuticas não percam tempo ou dinheiro com o desenvolvimento em fármacos que sejam tóxicos, ineficazes ou muito concentrados (FARMACAPSULAS, 2017).

O produto a ser analisado é injetado no vidro contendo a parte biológica a ser analisada, como por exemplo a célula (FARMACAPSULAS, 2017), um tecido ou fluido corporal, sendo que o último foi o escolhido pelos autores.

Cardoso, *et al.* (2020) demonstra que a cavidade bucal, onde encontram-se as

glândulas salivares, mucosa de revestimento, gengiva e língua, apresenta receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) em diversos sítios, constituindo-se, portanto, em via de entrada do SARS-CoV-2.

Ainda de acordo com Cardoso, *et al.* (2020), a saliva apresenta um papel essencial quanto à prevenção de infecções virais, pela presença de diversas proteínas consideradas fundamentais para impedir a replicação viral.

De acordo com Costa *et al.* (2020), a infecção da glândula salivar ocorre no início da infecção para o coronavírus, o que aponta para o fluido salivar como uma importante fonte de transmissão. E não apenas isto, mas também conforme Teles *et al.* (2020) demonstra, a saliva também é um tipo de amostra confiável que representa uma opção promissora para a detecção eficaz de SARS-CoV-2 e do diagnóstico de COVID-19.

Desta maneira, entende-se que uma das maneiras de detectar o coronavírus, principalmente a variante SARS-CoV-2, é o impedimento de sua propagação pela principal porta de entrada: a saliva.

3 METODOLOGIA

Esta seção demonstra os procedimentos feitos em laboratório para que o devido objetivo deste artigo conclua-se, e também para que os resultados possam ser apontados posteriormente, expondo principalmente o mecanismo para a aquisição das microcápsulas, juntamente com os materiais e métodos.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA

Para a realização deste estudo utilizou a pesquisa científica, de forma quantitativa, através de artigos científicos e livros. Propondo uma pesquisa aplicada, para aplicações práticas com objetivo de solucionar o problema, a pesquisa ocorreu de forma explicativa, sendo classificada de modo experimental.

3.2 AMBIENTE DA PESQUISA

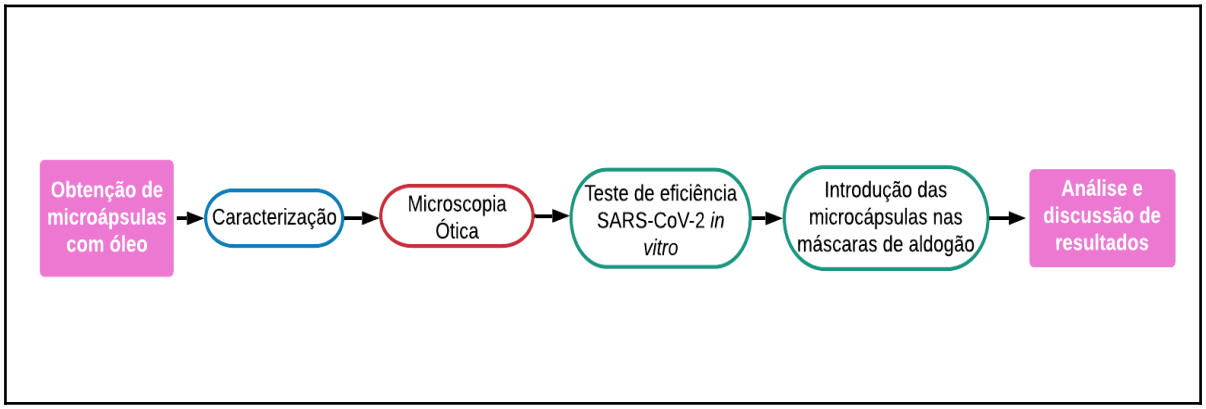
O experimento laboratorial foi realizado no CENTRO UNIVERSITÁRIO UNISOCIESC-SC Anita Garibaldi. As análises citadas no item 3.5.3. foram realizadas

nas empresas FGM Produtos Odontológicos e SENAI.

