



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Lara Alexandre Fogaça

**Encapsulação de compostos com fator de proteção solar e atividade
antioxidante pela técnica de polimerização em miniemulsão para aplicação
cosmética**

FLORIANÓPOLIS

2019

Lara Alexandre Fogaça

Encapsulação de compostos com fator de proteção solar e atividade antioxidante pela técnica de polimerização em miniemulsão para aplicação cosmética

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química

Orientador: Prof. Dr^a. Cristiane da Costa

Coorientador: Prof. Dr^a. Claudia Sayer e Dr. Paulo Emilio Feuser

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra

Fogaça, Lara Alexandre
Encapsulação de compostos com fator de proteção solar e atividade antioxidante pela técnica de polimerização em miniemulsão para aplicação cosmética / Lara Alexandre Fogaça ; orientadora, Cristiane Costa, coorientadora, Claudia Sayer, coorientador, Paulo Emilio Feuser, 2019.
84 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Nanoencapsulação. 3. Nanopartículas poliméricas. 4. Polimerização por miniemulsão. 5. Fotoproteção. I. Costa, Cristiane. II. Sayer, Claudia. III. Emilio Feuser, Paulo IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. V. Título.

Lara Alexandre Fogaça

Encapsulação de compostos com fator de proteção solar e atividade antioxidante pela técnica de polimerização em miniemulsão para aplicação cosmética

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Dr.^a Débora de Oliveira
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Ana Paula Serafini Immich Boemo
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Profa. Dra. Cíntia Soares
Coordenadora do Programa

Prof.^a Dr.^a Cristiane da Costa
Orientadora

Florianópolis, 01 de agosto de 2019.

Este trabalho é dedicado aos meus pais, família e amigos.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Cristiane da Costa pela oportunidade de desenvolver este trabalho. Pelo apoio, dedicação e orientação durante todo o desenvolvimento do mesmo.

Aos meus coorientadores Claudia Sayer e Paulo Feuser pela disponibilidade e pelo conhecimento compartilhado.

Aos meus pais e ao meu irmão, por todo o amor, carinho e apoio proporcionado. Por estarem sempre presentes me incentivando e ensinando a ser uma pessoa melhor.

A toda a minha família e amigos pelo carinho e apoio.

Aos meus amigos e colegas do LCP, pela troca de conhecimento, aprendizados e pelos bons momentos vividos diariamente no laboratório.

A todos os meus professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, por todos o conhecimento transmitido.

Ao Departamento de Farmácia da UFRJ, pelas análises de FPS realizadas.

A Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química por todos os recursos disponibilizados.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Obrigada!

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.”
(Robert Collier)

RESUMO

As formulações de filtros solares são compostas geralmente por partículas inorgânicas e moléculas orgânicas para proteger a pele de forma eficiente contra os raios solares. Entre os compostos atualmente utilizados, pode-se citar o óxido de zinco (ZnO) como protetor físico e o octocrileno, como protetor químico sintético. Além disso, alguns compostos naturais como a quercetina, e óleos vegetais apresentam potencial capacidade antioxidante e fotoprotetora, podendo elevar o FPS de loções fotoprotetoras e agir de forma benéfica na pele. Apesar de serem muito utilizados devido ao seu baixo potencial alergênico, os compostos inorgânicos possuem aparência esbranquiçada e opaca ao serem aplicados na pele. A utilização de partículas nanométricas possibilita a obtenção de um produto mais translúcido, porém existe uma grande preocupação relacionada à toxicidade que as mesmas podem causar, pela capacidade de gerar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS) durante exposição à radiação UV. A encapsulação de nanopartículas inorgânicas pode ser utilizada para reduzir esta capacidade de gerar ROS, além de melhorar a fotoestabilidade e segurança dos compostos orgânicos. Sendo assim este trabalho avaliou a encapsulação de NPs-ZnO-MPS simultaneamente com octocrileno em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS e a encapsulação do composto quercetina em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS e PMMA-PS, utilizando a técnica de polimerização em miniemulsão, com o objetivo de obter nanopartículas com fator de proteção solar e atividade antioxidante para aplicação conjunta em loções fotoprotetoras. Em ambas as formulações, óleos vegetais com potencial atividade antioxidante e fotoprotetora foram testados como agentes coestabilizadores da miniemulsão, sendo também encapsulados nos látexes finais. Nanopartículas esféricas de tamanho homogêneo, na faixa de 160-215 nm, e superfícies regulares foram obtidas, permanecendo estáveis após 30 dias. Aproximadamente 50% da quercetina adicionada à formulação permaneceu nos látexes, e acima de 85% dos óleos vegetais foi encapsulado. A eficiência de encapsulação do ZnO foi obtida entre 60 e 87%, enquanto o octocrileno e óleo de café verde tiveram cerca 80 e 89% de encapsulação respectivamente nas NPs-ZnO. A quercetina manteve elevada atividade antioxidante quando encapsulada em NPs poliméricas, e obteve resultados ainda melhores quando encapsulada simultaneamente com o óleo de café verde. O valor de FPS in vitro, foi satisfatório apenas para as formulações contendo NPs-ZnO, obtendo-se o melhor resultado para a nanoencapsulação simultânea de NPs-ZnO e octocrileno (FPS 25 ± 5). No entanto, a aplicação das NPs de quercetina e OCV mostram-se promissoras para aplicação em fotoprotetores juntamente com NPs de ZnO e octocrileno, podendo contribuir para o incremento do FPS in vivo e reduzir os danos causados à pele pelos raios UV. Assim, a técnica de encapsulação por polimerização em miniemulsão mostrou-se uma alternativa para a encapsulação de filtros físicos, químicos, além de compostos naturais com potencial atividade antioxidante e fotoprotetora para aplicação em protetores solares.

Palavras-chave: Nanoencapsulação. Polimerização em miniemulsão. Nanopartículas. ZnO. Quercetina. Octocrileno. Filtro solar.

ABSTRACT

Sunscreen formulations are usually composed of inorganic particles, as Zinc oxide (ZnO), and organic particles, as octocrylene, to protect the skin effectively against the ultra violet radiation. In addition, some natural compounds such as quercetin and vegetable oils have a potential antioxidant and photoprotective properties, which can elevate SPF and act in a beneficial way on the skin when applied in sunscreen formulations. Although widely used because of their low allergenic potential, inorganic compounds have an opaque appearance when applied on the skin. Using nanometric particles, it is possible to obtain a more translucent product, but there is great concern related to the toxicity that nanomaterials can cause by the ability to generate free radicals and reactive oxygen species (ROS) during exposure to UV radiation. The encapsulation of inorganic nanoparticles can be used to reduce this ability to generate ROR, in addition to improving the photostability and safety of organic compounds. Thus, this work evaluated the encapsulation of NPs-ZnO-MPS simultaneously with octocrylene in PBMA-PMMA-PS nanoparticles and the encapsulation of quercetin in nanoparticles of PBMA-PMMA-PS and PMMA-PS using the miniemulsion polymerization technique, aiming to develop nanoparticles with sun protection factor and antioxidant activity for application in photoprotective lotions. In both formulations, vegetable oils with potential antioxidant and photoprotective activity were tested as co-stabilizing agents of the miniemulsion and also encapsulated in the latexes. Spherical nanoparticles of homogeneous size, from 160 to 215 nm, and regular surfaces were obtained, remaining stable after 30 days. Approximately 50% of the quercetin added to the formulation remained in the latexes, and over 85% of the vegetable oils were encapsulated. The encapsulation efficiency of ZnO was between 60 and 87%, while octocrylene and green coffee oil had about 80 and 89% encapsulation respectively in the ZnO-NPs. The quercetin presented high antioxidant activity when encapsulated in polymeric NPs, having even better results when encapsulated simultaneously with green coffee oil. The values of FPS in vitro was satisfactory only for formulations containing NPs-ZnO, with the best result for the simultaneous nanoencapsulation of NPs-ZnO and octocrylene ($SPF 25 \pm 5$). However, the application of the NPs of quercetin and OCV in sunscreen lotions with NPs-ZnO-octocrylene, may promote an increment on FPS in vivo, reducing the damage caused to the skin by UV radiation. Thus, the encapsulation by miniemulsion polymerization is an alternative for encapsulation of physical, chemical and natural compounds for application in sunscreens.

Keywords: Nanoencapsulation. Miniemulsion. Polymerization. ZnO. Nanoparticles. Quercetin, Octocrylene. Sunscreen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Estrutura química da quercetina.....	24
Figura 2– Estrutura molecular do composto octocrileno (OC).	29
Figura 3 - O mecanismo do processo de polimerização via miniemulsão	31
Figura 4 - Reação do agente de acoplamento MPS com a superfície das NPs-ZnO	35
Figura 5 – Espectro de absorção da (a) quercetina, (b) óleo de café verde e (c) óleo de semente de romã entre 200 – 490 nm.....	55
Figura 6 - Micrografias de TEM da reação R1-0 (MMA-ST), sem quercetina	60
Figura 7 - Micrografias de TEM da reação R1-Q (MMA-ST) – Quercetina e crodamol.....	60
Figura 8 - Micrografias de TEM da reação R2-Q (MMA-ST) – Quercetina e OSR.	61
Figura 9 - Micrografias de TEM da reação R5-Q (MMA-ST) – Quercetina, crodamol e OCV.....	61
Figura 10 – Espectro FTIR (a) das NPs-ZnO; (b) do Reagente MPS; (c) das NPsZnO/MPS.....	62
Figura 11 – Teste visual de retenção (a) 500 µL látex R1(MMA/ST); (b) 500 µL látex R1(BMA/MMA/STY); (c) 100 µL látex R1(MMA/ST); (d) 100 µL látex R1(BMA/MMA/STY)	68
Figura 12 – Teste visual de espalhabilidade dos látex utilizando diferentes monômeros na formulação: (a) látex R1(MMA/ST); (b) látex R1(BMA/MMA/STY) ...	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Classificação de Fotoprotetores de acordo com os valores de FPS	22
Tabela 2 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com diferentes monômeros.....	39
Tabela 3 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com diferentes coestabilizadores.....	40
Tabela 4 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com quercetina em matriz polimérica PBMA-PMMA-PS.....	41
Tabela 5 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com quercetina em matriz polimérica PMMA-PS.....	42
Tabela 6 – Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com NPs-ZnO/MPS.....	44
Tabela 7 – Conversão das formulações	53
Tabela 8 – quantidade de quercetina incorporada nas miniemulsões, quantificada logo após as reações e após 15 dias de armazenamento.	56
Tabela 9 – Eficiência de encapsulação dos óleos vegetais.....	57
Tabela 10 - Diâmetro médio em intensidade das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) e índice de polidispersão (Pdl) após a polimerização e após 30 dias das formulações contendo 0,1g de Tween 80 e 0,05g de Span 80.....	58
Tabela 11 - Diâmetro médio em intensidade das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) e índice de polidispersão (Pdl) após a polimerização e após 30 dias das formulações com contendo 0,2g de Tween 80 e 0,1g de Span 80.....	59
Tabela 12 – Percentual das NPs-ZnO/MPS incorporadas nas nanopartículas poliméricas.	65
Tabela 13 – Eficiência de encapsulação do óleo de café verde e octocrileno	66
Tabela 14 - Diâmetro médio em intensidade das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) e índice de polidispersão (Pdl) após a polimerização e após 30 dias das formulações R6, R7 e R8	66
Tabela 15- Atividade antioxidante dos compostos puros e encapsulados obtida pelo método DPPH.....	70
Tabela 16- Resultados do fator de proteção solar obtidos para os látexes ..	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Atividade Antioxidante

Abs – Absorbância

AO – Ácido Oleico

APTES - 3-trietoxisilano propil amino

BuA – Butil acrilatos

BMA – Metacrilato de Butila

C₂H₅OH – Etanol

CH₃COOH - Ácido acético

DLS - Dynamic Light Scattering (Espalhamento dinâmico de luz)

EE (%) – Eficiência de encapsulação

FPS – Fator de proteção solar

FTIR - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

HD – Hexadecano

IV – Infravermelho

KPS - Persulfato de potássio

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

MMA – metacrilato de metila

MPS - 3-trimetoxisilil propil metacrilato

MPTMS – 3- trimetoxisilano propil metacriloxi

MPA - Metoxipropil acetato

NaHCO₃– Bicarbonato de sódio

NPs - Nanopartículas

NPs-ZnO - Nanopartículas de óxido de zinco

NPs-ZnO/MPS - Nanopartículas de óxido de zinco recobertas com 3-trimetoxisilil propil metacrilato

OH – Hidroxila

OCT – Octocrileno

OCV – Óleo de café verde

OSR – Óleo de semente de romã

pH - Potencial hidrogeniônico

PI(%) – Percentual incorporado

PdI - Índice de polidispersão

PBMA– Poli (metacrilato de butila)
PMMA – Poli (metacrilato de metila)
PS – Poliestireno
QUE – Quercetina
Rpm - Rotações por minuto
SDS – Dodecil sulfato de sódio
ST – Estireno
TiO₂– Dióxido de titânio
TGA – Termogravimetria
UV – Ultravioleta
Uv-vis – Ultravioleta visível
ZnO – Óxido de zinco

SUMÁRIO

CAPITULO I	15
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo Geral	17
1.1.2 Objetivos Específicos	17
CAPITULO II	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 RADIAÇÃO SOLAR.....	19
2.2 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR	21
2.3 MECANISMO DE PROTEÇÃO DOS FILTROS SOLARES.....	22
2.4 COMPOSTOS COM ATIVIDADE FOTOPROTETORA E/OU ANTIOXIDANTE 24	
2.4.1 Quercetina	24
2.4.2 Óleos vegetais	25
2.4.2.1 Óleo de café verde	26
2.4.2.2 Óleo de semente de romã	27
2.4.3 Óxido de zinco	28
2.4.4 Octocrileno	29
2.5 NANOENCAPSULAÇÃO.....	30
2.5.1 Nanoencapsulação via polimerização em miniemulsão	30
2.5.2 Nanoencapsulação de quercetina	32
2.5.3 Nanoencapsulação de partículas inorgânicas	33
2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS REFERENTES AO ESTADO DA ARTE	36
CAPÍTULO III	38
3 MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1 MATERIAIS	38
3.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	39

3.2.1	Encapsulação de quercetina em nanopartículas poliméricas por polimerização em miniemulsão	39
3.2.2	Modificação da superfície das NPs de ZnO	42
3.2.3	1.1.1 Encapsulação das NPs-ZnO/MPS em nanopartículas poliméricas via polimerização em miniemulsão	43
3.3	CARACTERIZAÇÕES	45
3.3.1	A Análise da absorção do comprimento de onda dos compostos de interesse.....	45
3.3.2	Análise de grupos químicos por Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier	45
3.3.3	Quantificação do percentual de MPS incorporado na superfície das NPs-ZnO	45
3.3.4	Conversão por gravimetria das reações de polimerização com e sem quercetina	46
3.3.5	Morfologia das partículas	47
3.3.6	Diâmetro médio das partículas e estabilidade.....	47
3.3.7	Doseamento da quercetina nas miniemulsões	47
3.3.8	Eficiência de encapsulação das NPs-ZnO/MPS.....	48
3.3.9	Eficiência de encapsulação dos óleos vegetais e octocrileno	49
3.3.10	Avaliação de espalhabilidade e retenção do látex.....	50
3.3.11	Determinação do fator de proteção solar	50
3.3.12	Potencial antioxidante pelo método DPPH	51
	CAPITULO VI.....	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	CARACTERIZAÇÃO DA ENCAPSULAÇÃO DA QUERCETINA EM NANOPARTÍCULAS PMMA-PS E PBMA-PMMA-PS	53
4.1.1	Conversão por gravimetria	53
4.1.2	Análise da absorção de radiação na região UVA e UVB da quercetina e dos óleos vegetais	54

4.1.3	Doseamento da quercetina na miniemulsão	56
4.1.4	Eficiência de encapsulação dos óleos vegetais	57
4.1.5	Tamanho de partícula.....	58
4.1.6	Morfologia das nanopartículas carregadas com quercetina	60
4.2	CARACTERIZAÇÃO DAS NPS-ZNO E MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE UTILIZANDO MPS	61
4.2.1	Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier das NPs-ZnO, MPS e NPs-ZnO/MPS	61
4.2.2	Percentual Incorporado de MPS nas NPs-ZnO	63
4.3	CARACTERIZAÇÃO DA ENCAPSULAÇÃO DAS NPS-ZNO/MPS EM NANOPARTÍCULAS DE PMMA-PS E PBMA-PMMA-PS	64
4.3.1	Eficiência da incorporação das NPs-ZnO/MPS na miniemulsão	64
4.3.2	Eficiência de Encapsulação do Octocrileno e Óleo de Café Verde.....	65
4.3.3	Tamanho de Partícula	66
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS LÁTEXES OBTIDOS.....	67
4.4.1	Avaliação da retenção e espalhabilidade do látex.....	67
4.4.2	Determinação da Atividade Antioxidante	69
4.4.3	Determinação do fator de proteção solar <i>in vitro</i>	70
	CAPITULO V.....	73
5	CONCLUSÃO.....	73
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICE A – Descrição	83

CAPITULO I

1 INTRODUÇÃO

O consumo de filtros solares para proteção contra efeitos adversos, agudos e crônicos, da radiação solar vem crescendo nos últimos anos. Inicialmente os filtros eram empregados apenas para proteger a pele contra o desenvolvimento de resposta eritematosa, mas atualmente os protetores solares também têm sido utilizados para prevenir o fotoenvelhecimento precoce, fotossensibilidade, câncer de pele e danos causados por radicais livres (GONZALEZ et al., 2006). No mercado existem filtros solares na forma de loções hidroalcoólicas, óleos, géis, emulsões óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O), bastões, aerossóis, além de produtos cosméticos, (BALOGH et al., 2011) e têxteis (HUSSEIN e ELHASSANEEN, 2014) incorporados de filtros solares.

Os filtros solares visam proteger a pele de ambas as radiações UVA e UVB, diminuindo os efeitos maléficos das mesmas sobre a pele. Sendo assim, um protetor solar eficiente deve prevenir não apenas uma possível queimadura, mas também reduzir o acúmulo de lesões causada por toda a faixa da radiação UV, prevenindo assim o risco de alterações fatais e o surgimento de doenças crônicas (FLOR e DAVOLOS, 2007). Para ser efetivo, o filtro deve ser estável fotoquimicamente quando exposto a luz solar, dispersar facilmente e permanentemente no veículo, permanecer na pele após transpiração ou contato com a água, ser atóxico e não causar irritação ou alergia de contato.

O mecanismo de proteção contra os raios solares pode ser obtido através de filtros inorgânicos e orgânicos. Entre os filtros inorgânicos podemos citar o óxido de zinco (ZnO) e o dióxido de Titânio (TiO₂) (LAUTENSCHLAGER et al., 2007). Existem diversos filtros orgânicos sintéticos utilizados em fotoprotetores em conjunto com os filtros inorgânicos. Entre os filtros orgânicos comerciais mais utilizados pode-se citar o etilhexil dimetil ácido p-aminobenzóico (PABA), etilhexil salicilato, etilhexil metoxicinamato e octocrileno, com absorção na região UVB; benzofenona-3 com

absorção em ambas as regiões UVB e UVA; butil-metoxi-dibenzoil-metano com absorção na região UVA (MAIER e KORTING, 2005).

Os compostos inorgânicos apresentam um baixo potencial alergênico em comparação aos orgânicos, porém possuem como desvantagem a aparência esbranquiçada e opaca ao serem aplicados na pele. A utilização de partículas nanométricas possibilita a obtenção de um produto mais translúcido, porém existe uma grande preocupação relacionada à toxicidade que as nanopartículas podem causar quando aplicadas na pele, devido a sua capacidade de formar complexos com proteínas e, principalmente, a capacidade de induzir a formação de radicais livres (LAUTENSCHLAGER et al., 2007; NEWMAN et al., 2009).

