

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

ANDREA RENATA DA SILVA ROMERO

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA AMÊNDOA DE BARÚ E APLICAÇÃO COMO
AGENTE MICROENCAPSULANTE DE NANOPARTÍCULAS DE FERRO E
ÁCIDO FÓLICO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA**

DOURADOS

2014

ANDREA RENATA DA SILVA ROMERO

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA AMÊNDOA DE BARÚ E APLICAÇÃO COMO
AGENTE MICROENCAPSULANTE DE NANOPARTÍCULAS DE FERRO E
ÁCIDO FÓLICO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA**

**Trabalho de Conclusão de Curso de
graduação apresentado bacharel em
Biotecnologia. Faculdade de Ciências
Biológicas e ambientais. Universidade
Federal da Grande Dourados.
Orientador: Prof. Dr. Nelson Luís
Campos Domingues.**

DOURADOS

2014

ANDREA RENATA DA SILVA ROMERO

**EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA AMÊNDOA DE BARÚ E APLICAÇÃO COMO
AGENTE MICROENCAPSULANTE DE NANOPARTÍCULAS DE FERRO E
ÁCIDO FÓLICO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em biotecnologia na Universidade Federal da Grande Dourados, pela comissão formada por:

Orientador: Prof. Dr. Nelson L.C. Domingues
FACET - UFGD

Prof. M. Sc. Letícia Castellani Duarte
FACET - UFGD

B.el Tábata Branquinho Albuquerque
FACET-UFGD

Dourados, 2014

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me concedido a oportunidade de viver todas as experiências que me permitiram chegar até aqui e conviver com pessoas tão especiais, cuja força e incentivos me propiciaram sonhar cada vez mais alto.

À minha família por permanecerem sempre ao meu lado, em especial à minha mãe Iza Fátima por todo encorajamento, confiança e amor a mim depositados desde o princípio, sendo também meu exemplo de força, fé, companheirismo, amor e amizade e dentre todos os adjetivos, o que mais se encaixa é meu anjo da guarda.

À minha vózinha Ana por todas as orações e palavras de apoio e pela calma que sempre me passa mesmo em meio aos momentos turbulentos, ao meu pai Luiz por toda ajuda, amizade, carinho e preocupação. Ao meu padrasto Marcelo por toda confiança, ajuda, pelos conselhos, apoio e incentivo e aos meus irmãos de sangue e de coração. Muito obrigada mesmo por realmente acreditarem em mim.

À terceira turma de biotecnologia, que se tornou também minha família ao longo desses quatro anos, cuja união é inquestionável.

Aos meus amigos os quais levarei por toda minha vida, cada risada, cada palavra amiga e cada momento: Alisson Alves, Camila Dantas, Ana Paula, Jéssica Lie e Jéssica Celeste.

Ao meu namorado e amigo André Vieira, pela compreensão, carinho, apoio e pelas doses de otimismo que por muitas vezes foram essenciais para que a minha vontade de alcançar as minhas metas fossem maior que os meus medos. E ao nosso amigo Anderson Berenyi, sempre disposto a ajudar em qualquer situação.

Ao meu orientador Nelson Luiz, pela confiança em mim e em nosso projeto, por toda dedicação em me ensinar, mas também aprender junto a mim, sendo exemplo de confiança, fé e vontade, que sempre me motivaram.

Aos meus colegas de laboratório, por cada momento de descontração, trabalho em conjunto e boas risadas.

Ao meu grande amigo Rafael Ciola pela paciência, ajuda, conversas descontraídas te devo toda minha gratidão por sempre ter estado ao meu lado e por todos os ensinamentos.

As minhas companheiras de todos os dias, que foram também minhas rochas de apoio em muitos momentos, Viviane Mendoza, Brenda Bitto e Bianca Luíza, me atrevo dizer que em nosso caso foi um encontro de almas amigas.

Aos meus amigos Corumbaenses em especial à Rhaíssa Moraes, Rogério Sestari, Laís Mendoza, que mesmo longe se fizeram presentes em minha vida.

À Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade de cursar minha graduação tendo como professores profissionais incríveis, pessoas admiráveis, exemplos a serem seguidos.

Ao CNPq pelo apoio financeiro que permitiram que este projeto pudesse ser realizado.

E à todos cujo nome não citei, mas que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento e para a realização deste projeto.

“Por tudo o que tens feito, por tudo o que vais fazer, por tuas promessas, por tudo que És eu quero Te agradecer, Pai Nosso.”

Dedico à minha grande família, que sempre se fazem presentes em mim vida independente da distância ou do tempo, torcendo pela minha vitória e acreditando em minhas conquistas.

RESUMO

As nanopartículas ou nanoestruturas são materiais cujo tamanho podem chegar a atingir 200nm, uma das nanopartículas grandemente estudadas é a hematita (Fe_2O_3), em decorrência de suas características térmicas, magnéticas e seu tamanho, que as tornam extremamente interessantes tanto nas áreas biológicas como identificadores de bactérias patogênicas como também nas áreas médicas, nos sistemas de entrega de drogas, onde podem ser encontradas associadas com algum outro fator, como o ácido fólico cuja eficiência no combate ao estresse oxidativo já é conhecido. Além das características benéficas próprias dos óleos vegetais, os obtidos a partir da amêndoa do baru, são ricos em ômega-6, ômega-9 e em tocoferol, agregando diversos benefícios ao seu consumo. A microencapsulação é uma técnica empregada tanto pelas indústrias farmacêuticas e médicas como um eficiente sistema de entrega controlada de fármacos, quanto pelas indústrias alimentícias com diversos intuitos, sendo alguns deles: mascarar o sabor para aumentar a aceitabilidade, aumentar a estabilidade, temperatura e umidade, reduzindo reações indesejadas com outros compostos alimentícios. As nanopartículas de Fe_2O_3 foram obtidas através do método de pechini, submetido à temperatura de 400°C , maceração e novamente foi levado a mufla a 400°C . Para a extração do óleo, triturou-se 5g das amêndoas de baru para aumentar sua superfície de contato com o solvente extrator, o qual foi utilizado 20ml de hexano, após 48 horas realizou-se a filtração e rotaevaporação, para a obtenção das cápsulas foi realizado o método de microencapsulação coacervativa, compostas pelas etapas de: (a) emulsificação de 1g de óleo de baru contendo 0,02g de nanopartícula de Fe_2O_3 com a gelatina e levado a agitação a 1400 rpm por 1 minuto, seguido a incorporação de 19,6g de solução de goma arábica, e no produto final foi adicionado 0,1g de ácido fólico e levado a agitação por 24 horas. Foram então realizadas análises por espectroscopia de FT-IR, caracterização da amostra por UV-Vis e para as análises referentes a encapsulação foi com o auxílio de um microscópio óptico com captura de imagem. A microencapsulação da nanopartícula em conjunto com o óleo proveniente da amêndoa de baru se mostraram promissores tanto para sua utilização como um alimento funcional, quanto para a produção de drogas, pois houve a microencapsulação de ambos, indicando a possibilidade de síntese de um importante carreador e liberador de drogas de maneira controlada.

Palavras-chave: Pechini. *Dipteryx alata* Vog. Hematita

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 Objetivos	11
2.1 Geral.....	11
2.2 Específicos	11
3 Revisão Bibliográfica.....	12
3.1 Cerrado.....	12
3.2 Barú.....	13
3.3 Ácido Fólico.....	15
3.4 Nanopartículas Fe ₂ O ₃	16
3.5 Microencapsulação.....	16
3.5.1 Encapsulação de Nanopartículas	17
4 Material e Métodos	17
4.1 Síntese da Nanopartícula.....	17
4.2 Extração do Óleo.....	18
4.3 Produção das micropartículas por coacervação complexa	19
4.3.1 Estudo das microcápsulas.....	20
5 Resultados e Discussões.....	20
5.1 Microscopia Óptica com captura de imagem.....	20
5.2 Análises Espectroscópicas através de FT-IR.....	23
5.3 Caracterização por meio de UV-Vis	25
6 CONCLUSÃO	26
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia pode ser definida como um campo científico multidisciplinar baseado no desenvolvimento, na caracterização, na produção e na aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas com forma e tamanho na escala nanométrica. As nanopartículas (NPs) foram inicialmente desenvolvidas em meados dos anos 70 com o objetivo de transportar substâncias no organismo, tecidos ou até mesmo células, para melhorar a eficácia terapêutica e diminuir o efeito tóxico das substâncias nelas carregadas (MONTASSER et al., 2000; FATTAL et al., 2002). As nanopartículas são sistemas coloidais com tamanho entre 10 e 200 nm. Nos quais as substâncias podem-se encontrar dissolvidas, recobertas, encapsuladas ou dispersas (RIEUX et al., 2006).