3.3 ETAPAS DA PESQUISA

O primeiro passo, foi o encapsulamento do óleo essencial de cravo da índia tendo como material de capa o alginato de sódio em uma concentração de 2,5%. Em seguida, caracterizou-se as microcápsulas formadas utilizando as técnicas de microscopia óptica, termogravimetria, espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR), para que exista a avaliação da eficiência do estudo. O fluxograma da etapa experimental pode ser visualizado conforme a Figura 3.

Figura 3 - Fluxograma das etapas da pesquisa.



Fonte: Os autores (2021).

O processo de microencapsulação foi realizado por meio do método de coacervação proposta por Radünz (2019), variando a concentração de cloreto de cálcio. Depois de um dia de secagem em estufa e de três dias de dessecação das microcápsulas, realizou-se a caracterização e análises, conforme o fluxograma da figura 4.

3.4 MATERIAIS

Neste estudo, utilizou-se: o óleo essencial de cravo da índia, da marca Terraflor Essencial®, alginato de sódio PA da marca Dinâmica®. Para o preparo das soluções utilizou-se como componente reticulante o sal de cloreto de cálcio PA da marca

Dinâmica®, e Tween 80 (Dinâmica®) como tensoativo da emulsão (óleo essencial na solução de alginato).

3.5 MÉTODOS

Aqui todos os procedimentos experimentais serão expostos, conforme adotados pelos autores para a execução do estudo.

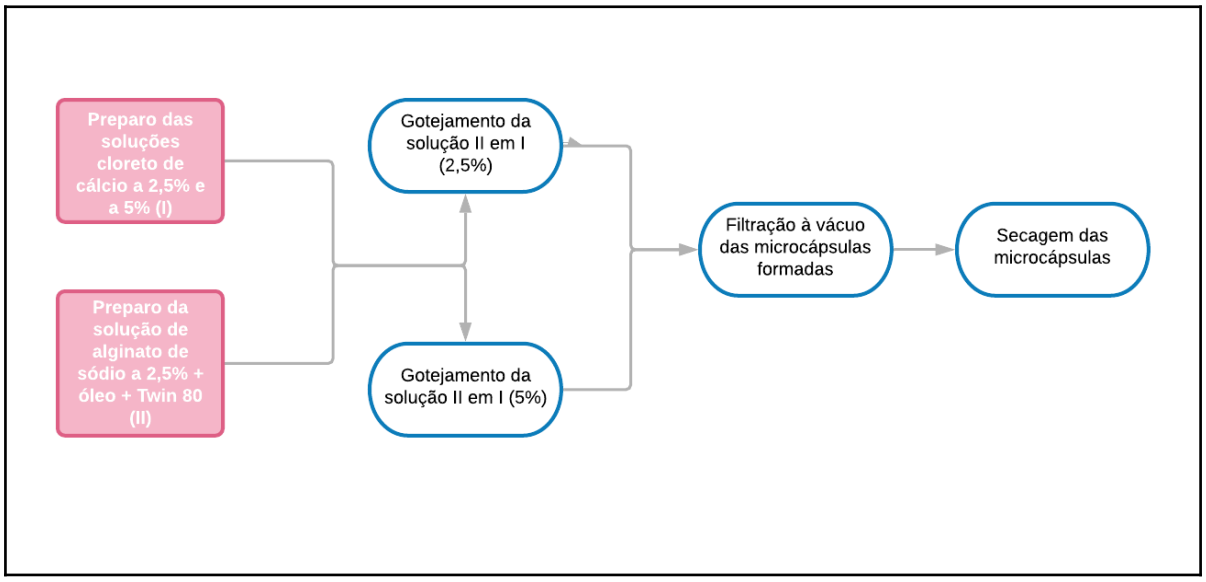
3.5.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES

Inicialmente, preparou-se uma solução de 1L de alginato de sódio 2,5%, solubilizado sob agitação e aquecimento. Em seguida, para o preparo da solução do composto reticulante, preparou-se duas soluções de cloreto de cálcio, 5% e 2,5%, as duas em um balão volumétrico de 1 litro. A concentração de óleo essencial puro utilizada na diluição de alginato foi de 5%, com Tween 80 adicionado nas soluções com óleo.