A encapsulação de nanopartículas inorgânicas torna-se uma técnica promissora para reduzir a formação de radicais livres através da oxidação das moléculas quando expostas à radiação UV, permanecendo com a aparência estética que as nanopartículas conferem aos filtros solares (ZHANG et al., 2006). Já em relação aos compostos orgânicos, a encapsulação pode melhorar a fotoestabilidade, fotoproteção e segurança dos compostos quando expostos aos raios UV (MÜLLER et al., 2004).

Estudos relataram os efeitos sinérgico de compostos naturais derivados de plantas em protetores solares, entre eles a quercetina, um polifenol com elevado potencial antioxidante e fotoprotetor (DONGLIKAR e DEORE, 2017).

Existem diversas técnicas utilizadas para encapsular compostos de interesse, dependendo do tamanho, formato das partículas a serem obtidas, propriedades físicas e químicas, aplicação do produto e custos finais do processo. A polimerização em miniemulsão é uma técnica de encapsulação *in situ* na qual a síntese do polímero e a encapsulação do componente de interesse são realizadas em uma única etapa. (LANDFESTER, 2009).

No presente estudo, foram sintetizados dois tipos de nanopartículas. NPs-ZnO hidrofobizadas com MPS foram encapsuladas simultaneamente com octocrileno em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS, e o composto quercetina foi encapsulado em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS e PMMA-PS, utilizando a técnica de polimerização em miniemulsão, com o objetivo de obter nanopartículas com fator de proteção solar e atividade antioxidante, apresentando boa espalhabilidade e retenção

para aplicação em loções fotoprotetoras. Em ambas as formulações, foi avaliada a utilização de óleos vegetais com potencial atividade fotoprotetora e antioxidante como coestabilizadores na miniemulsão. As nanopartículas foram avaliadas quanto à conversão das reações através da técnica de gravimetria, tamanho de partícula por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), morfologia por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e temperatura de transição Vítrea por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). Além disso, foram determinadas a eficiência de encapsulação dos compostos orgânicos e inorgânico utilizados, fator de proteção solar e atividade antioxidante dos látex obtidos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo a encapsulação de compostos com fator de proteção solar e atividade antioxidante em nanopartículas poliméricas utilizando a técnica de polimerização em miniemulsão.

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Modificação da superfície das nanopartículas (NPs) inorgânicas de ZnO com 3-trimetoxisilil-propil metacrilato (MPS) e posterior caracterização.
2. Encapsulação das NPs-ZnO/MPS em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS pela técnica de polimerização em miniemulsão.
3. Encapsulação de quercetina em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS e em nanopartículas de PMMA-PS pela técnica de polimerização em miniemulsão
4. Utilização de óleos vegetais com potencial atividade antioxidante e fotoprotetora como coestabilizador nas formulações.

5. Caracterização das nanopartículas poliméricas obtidas, avaliando a eficiência de encapsulação dos compostos encapsulados e as propriedades obtidas.

6. Avaliação do fator de proteção solar e atividade antioxidante dos látexes produzidos.

CAPITULO II

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentado o referencial teórico usado como base para o desenvolvimento deste trabalho. Serão abordados pontos importantes sobre a radiação ultravioleta (UV) e os malefícios que a mesma pode causar ao organismo. Além disso, serão abordados tipos de filtros solares utilizados atualmente e outros compostos com fator de proteção, com ênfase nos componentes estudados neste trabalho, quercetina (QUE), óleo de semente de romã (OSR), óleo de café verde (OCV) e óxido de zinco (ZnO). A seguir, a polimerização via miniemulsão é apresentada como uma técnica promissora para encapsular compostos com fator de proteção para aplicação em filtros solares. A etapa de modificação da superfície de nanopartículas inorgânicas também é apresentada, já que a mesma é necessária para a incorporação de nanopartículas de óxido de zinco em matrizes poliméricas.

2.1 RADIAÇÃO SOLAR

A radiação solar que atinge a superfície da Terra é composta por um espectro de comprimentos de onda dividido em três principais regiões. A região de raios infravermelhos, com comprimento de onda acima de 800 nm, a região visível (UV-Vis), com raios entre 400–800 nm e a região ultravioleta (UV), entre 100 e 400 nm. A presença da radiação solar é perceptível ao organismo de maneira distinta para cada uma destas três regiões (BALOGH et al., 2011). A radiação infravermelha (IV) é percebida sob a forma de calor. A exposição à radiação solar pode elevar a temperatura da pele acima de 40°C, podendo ocasionar uma desidratação. A luz visível (Vis) penetra apenas a camada córnea da pele e possibilita ao cérebro a distinção das cores ao atingir o sistema óptico. Já a radiação ultravioleta (UV), é percebida através de reações fotoquímicas, como por exemplo, a produção de

melanina, resultando no bronzeamento da pele. Outras reações podem levar à produção de inflamações leves, graves queimaduras, mutações genéticas e comportamentos anormais das células (BALOGH et al., 2011; PAESE, 2008).

Devido ao seu menor comprimento de onda, as radiações UV são as mais energéticas e que mais penetram na pele, sendo as mais prejudiciais à saúde e as responsáveis pelo fotoenvelhecimento. Esta região é dividida em outras quatro sub-regiões, UVAI (340 - 400 nm), UVAII (320 – 340 nm), UVB (290 – 320 nm) e UVC (100- 290) nm. Os raios UVA são os responsáveis pelo bronzeamento direto, pois penetram profundamente na pele, alcançando a derme. Essa radiação possui capacidade muito menor de danificar a pele, quando comparada à UVB. Porém, por penetrar mais profundamente na derme, seus efeitos são cumulativos, e estão relacionados ao desenvolvimento de doenças crônicas. Além disso, ela não é absorvida pela camada de ozônio. Períodos longos e frequentes de exposição ao sol de forma inadequada favorecem os fenômenos de fotoenvelhecimento, aparecimento de manchas, rugas, flacidez, aumento de células inflamatórias na derme e câncer de pele (BALOGH et al., 2011; FLOR e DAVOLOS, 2007). Os raios UVB são mais energéticos se comparados aos raios UVA, mas são parcialmente absorvidos pela camada de ozônio, atingindo a pele superficialmente. Provocam o bronzeamento de forma indireta, podem causar vermelhidão e eritemas. São responsáveis pela transformação do ergosterol epidérmico em vitamina D, benéfica para saúde. Porém, exposição intensa e frequente à radiação UVB pode causar lesões no DNA e danificar a resposta imunológica da pele, aumentando o risco de mutações, sob a forma de carcinoma. Já a radiação UVC é altamente energética, porém é totalmente absorvida pela camada de ozônio. Os raios UVC não tem efeito sobre a pigmentação da pele, mas pode causar eritemas e carcinomas (BALOGH et al., 2011; FLOR e DAVOLOS, 2007).

A exposição à luz solar, em baixa dosagem, é necessária para a saúde e traz benefícios tanto físicos quanto psicológicos; tem efeito energético e antidepressivo, ajudando na produção de serotonina, além de ser importante para a síntese de vitamina D. Porém, a exposição aos raios UVA e UVB é relacionada a doenças e problemas de pele (BAILLO e LIMA, 2012). Sendo assim, diversos estudos vêm

sendo desenvolvidos em busca de formas de fotoproteção mais eficientes e seguras contra os efeitos da radiação solar

2.2 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

O Fator de Proteção solar (FPS) indica a eficácia de um filtro solar a partir da sua capacidade de proteger a pele contra a queimadura causada pela radiação UVB. O FPS mede quantas vezes a pele protegida com o filtro solar pode ficar exposta ao sol, em relação ao tempo que queimaria sem o uso do mesmo. O índice é estimado através da razão de tempo necessário para que uma determinada irradiação produza um mínimo eritema na pele protegida pelo filtro em relação à dose mínima para eritema (DME) sem a proteção (MILESI e GUTERRES, 2002).

É importante considerar que o FPS simula a proteção solar contra o eritema ou vermelhidão causado pela luz solar, mas não é suficiente como medida contra o fotoenvelhecimento e câncer de pele (OSTERWALDER e HERZOG, 2009).

Desta forma, a radiação UVA passou a ser considerada também um fator de risco nos últimos anos, por apresentar diversos efeitos maléficos ao organismo humano. Entre os métodos para avaliar formulações fotoprotetoras com relação ao nível de proteção contra os raios UVA destaca-se a quantificação através da medida do eritema provocado por aplicação de alta dose desta radiação na pele. O eritema mínimo induzido pelo UVA é determinado em indivíduos expostos a quantidades significativas de UVA sem e com o fotoprotetor em teste, e a partir dos valores encontrados calcula-se o fator de proteção no UVA (FPSA), semelhantemente à determinação do FPS (RIBEIRO, 2006).

Atualmente, o valor do FPS é classificado de acordo com uma faixa de proteção, conforme Tabela 1, proposta pela Food and Drug Administration-FDA (2007).

O FPS 30 é considerado como de alta proteção, pois filtra 96,7 % da dose de radiação UV que atinge a pele, enquanto um FPS 60 filtra 98,3 %, uma diferença de

apenas 1,6% a mais de proteção. A principal vantagem de um elevado valor de FPS é que o produto pode ser reaplicado com menor frequência, ou seja, ele é eficaz durante um maior intervalo de tempo. Para a obtenção de valores de FPS mais alto, utiliza-se uma mistura de diferentes compostos com fator de proteção solar na formulação (OSTERWALDER e HERZOG, 2009).

Para calcular o FPS, podem ser realizados testes *in vitro* ou *in vivo*. Os testes *in vitro* são realizados utilizando análises em espectroscopia, sendo mais simples, rápidos e baratos (MANSUR et al., 1986).

Tabela 1– Classificação de Fotoprotetores de acordo com os valores de FPS

Nível de Proteção	Valor do FPS
Máximo	>50
Alto	35 – 50
Médio	15 – 30
Baixo	2 – 15

2.3 MECANISMO DE PROTEÇÃO DOS FILTROS SOLARES

A proteção contra os raios solares pode ser obtida através de filtros inorgânicos e filtros orgânicos. Os filtros inorgânicos são representados pelo óxido de zinco e pelo dióxido de titânio, compostos opacos, insolúveis em água e materiais graxos, de origem mineral e apresentam alta capacidade de refletir a luz. Estes formam uma barreira opaca sobre a pele, refletindo, absorvendo e dispersando a luz UVA e, UVB que incide sobre a pele. Possuem baixo potencial alergênico, sendo utilizado em produtos infantis, linhas de uso diário e para peles sensíveis. Os compostos inorgânicos são semicondutores e seus elétrons são excitados quando estão sob ação da luz UV, sendo capazes de absorver esta radiação. Ao absorver a radiação, esta é convertida em forma de energia, como o calor, por exemplo (LAUTENSCHLAGER et al., 2007).

Já os filtros orgânicos, são formados por compostos aromáticos capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiações com energias menores e não prejudiciais ao ser humano. A eficiência de absorção de radiação UV pelo grupo cromóforo está relacionada à sua estrutura química; quanto maior a conjugação em uma molécula, menor a energia necessária para realizar a transição dos elétrons situados no orbital HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) para orbital LUMO (orbital molecular de mais baixa energia) e conseqüentemente a molécula absorverá radiação em comprimentos de onda maiores (LAUTENSCHLAGER et al., 2007). Diferentes rotas de retorno da molécula ao estado padrão com dissipação de energia podem ser observadas, algumas destroem a molécula através de fragmentação, reação biomolecular ou determinadas isomerizações, outras a preservam através da fluorescência, fosforescência, isomerizações e transferência de energia para outras moléculas. Deste mecanismo provém a fotoestabilidade do composto; se a rota não destrutível é predominante, ele é considerado estável, caso a rota destrutiva predomina, a molécula é considerada instável (LAUTENSCHLAGER et al., 2007).

De acordo com as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, um protetor solar deve ter um fator de proteção solar (FPS) igual ou maior que 6 (ANVISA, 2012) . De acordo com as recomendações da Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA), para serem consideradas protetor solar, a formulação deve ter um valor de FPS superior a 2. Entretanto, para garantir proteção adequada e minimizar os riscos de danos à pele, A FDA recomenda o uso regular de protetores solares com um valor de FPS 15 ou superior, combinado com outras medidas de proteção (FDA).

Sendo assim, compostos naturais estão sendo estudados em relação ao fator de proteção contra os raios UVA e UVB, e ausência de potencial tóxico ou alergênico para serem classificados como "protetores solares verdes".

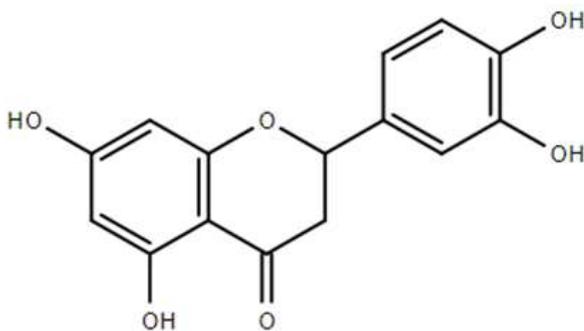
2.4 COMPOSTOS COM ATIVIDADE FOTOPROTETORA E/OU ANTIOXIDANTE

Estudos relataram os efeitos benéficos de compostos antioxidantes derivados de plantas, especialmente carotenoides e flavonóides, em protetores solares, elevando a proteção contra danos causados pelo sol (CEFALI et al., 2016; DORNAS et al., 2008). Curcumina, quercetina e resveratrol são exemplos de polifenóis com potencial antioxidante e fotoprotetor (DONGLIKAR e DEORE, 2017). Compostos fenólicos como flavonóides podem ser usados como filtros solares devido a presença de anéis aromáticos em suas estruturas, que podem absorver raios UV, especialmente UVA e UVB, em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm (CEFALI et al., 2016; DORNAS et al., 2008).

2.4.1 Quercetina

Os flavonoides constituem uma importante classe de compostos naturais conhecidos por terem atividade antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana. A quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavona) (Figura 1) é um flavonoide presente em quantidades elevadas em alguns alimentos como cebola, couve, brócolis, maçã (CEFALI et al., 2016), Ginkgo biloba (WATSON e OLIVEIRA, 1999), uva e vinho tinto (KEREM et al., 2004). Este flavonoide apresenta atividade antioxidante, antialérgica, anti-inflamatória, antiplaquetária, antimicrobiana, antineurodegenerativa, antitumoral e antiviral (DONGLIKAR e DEORE, 2017).

Figura 1– Estrutura química da quercetina



Fonte: Autor (2019)

A quercetina é largamente utilizada em formulações cosméticas, porém temperatura e luz são fatores que influenciam na sua atividade antioxidante e exigem certos cuidados durante o armazenamento, uma vez que podem ocasionar o decréscimo da atividade sequestradora de radicais livres desejada (MOURE et al., 2001).

Kostyuk et al., (2018) avaliaram substâncias naturais para a prevenção do fotoenvelhecimento cutâneo. Alguns polifenóis como taxifolina, silibinina, cloreto de cianidina, verbascosídeo, acacetina, kaempferol, quercetina, baicaleína e rutina mostraram-se eficazes na proteção contra raios UVB quando comparados com benzofenona-3, composto utilizado como filtro solar. Além disso morin, rutina, kaempferol, quercetina e baicaleína absorvem predominantemente na radiação UVA, enquanto a benzofenona-3 não obteve bons resultados de absorção nesta região.

Choquenot et al. (2008) incorporaram quercetina em emulsões de óleo-em-água, a uma concentração de 10% em massa, juntamente com compostos inorgânicos para avaliação do FPS. A quercetina demonstrou valores de FPS semelhantes ao homosalato, usado como substância padrão, tendo bons resultados associada aos filtros inorgânicos TiO₂ e ZnO. Ela também forneceu um nível considerável de fotoproteção na faixa de UVA.

2.4.2 Óleos vegetais

O desenvolvimento de formulações para proteção solar contendo extratos e óleos de plantas, que podem ser potencialmente seguros, também está sendo amplamente explorado. Os cosméticos à base de plantas são comumente usados para evitar o envelhecimento da pele, pois contêm agentes antioxidantes que minimizam a atividade dos radicais livres. Além de suas propriedades antioxidantes, os cosméticos à base de plantas protegem a pele contra a radiação solar porque contêm polifenóis, como flavonóides e carotenóides (CEFALI et al., 2016). Existem inúmeros estudos sobre os efeitos protetores e benéficos de espécies de plantas.

2.4.2.1 Óleo de café verde

O óleo do café torrado é muito utilizado na indústria alimentícia para conferir aroma a doces e bolos. Quando é extraído do café verde, o óleo é bastante utilizado na indústria cosmética por suas propriedades relacionadas à hidratação dérmica. Este é rico em fitoesteróis que promovem excelente hidratação, rápida penetração e boa aderência em aplicações cosméticas, além de ser rico em ácidos graxos essenciais (WAGEMAKER, 2009).

O óleo de café é uma fonte natural de antioxidantes pela presença dos ácidos clorogênicos, e também tocoferol, conhecido como vitamina E, capazes de reduzir a produção de radicais livres (IWAI et al., 2004). É uma substância bastante lipofílica e dificilmente lavável.

Wagemaker (2009) desenvolveu formulações cosméticas contendo óleo de café e confirmou ausência de toxicidade do óleo e das formulações nas condições de estudo. Confirmou também a percepção de pele macia e hidratada pela maioria das voluntárias após a aplicação das formulações, efeitos benéficos na proteção da barreira cutânea, efeitos fotoprotetores de redução da perda transepidermica de água e do número de células de queimadura solar e incremento de até 3.5 no FPS das formulações quando adicionado o óleo de café.

Chiaria et al. (2014) avaliou as propriedades do óleo dos grãos de café verde visando sua aplicação em filtros solares. O óleo mostrou um efeito sinérgico intenso no valor de FPS quando associado ao filtro de etil-esilhexilmetoxicinamato sintético, levando a um aumento de 20% no FPS. Além disso, a atividade antioxidante, a citotoxicidade e o fator de proteção solar (FPS) do OCV foram determinados. Os resultados mostram que não há efeito citotóxico para as células da pele in vitro, mesmo em altas concentrações. Os resultados sugerem o uso de óleo de café verde como um potencial produto natural para formulações de filtros solares para melhorar a eficiência e proteção contra danos à pele.

Assim, o óleo de café verde é um composto em potencial para substituir produtos químicos sintéticos em protetores solares, como uma rica fonte de antioxidantes e polifenóis.

2.4.2.2 Óleo de semente de romã

A romã é rica em muitos compostos fenólicos, que incluem flavonóides e taninos hidrolisáveis. O óleo da semente deste fruto possui alta atividade antioxidante e é caracterizado pelo elevado teor de ácidos graxos poliinsaturados como linolênico, linoleico e outros lipídeos como ácidos puníco, oleico, esteárico e palmítico (WANG et al., 2004).

Afaq et al. (2011) determinaram que o efeito de produtos derivados da romã, como suco, extrato e óleo da semente do fruto podem ser úteis contra danos mediados por UVB na pele humana, analisando o efeito na oxidação de proteínas induzida por UVB e marcadores de danos no DNA e fotoenvelhecimento.

Viuda-Martos et al. (2012) relataram que o ácido puníco possui propriedades anti-inflamatórias e antitumorais. Assim, o óleo da semente de romã tem grande potencial para ser utilizado como ingrediente na formulação de alimentos funcionais e na indústria farmacêutica.

Ahlers e McTaggart (1954) realizaram um estudo detalhado do espectro de absorção do óleo da semente de romã na região UV no qual identificaram uma região de absorção entre 250 – 300 nm, com principal banda em 275 nm. Esta característica torna o óleo de romã promissor para aplicação em filtro solares como proteção contra os raios UVB.

No trabalho de Niculae et al. (2014), uma nova aplicação de óleo de romã (PSO) no setor cosmético foi desenvolvida, com base na síntese de nanocápsulas lipídicas carregadas com PSO e vários filtros UV sintéticos (avobenzona, octocrileno, bemotrizinol). A eficiência de encapsulação obtida foi acima de 90% e os resultados asseguraram taxas de liberação lenta de filtros UV. As nanocápsulas desenvolvidas foram utilizadas para produzir filtros solares seguros e eficazes, contendo baixas quantidades de filtros UV sintéticos acoplados a um alto percentual de ingredientes naturais. O maior FPS de 34,3 foi obtido para um creme contendo 11% de PSO e 3,7% de bemotrizinol.