O transporte de fármacos para o local de ação, ou seja, célula que tenha desenvolvido alguma espécie de deficiência é considerado o aspecto mais importante, e para que este consiga liberar uma dose eficaz do fármaco no local de ação são necessários veículos adequados. As nanopartículas apresentam aplicações potenciais na administração de substâncias terapêuticas com o objetivo de aumentar a eficiência do transporte de fármacos e melhorar os perfis de liberação (KUMAR, 2000). Uma vantagem adicional de dispositivos de entrega como as nanopartículas, é que podem entregar passivamente drogas no sistema fagocítico mononuclear, após a administração intravenosa (SOUZA 2013).

As nanopartículas ou nanoestruturas são materiais cujo tamanho pode chegar a atingir 200nm, muitos estudos em diversas áreas, dentre elas: química, física, ciências de materiais, ciências da saúde, dentre outras, estão se voltando cada vez mais ao estudo das mesmas devido as suas características específicas (MANDALL et al. 2005). Tanto a magnetita (Fe_3O_4) quanto seus derivados, como a hematita (Fe_2O_3), encontram-se em um grupo no qual os estudos que o englobam, vem crescendo de maneira acelerada, devido as suas identidades químicas, como também por suas características térmicas, magnéticas e seu tamanho, que a tornaram extremamente interessante tanto nas áreas médicas, nos sistemas de entrega de drogas, bem como nas áreas biológicas como identificadores de bactérias patogênicas (KALSKA et al. 2014).

Os óleos podem ser classificados em saturados ou insaturados, provenientes de fontes animais ou vegetais. Em relação ao seu grau de insaturação, podem ser subdivididos em: monoinsaturados ou poli-insaturados, e a maioria não são produzidas naturalmente pelo organismo humano (ácidos graxos essenciais), então é necessária sua ingestão através dos hábitos alimentares (JÚNIOR et al. 2007). Sendo os principais representantes da classe dos

ácidos graxos insaturados: o oleico (ω -9), linoleico (ω -6) e linolênico (ω -3), sendo o ω a indicação da última dupla ligação e a numeração que indica o número de carbonos entre a última dupla ligação e a metila terminal (KALHAPURE et al. 2014).

A árvore do barú (*Dipteryx alata* Vog.), também conhecida como cumbaru e no exterior é denominado *tonka beans* é uma espécie frutífera, nativa do Cerrado brasileiro da família Leguminosae (QUEIROZ et al. 2014), algumas de suas características que pode ser citada para sua classificação como promissora para cultivo é a alta taxa de germinação de sementes e de estabelecimento de mudas, o que torna viável o seu plantio, além de poder ter sua polpa e a sua amêndoa (considerada uma oleaginosa) englobada na alimentação humana, sua madeira pode ser utilizada para a fabricação de carvão vegetal, instalações de cercas, indústria moveleira, construção civil, entre outros usos, porém sua exploração de maneira inadequada contribuiu para o fato de encontrar-se em número drasticamente reduzido atualmente. (MOREIRA et al. 2005; CARRAZZA et al. 2010).

A amêndoa do barú contém 40% de lipídios e 30% de proteínas (considerados altos níveis) (SILVÉRIO et al. 2013), em seu óleo são encontradas grandes concentrações de ácidos graxos benéficos ao organismo humano como: ômega 6 e 9 com 28% e 50,4% respectivamente e 5% de tocoferol. Sendo constituído de 81,2% de ácidos graxos insaturados. Quanto a família de ômega- 6 exercem importante papel fisiológico como potentes mediadores da inflamação e efeito benéfico sobre o sistema imune (LIRA et al. 2004), e assim como o ômega 3, apresenta efeitos hipocolesterolêmicos e reduz os níveis de LDL, além de induzir ao aumento das excreções biliar e fecal do colesterol, reduzindo a síntese do VLDL no fígado, sendo então capazes de atuar positivamente em relação a doenças cardiovasculares, bem como o ômega 9 (SALLES, 2013). O tocoferol é considerado um dos principais antioxidantes naturais, a legislação brasileira permite a adição de 300mg/Kg de tocoferóis e óleos e gorduras, como aditivos intencionais, com função de antioxidante. Portanto, esses ácidos graxos poli-insaturados, consumidos em conjunto em quantidades necessárias para suprir as necessidades, sem que ocorra excesso, podem atuar no tratamento, quanto na prevenção de doenças No organismo, o ácido linoleico (ômega-6) é convertido em ácido araquidônico (AA) envolvido na via de formação de prostaglandinas, que desempenham funções importantes no sistema circulatório, pois podem atuar como vasodilatadoras, proporcionando melhor irrigação sanguínea, são também importantes na motilidade e no peristaltismo, está associada à proteção da mucosa gástrica, dentre outros. (ABAYASEKARA, 1999) e a presença de tocoferol direciona sua atuação na erradicação de radicais livres, que formam-se em condições fisiológicas em proporções controladas pelos

mecanismos defensivos celulares. Entretanto, em situações patológicas, essa produção pode aumentar substancialmente. O estresse oxidativo pode resultar de uma situação em que há uma diminuição nos níveis das enzimas antioxidantes, uma elevada velocidade de produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou uma combinação de ambas. Distúrbios do equilíbrio entre a formação e a remoção de EROs são importantes na patogênese de muitas doenças, por exemplo, aterosclerose, diabetes, mal de Alzheimer, câncer, desordens neurológicas, entre outras patologias (SALVADOR, 2004).

A microencapsulação é uma técnica empregada tanto pelas indústrias farmacêuticas e médicas como um eficiente sistema de entrega controlada de fármacos (MURAMBIWA, 2011), quanto pelas indústrias alimentícias com diversos intuitos, sendo alguns deles: mascarar o sabor para aumentar a aceitabilidade, aumentar a estabilidade, temperatura e umidade, reduzindo reações indesejadas com outros compostos alimentícios (KUMAR, 2000). Em casos de microencapsulação de fármacos, a escolha do método utilizado e o seu sucesso estão particularmente condicionados pela garantia da estabilidade do material a encapsular. É importante conhecer as alternativas disponíveis sendo elas, por exemplo: técnicas de revestimento, nebulização, coacervação, extrusão, dentre outras. (SILVA et al. 2003).

Ácido fólico pertence às vitaminas do grupo B. O ácido fólico é reduzido no organismo a tetraidrofolato, o qual atua como coenzima para vários processos metabólicos incluindo a síntese de purina e pirimidina e portanto na síntese de DNA. Está envolvido também na conversão de alguns aminoácidos e na utilização do folato. O ácido fólico, depois de sua conversão em ácido tetraidrofólico, é usado na eritropoiese normal e para a síntese de nucleoproteínas (ANVISA, 2007).

A encapsulação do óleo da castanha de barú em conjunto com as nanopartículas de ferro, direcionaria o produto, a uma maior estabilidade, a liberação controlada do mesmo (promovida pela microencapsulação), e a especificidade da amostra em relação a célula - alvo (garantido pela nanopartícula), seriam características ideais para sua utilização tanto para a produção de fármacos quanto de alimentos funcionais.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a formação do produto final esperado por meio de UV-Vis e FT-IR e posterior confirmação das microesferas contendo o produto em seu interior por microscopia óptica com captura de imagem e a definição de melhor metodologia de encapsulação.

Avaliar as condições de processamento das microesferas em relação às nanopartículas e o óleo, obtidas por coacervação complexa e sua morfologia.

2.2 Específicos

Extrair o óleo da amêndoa de barú e realizar sua aplicação como agente microencapsulante de nanopartículas de ferro e ácido fólico pela metodologia de coacervação complexa.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cerrado

Bioma é um conceito que foi criado por profissionais estudantes da área, na primeira metade do século passado, para denominar ou separar grandes sistemas ecológicos pelas suas características particularmente definidas, tais quais pode-se citar principalmente, o clima, fisionomia da vegetação, dentre outras características, os biomas do Brasil são divididos em seis: a Mata Atlântica, a Amazônia, o Cerrado, a Caatinga, o Pantanal e o Pampa (IBGE, 2004).

