



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**RAYAN CUTRIM GOMES**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS À BASE DE  
CARDANOL PARA LIBERAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum gratissimum* L.**

**SÃO LUÍS**

**2022**

RAYAN CUTRIM GOMES

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS À BASE DE  
CARDANOL PARA LIBERAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum gratissimum* L.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sirlane Aparecida Abreu Santana

SÃO LUÍS

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Gomes, Rayan Cutrim.

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS À BASE  
DE CARDANOL PARA LIBERAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum  
gratissimum* L / Rayan Cutrim Gomes. - 2022. 74 f.

Orientador(a): Sirlane Aparecida Abreu Santana.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,  
2022.

1. Acaricida. 2. LCC. 3. Liberação controlada. 4.  
Microencapsulação. I. Santana, Sirlane Aparecida Abreu.  
II. Título.

**RAYAN CUTRIM GOMES**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS À BASE DE  
CARDANOL PARA LIBERAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum gratissimum*  
L.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa  
de Pós-Graduação em Química da Universidade  
Federal do Maranhão como requisito para  
obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em    /    /

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sirlane Aparecida Abreu Santana (Orientadora-UFMA)

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Quintino da Rocha (UFMA)

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jose Milton Elias de Matos (UFPI)

Universidade Federal do Piauí (UFPI)

*À Deus,  
pelo fôlego de vida.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me ajudou a passar pelos momentos mais difíceis do mestrado e é quem me fortalece para que eu continue em frente e vença as adversidades da vida.

À minha mãe, Lucelina, que é uma mulher muito guerreira e minha inspiração de ser humano, que criou seus filhos com muita dificuldade, mas sempre zelou pela nossa educação e nos manteve longe de uma vida indigna. Este trabalho, também, foi graças a ela.

À toda minha família, que sempre me apoiou e me ajudou a ser alguém melhor.

A meus colegas e professores do Laboratório de Química de Interfaces e Materiais, pelos bons tempos que passamos juntos, as lições que aprendi de vivência em laboratório, pelos grandes amigos que fiz e pela experiência que obtive como pesquisador.

À professora Jaciene Cardoso, pela primeira orientação e por ter me apresentado ao mundo da pesquisa científica.

À professora Sirlane Santana, pela orientação no mestrado e por toda ajuda que me deu durante a pesquisa.

À professora Cláudia Quintino, que não foi minha orientadora nem co-orientadora, mas, ainda assim, me ajudou imensamente durante a iniciação científica e, principalmente, durante o mestrado, nas discussões sobre resultados e no apoio à realização de experimentos e análises.

Aos amigos, Suringo e Wallas, pelos bons momentos durante essa jornada.

Ao Laboratório de Química de Produtos Naturais, pela infraestrutura fornecida para experimentos e à Central Analítica de Química, Laboratório de Biomateriais em Odontologia do Maranhão e Instituto de Macromoléculas/UFRJ, pelas análises concedidas.

À CAPES, pela bolça concedida.

E aos demais colegas e professores do Programa de Pós-graduação em Química da UFMA.

*“Apreciamos a beleza de uma flor no penhasco  
Porque nossos pés param à beira do precipício  
Ao invés de, como aquela flor,  
Seguir em frente em direção aos céus”.*

Tite Kubo

## RESUMO

Os carrapatos são ectoparasitas hematófagos de mamíferos, reptéis e aves, e são vetores de diversas doenças que impactam diretamente na saúde do hospedeiro. Um dos principais hospedeiros dos carrapatos é o gado bovino e sua parasitagem gera diversos problemas, tanto para a saúde do animal, como para a produção agropecuária. Medidas mais comuns de controle dos carrapatos tem sido através do uso de acaricidas sintéticos, que geram outro problema que é a contaminação ambiental e a ocorrência do desenvolvimento de populações de carrapatos mais resistentes. Uma alternativa para resolver este problema é o uso de óleos essenciais que podem ter efeitos em carrapatos. Neste trabalho foram produzidas microcápsulas a base de cardanol para a incorporação de óleo essencial (OE) de *Ocimum gratissimum*. O cardanol foi extraído a partir do Líquido da Castanha do Caju (LCC) e seu isolamento foi confirmado por Cromatografia Líquida acoplada ao detector ultravioleta (HPLC-PDA). O cardanol obtido foi caracterizado por Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). O OE foi extraído a partir das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) por hidrodestilação e a sua composição foi determinada por Cromatografia em fase gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). O OE de *Ocimum gratissimum* apresentou os compostos Timol,  $\gamma$ -Terpineno e *m*-Cimeno como majoritários com um percentual da composição de 36,69%, 29,08% e 21,31%, respectivamente. A microencapsulação ocorreu por polimerização do cardanol em emulsão. Também foi utilizado uma mistura de monômeros cardanol/*m*-cresol nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3 na produção das microcápsulas. As microcápsulas obtidas foram caracterizadas por FTIR, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Microscopia de Eletrônica de Varredura (MEV). As microcápsulas apresentaram formatos irregulares, partículas isoladas e diâmetros volumétricos médios que variaram de 1,409 a 3,347  $\mu\text{m}$ . O estudo de liberação do OE foi realizado por leitura em espectrômetro Uv-vis, onde apresentou curvas de liberação gradual até oito horas e a partir de 24h a taxa de liberação manteve-se constante. A cinética de liberação revelou que a liberação ocorre por difusão Fickiana. O OE de *Ocimum gratissimum* apresentou atividade larvicida em *Rhipicephalus microplus*, com uma concentração inibitória média (CI<sub>50</sub>) de 2,377 mg/mL. Neste trabalho, foram obtidas com sucesso microcápsulas à base de cardanol incorporadas com bioativo com propriedades acaricidas.

**Palavras-chave:** Acaricida; LCC; Liberação controlada; Microencapsulação.

## ABSTRACT

Ticks are hematophagous ectoparasites of mammals, reptiles and birds, and are vectors of several diseases that directly impact the health of the host. One of the main hosts of ticks is cattle and its parasitization generates several problems, both for the health of the animal and for agricultural production. The most common measures to control ticks have been through the use of synthetic acaricides, which generate another problem that is environmental contamination and the development of more resistant tick populations. An alternative to solve this problem is the use of essential oils that can have effects on ticks. In this work, cardanol-based microcapsules were produced for the incorporation of essential oil (EO) of *Ocimum gratissimum*. Cardanol was extracted from Cashew Nutshell Liquid (CNSL) and its isolation was confirmed by High Performance Liquid Chromatography coupled to a Photo Diode Array (HPLC-PDA). The cardanol obtained was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The EO was extracted from basil leaves (*Ocimum gratissimum*) by hydrodistillation and its composition was determined by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). The EO of *Ocimum gratissimum* presented the compounds Thymol,  $\gamma$ -Terpinene and *m*-Cymene as the majority with a percentage of composition of 36.69%, 29.08% and 21.31%, respectively. Microencapsulation occurred by polymerization of cardanol in emulsion. A mixture of cardanol/*m*-cresol monomers was also used in the proportions of 3:1, 1:1 and 1:3 in the production of microcapsules. The microcapsules obtained were characterized by FTIR, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Scanning Electronic Microscopy (SEM). The microcapsules presented irregular shapes, isolated particles and average volumetric diameters that ranged from 1.409 to 3.347  $\mu\text{m}$ . The study of EO release was carried out by reading in a UV-vis spectrometer, which showed gradual release curves up to eight hours and after 24 hours the release rate remained constant. Release kinetics revealed that release occurs by Fickian diffusion. The EO of *Ocimum gratissimum* showed larvicidal activity in *Rhipicephalus microplus*, with an average inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) of 2.377 mg/mL. In this work, cardanol-based microcapsules incorporated with a bioactive with acaricidal properties were successfully obtained.

**Keywords:** Acaricide; CNSL; Controlled release; Microencapsulation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema de microencapsulação em emulsão .....	20
<b>Figura 2.</b> Tipos de microcápsulas com base em sua morfologia: A) Matriz polimérica carregada; B) Microcápsulas simples; C) – microcápsulas simples irregulares; D) Microcápsulas de dupla camada; E) Microcápsulas multinucleadas; F) Agrupamento de microcápsulas. ....	21
<b>Figura 3.</b> Diagrama teórico da taxa de liberação de pesticidas no ambiente. Temos na figura a curva de liberação convencional em azul, a curva de liberação controlada em verde e o nível mínimo de efetividade em vermelho-escuro. ....	22
<b>Figura 4.</b> Representação do caju e da Castanha do caju indicando a localização do LCC no fruto. ....	23
<b>Figura 5.</b> Constituintes majoritários do LCC técnico.....	24
<b>Figura 6.</b> Cardanol e seus sítios reacionais.....	24
<b>Figura 7.</b> Carrapato-de-boi ( <i>Rhipicephalus microplus</i> ). A) Fêmea; B) macho. ....	26
<b>Figura 8.</b> <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	29
<b>Figura 9.</b> Extração de óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> por hidrodestilação em extrator do tipo Clevenger modificado. ....	34
<b>Figura 10.</b> <i>m</i> -Cresol .....	35
<b>Figura 11.</b> Placa de CCD. A) eluição do LCC técnico; B) eluição do Cardanol extraído. ....	41
<b>Figura 12.</b> Cromatograma do cardanol e LCC técnico. A) Cardanol; B) LCC técnico. ....	42
<b>Figura 13.</b> Espectro FTIR do cardanol. ....	43
<b>Figura 14.</b> Cromatograma CG-EM do Óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> . ....	46
<b>Figura 15.</b> Espectro de massa do $\alpha$ -Felandreno.....	46
<b>Figura 16.</b> Espectro de massa do $\beta$ -pineno.....	47
<b>Figura 17.</b> Espectro de massa do $\alpha$ -terpineno.....	47
<b>Figura 18.</b> Espectro de massa do <i>m</i> -cimeno. ....	48
<b>Figura 19.</b> Espectro de massa do $\gamma$ -Terpineno.....	48
<b>Figura 20.</b> Espectro de massa do terpinen-4-ol. ....	49
<b>Figura 21.</b> Espectro de massa do timol.....	49
<b>Figura 22.</b> Espectro de massa do $\beta$ -Farneceno. ....	50
<b>Figura 23.</b> Polimerização oxidativa do cardanol. ....	52
<b>Figura 24.</b> Proposta de copolimerização do cardanol e <i>m</i> -cresol por polimerização oxidativa. ....	52

<b>Figura 25.</b> Microcápsulas obtidas. A) C0; B) C75; C) C50; D) C25. ....	53
<b>Figura 26.</b> Espectro FTIR das microcápsulas produzidas, sem a presença do óleo essencial. ....	54
<b>Figura 27.</b> Curvas de DSC das microcápsulas.....	55
<b>Figura 28.</b> Imagens obtidas por MEV das microcápsulas nas resoluções de 50x (primeira coluna) e 150x (segunda coluna). A) C0; B) C25; C) C50; D) C75.....	57
<b>Figura 29.</b> Distribuição do Tamanho de Partículas das microcápsulas produzidas. A) C0; B) C25; C) C50; D) C75.....	58
<b>Figura 30.</b> Espectro de absorção do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> em diferentes concentrações.....	61
<b>Figura 31.</b> Curva analítica do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	62
<b>Figura 32.</b> Curvas de liberação do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> . ....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Razões molares entre os monômeros cardanol/ <i>m</i> -Cresol. ....	35
<b>Tabela 2.</b> Bandas características do cardanol. ....	44
<b>Tabela 3.</b> Rendimento percentual de óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> extraído por hidrodestilação. ....	45
<b>Tabela 4.</b> Comparação de diferentes trabalhos de estudo da composição do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> . ....	51
<b>Tabela 5.</b> Bandas características das microcápsulas e suas atribuições. ....	55
<b>Tabela 6.</b> Valores de Distribuição do Tamanho de partículas das microcápsulas. ....	59
<b>Tabela 7.</b> Percentual de óleo essencial incorporado às microcápsulas obtidas, comparados com valores obtidos da literatura. ....	60
<b>Tabela 8.</b> Constantes cinéticas do perfil de liberação do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> a partir de microcápsulas obtidas. ....	63
<b>Tabela 9.</b> Atividade larvicida do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> em larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>APNE</b>	Associação das Plantas do Nordeste
<b>C0</b>	Microcápsulas à base de Cardanol
<b>C25</b>	Microcápsulas produzidas com 25% de <i>m</i> -Cresol
<b>C50</b>	Microcápsulas produzidas com 50% de <i>m</i> -Cresol
<b>C75</b>	Microcápsulas produzidas com 75% de <i>m</i> -Cresol
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>CG-EM</b>	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massa
<b>CNIP</b>	Centro Nordestino de Informações sobre Plantas
<b>FTIR</b>	Espectroscopia na Região do Infravermelho
<b>Da</b>	Dalton
<b>DSC</b>	Calorimetria Exploração Diferencial
<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>LCC</b>	Líquido da Castanha do Caju
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>m/z</b>	Razão Massa-carga
<b>PCL</b>	Policaprolactona
<b>PEO</b>	Poli (Óxido de Etileno)
<b>PHB</b>	Poli (3-hidroxibutirato)
<b>PLA</b>	Ácido Polilático
<b>PLGA</b>	Poli (Ácido Lático-co-Ácido Glicólico)
<b>PVA</b>	Álcool Polivinílico
<b>UV-vis</b>	Região do Ultravioleta e Visível

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1. Microencapsulação de óleos essenciais .....	19
2.2. Líquido da Castanha do Caju (LCC) .....	22
2.3. Cardanol.....	24
2.4. Acaricidas .....	25
2.5. Biopesticidas no combate aos carrapatos .....	27
2.6. Óleo Essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	29
3. OBJETIVOS.....	31
3.1. Objetivo Geral .....	31
3.2. Objetivos Específicos.....	31
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	32
4.1. Materiais.....	32
4.2. Extração do Cardanol a partir do LCC Técnico.....	32
4.3. Extração do Óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	33
4.4. Microencapsulação do Óleo Essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	34
4.5. Caracterizações.....	36
4.5.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) .....	36
4.5.2. Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM) .....	36
4.5.3. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	36
4.5.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	37
4.5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	37
4.5.6. Análise de Tamanho de Partícula (Mastersizer) .....	37
4.6. Determinação da quantidade de bioativo encapsulado.....	38
4.7. Estudo de liberação do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> por espectrometria UV-Vis .....	38

4.8. Teste de Imersão de Larvas .....	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
5.1. Obtenção do Cardanol a partir do LCC Técnico .....	41
5.1.1. Caracterização do Cardanol por HPLC .....	42
5.1.2. Caracterização do Cardanol por FTIR .....	43
5.2. Obtenção do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	44
5.2.1. Rendimento da extração do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	44
5.2.2. Caracterização do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	45
5.3. Obtenção e Caracterização das Microcápsulas à base de Cardanol .....	51
5.3.1. Caracterização por FTIR.....	53
5.3.2. Caracterização por DSC .....	55
5.3.3. Imagens Morfológicas por MEV.....	56
5.3.4. Distribuição do Tamanho de Partícula .....	58
5.4. Quantidade de óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> encapsulado .....	59
5.5. Estudo de liberação do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .....	60
5.5.1. Construção da curva analítica .....	61
5.5.2. Cinética de liberação .....	62
5.6. Teste de Imersão de Larvas .....	64
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	66
REFERÊNCIAS .....	67

## 1. INTRODUÇÃO

Os carrapatos são pequenos aracnídeos ectoparasitas hematófagos de mamíferos, aves e répteis, que têm ganhado grande interesse em estudos medicinais e veterinários devido aos danos que causam aos seus hospedeiros por serem vetores de uma grande variedade de patógenos em humanos e animais [1]. Estes são responsáveis por grande parte de doenças infecciosas emergentes, sendo um dos vetores de patógenos zoonóticos mais eficientes em humanos, atrás apenas dos mosquitos, e é considerado o maior vetor de patógenos em gados [2]. Neste último caso, os carrapatos são uma grave ameaça para animais de pasto que sofrem diretamente com danos causados por lesões ou pela transmissão de doenças como a teileriose, babesiose e anaplasmose, ocasionando também um impacto na produção da carne e leite de gado [3].

Para a proteção de rebanhos, contra os carrapatos, geralmente é utilizado o controle químico através de acaricidas sintéticos que são aplicados no hospedeiro a fim de matar o carrapato em seu estado parasitário. Os acaricidas mais utilizados são, organofosforados, piretroides, amidínicos, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis e o difluorobenzoilureia, que podem ser aplicados de diversas formas no animal, como pela pulverização, *pour-on* e injetáveis [4]. Entretanto o uso deste tipo de pesticida vem apresentando diversos problemas pela forma inconsistente e indiscriminada de sua utilização, ocasionando a seleção de carrapatos resistentes a acaricidas, o que torna os acaricidas existentes ineficazes e, assim, limitando a eficácia dos métodos de controle de carrapatos existentes. O uso de acaricidas sintéticos também tem gerado diversos problemas ambientais como a contaminação do solo e leitos de rios, podendo contaminar áreas próximas ao local de aplicação dependendo da persistência do pesticida no ambiente, ou até mesmo pode ocorrer a contaminação de derivados do gado como o leite e a carne [5-6].

A fim de contornar os problemas associados ao uso de pesticidas sintéticos, muitos pesquisadores estão estudando o uso de biopesticidas no combate a pragas, no intuito de substituir substâncias sintéticas e agressivas ao meio ambiente por compostos naturais e renováveis [7-9].

Dos produtos naturais estudados para uso como biopesticidas se destacam os óleos essenciais. Estes são compostos obtidos a partir de plantas, pelo processo de destilação a vapor, processos mecânicos ou destilação à seco [10], sendo constituídos de substâncias voláteis,

lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas [11]. Os óleos essenciais possuem diversas características vantajosas que conferem a estes o seu potencial uso como biopesticidas, como sua baixa toxicidade em mamíferos, múltiplos mecanismos de ação, relativo baixo custo, e promissores resultados quando empregado em diversas pragas artrópodes [12].

Dentre estes pesticidas naturais temos o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* que apresenta uma grande atividade biológica. Sua planta de origem já é amplamente conhecida pela sua atividade repelente contra insetos e por sua atividade contra larvas de mosquitos, e o uso de seu óleo essencial apresenta uma grande atividade acaricida, sendo este um promissor biopesticidas no combate a pragas como os carrapatos [13].

Entretanto, uma das maiores dificuldades para a implementação de óleos essenciais no controle de pragas é a sua alta volatilidade [9], o que ocasiona um menor tempo de contato do biopesticidas com o agente a ser erradicado. Este problema vem sendo contornado com o desenvolvimento de novas tecnologias carregadoras de óleos essenciais, bem como a encapsulação e microencapsulação de óleos essenciais. Estas cápsulas e microcápsulas podem ser obtidas através da polimerização de diversos materiais, sendo mais utilizados o policaprolactona (PCL), ácido polilático (PLA), poli (3-hidroxi-butirato) (PHB), álcool polivinílico (PVA), poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) e poli (óxido de etileno) (PEO) [14]. Esta encapsulação também pode ser obtida através da utilização de um polímero natural como por exemplo a quitosana, goma arábica e alginato de sódio, usadas principalmente na tecnologia de alimentos [15]. Polímeros naturais têm a vantagem de serem biodegradáveis, ter menor impacto ambiental e serem renováveis.

Neste contexto, polímeros à base de cardanol possuem estas características, além do baixo custo e grande abundância no mercado. O cardanol se trata de um composto obtido a partir do Líquido da Castanha do Caju (LCC), um subproduto da indústria de caju e castanha de caju, que é por muita das vezes descartado, mas possui grande valor agregado [16]. O cardanol é um composto muito versátil, do ponto de vista químico, pode ser utilizado para a síntese de várias moléculas. É principalmente usado na manufatura de filmes, vernizes isolantes, óleos e resinas solúveis em álcool, além de resinas formaldeído-fenol em tintas e vernizes e possui ainda ampla aplicação na indústria de borracha e óleo, detergentes, inseticidas e material poroso [17].

Microcápsulas à base de cardanol já foram obtidas através da polimerização em emulsão usando peroxidase de raiz-forte como catalisador [18], e usando a polimerização de

condensação para obtenção de microcápsulas de cardanol-formaldeído para encapsulação do biopesticidas, óleo de karanja [19]. Embora a literatura seja escassa quanto a quantidade de trabalhos utilizado o cardanol como ponto de partida para a produção de microcápsulas, ela é bastante rica quanto a obtenção de polímeros à base de cardanol, sendo este um grande potencial para a microencapsulação de bioativos, como por exemplo, os óleos essenciais.