3.5.2 PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO

O método que foi empregado para a microencapsulação do óleo de cravo foi o de coacervação, seguindo a metodologia da autora Leiman (2008), com alterações. Para uma melhor compreensão, a Figura 4 ilustra o processo de coacervação.

Figura 4 - Fluxograma resumido do processo de coacervação.



Fonte: Os autores (2021).

Primeiramente foi preparado as soluções, tanto a de cloreto de cálcio 5% e de 2,5%, a solução de alginato de sódio foi transferida para um balão de 100 ml com o óleo e o Tween 80, logo em seguida com auxílio de uma micropipeta, foi gotejado a solução de alginato de sódio nas soluções de cloreto de cálcio 5% e de 2,5%, com movimentos leves, a fim de controlar o tamanho das gotas. A solução de cloreto de cálcio 5% e 2,5% foi mantida sob agitação magnética. O método foi executado em duplicata para todas as concentrações da solução de cloreto de cálcio.

Posteriormente, as soluções com as cápsulas formadas, seguiram para a filtração à vácuo, sendo lavadas com água deionizada. Por fim, as amostras foram transferidas para a secagem em estufa, e após 24 horas, foram levadas para o dessecador por 72 horas. A Tabela 1 mostra todos os testes executados e os parâmetros de operação:

Tabela 1 - Concentrações e parâmetros utilizados no processo.

Concentração do alginato (%m/m)	Concentração do cálcio (%m/m)	Volume de óleo essencial de cravo	Volume de Tween	Método de secagem
2,5	2,5	5% (m/m)	10 gotas	Estufa a 60°C, por 24 horas e dessecador por 72 horas
	5,0			

Fonte: Os Autores (2021).

3.5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

Neste tópico serão abordadas as técnicas utilizadas para as análises de caracterização das microcápsulas e os equipamentos utilizados.

3.5.3.1 MICROSCOPIA ÓPTICA

Esta análise foi realizada com a finalidade de avaliar a morfologia das cápsulas formadas, assim como sua distribuição de tamanhos e constatar que as mesmas apresentam coesividade. As análises foram realizadas no laboratório do SENAI, com um microscópio óptico Zeiss, Axio Imager M2m.

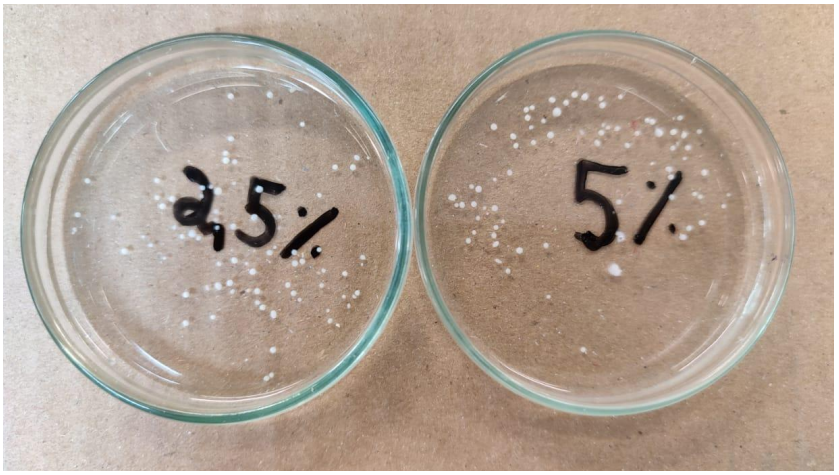
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta etapa serão apresentados os resultados obtidos neste estudo.