As características típicas do cerrado brasileiro são: a vegetação campestre e savânica – formada, sobretudo, por gramíneas, subarbustos, arbustos e pequenas árvores que se desenvolvem em regiões de áreas planas e de clima tropical com recorrência de períodos de seca (CARVALHO, 2009). O Cerrado brasileiro ocupa 2036448km² dos 8514877km² totais do Brasil, ficando, em tamanho, apenas atrás da Amazônia que ocupa 4196943km² (IBGE, 2007).



Fonte: IBGE, Mapa de Biomas do Brasil, 2004.

O Cerrado é um dos ecossistemas mais ameaçados do mundo. Ao longo dos últimos 30 anos, a pecuária extensiva, as monoculturas e a abertura de estradas, interferiram grandemente neste bioma. De toda a área do cerrado brasileiro apenas 20% permanece sem grandes alterações. (FRAGUAS et al. 2014) É o segundo maior bioma brasileiro, contendo 33% de toda diversidade biológica do país, representa uma área prioritária de conservação da biodiversidade, devido à grande variedade de espécies nativas, ao alto grau de endemismo (setor geográfico definido como local limitado pelo conjunto de áreas ocupadas por táxons exclusivos) na tentativa de erradicar ou minimizar os impactos causados pela destruição dos habitats de diversas espécies (SILVÉRIO et al. 2013)

Neste bioma podem ser encontradas mais de 220 espécies, cujo princípio ativo pode ser utilizado para fins medicinais e mais 416 que atuam na recuperação de solos degradados, ou também como barreiras contra o vento, proteção contra a erosão, ou para criar habitat de predadores naturais de pragas. Segundo o Ministério do Meio Ambiente mais de 10 tipos de frutos comestíveis são regularmente consumidos pela população local e vendidos nos centros urbanos, como os frutos do Pequi (*Caryocar brasiliense*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), Mangaba (*Hancornia speciosa*), Cagaita (*Eugenia dysenterica*), Bacupari (*Salacia crassifolia*), Cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*), Araticum (*Annona crassifolia*) e as sementes do Barú (*Dipteryx alata*). (DE LIMA, 2000)

3.2 Barú

No gênero *Dipteryx*, a qual a sua etimologia deve-se ao fato da flor apresentar duas folhas em forma de “asas”, são englobadas 13 espécies, dentre essas, 11 ocorrem no Brasil e são conhecidas principalmente pelos seus atributos medicinais. No que se refere às características fenotípicas que diferem umas das outras são pouco distinguíveis (INSTITUTO FLORESTAL, 2013). Espécies pertencentes ao gênero *Dipteryx*, apresentam em geral altas concentrações de metabólitos secundários de interesse humano, como a cumarina e a isoflavona, dentre outros compostos de igual importância (JÚNIOR et al. 2007). De todas as espécies conhecidas pertencentes a este gênero, a *Dipteryx alata* Vog, é uma representante que desempenha papel promissor devido ao grande aproveitamento, pois é possível agregar valor tanto a sua madeira quanto ao seu fruto, o que contribui para esse recursos natural do bioma brasileiro ter sofrido impactos devido a negligência de sua exploração, fatores como este, decorrem do processo de atuação antrópica em espaços naturais onde práticas de estruturas econômicas e sociais não sustentáveis são predominantes (DE LIMA et al, 2000)

O barú (*Dipteryx alata* Vog.), também denominado de cumbaru em algumas regiões, é uma leguminosa arbórea Fabaceae, espécie nativa do cerrado, com vida útil de aproximadamente 60 anos, é consideradas promissora devido a algumas características tanto nutricionais quanto de cultivo. sendo viável sua utilização para diversos fins, como: sombreamento; forragem; madeira (em construções navias e civil); alimentação humana, e reciclagem de nutrientes, pela decomposição da serrapilheira (matéria orgânica em diferentes estágios de decomposição depositadas no solo (SOUTO et al. 2008; CARRAZZA et al. 2010).

A árvore do baru ou baruzeiro é considerada de ampla ocorrência, podendo ser encontrada nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo. (QUEIROZ et al. 2014) Tem sua frutificação com cerca de 6 anos, podem ser encontradas árvores cuja produção de frutos é precoce, ocorrendo em torno de 4 anos (JÚNIOR et al. 2007).

A amêndoa do barú possui qualidades nutricionais relevantes, em relação aos minerais que podem ser encontrados, apresentam: 140mg/100g de cálcio, 827mg/100g de potássio, 358mg/100g de fósforo e 178mg/100g de magnésio todos envolvidos com a qualidade do funcionamento do organismo humano, a amêndoa tem a presença também de ferro e zinco, 4,24 e 4,1 respectivamente. (TAKEMOTO, 2001; BUENO et al. 2008) De acordo com estudos *in vivo* realizados por Siqueira 2012, o efeito positivo da composição da castanha em relação ao estresse oxidativo, induzidos em camundongos, foi confirmado, podendo ter ocorrido devido aos altos níveis de ácido fólico e compostos fenólicos, encontrados no barú.(SIQUEIRA et al 2012)

A amêndoa do baru possui grande quantidade de inibidor de tripsina, fazendo com que o organismo não seja capaz de realizar a absorção de nutrientes importantes, esse inibidor é desativado pela simples torrefação, não sendo então aconselhável o consumo da amêndoa “crua”. (CARRAZZA et al. 2010)

A composição do óleo da amêndoa do barú, é composto principalmente por 81,2% de ácidos graxos insaturados e 18,8% de ácidos graxos saturados, dentre os ácidos graxos insaturados, encontram-se componentes classificados quando a sua configuração química como ômega-6 (ácido graxo linoléico), considerado benéfico pelas atividades que exercem principalmente no combate e tratamento de doenças cardiovasculares e o ômega-9 (ácido graxo oléico), que atuam principalmente reduzindo o nível de oncogenes (genes relacionados com a discrepante proliferação celular), altamente associados com tumores mamários agressivos, sendo também relacionados com a mielinização do sistema nervoso em crianças (AZKONA et al. 2008; TAKEMOTO et al, 2001)

A presença de tocoferol, que é um antioxidante, potencializa os benefícios do óleo, pois atuam na erradicação de espécies reativas de oxigênio, responsáveis por diversas doenças, como o mal de Alzheimer, câncer e desordens neurológicas. (SIQUEIRA et al. 2012).

Além das qualidades nutricionais encontradas nos óleos naturais, possuem também vantagens como: maior aceitabilidade em relação ao consumidor, melhor aceitabilidade sensorial, são considerados seguros, não necessitam de tantos testes por fazerem parte da dieta humana, apenas o necessário para a garantia de que não seja consumido em quantidades capazes causar algum dano a saúde, pelo excesso (OLMEDO et al. 2014).

3.3 Ácido Fólico

O ácido fólico cuja fórmula molecular é: $C_{19}H_{19}N$ foi descoberto em 1940, é uma vitamina pertencente ao complexo B, necessário para o funcionamento normal de vários processos biológicos, sendo também conhecido como ácido pterilglutâmico. (VORA et al. 2002). Esse micronutriente essencial não é produzido pelo organismo humano, sendo necessária sua ingestão, apresenta solubilidade em água, pode ser degradado na presença de luz e altas temperaturas, a encapsulação do ácido fólico pode ser uma alternativa para a estabilidade necessária desse nutriente. (FROMMHERZ, 2014)

A suplementação de alguns alimentos com ácido fólico foram estabelecidas em 77 países, ocasionando em impactos positivos pela diminuição da incidência principalmente de problemas com o feto pela prevenção durante o período gestacional (SAMANIEGO, 2014), Dentre os países que adotaram o enriquecimento de alimentos almejando a prevenção de certas doenças, encontra-se o Brasil com a fortificação de farinhas (ANVISA, 2007).

O consumo do ácido fólico dentre outras importâncias é grandemente indicado para gestantes, pois atuam na prevenção de defeitos no tubo neural do feto, que se referem a má formação da medula espinhal ou do cérebro (CZEIZEL, 1995), seu consumo está relacionado com a diminuição do estresse oxidativo sendo também um importante regulador do metabolismo da homocisteína (aminoácido sintetizado pelo organismo), que quando encontrados em elevadas concentrações estão envolvidos no desenvolvimento da aterosclerose (LIU et al. 2014). São importantes para a síntese e também para o reparo do DNA (GALLAND, 2010).