Mediante o exposto, este trabalho teve como principal objetivo a microencapsulação de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, devido a seu potencial biológico e promissor efeito carrapaticida, utilizando o cardanol como composto natural para a obtenção de microcápsulas biopoliméricas, assim como o estudo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Microencapsulação de óleos essenciais

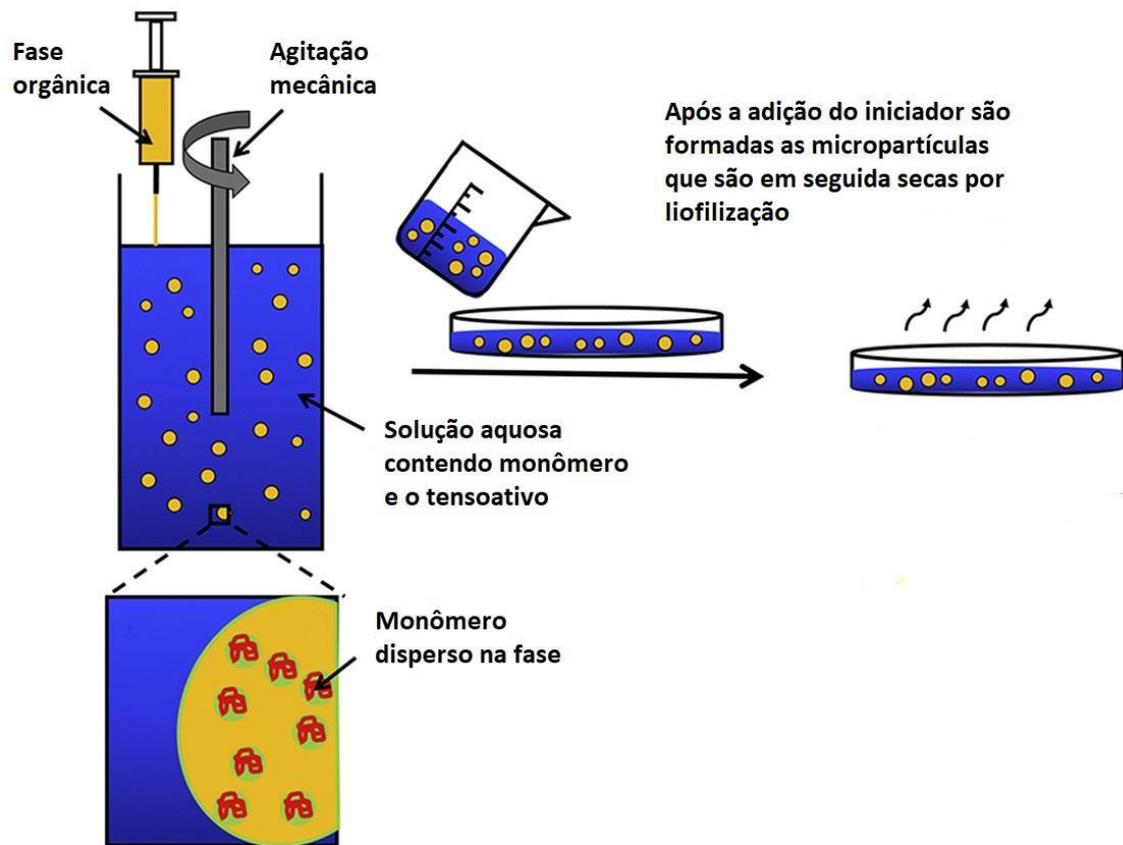
A microencapsulação é uma tecnologia que permite o revestimento de partículas sólidas ou líquidas que possuam algum tipo de atividade biológica ou nutritiva, ajudando a proteger seu núcleo da luz, oxigênio, temperatura e volatilização [20]. A microencapsulação inclui materiais de microesfera, microemulsões, micropartículas e microcápsulas em diferentes tamanhos, composições e funções, com partículas que normalmente medem de 1 a 1000  $\mu\text{m}$  e possui uma aparência de grânulo podendo ter sua parede externa feita de polímeros naturais ou sintéticos [21].

Dentre as técnicas de microencapsulação, a que mais se destaca para bioativos lipofílicos é a microencapsulação em emulsão (Figura 1), que utiliza a formação de micelas para gerar pequenas partículas em dispersões [22]. Esta técnica é usada para obtenção de partículas poliméricas em emulsões do tipo água/óleo (W/O), ou água/óleo/água (W/O/W), geradas pela dispersão de fases orgânicas imissíveis em meio aquoso, que contenha os monômeros ou macromoléculas do polímero de interesse. Nesta técnica o uso de tensoativos na solução aquosa gera micelas da fase orgânica contendo o monômero ou polímero usado como parede das partículas e após formação da emulsão o iniciador é adicionado para formação do polímero contendo em seu núcleo a fase orgânica (geralmente óleos vegetais) incorporada [23].

Devido à natureza lipofílica dos óleos essenciais, a técnica de microencapsulação em emulsão indica possuir um grande potencial auxiliador para o desenvolvimento de microcápsulas carregadas com óleos essenciais. Estas microcápsulas são, geralmente, caracterizadas morfologicamente como sendo esféricas e sólidas, no entanto, tanto sua forma, quanto tamanho e estrutura são próprios dos diferentes materiais usados na sua produção [24-25].

O núcleo pode estar localizado no centro da partícula ou estar disperso na matriz polimérica. Embora o primeiro caso seja tido como “uma verdadeira microcápsula”, a adoção do termo “microcápsula” vem sendo usada também para englobar micropartículas contendo mais de um núcleo, ou seja, partículas multinucleadas ou polinucleadas, ou que apresentam mais de uma camada polimérica. A Figura 2 mostra os principais tipos de microcápsulas [26-27].

**Figura 1.** Esquema de microencapsulação em emulsão.



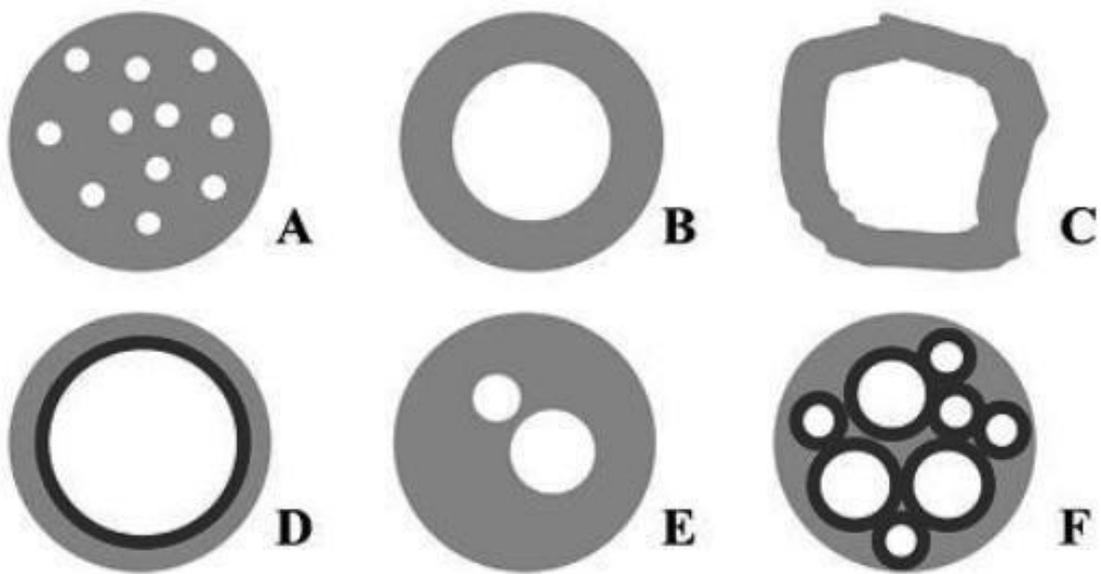
Fonte: Delmote, 2017 (modificado) [28].

A microencapsulação de óleos essenciais tem se tornado uma técnica muito difundida devido a sua vasta aplicação em vários ramos da indústria, como por exemplo, as áreas de alimentos, pesticidas, têxteis e fármacos [29]. Dentre as diversas aplicações, estão: desenvolvimento de alimentos funcionais [30-31]; pesticidas [32]; repelentes de insetos [20,33]; produtos têxteis [34]; e produtos cosméticos [35]. Quanto à aplicação destas microcápsulas como pesticidas, tem sido muito atrativo na substituição de pesticidas sintéticos, buscando uma abordagem mais sustentável e segura no controle de pragas.

Estudos revelam que a utilização de microcápsulas carregadas com óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Thymus vulgaris* (tomilho), apresentaram o potencial de controlar a decomposição, prolongar a vida de armazenamento e manter a qualidade interna dos frutos de manga [32]. Também foi descoberto que microcápsulas a base de melamina-formaldeído incorporadas com óleo essencial de tomilho apresentam alta eficácia como

repelente de insetos [20] e filmes contendo microcápsulas de óleo essencial de canela mostraram-se eficazes na proteção de produtos alimentícios contra a traça-indiana-da-farinha (*Plodia interpunctella*), sendo capaz de repelir as larvas do inseto e em liberar o óleo essencial de forma controlada, no ambiente de estudo [36].

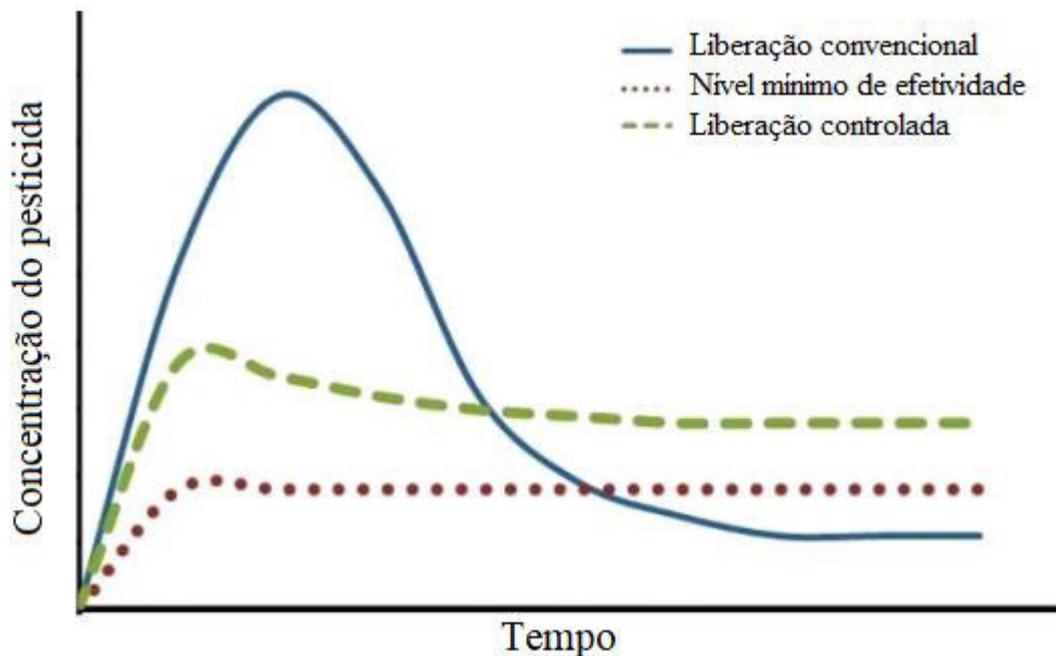
**Figura 2.** Tipos de microcápsulas com base em sua morfologia: A) Matriz polimérica carregada; B) Microcápsulas simples; C) – microcápsulas simples irregulares; D) Microcápsulas de dupla camada; E) Microcápsulas multinucleadas; F) Agrupamento de microcápsulas.



Fonte: Nunes, 2015 [27].

A microencapsulação permite não só a proteção e transporte do bioativo, como também, a liberação lenta e controlada do óleo essencial no meio. Esta liberação controlada pode ser descrita como uma modificação da taxa em que uma substância ativa é liberada no ambiente de ação. Essa modificação pode ser feita usando materiais com propriedades de barreira específicas para manipular a liberação de um encapsulado e para fornecer melhorias sensoriais e/ou funcionais da atividade biológica [22]. A aplicação de bioativos diretamente fornece uma alta dose inicial que cai rapidamente à medida que o tempo passa, reduzindo sua concentração abaixo do nível efetivo de atividade. Já uma formulação de liberação controlada mantém-se em um nível eficaz por um tempo mais longo e controlável [37], conforme é ilustrado na Figura 3.

**Figura 3.** Diagrama teórico da taxa de liberação de pesticidas no ambiente. Temos na figura a curva de liberação convencional em azul, a curva de liberação controlada em verde e o nível mínimo de efetividade em vermelho-escuro.



Fonte: Roy, 2014 (modificado) [37].

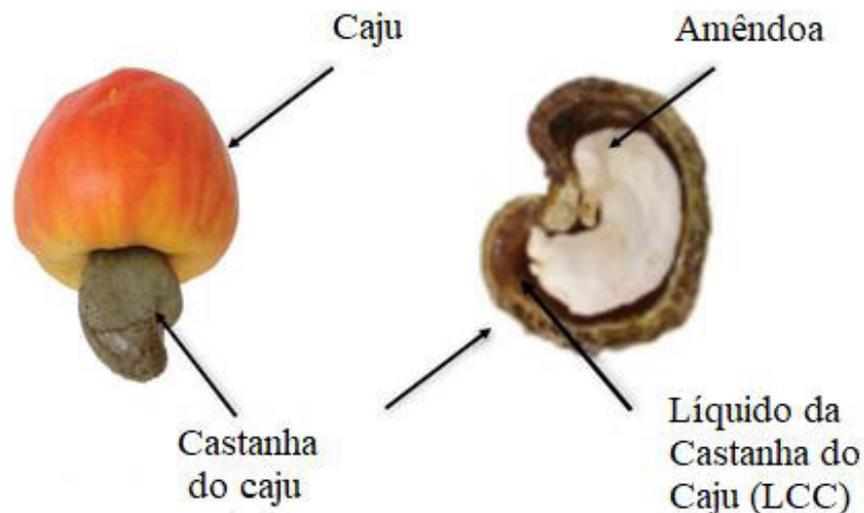
O material de parede das microcápsulas precisa ser um polímero com propriedades hidrofílicas e/ou hidrofóbicas capazes de emulsificar com eficácia a solução reacional. Diversos tipos de polímeros sintéticos são utilizados na produção de microcápsulas [14,38]. Estes são, geralmente derivados de petróleo e, portanto, não-renováveis, podendo acarretar algum tipo de malefício ao meio ambiente. Propostas de uso e desenvolvimento de polímeros de origem natural são muito difundidos atualmente e apresentam ser uma alternativa menos nociva para a produção de novas microcápsulas.

## 2.2. Líquido da Castanha do Caju (LCC)

O *Anacardium occidentale* L., mais conhecido como cajueiro, se trata de uma árvore de aparência exótica, troncos tortuosos, folhas glabras, flores masculinas e hermafroditas e fruto reniforme. O fruto do cajueiro, o caju, é um aquênio de comprimento e largura variável, casca coriácea lisa, mesocarpo avelado, repleto de um líquido escuro quase preto, cáustico e inflamável, chamado de líquido da casca da castanha do caju (LCC). Na parte mais interna da

castanha está localizada a amêndoa, constituída de dois cotilédones carnosos e oleosos, que compõem a parte comestível do fruto, revestida por uma película em tons avermelhados (Figura 4) [39-40].

**Figura 4.** Representação do caju e da Castanha do caju indicando a localização do LCC no fruto.



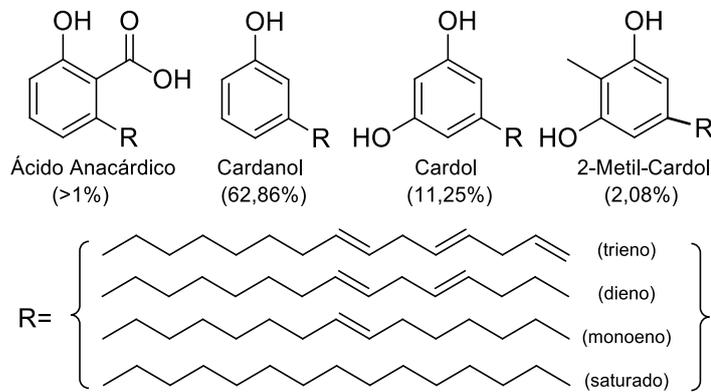
Fonte: Cardolite [41].

O LCC representa aproximadamente 25% do peso da castanha e é considerado um subproduto da indústria do caju com baixíssimo valor agregado. Este líquido é uma das fontes mais ricas de lipídeos fenólicos de origem natural. Possui diversas aplicações na química fina, de acordo com a funcionalização dos produtos isolados. A composição do LCC é majoritariamente constituída por quatro substâncias: o cardanol, cardol, 2-metil cardol e ácido anacárdico [42]. Este último presente em maior concentração no LCC *in natura*, devido ao seu processo de extração à frio. A extração à quente ocasiona a descarboxilação do ácido anacárdico, convertendo-o em cardanol, obtendo-se um LCC rico em cardanol, denominado LCC técnico (Figura 5).

Considerando a busca crescente por fontes renováveis e biodegradáveis, as potencialidades e a grande quantidade de LCC técnico produzida no país, junto com seu elevado percentual de compostos de interesse comercial e científico resultante do LCC, é notório vislumbrar que uma das expectativas na busca de agregar valor a esse subproduto venha a ser o desenvolvimento de novos processos tecnológicos utilizando os componentes do LCC. Essa

vertente representa a promoção do desenvolvimento sustentável, suportada por uma autonomia tecnológica, pela obtenção de produtos de alto valor agregado aos derivados do LCC [40,42].

**Figura 5.** Constituintes majoritários do LCC técnico.

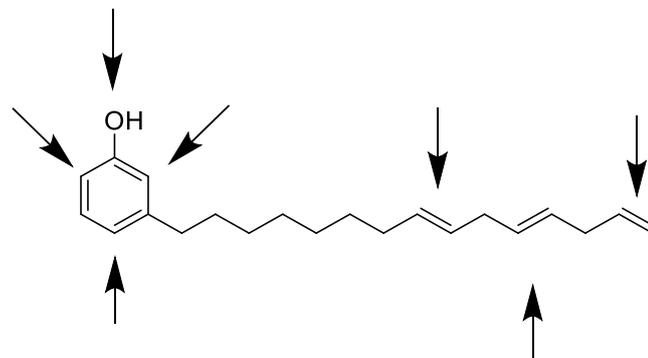


Fonte: Voirin, 2014 [39].

### 2.3. Cardanol

Dentre os compostos presentes no LCC, o cardanol apresenta peculiaridades em suas características químicas e físico-químicas, especialmente no que se refere à posição da dupla ligação presente em sua cadeia alifática, o que permite inúmeras funcionalizações, além das usuais do anel fenólico (Figura 6), assim como, características específicas a seus derivados (antioxidante, resistência à chama, hidrofobicidade) [41,43-44]. O cardanol não possui cheiro agressivo, apresenta baixa volatilização e ponto de ebulição mais alto que os demais compostos fenólicos derivados do petróleo, favorecendo assim a saúde de quem o manuseia e a do meio ambiente.

**Figura 6.** Cardanol e seus sítios reacionais.



Fonte: Mazzetto, 2009 [42].

O cardanol por ser uma molécula versátil, do ponto de vista químico, pode ser utilizado para a síntese de várias moléculas. É principalmente usado na manufatura de filmes, vernizes isolantes, óleos e resinas solúveis em álcool, além de resinas formaldeído-fenol em tintas e vernizes. Derivados sulfonados do cardanol produzem excelentes resinas e membranas para troca iônica, além de pigmentos, corantes e materiais coloridos. Apresenta ainda ampla aplicação na indústria de borracha e óleo, detergentes, inseticidas e material poroso [45].

Diversos trabalhos estudam a modificação química do cardanol e dos demais derivados do LCC, podendo obter produtos sintetizados por vias de hidrogenação [46], sulfonação [47], epoxidação [48-49], entre outras modificações [39]. Ravichandran, 2011 [50], obteve através de polimerização oxidativa do cardanol um polímero termorrígido e com propriedades retardantes de chamas. O que mais chama a atenção neste trabalho é a reação de polimerização que ocorre em meio aquoso, usando ferricianeto de potássio como iniciador da reação, que pode ter um rendimento desfavorecido pela propriedade hidrofóbica do cardanol, sendo mais comum sínteses ocorrendo em meios orgânicos onde há a completa solubilização do cardanol. Deste modo esta reação tem um potencial de replicação na polimerização em emulsão, que ocorre preferencialmente em meio aquoso [51-52].

Já quanto em relação à obtenção de microcápsulas à base de cardanol, não há muitos estudos realizados e poucos são os trabalhos que exploram esta aplicação para o cardanol. No entanto, Hedao 2014 [19], obteve sucesso no desenvolvimento de microcápsulas à base de cardanol, conseguindo encapsular o biopesticida óleo de karanja, assim como também obteve uma liberação controlada do óleo essencial.

## 2.4. Acaricidas

O carrapato-de-boi (*Rhipicephalus microplus*) (Figura 7) é um aracnídeo classificado como parasita, já que precisa passar uma fase de sua vida sobre animais para alimentar-se. O carrapato representa um grande problema para a produção de bovinos que em grande parte do Brasil, se manifesta durante todo o ano. Estes animais são hematófagos e podem retirar consideráveis quantidades de sangue de seus hospedeiros, podendo causar reações inflamatórias na pele, causando irritabilidade, lesões e anorexia, sendo que bovinos com altas infestações apresentam falta de apetite [53]. Eles também são vetores de doenças causadas pelos parasitas: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*. Estes agentes etimológicos

apresentam sintomas semelhantes e são agrupados no complexo “Tristeza Parasitária Bovina”, que pode acarretar a morte do hospedeiro [54].

**Figura 7.** Carrapato-de-boi (*Rhipicephalus microplus*). A) Fêmea; B) macho.



Fonte: Walker [55].

A principal medida adotada pelos produtores contra os carrapatos tem sido o controle químico com a utilização de acaricidas. Estes acaricidas podem ser derivados do ácido fosfórico, formamidina, piretrina e podem conter em sua composição princípio ativos como ivermectina, abamectina, moxidectina e doramectina [4]. O uso indiscriminado destes acaricidas podem acarretar danos ambientais através da contaminação do ambiente próximo a aplicação do pesticida, podendo causar danos à saúde de animais e pessoas que entrem em contato com o produto [56].