2.4.3 Óxido de zinco

O óxido de zinco é um semicondutor intrínseco do tipo n, pertence à classe dos óxidos condutores transparentes (TCO), sendo altamente transparente à luz visível e eletricamente condutor. Extraído de um mineral chamado zincita, o composto inorgânico com estequiometria ZnO apresenta-se como um pó de coloração branca, amorfo, com densidade igual a 5,6 g.cm⁻³, é uma molécula covalente, com hibridização sp³ e apresenta caráter anfótero, solúvel em ácidos e praticamente insolúvel em bases, álcool e água (JANOTTI e VAN DE WALLE, 2009).

Sua estrutura cristalina na forma hexagonal (wurtzita) é constituída por átomos de zinco (Zn²⁺) e oxigênio (O²⁻) coordenados tetraedricamente (GAO e WANG, 2004). É um material de fácil cristalização e quando está na forma de nanopartículas apresenta algumas mudanças em suas propriedades, tais como, área superficial e estrutural. Nos últimos anos, o ZnO vem sendo amplamente estudado para aplicação em diversos produtos como protetores solares, catalisadores, materiais luminescentes, tintas, fármacos, entre outros (CHIANG-TING et al., 2011).

O óxido de zinco é atóxico e inerte, muito utilizado em associação com filtros químicos para fotoprotetores de elevado FPS. Na forma micronizada, melhora as características sensoriais das formulações, facilitando o espalhamento sobre a pele e diminuindo o aspecto esbranquiçado após a aplicação (REINOSA et al., 2018)

Dado o crescente interesse comercial e científico no uso de nanopartículas de TiO₂ e ZnO em filtros solares, Smijs e Pavel (2011) realizaram um estudo sobre dados da eficácia e segurança das formulações de filtros solares nanoparticulados existentes na literatura. A segurança diz respeito principalmente aos estudos de penetração na pele e produção de ROS, que pode levar a citotoxicidade e genotoxicidade. O revestimento das NPs reduz os efeitos tóxicos, especialmente quando revestimentos à base de sílica são usados, mas não podem impedir completamente esses efeitos. Para minimizar os riscos e otimizar a eficácia dos filtros solares nanoparticulados, pesquisas vem sendo desenvolvidas com foco na exposição da pele humana subcrônica (queimada pelo sol) e a (foto) estabilização e otimização do tamanho das NPs dos filtros solares. Além disso, busca-se evitar a produção de ROS, em vez de extinguir seus efeitos.

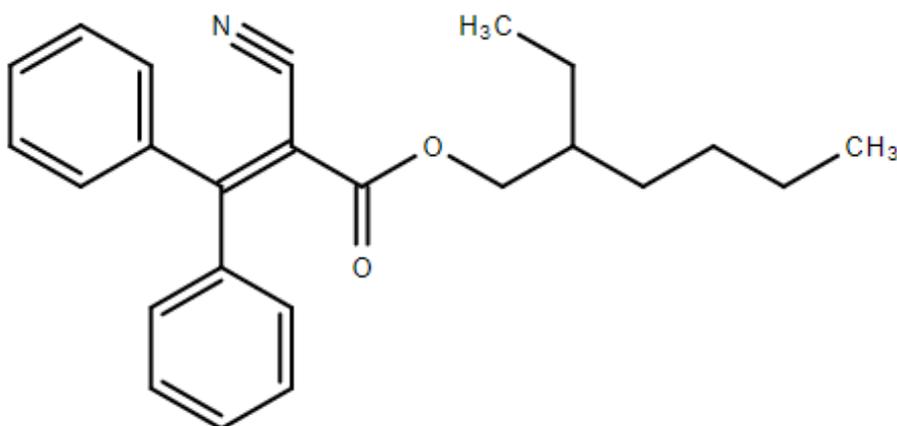
Choquenot et al. (2008) avaliaram a utilização de quercetina e rutina em conjunto com partículas inorgânicas em emulsões óleo-em-água, na concentração de 10% (p / p) para aplicação em filtros solares. O FPS obtido foi de aproximadamente 10 para a combinação com óxido de zinco e 30 para o dióxido de titânio.

2.4.4 Octocrileno

O octocrileno (2-ciano-3,3-difenilacrilato de 2-etil-hexila) (Figura 2) é um filtro químico muito utilizado em formulações de protetores solares, apresentando boa absorção da radiação UVB, com pico de absorção em 305nm (PRISANA e HENRY W. LIM, 2011).

Trata-se de uma molécula orgânica, da classe dos cinamatos, com uma insaturação extra conjugada com o anel benzênico e o grupamento carbonila, como apresentado na Figura 2, permitindo o deslocamento de elétrons (LOPES e BATISTA, 2013). É considerado um filtro químico com elevada fotoestabilidade (HEXSEL et al., 2008).

Figura 2– Estrutura molecular do composto octocrileno (OC).



Fonte: Autor (2019)

2.5 NANOENCAPSULAÇÃO

Nanocápsulas poliméricas são definidas como carreadores sólidos, de tamanho submicrométrico, geralmente entre 1 a 1000 nm (REIS *et al.*, 2006), que sejam de preferência biodegradáveis e biocompatíveis quando se trata de carreadores de princípios ativos (KUMARI e YADAV *et al.*, 2010).

As nanopartículas possuem várias vantagens para a administração cutânea (ALVAREZ-ROMÁN *et al.*, 2001; ALVES *et al.*, 2007). Os tamanhos de partícula pequenos permitem contato próximo com o estrato córneo e aumentam a quantidade de substância encapsulada penetrando na pele. A incorporação de fármacos em nanopartículas pode estabilizar quimicamente os componentes de interesse (MÜLLER *et al.*, 2004). A incorporação de óleos proporciona melhorias quanto à solubilidade, dispersibilidade em meio aquoso e redução das perdas devido à ligação com componentes dispersos no meio (SHAH *et al.*, 2013).

De acordo com Jiménez e colaboradores (2004), as nanocápsulas foram introduzidas veículos inovadores para cosméticos, especialmente para bloqueadores de UV para uso em pele humana e / ou cabelo.

Existem diversas técnicas utilizadas para encapsular compostos de interesse, tais como polimerização em emulsão, polimerização em miniemulsão e técnicas de dispersão utilizando polímero pré-formado.

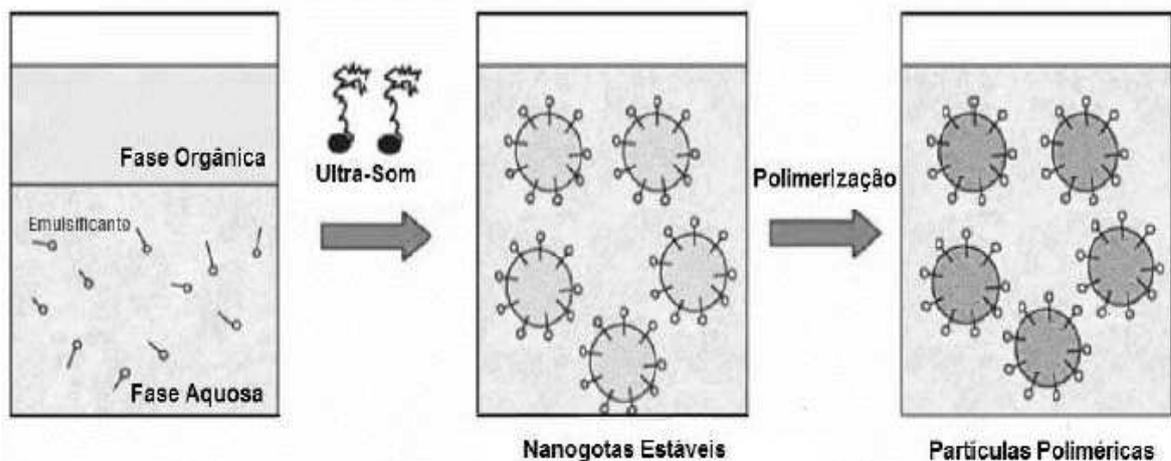
2.5.1 Nanoencapsulação via polimerização em miniemulsão

Nesta técnica, aplica-se alta tensão de cisalhamento para formação de gotas pequenas e estáveis em uma fase contínua. As gotas possuem uma fase orgânica, composta por monômero e coestabilizador, e uma fase aquosa, composta por água e emulsificante. Estas pequenas gotas agem como nanorreatores, e em cada uma delas ocorrem as reações de polimerização dentro da gota e na sua superfície (LANDFESTER, KATHARINA, 2009). O mecanismo do processo de polimerização via miniemulsão é representado na figura 2.

O tamanho das nanogotas pode variar entre aproximadamente 50 e 500 nm, dependendo do tipo e concentração de surfactante utilizado na formulação e também

da força de cisalhamento aplicada na formação da miniemulsão. Diferentes combinações de coestabilizadores e iniciadores são possíveis, influenciando na formação e na natureza das nanopartículas. O coestabilizador previne a degradação de Ostwald, ou degradação difusional, diminuindo a difusão do monômero e a consequente desestabilização do sistema. Este é geralmente um composto hidrofóbico de baixa massa molar, apresentando baixa solubilidade na fase contínua e boa solubilidade na fase dispersa. O surfactante auxilia na estabilidade da miniemulsão, diminuindo a coalescência das gotículas (ASUA, 2002).

Figura 3 - O mecanismo do processo de polimerização via miniemulsão



Fonte: (LANDFESTER, K., 2006)

Como a reação ocorre dentro das nanogotas, nenhuma difusão é necessária, vários monômeros podem ser utilizados, como estireno, metacrilato, acrilamidas, acrilatos entre outros. A copolimerização entre monômeros hidrofóbico e hidrofílico também pode ser utilizada. Além disso, inúmeras polimerizações tornam-se possíveis, como radicalar, não-radicalar, aniônica, catiônica, catalítica, polimerização via metátase por abertura de anel e dienos acíclicos, poliadição, policondensação, polimerização enzimática entre outras (LANDFESTER, KATHARINA, 2009). A técnica permite a encapsulação de compostos inorgânicos e compostos orgânicos, sendo

possível também a encapsulação simultânea dos mesmos (LANDFESTER, KATHARINA et al., 2010).

Alguns autores avaliaram a utilização de coestabilizadores alternativos, que possuam outras propriedades de interesse além de estabilizar a miniemulsão, como óleo de andiroba (LORCA et al., 2009); óleo de cravo (MENESES et al., 2017); óleo de semente de girassol e ácido linoleico (GUO e SCHORK, 2008); óleo de mamona (COSTA et al., 2016); óleo de argan e óleo de coco (BIGON et al., 2018).

Os coestabilizadores podem interferir na morfologia e distribuição da massa molar das nanopartículas, e também na taxa de reação pois a presença de insaturações na cadeia aumenta a probabilidade de reação entre o polímero e as duplas ligações dos coestabilizadores, retardando a polimerização (GUO e SCHORK, 2008).

Os compostos encapsulados podem ser continuamente liberados para o ambiente externo por um longo período de tempo. Para sistemas poliméricos, a taxa de liberação dependerá principalmente das propriedades do polímero. Popadyuk et al. (2016) e Theisinger et al. (2009) mostraram uma estreita relação entre a liberação de fragrâncias encapsuladas de nanocápsulas poliméricas e a temperatura de transição vítrea do polímero (T_g). Em ambos os estudos, as fragrâncias foram encapsuladas via polimerização em miniemulsão. Gomes et al. (2019) ajustou a temperatura de transição vítrea (T_g) das nanoesferas produzidas ajustando a razão entre o os monômeros metacrilato de n-butila e o metacrilato de metila para encapsulação de N,N-diethyl-meta-toluamide, com o objetivo de melhorar a liberação do composto que possuía propriedades repelentes.

2.5.2 Nanoencapsulação de quercetina

A nanoencapsulação melhora a solubilidade e os perfis farmacocinéticos de drogas insolúveis, como no caso da quercetina. Em muitos casos, o fornecimento direcionado de fármaco é aumentado, a biodisponibilidade melhorada, enquanto a toxicidade é reduzida (NATHIYA et al., 2016). Alguns autores já investigaram a encapsulação de quercetina. Poletto et al. (2008) verificaram que a

nanoencapsulação simultânea de quercetina e do filtro solar octilmetoxicinamato retardou a fotodegradação de ambos os componentes sob radiação ultravioleta devido à suas propriedades antioxidantes. Neste trabalho as nanocápsulas foram sintetizadas pela técnica de deposição interfacial (nanoprecipitação) do polímero policaprolactona.

Kumari e Kumar e et al., (2010) estudaram a encapsulação de quercetina em nanopartículas de poli D, L-lactide (PLA) pelo método de evaporação de solvente. A eficiência de nanoencapsulação avaliada por HPLC e ensaio antioxidante foi de 96,7%.

Bernardy et al., (2010) avaliou a nanoencapsulação de quercetina, via polimerização de miniemulsão de metacrilato de metila, usando crodamol GTCC como coestabilizador e lecitina como surfactante. Os autores avaliaram o efeito da relação monômero / coestabilizador e também compararam os iniciadores Azobisisobutironitrilo (AIBN) e par redox composto por peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico. Reações realizadas na presença de quercetina mostraram menores taxas de polimerização, indicando que a presença de quercetina inibe (par redox) e / ou retarda (AIBN) a reação de polimerização. Maior recuperação de quercetina foi obtida para nanocápsulas quando comparado com nanoesferas.

2.5.3 Nanoencapsulação de partículas inorgânicas

A encapsulação de nanopartículas inorgânicas para aplicação em cosméticos e fármacos é utilizada com o objetivo de prevenir a toxicidade, a aglomeração do material, conferir propriedades paramagnéticas, fotocatalíticas ou de barreira UV às partículas poliméricas, entre outros. (ZHANG et al., 2006). No processo de polimerização via miniemulsão, as nanopartículas inorgânicas são dispersas diretamente no monômero, e devem estar estáveis dentro das gotas durante a polimerização (LANDFESTER, KATHARINA, 2009). O grupo de miniemulsão do Laboratório de Controle de Processos (LCP) da Universidade Federal de Santa

Catarina obteve resultados satisfatórios no estudo do nanoencapsulamento de algumas nanopartículas inorgânicas em matrizes poliméricas através da polimerização em mini emulsão. Nanopartículas de fosfato de alumínio, (AlPO_4) hidrofobizadas com MPS foram encapsuladas em um copolímero composto por estireno e acrilato de n-butila (Costa, 2010); Nanopartículas de níquel metálico (Ni^0) hidrofobizadas com MPS e ácido oleico (Romio, 2011) e oleilamina e trifetilfosfina (Staudt et al., 2013) foram encapsuladas em poliestireno, e em poli metacrilato de metila; Magnetita (Fe_3O_4) hidrofobizada com ácido oleico foi encapsulada em poli metacrilato de metila (Feuser et al., 2015).

As nanopartículas inorgânicas possuem uma alta tensão superficial, e apresentam uma baixa estabilidade para dispersão tanto em meio aquoso quanto orgânico, o que dificulta o processo de nanoencapsulação. Para reduzir este problema, pode ser realizado o recobrimento da superfície das nanopartículas com surfactantes, compostos hidrofóbicos ou poliméricos, com o objetivo de gerar uma forte repulsão entre as nanopartículas, diminuindo a aglomeração e facilitando a dispersão das nanopartículas para posterior encapsulação. Neste caso o composto utilizado atua como estabilizante das partículas coloidais inorgânicas (KICKELBICK, 2003)

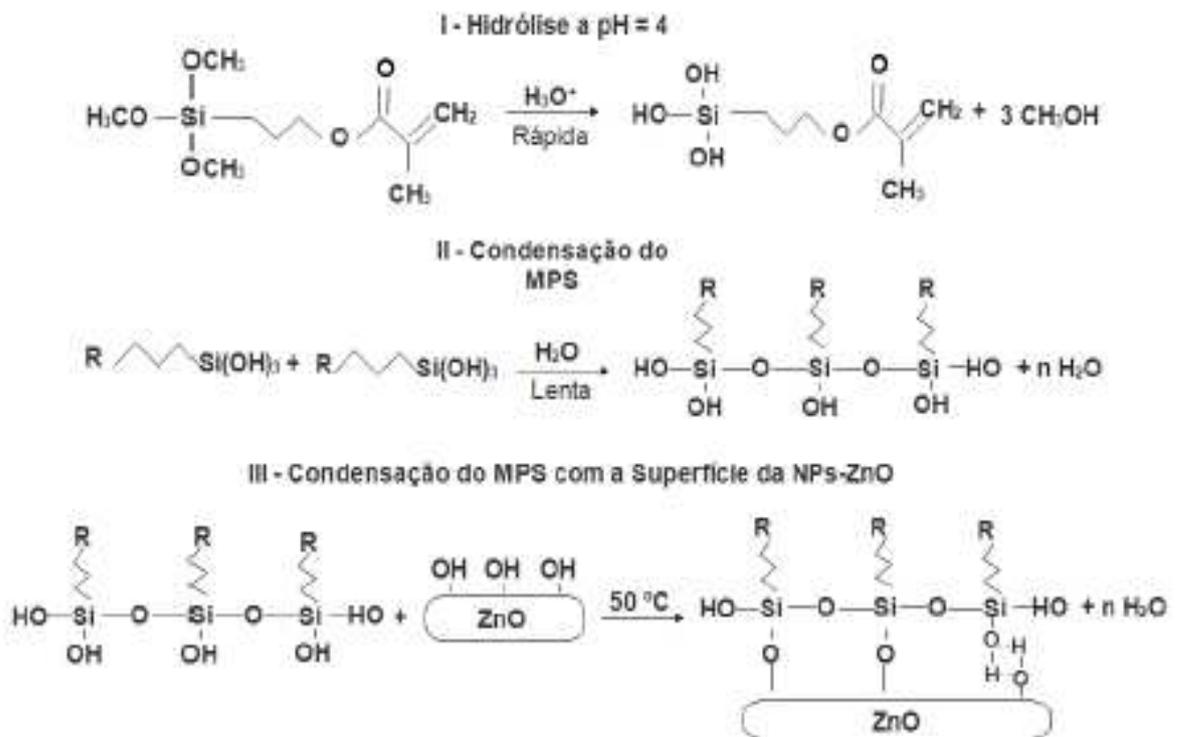
Outra forma de tratamento seria a formação de ligações covalentes, ou enxertia, dos agentes de acoplamento, que podem apresentar grupos silanos, alcóxidos metálicos, epóxidos, aril ou alquil isocianatos. Os organosilanos são agentes de acoplamento muito utilizados para modificação da superfície de nanopartículas inorgânicas. Possuem uma dupla função devido a sua estrutura química de forma geral $\text{R}-(\text{CH}_2)_n\text{-Si}-(\text{OR}')_3$. De um lado, os grupos $(\text{OR}')_3$ sofrem hidrólise, formando silanóis (Si-OH) que condensam e reagem com o substrato inorgânico, enquanto o grupo R reage com as espécies ativas durante a polimerização. O grupo $\text{R}-(\text{CH}_2)_n\text{-Si}$ constitui a parte não hidrolisável da molécula e a adesão acontece pela formação de pontes de hidrogênio e ligações covalentes (XIANG et al., 2015; ZHAO et al., 2012), conforme esquematizado na Figura 3.

O reagente 3-trimetoxisilil propil metacrilato (MPS) pode ser utilizado para as reações de hidrólise e condensação com a superfície de nanopartículas de ZnO . Quanto maior for o número de grupos Si-OH formados, maior será a interação com as

NPs inorgânicas. Na reação I (Figura 4) acontece a hidrólise da molécula em pH ácido, visto que nesta faixa de pH o mecanismo de hidrólise é favorecido, seguido da reação de condensação do reagente (II), e do reagente com as hidroxilas da superfície das nanopartículas (III) (ZHANG et al., 2006)

Zhang e colaboradores (2006) avaliaram a porcentagem do agente modificador de superfície (MPS) utilizados em nanopartículas de ZnO para encapsulação em nanopartículas de poliestireno. Para utilização de menores quantidades de MPS na etapa de modificação, as nanopartículas inorgânicas permanecem na superfície da partícula polimérica final, enquanto que com uma porcentagem maior de MPS as nanopartículas de ZnO são encapsuladas, permanecendo dentro da partícula final.