O ácido fólico tem sido usado em estudos de tratamentos de câncer de mama, colorretal e de ovário, pois atua como um marcador, tendo potencial afinidade pelo folato receptor encontrado na membrana de células tumorais, sendo reconhecido por QIN, 2014 que a

modificação de nanopartículas com ácido fólico é uma alternativa promissora pela atuação interna à célula que teria (QIN et al. 2014).

3.4 Nanopartículas Fe₂O₃

A nanotecnologia é uma ciência voltada para a formação de projetos e consolidação dos mesmos em escala nanométrica. É considerada um mecanismo de entrega de substâncias, sendo estudada com aplicação no tratamento de diversas patologias. (KALHAPURE ET AL. 2014). As nanopartículas são geralmente definidas como partículas discretas entre 1 e 50 nm de tamanho. Elas podem ser dispersas em água ("Hidrossóis") ou solventes orgânicos ("organossóis"), dependendo das condições de preparo e agentes protetores que rodeiam as partículas. (POSATI et al. 2012)

As nanopartículas podem atuar como carreadoras de materiais orgânicos tanto na forma de *core-shell*, onde o material a ser levado encontra-se no interior das nanopartículas, formando uma espécie de "recheio" (FERNANDES et al. 2012), bem como podem apresentar funcionalizações externas à sua estrutura (POSATI et al. 2012). Para que a eliminação rápida das nanopartículas do organismo humano ocorra, faz-se necessário seu reconhecimento pelas células fagocíticas mononuclear, que reconhece o agente estranho e se encarrega de sua erradicação, mas para que isso ocorra é preciso que as nanopartículas não se encontrem em forma de aglomerados. (KALHAPURE et al. 2014)

Uma das características que torna essa ciência alvo de muitos estudos é o confinamento quântico, proporcionado pelo tamanho reduzido, garantindo propriedades físicas e químicas limitadas a materiais de escala nanométrica. Para a obtenção desses materiais metodologias tem sido aprimoradas como: coprecipitação, pechini, sol-gel, aerosol, combustão, dentre outros. (KUMAR, 2000)

A hematita (Fe₂O₃) diferente da maghemita e hematita é a forma mais estável dos óxidos de ferro, sendo utilizados em diversas catálises, em eletrônicos, gás sensores, pigmentos, materiais magnéticos, terapias clínicas e diagnósticos de determinadas patologias, dentre outras aplicações. Os principais fatores para a obtenção da morfologia desejada das nanopartículas é a reação entre o tempo e a temperatura (TAO et al. 2012).

3.5 Microencapsulação

As microencapsulação pode ser considerada uma alternativa altamente promissora, pois protege o produto encapsulado da degradação e aumentam a permeabilidade através do epitélio intestinal. O tamanho das micropartículas pode variar entre 1 a 1000 μm , podem ser denominadas de: microcápsulas, onde o princípio ativo encontra-se englobado pela membrana da cápsula, ou microesferas, onde o fármaco encontra-se uniformemente dissolvido em meio a matriz polimérica. Quanto às classificações das microcápsulas podem ser: mononuclear (apenas um núcleo) ou polinuclear (mais de um núcleo) e as microesferas encontram-se nos estados: homogêneas ou heterogêneas. (SILVA et al, 2003)

3.5.1 Encapsulação de Nanopartículas

As nanopartículas possuem o potencial de alta especificidade a um determinado alvo, sua relação com a capsula na qual pode ser envolvida, inclui mais de um agente favorável, sendo eles: um acentuador do controle da liberação do fármaco, tendo também a função de proteger as partículas e todo o conteúdo interno da cápsula (KALHAPURE et al. 2014).

A encapsulação pode ser feita tanto de uma amostra solúvel, quanto de partículas sólidas insolúveis, sendo comprovados o sucesso de ambas, desde que a metodologia aplicada leve em consideração as limitações do produto “recheio”, tais metodologias podem variar tanto de técnicas mais simples, quanto mais complexas envolvendo um gás, um sólido e um solvente líquido, como descrito por Vinjamur. (VINJAMUR et al. 2013)

A encapsulação de nanopartículas inorgânicas em uma matriz polimérica , já tem sido amplamente utilizada, tanto em indústria de cosméticos quanto de aditivos, sendo as principais nanopartículas utilizadas: óxido de ferro, titânio, alumínio, cálcio e sílica. (LADJ et a. 2013) Em caso de aditivos alimentares a necessidade da utilização da técnica surge do fato de que as microcápsulas são capazes de mascarar sabores e odores, tornando o produto mais aceitáveis. (SILVA et al. 2003)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese da Nanopartícula

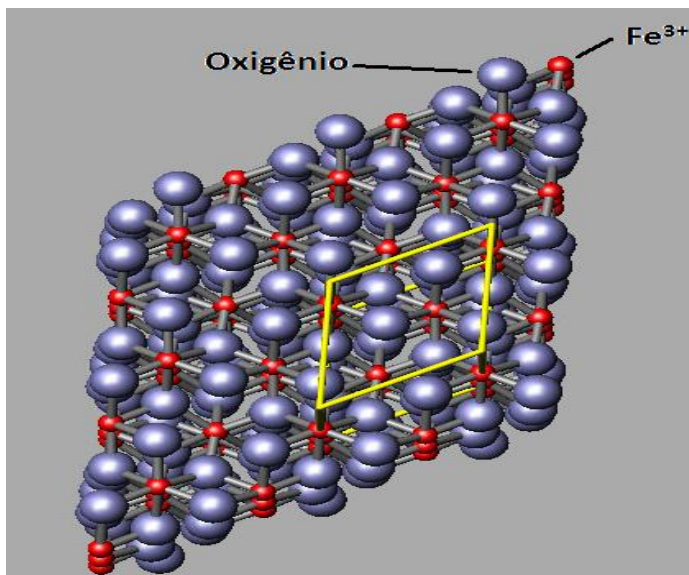
O método empregado no processo de síntese das NPs metálicas é o método de *Pechini* descrito por OMORI et al. 2014.ⁱ Além de NPs, através deste método é possível

sintetizar também materiais cerâmicos e supercondutores. Tal método consiste na formação de quelatos entre os cátions metálicos com ácidos carboxílicos e posterior polimerização através de uma reação de poliesterificação com poliálcoois, visando uma distribuição melhor dos cátions (aleatoriedade) a nível atômico, na estrutura polimérica. O aquecimento a temperaturas moderadas (100 a 200⁰C), em atmosfera de ar acarretam reações de condensação, com a formação de moléculas de água e de ésteres. Durante o aquecimento, obteve-se a poliesterificação e a maior parte do excesso de água foi removida, resultando numa resina polimérica viscosa. Após este estágio, o poliéster foi decomposto em CO₂ e H₂O, através de aquecimento com a finalidade de eliminar o excesso de material orgânico.^[1]

O material sintetizado o Fe₂O₃, esta por sua vez, por ser um óxido de ferro não tóxico, de boa estabilidade e alta resistência à corrosão vem apresentando inúmeras aplicações como em pigmentos, dispositivos magnéticos, como agentes anticorrosivos, catalisadores, sensores de gás, fotoeletrodos, baterias de íons de Lítio, além de aplicações na biomedicina entre outras.

A α -Fe₂O₃ apresenta célula unitária hexagonal formada por pares de FeO₆ octaédricos ligados, esta estrutura é apresentada na Figura 1. Esta estrutura é muito estável e pode ser obtida a partir do tratamento térmico da γ -Fe₂O₃ que provoca a mudança da estrutura cúbica para hexagonal.

Figura 1. Representação da estrutura cristalina da Hematita.



Fonte: MANDAL, 2005.

4.2 Extração do Óleo

Triturou-se 5g de castanhas de barú, com o auxílio de um mixer DELLAR (modelo:DMX433), deixou-se em um vidro âmbar protegido de luz, com 20ml de solvente extrator hexano por 48 horas, filtrou-se a vácuo o composto, adicionou-se secante (Sulfato de Sódio) ao líquido obtido deixou-se em repouso por 20min, para a remoção de vestígios de água. Filtrou-se novamente com o auxílio de um papel filtro e rotaevaporou-se sem temperatura.