No entanto, o maior problema associado ao controle químico de carrapatos é o surgimento de populações mais resistentes à acaricidas. Cada acaricida possui um mecanismo de ação diferente possibilitando seu uso de maneira seletiva, podendo assim, selecionar artificialmente a população de carrapatos de interesse. Entretanto, parte dos parasitas alvo podem não ser suscetíveis ao pesticida utilizado. Isto ocorre devido ao fato de indivíduos presente na população de carrapatos poder ter mutações aleatórias, permitindo sua

sobrevivência durante o tratamento do hospedeiro. Estima-se que a cada um milhão de indivíduos, um apresentará a condição de resistência ao acaricida de forma natural [57].

Apesar dos impactos negativos gerados pelo controle químico de carrapatos, o uso de acaricidas é muito importante para a preservação da saúde do gado e, conseqüentemente, na proteção da produção desse setor da economia. Com isso, tem-se discutido muito a utilização de produtos vegetais como acaricidas naturais a fim de substituir formas mais agressivas e prejudiciais de controle de carrapatos. Estes produtos vegetais são representados por diversas substâncias e estão inseridos nas classes químicas de carboidratos, lipídios compostos nitrogenados terpenoides e os fenilpropanoides. Grande parte destes compostos apresentam ações tranquilizantes, analgésicas, anti-inflamatórias, citotóxicas, anticoncepcionais, antimicrobianas, antivirais, fungicidas, inseticidas, repelentes de artrópodes, entre outras atividades biológicas, o que indica um potencial uso como biopesticidas no combate a pragas, como por exemplo, os carrapatos [58].

## **2.5. Biopesticidas no combate aos carrapatos**

Os biopesticidas são uma classe específica de insumos agrícolas, que apresentam as mesmas aplicações de pesticidas sintéticos, com a diferença de serem de origem natural. Os biopesticidas também podem ser considerados como sendo agentes sintéticos derivados de compostos naturais, pesticidas modernos com menores riscos ambientais e até mesmo pesticidas de base biológica. Mas qualquer que seja a definição usada para os biopesticidas, é de interesse que estes possuam as seguintes características: baixa toxicidade em organismos não-alvo; baixa persistência residual no meio ambiente; uso sem restrições em agriculturas orgânicas; baixa toxicidade em mamíferos; seu manuseio precisa ser seguro para trabalhadores diretamente expostos ao insumo; e sem restrições severas [59]. Dentro desta categoria se encontram os óleos essenciais, compostos voláteis de odor forte e composição complexa que são obtidos como metabólitos secundários das plantas, que às utiliza como mecanismo de proteção contra insetos e ácaros fitófagos [60].

Os óleos essenciais são ricos em monoterpenos aromáticos, responsáveis pelo seu potencial de levar a morte, reduzir ou inibir a alimentação e a oviposição de diferentes artrópodes e outras pragas. As principais substâncias presentes nos óleos essenciais responsáveis pela atividade biológica são os monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropenos e

normalmente sua ação é baseada em sua capacidade de romper a parede celular e a membrana citoplasmática de bactérias e fungos, levando à lise e vazamento de compostos intracelulares ou relatado aumento da captação de fosfato inorgânico e vazamento de  $K^+$ , além de exercer atividades em diversos artrópodes por meio de efeitos neurotóxicos envolvendo diversos mecanismos, como por meio da GABA, das sinapses de octopamina e da inibição da acetilcolinesterase [12-61].

Quanto aos carrapatos, os óleos essenciais apresentam possuir uma grande atividade biológica em diversas espécies, indicando um potencial uso como acaricidas através de diversos estudos já publicados. Os óleos essenciais de alecrim e noz-moscada apresentaram grande atividade biológica em carrapatos da espécie *Dermacentor variabilis* quando comparado ao pesticida sintético DEET (N, N-Dietil-m-toluamida), sendo atribuído sua atividade biológica ao princípio ativo terpinoleno, presente em ambos os óleos essenciais [62]. Alguns óleos essenciais também apresentaram ação repelente para carrapatos independentemente da espécie particular e do estágio de seu estágio de desenvolvimento, destacando-se os óleos essenciais de *Lippia javanica* L. [63], *Origanum onites* L. [64] e *Gynandropsis gynandra* L. [65], que apresentaram alta repelência de carrapatos em baixas dosagens. Outros estudos utilizando óleos essenciais mostraram-se eficazes para a atividade acaricida frente à espécie *Rhipicephalus microplus*, tanto no estágio adulto, com na fase de larva [66-67].

No geral, os óleos essenciais possuem enormes benefícios para sua implementação como biopesticidas, visto sua baixa toxicidade em organismos não alvos e grande atividade biológica constantemente estudada. Entretanto, a baixa volatilidade dos óleos essenciais apresenta ser um grande desafio para sua aplicação *in situ*, ocasionando um menor tempo de contato do pesticida com os organismos alvo, fazendo-se necessário um meio de transporte destes bioativos que os proteja das adversidades do meio externo, como o ar, a umidade e temperatura, e libere o bioativo de maneira mais eficiente. Neste contexto, a tecnologia de encapsulação mostra-se como um potencial meio de aplicação destes bioativos, como os óleos essenciais, em ambiente desfavoráveis, prolongando o seu tempo de ação e a sua eficácia durante o tratamento.

## 2.6. Óleo Essencial de *Ocimum gratissimum*

*Ocimum gratissimum* L. (Figura 8), trata-se de uma planta originária da família das Lamiaceae, cujos membros do gênero incluem ervas anuais, sufrutices e arbustos nativos das regiões tropicais e temperadas quentes, com o maior número de espécies na África. No Brasil, esta planta é mais conhecida pelos nomes de alfavaca, manjerição, alfavacão, alfavaca-cravo, favacão e quioio-cravo [68]. É uma erva culinária que também é usada na medicina tradicional contra uma série de doenças, como tosse, febre, infecção de ouvido e dor abdominal [69]. O seu óleo essencial também é objeto de amplo estudo na comunidade científica e vem mostrando ser um produto natural com grande potencial de aplicação biológica.

**Figura 8.** *Ocimum gratissimum* L.



Fonte: APNE/CNIP [70].

É relatado na literatura o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* apresentando atividade bactericida em membros da família Enterobacteriaceae [71], e nas espécies *Escherichia coli* e em *Staphylococcus aureus* [72]. Também é relatado atividade fungicida [73] [74], incluindo atividade nos fitopatógenos *Botryosphaeria rhodina*, *Rhizoctonia* sp. e duas

cepas de *Alternaria* sp., responsáveis por doenças e distúrbios metabólicos em plantações [75]. Outras atividades biológicas relacionadas ao óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, são: anticâncer [76], anticonvulsivante [77] e antioxidantes [54,78-79].

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* também apresenta atividade carrapaticida [13,80]. Em estudos usando as larvas de carrapato-de-boi (*Rhipicephalus microplus*), o óleo essencial apresentou uma atividade larvicida com  $LC_{50} = 0,5-2,0$  mg/mL [67], que é interessante do ponto de vista pecuário, uma vez que o carrapato-de-boi é um grande vetor de doenças e uma praga em pastos bovinos. Entretanto, o problema da alta volatilidade de óleos essenciais, já citado na seção 2.5., impede uma aplicação direta destes produtos, criando a necessidade do uso de novas tecnologias para uma maior exploração de suas propriedades.

Pensando nisto, este trabalho tem o objetivo obter novas microcápsulas à base de cardanol, com a finalidade de encapsular óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, assim como seu estudo de liberação, usando uma abordagem verde para a produção de novos materiais de origem natural carregados com um bioativo com propriedade acaricida.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar microcápsulas à base de cardanol incorporada com óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, e estudar sua liberação e avaliar o potencial acaricida do óleo essencial.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- Extração do cardanol a partir do LCC técnico por separação por solventes e cromatografia em coluna;
- Caracterização do cardanol extraído pelas técnicas de Espectroscopia de Infravermelho e Cromatografia de Alta Eficiência;
- Extração de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* em aparelho do tipo Clevenger;
- Caracterização do óleo essencial obtido pela técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa;
- Incorporação do óleo essencial através da microencapsulação em emulsão;
- Caracterização das microcápsulas obtidas pelas técnicas de Espectroscopia de Infravermelho, Calorimetria Exploratória Diferencial, Microscopia de Eletrônica de Varredura e Análise de Tamanho de Partícula;
- Cálculo de eficiência de encapsulação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*;
- Estudo de liberação do óleo essencial de *Ocimum Gratissimum* por leitura em Espectrômetro UV-vis;
- Avaliar o potencial acaricida do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* através do Teste de Imersão de Larvas.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Materiais

Para a realização dos experimentos, todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções utilizadas neste estudo foram preparadas com água destilada. Os reagentes utilizados foram: Metanol (Quimex); Hidróxido de amônio (Isofar); Acetato de etila (Isofar); Hexano (Quimex); Carvão ativado (Isofar); Sulfato de sódio anidro (Synth); Ácido clorídrico (Isofar); Ferricianeto de potássio (Isofar); *m*-cresol (Merck). O LCC técnico foi obtido pela Companhia Brasileira de Resinas (Resibras), sediada em Fortaleza-CE. As folhas de *Ocimum gratissimum* L. foram obtidas de espécies nativas no período de dezembro de 2020 pela manhã no município de Matinha-MA.

### 4.2. Extração do Cardanol a partir do LCC Técnico

A extração do Cardanol a partir do LCC foi realizada utilizando o método extração por solvente. O procedimento foi conduzindo a partir de adaptações da literatura [81].

Para a extração do cardanol, 100 g de LCC técnico foram dissolvidos em uma mistura de 320 mL de metanol e 200 mL de hidróxido de amônio. A mistura foi mantida sob agitação magnética por 15 minutos. Em seguida, a esta solução foi adicionado 400 mL de hexano e novamente agitada por mais 15 minutos. Após a agitação, a mistura foi transferida para um funil de separação a fim de separar as fases orgânica e aquosa durante 24 horas. O sobrenadante (a fase orgânica contendo o hexano) foi lavado com 100 mL de solução 5% de ácido clorídrico, e em seguida, com 100 mL de água destilada. Após esse procedimento, foi adicionado à fase orgânica 10 g de carvão ativado e posto sob agitação por 10 minutos. Em seguida foi adicionado sulfato de sódio anidro para remoção de umidade, seguido de filtração com Celite (15 g). O hexano residual foi removido em rotaevaporador.

O material obtido pela extração por solventes apresentou alto teor de cardanol, mas ainda com impurezas, sendo necessário ser submetido a um processo de purificação por cromatografia em coluna.

Em uma coluna de vidro de 30 cm de altura por 5 cm de diâmetro, foi inserido cerca de 60 g de Sílica Gel 60 (0,063-0,200 mm) empacotado com hexano. Uma torta de 2 g de cardanol foi preparado e adicionado na coluna. O cardanol foi então eluído com hexano e a separação do cardanol foi acompanhada por cromatografia de camada delgada (CCD).

A análise por CDD foi realizada a fim de acompanhar a purificação do cardanol na cromatografia em coluna. Para tal, foram utilizadas cromatoplasas de alumínio TLC ALUGRAM XTRA SIL 20 x 20 cm como fase estacionária. As cromatoplasas foram cortadas em uma altura de 6 cm e colocadas amostras de LCC técnico e cardanol purificado. Estas amostras foram eluídas com uma mistura de hexano/acetato de etila (4:1) como fase móvel [82]. O arraste das amostras foi observado pelo uso de uma Câmara UV (ultravioleta) com comprimento de onda máximo de 254 nm.

### 4.3.Extração do Óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

A extração do óleo essencial ocorreu pelo método de hidrodestilação, utilizando um extrator do tipo Clevenger para o experimento [67]. As folhas de *Ocimum gratissimum* foram colocadas para secar em ar livre, na ausência de luz de 3 a 5 dias, até sua completa secagem. Após estarem secas, cerca de 100 g de folhas foram transferidas para um balão de 1 L e, em seguida, foi acrescentado 600 mL de água destilada. As folhas foram então destiladas em extrator Clevenger modificado por 3 horas (Figura 9). O óleo essencial obtido foi coletado e submetido a secagem com sulfato de sódio anidro e centrifugação.

A porcentagem de umidade das amostras foi obtida através de analisador de umidade IV 2500 – GEHAK por infravermelho, com temperatura de 115 °C por 30 minutos.

O rendimento (%) do óleo essencial extraído da biomassa vegetal foi determinada através da Equação 1:

$$\text{Equação 1: } To = \frac{Vo}{Bm - \left(\frac{Bm \times U}{100}\right)} \times 100$$

Onde  $To$  é o rendimento de extração (%) em BLU (Base Livre de Umidade),  $Vo$  é volume de óleo essencial extraído em mL,  $Bm$  é a biomassa vegetal medida em gramas e  $U$  é a umidade do material [83].

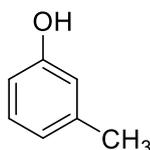
**Figura 9.** Extração de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* por hidrodestilação em extrator do tipo Clevenger modificado.



Fonte: Autor.

#### 4.4. Microencapsulação do Óleo Essencial de *Ocimum gratissimum*

As microcápsulas à base de cardanol foram obtidas através da adaptação da técnica de polimerização em emulsão [19] e polimerização oxidativa do cardanol [50]. Visando propor uma abordagem sustentável de microencapsulação, também foram feitas microcápsulas de copolimerização entre o cardanol e *m*-cresol. O *m*-cresol é um fenol meta substituído (figura 10) extraído de fontes não-renováveis, como por exemplo, o petróleo [84]. Foram, então, obtidos microcápsulas com diferentes razões molares de monômeros (cardanol e *m*-cresol) no intuito de investigar as propriedades de microcápsulas inteiramente de base natural e não-natural.

**Figura 10.** *m*-Cresol

Foram utilizados para este experimento o cardanol e *m*-cresol como monômeros para formação da parede das microcápsulas em diferentes razões molares, a Tabela 1 descreve os valores percentuais de cada monômero, bem como a nomenclatura de cada amostra.

**Tabela 1.** Razões molares entre os monômeros cardanol/*m*-Cresol.

Código da amostra	Percentual de Cardanol	Percentual de <i>m</i> -Cresol	Razão molar Cardanol/ <i>m</i> -Cresol
<b>C0</b>	100 %	-	1:0
<b>C25</b>	75 %	25 %	3:1
<b>C50</b>	50 %	50 %	1:1
<b>C75</b>	25 %	75 %	1:3

Em uma típica reação, foram utilizados 50 mL de uma solução aquosa de PVA (Álcool polivinílico) (1% m/v) sob agitação constante com o auxílio de agitador mecânico (T 25 digital ULTRA-TURRAX®) em temperatura ambiente. 0,3 g de monômero (razão cardanol/*m*-Cresol) foram gotejados na solução de PVA e depois adicionado 0,1 mL de butanol e 0,02 g de lauril sulfato de sódio. Após homogeneização foi gotejado lentamente na mistura 2 mL de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* e mantido sob agitação constante para formação da microemulsão. Decorridos 30 minutos de agitação, foi introduzido à mistura 2 g de hidróxido de sódio, e após estabilização da emulsão foi adicionado 0,987 g (3 mmol) do iniciador ferricianeto de potássio. Após 15 minutos de reação o material produzido foi filtrado e lavado com água destilada até pH neutro, e em seguida, foi liofilizado por 24 horas.

## 4.5. Caracterizações

### 4.5.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A análise cromatográfica em HPLC foi realizada em comparação com padrão autêntico para averiguar a presença e pureza na identificação do cardanol isolado a partir do LCC. Foi utilizado para a análise um instrumento HPLC/UV-vis Shimadzu com detector UV SPA-10. A fase móvel usada foi uma mistura de acetronitrila/água/ácido acético nas razões de 80:20:1 a um fluxo de 1 mL/min. O comprimento de onda utilizado foi de 254 nm para detecção da amostra. As amostras usadas na análise foram o cardanol purificado e o LCC técnico a uma concentração de 1 mg/mL em acetronitrila, eluídas em uma coluna de C<sub>18</sub> Sep-Pak [81].

### 4.5.2. Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM)

Para identificação da composição do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* foi realizado análise CG-EM, onde as mostras de óleo foram analisadas em um Cromatógrafo a Gás (CG-2010) acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM QP2010 Plus), ambos da Shimadzu, utilizando uma coluna capilar DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). O fluxo do gás de arraste Hélio foi numa velocidade linear de 30 cm/sec e fluxo da coluna 1,0 mL/min, razão de Split 1/30. A programação do forno foi de 40 °C por 5 minutos com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 240 °C, permanecendo até 3 minutos, 300 °C, com rampa de aquecimento de 8 °C/min, permanecendo por 2 minutos. A temperatura do injetor e da fonte de íons foi de 250 °C e 200 °C, respectivamente. O modo de injeção Split com razão de 1:30. O tempo de corrida foi de 37,5 minutos.

### 4.5.3. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As estruturas do cardanol e dos polímeros obtidos pela microencapsulação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* foram avaliadas usando a técnica de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). As amostras foram obtidas na forma de filme vazado em pastilhas de KBr. Os espectros vibracionais na região do infravermelho na

faixa compreendida entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$  foi obtida empregando um espectrômetro Shimadzu, modelo IRPrestige-21.

#### 4.5.4. *Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)*

Para avaliação térmica da casca externa das microcápsulas produzidas, foram obtidas curvas de DSC utilizando o equipamento DSC-60H da Shimadzu em atmosfera inerte de nitrogênio a uma vazão de 100  $\text{mg/mL}$ . Cerca de 4-7 mg de amostra foram inseridos em uma panela de alumínio em uma faixa que vai da temperatura ambiente a 550°C, em uma razão de aquecimento de 10 °C/min.

#### 4.5.5. *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

As análises de MEV foram realizadas nas amostras de microcápsulas (C0, C25, C50 e C75) com a finalidade de visualizar a morfologia do material e identificar a formação de micropartículas. Para tanto, foram feitas microscopia como o equipamento de bancada HITACHI modelo TM 3030 com detector High-sensitivity semiconductor *back scattered electron detector*, com magnificação de aproximação de 15000x operando em aceleração de voltagem de 15 kV com filamento de tungstênio. O pó das amostras foi adicionado em *stubs* de alumínio para ser analisado.

#### 4.5.6. *Análise de Tamanho de Partícula (Mastersizer)*

O tamanho e a distribuição de tamanho de partícula das microcápsulas foram determinados em um analisador de tamanho de partícula por difração a laser Malvern MasterSizer 2000, que pode medir a distribuição de partículas com diâmetros na faixa de 0,02 a 2.000  $\mu\text{m}$ . Para isso, uma pequena quantidade de partículas foi dispersada em água destilada por meio de ultrassom e agitação em rotação de 1.600 rpm, no próprio aparelho, para garantir a ausência de aglomerados e a passagem do feixe de laser pela suspensão de partículas dispersas. Os parâmetros obtidos por esta técnica foram diâmetro médio de partícula  $D(v, 0,1)$ ,  $D(v, 0,5)$  e  $D(v, 0,9)$ , que representa o tamanho de corte em que 10, 50 e 90%, respectivamente,

das partículas da amostra são menores, e, o diâmetro volumétrico médio, representado por  $D(4,3)$ , que representa o diâmetro de uma esfera com o mesmo volume médio das micropartículas que compõem a amostra e o índice de polidispersidade (ou *span*), que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição de tamanhos.

#### 4.6. Determinação da quantidade de bioativo encapsulado

A quantidade percentual de óleo essencial incorporado nas microcápsulas foi obtida através de adaptação do método por extração em aparelho Soxhlet [85].

O solvente utilizado foi etanol devido a capacidade de extrair o núcleo das microcápsulas. Quantidades conhecidas de microcápsula foram pesadas e inseridas em envelopes de papel filtro bem lacrados onde foram submetidas a extração em um aparelho Soxhlet, contendo etanol como solvente extrator, pelo período de 8 horas. Após esse período, as microcápsulas foram secas em estufa por 24 horas a 40 °C e depois as microcápsulas secas tiveram seu peso anotado. O experimento foi feito em triplicata. A quantidade de bioativo encapsulado foi determinada pela equação 2:

$$\text{Equação 2: } OEE\% = 100 - \left( \frac{W_{cv} \times 100}{W_o} \right)$$

Onde  $OEE\%$  é o percentual de óleo essencial incorporado nas microcápsulas,  $W_{cv}$  é a massa da microcápsula após a extração (somente a casca vazia) e  $W_o$  é a massa inicial das microcápsulas.

#### 4.7. Estudo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* por espectrometria UV-Vis

O estudo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* foi feita através de adaptação da literatura [19]. Foi utilizado um equipamento de espectrômetro UV-Vis Kazuaki, modelo IL-592-BI. Para a extração do óleo essencial presente no núcleo das microcápsulas foi utilizado um solvente capaz de extrair e solubilizar o óleo essencial sem interferir na leitura espectrofotométrica e, para isto, o solvente escolhido como meio de liberação foi o etanol.

5,0 mg de microcápsulas foram inseridas em recipientes contendo 50 mL de etanol e deixadas em local sem a presença de luz. A cada tempo estipulado foram retirados 4 mL do solvente e centrifugado por 5 minutos a 3600 rpm. O solvente então foi analisado no UV-Vis em um comprimento de onda de 274 nm (absorbância máxima para o óleo essencial de *Ocimum gratissimum*). Ao final do processo a alíquota é devolvida ao recipiente. O estudo foi feito em triplicata.