Figura 4 - Reação do agente de acoplamento MPS com a superfície das NPs-ZnO



Fonte: FRIZZO (2016)

Alguns estudos já investigaram técnicas para encapsulação de NPs de ZnO para aplicação na proteção contra a radiação UV. Liu (2006) utilizou a técnica de polimerização em microemulsão para encapsular NPs-ZnO hidrofobizadas com ácido oleico. Tang et al. (2006) utilizaram a técnica de polimerização em emulsão para encapsular NPs-ZnO hidrofobizadas com 3-trimetoxisilano propil metacriloxi em PMMA, e em outro trabalho semelhante, os autores realizaram a encapsulação do composto em poliestireno (PS), ao invés de PMMA (TANG et al., 2007).

Poucos trabalhos são encontrados na literatura sobre a encapsulação de nanopartículas de óxido de zinco utilizando a técnica de polimerização em miniemulsão. FRIZZO et al. (2019) encapsulou nanopartículas inorgânicas de ZnO com superfície previamente modificada com MPS em poli(estireno-co-metacrilato de metila), pelo método de polimerização em miniemulsão para aplicação em filtros solares. Neste estudo obteve-se uma boa eficiência de encapsulação e o fator de proteção solar do látex obtido foi satisfatório. Além disso o autor avaliou que a atividade fotocatalítica das NPs-ZnO é reduzida quando estas se encontram encapsuladas em matriz polimérica PMMA-PS, diminuindo a geração de radicais livres.

2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS REFERENTES AO ESTADO DA ARTE

Tendo em vista o potencial dos compostos abordados nesta revisão bibliográfica para a proteção contra os raios solares e contra o estresse oxidativo, além, da viabilidade para a encapsulação dos mesmos em nanopartículas poliméricas, o presente trabalho propôs a encapsulação de quercetina e de nanopartículas de ZnO modificadas com MPS via polimerização em miniemulsão para aplicação como filtro solar, de forma que os latexes obtidos possam ser combinados para obter um produto com proteção solar e atividade antioxidante. Para tanto, o coestabilizador das formulações foi substituído por óleos vegetais, como óleo de café verde e óleo de semente de romã, que possuem potencial atividade antioxidante e FPS, além de outras propriedades benéficas à pele.

Além dos monômeros metacrilato de metila e estireno, utilizados por alguns autores para a encapsulação via polimerização em miniemulsão (BERNARDY et al.,

2010; FEUSER et al., 2016; FRIZZO, Marcela S. et al., 2019; ZHANG et al., 2006) este trabalho propõe o uso também de metacrilato de butila na formulação, para obter um copolímero com menor temperatura de transição vítrea, como observado por Gomes et al. (2019), com o objetivo de melhorar a espalhabilidade e retenção do látex na pele. O látex obtido foi avaliado referente a sua viabilidade de aplicação como loção fotoprotetora.

CAPÍTULO III

3MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo descreve os reagentes, procedimentos experimentais e as técnicas utilizadas para a síntese e caracterização das nanopartículas poliméricas carregadas com compostos fotoprotetores.

3.1MATERIAIS

Na reação de encapsulação da quercetina dihidratada (Sigma-Aldrich), foram utilizados o monômero metacrilato de butila (BMA, $C_8H_{14}O_2$) (Sigma-Aldrich P.A), metacrilato de metila (MMA, $C_5H_8O_2$) (Vetec, P.A) e estireno (ST, C_8H_8) (Innova S.A.), iniciador AIBN (Vetec P.A), par de emulsificantes Tween 80 e Span 80 (Vetec), crodamol GTCC (Alpha Química), óleo de café verde e óleo de semente de romã (Mundo dos Óleos) como coestabilizadores. Água destilada foi utilizada como meio contínuo para a miniemulsão.

Para a encapsulação das NPs de óxido de zinco (ZnO) de área superficial entre $15-25 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ e tamanho de partícula inferior a 100 nm (Sigma-Aldrich), foi utilizado, na etapa de modificação da superfície das NPs inorgânicas, água destilada e etanol (C_2H_5OH) (Neon, P.A) como solventes, 3-trimetoxisilil propil metacrilato (MPS) (Sigma-Aldrich) como agente de acoplamento e ácido acético (CH_3COOH) (Vetec, P.A.) para ajuste de pH. As reações de polimerização em miniemulsão foram realizadas com os monômeros metacrilato de butila ($C_8H_{14}O_2$) (Sigma-Aldrich P.A), metacrilato de metila (MMA, $C_5H_8O_2$) (Vetec, P.A) e estireno (ST, C_8H_8) (Innova S.A) coestabilizador Crodamol GTCC (Alfa Química), surfactante Lutensol AT50 (BASF), iniciador persulfato de potássio (KPS, $K_2S_8O_2$) (Vetec, P.A) e agente tamponante bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) (Vetec, P.A). Óleo de café verde (Mundo dos Óleos) e Univul N539T octocrileno (OC) (BASF) também foram utilizados como coestabilizadores na formulação.

Os solventes metanol e etanol (Neon, P.A.) foram utilizados para avaliar a região de absorção da radiação UV dos compostos de interesse e a eficiência de encapsulação dos mesmos. Todos os reagentes foram utilizados como recebidos.

3.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Encapsulação de quercetina em nanopartículas poliméricas por polimerização em miniemulsão

Este procedimento experimental e as formulações utilizadas basearam-se no trabalho de Bernardy (2010). Primeiramente, foram conduzidas reações de polimerização em miniemulsão sem a adição de quercetina, em diferentes matrizes poliméricas (Tabela 2) e substituindo o coestabilizador crodamol total ou parcialmente pelos óleos vegetais (óleo de café verde e óleo de semente de romã) utilizando a matriz polimérica PBMA/PMMA/PS (Tabela 3).

Tabela 2 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com diferentes monômeros

Reagentes (g)	Reações		
	R1-0 (MMA)	R1-0 (MMA/ST)	R1-0 (BMA/MMA/ST)
Fase Aquosa			
H ₂ O	12,000	12,000	12,000
Tween 80	0,100	0,100	0,100
Fase Orgânica			
Crodamol	1,500	1,500	1,500
Span 80	0,050	0,050	0,050
BMA	-	-	1,5
MMA	1,5	0,75	-
ST	-	0,75	-
AIBN	0,035	0,035	0,035

Tabela 3 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com diferentes coestabilizadores

Reagentes (g)	Reações			
	R2-0 (BMA/MMA/ST)	R3-0 (BMA/MMA/ST)	R4-0 (BMA/MMA/ST)	R5-0 (BMA/MMA/ST)
Fase Aquosa				
H2O	12,000	12,000	12,000	12,000
Tween 80	0,100	0,100	0,100	0,100
Fase Orgânica				
OCV	-	1,500	-	0,750
OSR	1,500	-	0,750	-
Crodamol	-	-	0,750	0,750
Span 80	0,050	0,050	0,050	0,050
BMA	0,900	0,900	0,900	0,900
MMA	0,300	0,300	0,300	0,300
ST	0,300	0,300	0,300	0,300
AIBN	0,035	0,035	0,035	0,035

A fase orgânica, ou dispersa, foi preparada misturando o coestabilizador (crodamol e/ou óleo vegetal), monômeros BMA, MMA e ST, surfactante Span 80 e o AIBN, agitando por 30 minutos utilizando agitador magnético. A fase aquosa, ou contínua, composta pela água e Tween80, também foi submetida à agitação magnética durante 30 minutos, separadamente. As duas fases foram misturadas e mantidas por mais 30 minutos de agitação magnética. A miniemulsão foi preparada utilizando o dispersor de ultrassom (Fisher Scientific, Sonic Dismembrator Modelo 500) durante 6 minutos, 10 segundos de sonicação e 10 segundos de pausa, com amplitude de 70%. Para evitar o aumento de temperatura durante a dispersão por ultrassom, o frasco contendo a miniemulsão foi imerso em um banho de gelo. Em seguida, o látex foi colocado em tubos de ensaio com fundo redondo e atmosfera de nitrogênio e as reações de polimerização foram realizadas em banho termostático a 70 °C durante 5 horas.

Para as reações de polimerização em miniemulsão com encapsulação da quercetina, foram utilizadas as formulações apresentadas na Tabela 4.

Primeiramente, a quercetina foi solubilizada no coestabilizador, utilizando dispersor de ultrassom (Sonics Vibra Cell, Modelo VC505) por 4 minutos, 10 segundos de sonicação e 5 segundos de pausa. O restante do procedimento foi realizado exatamente como descrito anteriormente. Algumas das formulações também foram testadas utilizando apenas os monômeros MMA e ST como apresentado na Tabela 5, com o objetivo de comparar os resultados com as formulações utilizando também o monômero BMA.

Tabela 4 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com quercetina em matriz polimérica PBMA-PMMA-PS

Reagentes (g)	Reações				
	R1-Q (BMA/MMA/ST)	R2-Q (BMA/MMA/ST)	R3-Q (BMA/MMA/ST)	R4-Q (BMA/MMA/ST)	R5-Q (BMA/MMA/ST)
Fase Aquosa					
H2O	12,000	12,000	12,000	12,000	12,000
Tween 80	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Fase Orgânica					
Quercetina	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
OCV	-	-	1,500	-	0,750
OSR	-	1,500	-	0,750	-
Crodamol	1,500	-	-	0,750	0,750
Span 80	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
BMA	0,900	0,900	0,900	0,900	0,900
MMA	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
ST	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
AIBN	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035

Tabela 5 - Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com quercetina em matriz polimérica PMMA-PS.

Reagentes (g)	Reações			
	R1-0 (MMA/ST)	R1-Q (MMA/ST)	R2-Q (MMA/ST)	R5-Q (MMA/ST)
Fase Aquosa				
H ₂ O	12,000	12,000	12,000	12,000
Tween 80	0,200	0,200	0,200	0,200
Fase Orgânica				
Quercetina	0,015	0,015	0,015	0,015
Óleo Café Verde	-	-	-	1,500
Óleo S. de Romã	-	-	1,500	-
Crodamol	1,500	1,500	-	-
Span 80	0,100	0,100	0,100	0,100
MMA	0,750	0,750	0,750	0,750
ST	0,750	0,750	0,750	0,750
AIBN	0,035	0,035	0,035	0,035

3.2.2 Modificação da superfície das NPs de ZnO

A modificação superfície das NPs-ZnO foi realizada para aumentar a sua afinidade com os monômeros e assim favorecer a sua encapsulação. O agente de acoplamento 3-trimetoxisilil propil metacrilato (MPS) foi utilizado para incorporar grupos reativos à superfície das NPs inorgânicas.

Uma solução de 500 mL contendo 10% (v/v) de água destilada e 90% (v/v) de etanol foi preparada para ser utilizada como solvente. 5 g de NPs-ZnO foram dispersos em 250 mL desta solução usando o banho de ultrassom (Unique, Maxiclean Modelo 750) durante 60 minutos e, posteriormente, o dispersor ultrassônico (Fisher-Scientific-Ultrasonic Dismembrator 500, 400 W) durante 60 segundos com 70% de amplitude, com intervalo de pulso (10 segundos de sonicação/10 segundos de pausa). Após a dispersão, a solução ficou em repouso por 120 minutos, para decantar NPs-ZnO com maior tamanho/densidade existentes, e apenas o sobrenadante contendo as NPs-ZnO menores foi utilizado na reação.

Em um balão de fundo redondo foram adicionados os 250 mL restantes da solução água/etanol inicial; nesta etapa foi necessário ajustar o pH da solução com ácido acético para 4.2, com auxílio de um pHmetro (Anolion pHmetro NA2000). Em seguida, o MPS foi adicionado ao balão e deixado sob agitação magnética por 60 minutos. A solução contendo as NPs-ZnO foi adicionada à solução com MPS e deixada sob refluxo em atmosfera de nitrogênio e agitação magnética em banho de areia a 50 °C por 21 horas. Após 3 horas de resfriamento até atingir temperatura ambiente, as NPs-ZnO/MPS modificadas foram centrifugadas a 4000 rpm por 30 minutos (centrífuga Centribio 80-2B) e lavadas com etanol 4 vezes para retirada de todo o MPS livre. As NPs-ZnO/MPS obtidas foram colocadas em estufa a 60 °C por 24h e após secagem foram maceradas e armazenadas em frasco fechado para posterior encapsulação. O procedimento experimental utilizado foi baseado nos trabalhos de Frizzo (2019) e Romio (2012).

3.2.31.1.1 Encapsulação das NPs-ZnO/MPS em nanopartículas poliméricas via polimerização em miniemulsão

As formulações e procedimentos utilizados nesta etapa foram baseadas no trabalho apresentado por Frizzo (2019). Além de utilizar o coestabilizador crodamol, este foi substituído pelo filtro solar químico octocrileno ou pelo óleo de café verde, conforme as formulações apresentadas na Tabela 6.

A fase aquosa foi preparada misturando o surfactante Lutensol AT50 e a água durante 60 minutos em agitador magnético. As NPs de ZnO-MPS foram dispersas nos monômeros com o auxílio de um vórtex durante 60 segundos. Em seguida, o coestabilizador foi adicionado e a fase orgânica foi homogeneizada em banho de ultrassom por 30 minutos. As duas fases foram emulsionadas em banho de ultrassom por 30 minutos e em dispersor ultrassônico (Sonics Vibra Cell, Modelo VC505) por 4 min, com 40% amplitude e pulso de 10 segundos de sonicação e 5 segundos de pausa. O iniciador KPS foi adicionado à miniemulsão e a reação de polimerização

aconteceu em balão de fundo redondo de 50 mL e atmosfera de nitrogênio, sob agitação magnética em banho de água a 70°C por 4h.

O procedimento sofreu uma pequena alteração na preparação da fase aquosa quando utilizado o octocrileno, onde as soluções de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e de Lutensol AT50 foram agitadas separadamente por 15 minutos para total dissolução e então foram misturadas sob agitação magnética por 30 minutos. Uma formulação sem as partículas inorgânicas foi elaborada como branco para posterior caracterização e comparação.

Tabela 6 – Formulações das reações de polimerização em miniemulsão com NPs-ZnO/MPS

Reagentes (g)	Reações			
	R6-0 (BMA/MMA/ST)	R6-ZnO (BMA/MMA/ST)	R7-ZnO (BMA/MMA/ST)	R8-ZnO (BMA/MMA/ST)
Fase Aquosa				
H ₂ O	7,800	7,800	7,800	7,800
Lutensol AT50	0,085	0,085	0,085	0,085
NaOHCO ₃	-	-	-	0,0025
Fase Orgânica				
ZnO-MPS	-	0,630	0,630	0,630
Crodamol	1,500	0,350	-	-
OCV	-	-	0,350	-
OCT	1,500	-	-	0,350
BMA	1,250	1,250	1,250	1,250
MMA	0,416	0,416	0,416	0,416
STY	0,416	0,416	0,416	0,416
KPS	0,060	0,060	0,060	0,060

3.3 CARACTERIZAÇÕES

3.3.1A Análise da absorção do comprimento de onda dos compostos de interesse

A região de absorção dos compostos quercetina, óleo de café verde e semente de romã foram analisados na faixa de absorção dos raios UVA e UVB, utilizando o espectrofotômetro UV/VIS marca HITACHI, U-1900. Os espectros de absorção na região entre 290 e 490 nm foi obtido para cada composto. Para realização da leitura, a quercetina foi diluída em metanol (16 µg/mL) e os óleo de café verde e semente de romã foram diluídos em etanol, com diluições 0,13 e 12,0 mg/ml respectivamente.

3.3.2 Análise de grupos químicos por Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier

Foram analisadas amostras das NPs-ZnO antes da modificação, do MPS puro e das NPs-ZnO/MPS após modificação. Assim, foi possível detectar as principais bandas de absorção referentes aos grupos funcionais de cada um dos componentes puros e avaliar qualitativamente o processo de modificação das NPs-ZnO, pela detecção dessas bandas nas NPs-ZnO/MPS modificadas. As amostras foram preparadas utilizando pastilha de brometo de potássio (KBr) e analisadas com resolução de 4 cm⁻¹, 32 varreduras em um intervalo de 4000-400 cm⁻¹, no espectrômetro IR Prestige-21 da marca Shimadzu.

3.3.3 Quantificação do percentual de MPS incorporado na superfície das NPs-ZnO

Uma alíquota do sobrenadante separado após a etapa de centrifugação da reação de modificação da superfície das NPs-ZnO foi analisada no espectrofotômetro UV/VIS marca HITACHI, U-1900 no comprimento de onda de 201 nm, utilizando

cubeta de quartzo. A concentração de MPS que não reagiu foi calculada usando a Equação 1, obtida a partir da curva de calibração (Apêndice A), Equação 1, elaborada com diferentes concentrações conhecidas de MPS diluído em etanol.

$$Abs = (64411 \times C_{livre}) \quad (1)$$

Onde, Abs é a absorvância em 201 nm, e C_{livre} é a concentração de MPS livre em $g \cdot mL^{-1}$.

Conhecida a concentração de MPS livre no sobrenadante, C_{livre} , o percentual incorporado de MPS, PI, foi calculado usando a Equação 2.

$$PI(\%) = \frac{(C_{inicial} - C_{livre})}{C_{inicial}} \times 100 \quad (2)$$

Onde, C_{livre} é o valor em $(g \cdot mL^{-1})$ de MPS livre determinado pela equação 1, e $C_{inicial}$ é o total de MPS $(g \cdot mL^{-1})$ adicionado inicialmente na reação de modificação.

3.3.4 Conversão por gravimetria das reações de polimerização com e sem quercetina

A determinação da conversão por gravimetria é baseada na razão entre a massa de polímero final e a massa de monômero inicial da reação. Uma alíquota de aproximadamente 1 mL do látex obtido após a reação de polimerização foi misturada com uma gota de hidroquinona, adicionada para parar a reação, e colocada em estufa de ventilação forçada por 24 horas a temperatura de 60°C. A massa de polímero foi calculada subtraindo a massa de hidroquinona adicionada e a fração de sólidos não polimerizáveis, como surfactante, coestabilizador, iniciador e composto encapsulado, presentes no resíduo seco.

3.3.5 Morfologia das partículas

A técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), foi utilizada para verificar a morfologia das NPs carregadas de quercetina. A análise foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC com o equipamento da marca JEOL, modelo JEM-1011, voltagem de aceleração máxima de 100 kV e faixa de magnificação de 50 a 600.000 vezes.

As amostras de látex foram diluídas em água destilada (0,25%) e gotejadas sobre grids de carbono de 300 mesh recobertos com cobre. Após secagem em temperatura ambiente por 24 h, as amostras foram recobertas com carbono e posteriormente analisadas.

3.3.6 Diâmetro médio das partículas e estabilidade

O diâmetro médio tanto das gotas de monômero (D_g), quanto das partículas de polímero (D_p) e o índice de polidispersão (Pdl) foram analisados pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (Dynamic Light Scattering-DLS). As leituras das amostras (miniemulsão inicial, látex após polimerização e látex após 15 dias) foram feitas no equipamento Zetasizer Nano S, da Malvern Instruments. As amostras foram diluídas em água destilada. Os valores finais foram expressos pela média de três medidas.

3.3.7 Doseamento da quercetina nas miniemulsões

Para quantificar a quercetina incorporada nas miniemulsões, foi preparada uma solução contendo 0,5 ml do látex e 9,5 mL de metanol, deixada em repouso durante 24 horas, para o inchamento das nanocápsulas e liberação da quercetina encapsulada. As amostras foram então centrifugadas durante 60 minutos a 4000 rpm (Centrífuga Centribio 80-2B). A absorbância do sobrenadante foi medida em

espectrofotômetro no comprimento de onda de 371 nm, utilizando o espectrofotômetro UV/VIS (marca HITACHI, U-1900).