4.3 Produção das micropartículas por coacervação complexa

Para a obtenção das micropartículas coacervadas, foram utilizados como material de parede, soluções de gelatina e goma arábica, e como material de recheio o óleo proveniente da amêndoa da castanha de barú e as nanopartículas de ferro funcionalizadas com ácido fólico. A produção das microcápsulas incluem etapas de: emulsificação do óleo de baru contendo nanopartícula de Fe_2O_3 com a gelatina e levado a agitação a 1400 rpm por 1 minuto, seguido a incorporação de solução de goma arábica, e no produto final foi adicionado ácido fólico e levado a agitação por 24 horas.

O ácido fólico cujo estrutura pode ser observada na Figura 1.a, apresenta-se como um ácido poliprótico que pode possuir até seis sítios de interações, e este fato se deve a completa desprotonações dos hidrogênios presentes nos oxigênio e nitrogênios da estrutura. O ferro obtido na forma de partículas nanométricas, possui fórmula molecular Fe_2O_3 , e apresenta uma tendência a acoplar-se ao ácido, formando assim a NPs funcionalizada. O tipo de microencapsulação esperado compreende um tipo de estrutura conforme ilustrado na Figura 1.b, o qual correlaciona-se com uma forma de interação entre as NPs e o óleo no núcleo totalmente revestido pelo composto de parede formado pela gelatina e pela goma arábica ao qual ira se coordenar, neste caso o ácido fólico.

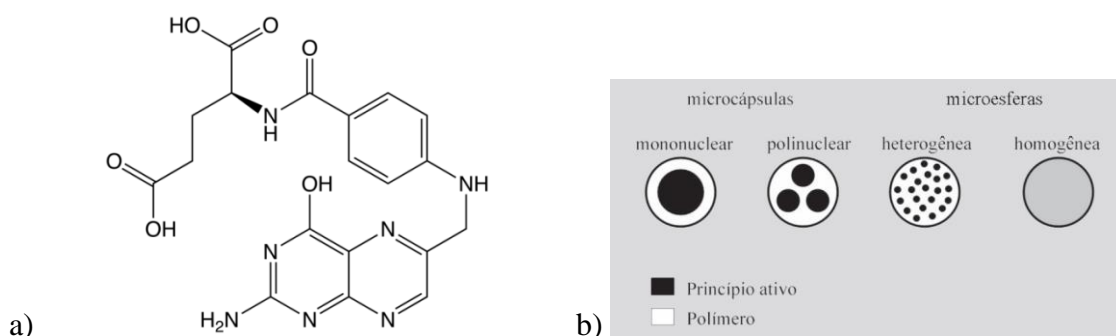


Figura 2. Representação a) em fórmula de linha de traço da molécula de ácido fólico (MURTO et al. 2014) e b) a estrutura da microcápsula (SANJAI et al. 2014).

4.3.1 Estudo das microcápsulas

Para a escolha do melhor método de microencapsulação foram realizados testes de variação das concentrações do produto de recheio, mantendo os mesmos valores para os componentes de parede sendo utilizados: 10ml de gelatina, 19,5g de goma arábica.

No primeiro procedimento denominado como A, utilizou-se 1,0g de óleo da amêndoa do baru e 0,01g de nanopartículas de ferro. Nessa amostra a solubilidade não foi completa porém foi a melhor observada dentre os demais testes. Na amostra B, foram adicionados 0,05g de óleo e 0,01g de ferro, apresentou baixa solubilidade assim como a amostra C, que continha a mesma concentração de óleo, porém com 0,02g de nanopartícula. Na amostra D, apresentou concentração de 1g de óleo e 0,02g de Fe_2O_3 . O pH das amostras se mantiveram em 5, não havendo necessidade de alterações.

Caracterização

Com a finalidade de avaliar a possível interação entre o ácido fólico, óleo do baru e as NPs- Fe e NPs- Zn, foram realizados ensaios de FT-IR, utilizando pastilhas de KBr em 128 scans por min, em fenda de 2 cm, foram realizadas em um equipamento JASCO modelo 4100 e espectrofotômetro UV-Vis. Estas interações seriam observadas caso exista deslocamentos de sinais que são considerados característicos dos NPs ou do ácido fólico e do óleo, nos espectros dos compostos obtidos. Para a análise das microcápsulas foram feitas análises por microscopia óptica com captura de imagem, para observação do tamanho e a possível presença do recheio almejado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Microscopia Óptica com captura de imagem

As cápsulas foram analisadas pela captura de imagem por microscopia óptica, a fim de determinar sua morfologia e a presença ou não de encapsulados mediante a metodologia adotada, para posteriores análises mais aprofundadas da metodologia referente ao teste considerado promissor. A figura 3 demonstra o sucesso da encapsulação das nanopartículas de

Fe_2O_3 pelo método de coacervação complexa, resultado que corrobora com os obtidos por SANJAI et al. 2014 utilizando como estrutura de “recheio” semelhantes, mas como material de parede a quitosana, porém as microcápsulas formadas apresentaram resultado satisfatório e promissores apenas no testa A, mas houve a falta de uniformidade no tamanho das cápsulas, tal fato pode ter sido decorrente do tempo de agitação ou proveniente da interação entre o material inorgânico com a parede da cápsula, alterados pela concentração de cada componente utilizado para a formação de encapsulados, fatores esses apontados por LADJ et al. 2013 como fundamentais para a homogeneidade da amostra.

As microcápsulas obtidas podem ser classificadas de acordo com a literatura como heterogêneas nas imagens referentes aos quatro testes realizados, pelo fato do produto encapsulado não apresentar-se de maneira uniforme no espaço interior à parede da cápsula. O método de coacervação complexa atendeu os requisitos de microencapsulação apontados por (KALHAPURE et al. 2014) e Catarina sendo: simples, reprodutível, rápido, fácil de se transpor à escala industrial e pouco dependente das características de solubilidade do produto a ser encapsulado, levando-se em consideração a dificultada solubilidade completa da nanopartícula de ferro.

O material pronto foi fotografado em microscópio binocular com câmera fotográfica acoplada com o auxílio do programa de captura de imagem MOTICAM 2300 3.0MP live Resolution, o qual possibilitou também a medição das cápsulas cujo tamanho variou entre $3\mu\text{m}$ à $45\mu\text{m}$, o que é normal, segundo SANTOS et al. 2005 para microencapsulações tendo como material de parede gelatina e goma arábica.