Para caracterizar o perfil cinético de liberação adequado para óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, foram consideradas três abordagens de modelos de liberação, analisando os modelos empírico de primeira ordem, Korsmeyer-Peppas e Higuchi. A aplicação da equação de primeira ordem é o estudo da liberação dos compostos carregados de matrizes porosas, conforme a equação 3.

$$\text{Equação 3:} \quad \log C = \log C_0 - \frac{Kt}{2,303}$$

Onde  $C_0$  é a concentração inicial de óleo essencial,  $C$  é a quantidade de óleo essencial liberado,  $K$  é a constante de velocidade de primeira ordem e  $t$  é o tempo [86].

Para investigar os mecanismos Fickian e não-Fickian, o modelo proposto é utilizado por Korsmeyer-Peppas (equação 4).

$$\text{Equação 4:} \quad \frac{Mt}{M_\infty} = Kt^n$$

Onde  $Mt/M_\infty$  é uma fração de óleo essencial liberado no tempo  $t$ ,  $K$  é a constante cinética de liberação e  $n$  é o expoente de liberação. Para realizar o mecanismo de liberação do óleo essencial. Determinar a quantidade de  $n$  é um papel importante em seu mecanismo de liberação. O valor de  $n$  menor que 0,45 representa um mecanismo Fickiano, valor  $0,45 < n < 0,89$  indica transporte não-Fickiano e  $n > 0,89$  representa mecanismo de erosão [87].

O modelo de Higuchi fornece uma relação linear entre o percentual de liberação do óleo essencial e a raiz quadrada do tempo (equação 5).

$$\text{Equação 5:} \quad \frac{Mt}{M_\infty} = Kt^{0,5}$$

Essa equação descreve a liberação de OE como um processo de difusão definido pela lei de Fick, com a dissolução dependente da raiz quadrada do tempo [88].

#### 4.8. Teste de Imersão de Larvas

O Teste de Imersão de Larvas foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Klafke et al., 2006 [89]. Óleo essencial de *Ocimum gratissimum* foi diluído em uma solução contendo 1,0% de etanol e 0,02% de Triton X-100. Os testes foram realizados com dez concentrações diferentes, variando de 0,38 a 5,00 mg/mL, e o experimento foi feito em triplicata. Foi realizado o teste em um grupo controle com uma solução de 1,0% de etanol e 0,02% de Triton X-100. Um grupo de larvas foi imerso por 10 min em cada concentração e depois transferidas para um papel de filtro para secar. Uma alíquota de larvas foi transferida para um papel de filtro limpo e seco (8,5 × 7,5 cm) que foi dobrado e fechado com cliques. Os pacotes foram incubados a  $27 \pm 1$  °C com umidade relativa  $\geq 80\%$  por 24 h. Após a incubação, as larvas mortas e vivas foram contabilizadas.

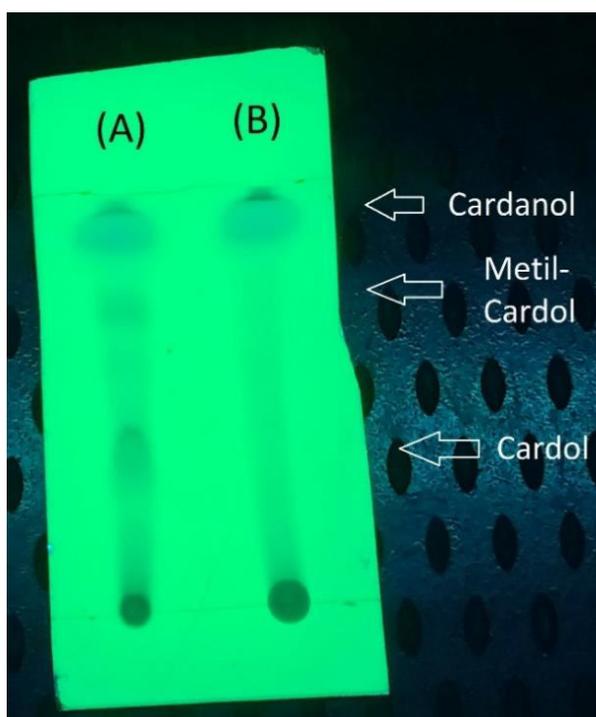
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Obtenção do Cardanol a partir do LCC Técnico

Para obtenção do cardanol puro a partir do LCC técnico foi realizada a técnica de extração por solvente, baseado na seletividade dos compostos presentes no LCC com maior interação com a fase metanólica, contendo hidróxido de amônia, e na preferência e miscibilidade do cardanol em hexano. A fim de obter um cardanol com alta pureza, foi feita uma etapa complementar de purificação utilizando a cromatografia em coluna. Dentro da coluna de sílica gel o Hexano foi suficiente para eluir com maior velocidade o cardanol, podendo assim ser separado com eficiência, obtendo no final do processo cerca de 35% de rendimento de cardanol em relação ao LCC técnico.

Para observar a separação dos constituintes do LCC por cromatografia em coluna, foi utilizada uma placa de CCD (Figura 11), onde pode ser identificado na eluição do LCC técnico (Figura 11a) a presença de três dos seus constituintes majoritários: o cardanol na parte superior; traços de 2-metil-cardol no meio; e o cardol, como último composto a ser eluído [82]. Já na Figura 11b, temos a eluição do cardanol extraído, apresentando apenas um composto retido na placa, no mesmo fator de retenção do cardanol para a eluição do LCC, indicando que a extração do cardanol foi bem-sucedida pelo método de cromatografia em coluna.

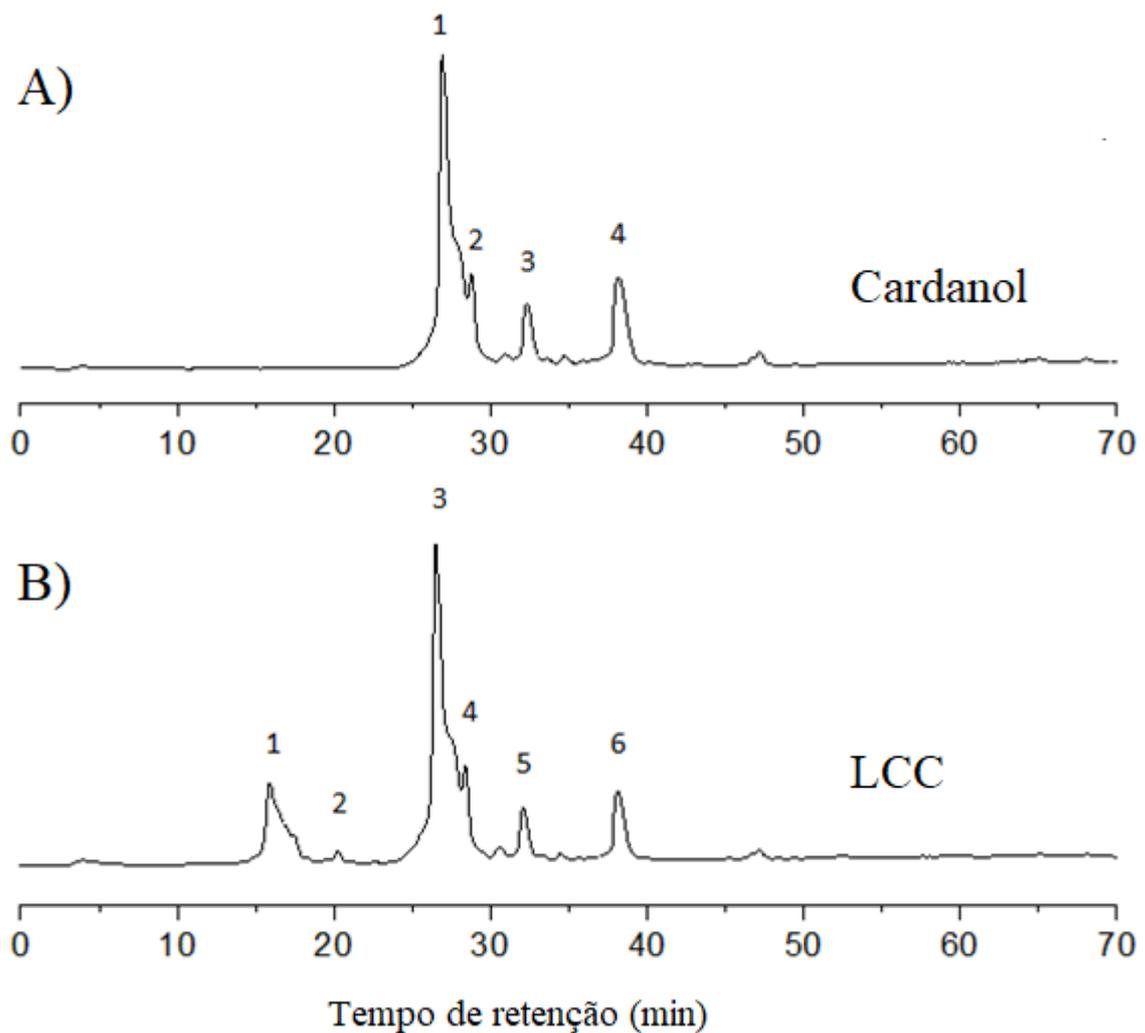
**Figura 11.** Placa de CCD. A) eluição do LCC técnico; B) eluição do Cardanol extraído.



### 5.1.1. Caracterização do Cardanol por HPLC

O cromatograma do Cardanol e do LCC técnico foram obtidos utilizando a técnica de HPLC. Na Figura 12, podemos observar que a eluição do LCC gerou seis picos cromatográficos, onde segundo Phani Kumar et al. 2002 [81], os primeiros dois picos são referentes a presença de cardol, que estão em quantidade significativa no LCC para geral sinal analítico, enquanto os demais picos são atribuídos ao cardanol. Isto ocorre porque o cardanol é uma mistura de isômeros e possui quatro estruturas químicas diferentes, dependendo do número de insaturações presentes na cadeia lateral alifática, o que permite explicar a presença de 4 picos cromatográficos. Na Figura 12a, temos o pico 1, 2, 3 e 4, sendo o tempo de retenção para os isômeros do cardanol trieno, dieno, monoeno e saturado, respectivamente [90].

**Figura 12.** Cromatograma do cardanol e LCC técnico. A) Cardanol; B) LCC técnico.

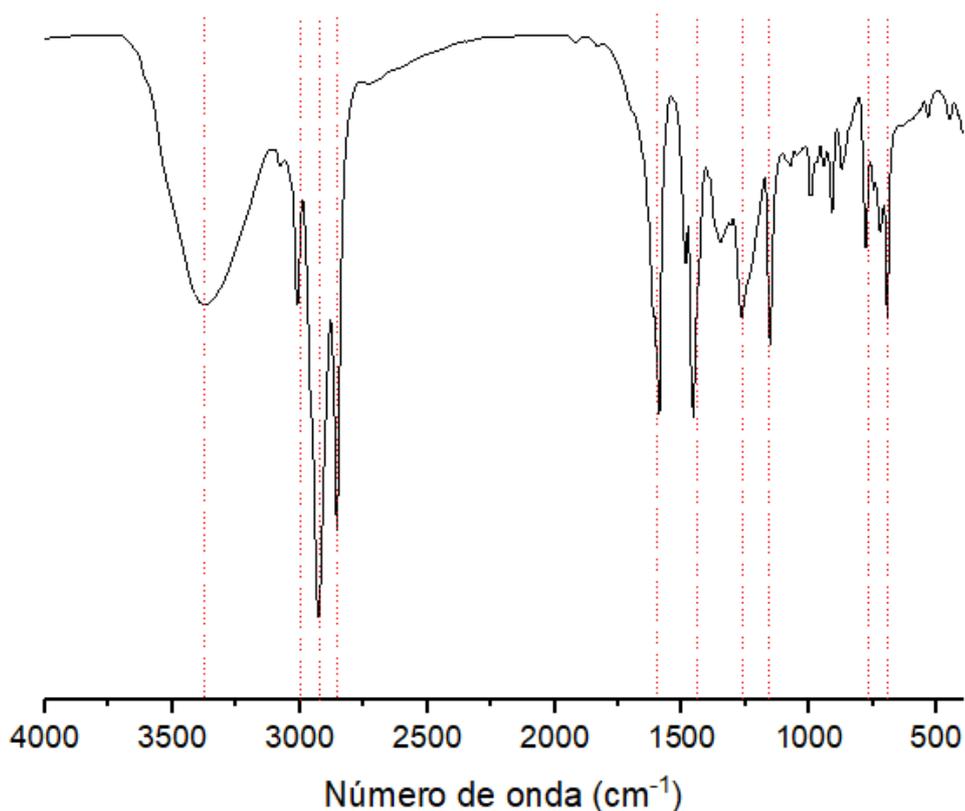


O cardol possui uma hidroxila a mais que o cardanol em sua estrutura (seção 2.5), meta substituída no anel aromático, o que confere ao cardol uma maior polaridade e explica o fato da eluição do cardol ser mais rápida que do cardanol. Já o cromatograma do cardanol apresenta os quatro picos referentes ao cardanol nos tempos de retenção de 27, 29, 32 e 38 minutos. Entretanto, este cromatograma não apresenta os picos referentes ao cardol, indicando que foi obtido o isolamento, com sucesso, do cardanol a partir do LCC técnico e estes resultados estão de acordo com a literatura [81].

### 5.1.2. Caracterização do Cardanol por FTIR

O cardanol pode facilmente ser caracterizado por FTIR, devido, principalmente, à hidroxila presente no anel aromático e aos agrupamentos  $-CH_2$  e  $-CH_3$  que conferem bandas bem definidas e intensas, auxiliando na identificação desse composto. A Figura 13, mostra o espectro de FTIR para o cardanol que foi utilizado para determinar sua caracterização estrutural.

**Figura 13.** Espectro FTIR do cardanol.



O espectro apresenta uma banda em  $3370\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento  $\text{-OH}$  presente no anel aromático do cardanol. As bandas presentes em  $3008\text{ cm}^{-1}$  são correspondentes ao estiramento  $\text{C-H sp}^2$  e as bandas presentes em  $2920$  e  $2850\text{ cm}^{-1}$  são correspondentes aos estiramentos  $\text{-CH}_2$  e  $\text{-CH}_3$ , respectivamente, da cadeia lateral alifática do cardanol. A banda presente em  $1590$  e  $1115\text{ cm}^{-1}$  é característica de estiramento  $\text{C=C}$  presente no anel aromático. A banda de  $1450\text{ cm}^{-1}$  e em  $1260\text{ cm}^{-1}$  está relacionada a deformação angular de  $\text{C-O}$ , enquanto a faixa de  $1020\text{-}690\text{ cm}^{-1}$  está relacionada a deformação angular de  $\text{C-C}$  [91]. A Tabela 2 mostra as atribuições das bandas características do cardanol.

**Tabela 2.** Bandas características do cardanol.

Comprimento de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
3370	Estiramento OH
3008	Estiramento de ligações $\text{C-H sp}^2$
2924 e 2854	Estiramento de $\text{CH}_2$ e $\text{CH}_3$
1589 e 1115	Estiramento $\text{C=C}$ do anel aromático
1450 e 1260	Deformação angular $\text{C-O}$
1020-690	Deformação angular $\text{C-C}$

## 5.2. Obtenção do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

### 5.2.1. Rendimento da extração do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* foi extraído pelo processo de hidrodestilação e seu rendimento foi calculado com base na matéria seca ou base livre de umidade (BLU) e apresentou um rendimento médio de 4,94%. A tabela 3 apresenta os valores de rendimento do óleo essencial para da extração realizada.

Foi obtido um percentual de óleo essencial com valores de rendimento bem próximos em cada extração. Outros trabalhos obtiveram rendimentos menores na extração do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, como por exemplo, Alves et al. 2016 [92], que obteve 0,21% de rendimento e Souza et al. 2009 [93], obteve um rendimento de 3,19%, ambos utilizando a

hidrodestilação. Já Amorim et al. 2012 [94], obteve um rendimento de 1,55% usando a técnica de arraste a vapor. Estes valores indicam que este trabalho obteve um bom rendimento de extração do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* quando comparado à literatura, sendo que estas diferenças de rendimento podem ser atribuídas a fatores como a época de coleta, quimiotipo, diferença no solo, condições e tempo de armazenamento das folhas.

**Tabela 3.** Rendimento percentual de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* extraído por hidrodestilação.

Biomassa das folhas (g)	Tempo de secagem (dias)	Umidade (%)	Volume de óleo essencial extraído (mL)	Rendimento do óleo essencial (%)
105,00	<i>in natura</i>	77,09	1,30	5,40
98,04	<i>in natura</i>	77,09	1,30	5,79
92,27	5	36,01	3,00	5,08
76,35	3	46,36	1,70	4,15
78,85	3	46,36	1,80	4,26

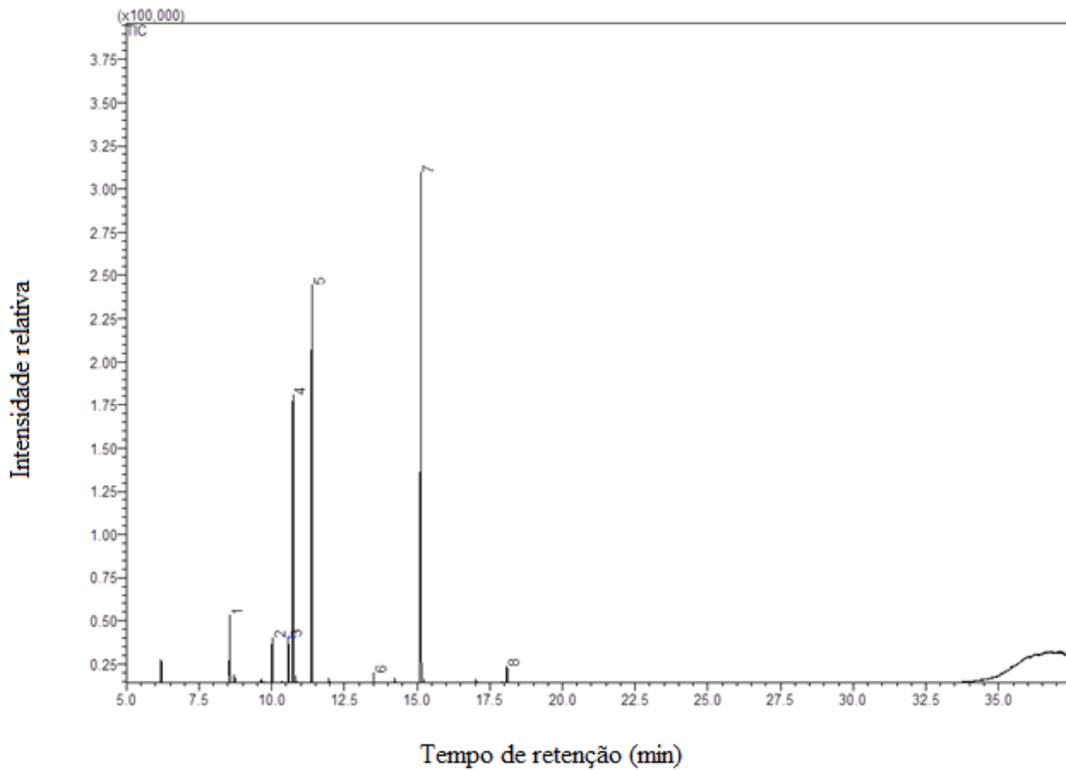
### 5.2.2. Caracterização do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

Através da técnica de CG-EM foi possível identificar a composição do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*. A Figura 14, mostra o cromatograma do óleo essencial apresentando oito picos majoritários, indicando que a amostra de óleo essencial possui oito constituintes, que foram possíveis de serem detectados.

O primeiro pico detectado é referente ao  $\alpha$ -felandreno e possui o tempo de retenção de 8,6 minutos. O segundo pico tem o tempo de retenção em 10,0 minutos, sendo referente ao  $\beta$ -Pineno. Os outros picos majoritários identificados são:  $\alpha$ -Terpineno, *m*-Cimeno,  $\gamma$ -Terpineno, Terpinen-4-ol, Timol,  $\beta$ -Farneceno, como os respectivos tempos de retenção de 10,6, 10,7, 11,4, 13,5, 15,1 e 18,1 minutos.

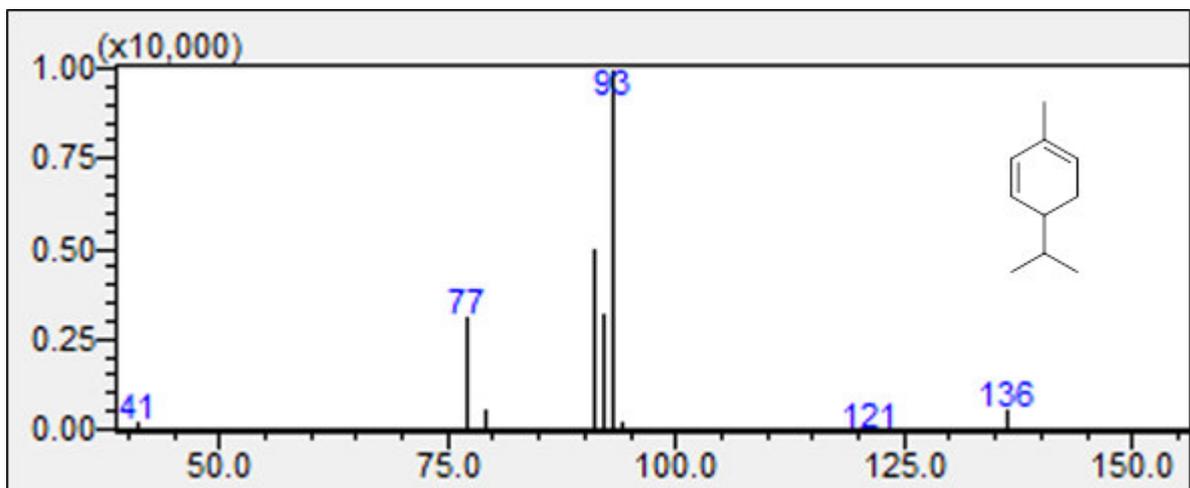
O primeiro pico cromatográfico trata-se do  $\alpha$ -Felandreno e apresenta o espectro de massa representado na Figura 15. Observa-se neste espectro o íon molecular em  $m/z = 136$ , o bico base em  $m/z = 93$  e fragmentos registrados em  $m/z = 121$ ,  $m/z = 77$  e  $m/z = 43$ .

