



# UFBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA POLITÉCNICA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI

MESTRADO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL

NATHÁLIA FREITAS FREIRE

DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS  
CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA  
(*CYMBOPOGON WINTERIANUS*)



**SALVADOR**  
**2017**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA POLITÉCNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS  
CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA  
(*CYMBOPOGON WINTERIANUS*)**

**NATHÁLIA FREITAS FREIRE**

Salvador  
2017

**NATHÁLIA FREITAS FREIRE**

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS  
CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA  
(*CYMBOPOGON WINTERIANUS*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial (PEI), Escola politécnica da Universidade Federal da Bahia (UFBA), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Engenharia Industrial.

Orientadoras:

Prof.<sup>a</sup> Dra. Elaine Cabral Albuquerque.

Prof.<sup>a</sup> Dra. Rosana Lopes Fialho.

Coorientador:

Prof. Dr. José Carlos Pinto.

Salvador

2017

Freire, Nathália Freitas  
Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*) / Nathália Freitas Freire. - Salvador, 2017.  
140 f. : il

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Elaine Cabral Albuquerque.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Rosana Lopes Fialho.

Coorientador: Prof. Dr. José Carlos Pinto.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em Engenharia Industrial - PEI) Universidade Federal da Bahia, Escola politécnica, 2017.

1. Óleo essencial de citronela. 2. Nanopartículas poliméricas. 3. Polimerização *in situ*. 4. Polimerização via miniemulsão. 5. Cosméticos. I. Albuquerque, Elaine Cabral. II. Fialho, Rosana Lopes. III. Pinto, José Carlos. IV. Título.

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO ÓLEO  
ESSENCIAL DE CITRONELA (CYMBOPOGON WINTERIANUS)**

**NATHÁLIA FREITAS FREIRE**

Dissertação submetida ao corpo docente do programa de pós-graduação em Engenharia Industrial da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de mestra em Engenharia Industrial.

Examinada por:

Prof. Dr. Bruno Souza Fernandes



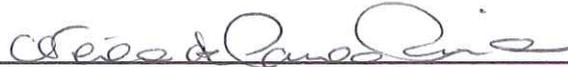
Doutor em Engenharia Industrial, pela Universidade Federal da Bahia, Brasil, 2015.

Profa. Dra. Karen Valverde Pontes



Doutora em Engenharia Química, pela Universidade Estadual de Campinas e pela Universidade RWTH-Aachen Alemanha, Brasil, 2008.

Profa. Dra. Neila de Paula Pereira



Doutora em Ciências Farmacêuticas, pela Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2008.

Salvador, BA - BRASIL  
Outubro/2017

*Para a minha mãe, com todo meu amor!*

## *Agradecimentos*

A gratidão é a memória do coração. Gostaria de agradecer ao Deus do Universo por tudo existir, ao tempo e a vida.

A toda minha família, tios, tias, primos, primas, ao meu pai e àqueles que já não estão aqui: avôs, vó Aguidinha e vó Sergina, por terem me dado doses diárias de amor.

À minha mãe, você é minha base, obrigada pelo encorajamento e aconselhamento de todos os dias, você faz parte de meu mundo.

À minha irmã, pelos dengos notórios e os maiores presentes que alguém pode dar ao outro: Júlia e Liz, minhas sobrinhas.

Às minhas orientadoras: Professora Dra. Elaine Cabral Albuquerque, obrigada pelas diretrizes, por acreditar e apostar em meu potencial, agradeço pela interação e humildade constates e à professora Dra. Rosana Lopes Fialho, pelo incentivo, confiança e presença constantes.

Ao professor Dr. José Carlos Pinto, pelo acolhimento e orientação, de forma excepcional, ao qual abriu as portas do laboratório, incentivando-me e indicando-me, a todo momento, o caminho do conhecimento.

À toda família EngePol, a qual proporcionou trabalhos coletivos, enchendo-me de ensinamentos diário e contínuo. Gratidão à Thamiris, Mayra, Débora, Luciana, Nathali, Larissa, Marcelo, Ricardo, Jorge e todos, os quais, diariamente com muita dedicação, me iluminavam e traziam o gostinho do saber.

À Citral Óleos Essenciais Ltda., em especial a João Francisco, pelas amostras de citronelal, de suma importância para análises de caracterização.

Ao Rosemário Souza, pela ajuda em todas as análises. Obrigada por tornar-se um amigo pessoal.

Ao Valdinei, Zé e Tenilson pela ajuda com as caracterizações. Ao LPB e todos amigos que fazem parte desse grupo, em especial a Eval.

À professora Neila de Paula, pelos conselhos e verdadeiras aulas sobre cosméticos. O acolhimento fez-me sentir em casa, com direito à chave do laboratório.

A todos do Laboratório de Pesquisa em Medicamento e Cosmético, em especial a à Myla, pela ajuda com os estudos em emulsão cosmética.

Ao LAPAAC da Faculdade de Farmácia da UFBA, pelas análises de textura.

À UNIT e todos do NUESC que me receberam de braços abertos e trouxeram grandes contribuições e ensinamentos.

Ao prof. Dr. Cláudio Dariva, pela oportunidade, a Klebson, Mozart, Maurício e Thiago, pela ajuda com a Cromatografia Gasosa.

A todos os meus amigos, os antigos e os novos, sempre me fazendo sentir viva, presentes nos momentos de dificuldade e diversão.

Ao Yuri Guerrieri. Quero ser uma profissional como você! Obrigada por sua dedicação e interesse. Sinto-me acolhida em todos os momentos.

Ao meu grande amigo Diego Pascoal, pela humildade e ajuda. Foi muito bom reencontrá-lo. O destino é cheio de boas surpresas.

À Mirela Gonzalez, pelo companheirismo e por escutar todas as histórias do nanomundo. Lembro-me de suas palavras: “persistência é a parte boa da teimosia”. Obrigada pelo incentivo.

À Isis, Monna, Ana Clara e Ana Lua, minha vida fica bem mais divertida com vocês. À Flora, Ane, Maney, Ana Luisa, Diacuí, Bruno, Lucas, Mário e Marcelo. Tantos amigos fiéis, os quais fazem a minha existência na terra ser mais serena e feliz.

À secretaria do PEI, representada por Tati, Robson e Tamiles, por estarem sempre de prontidão, tirarem minhas dúvidas e ajudarem na resolução dos problemas acadêmicos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro e parceria no projeto. À UFBA, ao PEI e a escola politécnica pela oportunidade.

A todos, muito obrigada!

*Quando eu tinha 5 anos de idade, minha mãe me disse que a felicidade era a chave para a vida. Quando eu fui para a escola, eles me perguntaram o que eu queria ser quando crescesse. Eu escrevi 'feliz'. Eles me disseram que eu não entendi a tarefa, e eu disse a eles que eles não entendiam a vida.*

*John Lennon (1970)*

*A dor, o prazer e a morte não são mais do que o processo da existência. A luta revolucionária neste processo é uma porta aberta à inteligência.*

*Frida Kahlo (1948)*

## ***Resumo***

Óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis extraídos de plantas, funcionam como antibióticos naturais e como anti-inflamatórios. O óleo extraído das folhas da planta da citronela (*Cymbopogon winterianus*) é rico em aldeído citronelal e tem quantidades de geraniol, citronelol e ésteres, constituindo um excelente aromatizante de ambientes e repelente de insetos, além de apresentar ação antimicrobiana. Devido sua alta volatilidade e baixa estabilidade química possui efeito de curta duração. A nanoencapsulação do óleo essencial de citronela serve como estratégia para aumentar o tempo de atividade destas substâncias ao melhorar sua estabilidade química e reduzir a volatilização. Os sistemas carreadores poliméricos mostram-se bastante promissores para esta aplicação devido a facilidade de produção, transposição para escala industrial e estabilidade física elevada. O poli (metacrilato de metila) foi o polímero escolhido com base na sua aplicação biomédica e farmacêutica, bem como biocompatibilidade e estabilidade a longo prazo. A técnica escolhida para a produção das nanopartículas de poli (metacrilato de metila) contendo óleo essencial de citronela foi a polimerização *in situ* via miniemulsão. Os resultados mostraram que é possível obter látex estável com nanopartículas numa faixa de diâmetro manométrico entre 70 e 375 nm. Existe viabilidade no encapsulamento do óleo essencial de citronela ao se obter diferentes valores de eficiência a depender da concentração do óleo (2,5 a 15% m/m). Foi evidenciado que o bioativo não interagiu com a matriz polimérica, reduzindo a possibilidade de perda de atividade repelente de insetos. As nanopartículas produzidas foram incorporadas em emulsão cosmética tipo O/A. Ensaio de estabilidade acelerada foram realizados e as formulações se mantiveram uniformes. Assim, este estudo mostrou resultados promissores para aplicações cosméticas do óleo essencial de citronela encapsulado.

**Palavras-chave:** Óleo essencial de citronela, nanopartículas poliméricas, polimerização *in situ*.

## ***Abstract***

Essential oils are volatile, natural, complex mixture of compounds with a high content of terpenes and they are known for their fragrance, medicinal properties or insect control effect. In addition, oils have low solubility in aqueous media. Citronella oil is rich in citronellal, geraniol and citronellol and it is recognized for its insect control effect. However, citronella oil is highly volatile and chemically unstable when exposed to both air and light. So, different approaches to improve its biological effect have involved micro or nanoencapsulation. In that context, encapsulation polymeric systems have shown a promising perspective towards cosmetic and pharmaceutical applications. Furthermore, they can be produced by *in situ* polymerization in a single step, facilitating the scale up. Polymethyl methacrylate (PMMA) was the polymer of choice based on its biomedical and pharmaceutical application, as well as biocompatibility and long-term stability. So, the aim of this work was to produce and characterize citronella oil incorporated into PMMA nanoparticles produced by miniemulsion *in situ* polymerization. The results showed that it is possible to obtain stable latex with nanoparticles on a nanometric size range, between 70 and 375nm. There is viability in the encapsulation of essential oil of citronella by getting different efficiency values depend on the concentration of oil (2,5 a 15% w/w), was evidence that the bioactive no interacted with the polymeric matrix, reducing the possibility of loss of insect repellent activity. Nanoparticles produced were embedded in cosmetic O/W type emulsion that remained stable during accelerated stability tests. Thus, this study showed promising results for cosmetic applications of citronella oil encapsulated.

**Keywords:** Citronella essential oil, polymeric nanoparticle, *in situ* polymerization.

# Lista de Figuras

---

## Capítulo 2

Figura 2.1- <i>Cymbopogon nardus</i> . .....	12
Figura 2.2- Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas .....	15
Figura 2.3 -Representação esquemática da reação de polimerização do MMA.....	19
Figura 2.4 – Estágios do mecanismo de polimerização pelo método de emulsão.....	23
Figura 2.5 – Estrutura de microemulsões e nanoemulsões produzidas a partir de óleo, água e tensoativo. ....	26
Figura 2.6 – Esquema do processo da polimerização em miniemulsão. ....	28
Figura 2.7 – Esquema do processo de sonicação.....	29
Figura 2.8 -Representação esquemática em corte transversal da pele.....	32

## Capítulo 3

Figura 3.1- Refratômetro de bancada utilizado para análises de índice de refração. ....	38
Figura 3.2- Esquema das etapas de reação de polimerização in situ pelo método de miniemulsão. ....	40
Figura 3.3- Esquema da unidade reacional de polimerização em miniemulsão.....	41
Figura 3.4- Imagem da unidade reacional de polimerização em miniemulsão. ....	41
Figura 3.5- Desenho esquemático do funcionamento do microscópio eletrônico de varredura .....	42
Figura 3.6- Cápsulas utilizadas para secagem de alíquotas nas análises de conversão pelo método de gravimetria.....	43
Figura 3.7- Funcionamento de GPC, sistema de separação de cadeias poliméricas. ....	45
Figura 3.8- Espectro Eletromagnético. ....	46
Figura 3.9- Célula de difusão de Franz.....	50
Figura 3.10- Placas utilizadas para análise de espalhabilidade <i>in vitro</i> .....	55

## Capítulo 4

Figura 4.1- Cromatograma do óleo essencial de citronela (representado na cor rosa) e do padrão citronelal (representado na cor preta).....	57
Figura 4.2- Análise termogravimétrica (TGA) do óleo essencial de citronela.....	58
Figura 4.3- Valores de índice de refração do óleo essencial de citronela a 18°C, 25°C e 38°C, influência da concentração mássica e temperatura. ....	59

Figura 4.4- Valores de índice de refração a 18°C, influência da concentração. ....	60
Figura 4.5- Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de PMMA contendo: (a) 2,5% e (b) 5% de óleo essencial de citronela. ....	62
Figura 4.6- Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de PMMA contendo: (a) 10% e (b) 15% de óleo essencial de Citronela. ....	62
Figura 4.7- Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de PMMA. ....	63
Figura 4.8- Taxas de conversão das polimerizações de PMMA pelo método de polimerização <i>in situ</i> . ....	64
Figura 4.9- Distribuição de diâmetro médio de partículas das amostras de PMMA. ....	65
Figura 4.10- Distribuição de diâmetro médio de partículas das amostras de PMMA com 2,5 e 5 % de óleo essencial de citronela na formulação. ....	66
Figura 4.11- Distribuição de tamanho de partículas das amostras de PMMA com 10 e 15 % de óleo essencial de citronela na formulação. ....	66
Figura 4.12- Distribuição de diâmetro médio das nanopartículas poliméricas após a produção e após 4 meses de armazenamento. ....	68
Figura 4.13- Disposição das massas molares ponderais médias das diferentes reações de polimerização <i>in situ</i> de PMMA contendo distintas concentrações de óleo essencial de citronela. ....	70
Figura 4.14- Disposição molecular e diâmetro médio das partículas nas reações de polimerização com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela. ....	71
Figura 4.15- Cromatograma efetuado em GC/MS utilizando heptano como solvente. (Preto): Padrão citronelal; (Rosa): Óleo essencial de citronela; (Azul): Extratos das nanopartículas poliméricas. ....	73
Figura 4.16- Espectro de infravermelho (IR) do óleo essencial de citronela. ....	75
Figura 4.17- Espectro de infravermelho (IR) do PMMA. ....	76
Figura 4.18- Espectro de infravermelho (IR) das nanopartículas de PMMA com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela. ....	77
Figura 4.19- Análise termogravimétrica das nanopartículas de PMMA puro e com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela. ....	78
Figura 4.20- Análise referente a DSC e termogravimetria: (a) óleo essencial de citronela, (b) PMMA. ....	79
Figura 4.21- Análise referente a DSC e termogravimetria: (a) PMMA com 2,5% de citronela na formulação, (b) PMMA com 5% de citronela na formulação. ....	80

Figura 4.22- Análise referente a DSC e termogravimetria: (a) PMMA com 10% de citronela na formulação, (b) PMMA com 15% de citronela na formulação. ....	81
Figura 4.23- Estudo comparativo de calorimetria exploratória diferencial (a) Faixa de temperatura 0-600°C, (b) Faixa de temperatura 300-450°C. ....	82
Figura 4.24- Perfil de permeação do óleo essencial de citronela das nanopartículas produzidas com 5% de bioativo nas reações de polimerização. ....	83
Figura 4.25- Perfil de permeação do óleo essencial de citronela das nanopartículas produzidas com 10% de bioativo nas reações de polimerização. ....	84
Figura 4.26- Fluxo de massa de óleo essencial de citronela em função do tempo, contendo 5% e 10 % de bioativo em suas formulações. ....	85
Figura 4.27- Aspecto da formulação cosmética desenvolvida. ....	86
Figura 4.28- Fotomicrografias de microscópio óptico biocular da formulação 3 (PMMA + Citro 5%) aumentada: (a) 400x, (b) 100x. ....	89
Figura 4.29- Fotomicrografias de microscópio óptico biocular da formulação 4 (PMMA + Citro 10%) aumentada: (a) 400x, (b) 100x. ....	90
Figura 4.30- Espalhabilidade <i>in vitro</i> : (a) Emulsão cosmética (b) Formulação cosmética com PMMA incorporado (c) Formulação cosmética com PMMA + Citro (5%) incorporado (d) Formulação cosmética com PMMA + Citro (10%) incorporado. ....	91
Figura 4.31- Espalhabilidade comparativa das formulações analisadas. ....	92
Figura 4.32- Propriedades de textura das formulações estudadas. ....	94
<b>Apêndice</b>	
Figura A.1- Curva de calibração do óleo essencial de citronela em etanol utilizada para análises de eficiência de encapsulamento. ....	118
Figura A.2- Curva de calibração do citrônellal em heptano utilizada para análises de eficiência de encapsulamento. ....	119
Figura A.3- Curva de calibração do citrônellal em hexano utilizada para análise de composição do óleo essencial de citronela. ....	119
Figura C.1- Valores de índice de refração do óleo de coco a 18°C, 25°C e 38°C, influência da concentração mássica e temperatura. ....	122
Figura C.2- Valores de índice de refração do óleo de coco a 25°C, influência da concentração. ....	122
Figura C.3- Valores de índice de refração do ácido glicólico a 18°C, 25°C e 38°C, influência da concentração mássica e temperatura. ....	123

# Lista de Tabelas

---

## Capítulo 2

Tabela 2.1- Repelentes disponíveis comercialmente no Brasil, concentrações e tempo de ação estimado. .... 10

Tabela 2.2- Principais polímeros sintéticos de uso farmacêutico e suas aplicações. .... 18

## Capítulo 3

Tabela 3.1- Quantidades e condições experimentais utilizadas na produção de nanopartículas poliméricas através do método de polimerização *in situ*..... 40

Tabela 3.2- Formulação desenvolvida para preparo de emulsão cosmética (O/A). .... 51

## Capítulo 4

Tabela 4.1- Distribuição de diâmetro médio das nanopartículas obtidas em diferentes reações. .... 65

Tabela 4.2- Distribuição de diâmetro médio das nanopartículas obtidas em diferentes reações após 4 meses de preparação. .... 68

Tabela 4.3- Resultados de GPC das reações de polimerização de PMMA com diferentes concentrações mássicas de óleo essencial de citronela. .... 69

Tabela 4. 4- Eficiência de encapsulamento do óleo essencial de citronela nas nanopartículas poliméricas analisados por Espectrofotômetro UV/Visível. .... 72

Tabela 4.5- Eficiência de encapsulamento do óleo essencial de citronela nas nanopartículas poliméricas analisados por GC/MS. .... 73

Tabela 4.6- Incorporação das nanopartículas poliméricas na emulsão cosmética. .... 87

Tabela 4.7- Valores do fator de espalhabilidade por formulação. .... 92

## Apêndice

Tabela B.1- Reações de polimerização em massa utilizando MMA e VAc como monômero em diferentes proporções do óleo essencial de citronela como bioativo. .... 120

# *Lista de Siglas e Abreviaturas*

---

**ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**BPO**- Peróxido de benzoíla

**CETIOL V** - Oleato de decila

**CITRO** - Citronela

**COPPE** - Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia

**DEET** - N, N-dietil-3-Metilbenzamida

**DSC** - Calorimetria Exploratória Diferencial (do inglês, Differential Scanning Calorimetry)

**ENGEPOL** - Laboratório de Engenharia de Polímeros

**FTIR** -Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês, Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

**GC**- Cromatografia Gasosa (do inglês, Gás Chromatography)

**GPC**-Cromatografia de Permeação em Gel (do inglês, Gel Permeation chromatography)

**HD** - Hexadecano

**IR**- Radiação infravermelha

**K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>** . Persulfato de potássio

**LPB** - Laboratório de Polímeros e Bioprocessos

**LSS**- Lauril sulfato de sódio

**MEV** - Microscopia Eletrônica de Varredura (do inglês, Scanning Electron Microscopy)

**MMA**- Metacrilato de metila

**NIPAGIM** - Metilparabeno

**NIPAZOL**- Propilparabeno

**NUESC** - Núcleo de Estudos em Sistema Coloidais

**PMMA** - Poli (metacrilato de metila)

**PMMA + Citro (2,5%)**-Nanopartículas poliméricas contendo 2,5% de citronela na formulação

**PMMA + Citro (5%)**-Nanopartículas poliméricas contendo 5% de citronela na formulação

**PMMA + Citro (10%)** - Nanopartículas poliméricas contendo 10% de citronela na formulação

**PMMA + Citro (15%)**- Nanopartículas poliméricas contendo 15% de citronela na formulação

**TGA** - Análise Termogravimétrica (do inglês, Thermogravimetric Analysis)

**THF** - Tetrahidrofurano

**UFBA** - Universidade Federal da Bahia

**UFRJ** -Universidade Federal do Rio de Janeiro

**UNIT** - Universidade Tiradentes

**VAc**- Acetato de vinila

# Sumário

---

<b>Capítulo 1</b> .....	1
1.0 Introdução.....	1
1.1 Objetivos.....	3
1.1.1 Objetivo Geral.....	3
1.1.2 Objetivos específicos .....	4
<b>Capítulo 2</b> .....	5
2.0 Fundamentação Teórica.....	5
2.1 Doenças de transmissão vetorial.....	5
2.2 Repelentes.....	7
2.3 Citronela ( <i>Cymbopogon winterianus</i> ) .....	11
2.4 Nanoencapsulação .....	14
2.5 Polimerização <i>in situ</i> via emulsão .....	21
2.6 Polimerização <i>in situ</i> via miniemulsão .....	25
2.7 Nanopartículas em cosméticos para administração dérmica .....	29
2.8 Considerações finais .....	32
<b>Capítulo 3</b> .....	34
3.0 Materiais e Métodos .....	34
3.1 Reagentes.....	34
3.2 Equipamentos e Acessórios .....	35
3.3 Métodos .....	37
3.3.1 Avaliação da solubilidade do bioativo em metacrilato de metila .....	37
3.3.2 Produção de partículas poliméricas .....	38
3.4 Caracterização das partículas poliméricas .....	41
3.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV .....	41
3.4.2 Análise Gravimétrica .....	43
3.4.3 Distribuição de diâmetro das partículas .....	44
3.4.4 Cromatografia de Permeação em Gel – GPC .....	44
3.4.5 Eficiência de Encapsulamento – Espectroscopia UV/Visível .....	45
3.4.6 Cromatografia Gasosa – GC .....	47
3.4.7 Espectroscopia no Infravermelho (IR) com Transformada de Fourier - FTIR.....	48
3.4.8 Análise Termogravimétrica – TGA .....	48
3.4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC.....	49
3.5 Ensaio de permeação com membrana sintética em células de Franz.....	49

3.6	Formulação, Incorporação e ensaios de estabilidade da emulsão cosmética .....	51
3.6.1	Formulação .....	51
3.6.2	Incorporação das nanopartículas poliméricas na emulsão cosmética .....	52
3.6.3	Ensaio de estabilidade acelerada na emulsão cosmética .....	52
3.6.3.1	Teste de centrifugação.....	53
3.6.3.2	Teste em Vórtex .....	53
3.6.3.3	Ciclo gelo-degelo .....	53
3.6.3.4	Alteração luminosa.....	54
3.6.3.5	Determinação da espalhabilidade <i>in vitro</i> .....	54
3.6.3.6	Textura <i>in vitro</i> .....	55
<b>Capítulo 4</b>	.....	<b>56</b>
4.0	Resultados e Discussão.....	56
4.1	Caracterização do óleo essencial de citronela .....	56
4.1.1	Composição do óleo essencial de citronela .....	56
4.1.2	Estabilidade térmica do óleo essencial de citronela.....	57
4.1.3	Estudo de solubilidade entre monômeros e bioativo .....	58
4.2	Produção de partículas poliméricas via polimerização <i>in situ</i> .....	60
4.3	Caracterização das nanopartículas poliméricas .....	61
4.3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV .....	61
4.3.2	Análise Gravimétrica .....	63
4.3.3	Distribuição de Tamanhos de Partículas.....	64
4.3.4	Propriedades moleculares – GPC.....	68
4.3.5	Eficiência de Encapsulamento – Espectroscopia UV/Visível e Cromatografia Gasosa. .....	71
4.3.6	Interação Ativo-Polímero.....	74
4.3.6.1	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR .....	74
4.3.6.2	Análise Termogravimétrica – TGA.....	77
4.3.6.3	Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC.....	78
4.4	Ensaio de permeação com membrana sintética em células de Franz.....	82
4.5	Formulação, Incorporação e ensaios de estabilidade da emulsão cosmética .....	86
4.5.1	Formulação cosmética .....	86
4.5.2	Incorporação das nanopartículas poliméricas na emulsão cosmética .....	87
4.5.3	Ensaio de estabilidade acelerada na emulsão cosmética .....	87
4.5.3.1	Teste de centrifugação.....	88
4.5.3.2	Teste em Vórtex .....	88
4.5.3.3	Ciclo gelo-degelo .....	89
4.5.3.4	Alteração luminosa.....	90

4.5.3.5 Determinação da espalhabilidade <i>in vitro</i> .....	90
4.5.3.6 Textura <i>in vitro</i> .....	93
<b>Capítulo 5</b> .....	96
5.0 Conclusões e Sugestões .....	96
5.1 Conclusões .....	96
5.2 Sugestões para trabalhos futuros .....	97
<b>Bibliografia</b> .....	98
<b>Apêndice</b> .....	118
Apêndice A .....	118
Apêndice B .....	120
Apêndice C .....	121

# Capítulo 1

---

## 1.0 Introdução

As doenças de transmissão vetorial são responsáveis por um alto número de mortalidade e morbidade entre os humanos. Conhecidas como arboviroses são causadas por arbovírus transmitidos por artrópodes, dentre eles insetos. Doenças como febre amarela, malária, dengue, chikungunya, zica e febre do Nilo Ocidental ameaçam pessoas em todo mundo. Os insetos responsáveis pela crescente disseminação dessas doenças são: *Anopheles funestus*, *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti* e *Culex pipiens*. A dengue por exemplo é difundida em todo o trópico, principalmente em locais com urbanização não planejada. É transmitida pelos mosquitos fêmeas da espécie *Aedes aegypti* que também transmite a febre amarela, chikungunya e zika, se colocando como principal artrópode contaminante. (KARTZ *et al.*, 2008; WHO, 2017).

Diferentes estratégias podem ser adotadas para atuar na prevenção das doenças transmitidas pelos mosquitos. O uso de repelentes aparece como alternativa que pode contribuir mais rapidamente para proteger os pacientes e prevenir a propagação de arboviroses. Embora os repelentes sejam importantes para prevenção de doenças, sua classificação como cosmético pela ANVISA faz com que não haja comprovação de eficácia e segurança por ensaios clínicos contratados. A substância conhecida como DEET (N, N-dietil-3-metilbenzamida) é utilizada desde os anos 50 por milhares de pessoas, é o repelente mais usado em formulações. Tem sido geralmente considerado como seguro, mas efeitos tóxicos foram registrados, incluindo danos cerebrais em crianças, urticária, abaixamento da pressão cardíaca, além de reações alérgicas como anafilaxia. O DEET tem uso restrito em crianças de 2-12 anos e não é indicado para menores de 2 anos. Outra substância com ação repelente é a Icaridina, mas que também tem uso não recomendado para crianças menores de 2 anos. (PETERSON *et al.*, 2001; STEFANI *et al.*, 2009; ANVISA, 2017).

Devido a esses problemas existe a necessidade de desenvolvimento de formulações com substâncias alternativas. Óleos essenciais de plantas, comumente usados como fragrâncias são recomendados como repelentes de mosquitos e tendem a ter pouco ou nenhum efeito nocivo se utilizado na dose adequada. Esses óleos possuem propriedades repelentes contra vários

artrópodes, inclusive, formando a base de algumas formulações comerciais repelentes, como é o caso do óleo essencial de citronela.

A citronela, também conhecida como citronela de Java, possui nome científico *Cymbopogon witerianus* e *Cymbopogon nardus*, pertence à família *Gramineae* (*Poaceae*). É popular por possuir ação repelente de insetos e é utilizada nessas formulações, em velas e em incensos. (MONTEIRO *et al.*, 2012; SOLOMON *et al.*, 2012). O óleo extraído das folhas da planta da citronela é rico em aldeído citronelal além de conter, em menores quantidades, geraniol, citronelol e ésteres em geral. Pesquisas mostraram que o citronelal, citronelol e geraniol apresentam ação repelente e antimicrobiana. (MARCO *et al.*, 2007; SCHERER *et al.*, 2009).

Apesar de sua eficácia comprovada em diversos estudos, ainda existem limitações em relação à incorporação do óleo essencial de citronela em formulações repelentes de insetos devido sua alta volatilidade, que promove um curto tempo de duração da ação repelente. A fim de solucionar esses problemas, o recurso proposto é a nanoencapsulação polimérica, servindo como estratégia para aumentar o tempo de atividade ao reduzir a volatilidade destas substâncias. (STEFANI *et al.*, 2009; SOLOMON *et al.*, 2012; IMAN *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2014).

A nanoencapsulação pode ser definida como a tecnologia de incorporar ou recobrir substâncias ativas, formando esferas ou cápsulas que podem liberar seu conteúdo em taxas controladas ou sob condições específicas. Os sistemas carreadores de fármacos proporcionam diversas vantagens em relação à administração do bioativo livre, como: proteção química, aumento de biodisponibilidade, mascaração de sabor/odor, direcionamento a tecido ou célula, diminuição significativa de efeitos colaterais e diminuição da dose necessária para desempenhar um determinado efeito. (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; JESUS *et al.*, 2015).

Em geral as nanopartículas são definidas como partículas coloidais sólidas, podendo se enquadrar como nanoesferas ou nanocápsulas. As partículas podem ser produzidas por diversos métodos de polimerização ou através de polímeros pré-formados, dentre os quais podem ser destacados: a nanoprecipitação, emulsão por difusão, emulsificação dupla, emulsão-coacervação, revestimento de polímero entre outras metodologias. Uma das características fundamentais das nanopartículas é o tamanho, geralmente abaixo de 500 nm. (MORA-HUERTAS *et al.*, 2010).

A seleção do polímero a ser empregado nos sistemas nanoestruturados está condicionada à natureza do princípio ativo que se pretende incorporar e a aplicação. O poli (metacrilato de metila), PMMA, apresenta grande potencial, como polímero carregador de bioativos, por possuir biocompatibilidade, e vem sendo amplamente utilizado para encapsular diferentes bioativos, inclusive por técnicas de polimerização *in situ*. Sendo está uma técnica simples em que os ativos podem ser encapsulados com alta eficiência e aplicabilidade. Este tipo de polimerização é muito atrativa devido à versatilidade e o processo ocorrer em uma única etapa evitando gastos com etapas adicionais como separações e purificações. Por essas razões a técnica *in situ* tem recebido bastante atenção em comparação a técnica de polímero pré-formado por exemplo. (REIS *et al.*, 2006; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; SEVERINO *et al.*, 2011; PEIXOTO, 2012).

Dentre as técnicas de polimerização *in situ* a miniemulsão apresenta-se promissora para sintetizar diferentes tipos de material. Nesse tipo de polimerização o monômero é encontrado disperso em gotas submicrométricas de 50 a 500 nm, que são estabilizadas pela combinação entre um tensoativo e co-estabilizador. (LANDFESTER *et al.*, 1999; ASUA, 2014). Essa técnica é bem descrita e consolidada na literatura, além de ser facilmente transportada para escala industrial.

Diante do exposto, a produção de um repelente a base de óleo essencial de citronela nanoencapsulado, a fim de solucionar problemas como alta volatilidade e baixa estabilidade química, aparece como uma alternativa promissora para o combate a doenças de transmissão vetorial. Pois pode aumentar o tempo de ação biológica/repelente dos ativos do óleo de citronela e contribuir com o desenvolvimento de um produto com menor toxicidade para crianças e idosos.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo Geral

Encapsular o óleo essencial de citronela em nanopartículas poliméricas de poli (metacrilato de metila) produzidas por polimerização *in situ* pelo método de miniemulsão.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- 1- Desenvolver nanopartículas poliméricas via polimerização *in situ* pelo método de miniemulsão com óleo essencial de citronela incorporado.
- 2- Caracterizar o polímero obtido (PMMA) com diferentes concentrações mássicas de óleo essencial de citronela em relação as propriedades moleculares e conversão.
- 3- Caracterizar as nanopartículas poliméricas contendo óleo essencial de citronela em relação as propriedades térmicas, tamanho das partículas, morfologia e eficiência de encapsulamento.
- 4- Incorporar as nanopartículas poliméricas produzidas em emulsão cosmética do tipo O/A.
- 5- Realizar ensaios de estabilidade acelerada nas emulsões cosméticas com as nanopartículas poliméricas incorporadas.

# Capítulo 2

---

## 2.0 Fundamentação Teórica

Este capítulo apresenta informações sobre doenças de transmissão vetorial e seus disseminadores, óleo essencial de citronela, seus compostos e sua atividade repelente, bem como os métodos de encapsulação de bioativos em partículas poliméricas.

### 2.1 Doenças de transmissão vetorial

As doenças de transmissão vetorial são responsáveis por altas taxas de mortalidade e alguns artrópodes, como os mosquitos, são os principais agentes transmissores. Existem cerca de 3.500 espécies diferentes de mosquitos. Os gêneros com mais espécies são *Aedes* (155 espécies), *Culex* (1220 espécies) e *Anopheles* (470 espécies). Cinco espécies atuam como transmissores de doenças: *Anopheles gambiae*, *Anopheles funestus*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Culex pipiens*. *Anopheles* são os vetores de protozoários que causam malária. *Culex pipiens* pode ser vetor de várias infecções, incluindo Nilo Ocidental. Os dois principais vetores de arbovírus na América do Sul são *A. aegypti* e *albopictus*. O *A. aegypti* é o mais perigoso sendo responsável pela transmissão de dengue, chikungunya, zika e febre amarela. (PATTERSON *et al.*, 2016; KANTOR, 2016).

A dengue, a chikungunya e a zika estão presentes na Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública do Ministério da Saúde. Somente em 2016, foram registrados 1.500.535 casos prováveis de dengue, 271.824 casos prováveis de chikungunya e 215.319 casos prováveis zika no país. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Existe um potencial alargamento de surtos nos casos dessas doenças no hemisfério ocidental, além disso as notificações de síndrome de Guillain-Barré durante o surto de zika aumentaram. (CARDOSO *et al.*, 2015). De acordo com o LIRAA (2015), 199 municípios brasileiros estavam em situação de risco para ocorrência de surto dessas doenças e 665 municípios em situação de alerta.

Algumas estratégias podem ser usadas para evitar a transmissão de doenças causadas por mosquitos através da prevenção de picadas como o uso de barreiras físicas como roupas e telas ou utilização de repelentes que impedem aproximação dos insetos.

Os mosquitos fêmeas localizam seus hospedeiros através do sistema olfativo que detecta compostos químicos atraentes, como CO<sub>2</sub> exalado e o suor dos seres humanos. Moléculas como feromônios, estrogênios, aminoácidos, ácidos graxos, aldeídos entre outros são uma combinação presente no suor. Os receptores de odor estão alojados em neurônios, nas antenas e em outros órgãos sensoriais. Esses produzem proteínas que atuam como receptores, fazendo com que os insetos percebam a presença dos seres humanos. Os repelentes atuam bloqueando esses receptores impedindo que os insetos sintam os odores atraentes. (ZHANG *et al.*, 2015; LEAL, 2010).

XU *et al.* (2013) estudaram insetos como o *Aedes aegypti*, *An. Gambiae* e *Cx. Quinquefasciatus*. Eles identificaram as proteínas que funcionam como receptores de odor, que são responsáveis pelo reconhecimento dos seres humanos. As substâncias repelentes de insetos atuam se conectando a esses receptores e impedindo os mosquitos de identificarem a pele humana.

SYED *et al.* (2011) analisaram a sensibilidade de receptores aos compostos utilizados como repelentes. Os autores sugerem um receptor genérico detector de substâncias presentes em repelentes de insetos. Existe, portanto, um receptor olfativo geral nos insetos sensível a DEET, IR3535, Icaridina e outras substâncias com ação repelente.

Atualmente vários repelentes são comercializados utilizando diferentes substâncias ativas, sintéticas e naturais. Entretanto os repelentes químicos para uso tópico comercializados, apresentam uso restrito em humanos, onde crianças menores de 2 anos não podem fazer uso. O DEET, substância mais utilizada, possui restrição de concentração nas formulações. De uma maneira geral, os ativos sintéticos comerciais são tóxicos para bebês e idosos, possuem uso controlado em crianças de 2-12 anos e apresentam ação repelente de aproximadamente duas horas. (STEFANI *et al.*, 2009).

Medidas para reduzir o impacto das picadas de insetos são importantes, os repelentes aparecem como alternativa preventiva contra os pernilongos indesejados. Para o uso e produção desses repelentes se faz necessário entender como esses atuam contra os mosquitos.

## 2.2 Repelentes

Repelentes de insetos para pele juntamente com proteções físicas são de extrema importância, de ação rápida e econômica para prevenção de picadas de pernilongos. Repelente pode ser definido como substância química volátil que anula a atração do inseto a uma fonte de odor. Os repelentes criam uma barreira de proteção ou zona de segurança que impede o artrópode identificar e entrar em contato com os seres humanos. Entretanto existem aspectos que influenciam a eficácia da ação repelente como: formulação (ingredientes utilizados); fatores ambientais (temperatura, vento, umidade); propagação da substância com ação repelente (ponto de ebulição, solubilidade); modo de aplicação e tempo de proteção. (ISLAM *et al.*, 2017).

Os repelentes podem ser sintéticos ou naturais. Existem muitas formulações disponíveis como aerossóis e emulsões impregnadas em roupas. As características ideais de um repelente seriam, ser atóxico, inodoro ou com odor agradável, ser resistente à abrasão e à água, não deixar resíduo oleoso na pele, ser quimicamente estável, economicamente viável e possuir uma eficácia prolongada contra grande variedade de artrópodes. (STEFANI *et al.*, 2009; KATZ *et al.*, 2008; ISLAM *et al.*, 2017).

Os repelentes estão classificados segundo a ANVISA como cosméticos de grau risco II, sendo definidos como preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, com o objetivo principal de protegê-los ou mantê-los em bom estado. Esses são produtos cosméticos cuja formulação cumpre com a definição adotada no item I da Resolução da diretoria colegiada N° 7 de fevereiro de 2015 e que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso. (BRASIL, 2015).

O uso de compostos repelentes de insetos remonta antiguidade, vários tipos de óleos vegetais eram usados para afastar insetos. Antes da segunda guerra mundial, por exemplo, quatro repelentes eram mais utilizados: os repelentes a base de plantas, como o óleo de citronela, o dimetilftalato, descoberto em 1929, o indalone, que foi patenteado em 1937 e o rutgers 612, que se tornou disponível em 1939. Após o início da segunda guerra mundial, os últimos três componentes foram combinados numa formulação para uso militar conhecido como 6-2-2. Esse consistia basicamente em seis partes de dimetilftalato, duas partes indalone e duas partes rutgers 612. Em 1946, as propriedades do repelente de insetos N, N-dietil-m-

toluamida (DEET) foram descobertas e o produto foi introduzido em 1957. (PETERSON *et al.*, 2001; ISLAM *et al.*, 2017).

O DEET, repelente mais utilizado nas últimas cinco décadas, tem sido geralmente considerado como seguro, mas efeitos tóxicos e potenciais riscos à saúde vêm sendo registrados. Esses riscos incluem convulsões e encefalopatia em crianças, indicando que exposições frequentes ou prolongadas ao DEET podem provocar toxicidade do sistema nervoso central. (PETERSON *et al.*, 2001; ANTWI *et al.*, 2008). O DEET quando aplicado na pele é detectado pelo sistema de olfato dos mosquitos, que estão numa zona de proximidade e obtém respostas de afastamento, como um aviso de advertência. (ISLAM *et al.*, 2017). Nos Estados Unidos o DEET está disponível em concentrações que variam de 5% a 100%, apesar da maioria dos produtos conterem menos de 40%. No Brasil, a ANVISA não permite o uso de formulações contendo DEET para crianças menores de dois anos, permite o uso de formulações de até 10% de DEET para crianças de 2 a 12 anos estrita a apenas três aplicações diárias e para idades superiores a 12 anos é permitido o uso de até 30 % nas formulações.

Houve 43 relatos de casos de toxicidade do DEET durante as últimas 5 décadas, incluindo 25 casos com sintomas no sistema nervoso central, 1 com envolvimento cardiovascular e 17 relacionados a alergias. (KATZ *et al.*, 2008). SYED *et al.* (2011) declararam a preocupação em relação ao uso do DEET, além de dispor de um odor desagradável, em altas concentrações possui um alto potencial tóxico, e pode não cumprir totalmente as propriedades ideais dos repelentes de insetos, tendo duração de até seis horas.

No contexto global, o DEET desempenha um papel limitado no controle de doenças endêmicas devido ao seu alto custo, odor desagradável e inconveniência relacionada a necessidade de reaplicações, deixando a pele exposta a altas concentrações da substância. Baseado nesses problemas e na necessidade de se tomar precauções ao se utilizar repelentes com essa substância, reafirma-se a necessidade urgente de identificar novas substâncias alternativas para prevenção de picadas de insetos, de preferência ativos não perigosos, capazes de reduzir o impacto negativo na saúde humana e no meio ambiente. (ISLAM *et al.*, 2017)

Dentre as substâncias alternativas que vêm sendo estudadas, para o desenvolvimento de novas formulações repelentes de insetos, algumas merecem destaque como: a Icaridina (Picaridin); o IR 3535 (3- (N-n-butil-N-acetil) – aminopropiônico etiléster); o PMD (para-metano-diol); o óleo de eucalipto de limão e óleo essencial de citronela. (ANTWI *et al.*, 2008).

A Icaridina é incolor e inodora, foi desenvolvido pela Bayer em 1980, através de modelagem molecular, vem sendo utilizada como ingrediente ativo em fórmulas repelentes de insetos desde 1998. Começou a ser comercializada na Europa ainda nos anos 90 e no Estados Unidos em 2005. Conhecida como Picaridina ou KBR 3023 é um princípio ativo derivado da pimenta. Apresentou repelência contra três mosquitos vetores, *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* por cerca de 5 h, no entanto, a reaplicação é necessária após 4 h. O composto apresenta baixa toxicidade e nenhum evento adverso grave foi registrado nos ensaios europeus ou australianos, porém seu uso não é recomendado em crianças menores de 2 anos. (KATZ *et al.*, 2008; ISLAM *et al.*, 2017).

O IR 3535, também conhecido como Merck 3535, é um repelente sintético, foi desenvolvido pela Merck em 1970 a partir do aminoácido natural  $\alpha$ -Alanina e pode ser encontrado em várias formulações repelentes. Tem sido utilizado para repelência de insetos e carrapatos, no entanto seu modo de repelência ainda não foi testado em vários vetores de artrópodes. Em formulações com 20% da substância, fornece proteção entre 7-10 h contra mosquitos da espécie *Aedes* e *Culex*, porém oferece menor proteção contra *Anopheles*, cerca de 4 h, impedindo sua aplicação em áreas de endemia de malária. É usado há mais de 20 anos na Europa, 10 anos na Ásia e nos Estados Unidos desde 1999. Não possui relatos de toxicidade efetuados. (NAUCKE *et al.*, 2007; BROSHARD *et al.*, 2013; ANVISA, 2017; ISLAM *et al.*, 2017).