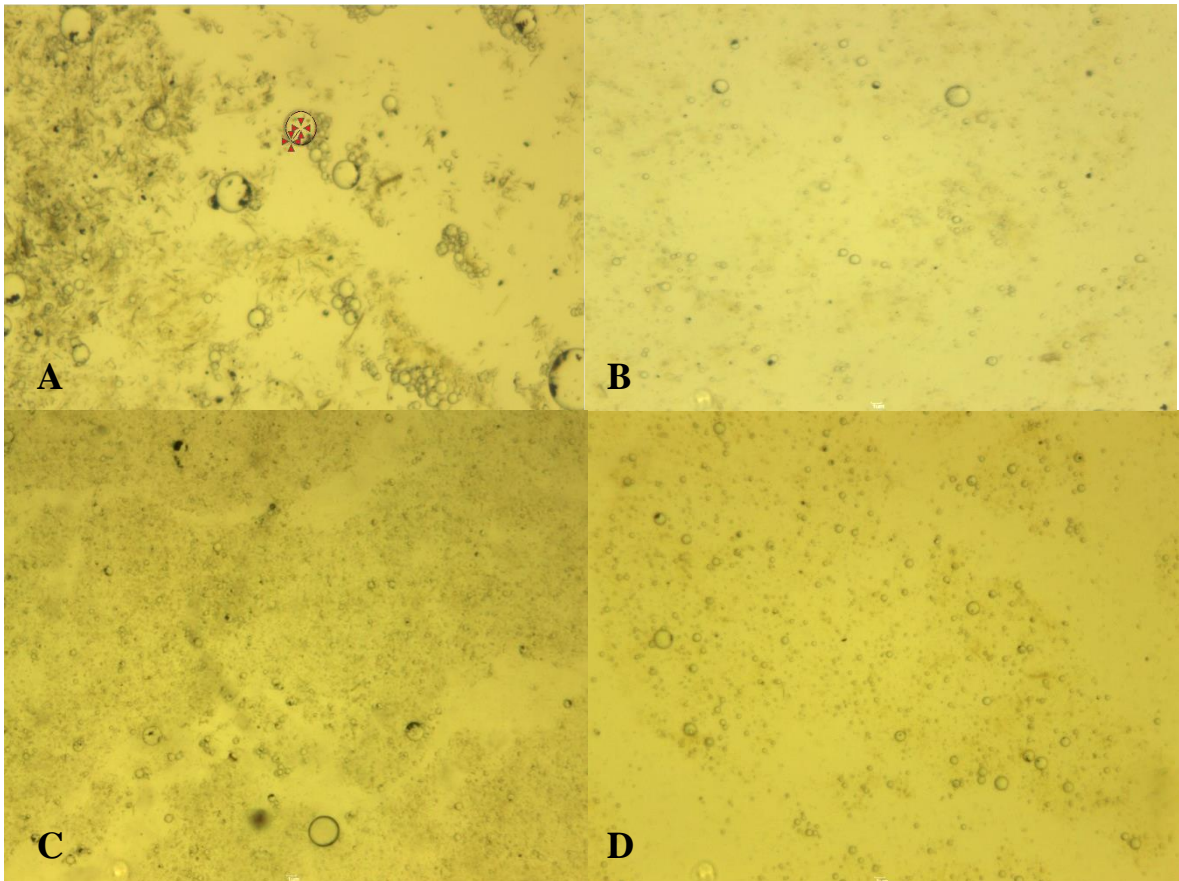


Figura 3. Microcápsulas de goma arábica e gelatina. Teste contendo 1g de óleo da castanha de baru e 0,02g de nanopartículas (A), teste contendo 0,5g de óleo e 0,01 de nanopartícula (B), amostra contendo 1g de óleo e 0,01g de nanopartículas (C), amostra contendo 0,5g de óleo e 0,02g de nanopartículas (D).

Na figura 4, encontra-se de maneira explícita o interior de uma microcápsula e a diferença entre as cápsulas contendo o material de núcleo e as vazias, apesar do tamanho das mesmas variarem, como previsto na literatura, sua morfologia apresentou um filme contínuo, também denominado de matriz coesa, o que pode significar boa interação do óleo com o material de parede. (SANTOS et al. 2005)

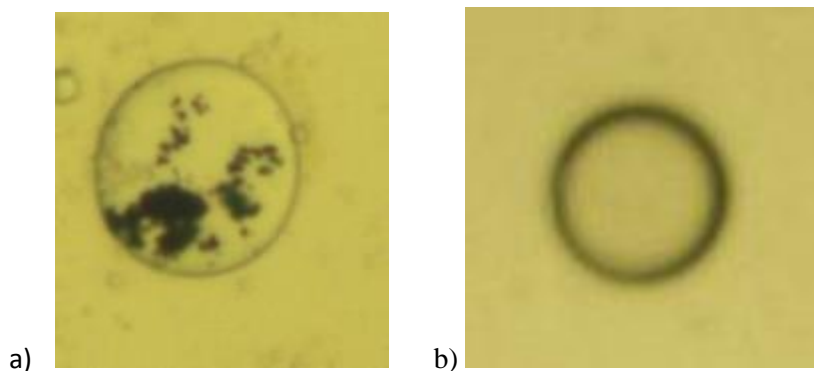


Figura 4. Imagens obtidas pelo microscópio com captura de imagem. a) microcapsulação realizada, b) microcápsula vazia.

5.4 Solubilidade das Microcápsulas

Os materiais de parede empregados no preparo das amostras apresentaram facilitada solubilidade em água e etanol absoluto, dissolvendo-se após 7 minutos de contínua agitação mecânica em temperatura ambiente para a liberação do material interior à cápsula.

5.2 Análises Espectroscópicas através de FT-IR

No gráfico 1, são apresentados os gráficos referentes às análises de FT-IR, com os testes de possíveis interações entre os materiais encapsulantes e os que devem ser envoltos. No espectro da amostra C resulta em uma banda em 1075 cm^{-1} que pode ser atribuída a uma banda de aromático (Aril-O-CH₂) (SILVERSTEIN, 2000) ou a um estiramento C-O de álcool primário que pode ter sido formado na estrutura do material devido a interação do Fe₂O₃ na estrutura. No espectro B, observa-se o aparecimento de uma banda nesta mesma região, não tão proeminente quanto a da amostra C devido a quantidade de óxido.

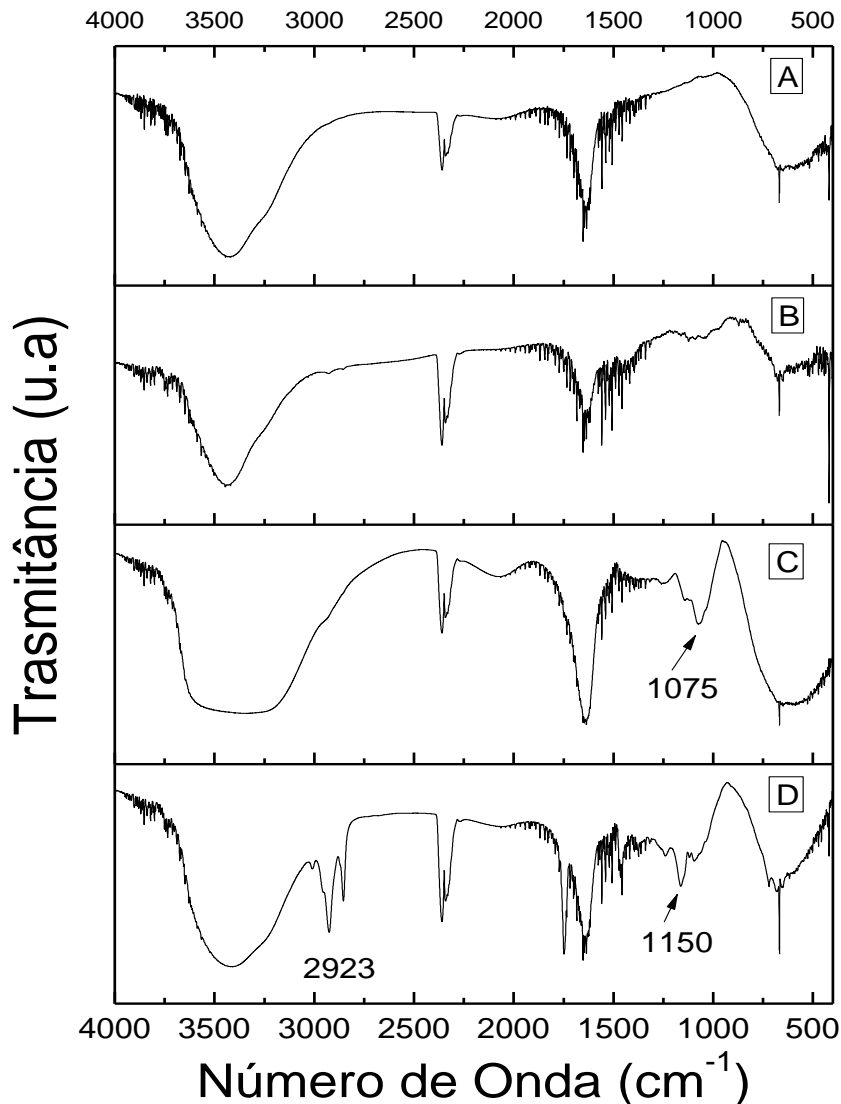


Gráfico1. Gráfico do espectro de FT-IR referente aos quatro testes de concentração de produto “recheio”.

O espectro da amostra D em comparação com a amostra B, pois somente alterou a proporção de gelatina averigua-se picos em 1150 referente a estiramento C-O de álcool terciário, e bandas próximas a 2923 referente a deformação axial C-H do carbono sp³. A amostra A foi a que apresentou melhor indícios da desejada interação, pois podem ser observados picos considerados característicos de todos os componentes.

No gráfico 2, são apresentados os espectros de FT-IR dos precursores das amostras em comparação com a reação que apresentou indícios de ser mais promissora de acordo com a análise das imagens obtidas por microscopia óptica e pelas análises de FT-IR, pertencente ao teste A, nomeada no gráfico 2 de NpFeAfÓ A Figura denominada Ác. Fólico, apresenta o espectro de FT-IR do ácido fólico, pode-se observar a presença de um pico intenso em 1605 cm⁻¹ que são característicos das duplas ligações conjugadas do benzeno da molécula de ácido

fólico (ZHANG et al. 2002). O sinal em 1693 cm^{-1} de desdobramento de C=O pode ser atribuído aos ácidos carboxílicos presentes na estrutura de ácido fólico e o sinal em 1481 cm^{-1} pode ser atribuído a presença de duplas ligações em heteroanéis [1-3]. Através da análise do gráfico também foi possível atribuir sinais característicos à nanopartícula no que se refere ao pico observado em 500 cm^{-1} no gráfico 1.NpFe que são característicos do Fe_2O_3 na imagem nomeada NpFe. Indícios da presença do óleo na amostra contendo todos os fatores, podem ser observadas no comprimento de onda que vai de 1000 cm^{-1} a 1500 cm^{-1} .