**Figura 14.** Cromatograma CG-EM do Óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.



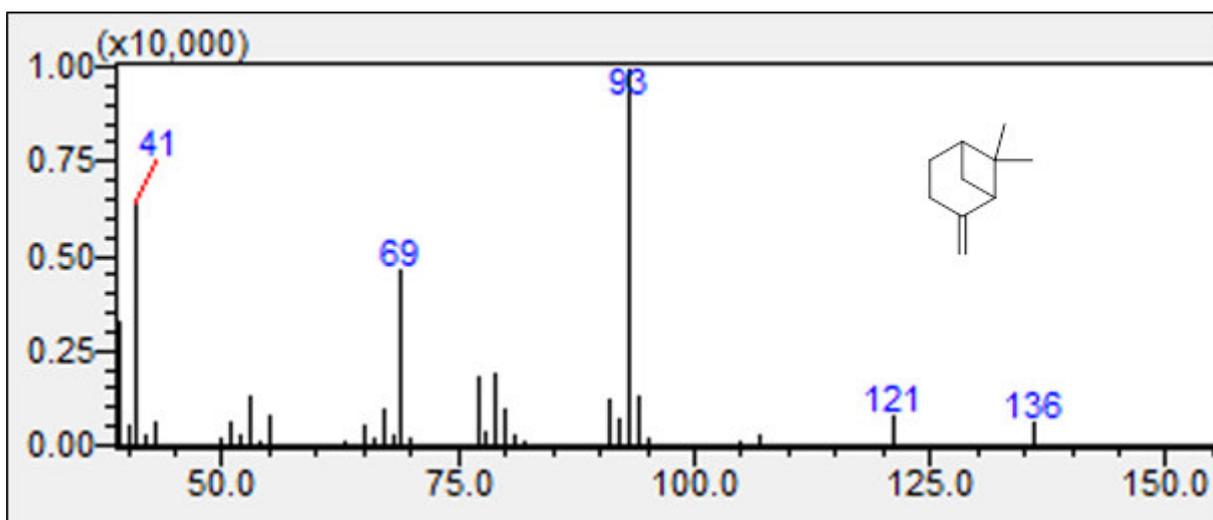
O fragmento em  $m/z = 121$  ocorre com a perda de 15 Da, indicando a perda de  $-CH_3$ . Este fragmento não é muito estável já que a intensidade relativa é baixa. O pico base ocorre pela perda de 43 Da, o que pode ser atribuído ao radical isopropila. Estes processos podem ser atribuídos a clivagens simples da ligação sigma.

**Figura 15.** Espectro de massa do  $\alpha$ -Felandreno



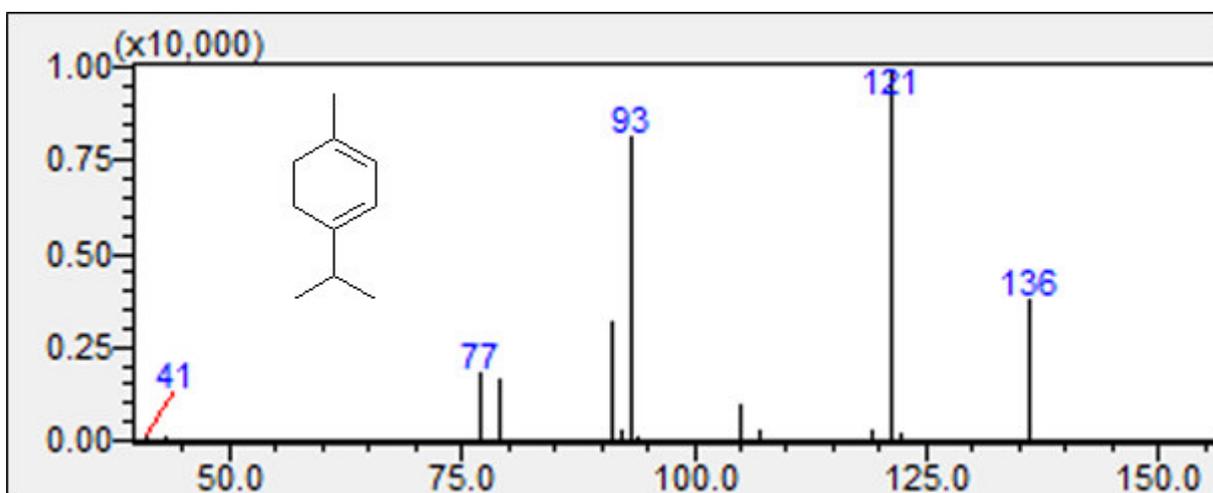
O segundo composto do cromatograma também foi identificado pelo espectrômetro de massa (Figura 16). Este composto é o  $\beta$ -pineno, e possui um íon molecular em  $m/z = 136$ . O pico base é gerado em  $m/z = 93$  após a abertura do bicyclo e, conseqüentemente, à perda de propila na estrutura. As fragmentações também ocorrem em  $m/z = 121$  com a perda de metila.

**Figura 16.** Espectro de massa do  $\beta$ -pineno.



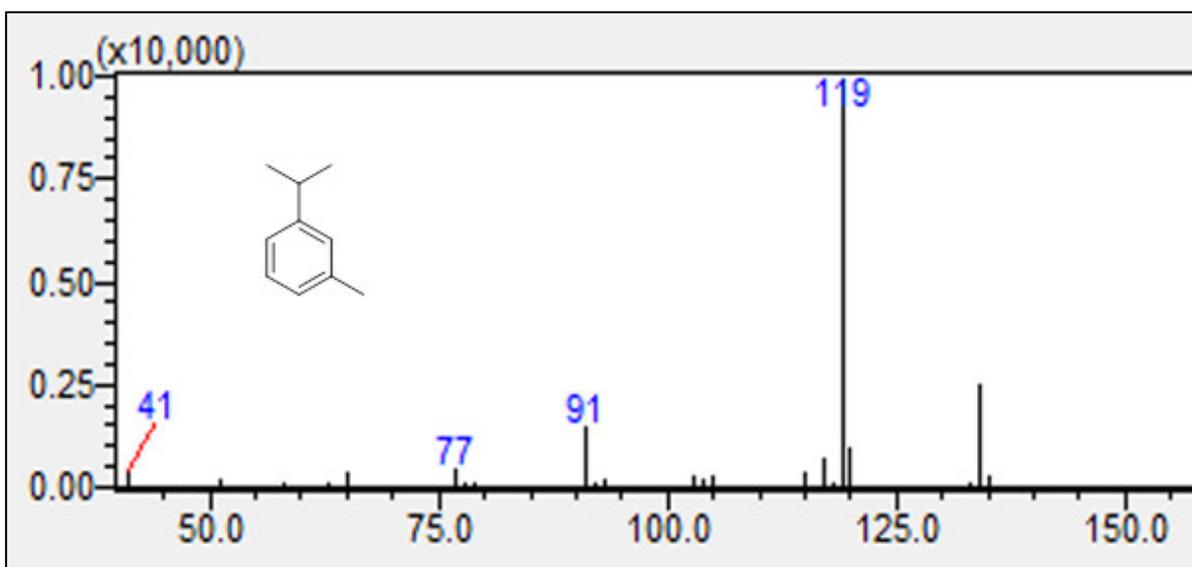
O terceiro espectro de massa é apresentado na figura 17 e mostra o pico base como sendo  $m/z = 121$ . Já o íon molecular é indicado por  $m/z = 136$ . A molécula em questão é o  $\alpha$ -terpinene e possui um espectro de massa parecido com o  $\alpha$ -Felandreno devido a semelhanças estruturais, com perdas de 15 Da no pico base, referente a perda de  $-CH_3$ , que no  $\alpha$ -terpineno é uma fragmentação mais estável devido à presença de duplas ligações alternadas que podem estabilizar o fragmento formado por ressonância. Há também a perda do radical propila em  $m/z = 93$ , e a formação de fragmentos de  $m/z = 77$  e  $m/z = 41$ .

**Figura 17.** Espectro de massa do  $\alpha$ -terpineno.



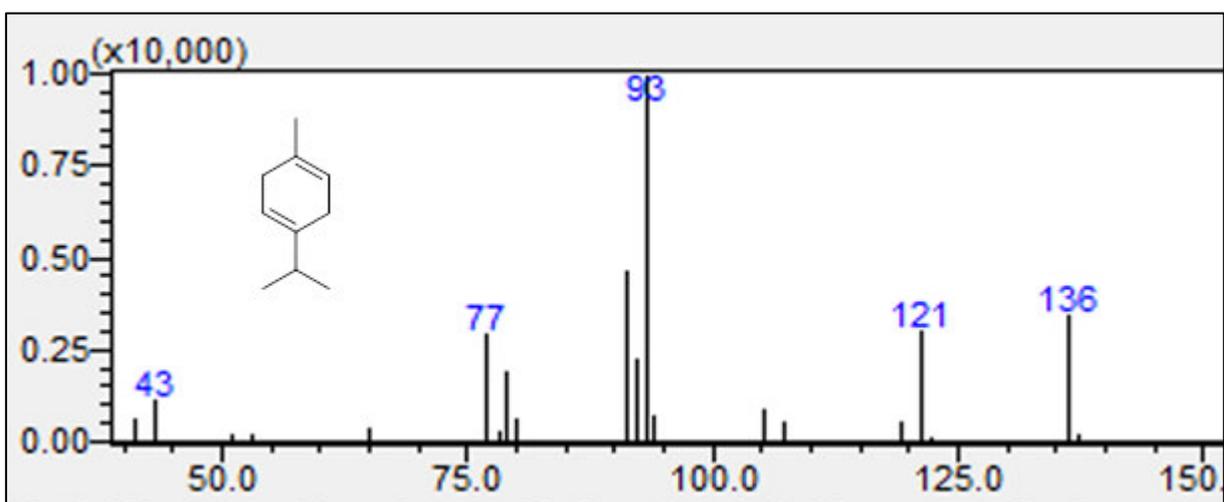
O quarto composto eluído na cromatografia é o *m*-cimeno e seu espectro de massa está representado na Figura 18. O espectro mostra o íon molecular como sendo de  $m/z = 134$  e o pico base  $m/z = 119$ , com perda de 15 Da, referente ao radical  $-CH_3$  meta substituído no anel aromático. Também ocorre perda de 43 Da, referente ao radical propila gerando o fragmento  $m/z = 91$ , menos estável devido a presença do anel aromático.

**Figura 18.** Espectro de massa do *m*-cimeno.



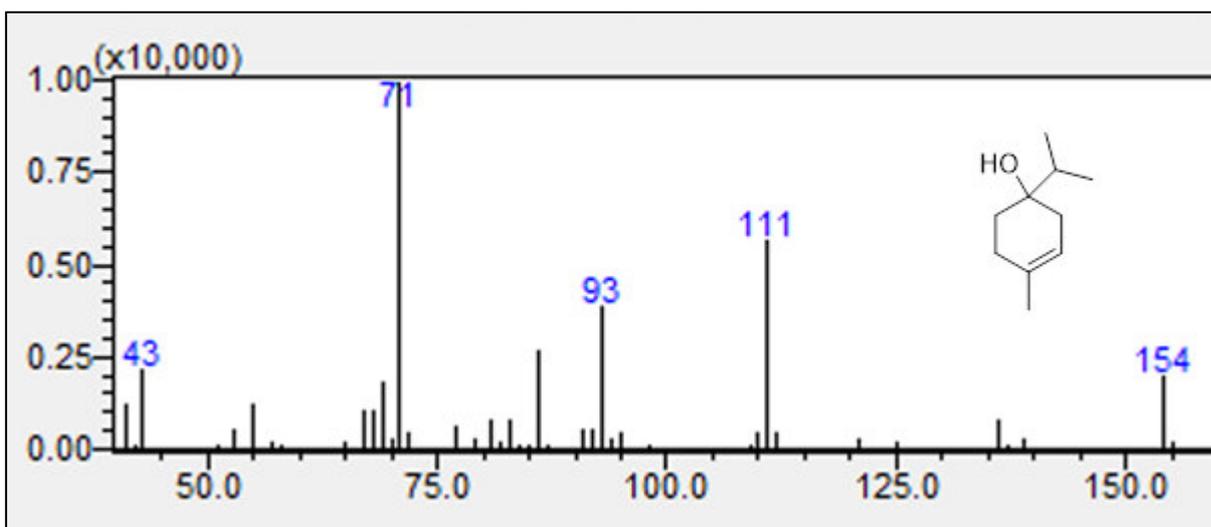
O espectro de massa do quinto composto está representado na Figura 19, onde se trata do espectro de massa do composto  $\gamma$ -Terpineno. Este composto também possui um espectro com íon molecular de  $m/z = 136$  e pico base em  $m/z = 93$ , seguido dos fragmentos em  $m/z = 121$ ,  $m/z = 77$  e  $m/z = 43$ .

**Figura 19.** Espectro de massa do  $\gamma$ -Terpineno.



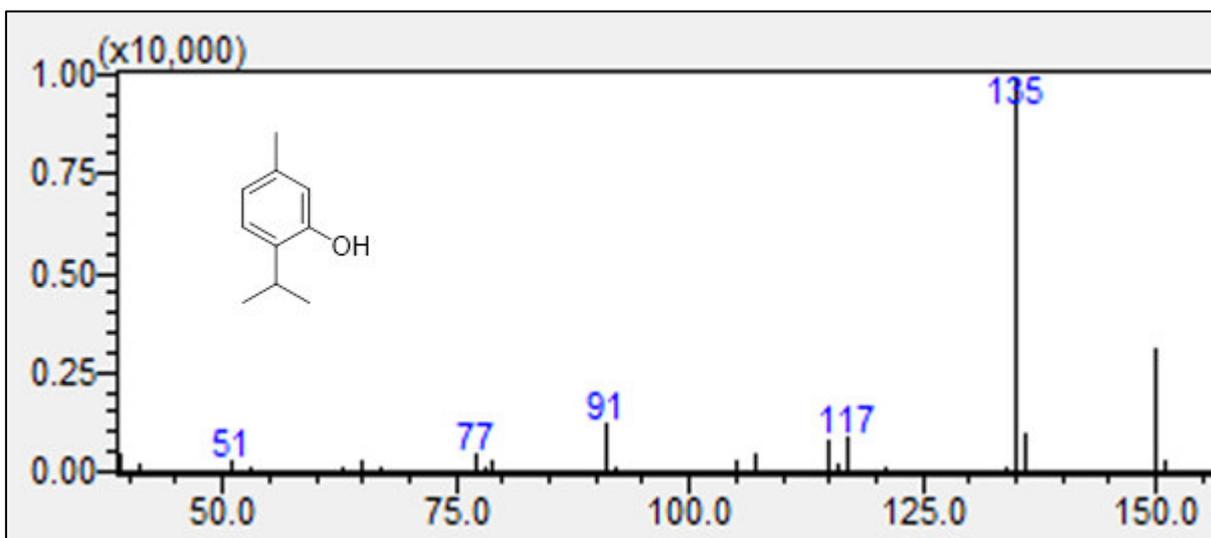
O sexto composto é o terpinen-4-ol e apresenta um espectro de massa com um íon molecular em  $m/z = 154$  (Figura 20), que apresenta uma perda de 43 Da e pode referir-se a perda de propila através de uma clivagem- $\alpha$  formando o fragmento em  $m/z = 111$ . Segue-se uma perda de 18 Da, e geralmente é referente a perda de água, formando o fragmento em  $m/z = 93$ . Já o pico base é o  $m/z = 71$ .

**Figura 20.** Espectro de massa do terpinen-4-ol.



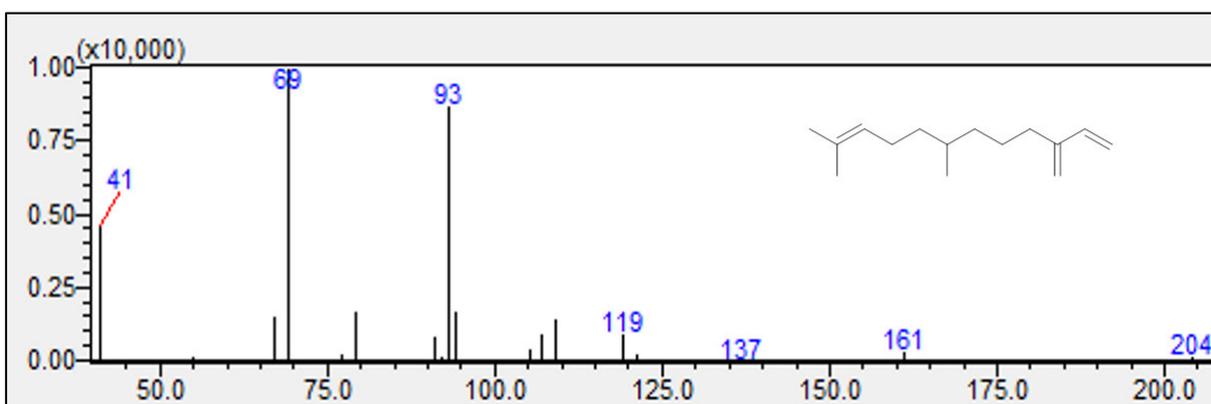
Na Figura 21, temos o espectro de massa do timol. Este espectro apresenta o íon molecular  $m/z = 150$  e perda de 15 Da, referente ao radical  $-CH_3$ , gerando o pico base  $m/z = 135$ . Há também perda de água que pode ser percebido pela perda de mais 18 Da, gerando o fragmento  $m/z = 117$ .

**Figura 21.** Espectro de massa do timol.



O último composto a ser elucidado é o  $\beta$ -Farneceno (Figura 21). Este composto apresenta íon molecular em  $m/z = 204$  e sucessivas clivagens simples devido a sua estrutura de longa cadeia hidrocarbônica alifática. Obtendo fragmentos em  $m/z = 161$ ,  $m/z = 137$ ,  $m/z = 119$ ,  $m/z = 93$ ,  $m/z = 41$  e o pico base em  $m/z = 69$ .

**Figura 22.** Espectro de massa do  $\beta$ -Farneceno.



A tabela 4, mostra a composição do óleo essencial obtido por CG-EM. O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* é rico em Timol, que apresenta diversas características de atividade biológica de interesse [95]. Também é rico em *m*-cimeno e  $\gamma$ -terpineno. A composição dos constituintes majoritários está de acordo com a literatura descrita por Lima 2018 [67], mais os demais constituintes apresentam diferenças significativas, podendo ser descrita como uma nova descoberta de composição para o *Ocimum gratissimum* que pode mudar dependendo da região e período da coleta.

A composição do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* também pode alterar dependendo do local de coleta. Trabalhos em que o *Ocimum gratissimum* foi coletado no estado do Maranhão, tiveram como composto majoritário o timol. Já plantas de *Ocimum gratissimum* oriundas do país africano do Quênia e do estado brasileiro de São Paulo, apresentaram como constituinte majoritário o eugenol. A composição dos óleos essenciais é complexa e varia dependendo da região e/ou da sazonalidade, no entanto, composições de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, geralmente, apresentam o timol, eugenol e carvacrol como compostos majoritários [67].

A tabela 4 também apresenta uma comparação da composição do óleo essencial obtido com a literatura.