Os principais repelentes comerciais encontrados no Brasil possuem DEET, Icaridina ou IR3535 em sua composição, esses estão descritos na Tabela 2.1.

Tabela 2.1- Repelentes disponíveis comercialmente no Brasil, concentrações e tempo de ação estimado.

Princípio ativo	Produto (fabricante)	Formas de apresentação	Concentração (%)	Idade permitida	Tempo de ação estimado
<b>DEET</b>	Autan (Johnson Ceras) aerosol	Loção spray	6 até 9	> 2	Até 2 horas
	OFF (Johnson Ceras)	Loção spray	6 até 9	> 2	Até 2 horas
	OFF Kids (Johnson Ceras)	Loção	6 até 9	> 2	Até 2 horas
	OFF (Johnson Ceras)	Aerosol	14	> 12	Até 6 horas
	Super Repelex (Reckitt Benckis)	Spray, loção	14,5	> 12	Até 6 horas
	Super Repelex (Reckitt Benckis)	Aerosol	11,05	> 12	Até 6 horas
	Super Repelex kids (Reckitt Benckis)	Gel	7,34	> 2	Até 4 horas
<b>Icaridina</b>	Exopis adulto (Osler)	Gel, spray	50	> 12	Até 5 horas
	Exopis Extremo (Osler)	Spray	25	> 10	Até 10 horas
	Exopis infantil (Osler)	Spray	25	> 2	Até 10 horas
<b>IR3535</b>	Loção antimosquito (Johnson & Johnson)	-	-	> 6 meses	Até 4 horas
<b>Óleo de Citronela</b>	Citromim spray (Weleda)		1,2	> 2	Até 2 horas

Fonte: Adaptado de STEFANI *et al.*, 2009.

Além dos ativos sintéticos plantas e substâncias derivadas do reino vegetal têm sido usadas para repelir insetos. O emprego de substâncias extraídas de plantas silvestres, com ação repelente possui várias vantagens quando comparado ao emprego de sintéticos. Os repelentes naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis; o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias, compostas da associação de vários princípios ativos, é um processo lento; esses compostos são de fácil acesso e obtenção por agricultores e não deixam resíduos em alimentos; apresentam baixo custo de produção; já fazem parte do uso popular e muitas vezes estão presentes nas formulações de repelentes comerciais, como é o caso da citronela. (SOLOMON *et al.*, 2012; IMAN *et al.*, 2013; MARACAJÁ *et al.*, 2014).

### 2.3 Citronela (*Cymbopogon winterianus*)

O óleo essencial e o extrato da planta da citronela tiveram uso iniciado na perfumaria por volta de 1858, esses também são utilizados como ingredientes repelentes de insetos. No início do século 20, a citronela foi utilizada pelo exército indiano para repelir mosquitos e em 1948 foi registrada para uso comercial nos EUA. Nos dias atuais a citronela é uma das plantas mais utilizadas na produção de repelentes naturais no mercado, geralmente em concentrações entre 5 e 10%. Os repelentes produzidos a base de óleo essencial de citronela protegem por cerca de duas horas. Devido à alta volatilidade dos compostos, a eficácia de repelência ocorre por pouco tempo. (MAIA *et al.*, 2011).

*Cymbopogon*, um membro importante da família da grama *Poaceae*, inclui plantas como capim-limão (*C. flexuosus* Nees ex Steud), citronela (*C. winterianus* Jowitt) e palmarosa (*C. martini* Roxb.), essas vem sendo cultivadas há anos para produção de óleos essenciais para indústrias. Diferentes espécies de *Cymbopogon* são usadas em bebidas, alimentos, produtos domésticos, pesticida e fungicida. O óleo de citronela é comumente usado em loções repelentes de mosquitos e em preparações sanitárias. (BARUAH *et al.*, 2017).

Segundo WIJESKERA *et al.* (1973) a citronela apresenta duas espécies distintas, *Cymbopogon nardus* var. *lenabatu* (citronela do Ceilão) e *Cymbopogon winterianus* Jowitt (citronela de Java), que possui folhas menores e mais largas. Ambas as espécies se originaram no Ceilão, porém a segunda é mais detectada em Java, Haiti, Honduras, Taiwan, Guatemala e China. A citronela é também conhecida como capim-citronela, cidró-do-Paraguai, citronela-de-Java e citronela-do-Ceilão. É amplamente encontrada nas regiões de clima tropical, seu óleo essencial é utilizado como antisséptico, fungicida, bactericida, antimicrobiano, acaricida e possui ação repelente de insetos. (MONTEIRO *et al.*, 2012).

A citronela é uma planta perene com cerca de 0,80 a 1,20 m de altura. De cor verde-clara com inúmeras raízes fortes, fibrosas e longas. As folhas são planas, inteiras e longas com cerca de 0,5 a 1 m de altura, apresentam aspecto curvo, como demonstra a Figura 2.1. No seu período de crescimento, necessita de muitas chuvas, porém próximo à colheita o excesso de água pode afetar a qualidade do óleo. A colheita é feita a partir do segundo ano, em cortes a 5 cm acima do solo. (CASTRO *et al.*, 2002).



Fonte: CASTRO *et al.*, 2002.  
Figura 2.1- *Cymbopogon nardus*.

As *Poaceae* são cultivadas em larga escala, estas têm crescido em importância no Brasil devido à grande procura pelo seu óleo essencial, tanto no mercado interno, quanto para exportação. (MARCO *et al.*, 2007).

O óleo extraído das folhas da planta da citronela é rico em aldeído citronelal, geraniol, citronelol e ésteres. O citronelol é excelente aromatizante de ambientes e repelente de insetos, além de apresentar ação anti-microbiana local e acaricida, juntamente com o citronelal e geraniol produzem um aroma rosa-floral cítrico. (MARCO *et al.*, 2007; SCHERER *et al.*, 2009).

O emprego do óleo essencial de citronela como recurso terapêutico é muito amplo. Esse bioativo funciona bem como antibiótico natural, regenerador da pele em feridas e queimaduras, como repelente de insetos, enxaqueca, dores localizadas, anti-inflamatório e como sedativo do sistema nervoso em casos de insônia, hiperatividade, depressão e ansiedade. (LASZLO, 2015).

AGNOLIN *et al.* (2010) observaram a eficácia do óleo de citronela no controle de ectoparasitas de bovinos, onde conclui-se que a solução contendo 4% de óleo de citronela, controlou a infestação de carrapatos.

O óleo essencial de citronela também foi avaliado no controle de pragas em cafeeiros. O óleo de citronela controlou a ferrugem e a cercosporiose com eficácias de 47,2% e 29,7%, respectivamente. (PEREIRA *et al.*, 2012).

PINHEIRO *et al.* (2013), analisaram a atividade inseticida do óleo essencial de citronela sobre *F. schultzei* e *M. persicae*. O óleo foi obtido por hidrodestilação e a identificação dos seus

componentes foi realizada por cromatografia gasosa. Os componentes majoritários encontrados foram geraniol (28,62%), citronelal (23,62%) e citronelol (17,10%). O óleo essencial de citronela causou mortalidade de *F. schultzei* e *M. persicae* mostrando-se promissor para o desenvolvimento de inseticidas.

Segundo TAWATSIN *et al.* (2001) o óleo de citronela associado a 5% de vanilina numa pesquisa laboratorial repeliu três espécies de mosquitos: o *Aedes aegypti*, o *Culex quinquefasciatus* e o *Anopheles*, por mais de 8 horas. Coleiras com citronela também têm sido eficazes para afastar pulgas, carrapatos e mosquitos de cachorros. (SCHERER *et al.*, 2009).

Apesar da eficácia do óleo essencial de citronela ter sido comprovada por pesquisadores ao longo do tempo, a sua alta volatilidade ainda limita o seu uso em algumas aplicações como por exemplo na produção de formulação repelente de insetos. Porém esse problema pode ser resolvido com a encapsulação do óleo, servindo como estratégia para aumentar o tempo de atividade destas substâncias ao melhorar sua estabilidade e reduzir a volatilização. A nanoencapsulação possui potencialidade para diminuir as taxas de liberação do óleo essencial de citronela, prologando assim o tempo de proteção.

Uma série de pesquisadores vem desenvolvendo trabalhos na área de encapsulação de óleos essenciais com intuito de melhorar a estabilidade química e diminuir a volatilidade dos mesmos. MAJI *et al.* (2007) e IMAN *et al.* (2013) microencapsularam o óleo de *Zanthoxylum limonella*, utilizando gelatina, para redução de volatilidade e aplicação em repelência de mosquitos. No caso do óleo de citronela muitos estudos são direcionados aos processos de micro e nanoencapsulação e melhora da eficácia em repelir insetos.

HSIEH *et al.* (2006) analisaram a possibilidade de microencapsular óleo de citronela utilizando quitosana como biopolímero, obtendo partículas com alta eficiência de encapsulamento e tamanhos de 225  $\mu\text{m}$ , 131  $\mu\text{m}$  e 11  $\mu\text{m}$  a depender da velocidade de agitação utilizada na homogeneização. SOLOMON *et al.* (2012) estudaram a microencapsulação do óleo essencial de citronela em gelatina utilizando a técnica de coacervação simples, produzindo micropartículas com eficiência de encapsulamento entre 36.2–62.8%.

SAKULKU (2009) e colaboradores produziram e caracterizaram nanoemulsões contendo óleo essencial de citronela e avaliaram a atividade repelente em mosquitos. As nanopartículas obtiveram tempos de repelência variando entre 0,8 e 2,8 h. Confirmando a competência protetiva de insetos do óleo essencial de citronela.

NUCHUCHUA *et al.* (2009) produziram nanoemulsões contendo óleo de citronela, óleo de manjerição e óleo de vetiver com tamanhos entre 150 e 220 nm. As nanopartículas com menores tamanhos tiveram maior taxa de liberação, essas teriam maior superfície de contato.

WIDAWATI *et al.* (2013) estudaram a eficácia do óleo essencial de citronela contra larvas de *Aedes aegypti*, eles concluíram que microcápsulas que continham citronela possuíam grande capacidade larvicida.

Os pesquisadores RIBEIRO *et al.* (2016) investigaram a funcionalização de nanopartículas de dióxido de titânio na superfície de microcápsulas poliméricas como meio para controlar a liberação de citronela encapsulada através da radiação solar. Os resultados mostraram que a funcionalização das microcápsulas com nanopartículas em sua superfície e em seguida expondo radiação ultravioleta nas mesmas, aumentou a liberação de citronela no ar, repelindo os mosquitos de forma eficaz.

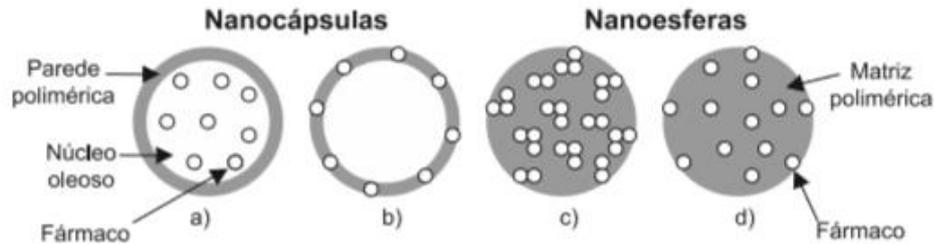
Devido à alta potencialidade de óleo essencial de citronela para aplicação em repelente de insetos é necessário desenvolver pesquisas com intuito de avaliar a encapsulação do bioativo em nanopartículas e analisar as possíveis aplicações dessas. Para o tal é necessário compreender as definições e os processos de produção que envolvem a nanoencapsulação.

## 2.4 Nanoencapsulação

A nanoencapsulação pode ser definida como um processo ou tecnologia responsável pela incorporação ou revestimento de substâncias ativas por um material protetor, essas podem liberar seu conteúdo de forma controlada ou em condições específicas, como temperatura e pH. Entre os objetivos que podem ser alcançados com a nanoencapsulação destacam-se: separar materiais reativos, controlar a liberação de material, reduzir a volatilidade de líquidos, mascarar sabor amargo de substâncias ativas e diminuir a dose necessária para alcançar mesma eficiência biológica. Os sistemas carreadores nanoestruturados apresentam tamanhos menores que 1 µm e podem exibir diferentes formas dependendo dos materiais e métodos utilizados em sua preparação. (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; JESUS *et al.*, 2015).

O processo de encapsulação produz nanopartículas que podem ser classificadas como nanocápsulas ou nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e organização estrutural (Figura 2.2). As nanocápsulas são constituídas por uma cobertura polimérica ao redor de um núcleo oleoso, o bioativo pode estar dissolvido no núcleo ou adsorvido na capa polimérica. As nanoesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por

uma matriz polimérica, onde o fármaco encontra-se adsorvido. (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; MORA-HUERTAS *et al.*, 2010).



Fonte: Adaptado de SCHAFFAZICK *et al.*, 2003.

Figura 2.2- Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso na matriz polimérica das nanoesferas.

Dentre os materiais utilizados como carregadores de fármacos nanoestruturados é possível destacar os de origem biológica como os lipídeos, peptídeos e oligossacarídeos; os polímeros como o poliácido lático e poliácido glicólico; os baseados em silicone, como o dióxido de silicone; os fundamentados em carbono, como os fulerenos e nanotubos e ainda estruturas metálicas de ouro, prata e platina. (JESUS *et al.*, 2015).

A escolha dos materiais utilizados na produção das nanopartículas é de grande importância. O desenvolvimento de produtos com grande número de componentes de origem vegetal aumenta a aplicabilidade das nanopartículas para fins biomédicos e cosméticos. Além disso optar por polímeros de materiais biodegradáveis e biocompatíveis reafirmam o comprometimento com o desenvolvimento sustentável. (LORCA *et al.*, 2009).

Dentre os materiais que podem ser escolhidos para recobrimento dos bioativos, os polímeros aparecem como boa alternativa e aplicabilidade. As nanopartículas poliméricas são um potencial sistema de liberação de ativos, geralmente preparadas a partir de polímeros naturais ou sintéticos, biodegradáveis ou não, que se apresentam toxicologicamente seguras por participar de biodegradação biocompatível sendo eliminadas pelas vias metabólicas. (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). A seleção do polímero a ser empregado é determinada pela natureza do princípio ativo que se pretende incorporar. Se este é de natureza hidrofílica, geralmente polímeros de natureza apolar são utilizados e a preparação do sistema deve proceder

em meio não aquoso. Se os princípios ativos são hidrofóbicos, como o óleo essencial de citronela, o método de preparação ocorre em meio aquoso. (SEVERINO *et al.*, 2011).

O preparo de partículas poliméricas pode ser feito por diversos modos tais como inchamento osmótico, encapsulamento de um não solvente, emulsão de água em óleo, inchamento com um solvente, polimerização em miniemulsão e incorporação de um agente expensor. Sendo obtidas pela combinação de monômeros através de um grande número de mecanismos de reação. (ROMIO *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2007). Fatores como a toxicidade dos solventes empregados, facilidade de aumento de escala e eficiência de encapsulamento do material desejado devem ser observados. A escolha do método de preparo depende da natureza do polímero, do fármaco e do meio de administração. O produto final deve apresentar características como:

- Estabilidade e atividade do bioativo, esse deve estar preservado para exercer a sua função farmacológica;
- Alta eficiência de encapsulamento;
- Baixa polidispersão de tamanho, para que exista proporção nas amostras;
- Perfil de liberação reprodutível, as partículas apresentem sempre cinética de liberação semelhante;
- Não apresentar agregação ou aderência de partículas. (FONSECA *et al.*, 2013).

Um material polimérico pode ser considerado como constituído por muitas partes, ou unidades, ligadas quimicamente entre si. O monômero por sua vez é a unidade de repetição utilizada para produção desse polímero. Para que um monômero polimerize, é necessário que exista pelo menos duas ligações químicas ativas, podendo então reagir com outros monômeros formando polímeros com grandes cadeias. Os copolímeros são polímeros que apresentam mais de um mero diferente na cadeia polimérica. (SMITH, 1998; CANEVAROLO, 2006).

Os polímeros se destacam devido a sua versatilidade estrutural, que permite diferentes adequações a depender da aplicação. Esses podem ser naturais (biomoléculas), presentes nos organismos vegetais ou animais como os carboidratos, lipídios e proteínas, ou sintéticos, produzidos em laboratórios. A combinação de polímeros sintéticos e biomoléculas oferece diferentes propriedades e possibilidades. Polímeros sintéticos e naturais são amplamente

investigados para aplicações em sistemas de liberação controlada. Os polímeros são viáveis economicamente, de grande disponibilidade e que permitem modificações químicas, além de serem biodegradáveis e geralmente biocompatíveis. (PICHOT, 2004; BENEKE *et al.*, 2009; YI *et. al.*, 2009).

Polímeros biodegradáveis podem ser definidos como aqueles que sofrem degradação a partir de microorganismos naturais como bactérias, fungos e algas, podendo ser consumidos em semanas ou meses a depender das condições. O termo biodegradação descreve os processos envolvendo quebra de cadeia e modificações da massa molar e da solubilidade do polímero. Processos biológicos, físicos e químicos, podem atuar na biodegradação. Os polímeros biocompatíveis são biologicamente adaptáveis, são livres de irritação, toxicidade ou hipersensibilidade. (VILLANOVA *et. al.*, 2010; BRITO *et al.*, 2011).

Os biopolímeros são polímeros usados como biomateriais. Apresentam propriedades que geralmente interagem com sistemas biológicos, isso permite uma série de tratamentos como substituição de órgãos e funções do corpo. Biopolímeros sintéticos são mais atrativos que aqueles de origem biológica pois apresentam maior facilidade de modificação química, tornando mais fácil a manipulação de suas propriedades. São mais reprodutíveis e apresentam comportamento mais previsível quando comparados a materiais naturais. (TIAN *et al.*, 2011).

Os polímeros são componentes fundamentais em sistemas de liberação controlada, é importante então entender suas definições e características. Polímeros bioadesivos são materiais capazes de se ligarem à camada mucosa (mucoadesivos) ou à membrana celular (citoadesivos). A bioadesão é utilizada para aumentar a permanência de um medicamento no organismo, elevando a disponibilidade do fármaco e reduzindo as doses utilizadas. Os hidrogéis são estruturas poliméricas com alta quantidade de água, geralmente são produzidos a partir da copolimerização entre monômeros ou polímeros hidrofílicos. São geralmente utilizados em formulações que permitem a liberação do ativo após o contato com meio de dissolução ou em resposta a estímulos como temperatura, pH e enzimas. Já os polímeros biomiméticos podem interagir com o ambiente biológico. Os polímeros bioativos são aqueles capazes de interagir com receptores celulares e os terapêuticos podem se ligar a receptores específicos, presentes em patógenos ou células. Polímeros contendo fármacos incorporados também são chamados de terapêuticos. (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, propriedades específicas são necessárias, como por exemplo a adequada solubilização do fármaco, a existência de respostas a estímulos específicos e a possibilidade de liberação das partículas poliméricas. (SIEGWART *et al.*, 2011).

Para escolha do tipo de material polimérico mais apropriado em determinada aplicação, critérios como propriedades mecânicas, tempo de degradação e compatibilidade devem ser considerados. (TIAN *et al.*, 2011). A tabela 2.2 reúne informações de alguns materiais poliméricos utilizados em diversas aplicações.

Tabela 2.2- Principais polímeros sintéticos de uso farmacêutico e suas aplicações.

Excipiente	Nome comercial	Usos
<b>Acrílicos</b>		
Poli(acrilina) potássica (polímero derivado do ácido acrílico com divinilbenzeno)	Amberlite® (tipo IRP-88)	Resina trocadora de íons usada em comprimidos e cápsulas para prolongar a liberação do fármaco, mascarar o sabor e estabilizar o princípio ativo.
Polímero derivado do ácido acrílico reticulado pelo divinilglicol	Noveon® AA-1	Agente bioadesivo capaz de aumentar o tempo de permanência da forma farmacêutica no organismo.
Poli(metacrilatos) - polímeros derivados do ácido metacrílico com metacrilto de metila, acrilato de etila, metacrilato de butila, cloridrato de trimetilamôniometacrilato ou dimetilaminometacrilato de etila	Eudragit® Plastoid® Acril-EZE® Stacryl®	Exibem funções variadas: estética, organoléptica, estabilizadora, protetora, moduladora da liberação. As vias de administração são oral, bucal, tópica, vaginal e retal.
<b>Vinílicos</b>		
Copolímero do etileno e acetato de vinila	CoTran® EVA	Empregado na fabricação de membranas para sistemas transdérmicos.
Homopolímero do 1-etenil-2-pirrolidinona	PVP Plasdone® Kollidon®	Aglutinante, desintegrante e incrementador da dissolução.
Poli(álcool vinílico)	Elvanol® PVA	Estabilizante de emulsões e agente de revestimento. Utilizado em formas transdérmicas e oftálmicas.
Poli(acetoftalato de vinila) (polímero derivado de anidrido ftálico e acetato de vinila)	Sureteric® Opadry® Enteric	Usado para aumentar a viscosidade e agente de revestimento.
Copolímero metil vinil éter e anidrido maléico	Gantrez®	Revestimentos entéricos, liberação controlada e sistemas transdérmicos
<b>Ésteres</b>		
Poliéster alifático (homopolímero ou copolímero dos ácidos láctico, glicólico e hidroxicapróico)	Purasorb® Resomer®	Biodegradável, utilizado na preparação de SLF's implantáveis e injetáveis.
<b>Oxietilênicos</b>		
Poli(óxido de etileno)	Polyox® Polioxirano	Agente incrementador da viscosidade, aglutinante e mucoadesivo

Excipiente	Nome comercial	Usos
<b>Celulósicos</b>		
Polímero da hidroxipropilmetil éter de celulose	Methocel® HPMC	Incrementadores da viscosidade em preparações oftálmicas. Usado em matrizes para controlar a Desintegrante e aglutinante para sólidos.
Hidroxipropilcelulose	Hiprolose	Membranas para adesivos transdérmicos.
Etilcelulose	Aquacoat® ECD Surelease® Ethocel®	Incrementador da viscosidade, aglutinante e modulador da liberação de fármacos.
Acetatoftalato de celulose (polímero do anidrido ftálico e éster acetato de celulose)	Aquacoat®	Aplicação única como agente de revestimento para comprimidos, grânulos e pellets.
<b>Carboximetilcelulose</b>		
Acetato de celulose (polímero de celulose parcialmente acetilado em diferentes graus)	Acetato de celulose	Agente de revestimento para liberação convencional e modificada de fármacos. Membranas impermeáveis em sistemas osmóticos.

Fonte: Adaptado de VILLANOVA *et al.*, 2010.

Dentre os polímeros sintéticos utilizados para recobrimento de bioativos, fármacos e para fins biomédicos, o poli (metacrilato de metila) (PMMA) encontra ampla aplicação devido as suas características particulares como biocompatibilidade e alta resistência.

O PMMA é obtido pela polimerização do monômero metacrilato de metila (MMA) e caracteriza-se pela baixa toxicidade. A reação ocorre quando um iniciador é adicionado ao meio, rompendo a ligação dupla e provocando o crescimento da cadeia (Figura 2.3). Estes processos são caracterizados por atingirem conversões próximas a 100 %, resultando em polímeros de alta massa molar. (MENDES *et al.*, 2012; FEUSER *et al.*, 2014; PAIVA, 2015).

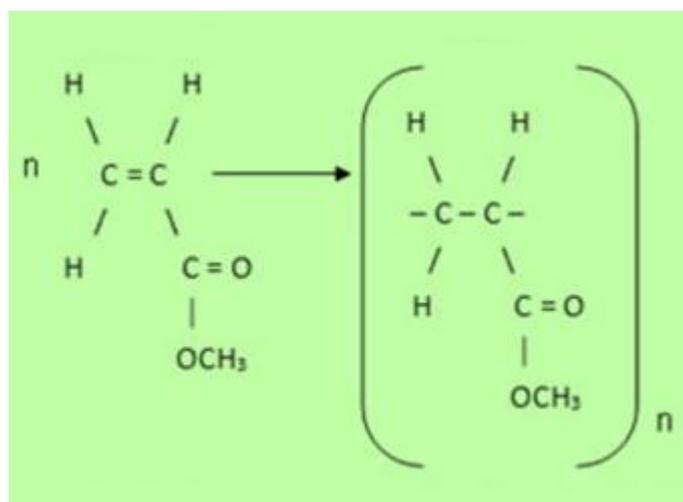


Figura 2.3 -Representação esquemática da reação de polimerização do MMA.

A utilização do PMMA é documentada desde a década de 80, seu uso foi iniciado quando houve a descoberta da possibilidade de aumentar a hidrofiliabilidade das substâncias com a utilização do encapsulamento. Vários fármacos vêm sendo encapsulados desde então. A preparação de nanopartículas de PMMA é simples e os ativos podem ser encapsulados com alta eficiência e aplicabilidade. Um dos maiores problemas relacionados ao uso do PMMA está no fato das nanopartículas não serem biodegradáveis, porém as mesmas são biocompatíveis. (REIS *et al.*, 2006).

Inúmeros estudos afirmam que o PMMA é adequado para várias aplicações, tais como cimento ósseo (KAWASHITA *et al.*, 2010), enchimento de tecido e outras aplicações biomédicas (CHEN *et al.*, 2010). O uso de copolímeros de PMMA também vêm sendo estudados para administração e entrega de fármacos. (SALA *et al.*, 2012).

Muitos fármacos foram encapsulados em PMMA utilizando diferentes técnicas de polimerização. Os primeiros ativos utilizados foram: a triamcinolone (KRAUSE *et al.*, 1986), ativo de longa duração de uso veterinário; o composto orgânico sintético fluoresceína (EL-SAMALIGY *et al.*, 1986); a doxorubicina ou hidroxildaunorubicina que é um fármaco amplamente utilizado na quimioterapia de cânceres (ROLLAND *et al.*, 1986); a pilocarpina e timolol (HARMIA-PULKKINEN *et al.*, 1989). (REIS *et al.*, 2006).

LORCA *et al.* (2012) produziram nanopartículas de PMMA contendo benzofenona-3 através do método de miniemulsão. O produto obtido apresentou homogeneidade e estabilidade. Na linha de encapsulamento de produtos naturais, LORCA *et al.* (2009) nanoencapsularam óleo de andiroba via polimerização *in situ* em miniemulsão, as nanopartículas produzidas eram estáveis e na faixa manométrica, reafirmando a potencialidade de utilização tanto do método de polimerização *in situ* quanto do PMMA como polímero.

Nanopartículas contendo praziquantel (PZQ) foram formuladas por FONSECA *et al.* (2013) através do método de polimerização *in situ* por miniemulsão. Os resultados indicaram que a encapsulação de PZQ em partículas de PMMA pode ser realizada com sucesso em diferentes condições experimentais, com eficiência de encapsulamento próximo de 100%.

A partir das informações relatadas acima percebe-se a potencialidade do óleo essencial de citronela para repelir insetos transmissores de arbovírus, além da possibilidade de bioativos serem encapsulados e serem utilizados nas mais diversas aplicações. Se faz necessário, portanto avaliar as técnicas de nanoencapsulação aplicáveis no encapsulamento do óleo essencial de

citronela. A polimerização *in situ* apresenta características atrativas para a nanoencapsulação do bioativo devido o processo ocorrer em uma única etapa, evitando gastos com etapas posteriores e aumentando a facilidade de transposição de escala.

## 2.5 Polimerização *in situ* via emulsão

Os processos heterogêneos de polimerização são empregados para produção de polímeros na forma de partículas, como polimerizações em emulsão, em dispersão, por precipitação e em suspensão. Cada processo apresenta características particulares, visando diferentes aplicações do material polimérico. (MACHADO *et al.*, 2007).

Na polimerização em emulsão, a cadeia polimérica é iniciada em geral via radicais livres. O monômero é polimerizado na presença de uma solução aquosa contendo surfactante. As formulações compreendem o meio dispersante, monômero, iniciador e surfactante. As principais vantagens em relação a esse tipo de polimerização são: as elevadas taxas de conversão e massas molares; facilidade do controle de temperatura e a possibilidade do produto final ser usado diretamente em diversas aplicações sem tratamento prévio. Essas vantagens não são encontradas simultaneamente em nenhuma outra técnica de polimerização via radicais livres (massa, solução e suspensão). Como desvantagens, a dificuldade de remoção do surfactante do polímero final e a possibilidade de ocorrerem reações entre o ativo e o monômero, fato que pode dificultar o controle da massa molar do polímero ou impossibilitar a liberação da substância ativa. (MAEHATA *et al.*, 2008; PEIXOTO, 2012).

A utilização da água como meio dispersante traz vantagens, além de ser atóxica, possui condutividade térmica elevada, reduz a viscosidade do meio e permite a solubilização de sais, além de ser facilmente encontrada e possuir baixo preço comercial. As vantagens da utilização da água são ainda mais acentuadas quando o polímero é aplicado diretamente na forma de látex, como é o caso de tintas, vernizes e adesivos. (FONSECA, 2012).

O monômero é uma substância orgânica que geralmente apresenta uma solubilidade limitada na fase aquosa. Se o monômero é adicionado a um sistema que utiliza a água como meio dispersante, uma emulsão é formada. Essas podem ser do tipo óleo em água (O/A), em que a fase oleosa está dispersa na forma de gotas na fase contínua aquosa, ou água em óleo (A/O), em que a fase aquosa está dispersa na forma de gotas na fase contínua oleosa. (MCCLEMENTS, 2012).

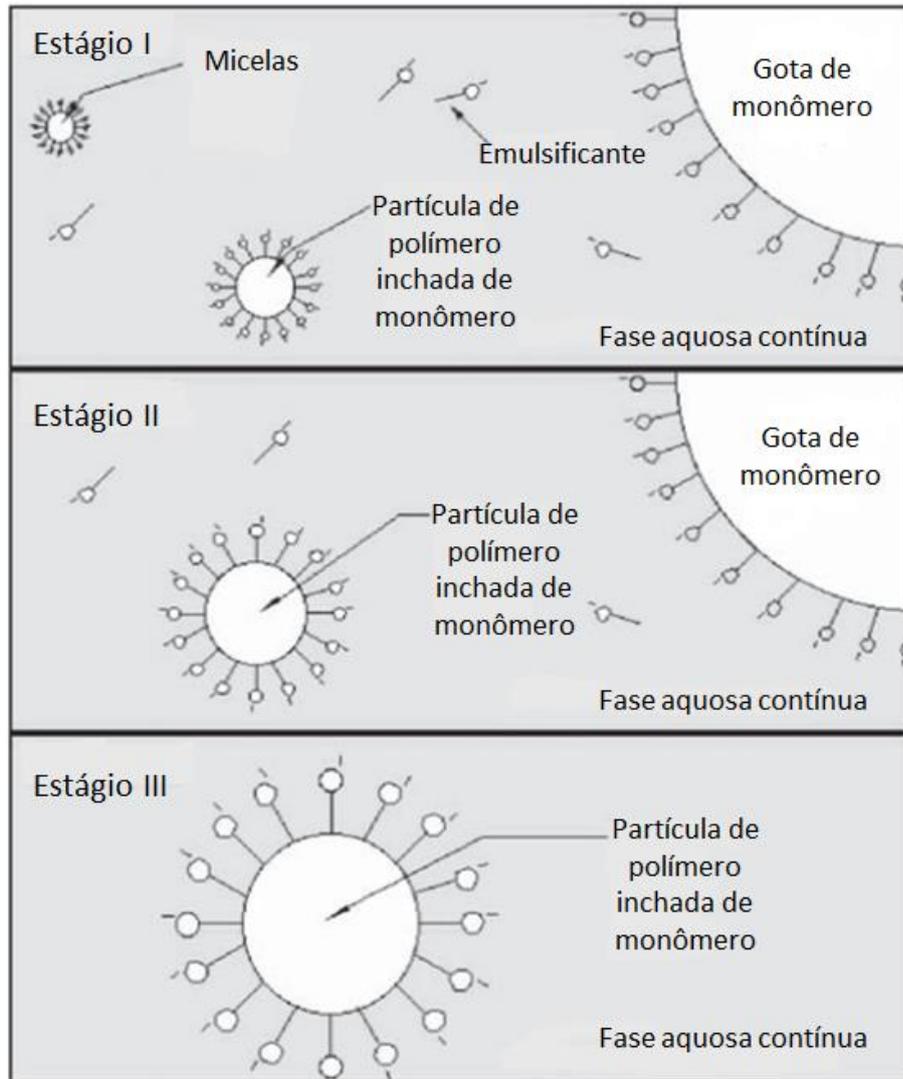
Os surfactantes, também chamados de emulsificantes, estão relacionadas com a estabilidade das gotas de monômero e também das partículas de polímero, sendo importantes nas fases de nucleação, crescimento das partículas poliméricas e manutenção da estabilidade coloidal das partículas formadas. (LENZI *et al.*, 2003). São normalmente constituídos por moléculas que apresentam simultaneamente segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos, podendo apresentar natureza aniônica, catiônica ou não-iônica. Os surfactantes aniônicos são os mais empregados nos processos industriais, como dodecil sulfato de sódio (lauril sulfato de sódio) e dodecil zenzeno sulfato de sódio. (ASUA, 2002).

Em geral, nos processos em emulsão os surfactantes estão presentes acima da sua concentração micelar crítica (CMC), concentração onde se inicia o processo de formação das micelas. O aumento da concentração de surfactante após este ponto tem pouco efeito na tensão superficial da solução na qual o surfactante está presente. A concentração de surfactante excede a quantidade necessária para cobrir completamente as grandes gotas de monômero formadas (diâmetros entre 1 – 10  $\mu\text{m}$ ) e saturar a fase aquosa. O excesso de surfactante forma agregados, denominados micelas, com diâmetros de cerca de 5 - 15 nm, que são inchadas com monômero. (PEIXOTO, 2012). As micelas são formadas para minimizar a energia livre da solução, provocando alterações em suas propriedades, como a viscosidade do meio.

O surfactante utilizado na polimerização em emulsão deve ser mais solúvel na fase aquosa; estar prontamente disponível para adsorção na superfície das gotas; adsorver fortemente e não ser facilmente deslocado quando duas gotas colidem; reduzir a tensão interfacial; gerar um potencial eletro-cinético suficiente para que as gotas em emulsão não coalesçam e permaneçam afastadas uma das outras; ser utilizado em pequenas concentrações; ser relativamente barato, não-tóxico e seguro para manusear. (ASUA, 2002).

Os iniciadores utilizados nas reações de polimerização em emulsão são geralmente solúveis na fase aquosa. No instante em que um deles é adicionado ao sistema, a decomposição e a geração de radicais são iniciadas a uma velocidade que depende da natureza química do iniciador, do pH do meio e da temperatura do sistema. (LENZI *et al.*, 2003).

Os estágios do mecanismo de polimerização pelo método de emulsão estão descritos a seguir e são apresentados na Figura 2.4.



Fonte: Adaptado de SCHORK, 2005.

Figura 2.4 – Estágios do mecanismo de polimerização pelo método de emulsão.

#### Estágio I (Iniciação):

Essa é a primeira fase da polimerização em emulsão e ocorre logo após a adição do iniciador, os radicais livres são formados na fase aquosa. Os centros ativos (que proporcionam o crescimento da cadeia polimérica) são muito hidrofílicos, portanto, não penetram diretamente na fase orgânica. Primeiro polimerizam as moléculas de monômero dissolvidas na fase aquosa, que representam uma fração muito pequena da concentração total de monômero. Após a adição de algumas unidades de monômero, os radicais oligoméricos se tornam hidrofóbicos o suficiente para iniciarem a nucleação das partículas. As gotas de monômero (1-10  $\mu\text{m}$ ) são bem maiores que as micelas inchadas com monômero (10-20 nm). Em contrapartida, as micelas estão em maior quantidade que as gotas de monômero. (LANDFESTER *et al.*, 1999; ASUA, 2002; OLIVEIRA, 2013).

Devido à área interfacial das micelas ser maior do que a das gotas de monômero, a entrada de radicais nas micelas é mais provável. Os radicais oligoméricos que entram nas micelas encontram um ambiente rico em monômero e, crescem rapidamente, formando uma cadeia polimérica. Esse processo é denominado de nucleação heterogênea (ou nucleação micelar). Partículas poliméricas também podem ser formadas quando os radicais oligoméricos crescem na fase aquosa acima do tamanho no qual eles ainda são solúveis na água e precipitam. A cadeia polimérica precipitada é estabilizada pelo surfactante presente na fase aquosa e o monômero difunde para a nova fase orgânica, permitindo um rápido crescimento da cadeia polimérica. Esse processo é conhecido como nucleação homogênea. (BARANDIARAN *et al.*, 2007; MITTAL, 2010; PEIXOTO, 2012).

Uma grande quantidade de emulsificante é requerida na etapa de nucleação para estabilizar as partículas que estão em crescimento e levar ao esgotamento das micelas. Após o esgotamento das micelas ocorre o final da nucleação micelar e o início da fase de crescimento. O estágio de nucleação das partículas finaliza tipicamente em uma conversão de cerca de 5-10%. (BARANDIARAN *et al.*, 2007; MITTAL, 2010; PEIXOTO, 2012).

#### Estágio II (Propagação):

Nesse estágio ocorre o crescimento da cadeia polimérica por intermédio de incorporações de monômeros às cadeias ativas. (OLIVEIRA, 2013). A fase monomérica é consumida até que as gotas de monômeros desapareçam na segunda etapa de reação. (FONSECA, 2012). O sistema é constituído por gotas de monômero e por partículas poliméricas. As partículas poliméricas continuam em crescimento, porém novas partículas não são nucleadas. À medida que as partículas poliméricas crescem, o monômero consumido pela propagação dos radicais livres é abastecido pela difusão de monômero através da fase aquosa. A principal função das gotas de monômero é servir de reservatório de matéria-prima para a polimerização. Devido à polimerização e ao transporte de monômero para as partículas, após algum tempo as gotas de monômero desaparecem, marcando o fim do estágio II. (BARANDIARAN *et al.*, 2007; MITTAL, 2010; PEIXOTO, 2012).

#### Estágio III (Terminação):

No Estágio III ocorre a perda de atividade do centro ativo, formando uma cadeia de polímero inativa (ou morta). A etapa de terminação exerce grande influência sobre o controle do tamanho final da cadeia polimérica formada e pode ocorrer por diferentes tipos de

mecanismos. As partículas poliméricas continuam polimerizando o monômero que se encontra presente nelas. Assim, a concentração do monômero nas partículas diminui e, conseqüentemente, a taxa de polimerização também diminui. Porém, a taxa de polimerização pode apresentar um aumento antes de começar a diminuir devido a uma diminuição na taxa de terminação entre os radicais dentro das partículas causada pelo aumento da viscosidade interna (efeito gel). (BARANDIARAN *et al.*, 2007; MITTAL, 2010; PEIXOTO, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

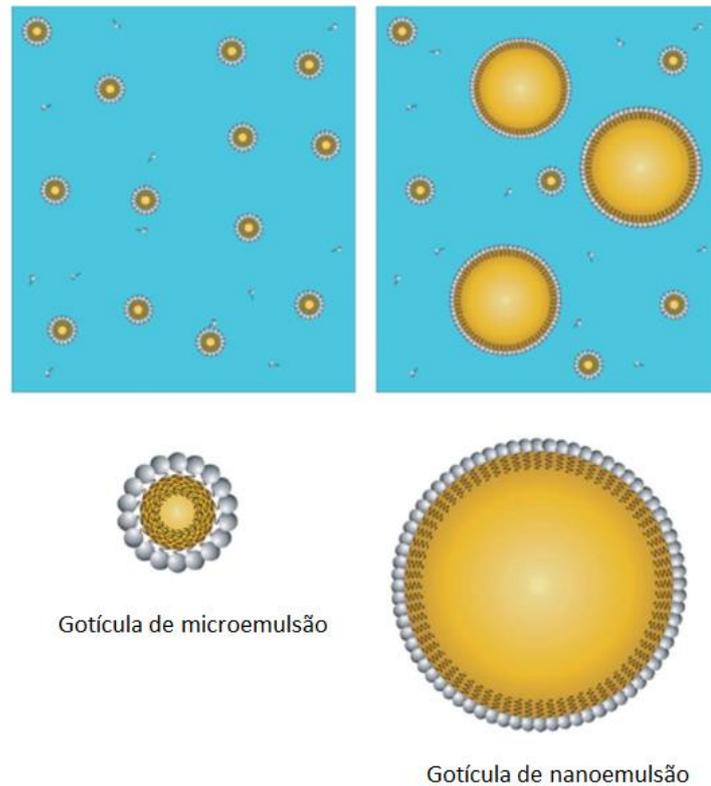
As reações de polimerização em emulsão seguem o mecanismo clássico de radicais livres. Por envolver espécies de alta massa molar, a etapa de terminação é a mais afetada pelo aumento de viscosidade do meio. É importante ressaltar que a concentração de agente emulsificante é o fator preponderante para determinação da taxa de reação, já que é a concentração de tensoativo que determina quantas partículas são formadas. Outro ponto importante é que a massa molar é definida principalmente pela concentração de iniciador. (FONSECA, 2012).

## 2.6 Polimerização *in situ* via miniemulsão

Atualmente são conhecidas diferentes técnicas de polimerização em emulsão, dentre elas: miniemulsão, também conhecidos como nanoemulsão, e a microemulsão. As principais distinções entre elas estão no tamanho das gotas e na estabilidade da emulsão. O termo microemulsão é geralmente usado para se referir a substâncias que são termodinamicamente estáveis formadas por mistura de óleo, água, e surfactantes juntos. As misturas de óleo, água e surfactante podem formar uma variedade de diferentes sistemas dependendo das condições do processo, especialmente temperatura. Uma nanoemulsão pode ser considerada como uma emulsão convencional que contém partículas muito pequenas. (MCCLEMENTS, 2012).

Nanoemulsões podem ser do tipo óleo em água, se o óleo é disperso sob a forma de gotículas na água, ou água em óleo, se caracterizando pela água dispersa no óleo. A estrutura das partículas em uma nanoemulsão é muito semelhante a encontrada numa microemulsão. A parte não polar das moléculas de surfactante se projetam no núcleo hidrofóbico formado pelo óleo, enquanto a parte polar das moléculas de surfactante projetam a fase aquosa circundante, como demonstrado na Figura 2.5. A principal distinção entre uma nanoemulsão e uma microemulsão é a estabilidade termodinâmica. Nanoemulsões são termodinamicamente

instáveis, enquanto as microemulsões são termodinamicamente estáveis. (MCCLEMENTS, 2012; ANTONIETTI *et al.*, 2002).



Fonte: Adaptado de MCCLEMENTS, 2012.

Figura 2.5 – Estrutura de microemulsões e nanoemulsões produzidas a partir de óleo, água e tensoativo. A estrutura das partículas em ambos os tipos de dispersão é bastante semelhante. Um núcleo hidrofóbico de óleo e surfactante e um revestimento hidrofílico.

UGELSTAD *et al.* (1973) foram pioneiros no estudo de polimerizações em miniemulsões, descrevendo o processo de polimerização em gotas de monômero. Suas discussões levaram à especulação sobre a possibilidade de nucleação e polimerização em gotículas de monômero muito pequenas durante a polimerização em emulsão.