4.1 APLICAÇÃO DO MÉTODO DE COACERVAÇÃO

As amostras imersas nas soluções de cloreto de cálcio de 2,5 e 5% não tiveram uma diferença visível no instante da aplicação do método em bancada, por outro lado, como a reação de geleificação do alginato de sódio é instantânea, as gotas direcionadas às soluções de cloreto de cálcio nas duas concentrações reagiram de forma imediata, como demonstrado na Figura 5.

Figura 5 - Microcápsulas de cloreto de cálcio após aplicação do método de coacervação.



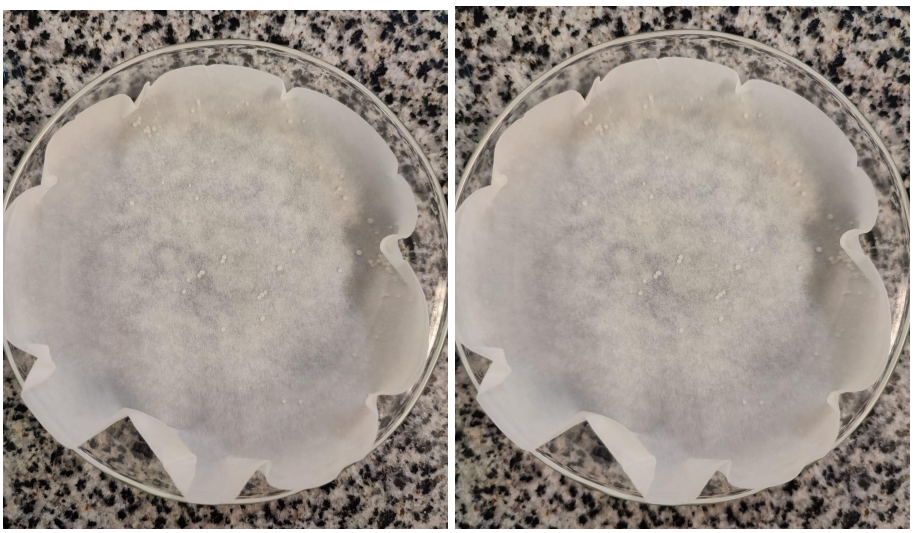
Fonte: Os autores (2021).

Todas as amostras que foram secadas em estufa apresentaram uma boa remoção de umidade, percebendo-se que não havia aderência ao papel filtro, sendo assim todas foram utilizadas para a realização da análise.

Em relação a concentração da solução de alginato de sódio que foi fixada em 2,5%, não foi possível apontar a influência desse parâmetro no processo de encapsulação por coacervação, visto que essa concentração não foi variada. Por outro lado, em relação ao meio reacional, que foi variado entre 2,5 e 5% de cloreto de cálcio, é possível notar que existe uma diferença na coloração das amostras, percebe-se que

as amostras com concentração de 2,5% de cloreto de cálcio são minúsculas e imperceptíveis, como mostra na Figura 6. Comparando antes e após a secagem, as cápsulas ainda tiveram o seu tamanho reduzido em virtude à perda de umidade, como demonstrado nas Figuras 6 e 7.

Figura 6 - Microcápsulas com: 2,5% (a); 5% (b) de cloreto de cálcio antes da secagem.



(a) (b)

Fonte: Os autores (2021).

Figura 7 - Microcápsulas com: 2,5% (a); 5% (b) de cloreto de cálcio após a secagem.