**Tabela 4.** Comparação de diferentes trabalhos de estudo da composição do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Constituintes	Composição de cada constituinte (%)			
	Este trabalho	Lima 2018 (67)	Dambolena 2010 (96)	Freire 2006 (77)
timol	<b>36,69*</b>	<b>33,4 – 47,9*</b>	-	-
$\gamma$ -terpineno	29,08	26,2 – 36,8	-	-
<i>m</i> -cimeno	21,31	-	-	-
$\alpha$ -felandreno	5,20	0,2 – 0,4	-	-
$\beta$ -pineno	3,02	-	0,84 – 2,61	-
$\alpha$ -terpineno	3,17	1,9 – 2,4	-	-
$\beta$ -farneseno	0,95	-	-	-
terpinen-4-ol	0,58	0,3 – 0,5	-	0 – 0,6
eugenol	-	-	<b>44,89 – 56,10*</b>	<b>33,2 – 95,5*</b>
<i>p</i> -cimeno	-	4,3 – 17,0	-	0 – 0,8
$\alpha$ -tujeno	-	1,6 – 4,0	-	-
mirceno	-	1,6 – 4,4	0,15 – 0,92	-
$\beta$ -ocimeno	-	0 – 0,1	0,2 – 34,1	-
cânfora	-	-	1,9 – 8,5	-
linalool	-	-	0,9 – 7,5	1,06 – 1,80
$\alpha$ -humuleno	-	0,1 – 0,2	1,0 – 11,9	0,28 – 0,80
viridifloreno	-	0,2 – 0,7	0 – 2,5	-
$\beta$ -bisaboleno	-	-	0 – 10,2	-
$\gamma$ bisaboleno	-	-	0 – 6,9	-
farnesol	-	-	0 – 5,5	-
1,8-cineol	-	-	-	16,83 – 33,67
$\alpha$ -terpineol	-	0 – 0,1	-	0,95 – 1,61
E-cariofileno	-	0,7 – 2,3	0,3 – 2,2	1,41 – 5,29
germacrene D	-	0,1 – 0,2	-	0,95 – 2,42
$\alpha$ -selineno	-	-	-	0,9 – 2,29
$\beta$ -selineno	-	0,9 – 2,1	-	2,69 – 7,21

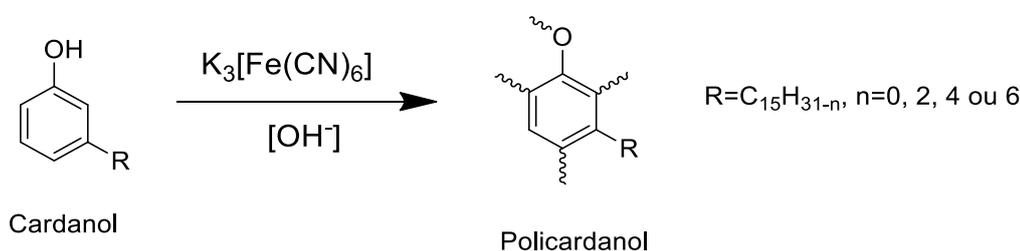
\* Constituinte majoritário em cada composição.

### 5.3. Obtenção e Caracterização das Microcápsulas à base de Cardanol

As microcápsulas foram obtidas pela polimerização em emulsão do cardanol usando o ferricianeto de potássio como iniciador da reação. Foi utilizado também o *m*-Cresol como monômero sintético na copolimerização com o cardanol, apresentando material de base natural e não-natural para fins comparativos.

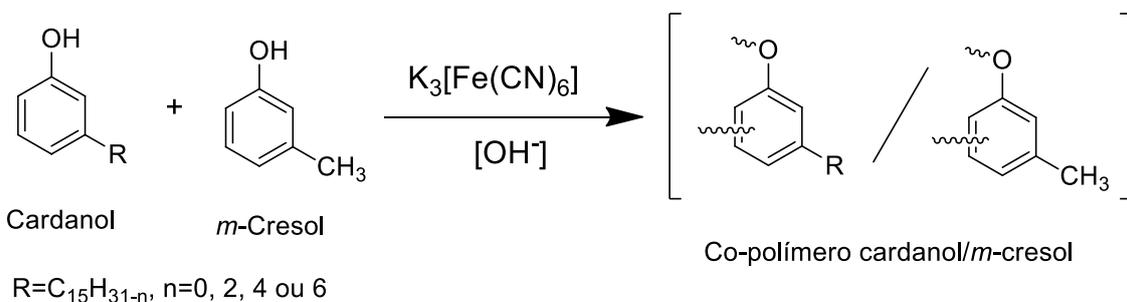
As figuras 23 e 24, mostram as propostas de reações de polimerização oxidativa que ocorre na microencapsulação. O cardanol, quando oxidado, forma o radical fenoxil, que apresenta um elétron desemparelhado, que é estabilizado por ressonância do anel aromático. Este fenoxil pode atacar outras moléculas de monômero através de acoplamento C-O-C na hidroxila do anel aromático e acoplamentos C-C nas posições *orto*, e *para* devido à ressonância, dando início sucessivas reações em cadeia. O pH alcalino é necessário na reação, pois ajuda na redução do potencial de oxidação de compostos fenólicos, o que facilita a polimerização com a utilização de oxidante forte para iniciar a reação [50].

**Figura 23.** Polimerização oxidativa do cardanol.



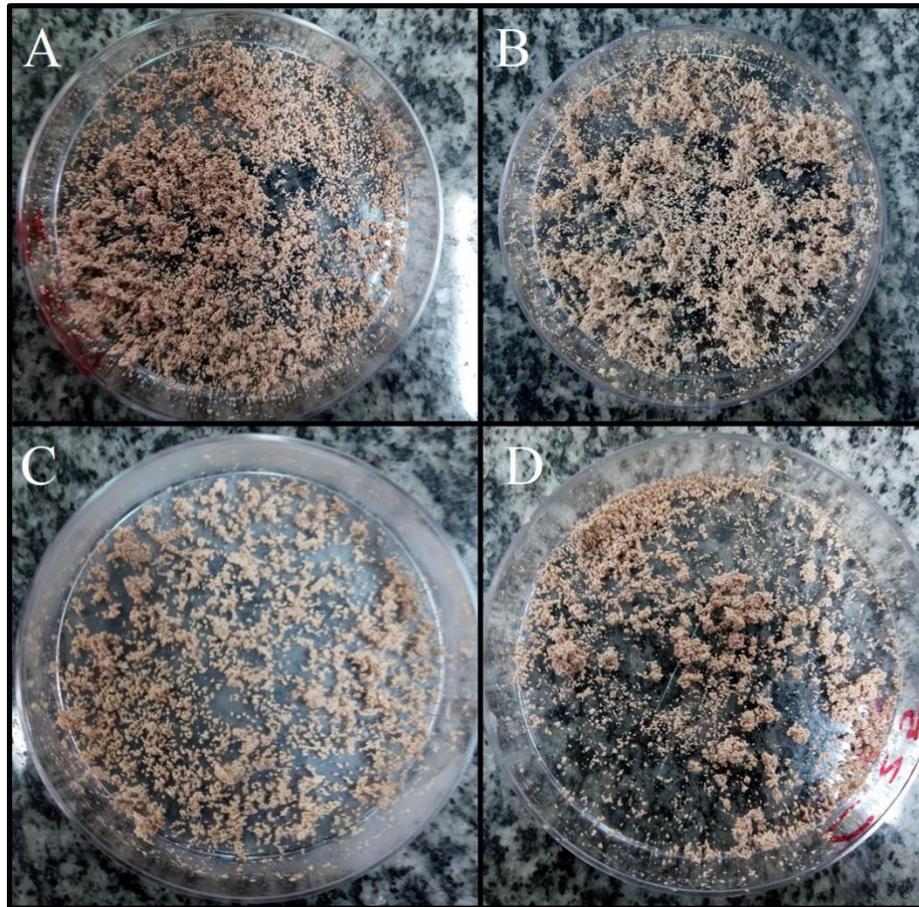
Fonte: Ravichandran 2011 [50].

**Figura 24.** Proposta de copolimerização do cardanol e *m*-cresol por polimerização oxidativa.



A polimerização ocorreu sem a necessidade de aquecimento. A reação é favorável e ocorre em baixo tempo de reação. O produto obtido foi um sólido marrom claro com baixa granulométrica (Figura 25). O polímero obtido apresenta um rendimento de cerca de 90% e as microcápsulas apresentaram odor característico do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

**Figura 25.** Microcápsulas obtidas. A) C0; B) C75; C) C50; D) C25.



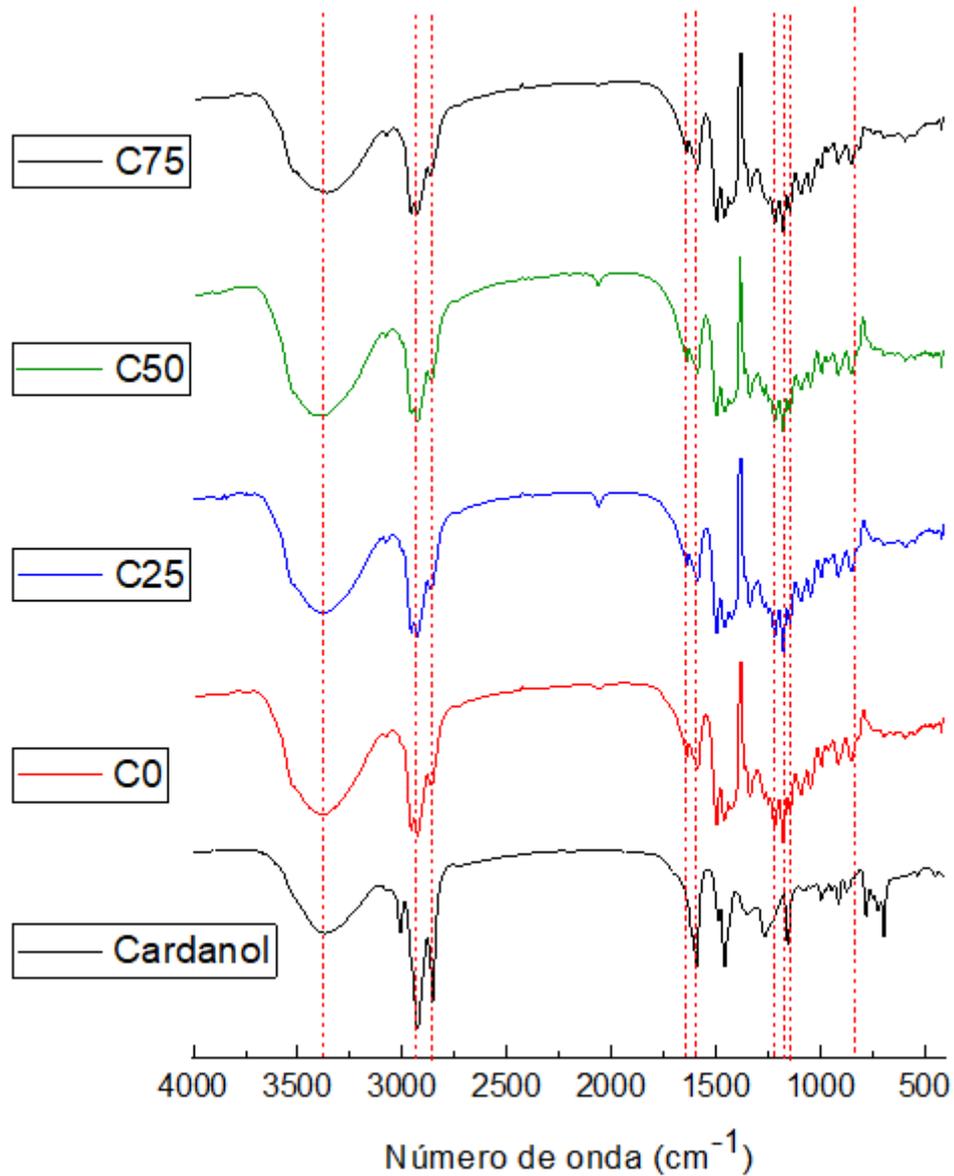
### 5.3.1. Caracterização por FTIR

Foi realizado a análise de FTIR a fim de elucidar bandas características do polímero formado (Figura 26), para isto, foram utilizadas apenas a casca das microcápsulas (material polimérico sem a presença do óleo essencial), fim de analisar apenas o polímero de revestimento.

O espectro apresenta bandas características em 2950 e 2850  $\text{cm}^{-1}$ , referente ao estiramento  $-\text{CH}_2$  e  $-\text{CH}_3$  da cadeia lateral alifática, esta banda é menor que no cardanol, o que pode acarretar uma possível reação nestes sítios presentes no cardanol. É possível também notar a diminuição significativa na banda de 1590  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento  $\text{C}=\text{C}$  do anel aromático, o que pode indicar uma substituição no anel. Em 3400  $\text{cm}^{-1}$ , há uma banda forte correspondente ao estiramento  $-\text{OH}$ , presente também no espectro do cardanol, o que pode indicar uma menor reação de substituição na hidroxila fenólica e que a polimerização possa estar ocorrendo,

preferencialmente, com substituições no anel aromático (*orto* e *para* em relação à hidroxila) e na cadeia alifática [50].

**Figura 26.** Espectro FTIR das microcápsulas produzidas, sem a presença do óleo essencial.



Nos espectros dos polímeros, aparecem bandas típicas do policardanol, entre 1150-1242  $\text{cm}^{-1}$ , que correspondem a vibrações C-O-C e/ou C-OH [97]. A banda presente em 868  $\text{cm}^{-1}$  também indica uma substituição no anel aromático. Já a banda que surge em 1618  $\text{cm}^{-1}$ , é correspondente ao estiramento C-O.

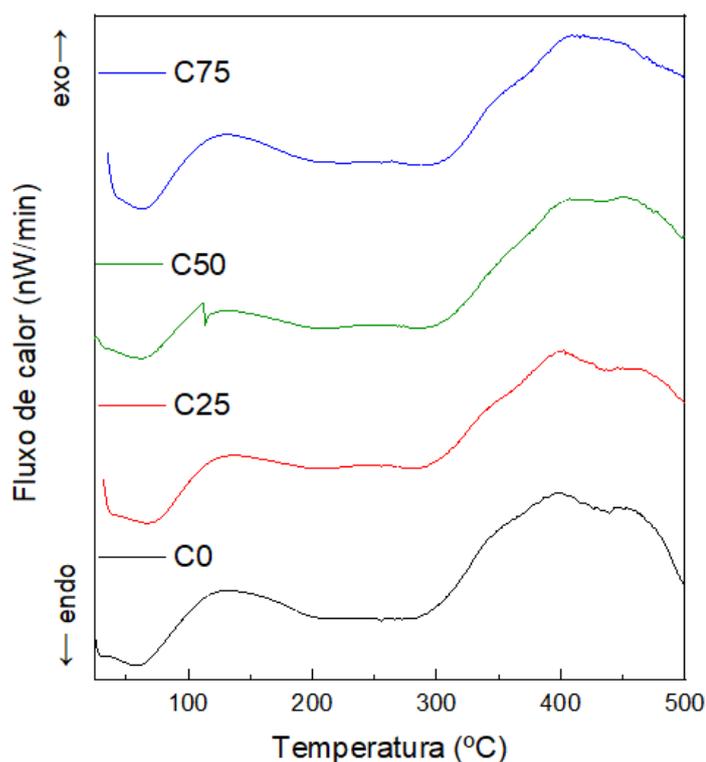
A Tabela 5 mostra as atribuições correspondentes as bandas características das microcápsulas.

**Tabela 5.** Bandas características das microcápsulas e suas atribuições.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3400	Estiramento OH
2950 e 2850	Estiramento de CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub>
1590	Estiramento C=C do anel aromático
1115-1242	Vibrações C-O-C e/ou C-OH
868	Substituição no anel aromático
1618	Estiramento C-O

### 5.3.2. Caracterização por DSC

A análise de DSC das microcápsulas está representado na Figura 27. A curva de DSC mostra três picos, o primeiro endotérmico e o segundo e terceiro exotérmicos. O primeiro pico endotérmico ocorre de 25 até 90 °C, com pico máximo em 60°C. Este evento ocorre pela autorreticulação do polímero que ocorre em derivados do cardanol devido à presença de insaturações em sua cadeia lateral alifática, possibilitando a formação de ligações cruzadas [98].

**Figura 27.** Curvas de DSC das microcápsulas.

O segundo evento é um pico exotérmico que se inicia em 90 °C e termina em 200 °C, com pico máximo em aproximadamente 130 °C. Este evento é descrito como a cura térmica que ocorre em polímeros de cardanol quando expostos a temperaturas acima de 100 °C [99]. O segundo evento exotérmico inicia-se em 300 °C e tem pico máximo entre 390-450 °C, que corre devido a degradação das microcápsulas.

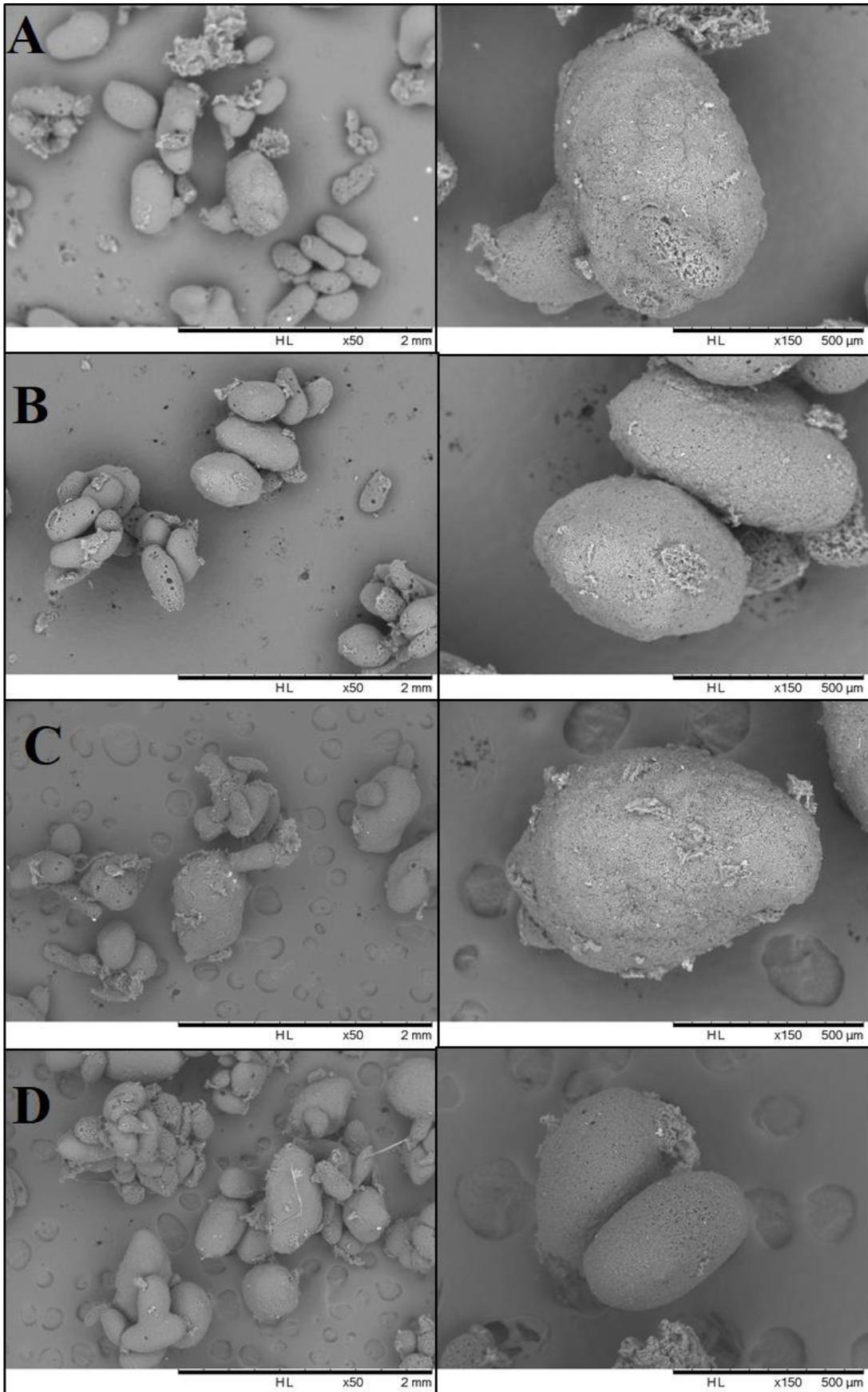
### 5.3.3. *Imagens Morfológicas por MEV*

Com o objetivo de observar a morfologia das microcápsulas foi utilizado a análise MEV em diferentes resoluções. A Figura 28 mostra as imagens obtidas por MEV nas resoluções de 50x e 150x. As microcápsulas apresentam formato irregular e de tamanhos distintos. A microencapsulação formou micropartículas unitárias e desaglutinadas, no entanto, parte das partículas se romperam durante o processo de microencapsulação. Pode-se notar, também, a presença de fissuras nas paredes das microcápsulas, o que pode indicar uma possível má formação durante a microencapsulação.

As partículas apresentam tamanhos variados, com partículas acima de 500 µm, o que é um bom resultado visto que microcápsulas muito pequenas podem acabar aprisionadas e drenadas por superfícies muito porosas (como o solo), podendo não desempenhar a ação biológica de maneira eficaz.

O MEV indica que as microcápsulas são do tipo matriz polimérica [27], onde a partícula é constituída por um polímero reticulado carregado pelo bioativo que permanece disperso dentro do polímero. Geralmente, este tipo de material possui uma liberação do núcleo mais lenta e possibilita um maior revestimento do bioativo. A desvantagem desse tipo de microcápsula é a possibilidade de requerer mecanismos externos, como, por exemplo, a intumescência, para que haja liberação do bioativo, no entanto, aplicações que visão sua utilização em tratamento acaricida pode ser modificada para que esta desvantagem não seja remediada.