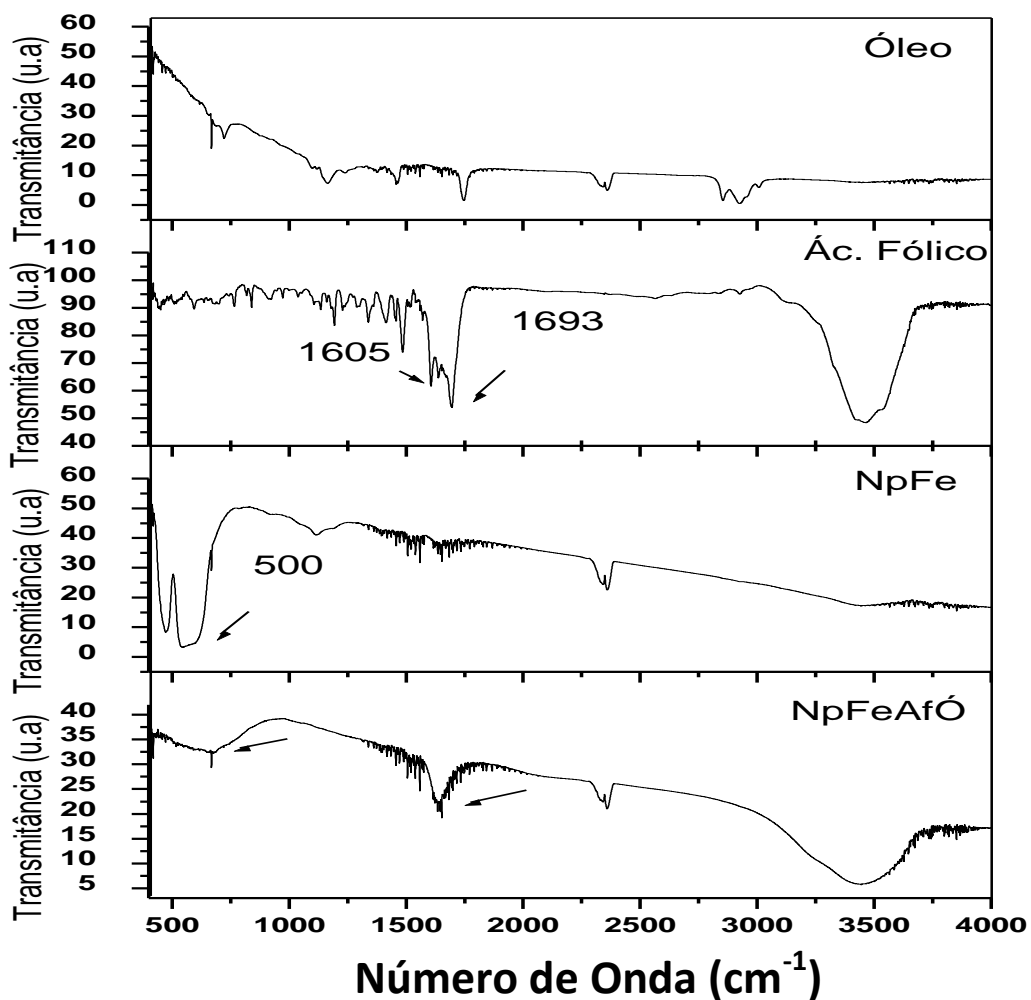


Gráfico 2. Apresenta os espectros de FT-IR das amostras de Nanopartículas de Fe_2O_3 microencapsuladas com ácido fólico e óleo de barú. (NpFe) indica nanopartícula de ferro e (NpFeAfÓ) são as nanopartículas de ferro microencapsuladas junto ao óleo e o Ácido Fólico.

5.3 Caracterização por meio de UV-Vis

A espectrofotometria visível e ultravioleta foi aplicada para determinações dos compostos orgânicos e inorgânicos contendo grupos absorventes da amostra que apresentou

indícios por meio do FT- IR de melhor interação (NpFeAfÓ). Sendo os materiais utilizados no estudo: nanopartículas de ferro (Fe_2O_3), ácido fólico e o óleo de barú.

A absorção da região visível e ultravioleta depende, em primeiro lugar, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Como consequência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na espécie que está sendo estudada, o pico que pode ser, então avaliado no gráfico nomeado como NpFeAfÓ, demonstra indícios de que o sucesso da interação entre os componentes mediante tratamento com goma arábica e gelatina possivelmente ocorreu.

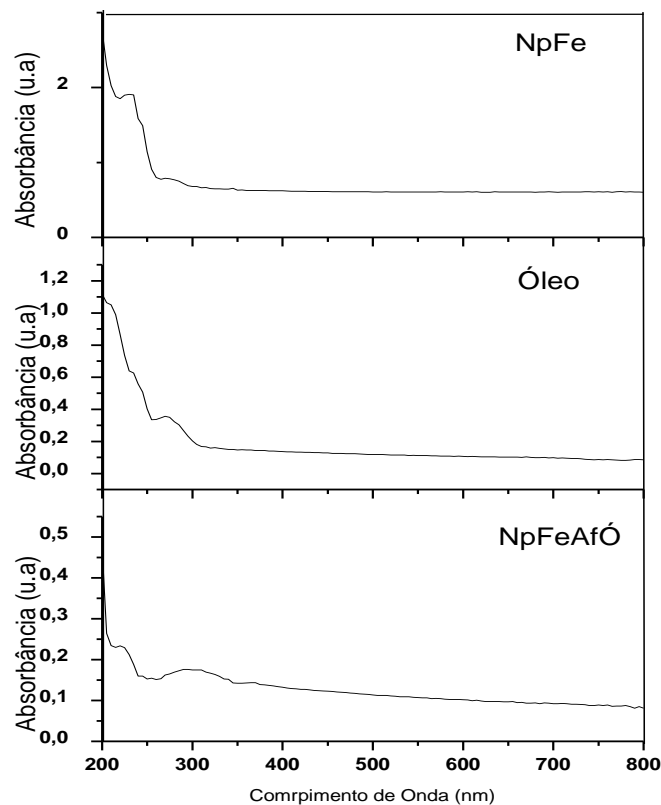


Gráfico 3. gráfico de UV-Vis, relacionadas às amostras de nanopartículas microencapsuladas junto ao ácido fólico e óleo de baru solubilizadas em água, o qual teve o indício de funcionalização pelo FT-IR.

6 CONCLUSÃO

A síntese de microcápsulas a partir da utilização da goma arábica, gelatina e o óleo da amêndoa do baru, foi eficiente nas quatro variáveis aos quais a reação foi submetida, havendo uniformidade na morfologia e variações dentro do aceitável quanto ao seu tamanho, porém no que se diz respeito ao material a ser encapsulado apenas houve sucesso nas concentrações de

1g de óleo e 0,01g de nanopartícula de ferro (Fe_2O_3), apresentando indício de sucesso em todos os testes realizados, tais características oferecidas pelas microcápsulas apontam seu possível sucesso de sua utilização tanto na indústria alimentícia quanto nas indústrias farmacêuticas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAYASEKARA, D. R. E.; WATHES, D. C. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 61, n. 5, p. 275-287, 11// 1999.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 3.029, de 01 de setembro de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, DF, de 04 de junho de 2007. Disponível em: < [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[16120-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[16120-1-0].PDF) > Acesso em: 12 jun. 2014.

AZCONA, J. O. et al. Meat quality of Argentinean “Camperos” chicken enhanced in omega-3 and omega-9 fatty acids. *Meat science*, v. 79, n. 3, p. 437-443, 2008.

BUENO, A. L.; CZEPIELEWSKI, M. A. The importance for growth of dietary intake of calcium and vitamin D. *Jornal de pediatria*, v. 84, n. 5, p. 386-394, 2008.