(a) (b)

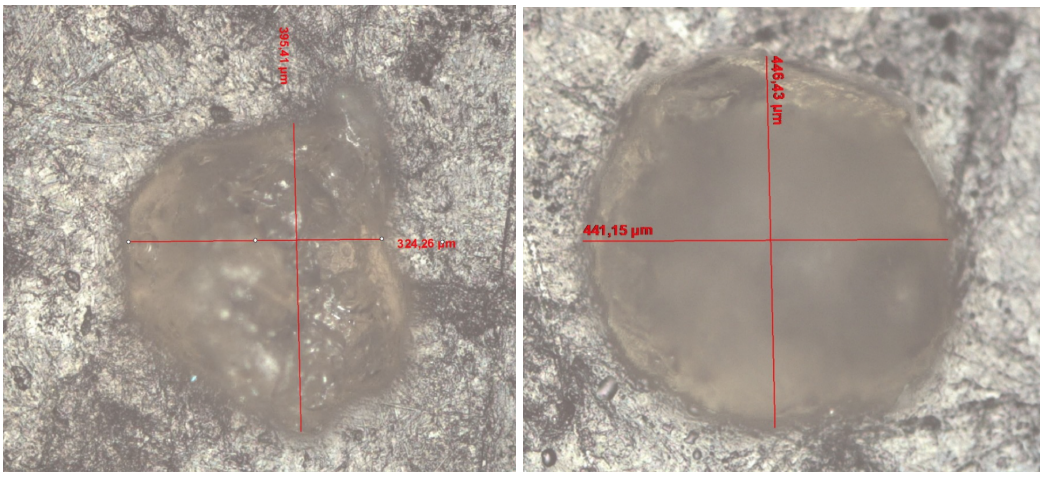
Fonte: Os autores (2021).

O método proposto atingiu bons resultados, tanto na formação das microcápsulas quanto após a secagem, pois tiveram seu tamanho reduzido.

4.2 ANÁLISE DA MORFOLOGIA POR MICROSCOPIA

As amostras das duas concentrações de cloreto de cálcio foram submetidas a análises referentes a sua morfologia e tamanho, sendo os resultados apresentados na Figura 8.

Figura 8- Microcápsulas com: 2,5% (a); 5% (b) de cloreto de cálcio.



(a) (b)

Fonte: Os autores (2021).

[redacted]As microcápsulas com a concentração de 5% de cloreto de cálcio ficaram com um diâmetro em torno de 300µm-550µm, já as amostras com a concentração de 2,5% de cloreto de cálcio ficaram em torno de 300µm-450µm, as duas concentrações de cloreto de cálcio apresentaram um diâmetro bem próximo, porém a com concentração de 2,5% se obteve um diâmetro menor.

Em relação a morfologia, percebe-se que as amostras são em sua maioria esféricas. O método utilizado para a sua obtenção pode ter favorecido o diâmetro da partícula, devido a rápida formação e a pouca homogeneização durante o processo. Desta forma, o método de coacervação mostrou-se eficaz quanto a microencapsulação, pois conforme a literatura as micropartículas são classificadas de 0,2 a 5.000 µm.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o método de coacervação proposto inicialmente, por meio dos resultados apresentados anteriormente, foi eficaz quanto a microencapsulação, já que segundo a literatura as micropartículas podem ser classificadas entre 0,2 a 5.000 µm.

A técnica de polimerização por coacervação ocorreu de forma manual e produzida em bancada, através de gotejamento por uma pipetadora eletrônica, onde o volume determinado foi de 0,0005ml, não existindo controle sobre a padronização de tamanho de partícula, no momento da formação das gotículas de alginato de sódio através da pipeta e posteriormente soltado nas soluções de cloreto de cálcio 5% e 2,5%, as gotas reagiram e ganharam forma sob contato imediato. Neste momento, não foi observado nenhuma diferença quanto às duas soluções de cloreto de cálcio. Ainda sim, após a secagem das microcápsulas, observou-se diferenciação nos tamanhos, sendo que as microcápsulas que estavam em contato com a solução de cloreto de cálcio de 2,5% ficaram entre 300µm-450µm, e já as de 5% entre 300µm-550µm.

A equipe possui conhecimento de que para que o estudo apresentado demonstrasse maiores convicções e robustez, seriam necessárias análises que confirmassem a existência de óleo dentro das microcápsulas como as análises termogravimetria e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, por exemplo. Na literatura, existem diversas pesquisas quanto a ação antiviral do óleo, mas neste caso também seriam necessárias análises e experimentos mais aprofundados para que exista a certificação quanto a inibição da variante SARS-COV-2 do coronavírus através do método proposto pela equipe. Neste contexto, ficam como sugestão os testes descritos anteriormente para pesquisas futuras que desejem aprofundar estes estudos.