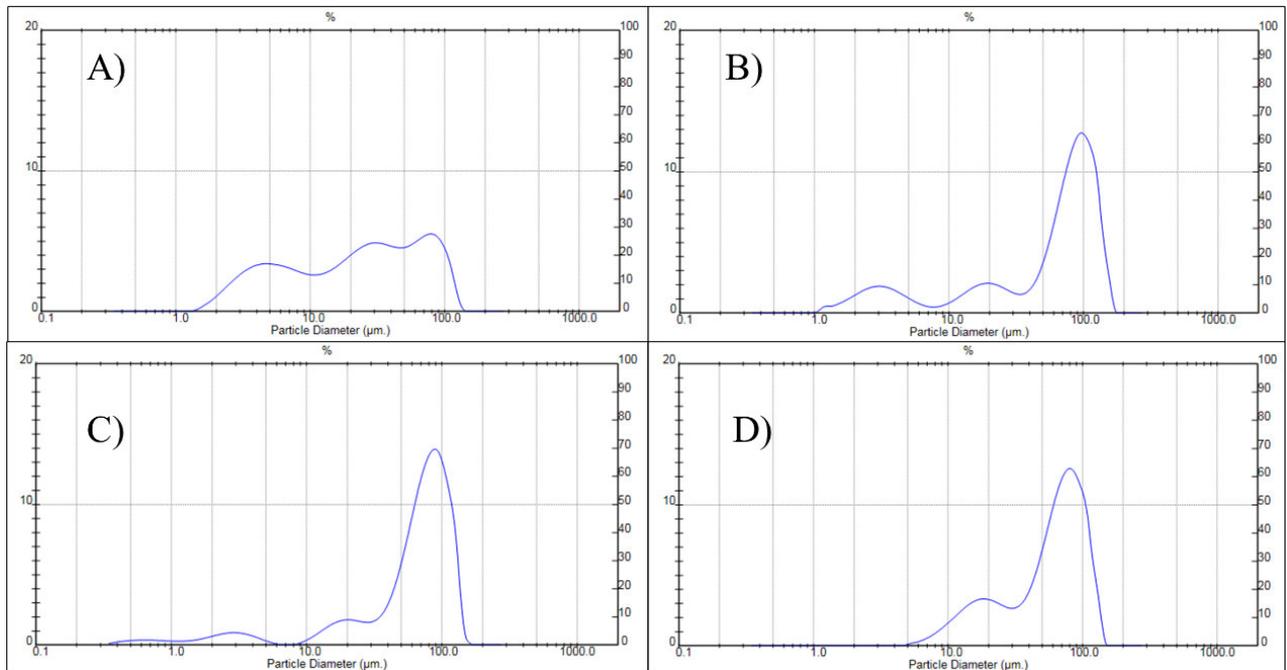
**Figura 28.** Imagens obtidas por MEV das microcápsulas nas resoluções de 50x (primeira coluna) e 150x (segunda coluna). A) C0; B) C25; C) C50; D) C75.



### 5.3.4 Distribuição do Tamanho de Partícula

A distribuição do tamanho de partícula das microcápsulas foi obtida através do analisador de tamanho de partícula por difração a laser Malvern MasterSizer 2000. A Figura 29 mostra a distribuição do tamanho de partícula das microcápsulas produzidas e a tabela 4 mostra os valores de distribuição  $D(v, 0,1)$ ,  $D(v, 0,5)$  e  $D(v, 0,9)$ , que representam o diâmetro médio de das menores partículas em 10, 50 e 90%, respectivamente, e o valor do diâmetro médio das partículas, representado por  $D(4,3)$ .

**Figura 29.** Distribuição do Tamanho de Partículas das microcápsulas produzidas. A) C0; B) C25; C) C50; D) C75.



As micropartículas foram obtidas com diâmetro volumétrico médio de 34,70, 68,07, 68,74 e 62,07  $\mu\text{m}$  para as microcápsulas C0, C25, C50 e C75, respectivamente. As microcápsulas com 100% de monômeros de cardanol (C0) tiveram um diâmetro volumétrico médio menor que as microcápsulas copolimerizadas com *m*-cresol, o que pode indicar uma influência do *m*-cresol na formação de partículas maiores.

As microcápsulas C0 apresentaram menor uniformidade na formação das partículas, com variações maiores de tamanhos. Isto pode ser confirmado pelos valores de polidispersibilidade (span) apresentado pela Tabela 6, que é definida como a medida da largura da distribuição. As microcápsulas C0 possui um span de 3,347, mais altas que para as

microcápsulas C25, C50 e C75, com span de 1,623, 1,409 e 1,437, respectivamente. Quanto mais estreita for a distribuição, menor será o valor de span.

**Tabela 6.** Valores de Distribuição do Tamanho de partículas das microcápsulas.

Amostra	Diâmetro volumétrico médio das partículas (µm)				Polidispersidade (span)
	D (v, 0,1)	D (v, 0,5)	D (v, 0,9)	D (4,3)	
<b>C0</b>	3,66	24,36	85,18	34,70	3,347
<b>C25</b>	3,77	73,61	123,21	68,07	1,623
<b>C50</b>	13,56	71,97	115,00	68,74	1,409
<b>C75</b>	15,45	63,35	106,46	62,07	1,437

Os valores de diâmetro volumétrico para as 10% menores partículas sugerem maiores tamanhos à medida que se aumenta a proporção de *m*-cresol na copolimerização. Em D (v, 0,5) e D (v, 0,9), os valores são próximos para as microcápsulas C25, C50 e C75, assim como também os valores de span, com C50 apresentando uma distribuição mais uniforme.

#### 5.4. Quantidade de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* encapsulado

A quantidade de óleo essencial encapsulado pelo processo de microencapsulação foi determinada pela extração por solvente utilizando um extrator do tipo soxhlet. Neste experimento as microcápsulas foram pesadas e seladas em um envelope de papel filtro. Foi utilizado o etanol com agente extrator a uma temperatura de 70-80 °C pelo período de 8 horas. Ao final do processo de extração as microcápsulas foram secas em estufa por 24 horas. Por fim o material foi novamente pesado. A equação 2 (seção 4.6) foi utilizada para calcular a quantidade de óleo essencial encapsulado. A tabela 7 mostra os valores obtidos para cada amostra, assim como também, dados obtidos da literatura de quantidade de óleo encapsulado.

O percentual de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* incorporado nas microcápsulas C0, C25, C50 e C75, foi, respectivamente, 52,87, 52,37, 40,66 e 53,28%. Estes valores são semelhantes com os obtidos por Fernandes et al. (2014) [100], que obteve um percentual de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* incorporado de 56,83%, utilizando goma arábica como polímero encapsulante, e 56,79%, quando encapsulado com amido modificado. Dados de percentuais mais baixos e mais altos também foram observados na literatura, como na

encapsulação de óleo essencial de *Zingiber officinale*, incorporada com goma de caju, que obteve 28,05% de incorporação [101], ou, na encapsulação de óleo essencial de *Pimenta dioica* com quitosana, que obteve percentual de óleo essencial incorporado de 98,31%.

**Tabela 7.** Percentual de óleo essencial incorporado às microcápsulas obtidas, comparados com valores obtidos da literatura.

<b>Material encapsulante</b>	<b>Óleo essencial encapsulado</b>	<b>Quantidade de óleo essencial incorporado (%)</b>	<b>Referência</b>
Cardanol (C0)		52,87	
Cardanol/ <i>m</i> -Cresol (C25)	<i>Ocimum</i>	52,37	Autor
Cardanol/ <i>m</i> -Cresol (C50)	<i>gratissimum</i>	40,66	
Cardanol/ <i>m</i> -Cresol (C75)		53,28	
Goma arábica	<i>Rosmarinus</i>	56,83	Fernandes et al., 2014 [100]
Amido modificado	<i>officinalis</i>	56,79	
Goma de Caju	<i>Zingiber officinale</i>	28,05	Fernandes et al., 2016 [101]
Quitosana	<i>Pimenta dioica</i>	98,31	
			Dima et al., 2014 [102]

### 5.5. Estudo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

Uma das formas mais utilizadas para o controle de carrapatos é a pulverização de acaricida no hospedeiro. Este processo de pulverização inicia-se pelo preparo de uma solução (geralmente aquosa) de acaricida em uma medida que é previamente indicada na bula do produto. Essa solução é então diluída em um volume maior de água correspondente ao tanque do pulverizador e homogeneizada para, então, ser aplicada no animal [103].

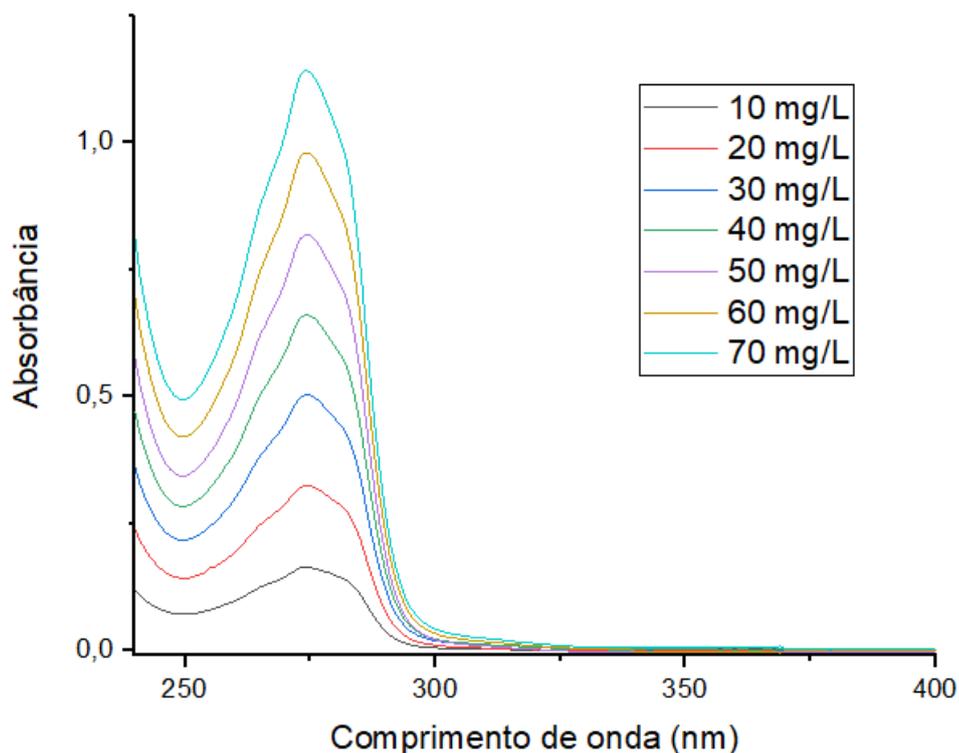
Pensando nisto, foram desenvolvidas microcápsulas carregadas com um bioativo com atividade carrapaticida, a fim de serem utilizadas no tratamento de carrapatos. Para tal, as microcápsulas precisariam de um meio de liberação, como por exemplo, o etanol, que possui a capacidade de extrair o bioativo do núcleo das microcápsulas. Como o etanol não é um solvente tóxico, este pode ser utilizado como meio de liberação das microcápsulas, e, conseqüentemente, a mistura pode ser diluída em água para a pulverização dos animais infectados com carrapatos.

Com isso foi feito um estudo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* em meio etanólico, a fim de conhecer seu perfil de liberação neste meio.

### 5.5.1. Construção da curva analítica

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* apresenta absorção na faixa do ultravioleta com uma absorbância máxima de 274 nm. Foi então construída uma curva analítica da absorbância versus comprimento de onda de uma solução de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* em etanol. As concentrações utilizadas foram: 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 mg/mL. A Figura 30 mostra os espectros de absorbância do óleo essencial para cada concentração.

**Figura 30.** Espectro de absorção do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* em diferentes concentrações.



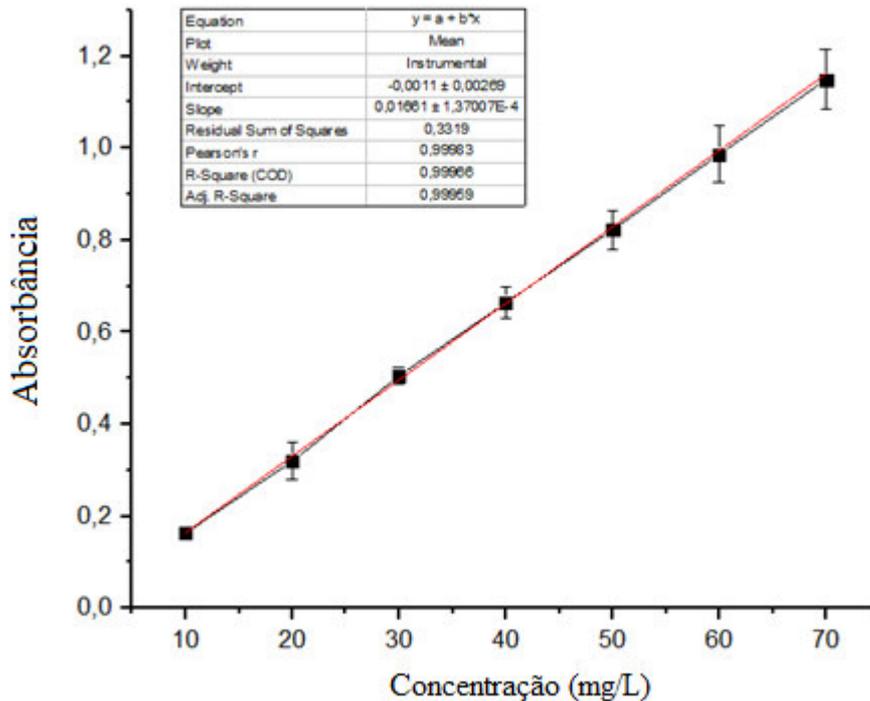
Com base no espectro de absorbância do óleo essencial foi construída a curva analítica a partir dos valores de absorção máxima em 274 nm. A Figura 31 mostra a curva analítica para o óleo essencial de *Ocimum gratissimum*. O coeficiente de correlação da curva é  $R^2=0,99959$ ,

o coeficiente linear é  $b=-0,0011$  e o coeficiente angular é  $a=0,01661$ . A equação da reta é dada por:

$$\text{Equação 6: } Abs = (-0,001) + 0,01661.C$$

Onde Abs é a absorbância do óleo essencial na concentração C.

**Figura 31.** Curva analítica do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

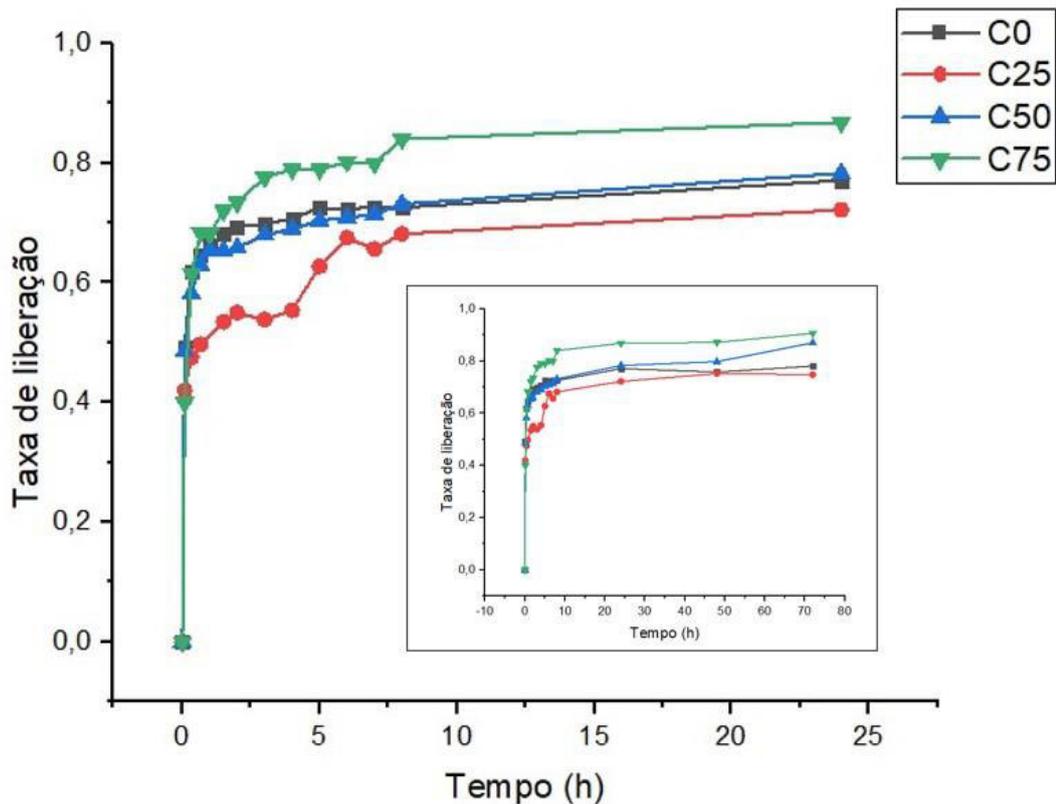


### 5.5.2. Cinética de liberação

A liberação do óleo essencial ocorreu em contato com o solvente etanol e as medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV-vis no comprimento de onda de 274 nm. A taxa de liberação foi calculada com base na Equação 6. A Figura 32 mostra as curvas de liberação do óleo essencial. As medidas foram feitas em intervalos definidos durante até 72 horas, período em que as microcápsulas já atingiram o máximo da sua liberação.

As microcápsulas liberaram cerca de 40% do óleo essencial nos primeiros 5 minutos, isto pode indicar que parte do óleo essencial estava retido superficialmente nas microcápsulas. A partir dos primeiros 5 minutos ocorre uma liberação controlada do óleo essencial, liberando à uma taxa gradual por 8 horas. Após as primeiras 24 horas a taxa de liberação se mantém constante.

**Figura 32.** Curvas de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.



Para a determinação do mecanismo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* das microcápsulas, os dados experimentais foram ajustados com diferentes equações cinéticas. Neste estudo, os modelos de primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas foram usados para avaliar o comportamento de liberação do óleo essencial. A tabela 8 mostra as constantes e o coeficiente de correlação ( $R^2$ ) dos modelos utilizados. Considerando os valores de  $R^2$  o modelo Korsmeyer-Peppas (com  $R^2 > 0,9$ ) é o mais apropriado para explicar a cinética de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

**Tabela 8.** Constantes cinéticas do perfil de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* a partir de microcápsulas obtidas.

Amostra	Primeira ordem		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	$R^2$	K	$R^2$	K	$R^2$	K	n
<b>C0</b>	0,07286	-0,01574	-1,9757	0,52534	0,98645	0,8038	0,06459
<b>C25</b>	0,46675	-0,00791	-8,7452	0,42442	0,90814	0,72347	0,10009
<b>C50</b>	0,11221	-0,01757	-1,7486	0,52176	0,99297	0,79154	0,07336
<b>C75</b>	0,13036	-0,01937	-0,9817	0,00010	0,96132	0,81627	0,10412

Com a aplicação desse modelo, foi possível a obtenção dos parâmetros K e n, que correspondem à constante que incorpora as modificações estruturais e as características geométricas do sistema e o expoente de liberação difusional, relacionado ao mecanismo de liberação. Peppas (1985) [104] utilizou o valor de n para caracterizar diferentes mecanismos de liberação. O valor de n é menor que 0,45 para processos controlados por difusão (modelo de Fick), enquanto valores de n entre 0,45-0,89 indica transporte não-Fickiano e n maior que 0,89 representa mecanismo de erosão.

Com o exposto, pode-se afirmar que o mecanismo de liberação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* a partir das microcápsulas a base de cardanol ocorre por difusão Fickiana, onde a taxa de difusão é muito mais lenta que o tempo de relaxação da cadeia polimérica. Esse tempo de relaxação é o tempo que a cadeia leva para se acomodar, ou seja, entrar em equilíbrio com a presença do soluto ou do solvente [105].

## 5.6. Teste de Imersão de Larvas

A fim de avaliar a atividade biológica do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, foi realizado o Teste de Imersão de Larvas com a espécie de carrapato *Rhipicephalus microplus*, popularmente conhecido como carrapato-de-boi. As larvas de carrapatos foram imersas em solução de 1% de solução de etanol e 0,02% de Triton X-100 em concentrações diferentes de óleo essencial (dez ao todo) que parte 5,00 a 0,36 mg/mL, com fator de diluição de 25%. As larvas ficaram imersas na solução por 10 minutos e em seguida foram colocadas em envelopes de papel, lacradas e depois encubadas por 24 horas. No dia seguinte foi contabilizado a quantidade de larvas mortas e vivas. A Tabela 9 mostra os dados da atividade larvicida do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, onde o CI<sub>50</sub> é a concentração (mg/mL) capaz de matar 50% das larvas de *Rhipicephalus microplus*, IC<sub>95</sub> é o intervalo de confiança de 95% e R<sup>2</sup> o coeficiente de correlação.

**Tabela 9.** Atividade larvicida do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* em larvas de *Rhipicephalus microplus*.

CI <sub>50</sub> (mg/mL)	IC <sub>95</sub>	R <sup>2</sup>
2,377	2,261-2,498	0,976

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* obteve uma atividade em larvas de carrapatos de  $CI_{50}=2,377$  mg/mL, indicando ter efeito acaricida nestas espécies. Outros trabalhos obtiveram valores de  $CI_{50}$  de 0,84 a 2,57 mg/mL com o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* nas mesmas condições de análise [13,67,80], o que reforça a ação acaricida deste bioativo. A atividade biológica do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* é atribuída à aos compostos timol, eugenol, carvacrol,  $\gamma$ -Terpineno e *p*-Cymeno que estão presentes no óleo essencial, comumente, como compostos majoritários.

As microcápsulas contendo o bioativo não foram empregadas no Teste de Imersão de Larvas por não haver um meio e tempo adequado para que haja liberação do óleo essencial e, conseqüentemente, o contato com as larvas durante o procedimento. Com isso, foi avaliado o potencial carrapaticida do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (sem a formulação) visando reforçar seu uso como bioativo encapsulado para aplicações em tratamentos contra carrapatos.

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, mostra-se uma grande alternativa para o controle de carrapatos, como substituinte de práticas de controles mais agressivas ao ambiente. Aliado a tecnologia de microencapsulação, o óleo essencial pode ter uma aplicação mais eficaz, otimizando a atividade biológica e diminuindo as desvantagens de sua utilização como biopesticidas.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi relatado neste trabalho o desenvolvimento de um novo material composto de materiais de origem natural e renovável. Foram obtidos microcápsulas a base de cardanol carregadas de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, um bioativo com propriedades biopesticidas. Estas microcápsulas apresentaram morfologia irregular, porém em unidades bem definidas.