As absorbâncias medidas foram comparadas com uma curva de calibração de quercetina, Equação 3, construída com amostras em triplicata na faixa de concentrações de 2,0 a 16 µg/mL (Apêndice A). A porcentagem de quercetina incorporada na miniemulsão foi calculada de acordo com a equação 4:

$$Abs_{QUE} = 0,067C_{incorporada} \quad (3)$$

$$Que_{incorporada}(\%) = \frac{(C_{inicial} - C_{incorporada})}{C_{inicial}} \times 100 \quad (4)$$

Onde, $C_{incorporada}$ é o valor em (µg.mL⁻¹) de quercetina incorporada na miniemulsão, determinado pela equação 1 e $C_{inicial}$ é o total em (µg.mL⁻¹) de quercetina adicionada à reação.

3.3.8 Eficiência de encapsulação das NPs-ZnO/MPS

A quantificação de NPs-ZnO/MPS incorporadas nas nanopartículas poliméricas foi realizada utilizando o forno Mufla da marca Marqlabor. O látex obtido após a reação de polimerização foi deixado em repouso por 48h em geladeira para precipitação do ZnO não encapsulado, já que o ZnO possui massa específica aproximadamente 5 vezes maior que o polímero. O precipitado foi então separado, seco em estufa a 60 °C por 24h e em seguida queimado em mufla a 600 °C por 1h em cadinhos de porcelana. A massa das amostras foi analisada na balança da marca MARTE (modelo AY 220, com uma precisão de 0,001g). A eficiência de encapsulação de ZnO foi então calculada a partir da massa do resíduo obtido, usando a Equação 5.

$$ZnO(\%)_{encapsulado} = 1 - \left(\frac{m_{final}}{m_{ZnO\ inicial}} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde m_{final} é a massa do precipitado após a queima na mufla e $m_{ZnO\ inicial}$ a massa de NPs-ZnO adicionada inicialmente na formulação.

3.3.9 Eficiência de encapsulação dos óleos vegetais e octocrileno

A eficiência de encapsulação (EE) foi calculada como a relação entre a quantidade de óleo/octocrileno retido nas nanopartículas e a quantidade inicial adicionada à miniemulsão. Para tanto, 500 μL de látex foi colocado em um Eppendorf com filtro Amicon Ultra 0,5 (Millipore®, 100 KDa) e centrifugados durante 30 min a 13.400 rpm (Centrífuga MiniSpin Hamburg). O permeado obtido na ultrafiltração foi separado para quantificação do óleo/octocrileno livre. A leitura da absorbância do permeado foi realizada em cubeta de quartzo no comprimento de onda de 209 nm para óleo de romã, 280 nm para óleo de café verde e 302 nm para octocrileno. A partir dos resultados de absorbância, a concentração de composto não encapsulado (C_{livre} , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) foi calculada utilizando as equações obtidas das curvas de calibração (Equações 6, 7 e 8). As curvas de calibração dos óleos vegetais foram obtidas utilizando etanol como solvente e estão apresentadas no Apêndice A. Para o composto octocrileno, foi utilizada a curva de calibração elaborada por FRIZZO et al. (2019) (Anexo A).

$$Abs_{OSR} = 0,0198C_{livre} \quad (6)$$

$$Abs_{OCV} = 0,0053C_{livre} \quad (7)$$

$$Abs_{OCT} = 0,0355C_{livre} \quad (8)$$

Onde, Abs_{OSR} , Abs_{OCV} e Abs_{OCT} são as absorbâncias lidas no espectrofotômetro para óleo de semente de romã, óleo de café verde e octocrileno, respectivamente. A eficiência de encapsulação foi calculada de acordo com a Equação 9.

$$EE(\%) = \frac{(C_{inicial} - C_{livre})}{C_{inicial}} \times 100 \quad (9)$$

3.3.10 Avaliação de espalhabilidade e retenção do látex

Para comparar a retenção dos dois tipos de látex obtidos, em relação aos monômeros presentes na formulação, R1-MMA-ST e R1-BMA-MMA-ST, foram realizados dois procedimentos utilizando a fita de Polietileno microperfurado com adesivo acrílico Transpore® 3M 100mm x4,5m e placas Petri.

Para avaliar a retenção dos látexes, a fita Transpore® foi fixada na parte interna de 4 placas Petri. Nas placas (a) e (b) 500 µL de látex foi colocado sobre a fita, e deixadas espalhar naturalmente. Nas placas (c) e (d), 100µL das amostras foram depositadas sobre a fita e com o auxílio dos dedos, utilizando luva de látex, foi simulado o movimento de espalhabilidade em pele, realizando um movimento circular igualmente para as duas amostras. As placas foram então dispostas em capela com convecção de ar para secagem. Após 1h, as fitas foram retiradas das placas para avaliar a capacidade de retenção dos látexes.

Para avaliar a espalhabilidade das amostras, a fita Transpore® foi colocada externamente da parte inferior de 4 Placas de Petri. Nas primeiras duas placas foram colocadas duas gotas de látex e a parte superior da placa de Petri foi encaixada na placa contendo amostra, realizando a prensagem da mesma de forma leve, sem aplicação de força. Já nas duas últimas duas placas, a mesma quantidade de látex foi colocada, porém, nestas foi aplicada uma maior quantidade de força na parte superior da placa encaixada sobre a amostra, induzindo o espalhamento da amostra.

Os resultados destes procedimentos foram analisados de forma visual.

3.3.11 Determinação do fator de proteção solar

As medidas in vitro de FPS foram realizadas utilizando um analisador de transmitância no UV (Labsphere R UV-2000 S) no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

O UV-2000S atende às exigências da regulação da Colipa (The European Cosmetics Association) e também da FDA (Food and Drug Administration). O equipamento mede a transmitância difusa da amostra de protetor solar na região de comprimento de onda UV (250-450 nm). Uma fonte de luz xenônio emite um feixe de luz difusa intensa e uniforme que ilumina a amostra por meio de uma esfera integradora. Um conjunto de dois espectrofotômetros de fileira de diodos é acoplado à fonte de luz, por meio de um sistema de fibra óptica projetado para sistemas de luz difusa de baixa intensidade. Seis padrões calibrados em comprimentos de onda relevantes garantem a precisão das medições. O software realiza o cálculo automático do FPS, da relação UVA/UVB, recomendados pelo método Colipa, pelo método revisado Boots Star Rating e pela mais recente regulação de testes de protetores solares da FDA (LABSPHERE, 2008).

A quantidade de 50 mg (2.0 mg/cm^2) de cada formulação foi aplicada sobre placa de quartzo com área de 25 cm^2 cobertas com Transpore TM utilizando uma micropipeta. A formulação foi espalhada manualmente com movimentos circulares para a formação de filme uniforme sobre a placa. Glicerina foi utilizada como substância de referência para 100 % de transmitância para ajuste do equipamento (LABSPHERE, 2008). As amostras foram analisadas após 5 minutos de secagem no escuro. Um total de nove medidas de FPS foram feitas para cada formulação para obtenção do valor médio do FPS e o desvio padrão (COLIPA, 2009; LABSPHERE, 2008).

3.3.12 Potencial antioxidante pelo método DPPH

A capacidade antioxidante dos compostos livres e encapsulados foi comparada através da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH \cdot). O radical DPPH \cdot , de coloração púrpura, absorve a um comprimento de onda máximo de aproximadamente 517 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R \cdot), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de

coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção. A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida, e é determinada pelo decréscimo da absorbância. A quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC50) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

De acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al., (1995), para avaliar a AA% das substâncias puras, 1000 µL das soluções preparadas com diferentes concentrações das substâncias (quercetina, OSR e OCV), foram misturados com 400 µL de solução de DPPH e etanol (0,3 mM), reagindo por 30 min na ausência de luz e em temperatura ambiente. Já para avaliar os látexes foi utilizada a metodologia descrita por Brand-Williams et al., (1995) com modificações por Meneses et al., (2017) onde 1000 µL das soluções preparadas com diferentes concentrações de látex foram misturados com 400 µL de solução etanólica de DPPH (0,3 mM), reagindo por 1 hora na ausência de luz e em temperatura ambiente. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 10000 rpm durante 30 min. Para todas as amostras as diluições foram analisadas a 517 nm no espectrofotômetro UV-vis Hitachi (U-1900). A amostra do branco é representada pela amostra na diluição analisada sem adição do DPPH. Para preparar as amostras controle, mistura-se 1000 µL de solvente com 400µL de solução etanólica de DPPH. A AA% das amostras foi calculada segundo a Equação 10.

$$AA\% = 100 - \left(\frac{(Abs_a - Abs_b) \times 100}{Abs_c} \right) \quad (10)$$

Sendo A_a a absorbância da amostra, A_b a absorbância do branco e A_c a absorbância do controle.

CAPITULO VI

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ENCAPSULAÇÃO DA QUERCETINA EM NANOPARTÍCULAS PMMA-PS E PBMA-PMMA-PS

Foram conduzidas reações de polimerização em miniemulsão para encapsulação da quercetina em nanopartículas de PBMA-PMMA-PS e PMMA-PS utilizando óleos vegetais como coestabilizadores. Para avaliar qual a melhor formulação a ser empregada, foram analisadas a conversão, morfologia e o tamanho das partículas poliméricas obtidas nas reações propostas e a eficiência de incorporação da quercetina nos látexes obtidos.

4.1.1 Conversão por gravimetria

A conversão obtida para as formulações branco, variando os monômeros e coestabilizadores utilizados estão representados na Tabela 7.

Tabela 7 – Conversão das formulações

		Conversão (%)	
Formulação sem quercetina	(%)	Formulação com quercetina	(%)
R1-0 (MMA)	87,0	R1-Q (MMA)	-
R1-0 (MMA/ST)	92,0	R1-Q (MMA/ST)	78,0
R2-0 (MMA/ST)	-	R2-Q (MMA/ST)	76,0
R5-0 (MMA/ST)	-	R5-Q (MMA/ST)	71,0
R1-0 (BMA/MMA/ST)	89,0	R1-Q (BMA/MMA/ST)	87,0
R2-0 (BMA/MMA/ST)	83,0	R2-Q (BMA/MMA/ST)	80,0
R3-0 (BMA/MMA/ST)	68,0	R3-Q (BMA/MMA/ST)	39,9
R4-0 (BMA/MMA/ST)	90,0	R4-Q (BMA/MMA/ST)	72,0
R5-0 (BMA/MMA/ST)	75,0	R5-Q (BMA/MMA/ST)	71,0

Analisando os resultados para as formulações R1-0 contendo apenas MMA, MMA+ST e BMA+MMA+ST, sem a adição de quercetina e utilizando crodamol como coestabilizador, obteve-se valores de conversão muito próximos, mostrando-se viável a utilização do BMA em elevadas proporções nas formulações.

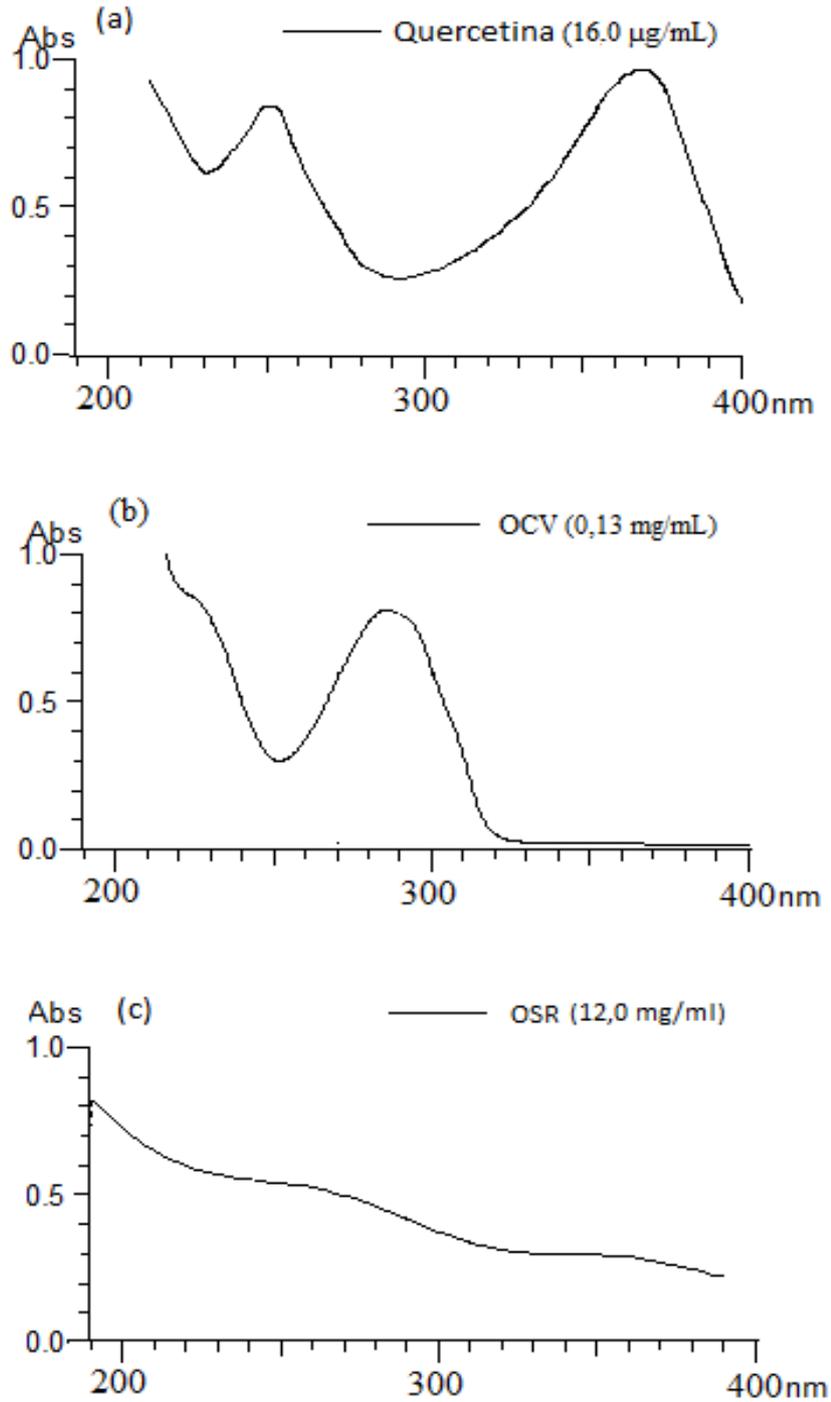
Ao substituir o crodamol pelos óleos vegetais, nas formulações BMA-MMA-ST sem quercetina, a formulação R2-0 com óleo de semente de romã apresentou uma pequena redução na conversão, enquanto a formulação R4-0 manteve-se constante. Já para as formulações utilizando óleo de café verde (R3-0 e R5-0) pode-se observar uma redução mais significativa nas taxas de conversão. Adicionando quercetina às formulações, pode-se observar a redução da taxa de conversão para todas as formulações, sendo esta mais significativa para R1-Q (MMA-ST), R3-Q (BMA-MMA-ST) e R4-Q (BMA-MMA-ST). Bernardy et al. (2010) também avaliou que a presença da quercetina inibiu e/ou retardou as reações de polimerização via miniemulsão utilizando o monômero MMA, coestabilizador crodamol, par tween/span como surfactante e AIBN como iniciador. A quercetina possui elevada atividade antioxidante (AA) e pode reagir com os radicais presentes no meio reacional, dificultando as reações de polimerização. O mesmo pode estar acontecendo na utilização do OCV como coestabilizador, e o efeito sinérgico da AA do OCV e QUE inviabilizou a reação R3-Q, que obteve conversão de apenas 39,9%.

4.1.2 Análise da absorção de radiação na região UVA e UVB da quercetina e dos óleos vegetais

Os espectros de absorção na região entre 290 e 490 nm foi obtido para cada composto, representados na Figura 4. A quercetina diluída em metanol (16 µg/mL) apresentou capacidade de absorção dos raios UVA, com máxima absorção em 370 nm, como já observado por outros autores (BARRAS et al., 2009; BERNARDY et al., 2010).

O óleo de café verde diluído em etanol (0,13 mg/ml) teve sua máxima absorção em 285 nm, como também já evidenciado por outros autores (WAGEMAKER, 2009; GROLLIER e PLESSIS, 1988), apresentando capacidade de absorção na faixa dos raios UVB.

Figura 5 – Espectro de absorção da (a) quercetina, (b) óleo de café verde e (c) óleo de semente de romã entre 200 – 490 nm



Para o óleo de semente de romã comercial utilizado, foi observada máxima absorção em 209nm, e este não apresentou capacidade de absorção significativa na região UVA e UVB. Embora na literatura alguns autores tenha encontrado elevada capacidade de absorção na faixa dos raios UVB para o óleo da semente de romã, entre 280–320 nm (AHLERS e MCTAGGART, 1954) A composição dos óleos vegetais são fortemente influenciadas pela região e cultivo e variedade do fruto, como também pelas condições de processamento.

4.1.3 Doseamento da quercetina na miniemulsão

Para quantificar a quercetina remanescente nos látexes finais obtidos em cada reação, foi realizado o doseamento da quercetina via espectroscopia UV logo após a reação e após 15 dias para avaliar a estabilidade. Os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – quantidade de quercetina incorporada nas miniemulsões, quantificada logo após as reações e após 15 dias de armazenamento.

Formulações	Dia 0		Dia 15	
	%	mg/mL	%	mg/mL
R1 -Q (MMA/ST)	79,8	0,80	47,1	0,47
R2 -Q (MMA/ST)	78,7	0,79	48,5	0,49
R5-Q (MMA/ST)	91,1	0,91	47,2	0,47
R1-Q (BMA/MMA/ST)	85,4	0,85	49,8	0,50
R2-Q (BMA/MMA/ST)	81,8	0,81	46,4	0,46
R4-Q (BMA/MMA/ST)	90,4	0,90	50,3	0,50
R5-Q (BMA/MMA/ST)	82,0	0,82	46,9	0,47

A partir dos resultados apresentados na Tabela 8, pode ser observado que entre 78,7 e 91,1 % da quercetina foi incorporada no látex. Entretanto, ao avaliar a estabilidade após 15 dias, parte da quercetina precipitou nos frascos obtendo se uma eficiência de incorporação entre 46,4 e 50,3%. Vale ressaltar que foi realizado o doseamento da quercetina em pequenos intervalos de tempo até completar 30 dias,

para as amostras R1-Q (MMA/ST) e R1-Q (BMA/MMA/ST) e observou-se que após 15 dias não ocorria mais variação da quantidade de quercetina incorporada. A maior eficiência foi observada na formulação utilizando crodamol e OSR como coestabilizadores e BMA-MMA-ST como monômeros, sendo o resultado muito similar ao obtido para as outras formulações. Bernardy et al. (2010) constatou que a quercetina pode estar sendo parcialmente consumida nas reações ao dificultar as reações de polimerização. A quercetina é um antioxidante e conseqüentemente pode estar reagindo com os radicais presentes no meio reacional, perdendo sua atividade.

4.1.4 Eficiência de encapsulação dos óleos vegetais

Os látexes contendo OSR e OCV foram analisados para determinação da quantidade de óleo encapsulado. Os dados obtidos mostram que a eficiência de encapsulação do OSR e OCV foi satisfatória para todas as formulações. Além disso, os óleos apresentaram-se como excelentes coestabilizadores, obtendo boas conversões de polimerização e boa estabilidade das miniemulsões, e atuando nas formulações como compostos de interesse.

Tabela 9 – Eficiência de encapsulação dos óleos vegetais

Formulação	Eficiência Encapsulação (%)	g /mL látex
R2-0	93,1±4,8	0,09
R3- 0	94,4±4,2	0,09
R4-0	97,0±3,6	0,05
R5-0	90,9±4,3	0,05
R2-Q	89,9±6,1	0,09
R4-Q	95,1±6,2	0,05
R5-Q	92,2±3,9	0,05

R1- crodamol e quercetina; R2- OSR e quercetina; R4- OSR, crodamol e quercetina; R5- OCV, crodamol e quercetina.

4.1.5 Tamanho de partícula

Os tamanhos médios obtidos por DLS, das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) medidas logo após o final da reação e após 30 dias, para avaliação da estabilidade dos látexes poliméricos, estão apresentados na Tabela 10, para as formulações com menos surfactante, e na Tabela 11 para as formulações com mais surfactante.