6 REFERÊNCIAS

ABURTO, Lucy C.; TAVARES, Débora de Queiroz; MARTUCCI, Enny Therezinha. **MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA**. UNICAMP, Campinas. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000100010&script=sci_arttext>. Acesso em: 4 de mai. 2021.

CARDOSO, Tiago Fernandes; DIAS, Maria Júlia Lima Eugenio; CHINI, Marina Cavalcante; PEREIRA, Bruna Letícia Buzati; ORIICO, Silvana Regina Perez. **COVID-19 E A CAVIDADE BUCAL: INTERAÇÕES, MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E PREVENÇÃO**. UNILAGO, São Paulo. Disponível em: < http://revistas.unilago.edu.br/index.php/ulakes/article/view/260>. Acesso em: 4 de mai. 2021.

CASTILHO, Juliana Galera; MACEDO, Carla Isabel; SANTOS, Saulo de Oliveira; OLIVEIRA, Rafael de Novaes; ACHKAR, Samira Maria; CARRIERI, Maria Luiza; KOTAIT, Ivanete; CARNIELI, Pedro Jr.

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO ANTEMORTEM DA RAIVA HUMANA POR MEIO DE TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR, UTILIZANDO SALIVA E BIÓPSIA DE PELE DA REGIÃO DA NUCA. Instituto Pasteur. São Paulo, São Paulo. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/bepa/v10n112/v10n112a01.pdf> Acesso em: 20 de mar. 2021

CAMPOS, Gastão Wagner de Sousa. **O PESADELO MACABRO DA COVID-19 NO BRASIL: ENTRE NEGACIONISMOS E DESVARIOS**. UNICAMP. Campinas, São Paulo. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/tes/v18n3/0102-6909-tes-18-3-e00279111.pdf>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

CIMINI, Fernanda; JULIÃO, Nayara Abreu; SOUZA, Aline de; FERREIRA , João Victor Simões; FIGUEIREDO, Guilherme Rodrigues de; GARCIA, Letícia Ferreira Gomes; HARGREAVES, Rafael Tomagnini; BAGGIA, Francesca. **ANÁLISE DAS PRIMEIRAS RESPOSTAS POLÍTICAS DO GOVERNO BRASILEIRO PARA O ENFRENTAMENTO DA COVID-19 DISPONÍVEIS NO REPOSITÓRIO GLOBAL POLIMAP**. UFMG, Minas Gerais. Disponível em: <https://www.cedeplar.ufmg.br/noticias/1242-nota-tecnica-analise-das-primeiras-respostas-politicas-do-governo-brasileiro-para-o-enfrentamento-da-covid-19-disponiveis-no-repositorio-global-polimap>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

COUTO, Edvaldo Souza; COUTO, Edilece Souza; CRUZ, Ingrid de Magalhães Porto. **#FIQUEEMCASA: EDUCAÇÃO NA PANDEMIA DA COVID-19**. Interfaces Científicas. Aracaju, Sergipe. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/educacao/article/view/8777/3998>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

ENSAINOS IN VITRO E IN VIVO: O RISCO QUE DEVEMOS TOMAR. Farmacápsulas, 2017. Barranquilla, Colombia. Disponível em<https://www.farmacapsulas.com/pb/in-vitro-in-vivo-riesgo-necesario/>. Acesso em: 4 de mai. 2021.

ETCHEPARE, Mariana de Araujo; BARIN, Juliano; CICHOSKI, Alexandre José; LOPES, Eduardo Jacob; WAGNER, Roger; FRIES, Leadir; MENEZES, Cristiano. **MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS UTILIZANDO ALGINATO DE SÓDIO.** UFSM. Santa Maria, Rio Grande do Sul. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v45n7/1678-4596-cr-0103-8478cr20140938.pdf>. Acesso em: 15 de abril. 2021.