O óleo essencial foi encapsulado com sucesso e o seu rendimento foi satisfatório, com um percentual de óleo incorporado de 40,66 a 53,28%. O estudo de liberação também foi satisfatório, com uma liberação inicial rápida seguido de uma liberação gradual por oito horas e o mecanismo de liberação identificado foi de difusão Fickiana.

As diferenças entre as microcápsulas foram poucas, porém a microcápsula C25 apresentou bons resultados de encapsulação e melhor perfil de liberação, indicando ter um maior potencial para aplicação. No entanto, é de se considerar uma abordagem mais sustentável visto que a microcápsula C0 apresentou propriedades semelhantes.

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* apresentou atividade larvicida em carrapatos da espécie *Rhipicephalus microplus*, indicando ser um promissor biopesticidas no combate a carrapatos. A microencapsulação deste óleo essencial, produziu microcápsulas capazes de incorporar e liberar o óleo essencial em meio etanólico, abrindo a possibilidade de aplicação desta tecnologia em tratamentos de pulverização em animais afetados pelos carrapatos e otimizando a ação do bioativo no ambiente.

## REFERÊNCIAS

1. **Peter, R. J., et al.** Tick, fly, and mosquito control--lessons from the past, solutions for the future. *Veterinary Parasitology*. 2005, Vol. 132, 3-4, pp. 205-215.
2. **Parola, P. e Raoult, D.** Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*. 2001, Vol. 32, 6, pp. 897–928.
3. **Castro, Julio J. de.** Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Veterinary Parasitology*. 1997, Vol. 71, 2-3, pp. 77-97.
4. **Higa, Leandro de Oliveira Souza, et al.** Controle do carrapato-do-boi por meio de acaricidas. [A. do livro] R. Andreotti, M. V. Garcia e W. W. Koller. *Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos*. s.l. : Embrapa Gado de Corte, 2019.
5. **Ghosh, Srikant e Nagar, Gaurav.** Problem of ticks and tick-borne diseases in India with special emphasis on progress in tick control research: A review. *Journal of Vector Borne Diseases*. 2014, Vol. 51, 4.
6. **Kunz, S. E. e Kemp, D. H.** Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Science Technical Office International Epizootology*. 1994, Vol. 1, 3, pp. 1249-1286.
7. **Hubert, Jan, Münzbergová, Zuzana e Santino, Angelo.** Plant volatile aldehydes as natural insecticides against stored-product beetles. *Pest Management Science*. 2008, Vol. 64, 1, pp. 57–64.
8. **Ootani, Marcio Akio, et al.** Use of Essential Oils in Agriculture. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2013, Vol. 4, 2, pp. 162-174.
9. **Mossa, Abdel-Tawab H.** Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-pest Management. *Journal of Environmental Science and Technology*. 2016, Vol. 9, 5, pp. 354-378.
10. **Hanif, Muhammad Asif, et al.** Essential Oils. [A. do livro] Sonia Malik. *Essential Oil Research*. s.l. : Springer, 2019, pp. 3-17.
11. **De La Rosa, Laura A., Alvarez-Parrilla, Emilio e Gonzalez-Aguilar, Gustavo A.** Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value and Stability. s.l. : Wiley-Blackwell, 2010.
12. **Pavela, Roman e Benelli, Giovanni.** Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*. 2016, Vol. 21, 12, pp. 1000-1007.
13. **Hüe, T, et al.** Insecticide resistance in Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Parasitology Research*, 2015, Vol. 14, 1, pp. 91-99.
14. **Lammari, Narimane, et al.** Plant oils: From chemical composition to encapsulated form use. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021, Vol. 601.
15. **Esfanjani, Afshin Faridi e Jafari, Seid Mahdi.** Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerface*. 2016, Vol. 146, pp. 532-543.

16. **Gandhi, Tejas, Patel, Mayank e Dholakiya, Bharat kumar.** Studies on effect of various solvents on extraction of cashew nut shell liquid (CNSL) and isolation of major phenolic constituents from extracted CNSL. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 2012, Vol. 2.
17. **Balachandran, Vijai Shankar, et al.** Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. *Chemical Society Reviews*. 2013 Vol. 42, pp. 427--438.
18. **Kokil, Akshay, et al.** Horseradish Peroxidase Catalyzed Synthesis of Polycardanol Microcapsules. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*. 2001 Vol. 48, pp. 1004–1008.
19. **Hedaoo, Rahul Kishore e Gite, Vikas Vitthal.** Renewable resource-based polymeric microencapsulation of natural pesticide and its release study: an alternative green approach. *RSC Advances*, 2014, Vol. 4, pp. 18637-18644.
20. **Chung, Seong Kyun, et al.** Microencapsulation of Essential Oil for Insect Repellent in Food Packaging System. *Journal of food science*, 2013, Vol. 78, 5, pp. E709-E714.
21. **Chen, Lei, et al.** A review on advanced microencapsulation technology to enhance bioavailability of phenolic compounds: Based on its activity in the treatment of Type 2 Diabetes. *Trends in food science & technology*, 2019, Vol. 85, pp. 149-162.
22. **Lakkis, Jamileh M.** *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. 1<sup>a</sup>. Victoria : Blackwell Publishing, 2007.
23. **Xu, Binkai, Liu, Xiangdong e Zhou, Bo.** Calculation Methods of Solution Chemical Potential. 10, 2021, *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2021, Vol. 26, 10, p. 2991.
24. **Fang, Z. e Bhandari, B.** Encapsulation of polyphenols: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, Vol. 21, 10, pp. 510-523.
25. **Estevinho, B., et al.** Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications - a review. *Trends in Food Science & Technology*, 2013, Vol. 31, 2, pp. 138-155.
26. **Azeredo, H. M. C.** Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. 1, 2005, *Alimentos e Nutrição*, 2005, Vol. 16, 1, pp. 89-95.
27. *Microencapsulação de culturas probióticas: princípios do método de spray drying.* **Nunes, Graciele Lorenzoni, et al.** 2015, *Ciência e Natura*, Vol. 37, pp. 132 – 141.
28. **Delmote, Josephine, et al.** Emulsion based microencapsulation of proteins in poly(L-lactic acid) films and membranes for the controlled release of drugs. *Polymer Degradation and Stability*, 2017, Vol. 146, pp. 24-33.
29. **Bakry, Amr M, et al.** Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications: Encapsulation of marine, vegetable, essential oils. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2016, Vol. 15, 1, pp. 43-182.
30. **Stratulat, Iulia, et al.** Enrichment of cheese with bioactive lipophilic compounds. *Journal of functional foods*, 2014, Vol. 6, pp. 48-59.

31. **Rouse, M., et al.** *Effect of oil based and microencapsulated omega-3 fatty acids on physical and chemical properties of processed cheese.* Milk Science International, 2012, Vol. 67, 13, pp. 267-269.
32. **Kupaei, M. A. e Garmakhany, A. D.** Effect of microencapsulated essential oils on the storage life of mango fruit (*Mangifera indica*. L, cv *Chaunsa*). Minerva Biotechnol, 2014 Vol. 26, pp. 49– 55.
33. **Specos, M. M. M., et al.** Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2010, Vol. 104, 10, pp. 653– 658.
34. **Rodrigues, Sofia N., et al.** Microencapsulation of Limonene for Textile Application. *Industrial & engineering chemistry research*, 2008, Vol. 47, 12, pp. 4142-4147.
35. **Hong, K. e Park, S.** Melamine resin microcapsules containing fragrant oil: synthesis and characterization. *Materials chemistry and physics*, 1999, Vol. 58, 2, pp. 128-131.
36. **Kim, In-Hah, et al.** Insect-Resistant Food Packaging Film Development Using Cinnamon Oil and Microencapsulation Technologies: Insect-resistant food packaging film. *Journal of food science*, 2013, Vol. 78, 2, pp. E229-E237 .
37. **Roy, Anamika, et al.** Controlled pesticide release from biodegradable polymers. Central European Journal of Chemistry, 2014, Vol. 12, 4, pp. 453-469.
38. **Lensen, Dennis, Vriezema, Dennis M. e van Hest, Jan C. M.** Polymeric Microcapsules for Synthetic Applications. *Macromolecular bioscience*, 2018, Vol. 8, 11, pp. 991-1005.
39. **Voirin, Coline, et al.** Functionalization of cardanol: towards biobased polymers and additives. *Polymer Chemistry*, 2014, Vol. 5.
40. **Moreira, Madiana Magalhães, et al.** Synthesis and characterization of a new methacrylate monomer derived from the cashew nut shell liquid (CNSL) and its effect on dentinal tubular occlusion. *Dental Materials*. 2018, Vol. 34, 8, pp. 1144-1153.
41. **Cardolite.** Cardolite Chemistry for Tomorrow. [Online] [Citado em: 20 de Agosto de 2021.] <https://www.cardolite.com/technology/>.
42. **Mazzetto, Selma Elaine, Lomonaco, Diego e Mele, Giuseppe.** Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*. 2009, Vol. 32, 3, pp. 732-741.
43. **Barbosa, Layla R., et al.** Unequivocal structural assignments of three cardanol derivatives: An experimental and theoretical approach. *Journal of molecular structure*. 2019, Vol. 1175, pp. 357-366.
44. **Bo, Caiying, et al.** Synthesis of a novel cardanol-based compound and environmentally sustainable production of phenolic foam. *Journal of materials science*. 2018, Vol. 53, 15, pp. 10784-10797.
45. **Carneiro, Elizabete Araújo, et al.** Síntese, caracterização e análise termogravimétrica de aditivo oriundo de fonte natural e renovável. *3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás*. 2005.

46. **Caillol, Sylvain.** Cardanol: A promising building block for biobased polymers and additives. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2018, Vol. 14, pp. 26-32.
47. **Wang, Jun., et al.** Synthesis and surface activity of biomass cardanol sulfonate surfactant. *Advanced Materials Research*. 2011, Vols. 183-185, pp. 1534-1538.
48. **Greco, Antonio, Ferrari, Francesca e Maffezzoli, Alfonso.** Effect of the epoxidation yield of a cardanol derivative on the plasticization and durability of soft PVC. *Polymer degradation and stability*. 2016, Vol. 134, pp. 220-226.
49. **Kim, Yong Hwan, et al.** Enzymatic epoxidation and polymerization of cardanol obtained from a renewable resource and curing of epoxide-containing polycardanol. *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*. 2007, Vol. 45, 1, pp. 39-44.
50. **Ravichandran, Sethumadhavan, et al.** A renewable waste material for the synthesis of a novel non-halogenated flame retardant polymer. *Journal of cleaner production*. 2011, Vol. 19, 5.
51. **Selvaraj, Vaithilingam, Raghavarshini, Thangavel Ravivarman e Alagar, Muthukaruppan.** Development and Characterization of Palm Flower Carbon Reinforced DOPO-Urea Diamine Based Cardanol Benzoxazine-Epoxy Hybrid Composites. *Polymer Engineering and Science*. 2020, Vol. 60, 4.
52. **Xu, Guo-mei, et al.** Preparation of a liquid benzoxazine based on cardanol and the thermal stability of its graphene oxide composites. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014, Vol. 131, 11, p. 40353.
53. **Andreotti, Renato, et al.** Controle de carrapatos em sistemas de produção de bovinos associado ao manejo nutricional no campo. [A. do livro] Renato Andreotti, Marcos Valério Garcia e Wilson Werner Koller. *Carrapatos na Cadeia Produtiva de Bovinos*. s.l. : Embrapa Gado de Corte, 2019.
54. **Pereira, Cíntia Alessandra Matiucci e Maia, June Ferreira.** Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). *Food Science and Technology*, 2007, Vol. 27, 3, pp. 624-632.
55. **Walker, Alan R.** Rhipicephalus microplus. *Wikipedia, the free encyclopedia*. [Online] Wikimedia Foundation, Inc. [Citado em: 25 de dezembro de 2021.] [https://en.wikipedia.org/wiki/Rhipicephalus\\_microplus](https://en.wikipedia.org/wiki/Rhipicephalus_microplus).
56. **Furlong, John.** *Carrapatos: problemas e soluções*. s.l. : Embrapa Gado de Leite, 2005.
57. **Koller, Wilson Werner, et al.** Resistência dos carrapatos aos acaricidas. [A. do livro] Renato Andreotti, Marcos Valério Garcia e Wilson Werner Koller. *Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos*. s.l. : Embrapa Gado de Corte, 2019.
58. **Wanzala, W. e Ogoma, S. B.** Chemical Composition and Mosquito Repellency of Essential Oil of *Tagetes minuta* from the Southern Slopes of Mount Elgon in Western Kenya. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2013, Vol. 16, 2, pp. 216 - 232.
59. **Seibe, James N., et al.** Biopesticides: state of the art and future opportunities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, Vol. 62, 48, p. 11613–11619.

60. **Sombra, Kássio E. S., et al.** Potential pesticide of three essential oils against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Chilean journal of agricultural research*, 2020, Vol. 80, 4, pp. 617-628.
61. **Bakkali, F., et al.** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, Vol. 46, 2, pp. 446-475.
62. **Wong, Colin, Crystal, Kylie e Coats, Joel.** Three molecules found in rosemary or nutmeg essential oils repel ticks (*Dermacentor variabilis*) more effectively than DEET in a no-human assay. *Pest Management Science*. 2021, Vol. 77, 3, pp. 1348-1354.
63. **Magano, Solomon R., Nchu, Felix e Eloff, Jacobus N.** In-vitro investigation of the repellent effects of the essential oil of *Lippia javanica* on adults of *Hyalomma marginatum rufipes*. *African Journal of Biotechnology*. 2011, Vol. 10, 44, pp. 8970-8975.
64. **Carroll, John F., et al.** Repellency of the *Origanum onites* L. essential oil and constituents to the lone star tick and yellow fever mosquito. *Natural Product Research*. 2017, Vol. 31, 18, pp. 2192–2197.
65. **Lwande, W., et al.** Gynandropsis gynandra essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) repellents. *Phytochemistry*. 1999, Vol. 50, 3, pp. 401-405.
66. **Campos, Roseane Nunes de Santana, et al.** Acaricidal properties of vetiver essential oil from *Chrysopogon zizanioides* (Poaceae) against the tick species *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*. 2015, Vol. 212, 3-4, pp. 324-330.
67. **Lima, Aldilene Silva, et al.** Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). 1, 2018, *Parasitology Research*, Vol. 117, pp. 59-65.
68. **Ministério da Saúde.** Monografia da espécie *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca). s.l. : *Ministério da Saúde e ANVISA*, 2015.
69. **Mollel, Happyness G., et al.** African Basil (*Ocimum gratissimum*) Is a Reservoir of Divergent Begomoviruses in Uganda. *Plant Disease*, 2020, Vol. 104, pp. 853-859.
70. **APNE/CNIP.** www.cnip.org.br. *CNIP - Centro Nordestino de Informações sobre Plantas*. [Online] [Citado em: 10 de Agosto de 2021.] [http://www.cnip.org.br/banco\\_img/Alfavaca%20Cravo/ocimumgratissimum2.html](http://www.cnip.org.br/banco_img/Alfavaca%20Cravo/ocimumgratissimum2.html).
71. **Nakamura, Celso Vataru, et al.** Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1999, Vol. 94, 5, pp. 675-678.
72. **Nwinyi, Obinna C., et al.** Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and piper guineense on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Food Science*, 2009, Vol. 3, 3, pp. 077-081.
73. **Silva, M. R. R., et al.** Antifungal activity of *Ocimum gratissimum* towards dermatophytes. *Mycoses*, 2005, Vol. 48, 3, pp. 172-175.
74. **Lemos, Janine de Aquino, et al.** Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2005, Vol. 100, 1, pp. 55-58.

75. **Faria, Terezinha de Jesus , et al.** Antifungal Activity of Essential Oil Isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against Phytopathogenic Fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2006, Vol. 49, 6.
76. **Lima, V. T. de, et al.** Chemical composition and free radical-scavenging, anticancer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Ocimum kilimandscharicum*. *Phytomedicine*, 2014, Vol. 21, 11.
77. **Freire, Cristiana M. Murbach, Marques, Márcia Ortiz M. e Costa, Mirtes.** Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. *Journal of ethnopharmacology*. 2006, Vol. 105, 1, pp. 161-166.
78. **Joshi, R.** Chemical composition, In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. sanctum* and their major constituents. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, Vol. 75, 4.
79. **Melo, Ana Paula Zapelini de, et al.** Synthesis and characterization of zein nanoparticles loaded with essential oil of *Ocimum gratissimum* and *Pimenta racemosa*. *Materials Research Express*, 2019, Vol. 6, p. 095084.
80. **Ferreira, T. P., et al.** In vitro Acaricidal Activity of *Ocimum gratissimum* Essential Oil on *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma sculptum* and *Rhipicephalus microplus* Larvae. *Revista Virtual de Química*, 2019, Vol. 11, 5, pp. 1604-1613.
81. **Phani Kumar, P., et al.** Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002, Vol. 50, 16, pp. 4705-4708.
82. **De Souza Filho, Roberto Yoshio.** *Estudos visando à síntese de heterociclos de 5-membros a partir dos lipídeos fenólicos do LCC: isobenzofuranonas e indolinonas em foco.* s.l. : Universidade de Brasília, 2013.
83. **Santos, Alberdan Silva, et al.** Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. s.l. : Embrapa Amazônia Oriental, 2004. Vol. 300.
84. **Fiegein, Helmut.** "Cresols" and Xylenols in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim : Wiley-VCH, 2007.
85. **Tatiya, Pyus D., et al.** Novel Polyurea Microcapsules Using Dendritic Functional Monomer: Synthesis, Characterization, and Its Use in Self-healing and Anticorrosive Polyurethane Coatings. *Industrial & engineering chemistry research*. 2013, Vol. 52, 4, pp. 1562-1570.
86. **Costa, Paulo e Lobo, José Manuel Sousa.** Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2001, Vol. 13, 2, pp. 123-133.
87. **Dash, Suvakanta, et al.** Kinetic modeling on drug release from controlled. *Polish Pharmaceutical Society*. 2010, Vol. 67, 3, pp. 217-223.
88. **Singhvi, Gautam e Singh, Mahaveer.** Review: in-vitro drug release characterization models. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*. 2011, Vol. 2, 1, pp. 77-84.

89. **Klafke, Guilherme M., et al.** Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary parasitology*. 2006, Vol. 142, 3-4, pp. 386-390.
90. **Oiram Filho, Francisco, et al.** Productivity of a preparative high-performance liquid chromatography isolation of anacardic acids from cashew nut shell liquid. *Separation Science Plus*. 2019, Vol. 2, pp. 192–199.
91. **Risfaheri, et al.** Isolation of cardanol from cashew nut shell liquid using the vacuum distillation method. *Indonesian Journal of Agriculture 2(1), 2009*:. 2009, Vol. 2, 1, pp. 11-20.
92. **Alves, Marcos Nopper, et al.** Obtenção e quantificação de óleos essenciais de *Thymus vulgaris* E *Ocimum gratissimum* pelos métodos de extração por arraste a vapor e hidrodestilação de bancada. *Sínteses: Revista Eletrônica do SimTec*. 2016, Vol. 1, 3.
93. **Souza, Lorena Barbosa de, et al.** Influência da colheita, secagem e destilação sobre o rendimento do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. *Embrapa Agroindústria Tropical*. 2009.
94. **Amorim, Maria do Carmo de, et al.** Rendimento do óleo essencial da Alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) em diferentes partes da planta. *Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação*. 2012.
95. **Marchese, Anna, et al.** Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food chemistry*. 2016, Vol. 210, pp. 402-414.
96. **Dambolena, José S., et al.** Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. *novative food science & emerging technologies*. 2010, Vol. 11, 2, pp. 410-414.
97. **Ikeda, Ryohei, et al.** Enzymatic Synthesis and Curing of Poly(cardanol). *Polymer Journal*. 2000, Vol. 32, 7, pp. 589–593.
98. **Yu, Ruobing, et al.** A novel grafting-modified waste rubber powder as filler in natural rubber vulcanizates. *Journal of applied polymer science*. 2016, Vol. 133, 6, p. 42993.
99. **Zhou, Qun, et al.** Curing behavior of polycardanol by MEKP and cobalt naphthenate using differential scanning calorimetry. *Journal of thermal analysis and calorimetry*. 2010, Vol. 99, 1, pp. 277-284.
100. **Fernandes, Regiane Victória de Barros, Borges, Soraia Vilela e Botrel, Diego Alvarenga.** Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*. 2014, Vol. 101, pp. 524-532.
101. **Fernandes, Regiane Victória de Barros, et al.** Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation. *Carbohydrate Polymers*. 2016, Vol. 153, pp. 133-142.
102. **Dima, Cristian, et al.** Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2014, Vol. 22, pp. 203-211.

103. **Furlong, John, Martins, João Ricardo de Souza e Prata, Márcia Cristina de Azevedo.** Carrapato dos bovinos: controle estratégico nas diferentes regiões brasileiras. *Comunicado Técnico*, 36. s.l. : Embrapa Gado de Leite, 2003.
104. **Peppas, N. A.** Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. 1985, Vol. 60, pp. 110-111.
105. **Silva, Fábio P., Freitas, Roberto F. S. e Sousa, Ricardo G. de.** Estudo cinético da liberação poli[(n-isopropilacrilamida)-co-(ácido metacrílico)]. *Anuais 9º Congresso Brasileiro de Polímeros*. 2007.