De acordo com ASUA (2002) as miniemulsões são definidas como dispersões de pequenas gotas de monômero em água, estabilizadas por um surfactante contra a coalescência das gotas pela ação do movimento Browniano (união de duas ou mais gotas, ocorrendo a ruptura da interface e resultando em uma gota maior) e por um co-estabilizante, para minimizar a degradação difusional (Ostwald Ripening, processo no qual pequenas gotas se agrupam por diferença de pressão, levando a um aumento no tamanho médio das gotículas). Uma típica formulação inclui água, monômero, co-estabilizante, surfactante e iniciador, que pode ser solúvel na fase aquosa ou no monômero. O surfactante é dissolvido na água, o co-estabilizante

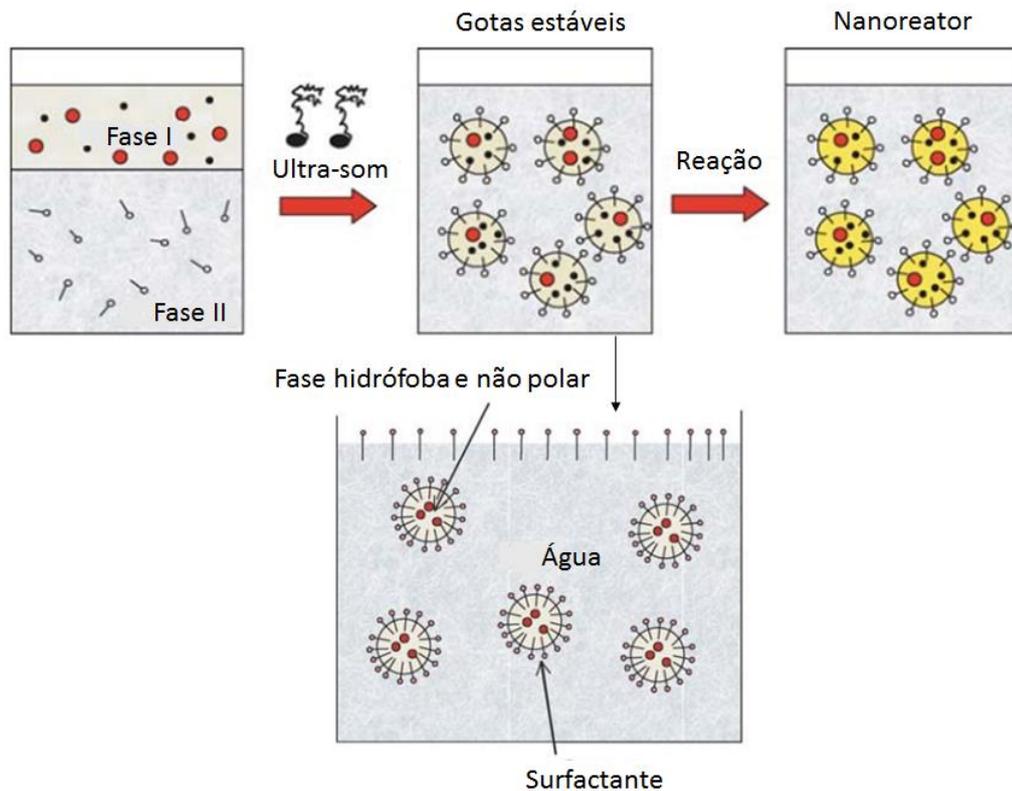
é dissolvido no monômero e ambos são misturados sob agitação. É necessário um mecanismo de cisalhamento (homogeneização) para garantir o tamanho submicrométrico das gotas. (LANDFESTER *et al.*, 1999; ALVES *et al.*, 2014).

Dentre as várias aplicações de materiais sintetizados por meio de polimerização em miniemulsão estão: os adesivos; revestimentos anticorrosivos e resistentes aos raios UV; pigmentos têxteis; sistemas de distribuição de fármacos; quimiossensores; dispersões aquosas de poliolefinas; suportes de catalisadores; polimerização enzimática; materiais responsivos; partículas fluorescentes fotossensíveis; monitores de visão noturna; revestimentos de vidros e cerâmicas. (ASUA, 2014).

Na primeira etapa do processo de polimerização em miniemulsão, pequenas gotas são formadas por um sistema contendo a fase dispersa: gotas de monômero, óleo e um co-estabilizador (geralmente que não tenha afinidade com a água) e a fase contínua: fase aquosa com um surfactante e um iniciador. O surfactante e o co-estabilizador produzem gotas de monômero muito pequenas. A área superficial das gotículas nestes sistemas é muito grande, e a maior parte do surfactante é adsorvido na superfície das gotas. No processo em miniemulsão, a etapa conhecida como iniciação (Estágio I da polimerização em emulsão) não ocorre, uma vez que as partículas foram previamente formadas e não existem reservatórios de monômero livre no meio. (FONSECA, 2012).

O mecanismo de alta agitação, homogeneização, é importante para que a dispersão ocorra, com intuito de alcançar um estado estacionário. Na segunda etapa as gotas são nucleadas e polimerizadas, sem alterar suas características. (SCHORK *et al.*, 2005; LANDFESTER *et al.*, 2006). Na Figura 2.6 o esquema do processo da polimerização em miniemulsão é demonstrado.

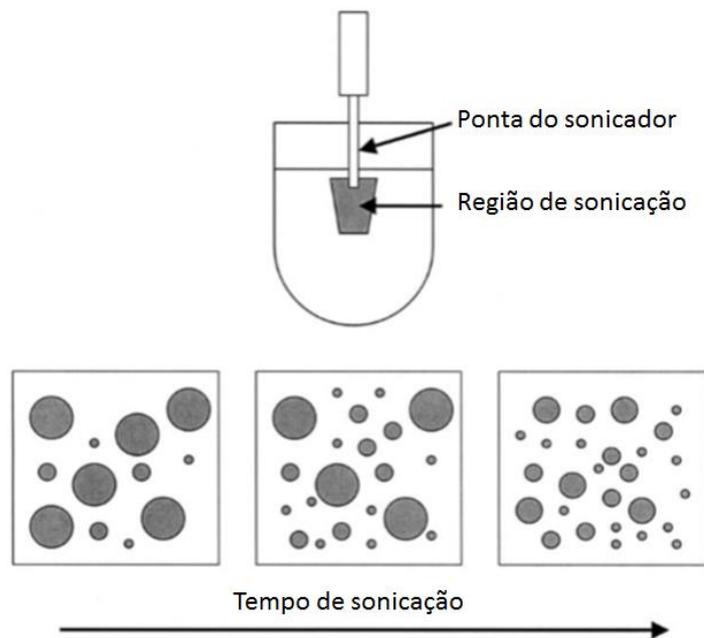
A homogeneização mecânica das miniemulsões pode ser obtida por diferentes métodos. Inicialmente a agitação simples era utilizada como principal meio de homogeneização. Posteriormente o uso de omni-misturadores e ultraturrax foi catalogado. Porém, a energia transferida por estas técnicas não é suficiente para obter pequenas gotas distribuídas homogeneamente. Uma energia muito maior para a fragmentação de grandes gotas em pequenas é necessária. Atualmente a ultrasonicação é usada especialmente para a homogeneização de pequenas quantidades, enquanto que micro-onduladores ou homogeneizadores de alta pressão são favoráveis para a emulsão de quantidades maiores. (ANTONIETTI *et al.*, 2002).



Fonte: Adaptado de LANDFESTER *et al.*, 2006.

Figura 2.6 – Esquema do processo da polimerização em miniemulsão.

O sonicador (ultrasonicação) produz ondas de ultrassom que fazem com que as moléculas oscilem sobre sua posição principal. Durante o processo, a distância média entre as moléculas diminui, enquanto que durante a rarefação a distância aumenta. A rarefação resulta em uma pressão negativa que pode causar a formação de vazios ou cavidades (bolhas de cavitação) que podem crescer em tamanho. As ondas de choque produzidas na colisão das bolhas causam um problema associado ao sonicador, como mostrado na Fig. 2.7. Apenas uma pequena região do fluido ao redor da ponta do sonicador é afetada pelas ondas de ultrassom, as gotas de monômero devem passar por esta região. Portanto, quando o sonicador é utilizado, uma fonte adicional de agitação é aconselhável. (ASUA, 2002).



Fonte: Adaptado de ASSUA, 2002.

Figura 2.7 – Esquema do processo de sonicação.

Existe uma variedade de outras técnicas para gerar dispersões de polímeros, tais como polimerização em suspensão, geração de dispersões secundárias por precipitação ou emulsão por solvente. Essas possuem aplicação, porém não são muito utilizados por possuírem desvantagens como o uso excessivo de surfactante, baixa estabilidade coloidal e altos custos de processo. (ANTONIETTI *et al.*, 2002).

A utilização da polimerização *in situ* para encapsulamento de ativos vêm sendo cada vez mais evidenciada. As nanopartículas produzidas possuem diversas aplicações farmacêuticas, biomédicas e cosméticas. Essas podem ser administradas por diferentes vias como intravenosa, ocular, oral, intramuscular, subcutânea e cutânea. O desenvolvimento de formulações com nanopartículas incorporadas para aplicação na pele, por exemplo, é uma estratégia pertinente para transportar ativos cuja ação é a própria pele, representando uma alternativa para superar pontos indesejados desses, como características cinéticas. (SILVIA *et al.*, 2010; GUTERRES *et al.*, 2011; CARVALHO *et al.*, 2016).

## 2.7 Nanopartículas em cosméticos para administração dérmica

Segundo a ANVISA os cosméticos são definidos como produtos preparados com substâncias naturais e sintéticas ou suas misturas, para uso externo nas diversas partes do corpo humano com o objetivo de limpá-los, perfumá-los, protegê-los ou mantê-los em bom estado.

Os consumidores em todo o mundo estão cada vez mais focados em saúde e beleza. Existe um interesse crescente em cosméticos confeccionados com ingredientes naturais e funcionais, a demanda de produtos derivados de fontes naturais tem aumentado nas últimas décadas. (CARVALHO *et al.*, 2016).

Entre 2008 e 2012, o faturamento da indústria global de cosméticos e higiene pessoal cresceu 4,1% ao ano, em média. (BAIN & COMPANY, 2014). Em relação aos produtos cosméticos provenientes de fontes naturais o crescimento é ainda mais acentuado. Em meados da década de 1970, a indústria de produtos naturais atingia montantes de US \$ 2,4 bilhões por ano. Em 2011, seu valor atingiu US \$ 91 bilhões por ano, com taxa de crescimento de 7,4% em relação ao ano anterior nas vendas globais. (CARVALHO *et al.*, 2016).

A utilização de produtos naturais vinculados a tecnologia de encapsulação polimérica vem sendo evidenciada nos últimos anos na indústria cosmética. Esse tipo de tecnologia, como por exemplo a nanoencapsulação, permite a melhora e modificação das características e propriedades do material ativo, bem como sua proteção, estabilização e liberação lenta. (CARVALHO *et al.*, 2016).

O potencial uso dermatológico ou cosmético das nanopartículas foi evidenciado no início dos anos 90. O primeiro produto cosmético no mercado baseado em polímeros nanoencapsulados foi lançado pela empresa francesa L'Oréal em 1995. Novos métodos de preparação vêm sendo desenvolvidos e informações sobre a estrutura das nanopartículas vem sendo reveladas. (GUTERRES *et al.*, 2011).

Patentes recentemente publicadas na área da encapsulamento sugerem que tanto os setores industriais quanto acadêmicos estão explorando as técnicas de produção para preparar cosméticos. O encapsulamento de substâncias aplicadas em produtos estéticos e de cuidados pessoais se tornou muito popular, atraente e tecnicamente viável. A tecnologia cosmética está crescendo constantemente em termos de matérias-primas, agentes ativos e formulações, faz-se necessário o investimento em pesquisas para desvendar os desafios relacionados aos processos e materiais que envolvem a nanotecnologia. (MARTINS *et al.*, 2014).

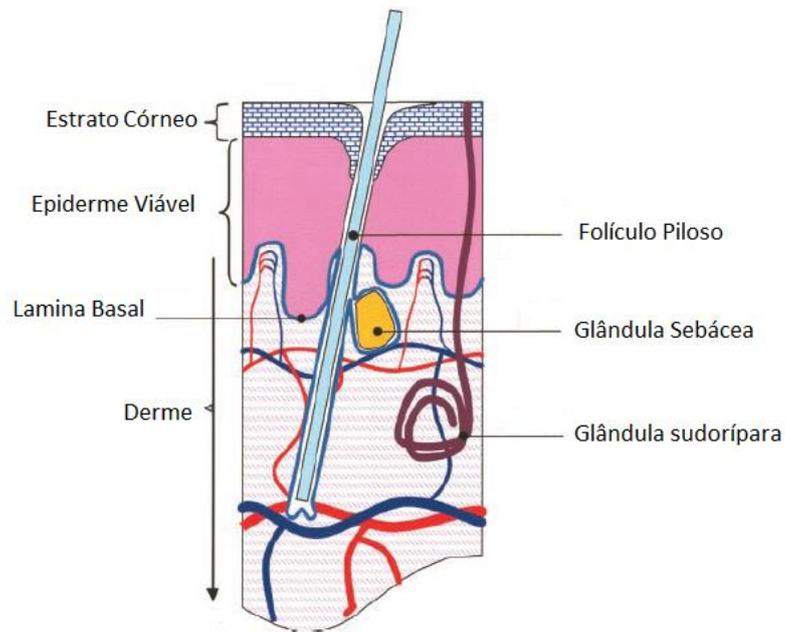
Na aplicação dérmica partículas podem permear a pele e atingir a corrente sanguínea se espalhando pelo corpo. Em algumas aplicações o objetivo é que essas partículas não atravessem o estrato córneo, devendo agir exclusivamente na parte externa da pele, como é o caso de produtos repelentes de insetos e protetores solar. Em relação aos nanopartículas poliméricas

esse controle de permeação pode ser efetuado com tamanho de diâmetro das nanopartículas. De acordo com BAROLI (2010) apenas nanopartículas ou nanomateriais cujas dimensões são abaixo de 36 nm podem ser capazes de serem absorvidos através das linhas lipídicas trans-epidérmicas, trans-foliculares ou poros aquosos.

ALVAREZ-ROMAN *et al.* (2004) efetuaram um estudo onde nanopartículas de estireno com diâmetro entre 20 e 200 nm. As nanopartículas foram aplicadas na pele por um tempo máximo de 2 horas. As partículas com 20 nm se acumularam mais profundamente no folículo piloso (aberturas foliculares) quando comparadas com as partículas de maior tamanho. Porém as partículas em geral foram incapazes de atravessar o estrato córneo e foram recuperados na superfície da pele.

Essa distribuição de ativos cosméticos na pele é influenciada por muitos fatores. Estes incluem o tamanho da molécula, a lipofilicidade do componente, o tipo de formulação, o estado físico da epiderme e os componentes relacionados a pele e suas barreiras. (VERMA *et al.*, 2003).

A pele, maior órgão do corpo humano, consiste em uma complexa estrutura em camadas, que forma uma barreira entre o corpo e o ambiente exterior. Esta barreira permanece ligeiramente aberta e permeável ao ambiente para permitir pequenas transferências de calor e de massa. A pele é estruturada em três camadas, a epiderme, a derme e a camada subcutânea hipoderme (Figura 2.8). A camada externa da epiderme, cobre toda a parte externa do corpo, é a barreira limitante da absorção percutânea. (VERMA *et al.*, 2003).



Fonte: Adaptado do BAROLI, 2010

Figura 2.8 -Representação esquemática em corte transversal da pele.

O Estrato córneo, localizado na epiderme e a composição da pele protegem o corpo do ambiente externo, minimizam as radiações UV e dissipam calor através da transpiração. (BAROLI, 2010).

Compreender como as barreiras da pele influenciam na permeação dos cosméticos com nanopartículas embutidas é de suma importância. Assim como o estudo dos parâmetros envolvidos nas formulações dessas nanopartículas e na incorporação das mesmas em emulsões cosméticas. A indústria cosmética continua a investir em pesquisa e no desenvolvimento de produtos inovadores para satisfazer as necessidades dos crescentes consumidores ao redor do mundo.

## 2.8 Considerações finais

A alta volatilidade dos componentes do óleo essencial de citronela resulta em curta duração de repelência contra mosquitos. O período de proteção pode ser melhorado desenvolvendo formulações contendo nanopartículas poliméricas com o óleo incorporado.

A técnica de polimerização *in situ* via miniemulsão se mostra promissora para aplicação em questão por ter a possibilidade de criar dispersões coloidais contendo partículas pequenas. Os principais desafios relacionados à nanoencapsulação dos óleos essenciais estão relacionados

a modificações que podem ocorrer na estrutura do bioativo, interferindo nas propriedades do mesmo.

Muitos compostos nanoestruturados já foram utilizados para produção de sistemas de liberação de fármacos. As fórmulas desenvolvidas para aplicação no mercado cosmético possuem grande potencialidade econômica.

O presente estudo pretende avaliar a possibilidade de nanoencapsulação do óleo essencial de citronela através do método de polimerização *in situ* via miniemulsão utilizando o metacrilato de metila como monômero, de forma a prover discussões através da investigação dos produtos obtidos.

## Capítulo 3

---

### 3.0 Materiais e Métodos

Neste capítulo, encontra-se uma descrição detalhada dos materiais, equipamentos e metodologias empregadas para o desenvolvimento desta pesquisa, estando incluídas sínteses e caracterizações físico-químicas dos produtos obtidos.

#### 3.1 Reagentes:

- Acetato de vinila (VAc), fornecido pela Vetec Química Fina com 99% de pureza, usado como monômero nas reações de polimerização;
- Acetona P.A., fornecido pela Vetec Química Fina com 99,5% de pureza, usada para limpeza das vidrarias;
- Água desmineralizada, usada como meio reacional da polimerização, no preparo das soluções de persulfato de potássio e lauril sulfato de sódio, assim como na análise de distribuição de tamanho de partículas;
- Citronelal, fornecido pela Citral Frangace and Flavors Ingredients, utilizado como padrão nas análises de Cromatografia Gasosa;
- Crodabase®, fornecida pela Croda do Brasil, usada como base auto-emulsionante e emoliente para cremes e loções O/A, INCI: Cetearyl Alcohol, Cetareth 20, Mineral Oil, Lanolin Alcohol, Petrolatum;
- Etanol P.A., fornecido pela Vetec Química Fina com 99,8 % de pureza, usado no preparo das soluções de leitura no espectrofotômetro UV-Vis e limpeza de vidrarias;
- Etileno glicol P.A., fornecido pela Vetec Química Fina com 99,5% de pureza, usado como fluido refrigerante no banho de resfriamento do condensador de refluxo do reator de polimerização;
- Glicerina, fornecida pelo laboratório de fármaco técnica da faculdade de farmácia da UFBA, utilizada como umectante e doador de viscosidade a fase aquosa do sistema emulsivo;
- Heptano, fornecido pela Aldrich, utilizado como solvente nas análises de eficiência de encapsulamento;
- Hexadecano (HD), fornecido pela Sigma-Aldrich, com 99% de grau de pureza, usado como co-estabilizante;

- Hexano, fornecido pela Aldrich, utilizado como solvente nas análises de eficiência de encapsulamento;
- Hidroquinona, fornecido pela Vetec Química Fina, utilizada como inibidora de polimerização nas análises de conversão polimérica;
- Lauril sulfato de sódio (LSS), fornecido pela Vetec Química Fina com 98% de pureza, usado como agente emulsificante nas reações de polimerização;
- Metacrilato de metila (MMA), fornecido pela SIGMA ALDRICH, usado como monômero nas reações de polimerização;
- Metilparabeno (Nipagim), fornecido pelo laboratório de fármaco técnica da faculdade de farmácia da UFBA, utilizado como conservante;
- Oleato de decila (Cetiol V), fornecido pelo laboratório de fármaco técnica da faculdade de farmácia da UFBA, utilizando como emoliente;
- Óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*), fornecido pela FERQUIMA com 99% de pureza, utilizado como bioativo.
- Óleo mineral, fornecido pelo laboratório de fármaco técnica da faculdade de farmácia da UFBA, utilizando como emoliente;
- Peróxido de benzoíla (BPO), fornecido pela Vetec Química Fina com 99% de pureza em base seca, usado como iniciador nas reações de polimerização em massa;
- Persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ ), fornecido pela Fluka Chemie com 97% de pureza em base seca, usado como iniciador nas reações de polimerização em miniemulsão;
- Propilparabeno (Nipazol), fornecido pelo laboratório de fármaco técnica da faculdade de farmácia da UFBA, utilizado como conservante;
- Tetrahidrofurano (THF) grau HPLC/Spectro, fornecido pela Tedia Company Inc, utilizado nas análises de GPC como fase móvel e na solubilização das amostras.

### 3.2 Equipamentos e Acessórios:

- Analisador de tamanho (Malvern Instruments ZetaSizer, modelo Nano-ZS), utilizado para análise de tamanho de partículas através do método de espalhamento de luz;
- Analisador térmico (Perkin Elmer, modelo STA-6000), utilizado para testar o comportamento térmico das nanopartículas poliméricas;
- Balança analítica Celtac FA2104N, com incerteza experimental de  $3 \times 10^{-4}$ , utilizada para pesagem de reagentes, capacidade para pesar materiais de 100 mg até 210 g;
- Banho Ultra termostático SL- 152/18 com faixa de temperatura de  $-10^\circ\text{C}$  até  $100^\circ\text{C}$ ;

- Calorímetro diferencial de Varredura, SHIMADZU modelo DSC-60, utilizado para as análises de termogravimetria;
- Centrífuga Solab SL-700, utilizada para análise de estabilidade;
- Congelador/freezer Dako, utilizado para análise de estabilidade;
- Cromatógrafo de Permeação em Gel (Viscotek, modelo GPC Max VE 2001), utilizado para determinar massas moleculares dos polímeros produzidos;
- Cromatógrafo Gasoso (SHIMADZU, modelo GC-2010), utilizado para determinar os compostos do óleo essencial de citronela e quantificar a eficiência de encapsulamento;
- Equipamento de metalização de amostras (Denton Vacuum modelo DESK V), utilizado para análise em MEV;
- Espectrofotômetro UV-VIS (Perkin-Elmer, modelo Lambda 35), utilizado nas análises de eficiência de encapsulamento;
- Espectrômetro (Nicolet 6700 Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA) com detector MCT/B Smart Orbit, resolução 4 e 128 varreduras (64 varreduras de fundo), utilizado para as análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier;
- Estufa Nova Ética (440-D), utilizada para a secagem dos polímeros;
- Homogeneizador de alta pressão (Artepeças, modelo APLAB-10 - 1.000 Bar), utilizado no preparo das miniemulsões empregadas nas reações de polimerização;
- Microscópio eletrônico de varredura (JEOL modelo LSM-6460LV e LSM-6610LV), utilizado para análises de morfologia das nanopartículas poliméricas;
- Microscópio óptico binocular Olympus (CX 31), utilizado nas caracterizações da emulsão cosmética;
- Mini-reator de vidro (EasyMax™ 102 - Mettler Toledo) com capacidade de 100 mL, utilizado para a realização das reações de polimerização através no método de miniemulsão, reator encamisado com aquecimento elétrico, controle de temperatura conduzido por termopar, equipado com agitador mecânico e condensador;
- Misturador IKA RW 20, utilizado para homogeneizar e emulsificar as soluções;
- Placa de agitação (IKA, modelo C-MAG HS7), utilizada para homogeneização e aquecimento das soluções;
- Placas de vidros com diferentes massas, utilizadas para investigação de espalhabilidade *in vitro*;
- Refratômetro óptico do tipo ABBE modelo Q767B, podendo medir índices de refração variando de 1,300 a 1,700 com incerteza experimental de  $3 \times 10^{-4}$ ;

- Texturometro TA XY EXPRESS, utilizado para análise de textura.
- Ultrassom (Eco-Sonics, modelo Q3.8/25A) utilizado nas análises de eficiência de encapsulamento;
- Vórtex MIXER LABNET, utilizado para análise de estabilidade.

### 3.3 Métodos

#### 3.3.1 Avaliação da solubilidade do bioativo em metacrilato de metila

Na primeira etapa do estudo de solubilidade entre monômeros e o óleo essencial de citronela, amostras foram preparadas com diferentes concentrações mássicas (0, 5, 10, 15, 20%) de bioativo utilizando o metacrilato de metila ou acetato de vinila como solvente. Uma placa de agitação foi empregada para auxiliar na homogeneização das soluções. As amostras foram avaliadas visualmente e através de medidas em refratômetro óptico.

O índice de refração é uma das propriedades físicas mais importantes das soluções. Ao medir o índice de refração de uma solução binária, é possível determinar a composição da solução e verificar a intensidade das interações moleculares presentes. (HUANG *et al.*, 2015). Sistemas em equilíbrio são determinados com a medida do índice de refração ( $\eta$ ) da solução, quando a medida de  $\eta$  não sofre mais alteração chega-se ao ponto de saturação da solução, então se pode prever a solubilidade da solução em questão. A IUPAC define solubilidade como: a análise da composição de uma solução que é saturada por um dos componentes da solução. O termo saturado implica no equilíbrio com respectivo processo de transferência de fases de líquidos em outros líquidos. (TOMKINS *et al.*, 2003).

O estudo experimental foi conduzido nas temperaturas de 18°C, 25°C e 38°C com o objetivo de analisar tanto o comportamento da solubilidade em relação a concentração mássica quanto em relação a temperatura.

A Figura 3.1 apresenta os equipamentos utilizados para as análises de solubilidade entre bioativo e monômeros.



Figura 3.1- Refratômetro de bancada utilizado para análises de índice de refração.

### 3.3.2 Produção de partículas poliméricas

A produção das partículas poliméricas foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa testes preliminares de polimerização em massa foram efetuados em tubos de ensaio com o objetivo de avaliar a possibilidade de polimerização dos monômeros MMA e VAc na presença do óleo essencial de citronela (Apêndice B). Baseado nos resultados promissores o MMA foi escolhido como monômero na etapa posterior.

Na segunda etapa, a técnica de polimerização em miniemulsão foi escolhida para produção das nanopartículas poliméricas. O procedimento experimental adotado foi baseado nos trabalhos de FONSECA *et al.* (2013), LORCA *et al.* (2012), PAIVA (2015) e PEIXOTO (2012). A quantidade de bioativo foi variada em 0%, 2,5%, 5%, 10% e 15% em relação a porcentagem de monômero utilizada nas reações.

A metodologia experimental da reação de polimerização *in situ*, utilizando o óleo essencial de citronela como bioativo, através do método de miniemulsão ocorre em três etapas:

#### 1) Preparo das Soluções

Inicialmente foi pesada 64g de água desmineralizada e uma alíquota de aproximadamente 15 mL foi separada para solubilizar 0,8g de iniciador hidrofílico, o persulfato de potássio. A solução contendo o persulfato de potássio foi mantida sob agitação magnética por 5 minutos a 40 °C. À quantidade de água restante, adicionou-se 0,64g de lauril sulfato de sódio e agitou-se por cinco minutos com auxílio de uma barra magnética para a completa solubilização da solução. Posteriormente, os reagentes da fase orgânica foram pesados. O óleo

essencial de citronela (0, 5, 10 e 15% m/m) foi solubilizado no monômero (16 g) juntamente com o hexadecano (0,32g).

## 2) Preparo da miniemulsão

A fase orgânica, composta da solução de monômero, biotivo e co-estabilizante, foi vertida na fase aquosa sob agitação durante quinze minutos. A miniemulsão foi, então, homogeneizada em sonicador (homogeneizador de alta pressão a 20% de potência) durante 5 minutos.

## 3) Reação de polimerização

A emulsão preparada (item 1 e 2) foi adicionada ao reator e mantida sob agitação mecânica de 500 rpm. Quando a temperatura atingiu o valor de 80°C, a solução de persulfato de potássio, preparada inicialmente, foi adicionada ao reator (início da reação de polimerização). Após duas horas, reduziu-se a temperatura para 30°C e a agitação foi interrompida. As partículas de PMMA formadas foram retiradas do reator e armazenadas em frasco reagente.

Foram realizadas reações com 0%, 2,5%, 5%, 10% e 15% da concentração mássica de citronela em relação ao monômero, a concentração de monômero permaneceu a mesma (30% em massa do total). Em todas as reações as três etapas foram repetidas.

As etapas do processo de polimerização *in situ* estão esquematizadas na Figura 3.2. Nas Figuras 3.3 e 3.4 são mostrados esquema e imagem da unidade reacional da polimerização usada no experimento.

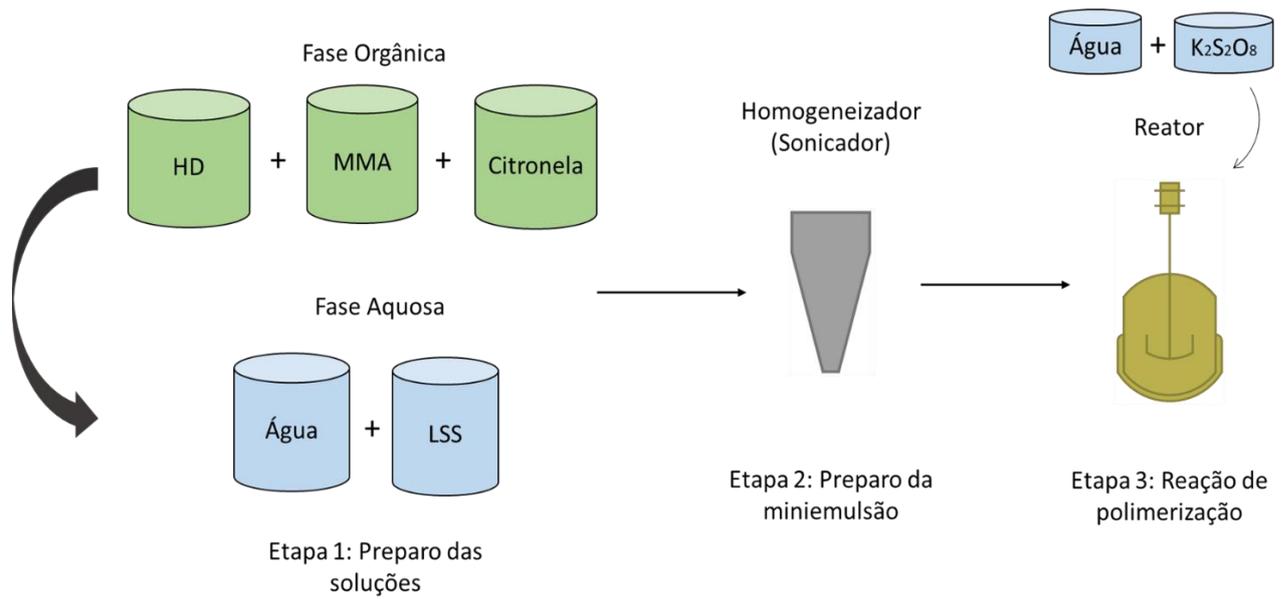
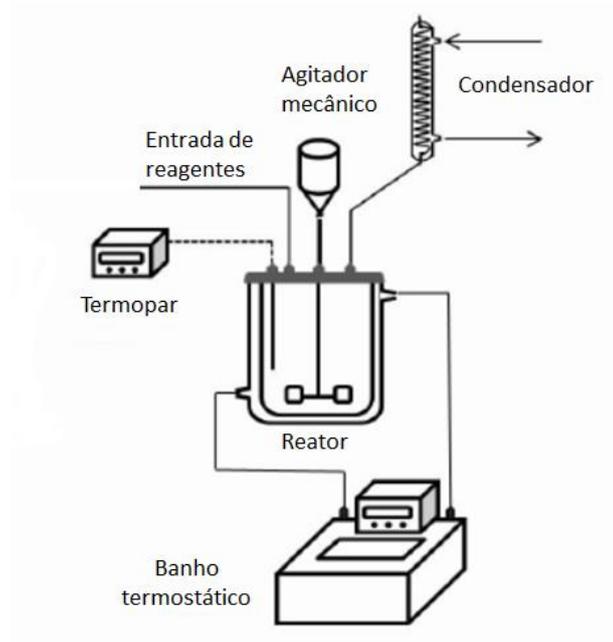


Figura 3.2- Esquema das etapas de reação de polimerização in situ pelo método de miniemulsão.

As quantidades utilizadas e as condições reacionais empregadas em todas as reações estão descritas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1- Quantidades e condições experimentais utilizadas na produção de nanopartículas poliméricas através do método de polimerização in situ.

Condições da Polimerização em Miniemulsão (Reator de 100 mL)			
Fase Orgânica			
Reagentes	Função	Quantidade	(g)
MMA	Monômero	30% em massa do total:	16,0
Hexadecano	Co-estabilizante	2% em massa do monômero:	0,3
		0% em massa do monômero:	0,0
		2,5% em massa do monômero:	0,4
Citronela	Bioativo	5% em massa do monômero:	0,8
		10% em massa do monômero:	1,6
		15% em massa do monômero:	2,4
Fase Aquosa			
Reagentes	Função	Quantidade	(g)
Água destilada	Meio reacional	70% em massa do total:	64,0
LSS	Estabilizante	1% da fase aquosa:	0,6
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Iniciador	1% em massa do total:	0,8
Condições Reacionais			
<b>Agitação: 500 rpm</b>		<b>Tempo: 2 h</b>	
<b>Temperatura: 80°C</b>			



Fonte: Adaptado de PEIXOTO, 2012.

Figura 3.3- Esquema da unidade reacional de polimerização em miniemulsão.

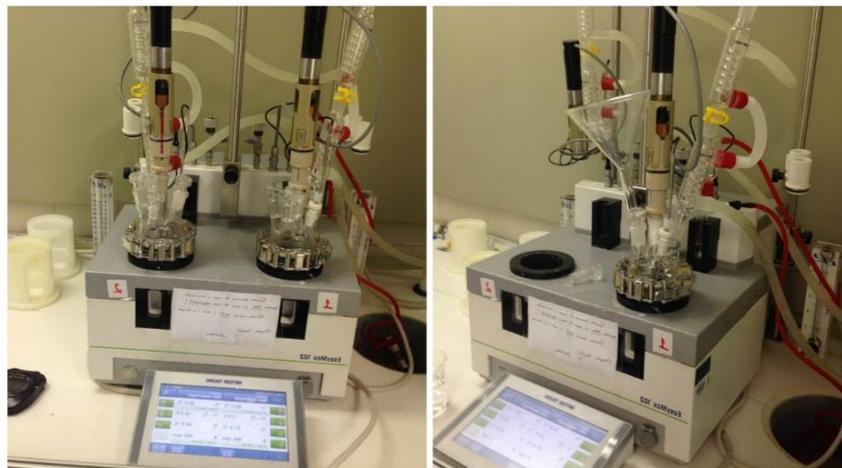


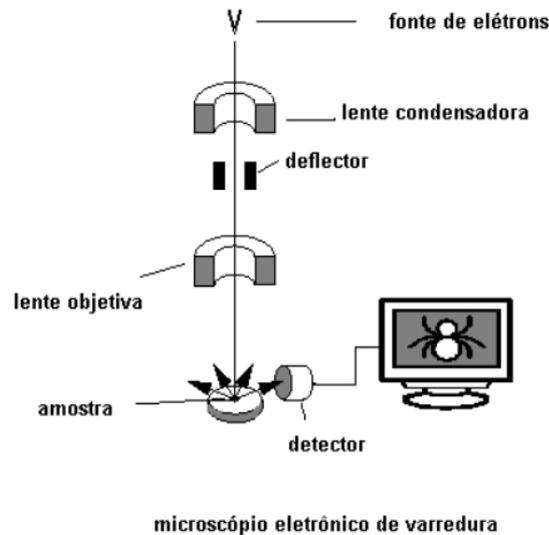
Figura 3.4- Imagem da unidade reacional de polimerização em miniemulsão.

### 3.4 Caracterização das partículas poliméricas

#### 3.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

O princípio de um microscópio eletrônico de varredura consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica. O sinal recolhido pelo detector é utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação. A profundidade máxima de detecção, portanto, a resolução espacial, depende da energia com que estas partículas ou raios atingem o detector, ou

são capturadas pelo mesmo. A Figura 3.5 apresenta um desenho esquemático do funcionamento do microscópio eletrônico de varredura. (DEDAVID *et al.*, 2007; STOKES, 2008).



Fonte: Adaptado de DEDAVID *et al.*, 2007.

Figura 3.5- Desenho esquemático do funcionamento do microscópio eletrônico de varredura.

Um microscópio eletrônico de varredura da marca JEOL (modelo LSM-6610LV), equipado com filamento de tungstênio, operando com tensão máxima de 50 kV foi utilizado para análises morfológicas das nanopartículas. Para a realização das análises as amostras foram previamente preparadas por dois métodos, descritos abaixo, e posteriormente metalizadas com ouro através de equipamento Denton Vacuum (modelo DESK V).

- Método 1: Após as reações de polimerização, o látex contendo as nanopartículas poliméricas foi levado para secar em estufa de circulação da marca Nova Ética (modelo 440-D) por cerca de 72 horas. Posteriormente, com auxílio de cadinho, as partículas foram maceradas e uma pequena quantidade colocada em fita condutora de carbono para metalização e análise em MEV.

- Método 2: Após as reações de polimerização amostras do látex foram diluídas, numa proporção de 1mL para 25 mL de água destilada. Uma alíquota da solução foi gotejada em fita condutora de carbono e colocada para secar por 24 horas em temperatura ambiente, posteriormente as amostras foram metalizadas e analisadas em MEV.

### 3.4.2 Análise Gravimétrica

Análise gravimétrica é um método de análise química quantitativa indireta da massa em que o constituinte procurado é separado e pesado. (ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, 2016).

Durante a reação de polimerização alíquotas foram retiradas nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 e 120 minutos e colocadas em recipientes previamente pesados, com adição de hidroquinona (Figura 3.6) que atua como inibidor da reação de polimerização. As amostras foram secas em estufa de circulação da marca Nova Ética (modelo 440-D) por pelo menos 72 horas, até que não houvesse variação na massa.



Figura 3.6- Cápsulas utilizadas para secagem de alíquotas nas análises de conversão pelo método de gravimetria.

O cálculo de conversão foi efetuado segundo a Equação 3.1.

$$X = \frac{(Mp - Mc) - Mh}{(Ma - Mc - Mh) \cdot \varphi} \cdot 100 \quad \text{Equação 3.1}$$

$X$  : Conversão, em porcentagem.

$Mp$ : Massa em gramas do polímero seco, contendo as massas da cápsula e da solução de hidroquinona seca.

$Mc$ : Massa em gramas da cápsula.

$Mh$ : Massa da solução de hidroquinona.

$Ma$ : Massa em gramas da amostra retirada do reator de polimerização, contendo as massas da cápsula e da solução de hidroquinona.

$\varphi$ : Razão massa orgânica (composta pela massa do co-estabilizante, bioativo e monômero) sobre massa total.

### 3.4.3 Distribuição de diâmetro das partículas

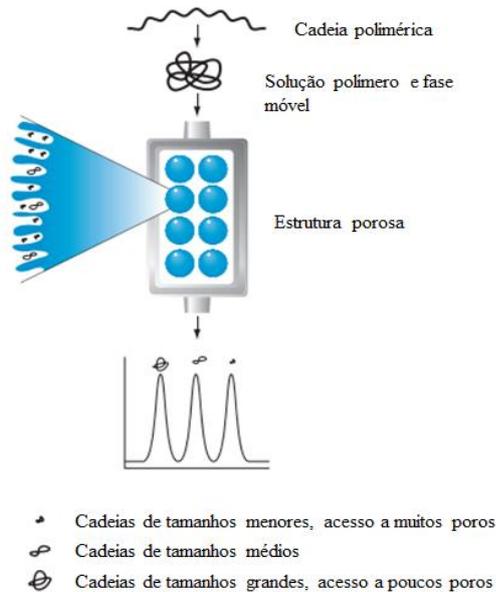
Para analisar a distribuição de diâmetro das partículas produzidas a técnica de espalhamento de luz foi utilizada. A técnica de espalhamento de luz consiste na análise das flutuações de intensidade da luz espalhada em um determinado ângulo. Essa análise fornece informações sobre o movimento da partícula, movimento este que é a causa das flutuações da intensidade. A análise dessas flutuações de intensidade resulta na verificação do tamanho de partícula utilizando relações como a de Stokes-Einstein. (SCHARTL, 2007).

Um analisador de tamanho da marca Malvern Instruments ZetaSizer, modelo Nano-ZS foi utilizado para analisar os diâmetros das nanopartículas de PMMA com diferentes concentrações de bioativo (óleo de citronela). O procedimento de preparo das amostras consistiu em adicionar uma gota da emulsão de nanopartículas em cubeta contendo aproximadamente 4mL de água destilada.

### 3.4.4 Cromatografia de Permeação em Gel – GPC

A Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) é também conhecida como Cromatografia por Exclusão de Tamanho (SEC) ou Cromatografia de Gel de Filtração (GFC). É uma técnica cromatográfica que separa moléculas dissolvidas com base no seu tamanho. Uma solução com o polímero a ser analisada é bombeada através de uma coluna recheada com um gel poroso. Este gel possui uma porosidade com dimensões tais que permite que as cadeias poliméricas entrem neles, excluindo as cadeias maiores. Ao penetrarem nos poros, as cadeias menores percorrem um caminho maior que as cadeias maiores, atrasando-se em relação a estas. Ao final da coluna de separação, cadeias de massa molar maior serão eluídas primeiro, sendo seguidas pelas cadeias menores. Ao final os detectores fazem a determinação quantitativa das cadeias poliméricas. (CANEVAROLO, 2002).

O mecanismo de separação é mostrado na Figura 3.7. Esta apresenta como amostras de diferentes diâmetros podem ser excluídas completamente, parcialmente, ou não penetrar nos poros.



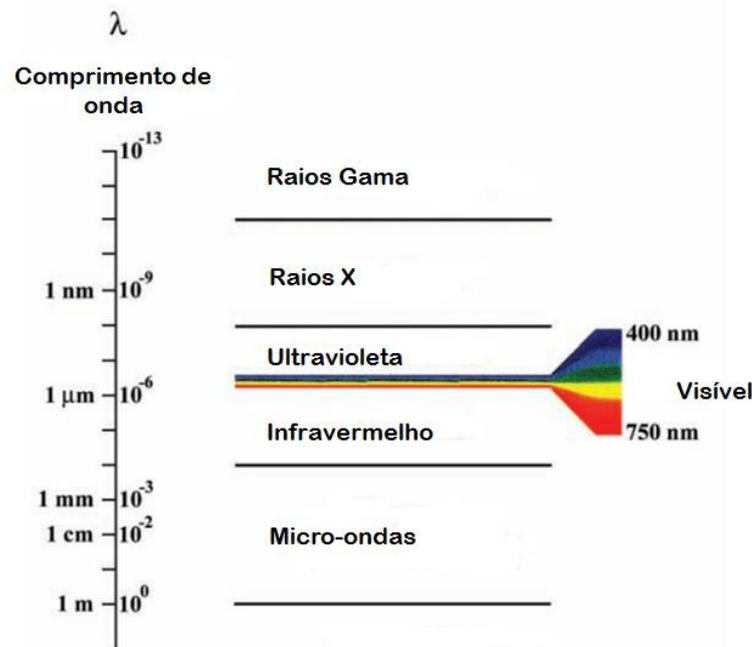
Fonte: Adaptado de AGILENT TECHNOLOGIES, 2015.