Tabela 10 - Diâmetro médio em intensidade das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) e índice de polidispersão (Pdl) após a polimerização e após 30 dias das formulações contendo 0,1g de Tween 80 e 0,05g de Span 80.

Reação	Inicial				Após 30 dias	
	Dg (nm)	Pdlg	Dp (nm)	Pdlg	Dp (nm)	Pdlg
R1-0 (MMA)	-	-	277,0±5,0	0,148	259,4±2,9	0,092
R1-0 (MMA/ST)	-	-	199,7±4,4	0,074	236,1±2,0	0,102
R1-0 (BMA/MMA/ST)	-	-	204,1±2,8	0,135	243,3±4,2	0,153
R2-0 (BMA/MMA/ST)	302,7±0,7	0,163	290,2±3,1	0,191	276,5±5,6	0,176
R3-0 (BMA/MMA/ST)	296,1±3,4	0,181	274,4±2,9	0,188	259,2±6,0	0,155
R4-0 (BMA/MMA/ST)	310,0±2,5	0,146	278,3±3,5	0,186	272,5±1,4	0,176
R5-0 (BMA/MMA/ST)	270,8±5,0	0,136	238,5±0,5	0,219	215,8±0,4	0,193

R1- crodamol e quercetina; R2- OSR e quercetina; R4- OSR, crodamol e quercetina; R5- OCV, crodamol e quercetina.

As nanopartículas sem quercetina e com menor quantidade de surfactante apresentaram tamanho médio final na faixa de 215 - 280 nm. Para as nanopartículas com maior quantidade de surfactante foram obtidos tamanhos menores, entre 160 – 195 nm. Estes valores estão de acordo com os observados na análise de TEM e avaliados utilizando o software SizeMeter.

Em geral, a variação no diâmetro das partículas para o uso de diferentes monômeros e coestabilizadores foi pequena. A maior variação ocorreu devido a quantidade de surfactante na formulação.

Observou-se um leve decréscimo do valor do diâmetro médio das partículas após 30 dias para a maioria das nanopartículas, o que pode ter ocorrido devido a sedimentação das nanopartículas com maior densidade e/ou tamanho.

Tabela 11 - Diâmetro médio em intensidade das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) e índice de polidispersão (Pdl) após a polimerização e após 30 dias das formulações com contendo 0,2g de Tween 80 e 0,1g de Span 80.

Reação	Inicial				Após 30 dias	
	Dg (nm)	Pdlg	Dp (nm)	Pdlg	Dp (nm)	Pdlg
R1-0 (MMA/ST)	-	-	169,1±3,2	0,066	166,8±2,5	0,069
R1-0 (BMA/MMA/ST)	294,0±1,4	0,177	199,4±1,3	0,133	178,3±0,9	0,075
R1-Q (BMA/MMA/ST)	169,9±1,4	0,141	166,0±0,7	0,053	162,3±0,5	0,052
R2-Q (BMA/MMA/ST)	211,4±0,8	0,092	199,4±1,4	0,133	178,3±1,9	0,075
R4-Q (BMA/MMA/ST)	230,1±3,1	0,108	209,8±0,9	0,125	181,5±0,6	0,158
R5-Q (BMA/MMA/ST)	228,7±4,5	0,139	199,3±1,0	0,188	161,0±1,2	0,139
R1-Q (MMA/ST)	158,9±0,9	0,129	169,1±0,8	0,066	167,4±0,5	0,028
R2-Q (MMA/ST)	181,1±2,2	0,130	189,5±2,1	0,082	192,3±1,2	0,054
R5-Q (MMA/ST)	171,5±0,9	0,131	163,8±0,4	0,14	162,0±0,6	0,085

R1- crodamol e quercetina; R2- OSR e quercetina; R4- OSR, crodamol e quercetina; R5- OCV, crodamol e quercetina.

4.1.6 Morfologia das nanopartículas carregadas com quercetina

As imagens de TEM obtidas das nanopartículas de PMMA-PS estão ilustradas a seguir. A amostra representada na Figura 6 foi obtida utilizando crodamol como coestabilizador, sem a adição de quercetina.

Figura 6 - Micrografias de TEM da reação R1-0 (MMA-ST), sem quercetina

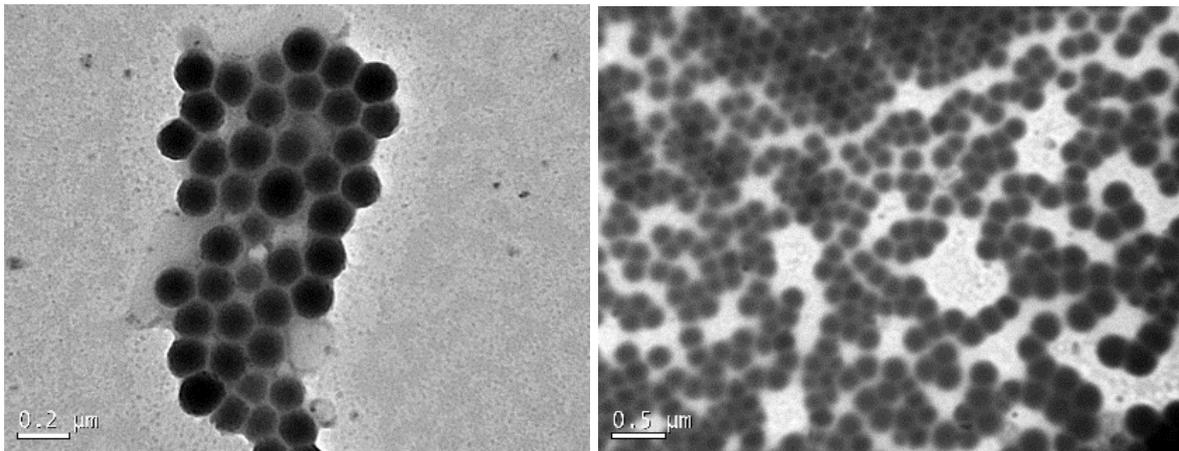
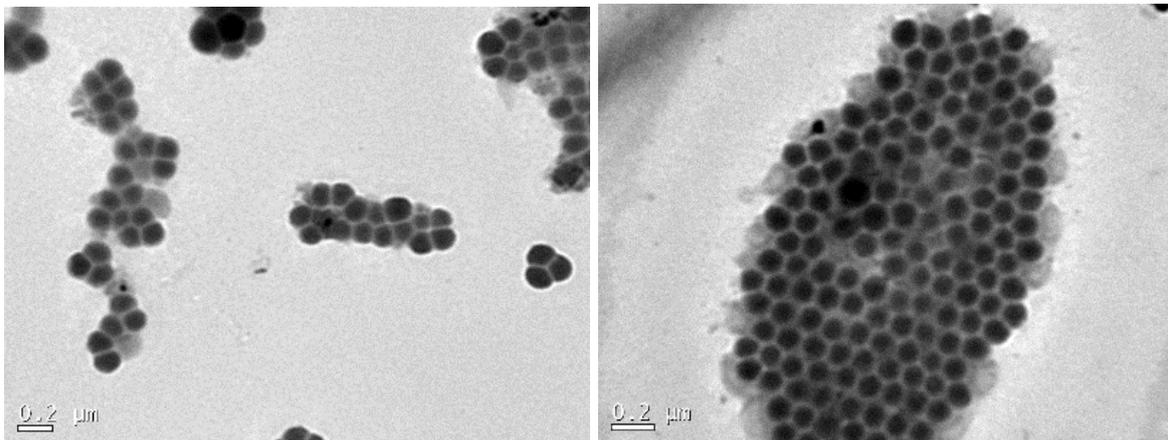


Figura 7 - Micrografias de TEM da reação R1-Q (MMA-ST) – Quercetina e crodamol.



Nas Figuras 7, 8 e 9 foi adicionado quercetina às formulações, utilizando como coestabilizadores o crodamol, OSR e crodamol:OCV, respectivamente. Foram obtidas micrografias satisfatórias para todas as amostras, indicando a presença de NPs esféricas, com superfícies regulares e tamanho homogêneo na faixa de 160 – 200 nm, de acordo com os resultados obtidos pela análise de DLS.

Figura 8 - Micrografias de TEM da reação R2-Q (MMA-ST) – Quercetina e OSR.

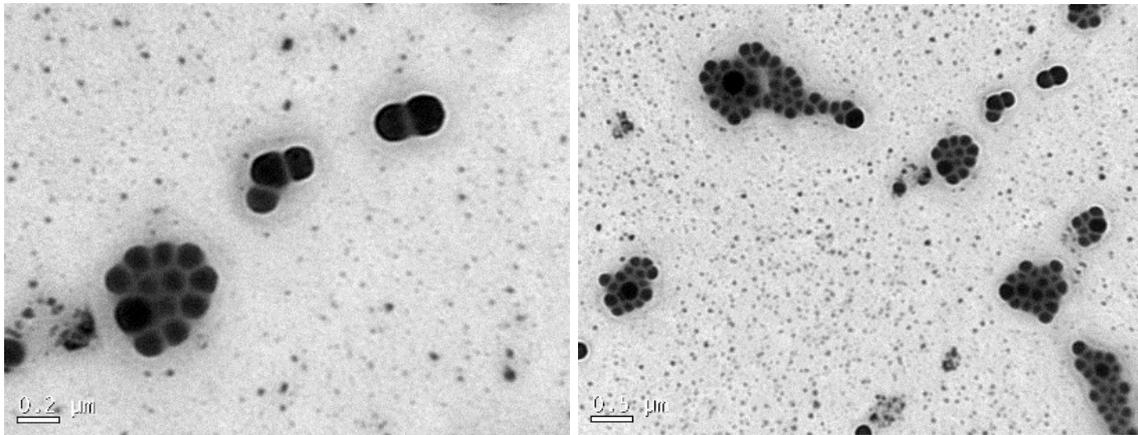
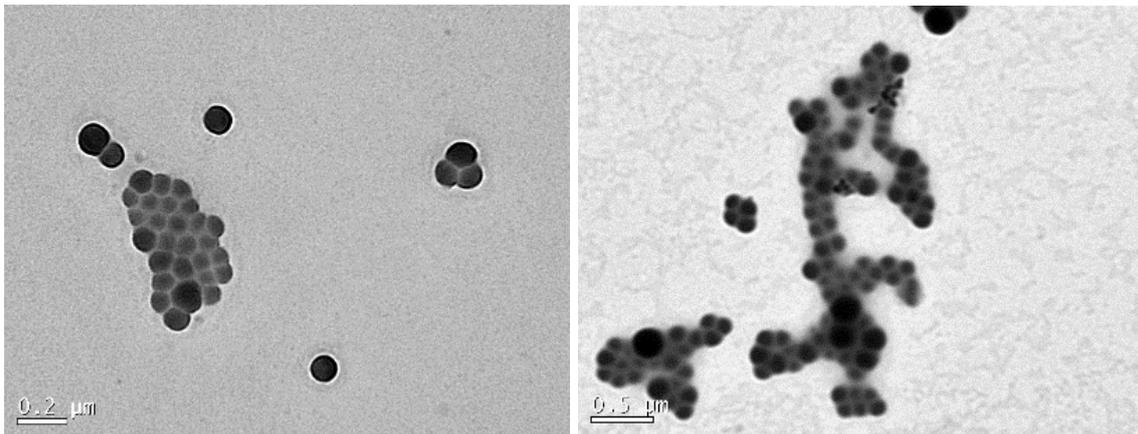


Figura 9 - Micrografias de TEM da reação R5-Q (MMA-ST) – Quercetina, crodamol e OCV.

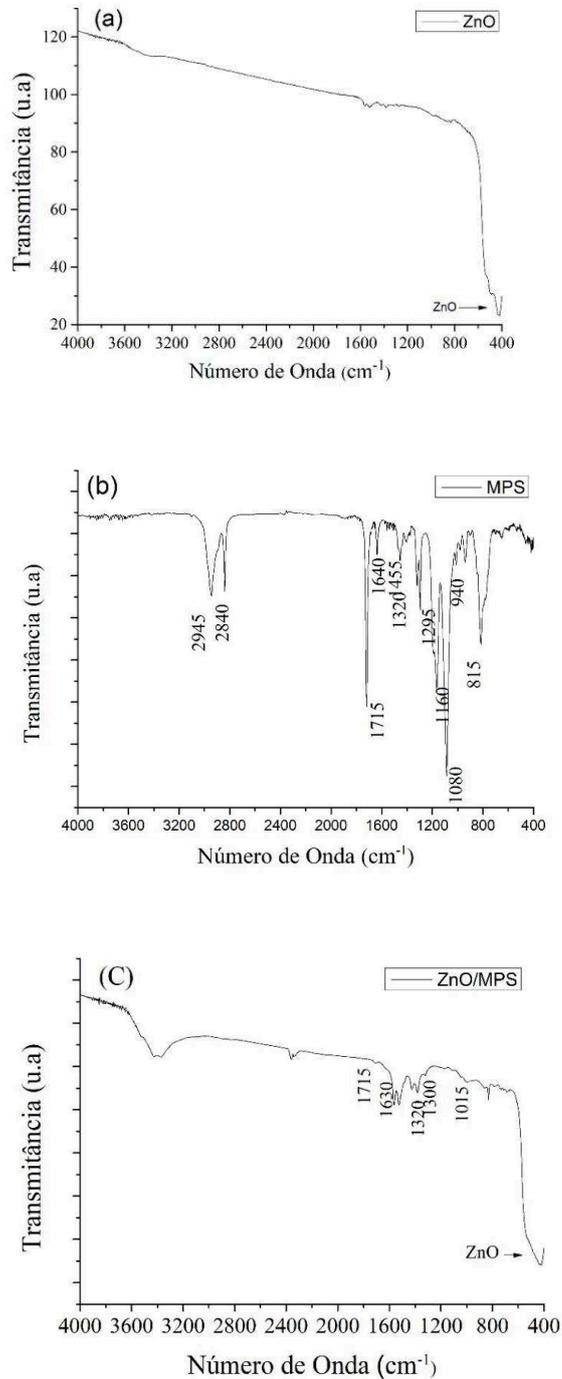


4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NPS-ZNO E MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE UTILIZANDO MPS

4.2.1 Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier das NPs-ZnO, MPS e NPs-ZnO/MPS

Para verificar a existência da banda de absorção referente ao composto ZnO, das principais bandas do reagente MPS usado para modificação da superfície das NPs-ZnO e do composto final resultante da reação das NPs-ZnO/MPS, foi realizada a análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (Figura 9).

Figura 10 – Espectro FTIR (a) das NPs-ZnO; (b) do Reagente MPS; (c) das NPsZnO/MPS.



O ZnO (Figura 9-a) é identificado na banda de absorção em aproximadamente 430 cm^{-1} . Os vários picos de baixa intensidade representam a

presença de resíduos provenientes da síntese ou da própria análise, como em 3450 cm^{-1} em que podem ser relacionados ao $-\text{OH}$, proveniente da umidade do ar e a alta capacidade higroscópica do ZnO (FRIZZO, 2016; XIONG et al., 2006).

Na reação de modificação das NPs-ZnO/MPS, ocorre a hidrólise dos grupos $-(\text{OCH}_3)_3$ do MPS formando grupos $-\text{Si}(\text{OH})_3$ mais reativos, que reagem com a superfície hidrofílica das nanopartículas. A parte não hidrolisável do MPS, que se liga às nanopartículas, possui uma insaturação que posteriormente reage com os radicais durante a reação de polimerização via radicais livres (FRIZZO, 2016; PANTOJA et al., 2009). A Figura 9-b representa o espectro do reagente MPS. As bandas localizadas em aproximadamente 2840 cm^{-1} e 1080 cm^{-1} , são relacionadas às vibrações de estiramento C-H dos grupos $-(\text{O}-\text{CH}_3)$ e $-\text{Si}-\text{O}-\text{C}$ e, após hidrólise do MPS, estes grupos são removidos (BRESSY et al., 2012; PANTOJA et al., 2009) desaparecendo no espectro da amostra após a reação das NPs-ZnO com MPS.

No espectro das NPs-ZnO modificadas com MPS (Figura 9-c), a principal banda de absorção do ZnO (430 cm^{-1}) também é identificada. As bandas em aproximadamente 1715 e 1630 cm^{-1} referentes às vibrações de estiramento dos grupos C=O e C=C (GANDHI et al., 2006), em 1320 e 1300 cm^{-1} pelas vibrações de estiramento assimétrico e simétrico C-O da ligação (C-O-C) (INNOCENZI e BRUSATIN, 2004), e em 1015 cm^{-1} indicam a ocorrência da condensação do silano (MATINLINNA et al., 2006). Assim, através destes espectros foi possível demonstrar qualitativamente que ocorreu a incorporação de MPS na superfície das NPs-ZnO.

4.2.2 Percentual Incorporado de MPS nas NPs-ZnO

A partir da Equação 1 (item 3.3.3), foi calculada a concentração de MPS que não reagiu com as NPs-ZnO na reação de modificação da superfície das NPs de ZnO. A partir da concentração obtida, com a Equação 2, descrita no item 3.3.5, foi calculado o percentual do reagente que foi incorporado na superfície das NPs-ZnO, o qual representou $41 \pm 1\%$ do total de reagente utilizado na reação utilizando a razão mássica de MPS: ZnO 1:2. Percentual similar foi encontrado por FRIZZO (2016) na

modificação de NPs-ZnO para a mesma razão mássica de MPS:NPs-ZnO. Bressy et al. (2012) alcançaram até 35% de incorporação de MPS nas NPs de ZnO utilizando diferentes tamanhos de partículas sintetizadas e comerciais, com diferentes concentrações de grupos hidroxila na superfície das NPs e em diferentes valores de pH, utilizando também a mesma proporção de MPS:ZnO.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA ENCAPSULAÇÃO DAS NPS-ZNO/MPS EM NANOPARTÍCULAS DE PMMA-PS E PBMA-PMMA-PS

As NPs-ZnO/MPS foram encapsuladas através da polimerização em miniemulsão em matriz polimérica composta por PBMA-PMMA-PS, utilizando crodamol, OCV ou octocrileno como coestabilizador da miniemulsão. Foram analisados o tamanho das partículas poliméricas obtidas nas reações propostas e a eficiência de incorporação das NPs-ZnO nos látexes obtidos.

4.3.1 Eficiência da incorporação das NPs-ZnO/MPS na miniemulsão

A partir da Equação 5 (item 3.3.8), foi possível calcular a quantidade de NPs-ZnO que permaneceu no látex e que, possivelmente, encontra-se encapsulada.

As NPs-ZnO possuem uma alta massa específica. Quando encontram-se nanoencapsuladas, em forma de nanopartículas estáveis seguem na miniemulsão. Porém, quando não encapsuladas, tendem a precipitar do látex. Além das NPs-ZnO/MPS não encapsuladas, observou-se a presença de quantidade considerável de polímero no precipitado, o qual degrada quando a amostra é queimada na mufla. Assim, esta análise deve ser interpretada de forma qualitativa.

Na Tabela 12 estão disponíveis as frações de NPs-ZnO/MPS no precipitado e polímero presentes no precipitado, além da fração de NPs-ZnO/MPS retida no látex. Foram obtidos bons resultados para a encapsulação das NPs-ZnO/MPS nas reações R6 e R7. Porém na reação R8 o valor obtido para percentual de nanopartículas incorporadas foi menor.

Tabela 12 – Percentual das NPs-ZnO/MPS incorporadas nas nanopartículas poliméricas.