CARRAZZA, L; ÁVILA, J. Manual tecnológico de aproveitamento integral do fruto do Barú. ISPN, v. 2, p. 56, 2010. ISBN: 978-85-63288-02-8.

CARVALHO, P. E. R. Cumaru-Ferro-Dipteryx odorata. EMBRAPA, v. 3, p. 224, 2009.

CZEIZEL, A. E. Folic acid in the prevention of neural tube defects. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, v. 20, n. 1, p. 4-16, 1995.

DE LIMA BEZERRA, M. D. C. Gestão dos recursos naturais: subsídios à elaboração da Agenda 21 brasileira. O Ministério, 2000. ISBN 8573000953.

FATTAL, E. VAUTHIER, C. Nanoparticle as drug delivery systems, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, p.1864.1881, 2002.

FERNANDES, M. T. C.; KAWACHI, E. Y. Influência da quantidade de amônio na síntese de nanopartículas de óxido de ferro por microemulsão. Quim. Nova, v. 33, n. 6, p. 1242-1246, 2010.

FRAGUAS, R. M. et al. Chemical composition of processed baru (*Dipteryx alata* Vog.) almonds: Lyophilization and roasting. African Journal of Agricultural Research, v. 9, n. 13, p. 1061-1069, 2014.

FROMMHERZ, L. et al. Degradation of folic acid in fortified vitamin juices during long term storage. Food chemistry, v. 159, p. 122-127, 2014.

GALLAND, L. Diet and inflammation. Nutrition in Clinical Practic, v. 25, n. 6, p. 634-641, 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Biomas do Brasil - Primeira Aproximação, v.1, 2004. Disponível em: < <http://cod.ibge.gov.br/234jb> > acesso em: 25 jul. 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapas dos biomas do Brasil, v.1, 2007. Disponível em:
< <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm> > acesso em: 25 jul. 2014.

INSTITUTO FLORESTAL. Plantas do Cerrado ameaçadas de extinção identificadas em São Paulo. Registro da Secretaria do Meio Ambiente p. 1-46. mar. 2013.

JÚNIOR, G. M. V. et al. Terpenos e ácidos graxos de *Dipteryx lacunifera* Ducke. Química Nova, v. 30, n. 7, p. 1658, 2007.

KALHAPURE, R. S. et al. Ion pairing with linoleic acid simultaneously enhances encapsulation efficiency and antibacterial activity of vancomycin in solid lipid nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 117, p. 303-311, 2014.

KALSKA, B. et al. Stability of Fe₃O₄ nanoparticles in various model solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 450, n. 0, p. 15-24, 5/20/ 2014.

KUMAR, M. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J. Pharm. Pharm. Sci*, v. 3, n. 2, p. 234-258, 2000.

LADJ, R. et al. Polymer encapsulation of inorganic nanoparticles for biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 458, n. 1, p. 230-241, 2013.

LIRA, G. M. et al. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-AL. *Braz. J. Pharm. Sci*, v. 40, n. 4, 2004.

LIU, Y. et al. The effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on flow-mediated vasodilation in patients with coronary artery disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*, v. 235, n. 1, p. 31-35, 2014.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

MANDAL, S.; PHADTARE, S.; SASTRY, M. Interfacing biology with nanoparticles. *Current Applied Physics*, v. 5, n. 2, p. 118-127, 2// 2005.

MONTASSER, I. et al. Méthodes d'obtention et mécanismes de formation de nanoparticules polymériques. *Journal de pharmacie de Belgique*, v. 55, n. 6, p. 155-167, 2000.

MOREIRA, M. et al. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, v. 38, n. 5, p. 565-570, 2005.

MURAMBIWA, P. et al. Anti-malarial drug formulations and novel delivery systems: a review. *Acta tropica*, v. 118, n. 2, p. 71-79, 2011.

MURTO, T. et al. Folic acid supplementation and IVF pregnancy outcome in women with unexplained infertility. *Reproductive biomedicine online*, v. 28, n. 6, p. 766-772, 2014.

OLMEDO, R.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R. Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation. *Food chemistry*, v. 156, p. 212-219, 2014.

OMORI, Y. et al. Fabrication of dispersible calcium phosphate nanocrystals via a modified Pechini method under non-stoichiometric conditions. *Materials Science and Engineering: C*, v. 42, n. 0, p. 562-568, 9/1/ 2014.

PAN-IN, P. et al. Ethyl cellulose nanoparticles: Clarithromycin encapsulation and eradication of *H. pylori*. *Carbohydrate polymers*, v. 109, p. 22-27, 2014.

PARTHASARATHI, V.; THILAGAVATHI, G. Synthesis and characterization of zinc oxide nanopartilce and its application on fabrics for microbe resistant defence clothing. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 3, n. 4, p. 392-398, 2011.

POSATI, T. et al. Selective internalization of ZnAl-HTlc nanoparticles in normal and tumor cells. A study of their potential use in cellular delivery. **Applied Clay Science**, v. 55, n. 0, p. 62-69, 1// 2012.

QIN, X. et al. Folic acid supplementation with and without vitamin B6 and revascularization risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Nutrition*, p. 603-612, 2014.

QUEIROZ, S. É. E.; FIRMINO, T. D. O. Efeito do sombreamento na germinação e desenvolvimento de mudas de baru (*Dipteryx alata Vog.*). *Revista Biociências*, v. 20, n. 1, p. 603-612, 2014.

RIEUX, A. FIEVEZ, V. GARINOT, M. et al. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach. *Journal of Controlled Release*, v. 116, p. 1-27, 2006.

SALLES, S. *Trocas Inteligentes: Transforme Receitas Tradicionais em Delícias Saudáveis e Ganhe Saúde*. Editora Rubio, 2013. ISBN 8564956438.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. *Radicais Livres E a Resposta Celular Ao Estresse Oxidativo*. Editora da ULBRA, 2004. ISBN 8575281143.

SAMANIEGO-VAESKEN, M.; ALONSO-APERTE, E.; VARELA-MOREIRAS, G. Voluntary fortification with folic acid in Spain: an updated food composition database. *Food Chemistry*, p. 1-6, 2014.

SANJAI, C. et al. Chitosan-triphosphate nanoparticles for encapsulation of superparamagnetic iron oxide as an MRI contrast agent. *Carbohydrate Polymers*, v. 104, n. 0, p. 231-237, 4/15/ 2014.

SANTOS, A. B. D.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. *Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2005.

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

SILVÉRIO, M.; CASTRO, C.; MIRANDA, A. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). *Rev. Bras. Pl. Med.* v.15, n.1, p.59-65, 2013

SILVERSTEIN, R. M. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. LTC editora, 2000. ISBN 8521612303.

SIQUEIRA, E. M. D. A. et al. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. *Food Research International*, v. 45, n. 1, p. 427-433, 2012.

SOUTO, P. C. et al. Biometria de frutos e numero de sementes de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. no semi-árido da Paraíba. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 3, n. 1, 2008.

SOUZA, G. D. D. et al. Prata: Breve histórico, propriedades e aplicações. *Educación química*, v. 24, n. 1, p. 14-16, 2013.

TAKEMOTO, E. et al. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 60, n. 02, p. 113-117, 2001.

TAO, X.-M. et al. Enhanced anticancer activity of gemcitabine coupling with conjugated linoleic acid against human breast cancer *in vitro* and *in vivo* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 82, n. 2, p. 401-409, 2012.

VAN DER WOUDE, D. A. et al. A randomized controlled trial examining the addition of folic acid to iron supplementation in the treatment of postpartum anemia. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2014.

VINJAMUR, M.; JAVED, M.; MUKHOPADHYAY, M. Encapsulation of nanoparticles using CO₂-expanded liquids. The Journal of Supercritical Fluids, v. 79, n. 0, p. 216-226, 2013.

VORA, A. et al. Thermal stability of folic acid. Thermochemica Acta, v. 392, p. 209-220, 2002.

YANG, H.-T. et al. Efficacy of folic acid supplementation in cardiovascular disease prevention: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. European journal of internal medicine, v. 23, n. 8, p. 745-754, 2012.

ZHANG, G.-Y. et al. α -Fe₂O₃ nanoplates: PEG-600 assisted hydrothermal synthesis and formation mechanism. Journal of Alloys and Compounds, v. 509, n. 3, p. 885-890, 2011.

ZHANG, Y.; KOHLER, N.; ZHANG, M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. Biomaterials, v. 23, n. 7, p. 1553-1561, 2002.