Figura 3.7- Funcionamento de GPC, sistema de separação de cadeias poliméricas.

Para a realização das análises os polímeros foram dissolvidos em tetrahydrofurano (THF), cerca de 9mg de polímero seco foi previamente pesado e diluído em 3mL de THF. As análises foram realizadas a 40 °C, numa vazão constante de 1,0 mL/min de fase móvel (THF). Um Cromatógrafo de permeação em gel da marca Viscotek (modelo GPC Max VE 2001), equipado com um detector refratométrico da marca Viscotek (modelo VE 3580) e um conjunto de colunas lineares da marca Shodex (modelos KF-48 804L e KF-805L) com tamanhos máximos de poro de  $1,5 \times 10^3$  e  $5 \times 10^3$  Å foram utilizados para análise por GPC de PMMA com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela.

### 3.4.5 Eficiência de Encapsulamento – Espectroscopia UV/Visível

Espectroscopia é um termo geral para a ciência que lida com interações de vários tipos de radiação com a matéria, baseia-se em medidas de absorção. A quantidade de luz absorvida pela amostra é medida e relacionada com a concentração do analito. A absorção de radiação eletromagnética por parte de moléculas e átomos está normalmente associada a transições eletrônicas. A absorção da radiação UV-Visível se deve ao fato das moléculas apresentarem elétrons que podem ser promovidos a níveis de energia mais elevados mediante a absorção de energia (Figura 3.8) (SKOOG *et al.*, 2008).



Fonte: Adaptado de RICHARDS, 2011.

Figura 3.8- Espectro Eletromagnético.

A técnica de espectroscopia foi utilizada para as análises de eficiência de encapsulamento do óleo essencial de citronela nas nanopartículas de PMMA. As análises foram efetuadas em espectrofotômetro UV-VIS (Perkin-Elmer, modelo Lambda 35). Inicialmente uma varredura foi realizada com o óleo essencial de citronela puro. O pico máximo de absorção do bioativo foi  $\lambda = 236$  nm. Partindo-se do princípio que o etanol é solúvel no óleo essencial de citronela e insolúvel no PMMA, uma extração foi executada com o intuito de retirar todo o óleo essencial encapsulado e posteriormente, a partir da medida de absorbância, quantificar o mesmo.

Uma curva de calibração foi previamente desenvolvida com diferentes concentrações do bioativo em etanol (1 a 16 g/L) e está demonstrada no Apêndice A (Figura A.1).

Uma determinada massa de nanopartículas foi pesada e adicionada a etanol para extração do óleo de citronela encapsulado. Em seguida, a dispersão foi posta em ultrassom durante 10 minutos e, posteriormente, filtradas em membranas com poros de  $0,45 \mu\text{m}$ . A análise dos espectros foi efetuada no comprimento de onda máximo de absorção para posterior cálculo de concentração do bioativo usando a equação obtida da curva de calibração e posteriormente a eficiência de encapsulamento foi averiguada.

### 3.4.6 Cromatografia Gasosa – GC

A cromatografia gasosa (GC) é uma técnica de separação e análise de misturas por interação dos seus componentes entre uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase móvel ou gás de arraste não interage com a amostra, apenas a carrega. A amostra é injetada e arrastada pela fase móvel através da coluna que contém a fase estacionária onde ocorre a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna e passam por um detector que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de substâncias separadas na coluna. (FELIZZOLA *et al.*, 2014; MCNAIR *et al.*, 2009).

Para determinação dos compostos do óleo essencial de citronela um Cromatógrafo Gasoso (SHIMADZU, GC-2010), coluna ZB-5 foi utilizado. Nitrogênio foi empregado como gás de arraste numa taxa de 40 mL min<sup>-1</sup>, hidrogênio em uma taxa de 40 mL min<sup>-1</sup> e ar sintético a 400 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura foi mantida em 60°C durante 1 minuto chegando a 200°C numa taxa de 15°C min<sup>-1</sup>. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 240°C. O citronelal (componente majoritário do óleo de citronela) foi solubilizado em hexano e utilizado como padrão. Uma curva de calibração com diferentes concentrações (1, 2, 10, 20, 30 ppm) previamente construída foi utilizada e está demonstrada no Apêndice A (Figura A.3).

Para as análises de eficiência de encapsulamento do bioativo nas nanopartículas de PMMA foi utilizado um Cromatógrafo Gasoso (SHIMADZU, modelo GC-2010) acoplado a Espectro de Massa (CG/MS). O Cromatógrafo era equipado com uma coluna apolar Agilent Technologies (modelo HP-5MS) com 30m x 0,250 mm. Hélio foi utilizado como gás de arraste numa taxa de 6,5 mL min<sup>-1</sup>, a taxa de entrada na coluna foi de 1,46 mL min<sup>-1</sup> e a taxa da purga 5 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura foi mantida em 50°C durante 2 minutos chegando a 140°C numa taxa de 10°C min<sup>-1</sup> e posteriormente a 310°C numa taxa de 25°C min<sup>-1</sup>, sistema Splitless. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 240°C. (SOLOMON *et al.*, 2012; IMAN *et al.*, 2013; MAJI *et al.*, 2006). O citronelal foi utilizado como padrão para construção das curvas de calibração com diferentes concentrações (0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,1, 0,2, 0,5 e 1 ppm) (Apêndice A, Figura A.2). O heptano foi escolhido como solvente por possuir uma boa solubilidade no óleo essencial de citronela e no citronelal e contemplar as especificações técnica da coluna do Cromatógrafo Gasoso.

Inicialmente uma solução mãe de 2 mg/mL de citronelal foi preparada em heptano. Posteriormente essa solução foi diluída em diferentes concentrações. Essas foram injetadas no

GC/MS para produção de curvas de calibração que relacionam a concentração do ativo por área dos picos.

Determinada massa de nanopartículas secas (em pó) foram utilizadas para o preparo de soluções em hepano. Essas soluções passaram por Ultrassom durante 1 hora. As soluções foram filtradas com filtros milipore e então injetadas em GC/MS para análise de concentração, a partir da curva de calibração, e posterior cálculo eficiência de encapsulamento. (SOLOMON *et al.*, 2012).

### 3.4.7 Espectroscopia no Infravermelho (IR) com Transformada de Fourier - FTIR

A técnica de IR se baseia no fato das ligações químicas das substâncias possuírem frequências de vibração específicas, correspondentes a níveis de energia diferentes, chamados níveis vibracionais. As frequências vibracionais são observadas quando luz no comprimento de onda do espectro do infravermelho é incidida sobre as amostras criando uma impressão digital dos grupamentos constituintes. Existem dois tipos de vibrações moleculares: alongamento e flexão. Uma vibração de alongamento é um movimento rítmico ao longo do eixo de ligação, de modo que a distância interatômica está aumentando ou diminuindo. Uma vibração de flexão consiste numa alteração no ângulo de ligação entre átomos em relação ao restante da molécula. Por exemplo, as vibrações de torção e oscilação. O objetivo da espectroscopia de absorção no IR é a determinação dos grupos funcionais de um determinado material, como cada grupo absorve uma frequência característica o espectrograma permite caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou de um material desconhecido. (BURNS *et al.*, 2008; SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

As amostras de nanopartículas de PMMA com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela foram analisadas em Espectrômetro (Nicolet 6700 Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA), resolução 4 e 128 varreduras. A varredura foi feita entre 500 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros foram obtidos com auxílio do acessório cristal ATR.

### 3.4.8 Análise Termogravimétrica – TGA

A termogravimetria é a técnica de análise térmica em que a variação de massa da amostra é determinada como uma função da temperatura, ou tempo de aquecimento, utilizando um programa controlado de temperatura. A aparelhagem é constituída basicamente por termobalança, uma espécie de forno elétrico e balança de precisão. (PIGNATELLO, 2013).

A degradabilidade térmica do óleo essencial de citronela, assim como das nanopartículas de PMMA com e sem o bioativo, foi realizada através de equipamento Perkin Elmer (modelo STA-6000), na faixa de 50 a 700 °C. A taxa de aquecimento foi de 10 °C/min. O nitrogênio foi utilizado como gás de purga a uma vazão de 20 mL/min. O objetivo da análise do óleo essencial de citronela puro foi de determinar a temperatura em que se inicia o processo de degradação para fixar os parâmetros das reações de polimerização a fim de evitar a perda das características do material. Em relação as análises das nanopartículas à observação da degradabilidade pode dar respostas sobre a possível interação do polímero com o bioativo.

### 3.4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

A calorimetria exploratória diferencial é uma técnica que possibilita avaliar os fenômenos energéticos, físicos e químicos produzidos durante o aquecimento (ou resfriamento) de uma substância. Essa técnica possibilita medir o fluxo de calor diferencial entre a amostra e um material de referência termicamente inerte em função da temperatura ou tempo de aquecimento sob um programa controlado de temperatura. A amostra e o material de referência são mantidos aproximadamente a mesma temperatura durante o experimento. Podem-se determinar as variações de entalpia; as mudanças de calor específico e a temperatura de eventos endo e exotérmicos. (PIGNATELLO, 2013).

A análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foi utilizada para verificar se ocorre interação entre o bioativo e o polímero nas diferentes formulações de nanopartículas. As amostras analisadas foram de PMMA, óleo essencial de citronela e das nanopartículas poliméricas contendo diferentes concentrações de bioativo.

As análises foram efetuadas em equipamento da marca SHIMADZU modelo DSC-60. Foram utilizadas 2 mg com controle de temperatura em uma faixa de 0 a 550 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio.

## 3.5 Ensaios de permeação com membrana sintética em células de Franz

É necessário analisar a permeação da formulação cosmética e a difusão do fármaco nas camadas da pele após a aplicação tópica. O estudo de permeação é um método que pode ser utilizado para caracterizar o desempenho de fórmulas cosméticas semi-sólidas. O método é baseado numa célula de difusão de câmara aberta (Célula de Franz) equipado com uma membrana que pode ser artificial (acetato de celulose, que é hidrofílica) ou biológica (pele de

coelhos, ratos, porco, humana obtida de autópsias ou de cirurgia plástica). O produto teste é colocado no lado superior da membrana na câmara doadora da célula de difusão e um fluido de amostragem, solução receptora capaz de criar uma condição de não saturação do sistema dinâmico e que é designada como condição sink, é colocado no outro lado da membrana numa célula receptora. A difusão da formulação teste é monitorada através das amostras coletadas no fluido receptor. (SILVA *et al.*, 2010; FDA, 1997).

Os ensaios de liberação foram conduzidos utilizando célula de difusão tipo Franz com área difusional de  $3,5 \text{ cm}^2$  e câmara receptora com volume de 10 mL (Figura 3.9). As amostras foram colocadas numa membrana de acetato de celulose (tamanho de poro de  $0,45 \mu\text{m}$ ). Cerca de 100 mg de amostra foram colocadas na célula doadora em contato com a membrana. A célula doadora foi tampada durante o experimento. O compartimento receptor continha heptano como solução receptora que sofreu agitação constante e teve a temperatura mantida em  $30^\circ \text{C}$  com auxílio de placa agitadora. Após 15 minutos a primeira alíquota foi coletada (1mL). É necessário o reabastecimento do meio receptor (heptano) em cada intervalo de amostragem com o mesmo volume da alíquota que foi retirada, ou seja, 1 mL. Posteriormente nos tempos de 45, 90, 150, 240, 360 e 1440 minutos foram retiradas amostras para análise. O experimento durou 24 horas no total. As análises foram realizadas em duplicata. (SOLOMON *et al.*, 2012).



Fonte: Adaptado de SILVA *et al.*, 2010.

Figura 3.9- Célula de difusão de Franz.

### 3.6 Formulação, Incorporação e ensaios de estabilidade da emulsão cosmética

De acordo com a legislação vigente, fórmulas cosméticas são produtos para uso externo destinados à proteção ou ao embelezamento das diferentes partes do corpo, tais como cremes de beleza, máscaras faciais e soluções cremosas. (ANVISA, 2004).

Formulações cosméticas foram desenvolvidas com objetivo de gerar um creme de melhor performance para ação repelente. Emulsão se caracteriza como forma farmacêutica semissólida formada por uma fase lipofílica e uma fase hidrofílica, contém um ou mais princípios ativos dissolvidos ou dispersos em uma base apropriada e é utilizada, normalmente, para aplicação externa na pele ou nas membranas mucosas. Diferentes bases comerciais foram testadas para fazer parte da formulação cosmética repelente, a base cosmética comercial escolhida para ser utilizada na formulação a Crodabase®, fornecida pela SR Brasil matérias-primas, apresentou características favoráveis a aplicação em questão.

#### 3.6.1 Formulação:

O sistema emulsionado tipo óleo em água (O/A) escolhido possui formulação baseada na 2ª Edição do FORMULÁRIO NACIONAL (2012) da Farmacopeia Brasileira. Esse possui características pertinentes a aplicação em questão, como boa espalhabilidade e estabilidade física. Na Tabela 3.2 está a formulação desenvolvida para preparação da emulsão cosmética.

Tabela 3.2- Formulação desenvolvida para preparo de emulsão cosmética (O/A).

Emulsão cosmética			
Fase Oleosa			
Reagentes	INCI	Quantidade (%)	Quantidade (g)
Crodabase®	Álcool cetearílico, óleo mineral, álcool de lanolina, petrolato	15	60
Cetiol V®	Oleato de decila	2	8
Óleo Mineral	Óleo mineral	4	16
Nipazol®	Propilparabeno	0,05	0,2
Fase Aquosa			
Reagentes	INCI	Quantidade (%)	Quantidade (g)
Água destilada	Água	73,8	295,2
Glicerina	Glicerina	5	20
Nipagim®	Metilparabeno	0,15	0,6
Total		100	400

Para preparação do sistema emulsionado cosmético, os reagentes foram devidamente pesados em béqueres. As fases aquosa e oleosa foram preparadas separadamente. A fase aquosa foi levada ao aquecimento primeiramente. Quando esta chegou a temperatura de 50°C a fase oleosa também foi levada à placa térmica. Quando as duas fases chegaram à temperatura entre 70-75°C, a fase oleosa foi vertida na fase aquosa e levada ao misturador. A agitação foi efetuada a uma velocidade de 300-320 rpm, durante cerca de 10 minutos até a formação de uma emulsão consistente. Após esse período a emulsão cosmética está pronta e deve ser armazenada em local fresco e protegido de luz solar.

### 3.6.2 Incorporação das nanopartículas poliméricas na emulsão cosmética

Cerca de 400g da emulsão tipo O/A foi produzida. Essa foi reservada e dividida em 5 partes. A incorporação ocorreu de forma simples com o auxílio de uma balança analítica e um misturador à temperatura ambiente. Foi incorporado ao creme cosmético 10% p/p de nanopartículas poliméricas. As nanopartículas de PMMA contendo 0%, 5% e 10% de óleo essencial de citronela foram utilizadas além próprio óleo essencial de citronela livre. A emulsão cosmética sem incorporações também foi empregue a nível comparativo, como controle, nos ensaios de estabilidade.

### 3.6.3 Ensaios de estabilidade acelerada na emulsão cosmética

Estudos foram conduzidos com o objetivo de analisar a estabilidade das formulações cosméticas. Os ensaios de estabilidade seguiram os protocolos estabelecidos pelo guia de estabilidade de produtos cosméticos elaborado pela ANVISA. (ANVISA, 2004).

O estudo da estabilidade de produtos cosméticos fornece informações que indicam o grau de estabilidade relativa de um produto nas variadas condições a que possa estar sujeito. Variáveis relacionadas à formulação, ao processo de fabricação, ao material de acondicionamento e às condições ambientais e de transporte podem influenciar na estabilidade do produto. Em geral existem dois tipos de estudo de estabilidade. O estudo de estabilidade preliminar, também conhecido como teste de triagem ou de curto prazo, tem como objetivo orientar na escolha das formulações. Geralmente é realizado na fase inicial do desenvolvimento do produto e com duração reduzida. Devido às condições em que é conduzido, este estudo não tem a finalidade de estimar a vida útil do produto, mas sim de auxiliar na triagem das formulações. O estudo de estabilidade acelerada, também conhecido como estabilidade normal

ou exploratória, fornece dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento. (ANVISA, 2004).

Foram realizados estudos de estabilidade acelerado com duração reduzida. Empregou-se condições de temperatura com o objetivo de acelerar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de características específicas. Amostras da emulsão cosmética (O/A) formulada foram colocadas em tubos de ensaio tampados. Após cada análise, uma pequena alíquota era retirada para observação em lâmina fotográfica. As etapas seguintes aconteciam com os mesmos tubos. Somente as análises de espalhamento *in vitro* foram realizadas em alíquotas do sistema emulsionado que não passaram pelo procedimento de envelhecimento acelerado.

#### 3.6.3.1 Teste de centrifugação

A formulação cosmética se trata de uma emulsão que tem como característica particular a instabilidade termodinâmica. A centrífuga induz a separação de fases da emulsão cosmética que deve permanecer estável. A amostra foi centrifugada durante 40 minutos a uma velocidade de 1500 rpm e durante 10 minutos numa velocidade de 3500 rpm. Foram realizadas análises em microscopia óptica com aumento de 4x, 10x e 40x com posterior fotomicrografia.

#### 3.6.3.2 Teste em Vórtex

O Vórtex é um equipamento que promove movimento circular, serve para simular o transporte em que as fórmulas cosméticas sofrem no deslocamento de produtos. Os tubos sofreram ação do Vórtex durante 10 minutos em velocidade média. Foram realizadas análises em microscopia óptica com aumento de 4x, 10x e 40x com posterior fotomicrografia.

#### 3.6.3.3 Ciclo gelo-degelo

As amostras foram submetidas a abaixamento de temperatura quando colocadas em Congelador/freezer durante 24 horas e posteriormente à temperatura ambiente por mais 24 horas, caracterizando um ciclo. O total de 3 ciclos foram utilizados para análise gelo-degelo, logo 6 dias foram necessários para completar a observação. Foram realizadas análises em microscopia óptica com aumento de 4x, 10x e 40x com posterior fotomicrografia.

### 3.6.3.4 Alteração luminosa

A radiação luminosa pode alterar significativamente a cor e o odor do produto e levar à degradação de componentes da formulação. As amostras foram submetidas à luz solar durante 6 dias. Observações visuais foram efetuadas para analisar aspecto de cor.

### 3.6.3.5 Determinação da espalhabilidade *in vitro*

Uma placa suporte de vidro (20 cm x 20 cm) posicionada sobre papel milimetrado foi utilizada para determinação da espalhabilidade das amostras. (Figura 3.10). Uma placa de molde circular também de vidro com diâmetro de 20 cm e espessura 0,2 cm, com orifício central de 1,0 cm de diâmetro, foi colocada sobre a placa suporte. A amostra foi introduzida pelo orifício da placa molde, que foi retirada e substituída por uma placa de vidro de massa conhecida. Após o período de 1 minuto foi efetuada a leitura dos diâmetros abrangidos pela amostra. Com o auxílio da escala milimetrada, as posições vertical e horizontal foram analisadas e o diâmetro médio foi calculado. Este procedimento foi repetido diversas vezes com a substituição das placas de vidro por outras de maior massa em intervalos de 1 minutos. No total 7 placas foram utilizadas. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso adicionado. As análises foram realizadas em triplicata. Testes estatísticos ANOVA ( $p < 0,05$ ) e TUKEY para comparações múltiplas foram realizados para comprovação de significância estatística. A equação 3.2 foi utilizada para os cálculos de espalhabilidade e a equação 3.3 utilizada para cálculo do fator de espalhabilidade de cada amostra. (BORGHETTI *et al.*, 2006; DAUDT *et al.*, 2008).

$$Ei (\max) = \frac{d^2 \pi}{4} \quad \text{Equação 3.2}$$

$Ei (\max)$  : Espalhabilidade máxima da amostra para um determinado peso ( $\text{mm}^2$ ).

$d$ : Diâmetro médio (mm).

$$Ef = \frac{\sum E}{\sum m} \quad \text{Equação 3.3}$$

$Ef$  : Fator de Espalhabilidade ( $\text{mm}^2/\text{g}$ ).

$E$  : Somatório da Espalhabilidade das amostras para um determinado peso ( $\text{mm}^2$ ).  
 $m$ : Somatório das massas das placas (g).

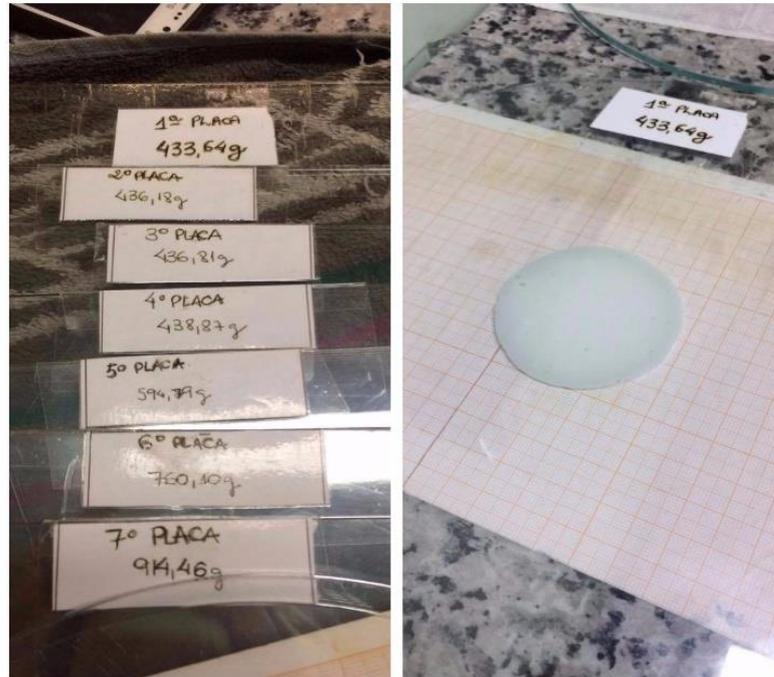


Figura 3.10- Placas utilizadas para análise de espalhabilidade *in vitro*.

### 3.6.3.6 Textura *in vitro*

As análises de textura foram efetuadas num Texturômetro TA XY EXPRESS, em triplicata, com o objetivo de quantificar as características das formulações cosméticas contendo as nanopartículas poliméricas incorporadas. Tubos contendo as amostras foram colocadas num suporte e um probe foi inserido nas mesmas para efetuar as medidas. Os parâmetros analisados pelo Texturômetro nas formulações cosméticas foram a adesividade e dureza. O Texturômetro é uma ferramenta que fornece dados quantificáveis, precisos e repetitivos.

# Capítulo 4

---

## 4.0 Resultados e Discussão

O presente capítulo discute sobre os resultados encontrados em relação ao estudo prévio de solubilidade entre os monômeros e bioativos, produção e caracterização das nanopartículas, assim como a incorporação na base cosmética.

### 4.1 Caracterização do óleo essencial de citronela

O óleo essencial de citronela foi caracterizado quanto a composição química, estabilidade térmica e solubilidade em monômeros para assegurar seu uso nas reações de polimerização.

#### 4.1.1 Composição do óleo essencial de citronela

O perfil cromatográfico do óleo essencial de citronela foi obtido e analisado conforme mostrado na Figura 4.1. O perfil cromatográfico mostrou que o óleo apresenta uma série de compostos dentre os quais o citronelal aparece como componente majoritário com tempo de retenção entre 7 e 8 minutos. A quantificação do óleo de citronela, neste trabalho, foi realizada baseado na quantidade do citronelal presente no óleo em comparação com o padrão. Para tal, uma curva de calibração previamente construída foi utilizada demonstrada no Apêndice A (Figura A.3).

A partir das análises dos resultados pode-se afirmar que existe 41,74% do composto citronelal no óleo essencial de citronela utilizado. Este resultado é semelhante ao encontrado por outros pesquisadores. SILVEIRA *et al.* (2012) estudaram a composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial de citronela através de GC/MS e afirmaram em seus estudos que a composição do citronelal no óleo analisado foi de 41,8% e que existem cerca de 20 substâncias no bioativo. SAKULKU *et al.* (2009) afirmaram em sua pesquisa referente a caracterização e atividade repelente de nanoemulsão de óleo de citronela que o bioativo continha cerca de 40,04% de citronelal em sua composição, conforme análises de GC/MS. Em contrapartida ANDRADE *et al.* (2012) analisaram, também através de GC/MS, óleo de citronela e encontraram, em sua composição, 47,12% de citronelal.

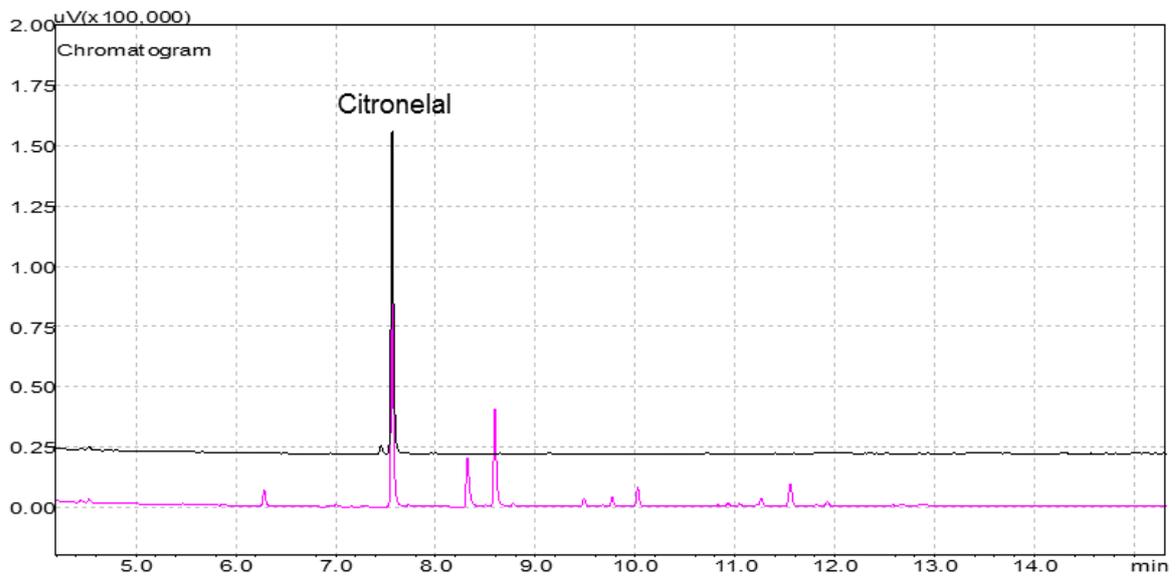


Figura 4.1- Cromatograma do óleo essencial de citronela (representado na cor rosa) e do padrão citronelal (representado na cor preta).

#### 4.1.2 Estabilidade térmica do óleo essencial de citronela

O comportamento termogravimétrico do óleo essencial de citronela foi analisado e o perfil obtido é mostrado na Figura 4.2. A análise termogravimétrica indicou que a degradação térmica do óleo se inicia acima da temperatura de 100°C. Esse resultado assegura que o óleo permanece estável nas condições reacionais da polimerização *in situ* sem sofrer degradação ou perda de suas características químicas, uma vez que as reações de polimerização ocorrem a 80°C.

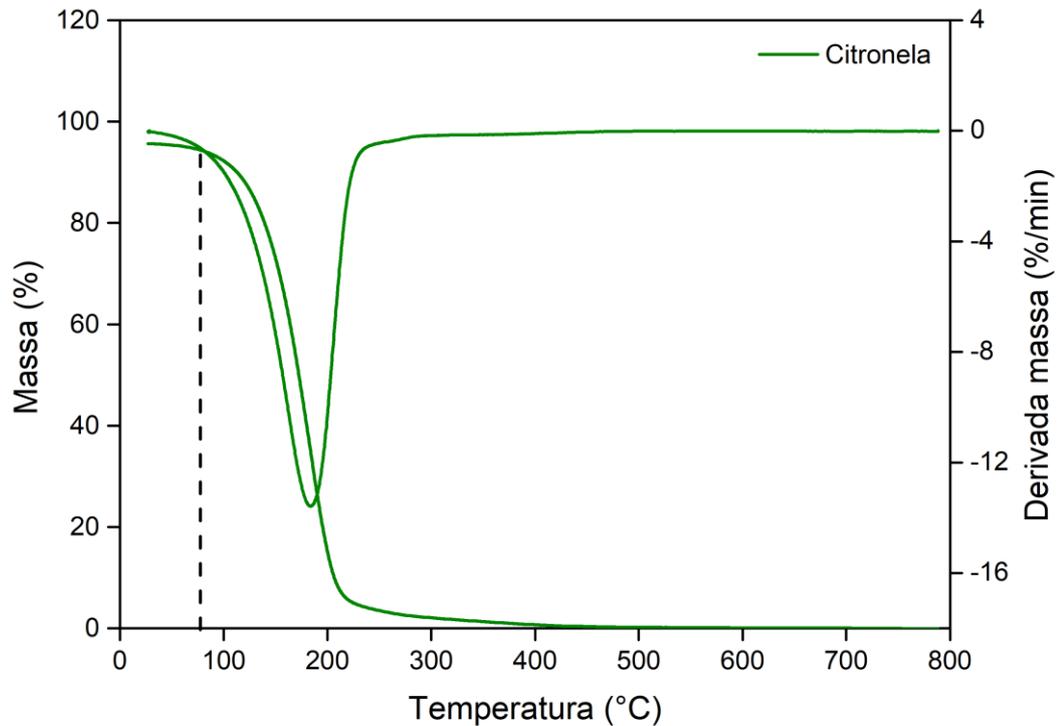


Figura 4.2- Análise termogravimétrica (TGA) do óleo essencial de citronela.

Estes resultados estão de acordo com as pesquisas realizadas por SANTOS *et al.* (2015) e BEZERRA *et al.* (2016), que também evidenciaram que a degradação do óleo essencial de citronela é iniciada após a temperatura de 100°C.

#### 4.1.3 Estudo de solubilidade entre monômeros e bioativo

O estudo de solubilidade entre os monômeros e o óleo essencial de citronela foi efetuado de forma qualitativa e dividido em duas etapas. Na primeira etapa, uma análise visual foi realizada no intuito de observar a formação de fase única ou duas fases. Neste caso, a interação entre os monômeros, metacrilato de metila (MMA) e acetato de vinila (VAc), e o óleo essencial de citronela foi observada.

A segunda etapa do estudo envolveu a análise de solubilidade através do índice de refração. Nessa fase, analisou-se apenas o monômero MMA, uma vez que este se mostrou mais promissor para realização das reações de polimerização em miniemulsão. Outras substâncias terapêuticas também foram analisadas em relação a solubilidade em MMA e VAc (Apêndice C).

Os resultados mostraram, visualmente, que o óleo essencial de citronela, apresentou solubilidade/miscibilidade (única fase) nos dois monômeros em diferentes concentrações mássicas.

O estudo refratométrico foi efetuado com influência da temperatura e da variação da concentração mássica para averiguar a solubilidade do bioativo no MMA. O óleo de citronela se mostrou muito solúvel no monômero, sendo difícil identificar um ponto de saturação da solução. Os índices de refração do óleo essencial de citronela puro a 18°C, 25°C e 38°C foram respectivamente: 1,4640, 1,4630 e 1,4590, valores que convergem com os encontrados na literatura. (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009). Os valores de índices de refração para o MMA puro a 18°, 25° e 38° respectivamente foram de: 1,4115, 1,4110 e 1,4170, esses possuem conformidade com as especificações técnicas fornecidas pelos produtores. (SIGMA ALDRICH, 2017). A Figura 4.3 e 4.4 mostram os valores do índice de refração do óleo de citronela com MMA a diferentes temperaturas e concentrações.

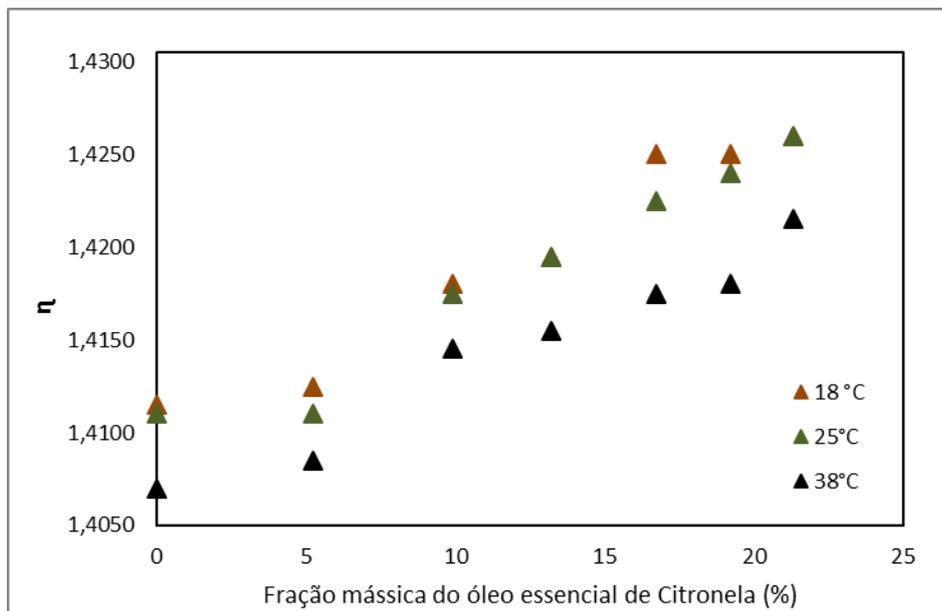


Figura 4.3- Valores de índice de refração do óleo essencial de citronela a 18°C, 25°C e 38°C, influência da concentração mássica e temperatura.

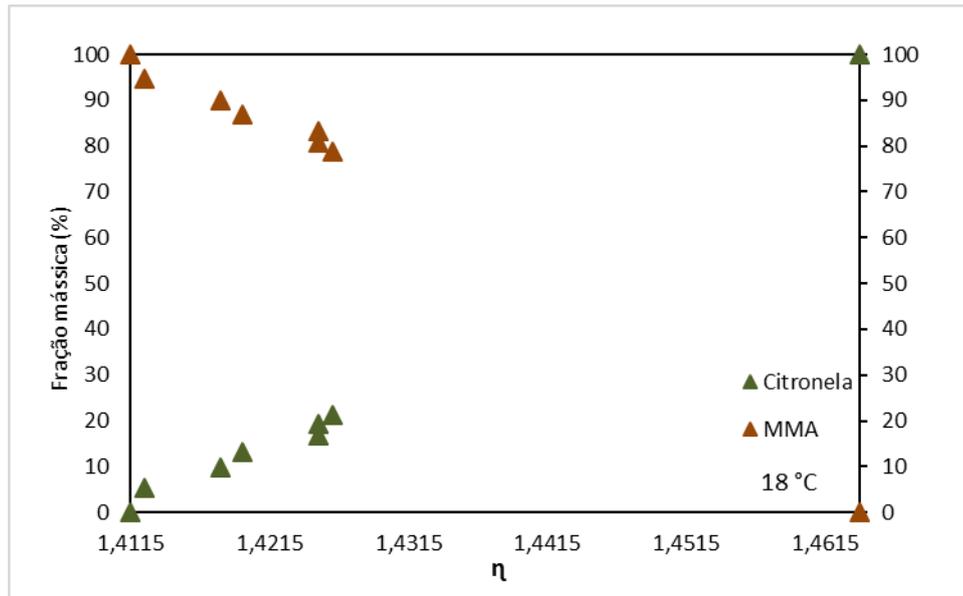


Figura 4.4- Valores de índice de refração a 18°C, influência da concentração.

Na Figura 4.3, observa-se uma diminuição no valor do índice de refração à medida que a temperatura aumenta. Quando a temperatura aumenta os espaços intermoleculares se estendem, consequentemente a luz passa com uma maior velocidade diminuindo assim o índice de refração, que é inversamente proporcional à velocidade de propagação da luz no meio. A lei de Snell-Descartes evidencia essa explicação. (TABOADA *et al.*, 2005; KAO *et al.*, 2009; RIOBÓO *et al.*, 2009; TAN *et al.*, 2015).

Na Figura 4.4, observa-se um acréscimo no valor do índice de refração ( $\eta$ ) à medida que a concentração mássica do óleo de citronela é aumentada. À medida que a concentração de bioativo aumenta na solução, o valor do índice de refração sofre uma variação progressiva tendendo ao valor do óleo puro (com ( $\eta$ ) maior que o MMA).

O estudo de solubilidade se mostra bastante relevante na escolha da técnica utilizada na realização de reações de polimerização. De maneira geral, em processos de produção de partículas poliméricas via polimerização *in situ*, a capacidade de carga e a eficiência de encapsulação das nanopartículas são maiores, quanto maior for a solubilidade do princípio ativo no monômero. (SOUTO *et al.*, 2011; WESS-ANGELI *et al.*, 2010).

## 4.2 Produção de partículas poliméricas via polimerização *in situ*

As reações efetuadas com o monômero acetato de vinila tiveram tempo total de reação de 4 horas, devido à conversão desse monômero ocorrer de forma mais lenta. Os experimentos

realizados com o VAc não produziram látex estável em nenhum momento, ao final formavam-se duas fases imiscíveis. Diante desse resultado, o monômero VAc foi totalmente descartado e as polimerizações seguintes foram efetuadas somente com o MMA, onde a temperatura foi ajustada em 80° C, a velocidade de reação fixada em 500 rpm e o tempo total de reação em 2 horas. Esses valores foram baseados em estudos no estado da arte e definidos para a aplicação em questão. (PEIXOTO, 2012; LORCA *et al.*, 2012; FONSECA *et al.*, 2013; PAIVA, 2015).

Os valores em massa do monômero (MMA), iniciador ( $K_2S_2O_8$ ), surfactante (LSS) e co-estabilizante (HD) permaneceram inalterados nas reações de polimerização com MMA, de modo que apenas a concentração mássica do bioativo sofreu variação. O objetivo foi de analisar a influência do óleo essencial de citronela no processo de formação das nanopartículas poliméricas.

As reações de polimerização conduzidas com MMA levaram à formação de um látex estável que não apresentou separação de fases ao longo de pelo menos 6 meses. Porém, observou-se o aumento da viscosidade do látex durante o tempo de armazenamento, sendo que essa característica se mostrou mais acentuada nas amostras em que continham maior quantidade de óleo de citronela. LORCA (2012) e FONSECA (2012) afirmam em seus estudos que esse tipo de emulsão possui estabilidade por cerca de seis meses quando armazenadas em temperatura ambiente.

As nanopartículas produzidas nessa etapa foram caracterizadas quanto à conversão polimérica, à morfologia, à distribuição média de tamanho, às propriedades moleculares e à eficiência de encapsulamento, além da análise de interação bioativo/polímero.

### 4.3 Caracterização das nanopartículas poliméricas

Nesse tópico são apresentadas as análises de caracterização realizadas nas nanopartículas poliméricas com óleo essencial de citronela.

#### 4.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

A técnica de microscopia eletrônica foi utilizada para as análises morfológicas das nanopartículas poliméricas de PMMA contendo diferentes quantidades de óleo essencial de citronela.

As fotomicrografias evidenciam a formação de estruturas esféricas com distribuições de tamanhos relativamente homogêneos, característica geralmente esperada em reações de polimerização em miniemulsão. Porém, observa-se uma aglomeração das nanopartículas que pode estar vinculada à metodologia de preparo das amostras para análise em MEV, onde o látex é seco em estufa de circulação, posteriormente macerado e metalizado. Nas Figuras 4.5 e 4.6 as análises das nanopartículas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de citronela são demonstradas.

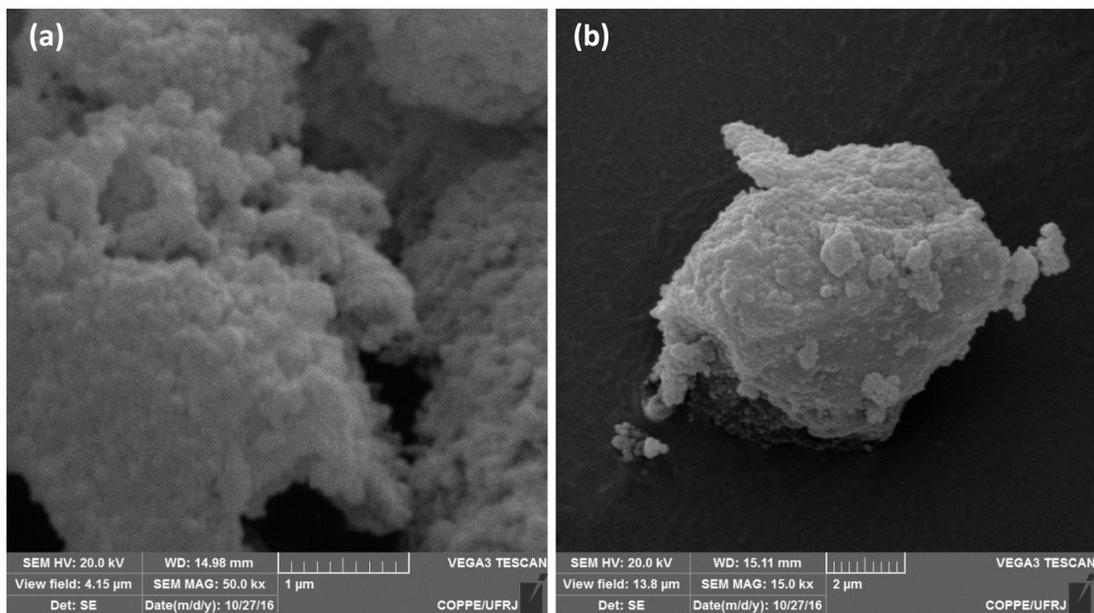


Figura 4.5- Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de PMMA contendo: (a) 2,5% e (b) 5% de óleo essencial de citronela.

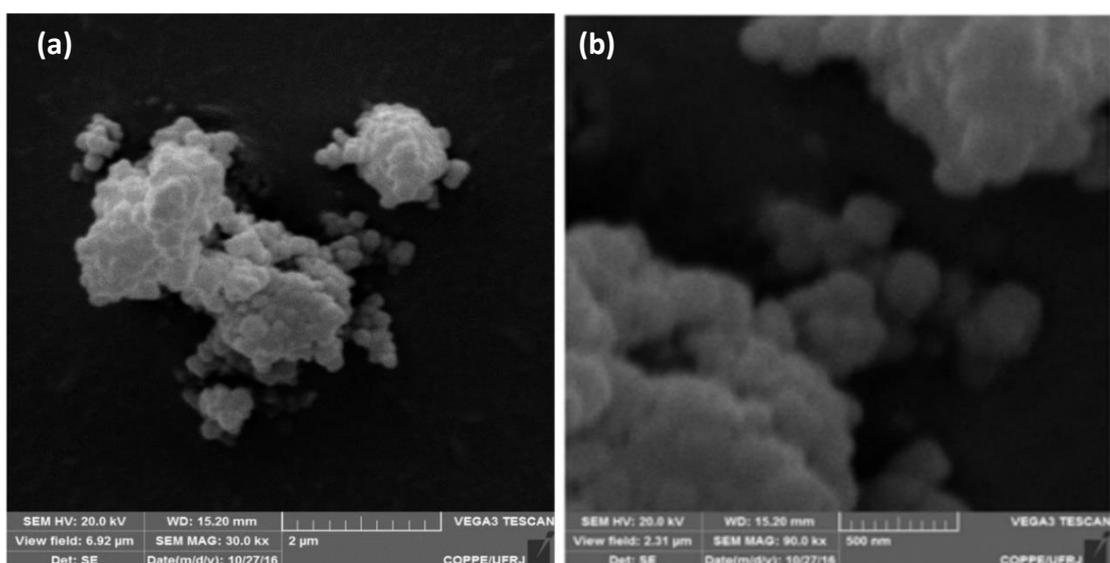


Figura 4.6- Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de PMMA contendo: (a) 10% e (b) 15% de óleo essencial de citronela.