Reações	NPs-ZnO/MPS no precipitado* (%)	Polímero no precipitado (%)	NPs-ZnO/MPS retido no látex (%)
R6_ZnO	60,0	40,0	75,3
R7_ZnO	51,2	48,8	87,2
R8_ZnO	55,9	44,1	59,0

R6- Crodamol; R7- Óleo de café verde; R8- Octocrileno;

Frizzo (2016) adicionou até 20% de NPs-ZnO/MPS na sua formulação, utilizando matriz PMMA-PS, incorporando 71% (m/m), equivalente a 0,45 g de NPs-ZnO/MPS para 2,08 g de monômeros. Tang e Dong (2009) conseguiram uma eficiência de incorporação de NPs-ZnO em PS, via polimerização em miniemulsão, de até 95%, variando a porcentagem de agente hidrofóbico APTES. A porcentagem foi calculada dissolvendo-se o ZnO em HCl e determinando a quantidade de polímero por gravimetria. Petchthanasombat e colaboradores (2012) encapsularam NPs-ZnO modificadas com MPS em PMMA e quitosana, via polimerização em emulsão, e conseguiram uma porcentagem de incorporação de no máximo 9,4 %, calculada por análise de TGA.

4.3.2 Eficiência de Encapsulação do Octocrileno e Óleo de Café Verde

Foi determinada também a eficiência de encapsulação de octocrileno e óleo de café verde, nas reações de polimerização conduzidas para encapsulação das NPs-ZnO (Tabela 13). Obteve-se eficiência elevada para ambos os compostos, que além de bons coestabilizadores na reação, poderão contribuir com suas propriedades na aplicação, como compostos de interesse encapsulados.

Tabela 13 – Eficiência de encapsulação do óleo de café verde e octocrileno

Formulação	Eficiência de Encapsulação (%)	g /mL látex
R7-0 (Óleo de café verde)	89,5±4,1	0,030
R8- 0 (Octocrileno)	80,4±2,3	0,028

4.3.3 Tamanho de Partícula

Os tamanhos médios obtidos por DLS, das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) medidas logo após o final da reação e após 30 dias, para avaliação da estabilidade dos látexes poliméricos, estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Diâmetro médio em intensidade das gotas (Dg) e das partículas poliméricas (Dp) e índice de polidispersão (Pdl) após a polimerização e após 30 dias das formulações R6, R7 e R8

Formulações	Inicial				Após 30 dias	
	Dg (nm)	Pdlg	Dp (nm)	Pdlg	Dp (nm)	Pdlg
R6-0 (Crodamol)	175,4±0,5	0,104	193,3±1,3	0,014	193,3±1,2	0,013
R6_ZnO (Crodamol)	346,2±1,4	0,405	194,6±2,4	0,138	173,4±0,1	0,028
R7_ZnO (Óleo Café Verde)	282,2±2,8	0,260	194,4±1,2	0,101	184,1±0,5	0,051
R8_ZnO (Octocrileno)	337,2±8,4	0,350	219,4±0,2	0,002	218,9±2,5	0,007

As nanopartículas apresentaram tamanho médio final na faixa de 170-220 nm. Os tamanhos obtidos foram similares aos obtidos por Frizzo (2019), 160 – 270 nm ao encapsular NPs-ZnO/MPS em matriz polimérica PMMA/PS nas mesmas condições. Tang e colaboradores (2005) também encapsularam NPs-ZnO através da

polimerização em miniemulsão, porém utilizando matriz polimérica de estireno, com tamanho médio final de 130 nm.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS LÁTEXES OBTIDOS

4.4.1 Avaliação da retenção e espalhabilidade do látex

A retenção e espalhabilidade dos látexes R1-MMA-ST e R1-BMA-MMA-ST foi avaliada visualmente utilizando a fita Transpore® como superfície de aplicação simulando a pele.

Foram aplicadas amostras de látex R1-MMA-ST e R1-BMA-MMA-ST sobre a fita aderida à placa Petri. Após secagem, a fita foi removida delicadamente da placa, simulando o movimento realizado pela pele. Nas Figuras 11-a e 11-b foram adicionadas sobre a fita 500 µL de R1-MMA-ST e R1-BMA-MMA-ST, respectivamente. É possível avaliar que a amostra R1-MMA-ST (Figura 11-a) sofreu rupturas durante a movimentação da fita e não obteve uma boa retenção, enquanto a amostra R1-BMA-MMA-ST (Figura 11-b) mostrou uma aderência e retenção muito maior. A amostra contendo BMA na formulação não sofreu rupturas pois apresentou maior flexibilidade, além de apresentar uma aparência menos opaca.

Nas Figuras 11-c e 11-d, foram aplicadas alíquotas de 100 µL de R1-MMA-ST e R1-BMA-MMA-ST, respectivamente, porém neste procedimento a amostra foi espalhada sobre a fita realizando movimentos circulares com os dedos, para formar uma fina camada de látex, simulando a espalhabilidade de uma loção fotoprotetora na pele. Após a movimentação da fita para retirada da placa suporte, também foi possível avaliar que a amostra R1-MMA-ST (Figura 11-c) sofreu rupturas e não apresentou boa aderência, enquanto a amostra R1-BMA-MMA-ST (Figura 11-d) formou uma fina camada muito mais estável na fita.

No teste da Figura 12, duas gotas de amostra foram colocadas sobre a Fita Transpore® aderida à parte exterior da placa de Petri. Em seguida uma placa de vidro

foi colocada sobre a amostra, encaixada sobre as amostras entrando em contato com a mesma e induzindo o espalhamento. Foi possível observar que o látex R1-MMA-ST (Figura 12-a) apresentou menor espalhabilidade comparado ao látex R1-BMA-MMA-ST (Figura 12-b)

Figura 11 – Teste visual de retenção (a) 500 μL látex R1(MMA/ST); (b) 500 μL látex R1(BMA/MMA/STY); (c) 100 μL látex R1(MMA/ST); (d) 100 μL látex R1(BMA/MMA/STY)

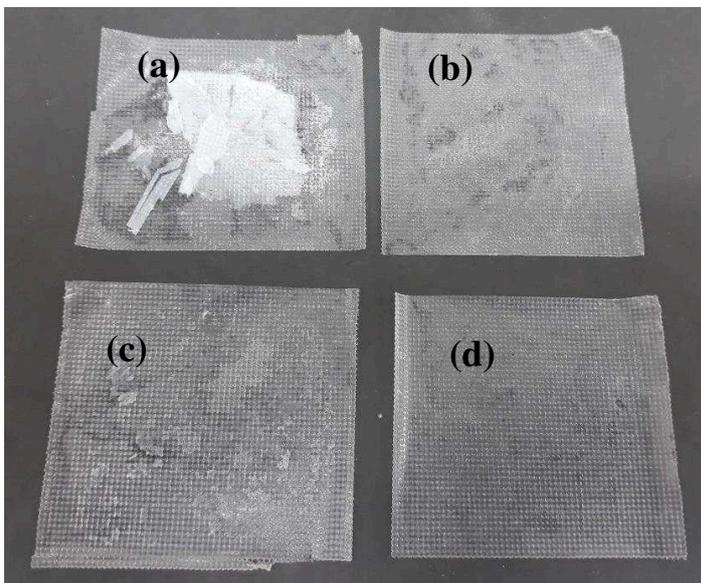
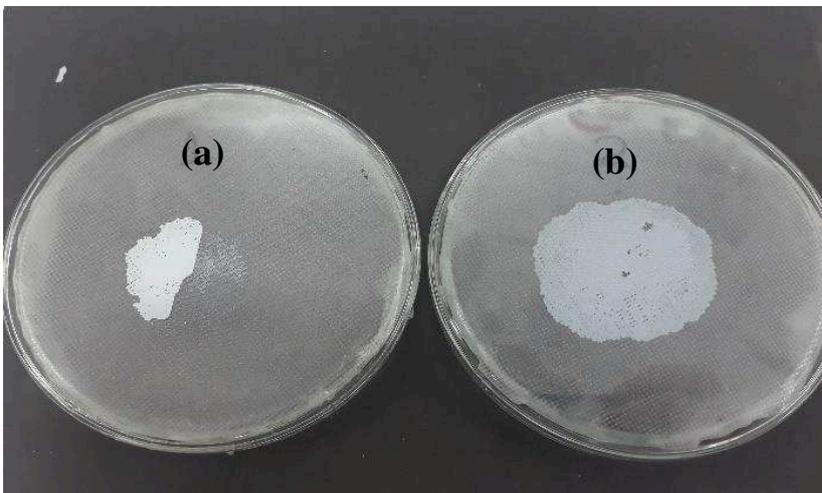


Figura 12 – Teste visual de espalhabilidade dos látex utilizando diferentes monômeros na formulação: (a) látex R1(MMA/ST); (b) látex R1(BMA/MMA/STY)



4.4.2 Determinação da Atividade Antioxidante

O reagente DPPH possui radicais livres e tem sido amplamente utilizado para testar a capacidade de oxidação de vários compostos. A quercetina livre foi analisada entre 0,1 e 5 µg/mL em metanol, obtendo-se a EC₅₀ de 2,9 µg/mL. Sua elevada atividade antioxidante faz com que a quercetina seja largamente utilizada como padrão positivo da análise de DPPH. Olszewska et al. (2012) e Stevanato et al., (2014) compararam a AA de várias substâncias geralmente utilizadas como padrão positivo, encontrando o valor EC₅₀ de aproximadamente 1,6 µg/mL para a quercetina; Santos et al. (2017) também utilizou a quercetina como padrão positivo, obtendo EC₅₀ igual a 3,59 µg/mL.

Na Tabela 15 é apresentada a atividade antioxidante da quercetina livre e encapsulada em NPs poliméricas de PBMA-PMMA-PS (ndice EC₅₀). Como a concentração de quercetina nos látexes é de aproximadamente 0,05% em massa, os mesmos foram analisados em maiores concentrações (2,0 - 10,0 mg/mL em metanol) e o EC₅₀ para os látexes foi quantificado em mg/mL. Para o látex com adição de quercetina, foi obtido EC₅₀ de 5,6 mg/mL. Como o látex sem adição de quercetina (R1-0) não apresentou atividade antioxidante nas concentrações estudadas, foi possível identificar que a quercetina manteve sua AA após a encapsulação.

Além disso, foi avaliada a AA dos óleos utilizados como coestabilizadores, como pode ser observado na Tabela 15. Os óleos puros foram analisados entre 50 e 750 µg/mL. O OCV apresentou EC₅₀ igual a 433,5 µg/mL enquanto o OSR teve um EC₅₀ de 627,9 µg/mL. A AA obtida para os óleos comerciais utilizados foi baixa quando comparada com a AA obtida por outros autores através do método DPPH, com EC₅₀ de 3,04 µg/mL para o óleo de café verde (CHIARIA et al., 2014) e EC₅₀ de 37,98 para o óleo de semente de romã (NOGUEIRA e FREITAS, 2012). Esta diferença pode estar relacionada ao tipo de processo de extração do óleo, espécie e local de cultivo dos frutos, fatores que influenciam diretamente na composição dos óleos (WAGEMAKER et al., 2011). A degradação deste componente durante a extração leva a diminuição significativa da AA do óleo.

Ao avaliar os látexes contendo óleo como coestabilizador, foi possível avaliar um incremento na atividade antioxidante comparada ao látex em que se utilizou apenas crodamol. Para o látex contendo OCV (5% e massa) como coestabilizador, foi obtido EC₅₀ de 3,5 mg/mL. Ou seja, analisando a aplicação da mesma concentração de ambos os látexes R5 (com OCV) apresentaria atividade antioxidante 25,5% maior que o R1. Este resultado demonstra que, apesar do óleo de café verde de ter apresentado baixa atividade antioxidante, sua incorporação nas nanopartículas contendo quercetina aumentou significativamente a AA antioxidante destas. Já para o látex contendo 10% em massa de OSR obteve-se EC₅₀ de 5,1 mg/mL, valor muito próximo ao obtido para o látex contendo apenas quercetina. Todas as equações de reta obtidas e R² estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15- Atividade antioxidante dos compostos puros e encapsulados obtida pelo método DPPH

Compostos Puros	EC50 (µg/mL)	Equação da Reta	R²
Quercetina	2,9	$y = 17,467x + 0,1301$	0,9959
OCV	433,5	$y = 0,11x + 2,3182$	0,9963
OSR	627,9	$y = 0,0796x + 0,012$	0,9941
Nanoemulsões	EC50 (mg/mL)	Equação da Reta	R²
NPs- Branco (R1-0 BMA/MMA/STY)	-	-	-
NPs- Quercetina (R1-BMA/MMA/STY)	5,6	$y = 8,133x + 4,236$	0,9935
NPs- Quercetina/OCV (R5-BMA/MMA/STY)	3,5	$y = 12,513x + 5,4488$	0,9947
NPs- Quercetina/OSR (R2-BMA/MMA/STY)	5,1	$y = 8,719x + 4,9798$	0,9955

4.4.3 Determinação do fator de proteção solar *in vitro*

As amostras apresentaram boa espalhabilidade e retenção ao serem aplicadas na placa do analisador de transmitância UV. Os resultados do FPS das formulações podem ser vistos na Tabela 16. Formulação R6-0 (PBMA-PMMA-PS), contendo apenas as NPs poliméricas sem compostos encapsulados, apresentou

baixa capacidade de absorção e reflexão de Raios UVB, com FPS igual a 2. A formulação R6-ZnO, composta por 20% de nanopartículas de ZnO, mostrou FPS 5 ± 1 (Tabela 16), próximo do valor teórico de 5 estimado pelo simulador de filtro solar da BASF (BASF, 2018).

Tabela 16- Resultados do fator de proteção solar obtidos para os látexes

Amostra	Composto Encapsulado	BASF Sunscreen Simulator	FPS Lasphere
R6-0	-	-	$2 \pm 0,1$
R6-ZnO	NPs-ZnO	5	5 ± 1
R7-ZnO	NPs-ZnO Óleo de café verde	5	5 ± 1
R8-ZnO	NPs-ZnO Octocrileno	10	11 ± 2
R8-ZnO (Concentrada)	NPs-ZnO Octocrileno	25	25 ± 5
R1-Q, R2-Q, R5-Q	Quercetina OCV/ OSR	-	$2 \pm 0,1$

A formulação R8-ZnO, contendo octocrileno, apresentou FPS igual a 11 ± 2 , indicando que a encapsulação simultânea do octocrileno nas NPs poliméricas elevou em 6 ± 2 o FPS da formulação. Como as NPs-ZnO estavam diluídas no látex, a amostra R8-ZnO foi concentrada duas vezes (em massa) realizando a centrifugação da amostra, para realização de um segundo teste de FPS Assim, obteve-se o valor de FPS 25 ± 5 , considerado satisfatório para utilização como loção fotoprotetora.

A formulação R7-ZnO apresentou um FPS de 5 (Tabela 16), igual ao obtido na formulação contendo apenas ZnO, mostrando que o óleo vegetal não contribuiu para o aumento do FPS. As NPs contendo quercetina, também não apresentaram incremento no FPS, e obteve-se apenas FPS de $2\pm 0,1$ para todas as formulações, provenientes apenas das NPs poliméricas. A contribuição da quercetina e os óleos vegetais no FPS das formulações precisa ser avaliada através de testes *in vivo*.

Pereda et. al. (2006) avaliaram *in vivo* a eficácia fotoprotetora de uma formulação contendo 5% de óleo de café verde através da aplicação tópica do produto em voluntários e obteve um aumento em 28% do FPS em comparação ao grupo placebo. O estudo evidenciou o efeito anti-inflamatório apresentado pelo OCV através da diminuição do eritema formado na pele exposta aos raios UV. O óleo de café verde empregado neste trabalho, apesar de apresentar um baixo valor de FPS (cerca de 2,5) no teste *in vitro*, pode ser empregado em formulações fotoprotetoras a fim de potencializar os filtros químicos usualmente utilizados. Wagemaker (2013) ao avaliar óleo de café para aplicação formulações cosméticas e fotoprotetoras também obteve valores baixos de FPS pelos métodos *in vitro* ($\text{FPS} \leq 2$), porém os experimentos *in vivo* realizados em camundongos mostraram que as peles dos animais tratadas com formulação contendo 5 e 10% de óleo de café apresentaram menor número de células em apoptose e epiderme mais delgada, indicando que o óleo de café poderia proteger a pele dos danos causados pela radiação ultravioleta. O óleo promoveu proteção, hidratação, manutenção, melhora da barreira cutânea e aumento significativo das atividades antioxidantes e fotoprotetoras das formulações.

CAPITULO V

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, NPs-ZnO, quercetina, octocrileno e óleos vegetais foram encapsulados individual e simultaneamente em nanopartículas poliméricas utilizando a técnica de polimerização em miniemulsão. As nanopartículas obtidas apresentaram entre 160-230 nm, com índices de polidispersão baixos, formato esférico, homogêneo e superfície regular, mostrando-se estáveis durante 30 dias. A utilização de octocrileno, óleo de café verde e óleo de semente de romã como coestabilizadores na miniemulsão foi satisfatória, além de serem encapsulados como compostos de interesse na formulação. Ao utilizar BMA (60% em massa da fração dos monômeros) na formulação, o látex PBMA-PMMA-PS resultou em um material com boa capacidade de espalhabilidade e retenção.

A quercetina manteve elevada atividade antioxidante quando encapsulada em NPs poliméricas, e obteve resultados ainda melhores quando encapsulada simultaneamente com o óleo de café verde. O valor de FPS in vitro, foi satisfatório apenas para as formulações contendo NPs-ZnO, obtendo-se o melhor resultado para a nanoencapsulação simultânea de NPs-ZnO e octocrileno.

Portanto, a encapsulação de NPs-ZnO, octocrileno e compostos naturais, como quercetina e óleos vegetais, em matriz polimérica mostra-se uma excelente alternativa para o uso em loções fotoprotetoras, mantendo os compostos estáveis e combatendo a formação de radicais livres. A utilização da quercetina e óleo de café verde podem contribuir para o incremento do FPS in vivo, combatendo os radicais livres e reduzindo os danos causados a pele pelos raios UV, quando utilizadas em conjunto com ZnO e octocrileno.

REFERÊNCIAS

AFAQ, Farrukh. Natural agents : Cellular and molecular mechanisms of photoprotection. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 508, n. 2, p. 144–151, 2011.

AHLERS, N. H. E. e MCTAGGART, N. G. The spectroscopic examination of pomegranate- seed oil. *Journal of Science and Food Agriculture*, v. 5, 1954.

ALVAREZ-ROMÁN, R. et al. Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: preparation and photoprotection. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 52, n. 2, p. 191–195, 2001.

ALVES, Marta P. et al. Human skin penetration and distribution of nimesulide from hydrophilic gels containing nanocarriers. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 341, n. 1–2, p. 215–220, 2007.

ANVISA. Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências. . BRASIL: [s.n.]. , 2012

ASUA, M. Miniemulsion polymerization. v. 27, p. 1283–1346, 2002.

BAILLO, Vanessa Priscila e LIMA, Andréa Cristina. Nanotechnology applied to photoprotection. *Revista Brasileira de Farmacia*, v. 93, n. 3, p. 271–278, 2012.

BALOGH, Tatiana Santana e PEDRIALI, Carla Aparecida e KANEKO, Telma Mary. Proteção à radiação ultravioleta : recursos disponíveis na. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86, n. 2010, p. 732–742, 2011.

BARRAS, A et al. Formulation and characterization of polyphenol-loaded lipid nanocapsules. v. 379, p. 270–277, 2009.

BASF. BASF Sunscreen Simulator. Acessado em 11/07/2019. Acessado de https://www.suncreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/

BERNARDY, Neusa et al. Nanoencapsulation of quercetin via miniemulsion polymerization. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 6, n. 2, p. 181–186, 2010.

BIGON, Joice P. e MONTORO, Fabiano E. e LONA, Liliane M.F. Vegetable Oils Acting as Encapsulated Bioactives and Costabilizers in Miniemulsion Polymerization Reactions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v.

120, n. 1, p. 1–7, 2018.

BRAND-WILLIAMS, W. e CUVELIER, M. E. e BERSET, C. Respostas Perceptivas E. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRESSY, Christine et al. New Insights into the Adsorption of 3- (Trimethoxysilyl) - propylmethacrylate on Hydroxylated ZnO Nanopowders. *Langmuir*, v. 28, p. 3290–3297, 2012a.

BRESSY, Christine et al. New Insights into the Adsorption of 3- (Trimethoxysilyl) - propylmethacrylate on Hydroxylated ZnO Nanopowders. *Langmuir*, v. 28, p. 3290–3297, 2012b.