LEIMANN, Fernanda Vitória. **MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO UTILIZANDO O PROCESSO DE COACERVAÇÃO SIMPLES**. UFSC, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/90975/248600.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 4 de mai. 2021.

PIORINI, Luciana Aparecida Teixeira; SILVA, Viviane Cristina Soares da. **NANOCÁPSULAS DE CASEÍNA COM ÓLEO DE CRAVO DA ÍNDIA.** UNIVAP. São José dos Campos, São Paulo. Disponível em: <https://biblioteca.univap.br/dados/000033/0000338a.pdf>. Acesso em: 25 de abril. 2021.

SIMÕES, Cinthia Coelho; ARAÚJO, Danilo Barral de; ARAÚJO, Roberto Paulo Correia de. **ESTUDO IN VITRO E EX VIVO DA AÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS FRENTE AOS MICRORGANISMOS PRESENTES NA SALIVA DE HUMANOS**. UFBA. Salvador, Bahia. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000100016>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

SCHERER, Rodrigo; WAGNER, Roger; GODOY, Helena. **COMPOSIÇÃO E ATIVIDADES ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE CRAVO-DA-ÍNDIA, CITRONELA E PALMAROSA**. UNICAMP. Campinas, São Paulo. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722009000400013&script=sci_arttext>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

SILVESTRI, Jandimara Doninelli Fior; PAROUL, Natalia; CZYZEWSKI, Eliane; LERIN, Lindomar; ROTAVA, Ieda; CANSIAN, Rogerio Luis; MOSSI, Altemir; TONIAZZO, Geciane; OLIVEIRA, Debora de; TREICHEL, Helen. **PERFIL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO-DA-ÍNDIA.** Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rceres/v57n5/a04v57n5.pdft>. Acesso em: 21 de mar. 2021.

SIGNIFICADOS DE IN VITRO. Significados, 2020. Disponível em: <https://www.significados.com.br/in-vitro/>. Acesso em: 4 de mai, 2021.

SOARES, Samira Silva Santos; SOUZA, Norma Valéria Dantas de Oliveira; SILVA, Karla Gualberto Silva; CÉSAR, Márcia Peixoto; SOUTO, Jaqueline da Silva Soares; LEITE, Jandra Cibele Rodrigues de Abrantes Pereira. **PANDEMIA DE COVID-19 E O USO RACIONAL DE EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL**. UERJ, Rio de Janeiro. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/enfermagemuerj/article/view/50360/34044>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

TELES, Samuel Gomes da Silva; CASTRO, aria Cecília Simões Riscado; DUTRA, Sabrina Nogueira Dutra; SANTOS, Lídia Márcia Silva. **A SALIVA COMO ALTERNATIVA PARA DIAGNÓSTICO DE COVID-19: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**. UNIFLU, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.fmc.br/ojs/index.php/RCFMC/article/view/366/217>. Acesso em: 4 de mai. 2021.

TEODORO, Rhana Amanda Ribeiro. **MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA POR SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO**. UFLA. Lavras, Minas Gerais. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/10990/2/DISSERTAÇÃO_Microencapsulação%20do%20óleo%20essencial%20de%20cravo-da-%C3%ADndia%20%28L.%29%20%20por%20secagem%20por%20atomização.pdf>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

VELLOSO, Fabiana. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCAPSULAS DE ALGINATO/QUITOSANA CONTENDO ÁCIDO RETINÓICO E ÓLEO DE BABAÇU**. UFPE. Pernambuco, Recife. Disponível em : <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/2946/1/arquivo1103_1.pdf>. Acesso em: 20 de mar. 2021.

Dicionário infopédia de Termos Médicos. **IN VITRO**. Porto: Porto Editora, 2003-2021. Disponível em: < https://www.infopedia.pt/dicionarios/termos-medicos/In-vitro> Acesso em: 4 de mai. 2021.