Na tentativa de melhorar a visualização da superfície das partículas uma segunda metodologia de preparo foi testada, método 2 do item 3.3.1, porém a mesma não obteve um resultado favorável.

Na Figura 4.7 a superfície das partículas pode ser mais bem visualizada. Essas imagens confirmam a formação de nanopartículas esféricas com características de nanocápsulas, parede polimérica e um interior oco.

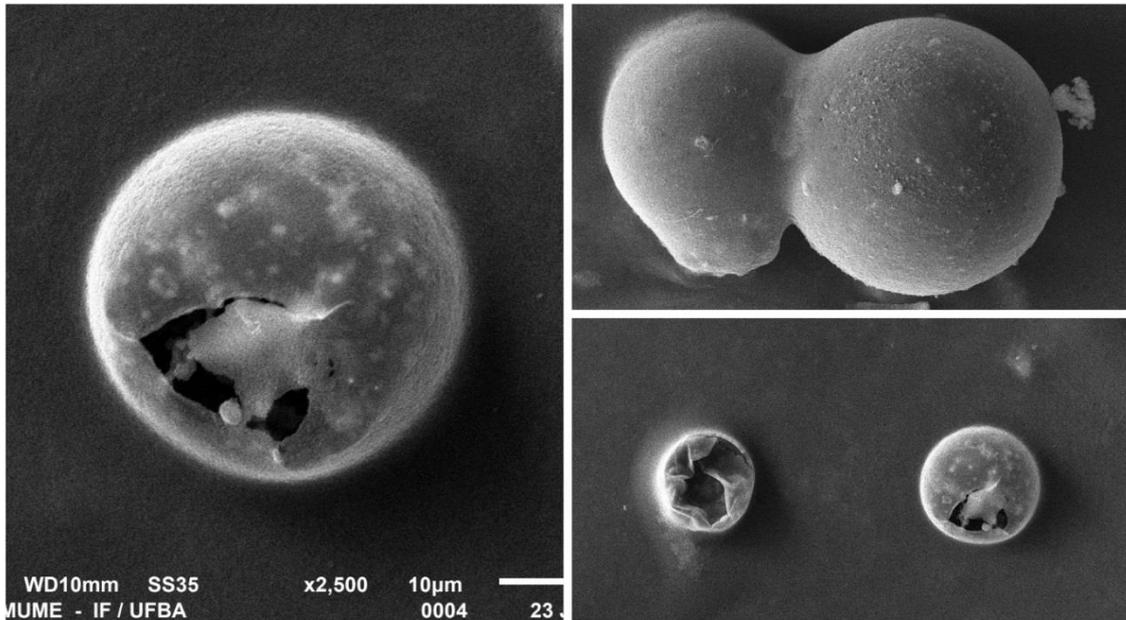


Figura 4.7- Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de PMMA.

#### 4.3.2 Análise Gravimétrica

A análise de gravimétrica foi efetuada com objetivo de analisar as taxas de conversão nas reações de polimerização.

A Figura 4.8 apresenta o comportamento reacional das polimerizações *in situ* do PMMA pelo método de miniemulsão. Observa-se que todas as reações possuem altas taxas de conversão, chegando a 100% até o final de duas horas de reação, reafirmando a alta capacidade de polimerização do MMA.

Nas reações com MMA puro, a conversão chegou a uma taxa de 70% ainda nos 5 minutos iniciais. Essa característica do PMMA de possuir altas taxas de conversão é evidenciada na literatura. (LORCA *et al.*, 2012; FONSECA *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2016). As reações com a presença de bioativo obtiveram uma taxa de conversão ainda mais alta nos

momentos iniciais. As emulsões, que continham 2,5% de citronela, apresentaram taxa de conversão de 90% nos primeiros 5 minutos, 20% a mais do que o PMMA puro.

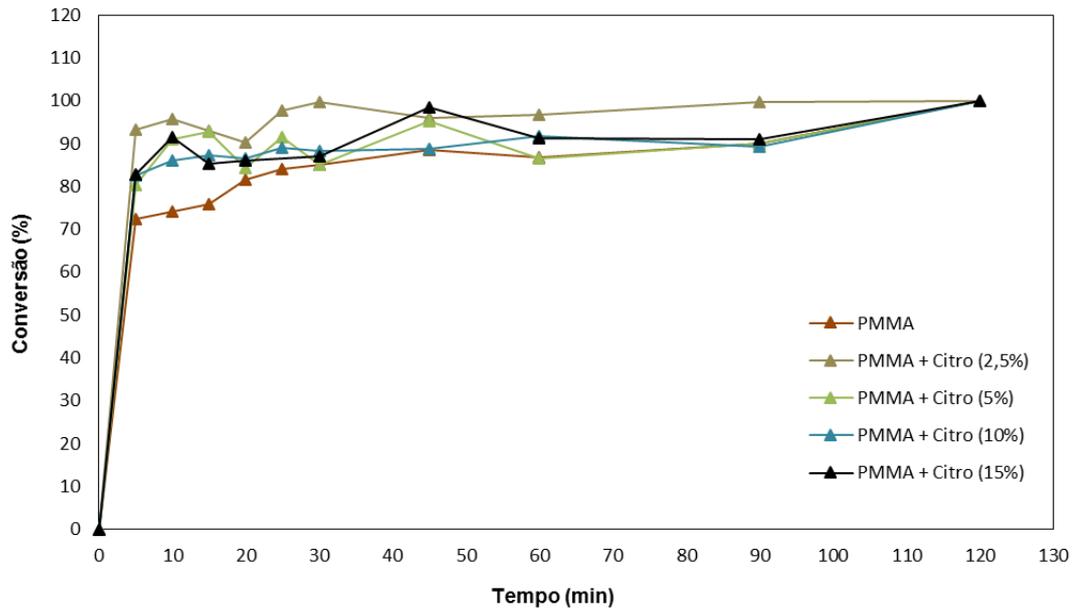


Figura 4.8- Taxas de conversão das polymerizações de PMMA pelo método de polymerização *in situ*.

O aumento pronunciado das conversões nas reações que continham o óleo essencial de citronela pode estar associado ao aumento de viscosidade do meio e ao efeito gel, características relacionadas às polymerizações com MMA. (FONSECA *et al.*, 2012; PEIXOTO, 2012). O efeito gel se caracteriza pelo aumento da viscosidade, pela redução da constante cinética de terminação e o conseqüente aumento da taxa de polymerização. (CHEN *et al.*, 2009; LORCA, 2012). O fato do óleo essencial de citronela ter muita afinidade com o MMA também pode ser associado ao aumento da conversão na reação de polymerização.

#### 4.3.3 Distribuição de Tamanhos de Partículas

As análises de diâmetro médio e distribuição de tamanhos das nanopartículas foram efetuadas com látex obtido nas reações de polymerização após a produção e após quatro meses de armazenamento, com o objetivo de analisar a estabilidade das emulsões. As amostras foram estocadas em frascos de vidro âmbar a temperatura ambiente. Foram analisadas as nanopartículas de PMMA puro e com diferentes porcentagens mássicas de óleo essencial de citronela nas formulações.

Na Tabela 4.1 estão apresentados os resultados dos diâmetros médios das partículas após a produção, calculados a partir da média ponderada das medidas realizadas.

Tabela 4.1- Distribuição de diâmetro médio das nanopartículas obtidas em diferentes reações.

Reação	Diâmetro (nm)	Pdl
PMMA	69,80 ± 5,56	0,119
PMMA + Citro (2,5%)	69,01 ± 1,46	0,177
PMMA + Citro (5%)	72,54 ± 1,27	0,181
PMMA + Citro (10%)	366,76 ± 22,45	0,680
PMMA + Citro (15%)	374,37 ± 29,56	0,879

As reações de polimerização de PMMA apresentaram tamanho médio de partícula 69,80 ± 5,56 com polidispersão de 0,119 (Figura 4.9). As análises, em triplicata, mostraram-se reprodutíveis.

As nanopartículas contendo 2,5% e 5,0% de óleo essencial de citronela em sua formulação apresentaram distribuição unimodal (Figura 4.10) com baixo índice de polidispersão (PdI: 0,177 e 0,181 respectivamente).

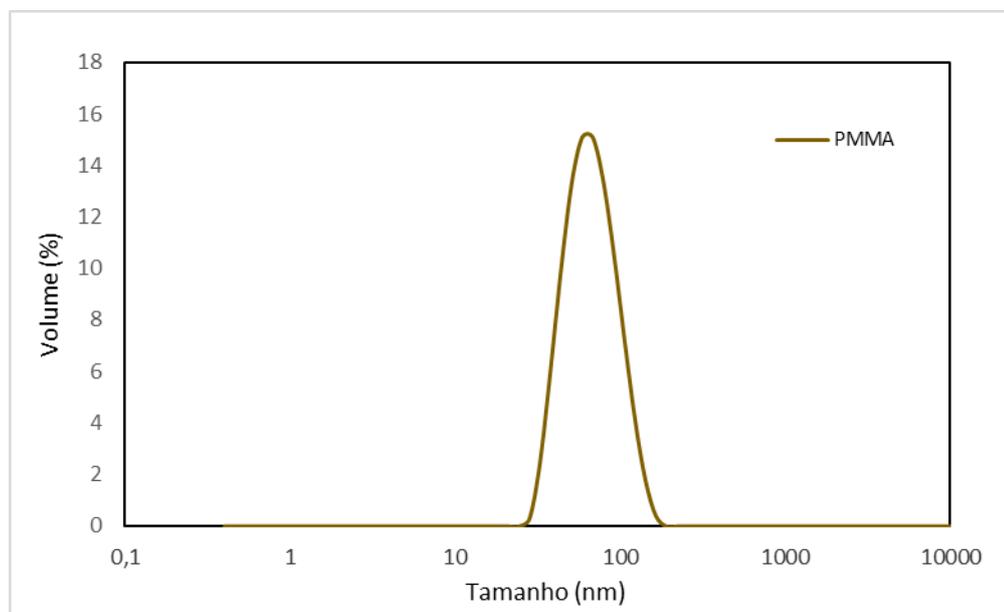


Figura 4.9- Distribuição de diâmetro médio de partículas das amostras de PMMA.

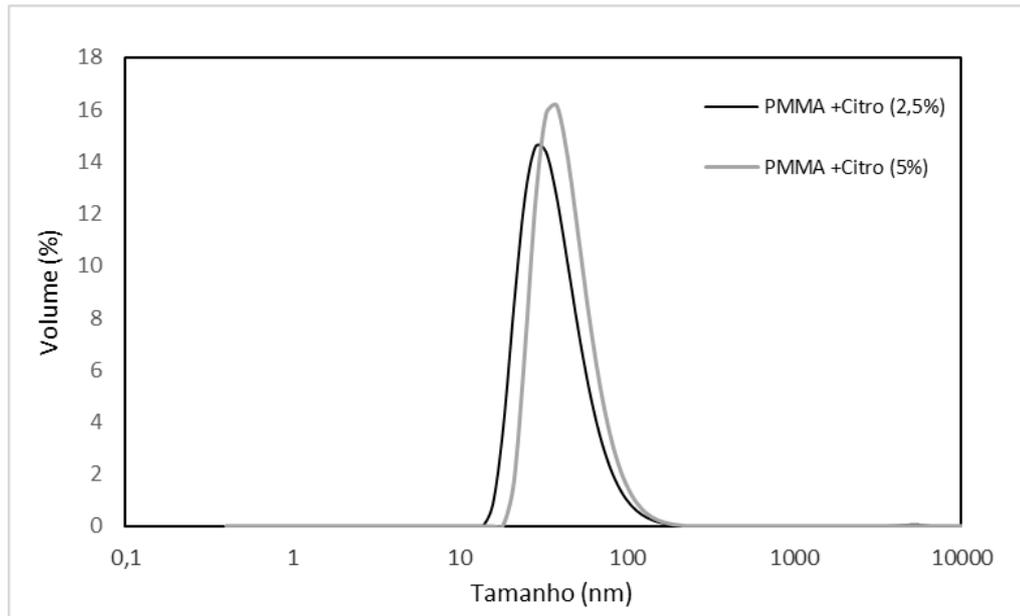


Figura 4.10- Distribuição de diâmetro médio de partículas das amostras de PMMA com 2,5 e 5 % de óleo essencial de citronela na formulação.

Quando a concentração do óleo passou para 10% e 15% (m/m) em relação ao monômero, as faixas de diâmetro aumentaram significativamente e as partículas apresentaram uma distribuição bimodal (Figura 4.11) acompanhada de altos índices de polidispersão. A polidispersão das partículas aumentou à medida que a concentração mássica do bioativo cresceu (PDI: 0,680 e 0,879 respectivamente).

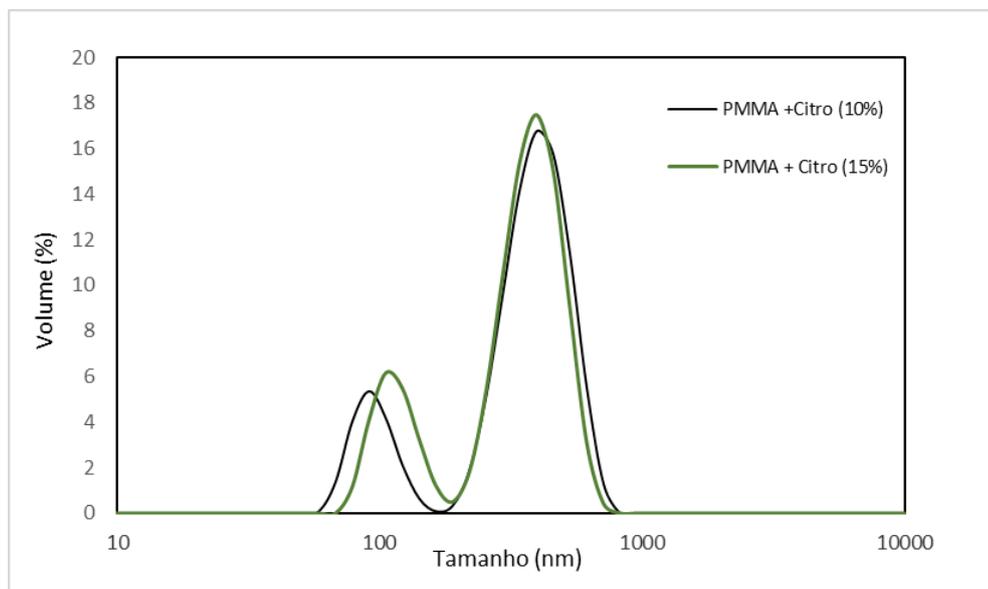


Figura 4.11- Distribuição de tamanho de partículas das amostras de PMMA com 10 e 15 % de óleo essencial de citronela na formulação.

A maior concentração de bioativo atua na viscosidade do meio reacional e no tamanho das gotas, influenciando, conseqüentemente, no diâmetro das partículas. Para modular o tamanho final das partículas poliméricas e reduzir o índice de polidispersão, é necessário ajustar as formulações quanto à quantidade de estabilizante e às velocidades de agitação.

Como demonstrado por SCHAFFAZICK *et al.* (2003), vários estudos têm sido desenvolvidos para a avaliação dos principais fatores que afetam o diâmetro das partículas de sistemas nanoestruturados. A composição e o método de preparação das nanopartículas são fatores determinantes no diâmetro médio e na polidispersão das partículas. No caso das nanocápsulas um fator importante que influencia o diâmetro das partículas é a natureza do óleo utilizado como núcleo. Os resultados são atribuídos às diferenças de viscosidade, hidrofobicidade ou tensão interfacial das substâncias empregadas.

Em relação ao método escolhido, na polimerização *in situ*, a presença de fármacos ou bioativos pode alterar o diâmetro médio das partículas, uma vez que esse, assim como o tipo de tensoativo empregado, podem interferir na síntese e deposição das cadeias oligoméricas formadas. (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

A estabilidade física das nanopartículas foi avaliada após 4 meses de armazenamento. Análises de diâmetro médio foram efetuadas e estão demonstradas na Tabela 4.2 e Figura 4.12. Através das análises, observou-se um aumento no diâmetro médio das partículas contendo 2,5 e 5,0 % de óleo essencial de citronela, assim como valores mais elevados de polidispersão. Os resultados mostraram a baixa estabilidade física das partículas nas emulsões. Apesar de não haver separação de fases, o efeito Ostwald Ripening no latex é notório, devendo haver alteração na formulação principalmente relacionada às concentrações de estabilizante e condições de homogeneização. As formulações com 10 e 15% de citronela não apresentaram uma variação de tamanho significativa ao longo do tempo, embora os valores de polidispersividade tenham se mostrado elevados.

NUCHUCHUA *et al.* (2009) estudaram a estabilidade de nanoemulsões contendo óleo essencial de citronela, manjeriço e vetiver e perceberam que os diâmetros médios das partículas aumentaram após dois meses de armazenamento. Os autores não observaram separação de fases. Apesar do aumento no diâmetro das nanopartículas e da evidente instabilidade física, as mesmas obtiveram aplicabilidade para o caso em questão, apresentando

ação repelente de insetos e tempo de proteção variando entre 1,5-4,7 h, de acordo com o tipo de formulação e técnica de homogeneização utilizada.

Tabela 4.2- Distribuição de diâmetro médio das nanopartículas obtidas em diferentes reações após 4 meses de preparação.

Reação	Diâmetro (nm)	PdI
PMMA	630,23 ± 67,04	0,381
PMMA + Citro (2,5%)	268,46 ± 38,62	0,534
PMMA + Citro (5%)	856,22 ± 88,35	0,602
PMMA + Citro (10%)	314,39 ± 44,24	0,809
PMMA + Citro (15%)	323,24 ± 30,03	0,729

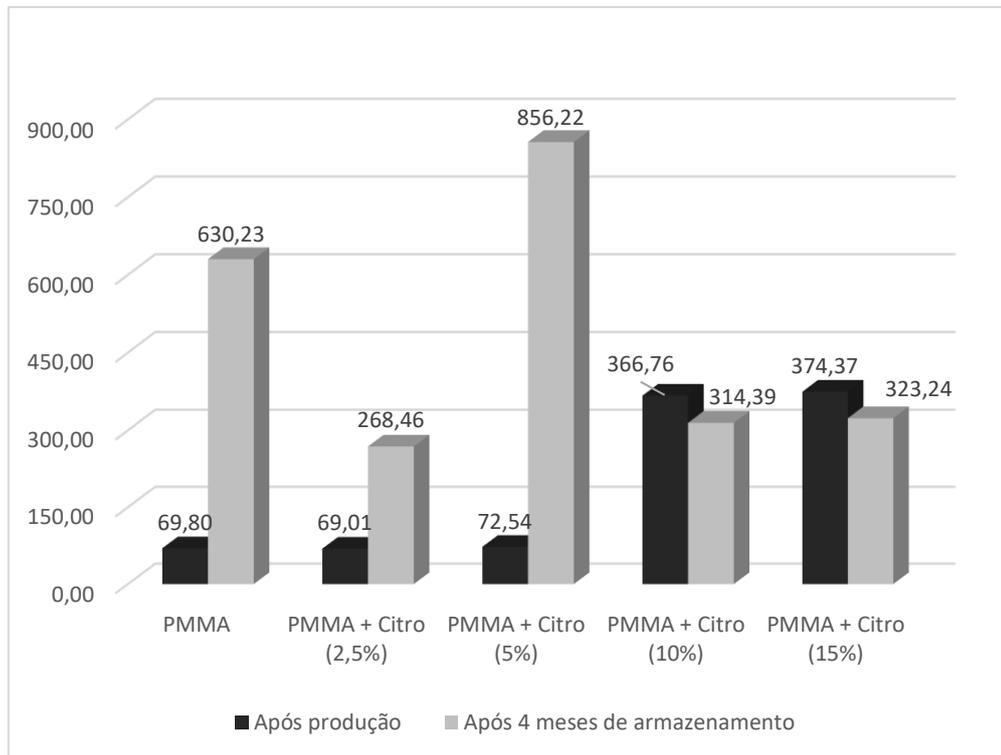


Figura 4.12- Distribuição de diâmetro médio das nanopartículas poliméricas após a produção e após 4 meses de armazenamento.

#### 4.3.4 Propriedades moleculares – GPC

As análises de Cromatografia de Permeação em Gel foram efetuadas com o objetivo de obter informações sobre as propriedades moleculares das nanopartículas poliméricas produzidas.

Os resultados, apresentados na Tabela 4.3, são provenientes das reações de polimerização *in situ* de PMMA com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela e mostram os valores de Mn (massa molar numérica média), Mw (massa molar ponderal média) e IP (índice de polidispersão). Foi observado que a massa molar ponderal média (Mw) sofre um decaimento com o aumento da concentração do óleo essencial de citronela nas reações (Figura 4.13). Tal resultado sugere que um ou alguns componentes do óleo podem atuar como agente de transferência de cadeia. O óleo essencial de citronela possui diferentes constituintes incluindo monoterpenos e moléculas com duplas ligações (ANDRADE *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2010). As duplas ligações dos óleos vegetais podem reagir com os radicais livres presentes nas reações de polimerização ou mesmo atuar como agente de transferência de cadeia, diminuindo as taxas de polimerização e reduzindo conseqüentemente os números das massas molares das cadeias, que refletem nas propriedades dos polímeros. (GUO *et al.*, 2008; BLACK *et al.*, 2011).

COSTA *et al.* (2016) estudaram o comportamento das taxas de polimerização em reações com MMA conduzidas pelo método de miniemulsão com a presença de óleos vegetais e afirmaram que a presença das duplas ligações nos óleos diminui as taxas de polimerização uma vez que essas atuam como agentes de transferência. Os autores observaram que, quanto maior a porcentagem de duplas ligações no óleo, menores são as taxas de polimerização. Os resultados das massas molares apresentadas aqui corroboram com as declarações acima. À medida que a concentração do óleo essencial de citronela é aumentada, os pesos moleculares sofrem decréscimo, provavelmente porque os radicais poliméricos reagem com as duplas ligações dos componentes do óleo essencial de citronela formando radicais de baixa reatividade, diminuindo a massa molar do polímero produzido. (CARDOSO *et al.*, 2013).

Tabela 4.3- Resultados de GPC das reações de polimerização de PMMA com diferentes concentrações mássicas de óleo essencial de citronela.

	Mn x 10 <sup>3</sup> (Da)	Mw x 10 <sup>3</sup> (Da)	IP
PMMA	142,39	418,51	2,94
PMMA + Citro (2,5%)	91,86	268,85	2,93
PMMA + Citro (5%)	69,16	181,38	2,62
PMMA + Citro (10%)	60,43	152,02	2,52
PMMA + Citro (15%)	41,15	118,83	2,89

O efeito gel e vítreo que geralmente ocorre nas polimerizações de MMA, também explicam a diminuição das massas molares. No efeito vítreo a constante cinética de terminação diminui devido à redução da mobilidade das moléculas de monômero num meio muito viscoso. Como consequência ocorre a redução das massas molares médias das cadeias formadas. (MACHADO *et. al.*, 2007).

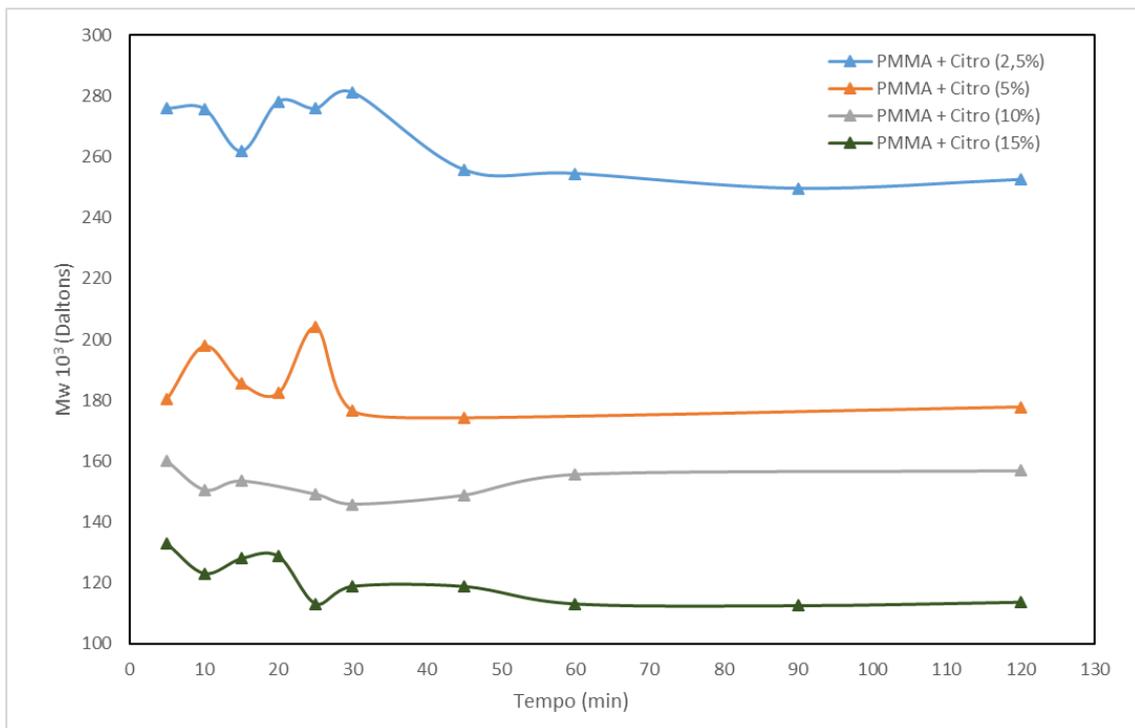


Figura 4.13- Disposição das massas molares ponderais médias das diferentes reações de polimerização *in situ* de PMMA contendo distintas concentrações de óleo essencial de citronela.

Na Figura 4.14 uma análise do diâmetro médio das partículas pode ser efetuada em relação à massa molecular polimérica. À medida que a concentração de óleo de citronela aumenta nas formulações das reações de polimerização, os diâmetros médios das partículas sofrem um acréscimo. Inversamente, os valores das massas moleculares decrescem. Quando a concentração de bioativo nas formulações aumenta, as gotas possuem um aumento gradativo nos diâmetros de partícula. Esse comportamento é percebido em todas as reações com a presença de citronela, comprovando a possibilidade do óleo interagir com os radicais poliméricos e provavelmente interferir nos valores de tensão interfacial, podendo provocar encapsulamento ineficiente, gerando perdas de bioativo ao meio ou mesmo aumento de coalescência e degradação difusional das gotas.

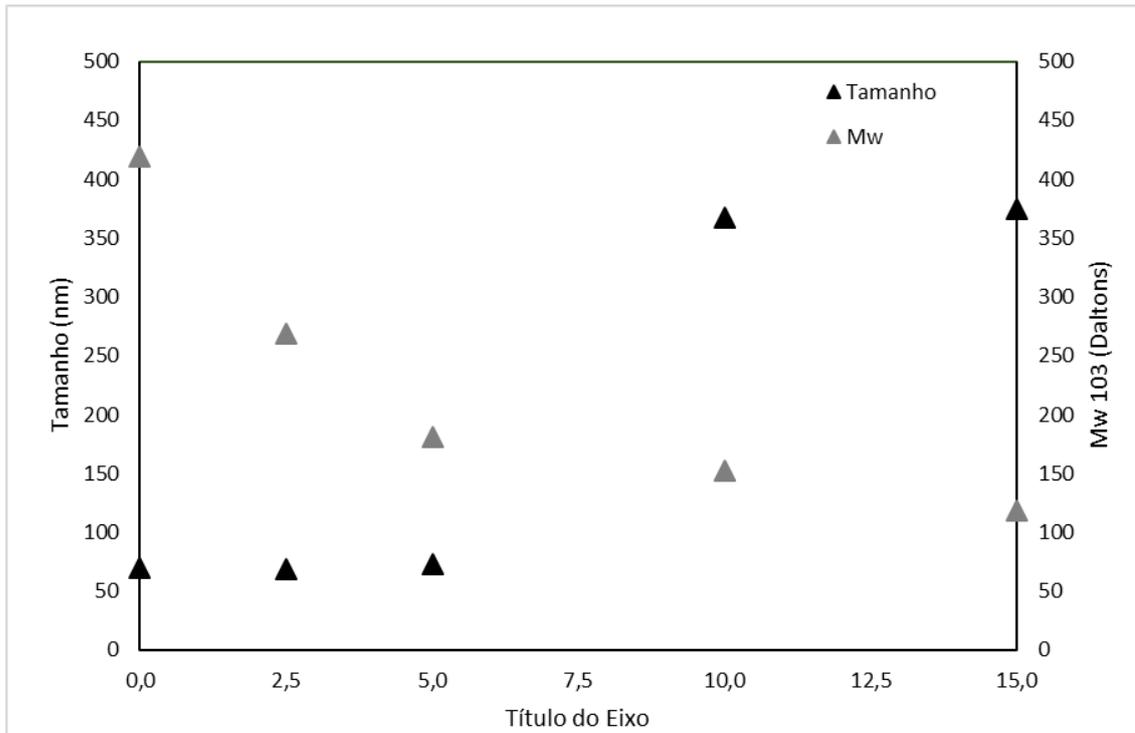


Figura 4.14- Disposição molecular e diâmetro médio das partículas nas reações de polimerização com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela.

#### 4.3.5 Eficiência de Encapsulamento – Espectroscopia UV/Visível e Cromatografia Gasosa.

A eficiência de encapsulamento do óleo de citronela nas partículas poliméricas foi calculada usando a equação 4.1. A concentração real do óleo, após o processo de extração das partículas foi determinada a partir das curvas de calibração previamente obtidas e apresentadas no Apêndice A (Figuras A.1 e A.2). Foi considerado que todo o MMA adicionado na reação de polimerização foi convertido em PMMA baseado nos resultados das análises de conversão (4.3.1).

$$E(\%) = \frac{\text{Concentração real}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad \text{Equação 4.1}$$

Os resultados encontrados e relatados na Tabela 4.4 indicam uma elevada eficiência de encapsulamento (99,8%) para as reações que continham 2,5% de óleo essencial de citronela. Essa alta taxa pode estar relacionada à lipofilicidade do óleo essencial de citronela, que apresenta alta solubilidade no monômero MMA, como demonstrado no item 4.1.3. Dessa forma, o bioativo parece não migrar para fase aquosa, particiona preferencialmente para a fase

polimérica, possibilitando uma alta eficiência de encapsulamento. Além disso, a porcentagem de citronela na reação de polimerização em questão parece estar em proporção ótima, portanto toda ou quase toda citronela adicionada ao meio foi encapsulada.

Porém, à medida que a porcentagem de citronela aumenta na formulação, o valor da eficiência de encapsulamento é reduzido. Esse resultado sugere que há uma interação do bioativo com os radicais livres formados durante o processo de polimerização. Essa teoria é corroborada pelas análises das propriedades moleculares das nanopartículas (item 4.3.4) que decaem à medida que o óleo essencial é acrescentado ao sistema polimérico. Além disso, devido ao diâmetro crescente das gotas nas formulações, à medida que a concentração de citronela aumenta (item 4.3.3), a espessura da cadeia polimérica que envolve o bioativo pode ser reduzida, aumentando as perdas para o meio, reduzindo, portanto, os valores de eficiência de encapsulamento.

Tabela 4.4- Eficiência de encapsulamento do óleo essencial de citronela nas nanopartículas poliméricas analisados por Espectrofotômetro UV/Visível.

% de citronela nas reações	Eficiência (%)	Massa de citronela nas partículas (g)	Massa de citronela na reação (g)
(2,5 % de citronela)	99,97 ± 9,60	0,40	0,40
(5 % de citronela)	66,80 ± 4,04	0,53	0,80
(10 % de citronela)	46,41 ± 1,92	0,74	1,60
(15 % de citronela)	51,02 ± 0,28	1,22	2,40

A eficiência de encapsulamento também foi determinada por GC/MS. As análises foram efetuadas com amostras que estavam armazenadas há 6 meses e o citronelal foi utilizado como padrão. Os resultados dos cálculos de eficiência de encapsulamento a partir dos cromatogramas, como mostrado na Figura 4.15, estão demonstrados na Tabela 4.5.

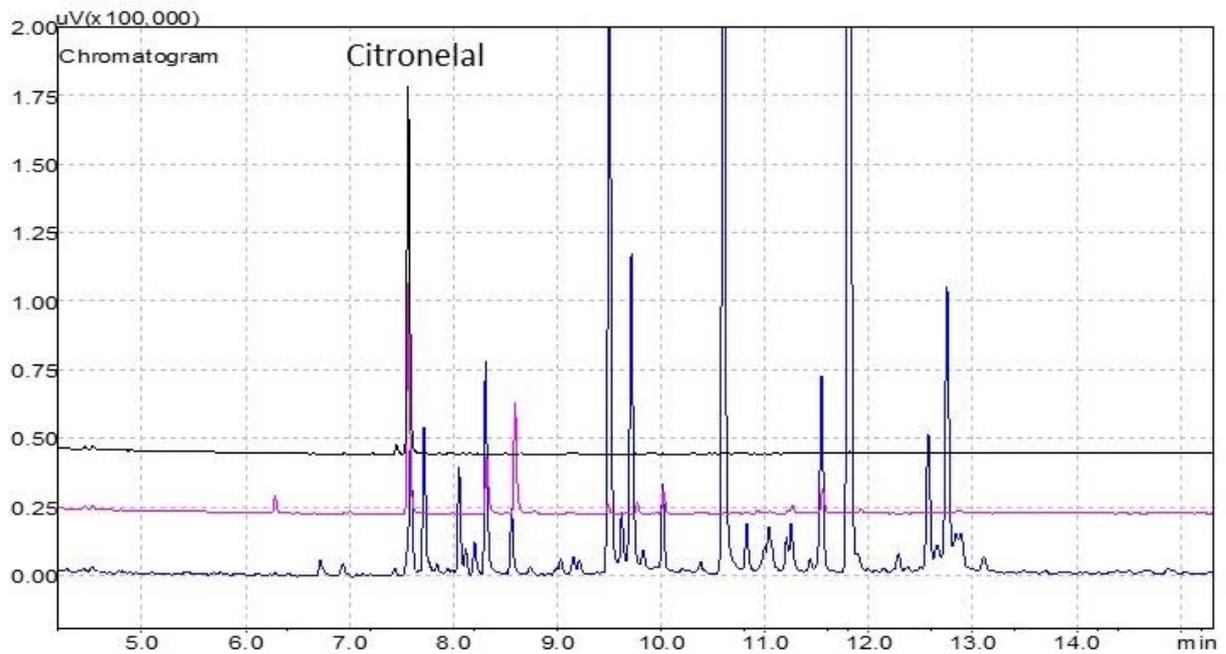


Figura 4.15- Cromatograma efetuado em GC/MS utilizando heptano como solvente. (Preto): Padrão citronelal; (Rosa): Óleo essencial de citronela; (Azul): Extratos das nanopartículas poliméricas.

Tabela 4.5- Eficiência de encapsulamento do óleo essencial de citronela nas nanopartículas poliméricas analisados por GC/MS.

% de citronela nas reações	Eficiência (%)	Massa de citronela nas partículas (g)	Massa de citronela na reação (g)
(2,5 % de citronela)	8,38 ± 9,54	0,03	0,40
(5 % de citronela)	4,10 ± 1,02	0,03	0,80
(10 % de citronela)	1,14 ± 0,32	0,02	1,60
(15 % de citronela)	1,60 ± 0,47	0,04	2,40

Nas análises efetuadas com a Cromatografia Gasosa acoplada a espectro de massa os resultados divergiram daqueles quantificados por espectroscopia UV-VIS. Esse resultado abre margem para uma série de discussões. A primeira é em relação ao preparo das amostras para análise, onde o polímero é seco em estufa de recirculação, conseqüentemente toda a água e monômero residual presente no látex são evaporados nesse procedimento. Há possibilidade de evaporação de uma parte do óleo essencial de citronela durante a secagem do polímero ou mesmo durante o armazenamento.

A partir das análises de tamanho, percebe-se que o látex não apresenta boa estabilidade física ao longo do tempo. Os resultados, após 4 meses de armazenamento, expuseram o aumento do diâmetro das nanopartículas e o aumento da polidispersidade do meio, sugerindo agregação das partículas. Devido à ampla distribuição de tamanhos e elevado PDI, a retirada de alíquotas do meio para análise não garante representatividade adequada das partículas em relação a quantidade de óleo encapsulado.

O solvente utilizado pode ter interferido no processo de extração do óleo essencial de citronela presente nas nanopartículas poliméricas, reduzindo os valores de eficiência de encapsulamento. Nas análises de eficiência, efetuadas por espectroscopia UV/Visível, o etanol foi utilizado como solvente. O etanol, por possuir hidroxila em sua molécula, apresenta polaridade 20,2 A<sup>2</sup>. Essa polaridade possibilita interação química com o citronelal que possui 17,1 A<sup>2</sup>. Partindo do princípio que semelhante dissolve semelhante, o etanol apresenta atributos para ser utilizado como solvente ótimo. Apesar do etanol apresentar boas características como solvente para esse estudo, ele foi substituído pelo heptano, nas análises com GC/MS, por não ser adequado nas especificações técnicas da coluna do equipamento. Isso pode ter contribuído, consideravelmente, com a redução da eficiência de encapsulamento, uma vez que o heptano é uma molécula apolar (0 A<sup>2</sup>) e pode não ter extraído de forma totalmente eficiente o citronelal embutido nas partículas poliméricas. Portanto, a mudança do solvente ocasionada por incompatibilidade técnica pode ter contribuído com a redução dos valores de encapsulamento. (MONCADA *et al.*, 2014; HAYNES, 2014; YALKOWSKY *et al.*, 2010; PUBCHEM, 2017).

#### 4.3.6 Interação Ativo-Polímero

Com o objetivo de analisar a interação química entre o bioativo e a matriz polimérica das nanopartículas, estudos de espectroscopia no infravermelho e de propriedades térmicas (TGA e DSC) foram efetuados para comparação de resultados e discussão dos mesmos.

##### 4.3.6.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

A espectroscopia no infravermelho pode ser utilizada para analisar a presença de interações entre polímero e fármaco. Os fármacos, quando associados pelo processo de incorporação, podem estar dissolvidos, dispersos, adsorvidos ou quimicamente ligados à matriz polimérica. (SPRICIGO *et al.*, 2008; CRUPI *et al.*, 2007; KULKARNI *et al.*, 2000; GAMISANS *et al.*, 1999). A interação do bioativo com a matriz polimérica foi avaliada pela

comparação dos espectros no infravermelho do bioativo, do polímero (PMMA) e das nanopartículas poliméricas com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela.

Na Figura 4.16 encontra-se o espectro no infravermelho do óleo essencial de citronela. As moléculas dos componentes majoritários, citronelal e geraniol, estão representadas. No espectro obtido, bandas em vários comprimentos de onda são perceptíveis, correspondentes a grupos funcionais de vários terpenos presentes no óleo. O citronelal, citronelol e geraniol dominaram os espectros de vibração do bioativo. Os espectros no infravermelho foram caracterizados por picos de absorção a  $3346\text{ cm}^{-1}$  (referente ao estiramento do O-H, presente nos grupos de álcoois),  $2969\text{ cm}^{-1}$  (estiramento do C-H<sub>3</sub> e C-H<sub>2</sub>),  $2874$  (estiramento do C-H),  $1667\text{ cm}^{-1}$  (C = C),  $1454\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular do C-H<sub>2</sub>),  $1377\text{ cm}^{-1}$  (deformação do grupo C-O-H),  $1080$  (estiramento C-O) e  $690\text{ cm}^{-1}$  (anel aromático). As bandas do espectro do óleo essencial de citronela demonstram notoriamente os picos característicos dos componentes presentes no óleo essencial. (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SONGKRO *et al.*, 2012; ANDRADE *et al.*, 2012; WORZAKOWSKA, 2014).

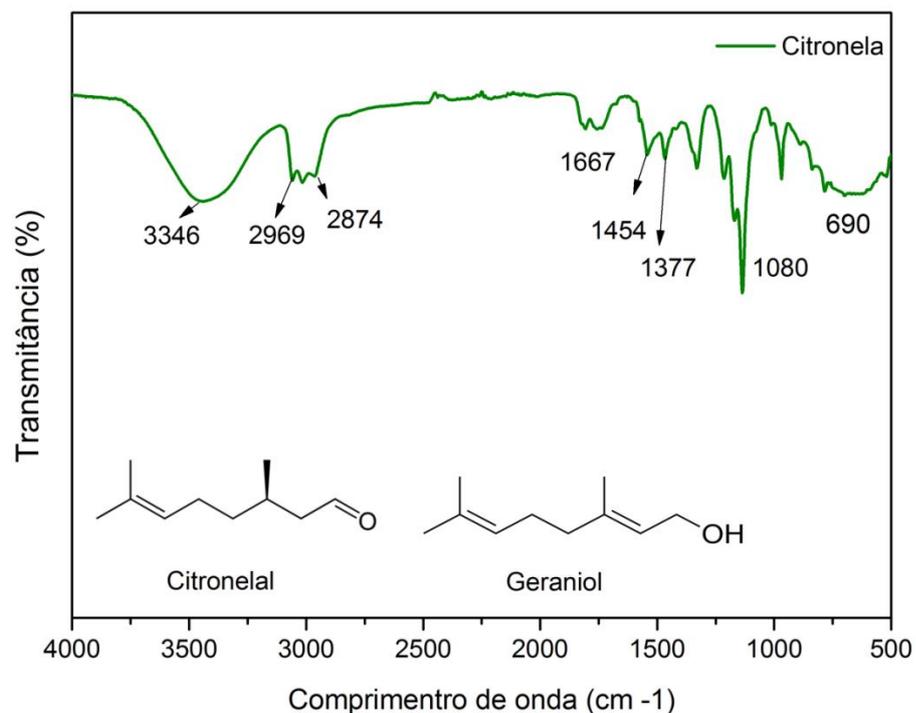


Figura 4.16- Espectro de infravermelho (IR) do óleo essencial de citronela.