CEFALI, L C et al. Plant-based active photoprotectants for sunscreens. v. 35, p. 346–353, 2016.

CHIANG-TING, Chen et al. The effect of C60 on the ZnO-nanorod surface in organiceinorganic hybrid photovoltaics. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, v. 95, n. 2, p. 740–744, 2011.

CHIARIA, Bruna Galdorfini et al. Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. *Industrial Crops & Products*, v. 52, p. 389–393, 2014.

CHOQUENET, Benjamin et al. Quercetin and Rutin as Potential Sunscreen Agents : Determination of Efficacy by an in Vitro Method. *Journal of Natural Products*, v. 71, p. 1117–1118, 2008.

COLIPA, The European Cosmetic, Toiletry and Perfumary Association. In Vitro Method for the Determination of the UVA Protection Factor and "CriticalWavelength" Values of Sunscreen Products, Brussels 2009.

COSTA, Cristiane et al. Decrease of methyl methacrylate miniemulsion polymerization rate with incorporation of plant oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 118, n. 1, p. 93–103, 2016.

DONGLIKAR, Mukund Manikrao e DEORE, Sharada Laxman. Development and Evaluation of Herbal Sunscreen. v. 9, n. 1, p. 83–97, 2017.

DORNAS, W.C. et al. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences Rev*, n. 31, p. 241–249, 2008.

FEUSER, Paulo Emilio et al. Synthesis of ZnPc loaded poly(methyl

methacrylate) nanoparticles via miniemulsion polymerization for photodynamic therapy in leukemic cells. *Materials Science and Engineering C*, v. 60, p. 458–466, 2016.

FLOR, Juliana e DAVOLOS, Marian Rosaly. Protetores solares. *Química Nova*, v. 30, n. 1, p. 153–158, 2007.

FRIZZO, M. Encapsulação de nanopartículas de óxido de zinco via polimerização em miniemulsão para aplicação em protetores solares. 2016. Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

FRIZZO, Marcela S. et al. Simultaneous encapsulation of zinc oxide and octocrylene in poly (methyl methacrylate-co-styrene) nanoparticles obtained by miniemulsion polymerization for use in sunscreen formulations. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 561, n. August 2018, p. 39–46, 2019.

GANDHI, J S et al. Effect of the Degree of Hydrolysis and Condensation of Bis- [Triethoxysilylpropyl] Tetrasulfi de on the Corrosion Protection of Coated Aluminum Alloy 2024-T3. *Corrosion Science Section*, n. July, p. 612–623, 2006.

GAO, Pu Xian e WANG, Zhong L. Substrate atomic-termination-induced anisotropic growth of ZnO nanowires/nanorods by the VLS process. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 108, n. 23, p. 7534–7537, 2004.

GOMES, G. M. et al. Encapsulation of N,N-diethyl-meta-toluamide (DEET) via miniemulsion polymerization for temperature controlled release. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 136, n. 9, p. 17–19, 2019.

GONZALEZ, H et al. Percutaneous absorption of the sunscreen benzophenone- 3 after repeated whole-body applications , with and without ultraviolet irradiation. *British Journal of Dermatology*, v. 154, p. 337–340, 2006.

GUO, Juchen e SCHORK, F Joseph. Hybrid Miniemulsion Polymerization of Acrylate / Oil and Acrylate / Fatty Acid Systems. *Macromolecular Reaction Engineering*, v. 2, p. 265–276, 2008.

HEXSEL, Camile L. et al. Current sunscreen issues: 2007 Food and Drug Administration sunscreen labelling recommendations and combination

sunscreen/insect repellent products. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 59, n. 2, p. 316–323, 2008.

HUSSEIN, Abdallah e ELHASSANEEN, Yousif. Natural Dye from Red Onion Skins and Applied In Dyeing Cotton Fabrics for the Production of Women's Headwear Resistance to Ultraviolet Radiation (UVR). *Journal of American Science J Am Sci*, v. 1010, n. 33, p. 129–139, 2014.

INNOCENZI, Plinio e BRUSATIN, Giovanna. A comparative FTIR study of thermal and photo-polymerization processes in hybrid sol – gel films. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 333, p. 137–142, 2004.

IWAI, Kazuya et al. In vitro antioxidative effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 15, p. 4893–4898, 2004.

JANOTTI, Anderson e VAN DE WALLE, Chris G. Fundamentals of zinc oxide as a semiconductor. *Reports on Progress in Physics*, v. 72, n. 12, 2009.

JIMÉNEZ, M. M. et al. Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 272, n. 1–2, p. 45–55, 2004.

KEREM, Zohar et al. Rapid liquid chromatography-ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must. *Journal of Chromatography A*, v. 1052, n. 1–2, p. 211–215, 2004.

KICKELBICK, Guido. Concepts for the incorporation of inorganic building blocks into organic polymers on a nanoscale. *Progress in Polymer Science*, v. 28, p. 83–114, 2003.

KOSTYUK, Vladimir et al. Natural Substances for Prevention of Skin Photoaging : rejuvenation research, v. 21, n. 2, p. 91–102, 2018.

KUMARI, Avnesh e KUMAR, Sudesh e et al. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Development of biodegradable nanoparticles for delivery of quercetin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 80, n. 2, p. 184–192, 2010.

KUMARI, Avnesh e YADAV, Sudesh Kumar e YADAV, Subhash C. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 75, p. 1–18, 2010.

LABSPHERE, User manual UV-2000 S Ultraviolet Transmittance Analyzer.

AQ-02755-000, Rev. 3., Labsphere, Inc., North Sutton 2008.

LANDFESTER, K. Synthesis of Colloidal Particles in Miniemulsions. *Annual Review of Materials Research*, v. 36, n. 1, p. 231–279, 2006.

LANDFESTER, Katharina. Miniemulsions Miniemulsion Polymerization and the Structure of Polymer and Hybrid Nanoparticles. *Angewandte Chemie*, n. 48, p. 4488–4507, 2009.

LANDFESTER, Katharina e MUSYANOVYCH, Anna e MAILA, Volker. From Polymeric Particles to Multifunctional Nanocapsules for Biomedical Applications Using the Miniemulsion Process. *JOURNAL OF POLYMER SCIENCE*, v. 48, p. 493–515, 2010.

LAUTENSCHLAGER, Stephan e WULF, Hans Christian e PITTELKOW, Mark R. Photoprotection. *The Lancet*, v. 370, p. 528 – 537, 2007.

LIU, Peng. Facile preparation of monodispersed core/shell zinc oxide@polystyrene (ZnO@PS) nanoparticles via soapless seeded microemulsion polymerization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 291, n. 1–3, p. 155–161, 2006.

LORCA, Bárbara S.S. et al. Nanoencapsulação de óleo de andiroba via polimerização em miniemulsão. 2009, Foz do Iguaçu: [s.n.], 2009.

MAIER, T. e KORTING, H. C. Sunscreens - Which and what for? *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 18, n. 6, p. 253–262, 2005.

MATINLINNA, J P e LASSILA, L V J e VALLITTU, P K. The effect of a novel silane blend system on resin bond strength to silica-coated Ti substrate. *Journal of Dentistry*, v. 34, p. 436–443, 2006.

MENESES, A. C. et al. Poly(thioether-ester) nanoparticles entrapping clove oil for antioxidant activity improvement. *Journal of Polymer Research*, v. 24, n. 11, 2017.

MOURE, Andrés et al. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, v. 72, n. 2, p. 145–171, 2001.

MÜLLER, Claudia Regina et al. Degradação e estabilização do diclofenaco em nanocápsulas poliméricas. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 555–560, 2004.

NATHIYA, S e DURGA, M e DEVASENA, T. Quercetin , encapsulated quercetin and its application- A review Innovare. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 6, n. January 2014, p. 20–26, 2016.

NICULAE, Gabriela et al. Influence of vegetable oil on the synthesis of bioactive nanocarriers with broad. v. 12, n. 8, 2014.

NOGUEIRA, Regina e FREITAS, Suely Pereira. Obtenção e caracterização de óleo de semente de romã (*Punica granatum*) por prensagem a frio, 2012.

OLSZEWSKA, Monika A. e PRESLER, Anna e MICHEL, Piotr. Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of dry extracts from the selected *Sorbus* species. *Molecules*, v. 17, n. 3, p. 3093–3113, 2012.

OSTERWALDER, U. e HERZOG, B. Sun protection factors: World wide confusion. *British Journal of Dermatology*, v. 161, n. SUPPL. 3, p. 13–24, 2009.

PAESE, KARINA. Desenvolvimento tecnológico, estudo da fotoestabilidade e avaliação da permeação cutânea. 2008. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2008.

PANTOJA, M. et al. Analysis of hydrolysis process of γ -methacryloxypropyltrimethoxysilane and its influence on the formation of silane coatings on 6063 aluminum alloy. *Applied Surface Science journal*, v. 255, p. 6386–6390, 2009.

POLETTO, F S et al. Nanocapsules of Octyl Methoxycinnamate Containing Quercetin Delayed the Photodegradation of Both Components Under Ultraviolet A Radiation. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, p. 80–89, 2008.

POPADYUK, N. et al. Thermoresponsive latexes for fragrance encapsulation and release. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, n. 2, p. 139–147, 2016.

PRISANA, Kullavanijaya e HENRY W. LIM. Photoprotection. *Harper's Textbook of Pediatric Dermatology: Third Edition*, v. 1, p. 1–19, 2011.

REINOSA, Julián Jiménez et al. Hierarchical nano ZnO-micro TiO 2 composites : High UV protection yield lowering photodegradation in sunscreens. *Ceramics International*, v. 44, n. 3, p. 2827–2834, 2018.

ROMIO, A. P. et al. Encapsulation of Magnetic Nickel Nanoparticles Via Inverse Miniemulsion Polymerization. p. 1–8, 2012.

SANTOS, A. E. e BARRETO JUNIOR, C. B. e KUSTER, R. M. Flavonoides e Atividade Antioxidante das Folhas de *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steud. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 3, p. 1303–1317, 2017.

SHAH, Bhavini e DAVIDSON, P Michael e ZHONG, Qixin. International Journal of Food Microbiology Nanodispersed eugenol has improved antimicrobial activity against *Escherichia coli* O157 : H7 and *Listeria monocytogenes* in bovine milk. *International Journal of Food Microbiology*, v. 161, n. 1, p. 53–59, 2013.

SMIJS, Threes G e PAVEL, Stanislav. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnology, science and applications*, v. 4, p. 95–112, 2011.

STEVANATO, Roberto e BERTELLE, Mariangela e FABRIS, Sabrina. Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols. v. 69, p. 71–77, 2014.

TANG, Erjun et al. Fabrication of zinc oxide/poly(styrene) grafted nanocomposite latex and its dispersion. *European Polymer Journal*, v. 43, n. 10, p. 4210–4218, 2007.

TANG, Erjun et al. Synthesis of nano-ZnO/poly(methyl methacrylate) composite microsphere through emulsion polymerization and its UV-shielding property. *Colloid and Polymer Science*, v. 284, n. 4, p. 422–428, 2006.

THEISINGER, Sonja et al. Encapsulation of a fragrance via miniemulsion polymerization for temperature-controlled release. *Macromolecular Chemistry and Physics*, v. 210, n. 6, p. 411–420, 2009.

VIUDA-MARTOS, M. e FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. e PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. Jackfruit and Its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 11, n. 6, p. 565–576, 2012.

WAGEMAKER, Tais Aleriana Lucon. Aplicação do óleo de café em formulações cosméticas: avaliação da estabilidade e da eficácia fotoprotetora. 2013. Universidade De São Paulo Faculdade, 2013.

WAGEMAKER, Tais Aleriana Lucon et al. Sun protection factor, content and

composition of lipid fraction of green coffee beans. *Industrial Crops and Products*, v. 33, n. 2, p. 469–473, 2011.

WAGEMAKER, Tais Aleriana Lucon. Variabilidade do teor de óleo, de seu fator de proteção solar e de outros componentes da fração lipídica do gênero *coffea* visando usos alternativos aos grãos : Oliveiro Guerreiro Filho. 2009. INSTITUTO AGRONÔMICO CURSO, 2009.

WANG, Ru-feng et al. Bioactive Compounds from the Seeds of *Punica granatum* (Pomegranate). p. 2096–2098, 2004.

WATSON, D. G. e OLIVEIRA, E. J. Solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry determination of kaempferol and quercetin in human urine after consumption of *Ginkgo biloba* tablets. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, v. 723, n. 1–2, p. 203–210, 1999.

XIANG, B e JIANG, G e ZHANG, J. Surface modification of TiO₂ nanoparticles with silane coupling agent for nanocomposite with poly (butyl acrylate) Surface modification of TiO₂ nanoparticles with silane coupling agent for nanocomposite with poly (butyl acrylate). *Plastics, Rubber and Composites*, v. 44, n. May, p. 148–154, 2015.

XIONG, G et al. Photoluminescence and FTIR study of ZnO nanoparticles : the impurity and defect perspective. *Physica Status Solidi (C) Current Topics in Solid State Physics*, v. 3581, n. 10, p. 3577–3581, 2006.

ZHANG, Jianjun et al. ZnO / PS core – shell hybrid microspheres prepared with miniemulsion polymerization. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 301, p. 78–84, 2006.

ZHAO, Jie et al. Surface modification of TiO₂ nanoparticles with silane coupling agents Jie. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 413, p. 273–279, 2012.

APÊNDICE A – Descrição

Figura A1 – Curva de calibração da análise de absorbância da Quercetina

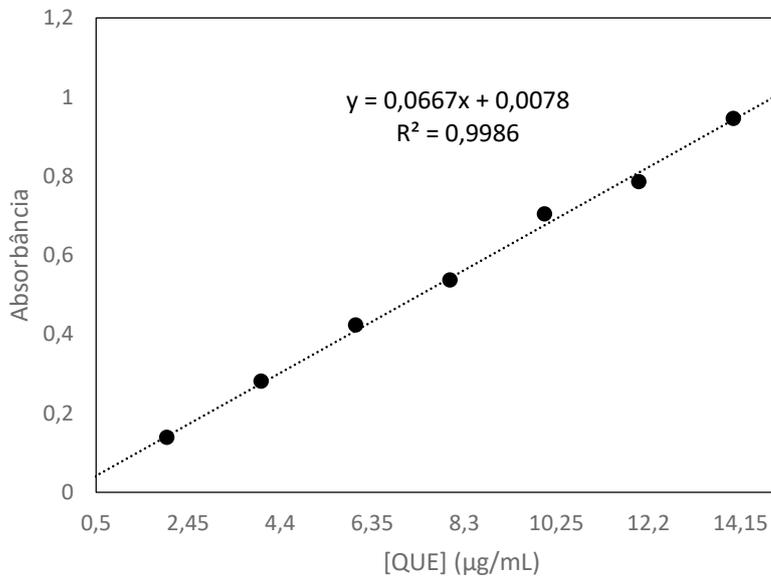


Figura A2 – Curva de calibração da análise de absorbância do Óleo de Semente de Romã

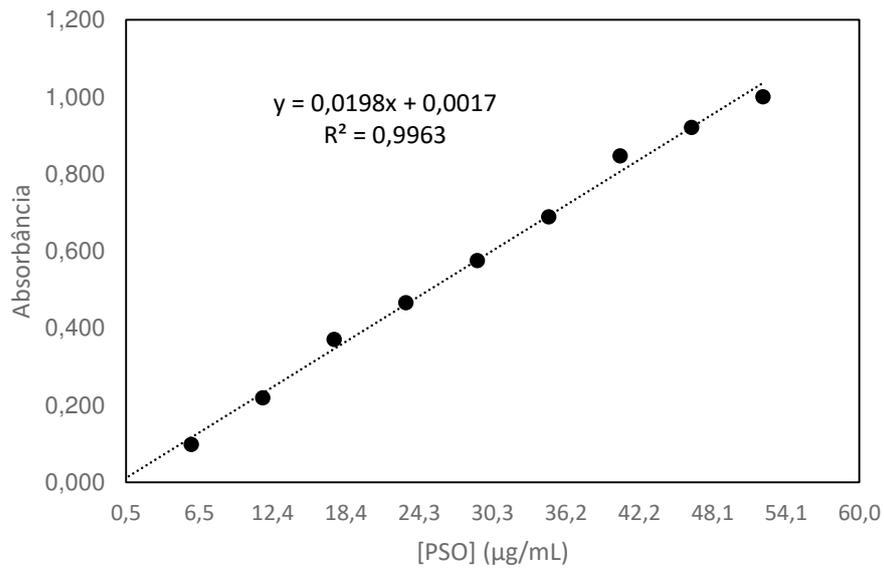
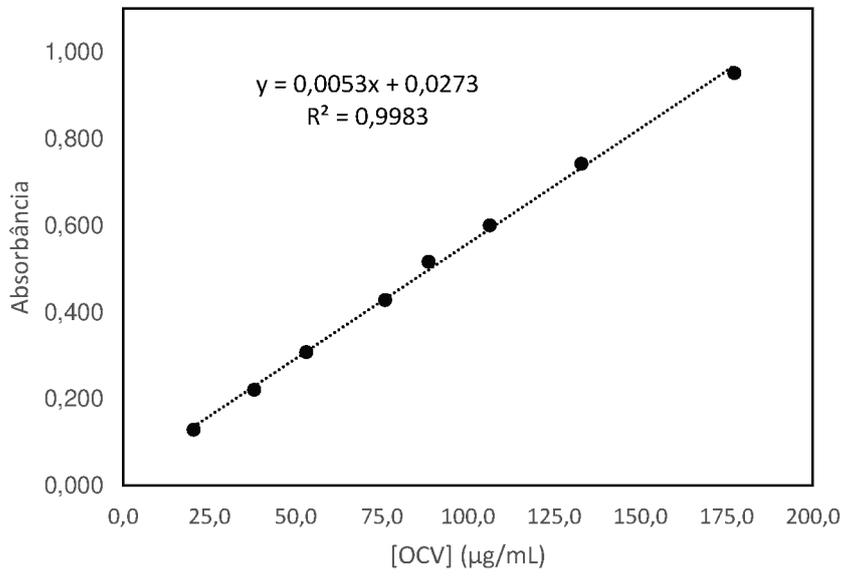


Figura A3 – Curva de calibração da análise de absorvância do Óleo de Café Verde



ANEXO A – Descrição

Figura A1 – Curva de calibração da análise de absorvância do 3-trimetoxisilil propil metacrilato (MPS)

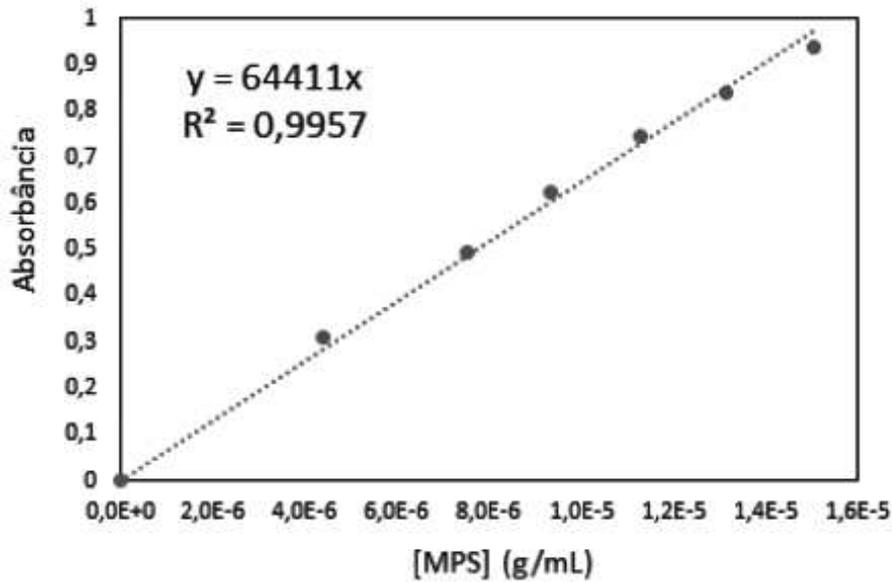


Figura A2 – Curva de calibração da análise de absorvância do octocrileno (OC)