No espectro de PMMA (Figura 4.17) as bandas características aparecem a 2995 e 2950  $\text{cm}^{-1}$  (correspondentes ao estiramento C-H<sub>3</sub> e C-H<sub>2</sub> respectivamente), 2850 (estiramento C-H), 1723  $\text{cm}^{-1}$  (correspondente ao estiramento C=O), 1434  $\text{cm}^{-1}$  (dobramento do C-H<sub>3</sub>), 1386  $\text{cm}^{-1}$  (vibração do C-H<sub>3</sub>), 1267, 1239 e 1190  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas a estiramento (C-O-C), 1063  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O), enquanto que as bandas de estiramento (C-C) estão a 840  $\text{cm}^{-1}$  e 750  $\text{cm}^{-1}$  (vibrações de C-H<sub>3</sub>). O espectro confirma a presença dos grupos funcionais específicos para o polímero PMMA. (WANG *et al.*, 2010; KIRAN *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2015; KIZILTAS *et al.*, 2015).

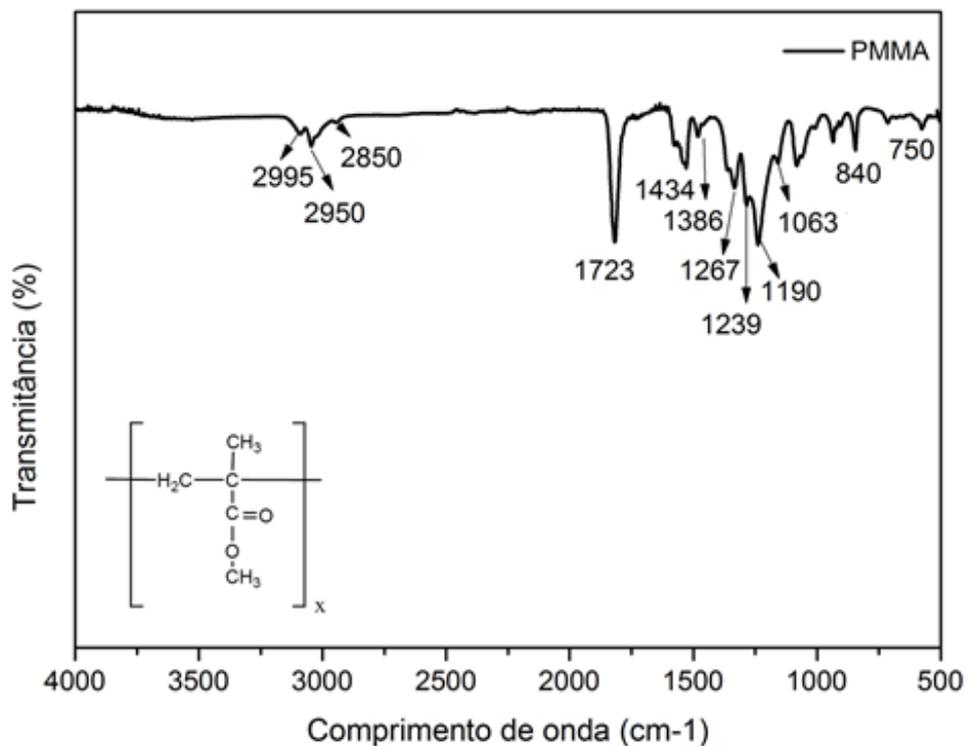


Figura 4.17- Espectro de infravermelho (IR) do PMMA.

Os espectros das nanopartículas com óleo essencial e citronela absorvem praticamente nas mesmas bandas que o PMMA puro (Figura 4.18). A incorporação do óleo essencial de citronela, portanto não ocorre por interação química, descartando a princípio a possibilidade de perda de atividade do bioativo.

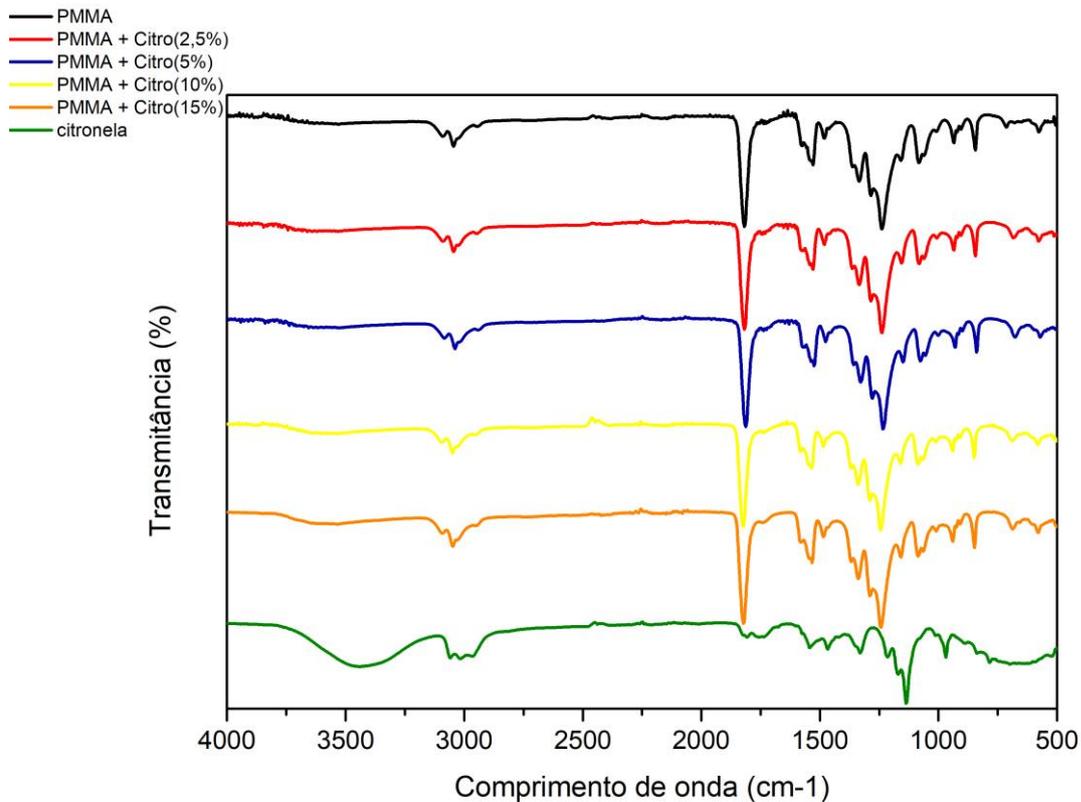


Figura 4.18- Espectro de infravermelho (IR) das nanopartículas de PMMA com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela.

#### 4.3.6.2 Análise Termogravimétrica – TGA

A degradabilidade térmica das nanopartículas poliméricas contendo diferentes concentrações mássicas de bioativo foi analisada. Como demonstrado na Figura 4.19 o PMMA puro inicia sua perda de massa perto dos 250°C, enquanto que as nanopartículas de PMMA contendo óleo de citronela iniciam uma perda de massa mais rapidamente no início do processo e finalizam em 450° C. As amostras com 2,5 e 5% de concentração de óleo essencial de citronela em sua formulação mostraram uma menor perda de massa em uma mesma temperatura quando comparada às amostras com 10 e 15 % de citronela, o que indica que as primeiras são termicamente mais estáveis que as segundas. (ELSHEREKSI *et al.*, 2014; GALLAGHER, 2002).

As cadeias poliméricas de PMMA possuem grupos vinil, que possuem baixa estabilidade e descompactam através de um processo de transferência de cadeia. Esses grupamentos finais exibem uma ligação mais fraca e começam a se degradar a aproximadamente 220 ° C. À medida que a temperatura aumenta a partir de 300 ° C é instaurado

um mecanismo de degradação constante e a taxa de despolimerização aumenta até a total degradabilidade do material (ELSHEREKSI *et al.*, 2014). Quando o PMMA puro é comparado ao PMMA com citronela incorporada, o comportamento geral é o mesmo. Apesar das pequenas diferenças na perda de massa com aumento de temperatura, a presença do bioativo não modificou as características térmicas do polímero. Isso é uma evidencia que não houve interação química entre o polímero e o bioativo, diminuindo a possibilidade do óleo perder suas características originais. (NOGUEIRA *et al.*, 2011; MARIA *et al.*, 2011).

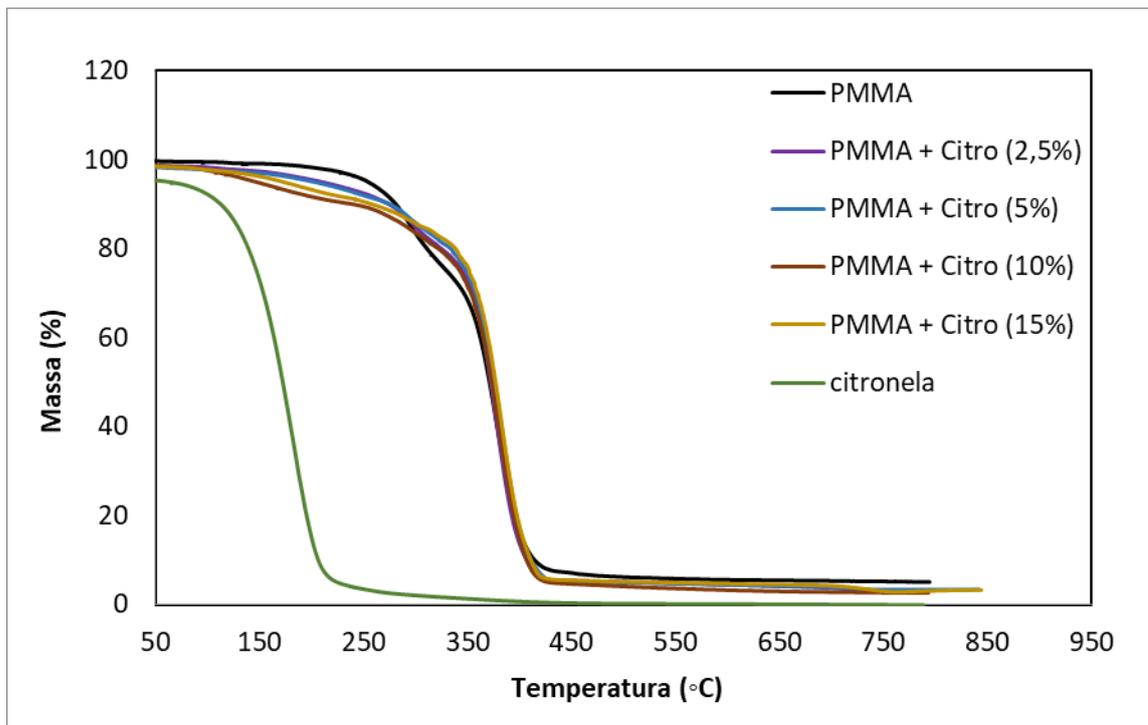


Figura 4.19- Análise termogravimétrica das nanopartículas de PMMA puro e com diferentes concentrações de óleo essencial de citronela.

#### 4.3.6.3 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

Os resultados de DSC do óleo essencial de citronela, Figura 4.20 (a), evidenciaram um evento endotérmico (mudança de fase) pouco acima dos 200°C. Os compostos majoritários do óleo essencial de citronela: citronelal, citronelol e geraniol possuem ponto de ebulição 205°C, 224°C e 230°C respectivamente, indicando a efetividade dos resultados. Posteriormente um evento exotérmico a aproximadamente 450 °C, proveniente da degradação dos compostos do bioativo, é salientado pelas curvas de DSC. Essas informações são confirmadas quando comparadas com as análises termogravimétricas e corroboradas na literatura nos estudos de SANTOS *et al.* (2015). (ANDRADE *et al.*, 2012; SILVEIRA *et al.*, 2012; HAYNES, 2014; PUBCHEM, 2017).

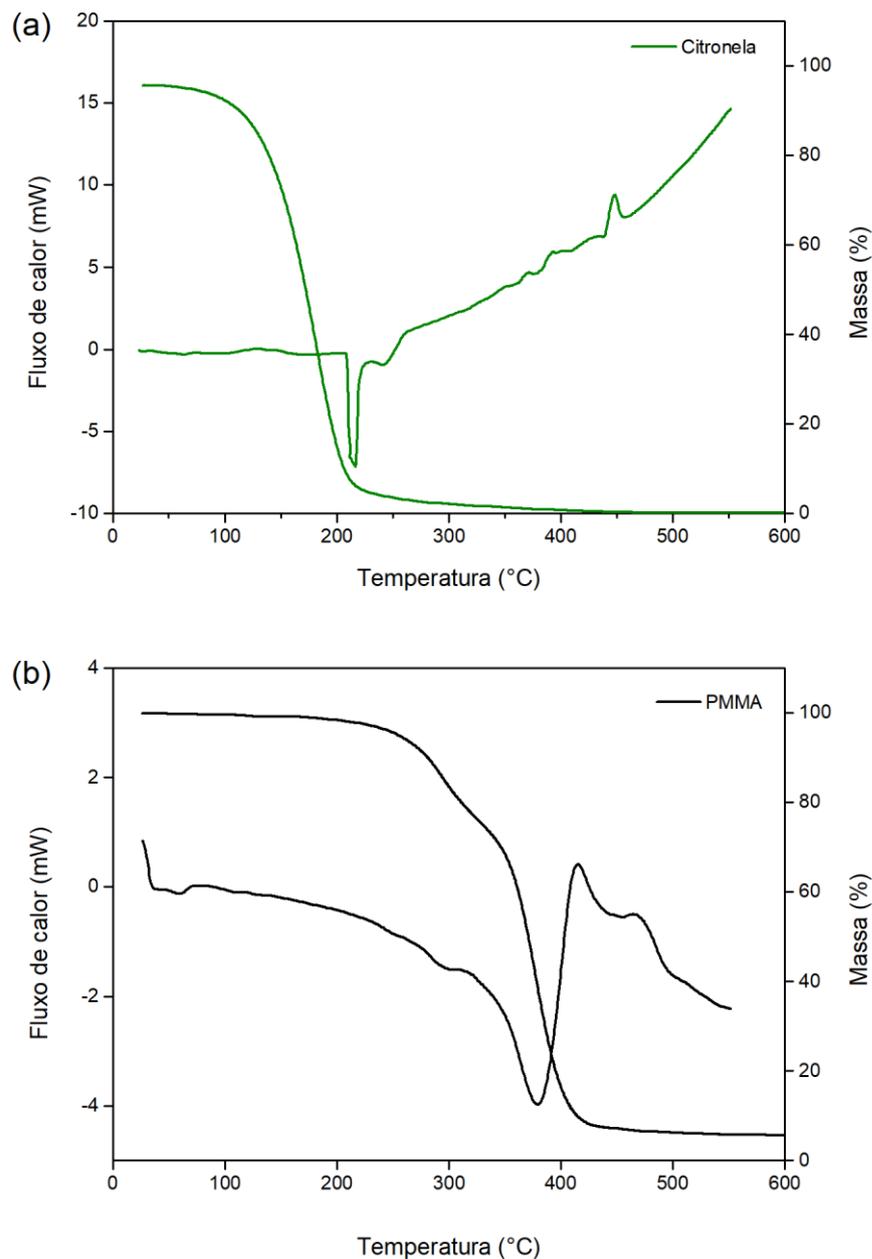


Figura 4.20- Análise referente a DSC e termogravimetria: (a) óleo essencial de citronela, (b) PMMA.

A curva de DSC do PMMA, mostrada na Figura 4.20 (b) revela três eventos principais e característicos deste polímero. O primeiro evento ocorre a aproximadamente 100 °C e pode ser atribuído à transição vítrea. O segundo evento é endotérmico, a 400 °C e está relacionado ao ponto de fusão do PMMA, enquanto o terceiro evento é exotérmico e refere-se à degradação do material. Os pontos transição vítrea, fusão e degradação estão dentro das faixas de temperatura publicadas na literatura. (GALLAGHER, 2002).

Nas Figura 4.21 e 4.22 os resultados característicos das nanopartículas de PMMA com diferentes concentrações de citronela são observados. Os termogramas das nanopartículas não indicaram o pico de transição endotérmica a 200°C característico do bioativo, demonstrando que esse não formou uma fase cristalina distinta e que está incorporado na matriz polimérica.

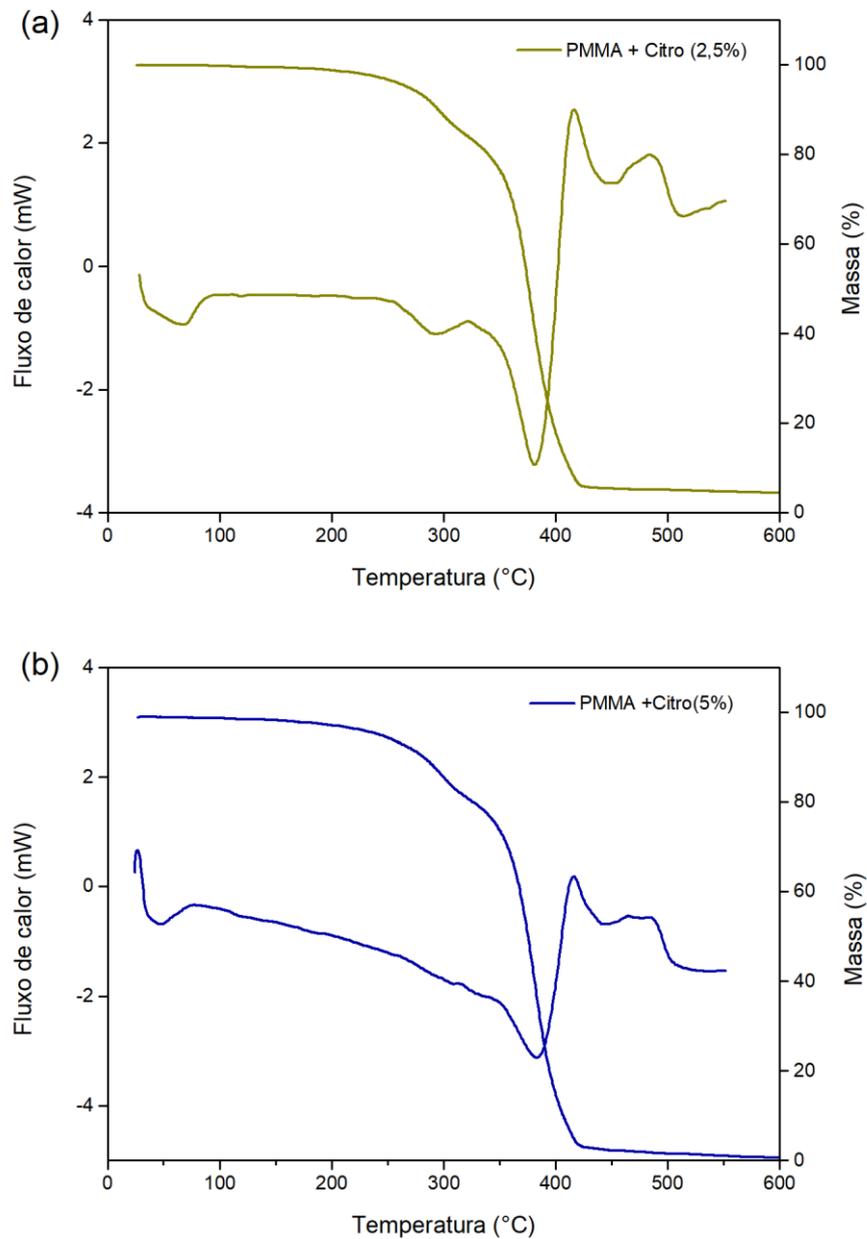


Figura 4.21- Análise referente a DSC e termogravimetria: (a) PMMA com 2,5% de citronela na formulação, (b) PMMA com 5% de citronela na formulação.

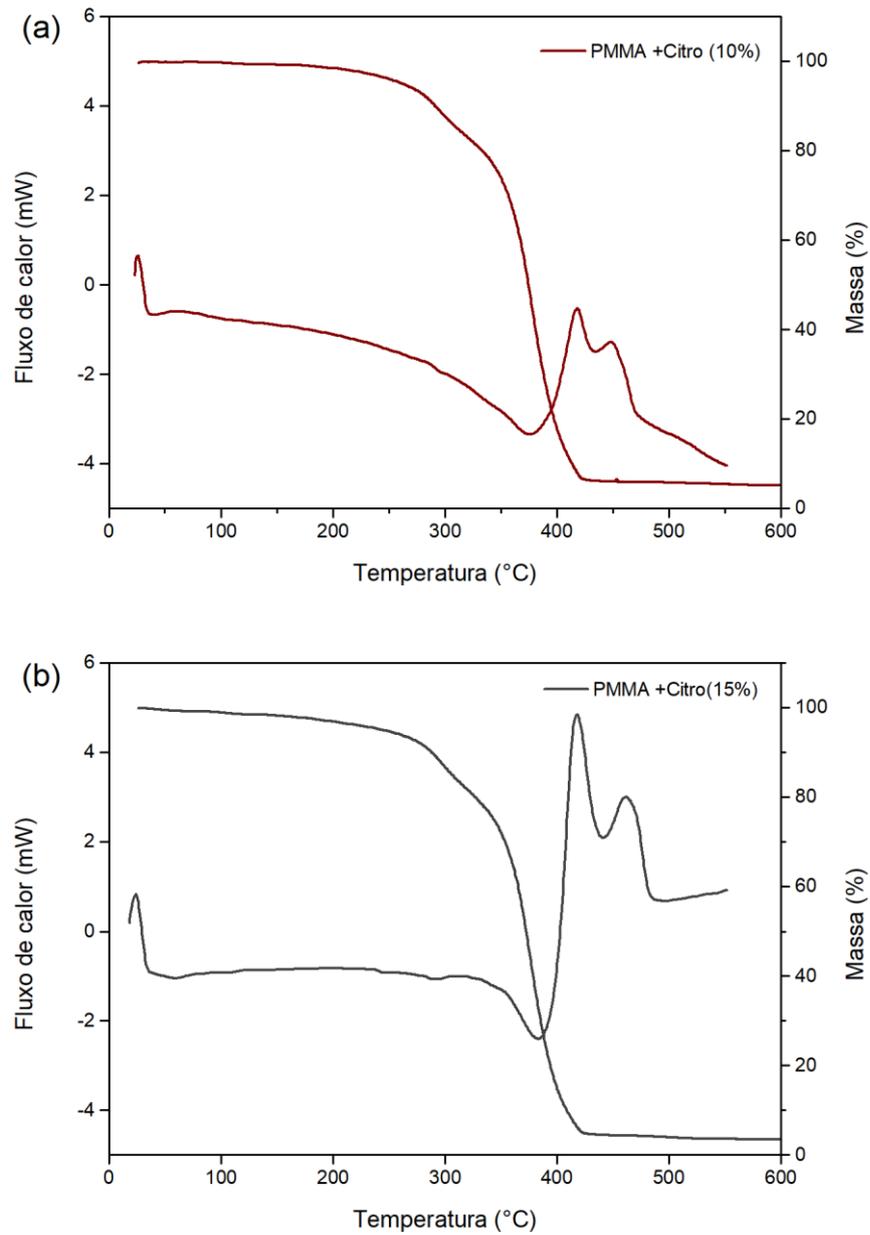


Figura 4.22- Análise referente a DSC e termogravimetria: (a) PMMA com 10% de citronela na formulação, (b) PMMA com 15% de citronela na formulação.

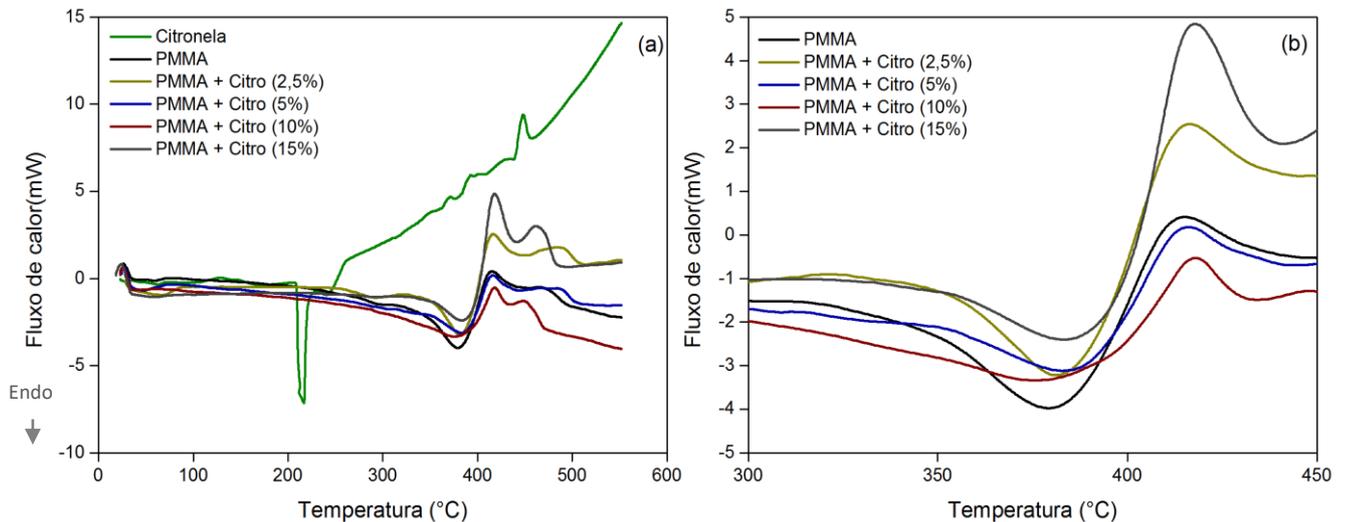


Figura 4.23- Estudo comparativo de calorimetria exploratória diferencial (a) Faixa de temperatura 0-600°C, (b) Faixa de temperatura 300-450°C.

Um estudo comparativo pode ser feito analisando-se a Figura 4.23 (a e b). As faixas de temperatura de transição vítrea, fusão e degradação estão dentro de um mesmo perfil. Ocorre uma pequena modificação na quantidade de energia empregada no episódio de fusão ou liberada na degradação do material, porém o intervalo de temperatura dos eventos permanece o mesmo, indicando que provavelmente não existe interação química entre o bioativo e a cadeia polimérica a ponto de alterar as características originais do PMMA. (GARCIA-CHAVEZ *et al.*, 2013). O óleo de citronela encontra-se incorporado na matriz polimérica e a adição deste não provoca alteração nas propriedades térmicas do polímero. Resultados semelhantes foram encontrados por FONSECA *et al.* (2013) e SALGUEIRO *et al.* (2002).

#### 4.4 Ensaios de permeação com membrana sintética em células de Franz

O estudo do perfil de retenção e permeação dos componentes voláteis do óleo encapsulado foi realizado através de células de Franz com membrana sintética de acetato de celulose. Neste processo, os componentes voláteis do óleo difundem-se e atingem o fluido receptor. Parâmetros como espessura e porosidade da membrana, bem como viscosidade do fluido receptor e coeficiente de partição fluido receptor/bioativo influenciam a permeação. Os estudos de permeação proporcionam informações relacionadas a quantidade de citronela que permeia a barreira em um determinado tempo. A membrana sintética funciona como uma barreira de difusão passiva. O processo possui fluxo estático pois o volume receptor da célula de Franz permanece constante, já que o mesmo é reabastecido a cada alíquota retirada ao longo do tempo.

Para quantificar a concentração de bioativo permeado ao longo do tempo, uma curva de calibração foi construída e consta no Apêndice A (Figura A.2).

As alíquotas analisadas foram provenientes da fase receptora recolhidas da célula de Franz e avaliadas por GC/MS. As formulações contendo 5% e 10% de óleo essencial de citronela nas reações de polimerização foram selecionadas para o estudo de permeação. As análises foram realizadas em duplicata.

Importante salientar que a taxa de permeação de um fármaco a partir de determinada formulação depende diretamente das características físico-químicas do veículo e do fármaco. O ativo deve estar disponível na superfície da barreira escolhida ou da pele para que haja difusão através desta barreira. A permeação irá depender da lipofilicidade, tamanho da molécula e da viscosidade do bioativo. Quanto maior a viscosidade, maior a probabilidade do ativo ser permeado lentamente. (MENDOÇA *et al.*, 2009; SAKULKU *et al.*, 2009).

As Figuras 4.24 e 4.25 exibem o perfil de permeação do óleo essencial de citronela presente nas nanopartículas durante 24h.

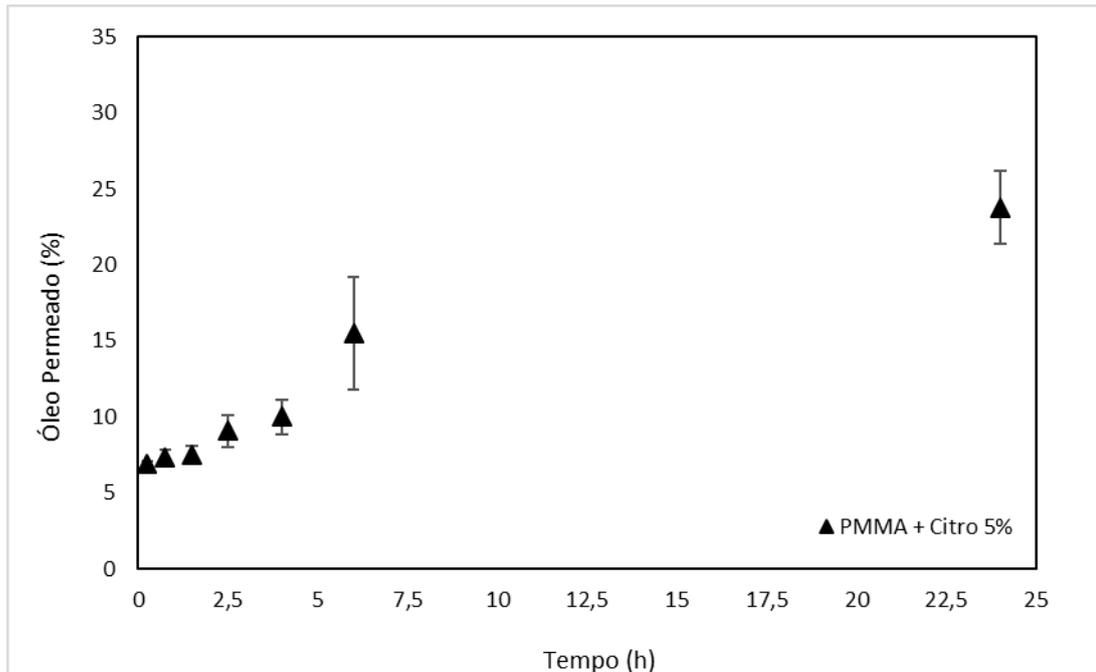


Figura 4.24- Perfil de permeação do óleo essencial de citronela das nanopartículas produzidas com 5% de bioativo nas reações de polimerização.

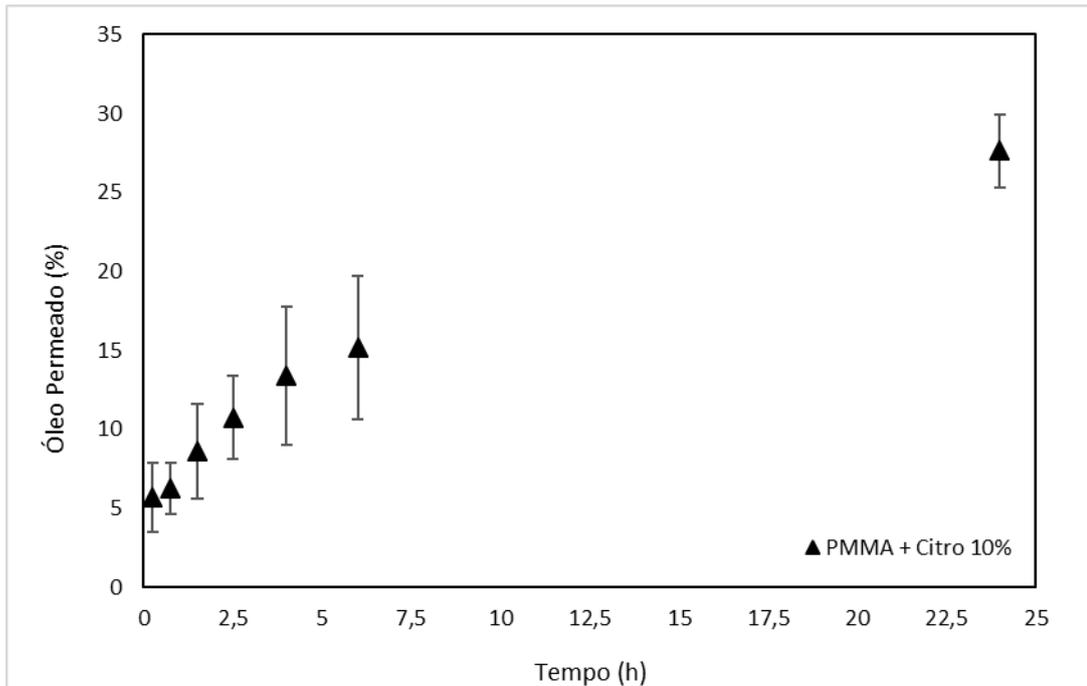


Figura 4.25- Perfil de permeação do óleo essencial de citronela das nanopartículas produzidas com 10% de bioativo nas reações de polimerização.

É possível observar que o perfil de permeação da citronela presente nas nanopartículas é lento. As partículas produzidas com 5% e 10% de bioativo em suas formulações obtiveram perfis parecidos. Após 4 horas de experimento, as formulações com 5% permearam um total de  $9,99 \pm 1,12\%$  do óleo presente nas nanopartículas, enquanto que as formulações com 10% de citronela permearam  $13,38 \pm 4,36\%$ . Ao final de 24 horas de experimento as formulações contendo 5% de citronela permearam um total de  $23,77 \pm 2,40\%$  do bioativo e as formulações contendo 10% um total de  $27,64 \pm 2,32\%$  do óleo.

Uma análise da permeação do bioativo em relação ao fluxo de massa ao longo do tempo pode ser realizada para melhor entendimento do processo (Figura 4.26). Os fluxos são reduzidos nas duas formulações devido às baixas concentrações de óleo essencial de citronela nas nanopartículas analisadas.

Com base nas leis de Fick (Equação 4.2) é possível determinar o coeficiente de permeabilidade (P), relacionando o mesmo com o fluxo (J), coeficiente angular obtido pelo gráfico do fluxo de massa em função do tempo, e a concentração no compartimento doador (Cd). (CESCHEL *et al.*, 2000; REICHLING *et al.*, 2006).

$$J = \frac{dm}{Adt} = PCd \quad \text{Equação 4.2}$$

$J$  : Fluxo em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$ ;

$\frac{dm}{dt}$ : Massa ( $\mu\text{g}$ ) do bioativo permeada em relação ao tempo (h).

$A$ : Área de permeação ( $\text{cm}^2$ )

$Cd$ : Concentração compartimento doador ( $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ );

$P$ : Coeficiente de permeabilidade ( $\text{cm}/\text{h}$ ).

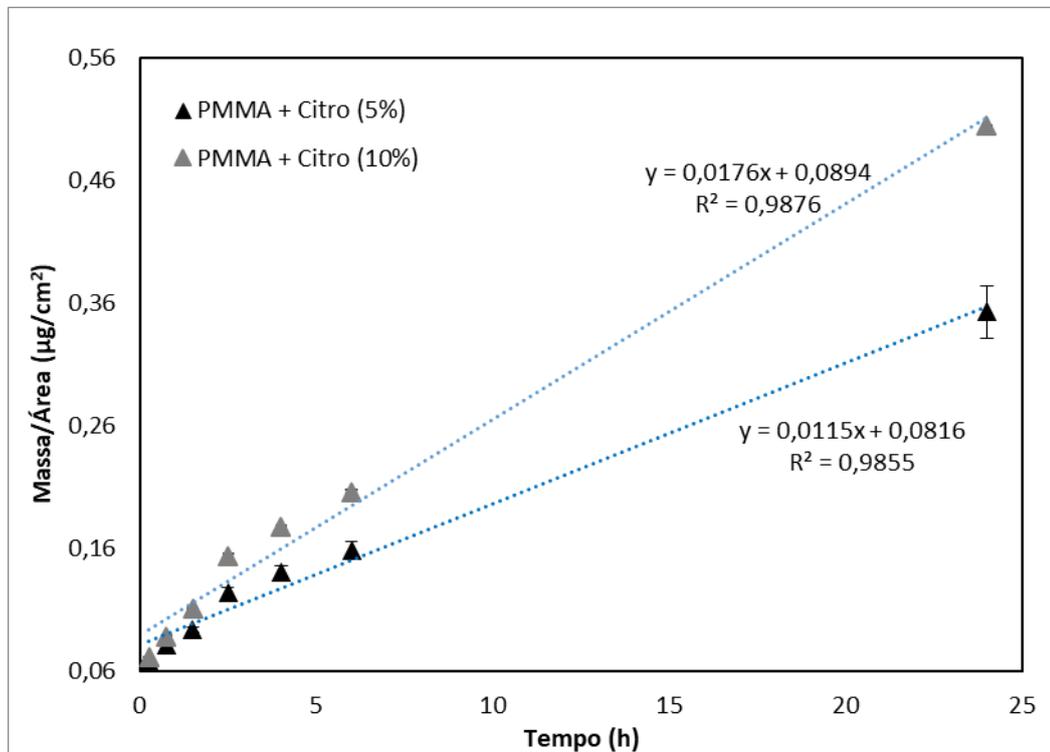


Figura 4.26- Fluxo de massa de óleo essencial de citronela em função do tempo, contendo 5% e 10 % de bioativo em suas formulações.

As médias dos coeficientes de permeabilidade ( $P$ ) obtidos para formulações contendo 5% e 10% de óleo essencial de citronela foram respectivamente 0,0249 e 0,0321  $\text{cm}/\text{h}$ . Os valores do coeficiente de permeabilidade estão muito equiparados, o que justifica os valores de fluxo emparelhados.

Um estudo comparativo entre a citronela livre e as formulações com o bioativo nanoencapsulado é aconselhável para trazer melhores conclusões sobre o processo de permeação. Porém, a partir das análises iniciais, conclui-se que as nanopartículas poliméricas produzidas proveram um perfil de permeação lento do óleo essencial de citronela e apresenta potencialidade futuras para aplicações em produtos repelentes de insetos.

## 4.5 Formulação, Incorporação e ensaios de estabilidade da emulsão cosmética

### 4.5.1 Formulação cosmética

Um sistema emulsionado do tipo O/A foi desenvolvido baseado na 2ª Edição do FORMULÁRIO NACIONAL (2012) da Farmacopeia Brasileira para incorporação das nanopartículas poliméricas com objetivo de produzir uma formulação cosmética com ação repelente. A emulsão (O/A) desenvolvida possui metodologia de formulação descrita no item 3.5.3 do capítulo 3. As formulações apresentaram-se homogêneas com odor característico de cremes cosméticos, coloração esbranquiçada que não sofreu alteração durante o período de armazenamento, além de apresentarem um aspecto brilhoso (Figura 4.27).



Figura 4.27- Aspecto da formulação cosmética desenvolvida.

A Crodabase® utilizada como base auto emulsionante não-iônica e emoliente para cremes e loções O/A apresentou boa estabilidade e ótima escolha para aplicação em questão, exibe compatibilidade com produtos farmacêuticos e cosméticos, demonstrando uma boa alternativa para incorporação das nanopartículas poliméricas com óleo essencial de citronela.

Os emolientes possuem um papel fundamental em cremes formulados a partir de combinações de água e óleos. Atuam na epiderme através da sua hidrofobicidade, impedindo a desidratação da pele. O Cetiol V® (Oleato de Decila) e óleo mineral foram utilizados na formulação cosmética para proverem a ação de emolientes e obtiveram resultados satisfatórios.

A Glicerina foi utilizada como umectante e doador de viscosidade à fase aquosa do sistema emulsivo. É uma substância com características hidrofílicas que ajudam a pele a manter sua umidade natural.

Para preservação microbiana da emulsão cosmética conservantes foram utilizados. O Nipagim® (metilparabeno), utilizado na fase aquosa, e o Nipazol® (propilparabeno) na fase oleosa.

#### 4.5.2 Incorporação das nanopartículas poliméricas na emulsão cosmética

As nanopartículas poliméricas de PMMA contendo 0%, 5% e 10% de óleo essencial de citronela foram incorporadas na emulsão cosmética produzida, assim como o óleo essencial de citronela livre. A tabela 4.6 discrimina as formulações incorporadas. A emulsão cosmética sem incorporações foi utilizada como padrão de controle comparativo.

Tabela 4.6- Incorporação das nanopartículas poliméricas na emulsão cosmética.

Formulação cosmética -Incorporação	
1	Emulsão cosmética
2	PMMA
3	PMMA + Citro (5%)
4	PMMA + Citro (10%)
5	Óleo essencial de citronela

A concentração das nanopartículas incorporadas na emulsão cosmética foi de 10 % p/p, essa foi baseada em trabalhos apresentados por PIANOVSKI *et al.* (2008), que obtiveram emulsões estáveis em formulações com o óleo de pequi, e LIMA *et al.* (2008) que desenvolveram emulsões estáveis com óleo de babaçu.

As formulações 2, 3 e 4 dispersaram as nanopartículas poliméricas de forma eficaz apresentando um aspecto de creme, branca, brilhante, macroscopicamente estável e homogêneas. A formulação 5 apresentou baixa viscosidade, fluidez extrema.

#### 4.5.3 Ensaios de estabilidade acelerada na emulsão cosmética

Os ensaios de estabilidade acelerada visam avaliar as formulações cosméticas em um curto período de tempo, prevendo os perfis de estabilidade físico-químico. Esses são geralmente determinados utilizando condições de armazenamento acelerado. Análises empregando

variações na temperatura são capazes de avaliar o que pode acontecer quando a temperatura muda durante a armazenagem ou se ocorram modificações importantes nas formulações como alteração da viscosidade ou solubilidade, coalescência e modificação de cor ou odor. Os estudos de estabilidade devem ser realizados previamente antes de disponibilizar os produtos ao mercado consumidor como forma de assegurar qualidade e proteção à saúde. Pelo perfil de estabilidade de um produto, é possível avaliar seu desempenho, segurança e eficácia. (DAUDT *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2010).

Vários fatores podem comprometer a estabilidade físico-química de uma emulsão: escolha de constituintes incompatíveis, tipo e concentração de emulsificantes, velocidade de agitação, tempo de aquecimento e ambiente de estocagem. (PIANOVSKI *et al.*, 2008).

#### 4.5.3.1 Teste de centrifugação

O teste de centrifugação é empregado para avaliar a estabilidade física de emulsões e sugerir se as formulações necessitam de reavaliação. A força da gravidade atua sobre os produtos fazendo com que as partículas se movam no seu interior. A centrifugação promove estresse na amostra, simulando aumento na força da gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis sinais de instabilidade. (ANVISA, 2004). Fenômenos como floculação, coalescência e separação de fases, que podem ocorrer com o passar do tempo, são apontados nesse teste. (SAVIAN *et al.*, 2001).

As formulações 1, 2, 3 e 4 não apresentaram separação de fases após serem submetidas à centrifugação, apresentando estabilidade. A formulação cosmética 5 apontou separação de fases após ser submetida à centrifugação por 40 minutos a uma velocidade de 1500 rpm e durante 10 minutos numa velocidade de 3500 rpm, sendo considerada instável.

Somente as formulações cosméticas consideradas estáveis após o teste de centrifugação foram submetidas às outras condições de estabilidade preliminar. Portanto somente as formulações 1, 2, 3 e 4 continuaram participando dos estudos.

#### 4.5.3.2 Teste em Vórtex

O Vórtex simula o movimento que pode ser imprimido as formulações durante o transporte. As formulações 1, 2, 3 e 4 passaram por esse teste sem separação de fases apresentando estabilidade. Na Figura 4.28 fotomicrografias qualitativas das emulsões podem

ser observadas, no aumento de 400x e 100x. Percebe-se as gotas em formato esférico dispersas ao meio.

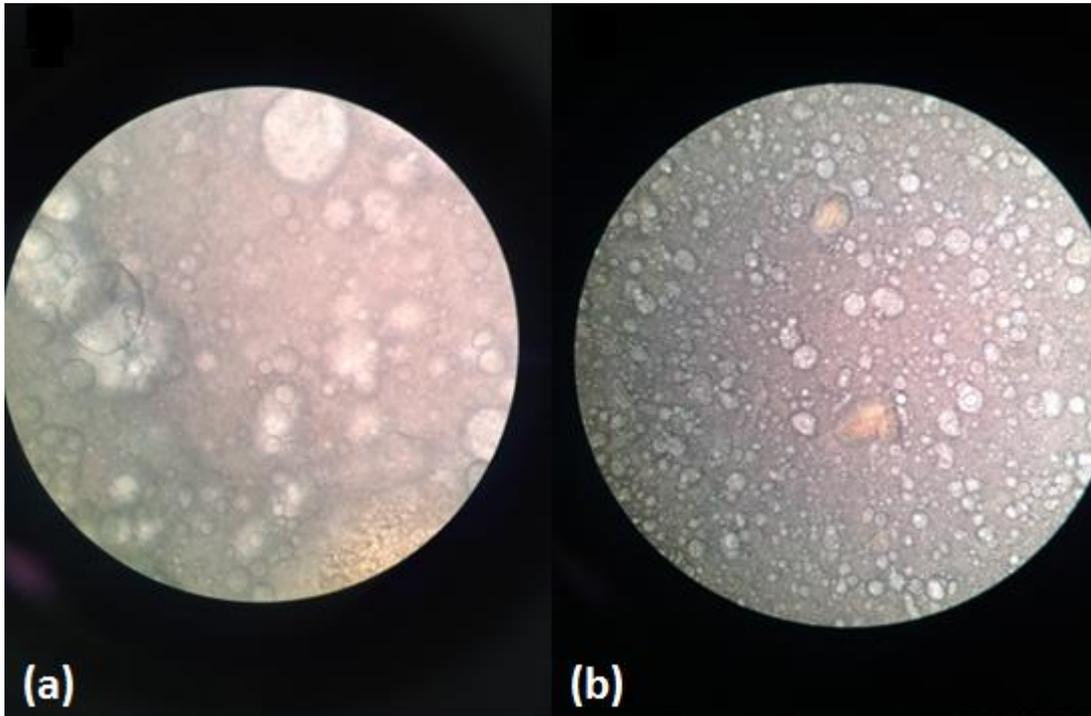


Figura 4.28- Fotomicrografias de microscópio óptico biocular da formulação 3 (PMMA + Citro 5%) aumentada: (a) 400x, (b) 100x.

#### 4.5.3.3 Ciclo gelo-degelo

Após os três ciclos de gelo-degelo que duraram no total 6 dias as formulações permaneceram com características constantes, sem separação de fase, nem modificação macroscópica. Na Figura 4.29 estão representadas fotomicrografias da formulação 4 que foram realizadas após o ciclo gelo-degelo.

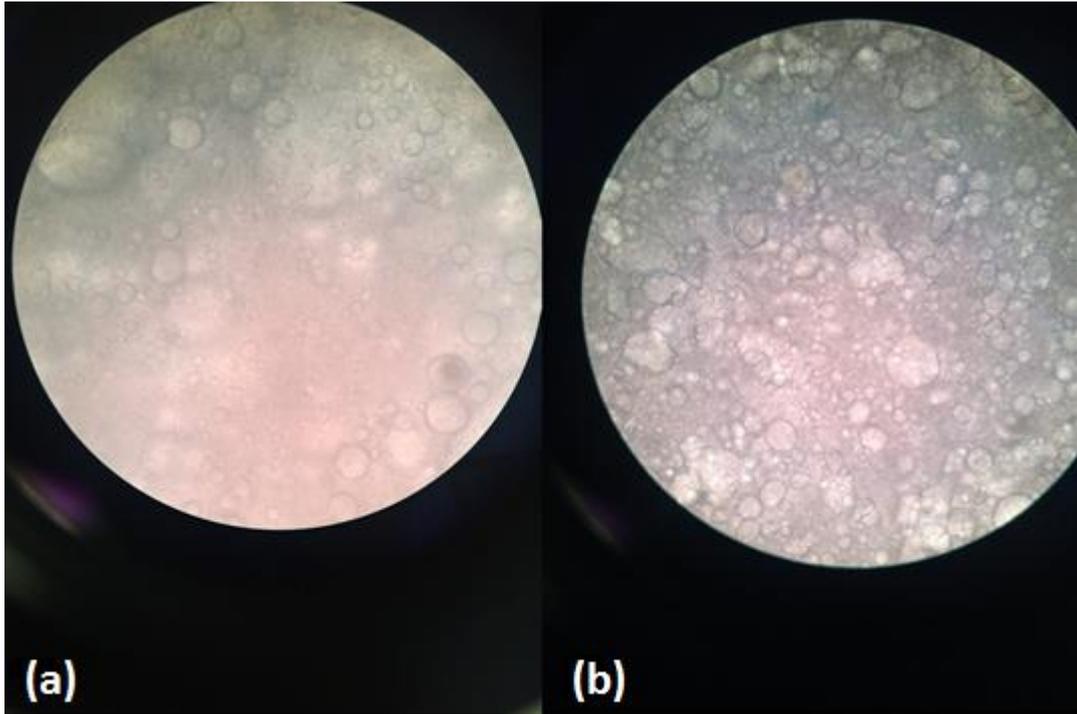


Figura 4.29- Fotomicrografias de microscópio óptico biocular da formulação 4 (PMMA + Citro 10%) aumentada: (a) 400x, (b) 100x.

#### 4.5.3.4 Alteração luminosa

Os testes de estabilidade acelerada através da alteração luminosa foram realizados durante 6 dias. Nenhuma das amostras analisadas sofreram alteração, mantendo constante a coloração e o odor.

#### 4.5.3.5 Determinação da espalhabilidade *in vitro*

Os ensaios de espalhabilidade devem ser realizados a partir da leitura dos diâmetros abrangidos pela amostra em um sistema formado por uma placa molde circular de vidro com orifício central, está estará posicionada sobre uma placa suporte de vidro e uma escala milimetrada. A determinação da consistência por extensibilidade contribui para discussão de espalhabilidade relacionada à caracterização reológica da amostra, sendo uma das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica, pois está intimamente relacionada com a aplicação destas formulações no local de ação. (ISAAC *et al.*, 2008; MILAN *et al.*, 2007; BORGHETTI *et al.*, 2006).

Os valores de espalhabilidade obtidos para as formulações pós preparo em função do peso adicionado estão representados nas Figuras 4.30 e 4.31. Os resultados revelam

comportamentos paralelos para as emulsões, porém é perceptível que a emulsão cosmética sem incorporações, utilizada como controle, possui uma espalhabilidade extensiva. As formulações que continham as partículas poliméricas possuem um valor decrescente de espalhabilidade à medida que a concentração de óleo essencial de citronela aumenta nas formulações.

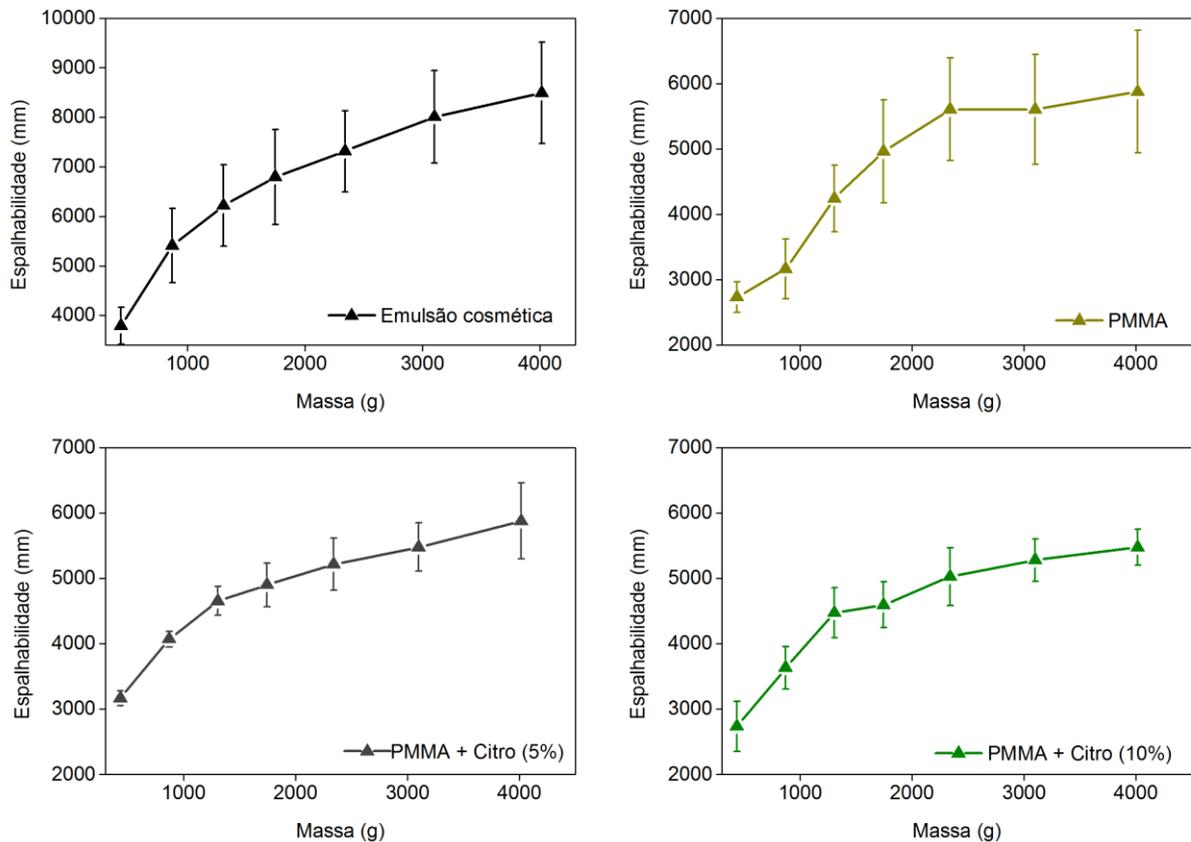


Figura 4.30- Espalhabilidade *in vitro*: (a) Emulsão cosmética (b) Formulação cosmética com PMMA incorporado (c) Formulação cosmética com PMMA + Citro (5%) incorporado (d) Formulação cosmética com PMMA + Citro (10%) incorporado.

A incorporação das nanopartículas poliméricas resultou num possível aumento de viscosidade nas formulações e a consequente redução de espalhabilidade. Fazendo-se uma análise de variação de espalhamento entre um peso e outro percebe-se que as formulações se comportam de forma semelhante, porém a presença do polímero na emulsão reduz moderadamente a capacidade de espalhamento das fórmulas devido à estrutura molecular polimérica que aumenta a dureza e adesividade da emulsão.

A emulsão deve apresentar substantividade para ser usada com segurança, devendo agir somente na pele e não apresentar o risco de permeá-la. Um material possui substantividade quando adere ao estrato córneo. A substantividade de uma formulação pode estar ligada ao

ativo, mas, em geral, também se relaciona com o veículo utilizado. A adição de substâncias poliméricas pode levar ao aumento da retenção dos ativos na pele, causando até mesmo efeito de resistência à água. Propriedades ligada ao PMMA podem aumentar essa substantividade à pele e diminuir a espalhabilidade da formulação, devido à alta massa polimérica ou mesmo à natureza do tensoativo utilizado na reação de polimerização. Além disso a hidrofobicidade polimérica pode aumentar as interações com as áreas hidrofóbicas que compõem a pele aumentando assim a substantividade. (COUTINHO *et al.*, 2014)

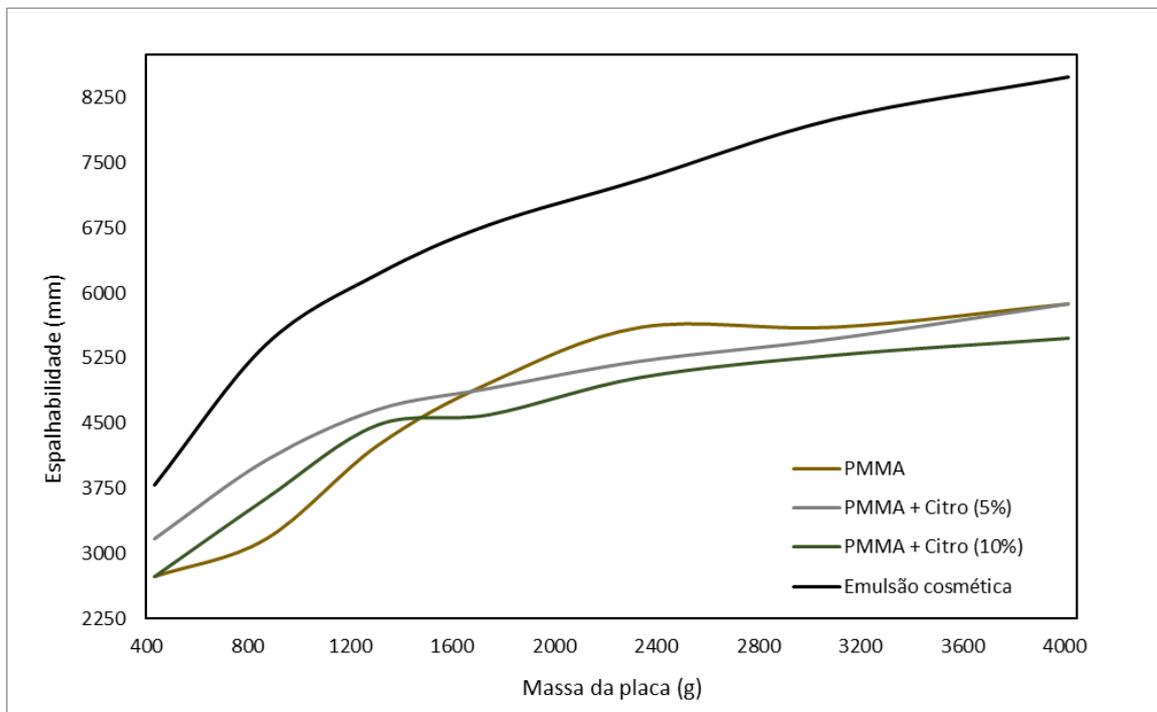


Figura 4.31- Espalhabilidade comparativa das formulações analisadas.

Ainda em relação a comparação entre os valores das espalhabilidade das formulações o cálculo do fator de espalhabilidade (Equação. 3.3) de cada amostra foi realizado e está expresso na Tabela 4.7.

Tabela 4.7- Valores do fator de espalhabilidade por formulação.

Formulação	Ef (mm <sup>2</sup> /g)
1 Emulsão cosmética	3,3392 ± 0,4089
2 PMMA	2,3315 ± 0,3231
3 PMMA + Citro (5%)	2,3883 ± 0,1483
4 PMMA + Citro (10%)	2,2607 ± 0,1782

O sistema cosmético emulsionado sem incorporações possui o maior fator de espalhabilidade ( $3,34 \pm 0,41$ ) implicando a maior possibilidade de extensão no momento de aplicação do produto. Porém, quando as nanopartículas poliméricas são incorporadas, percebe-se um decréscimo no valor desse fator. A formulação contendo 5 % de óleo essencial de citronela possui o maior fator de espalhabilidade ( $2,39 \pm 0,15$ ) quando comparada as formulações com nanopartículas incorporadas. A formulação emulsiva que contém as nanopartículas poliméricas com 10% de citronela incorporada possui o menor valor do fator de espalhabilidade ( $2,26 \pm 0,18$ ). O que leva à conclusão inicial que o aumento da citronela nas formulações poliméricas reduz as taxas de espalhabilidade. Porém, isso pode estar condicionado à presença do polímero que, como analisado anteriormente, reduz a espalhabilidade quando comparado a emulsão cosmética controle.

Caso a espalhabilidade fosse um parâmetro para a escolha da melhor formulação, a composição 3 (PMMA + Citro 5%) seria a mais indicada por ter o maior fator de espalhabilidade, apontando melhor possibilidade de extensão e de espalhamento inicial no momento do uso tópico do cosmético, apesar da diferença entre os fatores de espalhabilidade entre as formulações ser concisa. Porém, outros fatores devem ser analisados na escolha final da formulação, como a eficácia do produto.

Para determinação dos valores de espalhabilidade foram utilizados os testes estatísticos ANOVA ( $p < 0,05$ ) e TUKEY para comparações múltiplas, entre as médias dos diferentes pontos de espalhabilidade. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos.

#### 4.5.3.6 Textura *in vitro*

O estudo das propriedades de textura dos cremes cosméticos produzidos são parâmetros importantes na otimização de formulações tópicas. Essas propriedades afetam a aplicabilidade da formulação no local da administração e no resultado proposto. Parâmetros como dureza e adesividade foram determinados a partir da resultante de força-tempo analisadas no Texturômetro. (HURLER *et al.*, 2012). Os resultados podem ser observados na Figura 4.32.

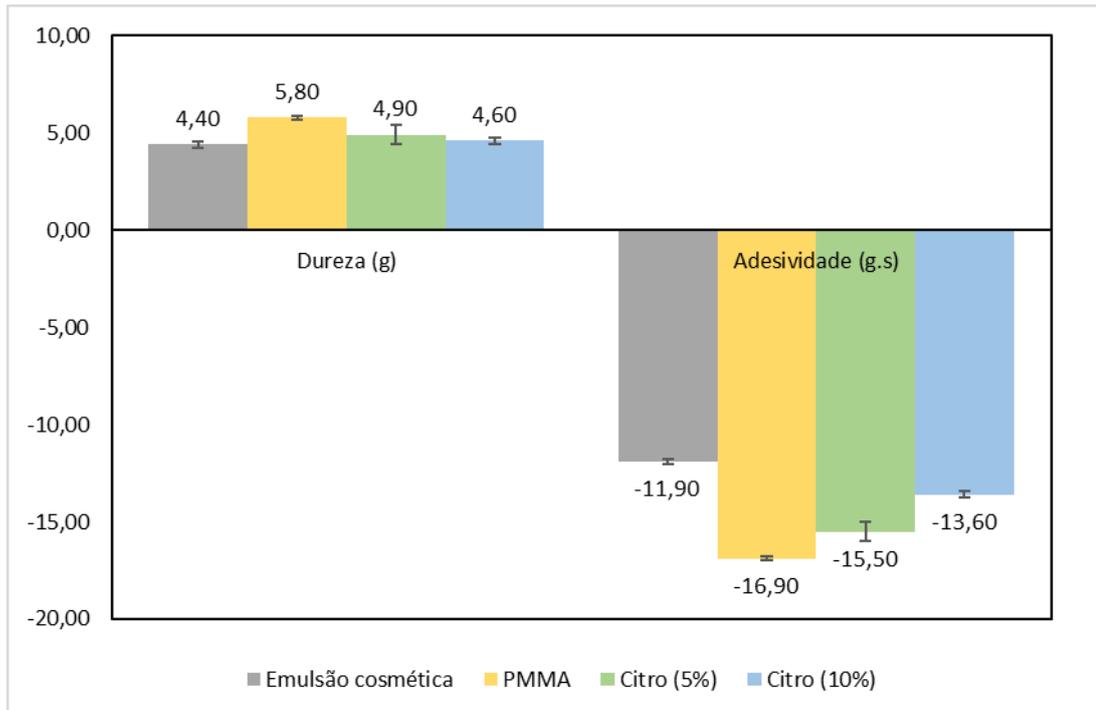


Figura 4.32- Propriedades de textura das formulações estudadas.

As emulsões cosméticas devem compreender equilíbrio entre adesividade e dureza. A dureza da formulação expressa a aplicabilidade dessas na pele e a adesividade pode ser um indicador para a retenção do produto. (HURLER *et al.*, 2012; CARMONA *et al.*, 2011; GLIBOWSKI *et al.*, 2011).

Os valores de adesividade ( $4,40 \pm 0,15$ ) e dureza ( $-11,90 \pm 1,53$ ) encontrados na emulsão cosmética utilizada como controle foram os mais reduzidos, resultados plausíveis com os encontrados nas análises de espalhabilidade. A emulsão cosmética pura obteve os maiores valores referentes ao fator de espalhabilidade ( $3,34 \pm 0,41$ ), logo a extensão que o produto alcança no momento da aplicação é maior com uma menor força empregada. A adesividade é uma propriedade mecânica que em alguns casos apresenta um valor inverso ao de espalhabilidade. Adesividade pode ser definida como atração física ou união de duas substâncias, que pode ser observada macroscopicamente. Uma emulsão que possui uma adesividade elevada fixa-se bem a superfícies, logo a espalhabilidade da mesma é reduzida.

Os altos valores de adesividade ( $5,80 \pm 0,10$ ) e dureza ( $-16,90 \pm 0,5$ ) da formulação cosmética contendo PMMA incorporado estão relacionados com a estrutura da cadeia polimérica que aumenta a dureza, a adesividade e a substantividade da emulsão. Logo o valor relacionado ao fator de espalhabilidade ( $2,33 \pm 0,32$ ) é baixo. A presença das nanopartículas na

emulsão cosmética aumenta a força necessária para espalhar uma determinada quantidade de produto na pele.

As nanopartículas contendo citronela incorporadas na emulsão cosmética obtiveram menores valores de adesividade e dureza quando comparadas com as formulações com PMMA. As formulações contendo 5 % de citronela nas reações poliméricas obtiveram aumento no valor do fator de espalhabilidade ( $2,39 \pm 0,15$ ) reduzindo o valor da dureza ( $4,9 \pm 0,50$ ) e adesividade ( $-15,50 \pm 2,80$ ) das formulações. Quando a concentração de óleo essencial de citronela aumentou para 10 % os valores de adesividade ( $-13,60 \pm 0,87$ ) e dureza ( $4,60 \pm 0,15$ ) reduziram ainda mais, porém a espalhabilidade não acompanhou esse comportamento. Se apenas os resultados da textura *in vitro* fossem considerados, a formulação contendo 10 % de citronela seria indicada como preferível por ter menores valores nos parâmetros dureza e adesividade, porém os resultados referentes a espalhabilidade possuem grande importância na análise geral. A formulação contendo 5 % de citronela na emulsão cosmética, portanto seria adotada por apresentar altos valores de espalhabilidade e menores valores relacionados a dureza e adesividade. Todas as formulações que passaram por esta etapa de estudo foram consideradas estáveis no teste de estabilidade preliminar, afirmando a potencialidade e possibilidade de incorporação de nanopartículas poliméricas contendo óleo essencial de citronela em um sistema emulsionado do tipo (O/A) para formulação de produto cosmético de grau risco II.

# Capítulo 5

---

## 5.0 Conclusões e Sugestões

As conclusões obtidas ao final dos estudos e as sugestões para trabalhos futuros são apresentadas nesse capítulo.

### 5.1 Conclusões

A proposta geral desse trabalho de pesquisa foi de encapsular o óleo essencial de citronela em nanopartículas poliméricas produzidas por polimerização *in situ* via miniemulsão. O desenvolvimento de nanopartículas poliméricas de poli (metacrilato de metila) contendo óleo essencial de citronela através da polimerização *in situ*, foi bem-sucedida.

A eficiência de encapsulamento do óleo essencial em nanopartículas de PMMA foi de aproximadamente  $99,97 \pm 9,60$  %. À medida que a concentração de citronela aumentou no meio reacional, a eficiência de incorporação diminuiu. Tais perdas podem estar associadas ao método utilizado para secagem do polímero e ao solvente empregado na etapa de extração do bioativo encapsulado nas partículas. O óleo essencial de citronela, ao ser incorporado as nanopartículas poliméricas, não apresentou alteração nas propriedades térmicas do PMMA, nem interação química com a cadeia polimérica.

A incorporação das nanopartículas nas emulsões cosméticas (O/A) ocorreram de forma satisfatória. Os sistemas emulsionados foram considerados estáveis nos testes de estabilidade acelerada afirmando a potencialidade e possibilidade de incorporação das nanopartículas na emulsão cosmética.

Neste contexto, os resultados se mostraram promissores para a produção de nanopartículas poliméricas com óleo essencial de citronela incorporado via polimerização *in situ* pelo método de miniemulsão. A técnica apresenta vantagens notáveis com potencialidade de aplicação na área cosmética e farmacêutica.

## 5.2 Sugestões para trabalhos futuros

Com base nas conclusões apresentadas no trabalho de pesquisa em questão outros estudos podem ser realizados para a complementação dos resultados.

É importante investigar mais intensamente o papel do óleo essencial de citronela na cinética das reações de polimerização. A reformulação das reações *in situ* com o objetivo de estabilizar a emulsão em relação aos diâmetros médios das nanopartículas é aconselhável, principalmente em relação à coalescência das gotas e redução de perdas do óleo essencial de citronela no processo de encapsulação. Isso aumentaria a possibilidade de se obter valores constantes de diâmetro das nanopartículas e aumento nos valores de eficiência de encapsulamento.

A metodologia de secagem do polímero pode levar a perdas de bioativo para o meio ou mesmo liberação antecipada. Outro método, como o emprego de ultracentrífugas, poderia ser utilizado para separação das nanopartículas poliméricas do meio reacional, possibilitando inclusive diferentes aplicações a produtos finais.

Os testes de liberação *in vitro* no meio ambiente e em pele devem ser efetuados para avaliar a difusão dos componentes voláteis e compará-los ao perfil difusivo do óleo de citronela puro. Testes de eficácia de repelência com mosquitos devem ser realizados baseados nos guias oferecidos pela Organização Mundial de Saúde para obter resultados precisos em relação ao tempo e a potencialidade das nanopartículas repelirem os mosquitos.

Após um aprofundamento no processo de encapsulação sugere-se um estudo para aumento de escala de produção das nanopartículas poliméricas incorporadas com óleo essencial de citronela. O desenvolvimento de produtos que alcancem uma produção em massa é de extrema importância, principalmente, se estes mantiverem as características já encontradas nas formulações propostas em escala laboratorial.

# Bibliografia

---

AGILENT TECHNOLOGIES. **An Introduction to Gel Permeation Chromatography and Size Exclusion Chromatography.** Agilent Technologies, Inc. 2015. USA. 2015.

AGNOLIN, C.A.; OLIVO, C.J.; LEAL, M.L.R.; BECK, R.C.R.; MEINERZ, G.R.; PARRA, C.L.C.; MACHADO, P.R.; FOLETTO, V.; BEM, C.M.; NICOLODI, P.R.S.J. **Eficácia do óleo de citronela [*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle] no controle de ectoparasitas de bovinos.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.12, n.4, p.482-487, 2010.

ALVAREZ-ROMAN, R.; NAIK, A.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H.; FESSI, H. **Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles.** Journal of Controlled Release 99, 53 – 62, 2004.

ALVES, E. T. S.; INICÁCIO, I. M. S; ARAUJO, P. H. H.; SANTOS, A. F.; SAYER, C. **Reações de polimerização de MMA em miniemulsão com aquecimento micro-ondas. Efeito na distribuição de massa molar.** XX Congresso brasileiro de Engenharia Química. COBEQ. Florianópolis. Santa Catarina. 2014.

ANDRADE, Milene Aparecida; CARDOSO, Maria das Graças; BATISTA, Luís Roberto; MALLET, Aline Cristina Teixeira; MACHADO, Samísia Maria Fernandes. **Essential oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* and *Zingiber officinale*: composition, antioxidant and antibacterial activities.** Rev. Ciênc. Agron., v. 43, n. 2, p. 399-408, abr-jun, 2012.

ANTONIETTI, Markus; LANDFESTER, Katharina. **Polyreactions in miniemulsions.** Prog. Polym. Sci. 27, 687-757, 2002.

ANTWI, Frank B.; SHAMA, Leslie M.; PETERSON, Robert K.D. **Risk assessments for the insect repellents DEET and picaridin.** Regulatory Toxicology and Pharmacology 51, 31–36, 2008.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em:<11/03/2017>.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Cosméticos.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em: <03/05/2017 >.

ANVISA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Séries temáticas.** Anvisa, Volume 1, maio, 2004.

ASUA, J. M. **Miniemulsion polymerization.** Progress in polymer Science, v. 27, p. 1283-1346, 2002.

ASUA, José M. **Challenges for industrialization of miniemulsion polymerization.** Progress in Polymer Science 39, 1797–1826, 2014.

BARANDIARAN, M.J., DE LA CAL, J.C., ASUA, J.M. **Emulsion Polymerization.** In: ASUA, J.M. (ed.), Polymer Reaction Engineering, 1 ed, capítulo 6, Blackwell Publishing, 2007.

BAROLI, Biancamaria. **Penetration of Nanoparticles and Nanomaterials in the Skin: Fiction or Reality?** JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, VOL. 99, NO. 1, JANUARY, 2010.

BARUAH, J.; GOGOI, B.; DAS, K.; AHMED, N. M.; SARMAH, D. K.; LAL, M.; BHAI, B. S. **Genetic diversity study amongst *Cymbopogon* species from NE-India using RAPD and ISSR markers.** Industrial Crops and Products 95, 235–243, 2017.

BATHEJA, Priya; SHEIHET, Larissa; KOHN, Joachim; SINGER, Adam J.; MICHNIAK-KOHN, Bozena. **Topical drug delivery by a polymeric nanosphere gel: Formulation optimization and in vitro and in vivo skin distribution studies.** Journal of Controlled Release 149, 159–167, 2011.

BENEKE, C.E.; VILJOEN, A.M.; HAMMAN, J.H. **Polymeric plant-derived excipients in drug delivery.** Mol., v.14, n. 7, p. 2602-2620, 2009.

BEZERRA, Fabricio Maestá; CARMONA, Oscar Garcia; CARMONA, Carlos Garcia; LIS, Manuel José; MORAES, Flavio Faria. **Controlled release of microencapsulated citronella essential oil on cotton and polyester matrices.** Cellulose, 23:1459–1470, 2016.

BLACK, Micah; MESSMAN, Jamie; RAWLINS, James. **Chain Transfer of Vegetable Oil Macromonomers in Acrylic Solution Copolymerization.** Journal of Applied Polymer Science, Vol. 120, 1390–1396, 2011.

BORGHETTI, Greice Stefani; KNORST, Miriam Teresinha. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 42, n. 4, out./dez., 2006.

BRASIL, Resolução da Diretoria Colegiada nº 7, de 10 de fevereiro de 2015. **Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 9 de outubro. 2014. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>>. Acessado em: 15 de outubro de 2017.

BRITISH PHARMACOPEIA. **Volume I & II.** Published by The Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). London, 2009.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, E. M.; ARAÚJO, E. M.; MELO, T. J. A. **Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes.** Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.6.2, 127-139 ISSN 1809-8797, 2011.

BROSCHARD, Thomas H.; BOHLMANN, Anja M.; KONIETZNY, Stefan; SCHAUER, Ute M.D.; DEKANT, Wolfgang. **Biotransformation and toxicokinetics of the insect repellent IR3535® in male and female human subjects after dermal exposure.** Toxicology Letters 218, 246–252, 2013.

BURNS, Donald A.; CIURCZAK, Emil W. **Handbook of Near-Infrared Analysis.** Taylor & Francis Group. Third Edition. United States of America. 2008.

BAIN & COMPANY. **Potencial de diversificação da indústria química brasileira. Relatório 4 – Cosméticos e higiene pessoal.** Estudo financiado pelo Banco de Desenvolvimento Econômico Social (BNDES). Rio de Janeiro. 2014.

CANEVAROLO, Sebastião V. Jr. **Ciência dos polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros.** 2ª Edição. Artliber Editora. São Paulo. 2006.

CARDOSO, Cristiane W.; PAPLOSKI, Igor; KIKUTI, Mariana; RODRIGUES, Moreno S.; SILVA, Monaise; CAMPOS, Gubio; SARDI, Silvia I.; KITRON, Uriel; REIS, Mitermayer G.; RIBEIRO, Guilherme S. **Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil.** Emerging Infectious Diseases. Vol. 21, No. 12, December, 2015.

CARDOSO, Priscilla B.; ARAÚJO, Pedro H. H.; SAYER, Claudia. **Encapsulation of Jojoba and Andiroba Oils by Miniemulsion Polymerization. Effect on Molar Mass Distribution.** Macromol. Symp. 324, 114–123, 2013.

CARMONA, P.; RUIZ-CAPILLAS, C.; JIMENEZ-COLMENERO, F.; PINTADO, T.; HERRERO, A. M. **Infrared Study of Structural Characteristics of Frankfurters Formulated with Olive Oil-in-Water Emulsions Stabilized with Casein as Pork Backfat Replacer.** dx.doi.org/10.1021/jf203941b |J. Agric. Food Chem. 59, 12998–13003, 2011.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. **Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products – a review.** International Journal of Cosmetic Science, 38, 109–119, 2016.

CASTRO, L. O. de ; RAMOS, R. L. D. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. , Capim-cidrô, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J.F. Watson, Palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, Citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack, Capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, Vetiver.** Porto Alegre: FEPAGRO, 2002.

CESCHEL, G.C.; MAFFEI, P.; MORETTI, M.D.L.; DEMONTIS, S.; PEANA, A.T. **In vitro permeation through porcine buccal mucosa of *Salvia desoleana* Atzei & Picci essential oil from topical formulations.** International Journal of Pharmaceutics 195, 171–177, 2000.

CHEN, F.; LOU, D.; YANG, J.; ZHONG, M. **Mechanical and thermal properties of attapulgit clay reinforced polymethylmethacrylate nanocomposites.** Polymer Advanced Technologies, v. 22, p. 1912-1918, 2010.

CHEN, Y.; SAJJADI, S. **Particle formation and growth in a initio emulsifier-free emulsion polymerization under monomer-starved conditions.** Polymer, v. 50, p. 357-365, 2009.

COSTA, Adilson Vidal; MARCELINO, Tiago de Paula. **Atividade inseticida do óleo essencial de capim-citronela sobre *Frankliniella schultzei* e *Myzus persica*.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 37, n. 2, p. 138-144, mar./abr., 2013.

COSTA, Cristiane; WAGNER, Manfred; MUSYANOVYCH, Anna; LANDFESTER, Katharina; SAYER, Claudia; ARAÚJO, Pedro H. H. **Decrease of methyl methacrylate miniemulsion polymerization rate with incorporation of plant oils.** Eur. J. Lipid Sci. Technol. 118, 93–103, 2016.

COUTINHO, Cristal dos Santos Cerqueira; SANTOS, Elisabete Pereira. **Crems e Loções: Visão Geral**. *Cosmetic & Toiletries (Brasil)*/37. Vol. 26, Jul-ago, 2014.

CRUPI, V.; FICARRA, R.; GUARDO, M.; MAJOLINO, D.; STANCANELLI, R.; VENUTI, V. **UV-vis and FTIR-ATR spectroscopic techniques to study the inclusion complexes of genistein with -cyclodextrins**. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44, 110–117, 2007.

DAUDT, Renata Moschini; BACK, Patrícia Inês; CARDOZO, Nilo Sérgio Medeiros; MARCZAK, Ligia Damasceno Ferreira; KÜLKAMP-GUERREIRO, Irene Clemes. **Pinhão starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis**. *Carbohydrate Polymers* 134, 573–580, 2015.

DEDAVID, Berenice Anina; GOMES, Carmem Isse; MACHADO, Giovanna. **MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA: Aplicações e preparação de amostras. Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores**. EDIPUCRS. Porto Alegre. 2007.

EL-SAMALIGY, MS.; ROHDEWALD, P.; MAHMOUD, HA. **Polyalkylecyanoacrylate nanocapsules**. *J Pharm Pharmacol*; 38:216 -8, 1986.

ELSHEREKSI, Nidal Wanis; MOHAMED, Saied Hamd; ARIFIN, Azlan; ISHAK, Zainal Arifin Mohd. **Thermal Characterisation of Poly(Methyl Methacrylate) Filled with Barium Titanate as Denture Base Material**. *Journal of Physical Science*, Vol. 25(2), 15–27, 2014.

ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, Inc. Disponível em: <<http://academic.eb.com/>>. Acessado em: 24/01/2016.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, **Anvisa**. Volume 1. 5ª Edição. Fundação Oswaldo Cruz. Brasília. 2010.

FDA, Food and Drug Administration. **Guidance for Industry Nonsterile Semisolid Dosage Forms Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; In Vitro Release Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation**. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). May, 1997.

FELIZZOLA, Juliana Feitosa; COSTA, Cristiane Formigosa Gadelha; VASCONCELOS, Steel Silva. **Passo a Passo para o Uso do Cromatógrafo Gasoso Modelo GC-CP3800 Varian para Análises de Gases de Efeito Estufa (GEEs)**. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA. Brasil. 2014.

FERQUIMA. **Especificações técnicas do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*). Laudo técnico do óleo de coco extra virgem (*Cocos nucifera*)**. Disponível em: <<http://www.ferquima.com.br>>. Acessado em: 30/01/2017.

FEUSER, P.E., GASPAR, P.C., RICCI-JUNIOR, E., SILVA, M.C.S., NELE, M., SAYER, C., ARAUJO, P.H.H. **Synthesis and Characterization of Poly(Methyl Methacrylate) PMMA and Evaluation of Cytotoxicity for Biomedical Application**. Macromolecular Symposia, v. 343, pp. 65-69, 2014.

FONSECA, Lais Bastos; NELE, Marcio; VOLPATO, Nádia Maria; SEICEIRA, Rafael C.; PINTO, José Carlos. **Production of PMMA Nanoparticles Loaded with Praziquantel Through “in Situ” Miniemulsion Polymerization**. Macromol. React. Eng. 7, 54–63, 2013.

FONSECA, Laís Bastos. **Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo Praziquantel para o tratamento da Esquistossomose**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2012.

FORMULÁRIO NACIONAL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília. Brasil. 2005.

GALLAGHER, Patrick K. **Handbook of thermal analysis and calorimetry**. Elsevier. Volume 3. 2002.

GAMISANS, F.; LACOUILONCHE, F.; CHAUVET, A.; ESPINA, M.; GARCÍA, M.L.; EGEA, M.A. **Flurbiprofen-loaded nanospheres: analysis of the matrix structure by thermal methods**. International Journal of Pharmaceutics 179, 37–48, 1999.

GARCÍA-CHÁVEZ, Karla I.; HERNÁNDEZ-ESCOBAR, Claudia A.; FLORES-GALLARDO, Sergio G.; SORIANO-CORRAL, Florentino; SAUCEDO-SALAZAR, Esmeralda; ZARAGOZA-CONTRERAS, E. Armando. **Morphology and thermal properties**

**of clay/PMMA nanocomposites obtained by miniemulsion polymerization.** *Micron* 49, 21–27, 2013.

GLIBOWSKI, Paweł; KORDOWSKA-WIATER, Monika; GLIBOWSKA, Agnieszka. **Effect of Storage on Texture and Microbiological Stability of O-W Emulsions with Inulin.** *Czech J. Food Sci.* Vol. 29, No. 2: 137–144, 2011.

GUO, Juchen; SCHORK, F. Joseph. **Hybrid Miniemulsion Polymerization of Acrylate/Oil and Acrylate/Fatty Acid Systems.** *Macromol. React. Eng.* 2, 265–276, 2008.

GUTERRES, Silvia; BECK, Ruy; POHLMANN, Adriana. **Nanocosmetics and Nanomedicines New Approaches for Skin Care.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 2011.

HARMIA-PULKKINEN, T.; TUOMI, A.; KRISTOFFERSSON, E. **Manufacture of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles with pilocarpine and timolol by micelle polymerization: factors influencing particle formation.** *J Microencapsul*; 6:87 – 93, 1989.

HAYNES, W.M. (ed.). **CRC Handbook of Chemistry and Physics.** 95th Edition. CRC Press LLC, Boca Raton: FL, p. 3-216. 2014-2015.

HSIEH, Wen-Chuan; CHANG, Chih-Pong; GAO Ying-Lin. **Controlled release properties of Chitosan encapsulated volatile Citronella Oil microcapsules by thermal treatments.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 53, 209–214, 2006.

HUANG, Yao-Xiong; TAN, Chan-Yuan. **Dependence of Refractive Index on Concentration and Temperature in Electrolyte Solution, Polar Solution, Nonpolar Solution, and Protein Solution.** *J. Chem. Eng. Data*, 60, 2827–2833, 2015.

HURLER, Julia; ENGESLAND, André; KERMANY, Bahador Poorahmary; SKALKO-BASNET, Natasa. **Improved Texture Analysis for Hydrogel Characterization: Gel Cohesiveness, Adhesiveness, and Hardness.** *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 125, 180–188, 2012.

IBRA, Instituto Brasileiro de Aromatologia. **Óleos Essenciais.** Disponível em: <<http://www.ibraromatologia.com.br/default.asp?pagina=home>>. Acessado em: 23 de novembro. 2015.

IMAN, Murshid; HUSSAIN, Rabiul; MAJI, Tarun K. **Zanthoxylum Limonella Oil (ZLO) encapsulated gelatin microcapsules for controlled release of Mosquito Repellent: Effect of Various Parameters on Microcapsule Properties and Mosquito Repellent behaviour.** International Journal of Advanced Engineering Applications, Vol.2, Iss.5, pp.151-159, 2013.

ISAAC, V.L.B.; CEFALI L.C.; CHIARI, B.G.; OLIVEIRA, C.C.L.G.; SALGADO H.R.N.; CORRÊA, M.A. **Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos.** Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

ISLAM, Johirul; ZAMAN, Kamaruz; DUARAH, Sanjukta; RAJU, Pakalapati Srinivas. **Mosquito Repellents: Na insight into the chronological perspectives and novel discoveries.** Acta Tropical 167, 216-230, 2017.

JESUS, Marcelo B. de; ZUHORN, Inge S. **Solid lipid nanoparticles as nucleic acid delivery system: Properties and molecular mechanisms.** Journal of Controlled Release 201, 1–13, 2015.

JUNIOR, Valdir F. Veiga; PINTO Angelo. **Plantas medicinais: Cura segura?** Quim. Nova, Vol. 28, No. 3, 519-528, 2005.

KANTOR, Isabel N. **Dengue, Zika y Chikungunya.** MEDICINA - Volumen 76 - Nº 2, 2016. Buenos Aires. 76: 93-97, 2016.

KAO, Yi-Chen; TU, Chein-Hsiun. **Solubility, Density, Viscosity, Refractive Index, and Electrical Conductivity for Potassium Nitrate-Water-2-Propanol at (298.15 and 313.15) K.** J. Chem. Eng. 54, 1927–1931, 2009.

KARTZ, Tracy M.; MILLER, Jason H.; HEBERT, Adelaide A. **Insect repellents: Historical perspectives and new developments.** American Academy of Dermatology, Inc. Volume 58, number 5. 2008.

KAWASHITA, M; KAWAMURA, K.; LI, Z. **PMMA-based bone cements containing magnetite particles for the hyperthermia of cancer.** Acta Biomater. 6 (8) 3187–3192, 2010.

KIRAN, Kalpana; GOSWAMI, Sudipta. **PMMA/PHEA Interpenetrating Network Embedded With Iron Oxide Nanoparticles for Drug Delivery Applications.** International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 63: 963–970, 2014.

KIZILTASA, Esra Erbas; KIZILTASA, Alper; BOLLIND, Shannon C.; GARDNER, Douglas J. **Preparation and characterization of transparent PMMA–cellulose-based nanocomposites.** Carbohydrate Polymers 127, 381–389, 2015.

KRAUSE, HJ.; SCHWARZ, A.; ROHDEWALD, P. **Interfacial polymerization, an useful method for the preparation of polymethylcyanoacrylate nanoparticles.** Drug Dev Ind Pharm; 12:527- 52, 1986.

KULKARNI A. R.; AMINABHAVI, T. M.; SOPPIMATH, K. S. **Urea-formaldehyde nanocapsules for the controlled release of diclofenac sodium.** J. MICROENCAPSULATION, VOL. 17, Nº 4, 449-458, 2000.

LANDFESTER, K. **Synthesis of Colloidal particles in miniemulsions.** Annu. Rev. Mater. Res.36:231-279, 2006.

LANDFESTER, K.; BECHTHOLD, N.; TIARKS, F.; ANTONIETTI, M. **Formulation and stability mechanisms of polymerizable miniemulsions.** Macromolecules, 10 August, Vol.32(16), pp.5222-5228, 1999.

LASZLO. **Óleos Essenciais.** Disponível em:<[http://laszlo.ind.br/default.asp?pagina=oleos\\_essenciais](http://laszlo.ind.br/default.asp?pagina=oleos_essenciais)>. Acessado em: 23 de novembro. 2015.

LEAL, Walter S. **The treacherous scent of a human.** Nature, Vol 464, 4 March, 2010.

LENZI, M. K.; SILVA, F. M.; LIMA, E. L.; PINTO, J. C. **Semibatch styrene suspension polymerization process.** Journal of Applied Polymer Science, v. 89, p. 3021-3038, 2003.

LIMA, Cleide G.; VILELA, Adrea Fernanda G.; SILVA, Alex Antonio S. da; PIANNOVSKI, Aline R.; SILVA, Ketlyn K.; CARVALHO, Vanessa F. M.; MUSIS, Carlo R. De; MACHADO, Silvia Regina P.; FERRARI, Márcio. **Development and evaluated the physical stability O/W emulsions containing babassu oil (*Orbignya oleifera*).** 146/454 Tecnologia Farmacêutica – Pesquisa. 2008.

LIRAA. **Levantamento Rápido do Índice de Infestação por Aedes aegypti.** Ministério da Saúde. 2015.

LIU, Cong; LIANG, Baijun; SHI, Guang; LI, Zhicheng; ZHENG, Xubin; HUANG, Yang; LIN, Li. **Preparation and characteristics of nanocapsules containing essential oil for textile application.** *Flavour Fragr. J.* 30, 295–301, 2015.

LORCA, Bárbara S. S.; EVELIN, S. Bessa; NELE, Márcio; SANTOS, Elisabete P.; PINTO, José Carlos. **Preparation of PMMA Nanoparticles Loaded with Benzophenone-3 through Miniemulsion Polymerization.** *Macromol. Symp.* 319, 246–250, 2012.

LORCA, Bárbara S. S.; SAYER, Claudia; ARAÚJO, Pedro H. H.; NELE, Marcio; PINTO, José Carlos. **NANOENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE ANDIROBA VIA POLIMERIZAÇÃO EM MINIEMULSÃO.** *Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros – Foz do Iguaçu, PR – Outubro, 2009.*

LORCA, Bárbara da Silva e Souza. **Desenvolvimento de formulação fotoprotetora contendo nanopartículas poliméricas com filtro solar.** Tese de Doutorado (Engenharia Química), COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2012.

MACHADO, Fabricio; LIMA, Enrique L.; PINTO, José Carlos. **Uma Revisão Sobre os Processos de Polimerização em Suspensão.** *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 17, nº 2, p. 166-179, 2007.

MAEHATA, Hideo; LIU, Xinzhi; CUNNINGHAM Michael; KEOSHKERIAN, Barkev. **TEMPO-Mediated Emulsion Polymerization.** *Macromol. Rapid Commun.* 29, 479–484, 2008.

MAIA, Marta Ferreira; MOORE, Sarah J. **Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing.** *Malaria Journal*, 10(Suppl 1):S11, 2011.

MAJI, T. K; BARUAH, I.; DUBE, S.; HUSSAIN, M. R. **Microencapsulation of *Zamthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application.** *Bioresource Technology* 98, 840-844, 2007.

MARACAJÁ, Patricio Borges; SOUSA, Thiago Pereira de; NETO, Eduardo Pereira de Sousa; SILVEIRA, Luana Raposo de Sá; FILHO, Elias Francisco dos Santos. **Utilização de plantas como repelentes e inseticidas naturais: Alternativa de produção orgânica e sustentável na agricultura familiar.** *Revista Verde (Pombal - PB - Brasil)*, v 9., n. 4, p. 05 - 07, out-dez, 2014.

MARCO, Cláudia A.; INNECO, Renato; MATTOS, Sérgio H.; BORGES, Neiliane SS.; NAGAO, Eduardo O. **Características do óleo essencial de capim-citronela em função de espaçamento, altura e época de corte.** Hortic. bras., v. 25, n. 3, jul.-set. 2007.

MARIA, A. de; AURORA, A.; MONTONE, A.; TAPPER, L.; PESCE, E.; BALBONI, R.; SCHWARZ, M.; BORRIELLO, C. **Synthesis and characterization of PMMA/silylated MMTs.** J Nanopart Res 13:6049–6058, 2011.

MARTINS, Isabel M.; BARREIRO, Maria F.; COELHO, Manuel; RODRIGUES, Alírio E. **Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications.** Chemical Engineering Journal 245, 191–200, 2014.

MCCLEMENTS, David Julian. **Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities.** Soft Matter, 8, 1719–1729. The Royal Society of Chemistry, 2012.

MCNAIR, Harold M.; MILLER, James M. **Basic Gas Chromatography.** Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. United States. 2009.

MENDES, A.N., HUBBER, I., SIQUEIRA, M., BARBOSA, G.M., MOREIRA D.L., HOLANDINO, C., PINTO, J.C., NELE, M. **Preparation and Cytotoxicity of Poly(Methyl Methacrylate) Nanoparticles for Drug Encapsulation.** Macromolecular Symposia, v. 319, pp. 34-40, 2012.

MENDONÇA, C.C.; Silva, I.C.L.; RODRIGUES, K.A.; CAMPOS, M.A.L.; MEDEIROS, M.C.M.; CASTELI, V.C.; FERRARI, M., Muisis, C.R.; MACHADO, S.R.P. **Emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%: avaliação da estabilidade acelerada e estudos de liberação *in vitro*.** Rev Ciênc Farm Básica Apl.;30(1):35-46, 2009.

MILAN, Ana Lúcia Koff; MILÃO, Denise; SOUTO, André Arigony; CORTE, Temis Weber Furlanetto. **Study of hydrationskin by the cosmetics emulsions for xerosis and their stability by rheology.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 43, n. 4, out./dez., 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico.** Volume 48, nº 5, 2017.

MITTAL, V. **Miniemulsion Polymerization: An Overview**. In: MITTAL, V. (ed), *Miniemulsion Polymerization Technology*, 1 ed., capítulo 1, John Wiley and Sons, 2010.

MONCADA, Jonathan; TAMAYO, Jhonny; CARDONA, Carlos A. **Techno-economic and environmental assessment of essential oil extraction from Citronella (*Cymbopogon winteriana*) and Lemongrass (*Cymbopogon citrus*): A Colombian case to evaluate different extraction technologies**. *Industrial Crops and Products* 54, 175–184, 2014.

MONTEIRO, Odair Dos Santos; NETO, Raimundo Gomes Campos; MORAES, Denise Fernandes Coutinho; CARVALHO, Natale Cristine Costa; RODRIGUES, Klinger Antônio da França; FEITOZA, Jéssica Verônica Pinto. **Composição química e atividade antioxidante do óleo essencial extraído das folhas da espécie *Cymbopogon witerianus* Jowitt (Citronela)**. A. Ciências Exatas e da Terra. Química de Produtos Naturais. 64ª Reunião Anual da SBPC. 2012.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Polymer-based nanocapsules for drug delivery**. *International Journal of Pharmaceutics*, 385, 113–142, 2010.

NAUCKE, T. J.; KRÖPKE, R.; BENNER, G.; SCHULZ, J.; WITTERN, K. P.; ROSE, A.; KRÖCKEL, U.; GRÜNEWALD, H. W. **Field evaluation of the efficacy of proprietary repellent formulations with IR3535® and Picaridin against *Aedes aegypti***. *Parasitol Res* 101:169–177, 2007.

NGWULUKA, N. **Application of *in situ* polymerization for desing and development of oral drug delivery systems**. *AAPS Pharm. Sci. Tech*, v. 11, n. 4, p. 1603- 1611, 2010.

NOGUEIRA, Telma; BOTAN, Rodrigo; WYPYCH, Fernando; LONA, Liliane. **Study of thermal and mechanical properties of PMMA/LDHs nanocomposites obtained by *in situ* bulk polymerization**. *Composites: Part A* 42, 1025–1030, 2011.

NUCHUCHUA, Onanong; SAKULKU, Usawadee; UAWONGYART, Napaporn; PUTTIPIPATKHACHORN, Satit; SOOTTITANTAWAT, Apinan; RUKTANONCHAIN, Uracha. ***In Vitro* Characterization and Mosquito (*Aedes aegypti*) Repellent Activity of Essential-Oils-Loaded Nanoemulsions**. *AAPS PharmSciTech*, Vol 10, nº4, December, 2009.

OLIVEIRA, Marco Antonio M.; NELE, Márcio; PINTO, José Carlos. **Polimerização RAFT em miniemulsão**. *Polímeros*, vol. 23, n. 6, p. 1-14, 2013.

OLIVEIRA, Maíra Maciel Mattos de; BRUGNERA, Danilo Florisvaldo; CARDOSO, Maria das Graças; ALVES, Eduardo; PICCOLI, Roberta Hilsdorf. **Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface.** Food Control 21, 549–553, 2010.

PAIVA, Thamires Franckini. **Análises de processos de nanoencapsulamento de filtros solares.** Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2015.

PATTERSON, Jessica; SAMMON, Maura; GARG, Manish. **Dengue, Zika and Chikungunya: Emerging Arboviruses in the New World.** Western Journal of Emergency Medicine. Volume XVII, no. 6: November, 2016.

PEIXOTO, Luciana de Souza. **Preparação de compósitos e nanocompósitos poliméricos *in situ*.** Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2012.

PEREIRA, Ricardo Borges; LUCAS, Gilvaine Ciavareli; PERINA, Fabiano José; JÚNIOR, Pedro Martins Ribeiro; ALVES, Eduardo. **Citronella Essential oil in the control and activation of coffee plants defence response against rust and brown eye spot.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 36, n. 4, p. 383-390, jul./ago., 2012.

PETERSON, Chris; COATS, Joel. **Insect repellents- Past, present and future.** The Royal Society of Chemistry, 2001.

PIANOVSKI, Aline Rocha; VILELA, Adrea Fernanda Gonçalves; SILVA, Alex Antonio Serafim da; LIMA, Cleide Garbelini; SILVA, Ketlyn Konageski da; CARVALHO, Vanessa Franco Marcelo; MUSIS, Carlo Ralph De; MACHADO, Silvia Regina Pengo; FERRARI, Márcio. **Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 44, n. 2, abr./jun., 2008.

PICHOT. C. **Surface-functionalized latexes for biotechnological applications.** Current Opinion in Colloid & Interface Science 9, 213 – 221, 2004.

PIGNATELLO, Rosario. Editor. **Drug-biomembrane interaction studies. The application of calorimetric techniques.** Published by Woodhead Publishing Limited, 2013.

PINHEIRO, Patrícia Fontes; QUEIROZ, Vagner Tebaldi de; RONDELLI, Vando Miossi; COSTA, Adilson Vidal; MARCELINO, Tiago de Paula; PRATISSOLI, Dirceu. **INSECTICIDAL ACTIVITY OF CITRONELLA GRASS ESSENTIAL OIL ON *Frankliniella schultzei* AND *Myzus persicae***. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 37, n. 2, p. 138-144, mar./abr., 2013.

PUBCHEM. **Open Chemistry Database**. National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acessado em: 20/08/2017.

REICHLING, Jurgen; LANDVATTER, Uwe; WAGNER, Heike; KOSTKA, Karl-Heinz; SCHAEFER, Ulrich F. **In vitro studies on release and human skin permeation of Australian tea tree oil (TTO) from topical formulations**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 64, 222–228, 2006.

REIS, Catarina Pinto; NEUFELD, Ronald; RIBEIRO, António; VEIGA, Francisco. **Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles**. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 2, 8– 21, 2006.

RIBEIRO, António D.; MARCUS, Juliana; FORTE, Marta; CORREIA, Filipe C.; PARPOT, Pier; OLIVEIRA, César; PEREIRA, Ana I.; ANDRADE, Luísa; AZENHA, Cátia; MENDES Adélio; ALVEZ, Gonçalo; SOUSA, Carla A.; TAVARES, Carlos J. **Microencapsulation of citronella oil for solar-activated controlled release as an insect repellente**. Applied Materials Today 5, 90–97, 2016.

RICHARDS, Austin. **Exploring the Electromagnetic Spectrum with Imaging Technology**. SPIE P.O. Box 10 Bellingham, Washington. USA. 2011.

RIOBÓO, R.J. Jiménez; PHILIPP, M.; Ramos, M.A., KRUGER, J.K. **Concentration and temperature dependence of the refractive index of ethanol-water mixtures: Influence of intermolecular interactions**. Eur. Phys. J. E 30, 19–26, 2009.

ROLLAND, A.; GIBASSIER, D.; SADO, P.; Le Verge, R. **Purification et proprietes physico-chimiques des suspensions de nanoparticules de polymere**. J Pharm Belg; 41:94 – 105, 1986.

ROMIO, Ana Paula; SAYER, Claudia; ROCHA, Sandro R. P.; ARAÚJO, Pedro H. H. **Nanocápsulas Biocompatíveis via Polimerização em Miniemulsão Usando Surfactante e**

**Hidrófobo Biodegradáveis.** In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007, Campina Grande - PB. Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007.

SAKULKU, Usawadee; NUCHUCHUA, Onanong; UAWONGYART, Napaporn; PUTTIPIPATKHACHORN, Satit; SOOTTITANTAWAT, Apinan; RUKTANONCHAI, Uracha. **Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion.** International Journal of Pharmaceutics 372, 105–111, 2009.

SALA, Leo Albert G.; VILLANUEVA, Keith Michael A.; CHUA, Modesto T.; CHAKRABORTY, Soma. **Novel glycerol crosslinked poly(methyl methacrylate) synthesized by chemo-enzymatic method for controlled release application.** Materials Science and Engineering C 32, 2205–2211, 2012.

SALGUEIRO, A.; GAMISANS, F.; ESPINA, M.; ALCOBER, X.; GARCÍA, M. L.; EGEA, M. A. **Cyclophosphamide-loaded nanospheres: analysis of the matrix structure by thermal and spectroscopic methods.** j. microencapsulation, vol. 19, no. 3, 305-310, 2002.

SANTOS, Priscila L.; ARAÚJO, Adriano S.; QUINTANS, Jullyana S. S.; OLIVEIRA, Makson G. G.; BRITO, Renan G.; SERAFINI, Mairim R.; MENEZES, Paula P.; SANTOS, Marcio R. V.; ALVES, Pericles B.; JÚNIOR, Waldecy de Lucca; BLANK, Arie F.; ROCCA, Viviana La Rocca; ALMEIDA, Reinaldo N.; QUINTANS-JÚNIOR Lucindo J. **Preparation, Characterization, and Pharmacological Activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (*Poaceae*) Leaf Essential Oil of  $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 502454, 12 pages, 2015.

SAVIAN, Ana Luiza; VARELLA, Francieli Tambosi; ATHAYDE, Margareth Linde; SILVA, Cristiane de Bona da. **Development and preliminary stability evaluation of an O/W non-ionic emulsion containing green coffee oil as a potentiator of sun protection factor.** Rev. Bras. Farm., 91(2): 82-8, 2011.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos.** Química Nova, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHARTL, Wolfgang. **Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions.** Springer-Verlag. Germany. 2007.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M.C.T.; GODOY, H.T. **Composition and antioxidant and antimicrobial activities of clove, citronella and palmarosa essential oils.**

Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.4, p.442-449, 2009.

SCHORK, F. Joseph; LUO, Yingwu; SMULDERS, Wilfred; RUSSUM, James P.; BUTTÉ, Alessandro; FONTENOT, Kevin. **Miniemulsion Polymerization.** Adv Polym Sci 175: 129–255, 2005.

SEVERINO, Patrícia; SANTANA, Maria Helena A.; MALMONGE, Sônia M.; SOUTO, Eliana B. **Polímeros usados como sistemas de transporte de princípios ativos.** Polímeros vol.21 no.5. São Carlos. 2011.

SIEGWART, D. J.; JUNG KWON, O.; MATYJASZEWSKI, K. **ATRP in design of functional materials for biomedical applications.** Progress in Polymers Science. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.08.001, 2011.

SIGMA ALDRICH. **Product Specification: Glycolic acid.** Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com>>. Acessado em: 30/01/2017.

SILVEIRA, Sheila Mello da; CUNHA, Anildo Jr.; SCHEUERMANN, Gerson Neudí; SECCHI, Fábio Luiz; VERRUCK, Silvani; KROHN, Marisete; VIEIRA, Cleide Rosana Werneck. **Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Cymbopogon winterianus* (citronella), *Eucalyptus paniculata* (eucalyptus) and *Lavandula angustifolia* (lavender).** Rev Inst Adolfo Lutz. 71(3):471-80, 2012.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds.** John Wiley & Sons, INC. Seventh edition. 2005.

SILVIA, J. A.; APOLINÁRIO, A.C.; SOUZA, M.S.R.; DAMASCENO, B.P.G.L.; MEDEIROS, A.C.D. **Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas.** Rev Ciênc Farm Básica Apl.,31(3):125-131, 2010.

SIVAL, J. A.; APOLINÁRIO, A. C.; SOUZA, M. S. R.; DAMASCENO, B. P. G. L.; MEDEIROS, A. C. D. **Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas.** ev Ciênc Farm Básica Apl;31(3):125-131 ISSN 1808-4532., 2010.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Princípios de análise instrumental**. Cengage Learning Editores. Sexta edição. México. 2008.

SMITH, Willian. **Principles of Material Science and Engineering**. Editora McGRAW-Hill. 3ª Edição. Portugal. 1998.

SOLOMON, B.; SAHLE, F. F.; GEBRE-MARIAM, T.; ASRES, K.; NEUBERT, R. H. H. **Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 80, 61–66, 2012.

SONGKRO, Sarunyoo; HAYOOK, Narissara; JAISAWANG, Jittarat; MANEENUAN, Duangkhae; CHUCHOME, Thitima; KAEWNOPPARAT, Nattha. **Investigation of inclusion complexes of citronella oil, citronellal and citronellol with b-cyclodextrin for mosquito repellent**. J Incl Phenom Macrocycl Chem, 72:339–355, 2012.

SOUTO, Eliana B.; SEVERINO, Patrícia; SANTANA, Maria Helena A. **Preparation of polymeric nanoparticles by polymerization of monomers - Part I**. Polímeros vol.22 no.1 São Carlos, 2012. Epub Feb 09, 2012.

SOUZA, V.B.; FERREIRA, J.R.N. **Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca L.*)**. Rev Ciênc Farm Básica Apl.;31(3):217-222, 2010.

SPRICIGO, Rodrigo; BOTELHO, Kátia C.A.; CONSIGLIERI, Vladi O.; SERRA, Cristina H.R. **Obtenção e Avaliação de Complexos de Inclusão de Furosemida com  $\beta$ -ciclodextrina e hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina: Efeitos sobre as Propriedades de Dissolução do Fármaco**. Lat. Am. J. Pharm. 27 (5): 645-53, 2008.

STEFANI, Germana Pimentel; PASTORINO, Antonio Carlos; CASTRO, Ana Paula B. M.; FOMIN, Angela Bueno F.; JACOB, Cristina Miuki A. **Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças**. Rev Paul Pediatr;27(1):81-9, 2009.

STOKES, Debbie J. **Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM)**. John Wiley & Sons Ltd. UK. 2008.

SYED, Zainulabeuddin; PELLETIER, Julien; FLOUNDERS, Eric; CHITOLINA, Rodrigo F.; LEAL, Walter S. **Generic Insect Repellent Detector from the Fruit Fly *Drosophila melanogaster***. PLoS ONE 6(3): e17705. doi:10.1371/journal.pone.0017705. March 16, 2011.

TABOADA, Maria Elisa; VÉLIZ, Daniza M.; GALLEGUILLOS, Héctor R.; GRABER, Teófilo A. **Solubility, Density, Viscosity, Electrical Conductivity, and Refractive Index of Saturated Solutions of Lithium Hydroxide in Water + Ethanol**. J. Chem. Eng. 50, 187-190, 2005.

TAN, Chan-Yuan; HUANG, Yao-Xiong. **Dependence of Refractive Index on Concentration and Temperature in Electrolyte Solution, Polar Solution, Nonpolar Solution, and Protein Solution**. J. Chem. Eng. 60, 2827–2833, 2015.

TAWATSIN, A.; WRATTEN, S.D.; SCOTT, R.R.; THAVARA, U.; TECHADAMRONGSIN, Y. **Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors**. Journal of Vector Ecology, v.26, n.1, p.76-82, 2001.

TIAN, H.; TANG, Z.; ZHUANG, X.; CHEN, X.; JING, X.. **Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application**. Progress in Polymer Science. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.004, 2011.

TOMKINS, R. P. T.; HEFTER, G. T. **The experimental determination of Solubilities**. Wiley Series in Solution Chemistry. Volume 6. England. 2003.

UGELSTAD, J.; EL-AASSER, MS.; VANDERHOFF, JW. **Emulsion polymerization: initiation of polymerization in monomer droplets**. J Polym Sci Polym Lett; 11:503–13, 1973.

VERMA, D. D.; VERMA, S.; BLUEME G.; FAHR, A. **Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin**. International Journal of Pharmaceutics Volume 258, Issues 1–2, 4 June, Pages 141–151, 2003.

VILLANOVA, Janaína C. O.; ORÉFICE, Rodrigo L.; CUNHA, Armando. **Aplicações Farmacêuticas de Polímeros**. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 20, nº 1, p. 51-64, 2010.

WANGA, Chunlei; YANA, Juntao; CUIA, Xuejun; CONG, Dengli; WANGA, Hongyan. **Preparation and characterization of magnetic hollow PMMA nanospheres via in situ**

**emulsion polymerization.** Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 363, 71–77, 2010.

WEISS-ANGELI, Valeria; BOURGEOIS, Sandrine; PELLETIER, Jocelyne; GUTERRESA, Silvia Stanisçuaski; FESSI, Hatem; BOLZINGER, Marie-Alexandrine. **Development of an original method to study drug release from polymeric nanocapsules in the skin.** Journal of Pharmacy and Pharmacology; 62: 35–45, 2010.

WHO, World Health Organization. **Guidelines for efficacy testing of mosquito repellents for human skin.** Control of neglected tropical diseases WHO pesticide evaluation scheme. 2009.

WHO. **World Health Organization.** Disponível em: < <http://www.who.int/en/>>. Acessado em:<11/03/2017>.

WIDAWATI, Mutiara; RIANDI, M. Umar. **THE EFFECTIVENESS OF CITRONELLA (*Cymbopogonnardus L.*) MICROCAPSULES AS LARVICIDES AGAINST *Aedes aegypti* LARVAE.** International Seminar Integrated Vector Management, UNDIP. 2013.

WIJESEKERA, Rahula O. B.; JAYEWARDENE, Anura L.; FONSEKA, Botalegé D. **Varietal Differences in the constituents od Citronella oil.** Phytochemlstry, Vol. 12, PP. 2697 to 2704, 1973.

WORZAKOWSKA, Marta. **Thermal properties of citronellyl diesters.** J Therm Anal Calorim, 118:299–309, 2014.

XU, Pingxi; LEAL, Walter S. **Probing insect odorant receptors with their cognate ligands: Insights into structural features.** Biochemical and Biophysical Research Communications 435, 477–482, 2013.

YALKOWSKY, S.H.; HE, Yan; JAIN, P. **Handbook of Aqueous Solubility Data.** Second Edition. CRC Press, Boca Raton, FL p. 438, 2010.

YI, Allen Y; LU, Wu; FARSON, Dave F.; LEE, L. James. **Overview of Polymer Micro/Nanomanufacturing for Biomedical Applications.** Advances in Polymer Technology, Vol. 27, No. 4, 188–198, 2009.

ZHANG, Xinyang; CRIPPEN, Tawni; COATES, Craig J.; WOOD, Thomas K.; TOMBERLIN, Jeffery K. **Effect of Quorum Sensing by *Staphylococcus epidermidis* on the Attraction**

**Response of Female Adult Yellow Fever Mosquitoes, *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae), to a Blood-Feeding Source.** PLOS ONE 10 (12).

DOI:10.1371/journal.pone.0143950. December 16, 2015.

# Apêndice

## Apêndice A

Curvas de calibração foram desenvolvidas seguindo os procedimentos dos itens 3.3.4 e 3.3.5, para análises de eficiência de encapsulamento e composição do óleo essencial de citronela. Na Figura A.1 a curva de calibração foi preparada utilizando o etanol como solvente e o óleo essencial de citronela como padrão para as análises realizadas em Espectrofotômetro UV/Vis. A curva demonstrada na Figura A.2 foi desenvolvida utilizando o citronelal como padrão e o heptano como solvente para as análises de eficiência de encapsulamento realizadas no GC/MS. A curva demonstrada na Figura A.3 foi utilizada para as análises de composição do óleo essencial de citronela e seguiu o mesmo procedimento das curvas anteriores utilizando o hexano como solvente, o equipamento utilizado foi o GC. Todas as calibrações obtiveram coeficientes de correlação elevados e comportamento linear, refletindo a proporcionalidade entre a concentração do bioativo e a resposta obtida.

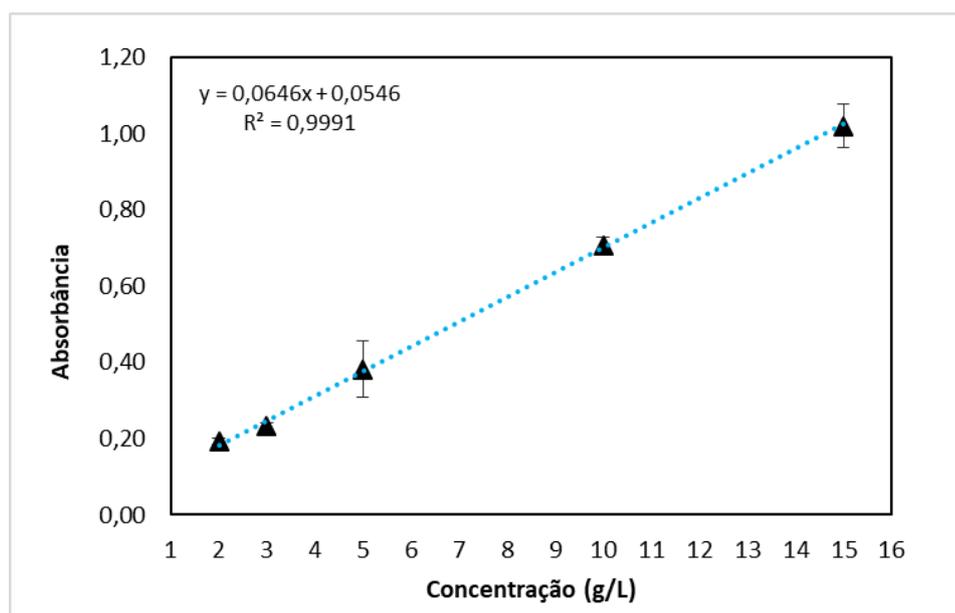


Figura A.1- Curva de calibração do óleo essencial de citronela em etanol utilizada para análises de eficiência de encapsulamento.

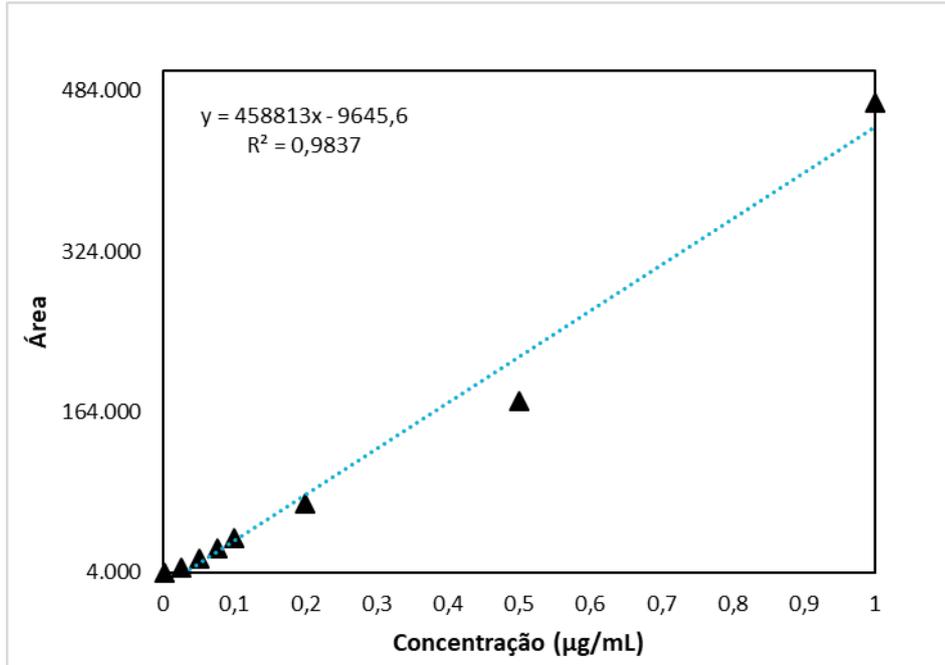


Figura A.2- Curva de calibração do citronelal em heptano utilizada para análises de eficiência de encapsulamento.

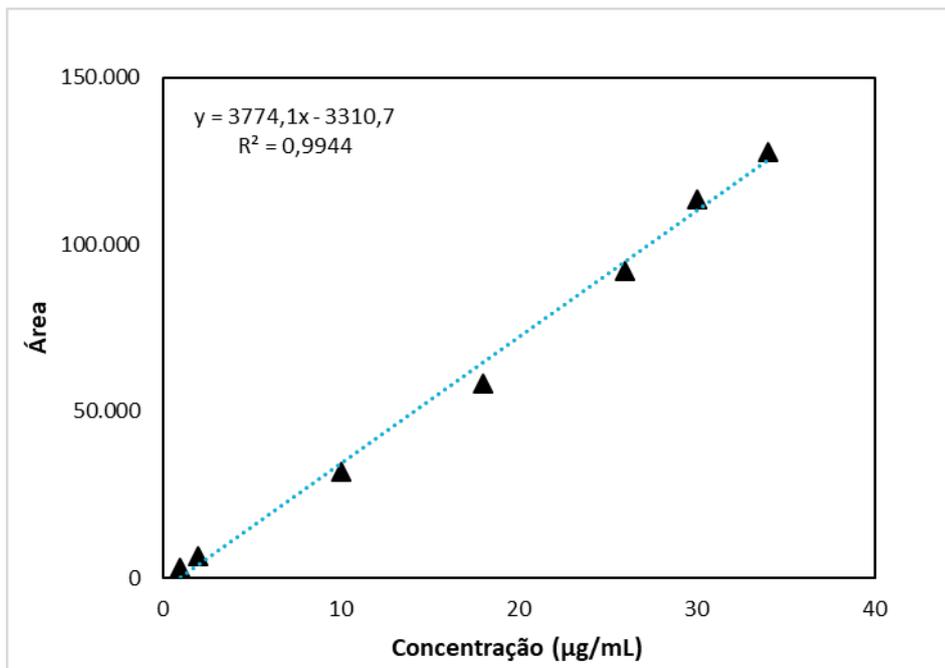


Figura A.3- Curva de calibração do citronelal em hexano utilizada para análise de composição do óleo essencial de citronela.

## Apêndice B

Testes preliminares de polimerização em massa foram efetuados em tubos de ensaio com o objetivo de avaliar a possibilidade de polimerização dos monômeros MMA e VAc na presença do óleo essencial de citronela. Diferentes proporções de monômeros e bioativo foram utilizadas, mantendo-se constantes a massa de iniciador (1% m/m) e a temperatura (70°C) (Tabela B.1).

Nos testes efetuados utilizando o MMA como monômero, as reações de polimerização foram visualmente perceptíveis, inclusive com o efeito gel eminente, característica presente nas reações de polimerização de MMA. (PEIXOTO, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Entretanto, não foi observada as reações de polimerização quando o monômero VAc foi utilizado.

Tabela B.1- Reações de polimerização em massa utilizando MMA e VAc como monômero em diferentes proporções do óleo essencial de citronela como bioativo.

Condições da Polimerização em Massa						
	Monômero	(%)	(g)	Bioativo	(%)	(g)
Tubo 1	MMA	100	9,65	Citronela	0	-
Tubo 2	MMA	95	9,32	Citronela	5	0,29
Tubo 3	MMA	90	8,54	Citronela	10	1,74
Tubo 4	MMA	85	8,41	Citronela	15	1,17
Tubo 5	MMA	80	8,05	Citronela	20	1,57
Tubo 6	MMA	75	7,51	Citronela	25	1,92
Tubo 7	MMA	70	6,90	Citronela	30	2,37
Tubo 8	VAc	100	9,81	Citronela	0	-
Tubo 9	VAc	95	9,09	Citronela	5	0,28
Tubo 10	VAc	90	8,66	Citronela	10	0,76
Tubo 11	VAc	85	8,17	Citronela	15	1,09
Tubo 12	VAc	80	7,72	Citronela	20	1,55
Tubo 13	VAc	75	7,30	Citronela	25	1,87
Tubo 14	VAc	70	6,94	Citronela	30	2,34
Condições Reacionais						
Iniciador	(%)	(g)	Temperatura: 70°C		Tempo: 3 hs	
BPO	1	0,1	Volume total do Tubo: 10mL			

## Apêndice C

Testes de solubilidade de substâncias terapêuticas em metacrilato de metila e acetato de vinila foram efetuados. Os estudos de solubilidade, realizados no óleo de coco e no ácido glicólico em MMA e VAc, foram efetuados de forma qualitativa e dividido em duas etapas. Na primeira etapa, uma análise visual foi realizada no intuito de observar a formação de fase única ou duas fases. A segunda etapa do estudo envolveu a análise de solubilidade através do índice de refração. Nessa fase, analisou-se apenas o monômero MMA por se mostrar mais promissor para a realização das reações de polimerização.

Os resultados mostraram, visualmente, que o ácido glicólico era insolúvel nos dois monômeros testados em todas as concentrações mássicas avaliadas com formação de duas fases. O óleo de coco, opostamente, apontou solubilidade/miscibilidade tanto no MMA quando no VAc.

O óleo de coco se mostrou muito solúvel no MMA, sendo difícil identificar um ponto de saturação da solução. Os índices de refração do óleo de coco puro a 18°C, 25°C e 38°C foram respectivamente: 1,4545, 1,4535 e 1,4485, em conformidade com as especificações técnicas. (FERQUIMA, 2017). Nas Figuras C.1 e C.2, os valores de índice de refração do óleo de coco em solução com MMA são apresentados. O valor do índice de refração da solução sofre acréscimo à medida que a concentração de óleo de coco é aumentada. Não é perceptível um ponto de saturação na solução, demonstrado que o óleo de coco possui grande solubilidade em MMA.

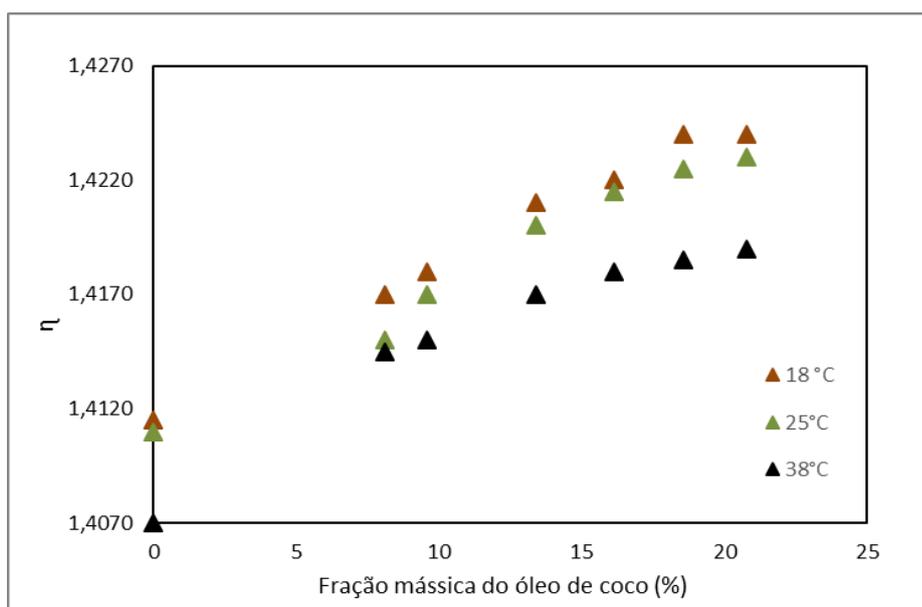


Figura C.1- Valores de índice de refração do óleo de coco a 18°C, 25°C e 38°C, influência da concentração mássica e temperatura.

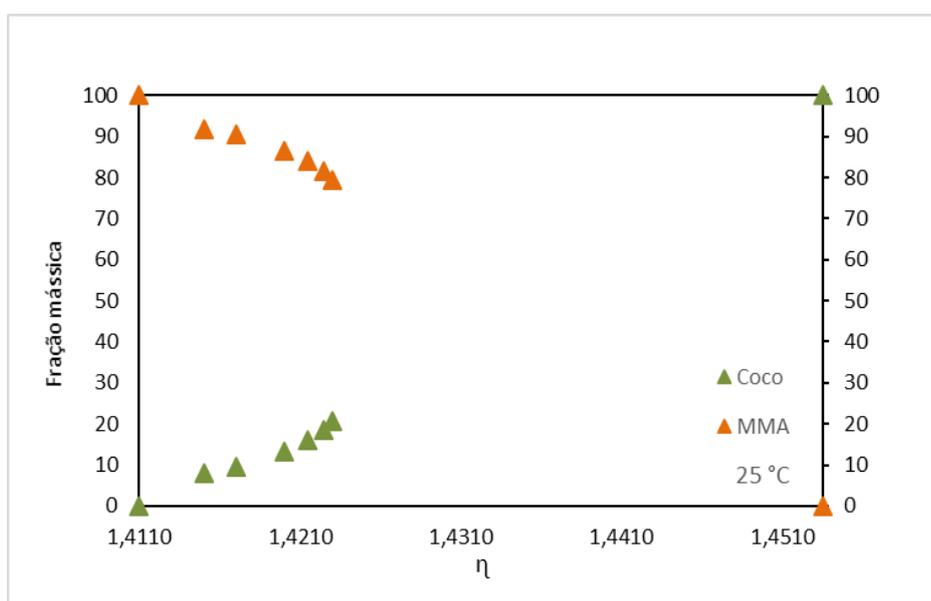


Figura C.2- Valores de índice de refração do óleo de coco a 25°C, influência da concentração.

O comportamento do índice de refração da solução com ácido glicólico é totalmente diferente se comparado ao óleo de coco. Quando o ácido glicólico é adicionado à solução, o valor do índice de refração muda rapidamente se mantendo constante, independente da concentração mássica de ácido que é adicionada. Esse ponto de estagnação do índice de refração é o ponto de saturação da solução (Figura C.3). Isso constata que o ácido glicólico apresenta baixa solubilidade no MMA. Nesse caso, o ácido glicólico não se mostra adequado como

bioativo a ser encapsulado pela técnica de polimerização *in situ* via miniemulsão com esse monômero. Os índices de refração do ácido glicólico puro a 18°C, 25°C e 38°C foram respectivamente: 1,4070, 1,4055 e 1,4040.

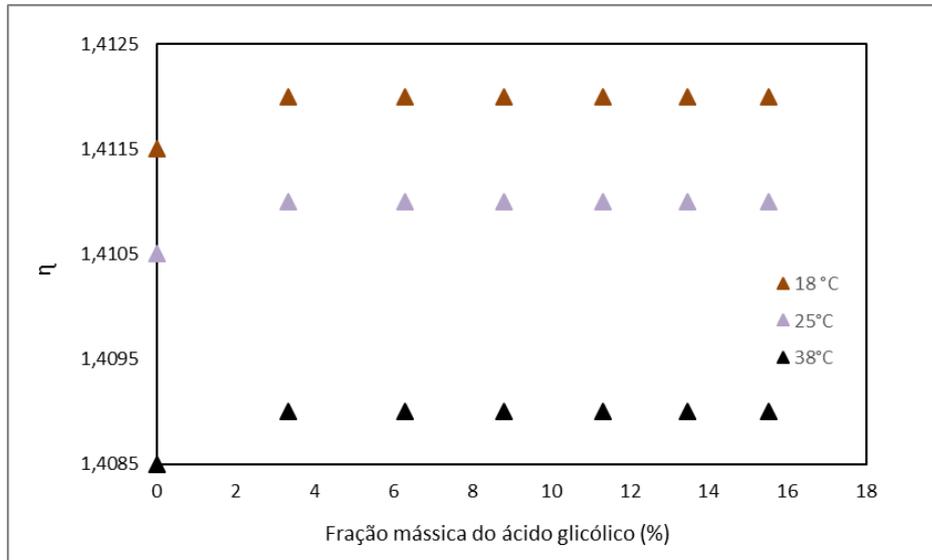


Figura C.3- Valores de índice de refração do ácido glicólico a 18°C, 25°C e 38°C, influência da concentração mássica e temperatura.

**UFBA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**ESCOLA POLITÉCNICA**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI**

Rua Aristides Novis, 02, 6º andar, Federação, Salvador BA  
CEP: 40.210-630  
Telefone: (71) 3283-9800  
E-mail: [pei@ufba.br](mailto:pei@ufba.br)  
Home page: <http://www.pei.ufba.br>

