



## ESTUDOS DE CARACTERIZAÇÃO DE MICROENCAPSULADOS DE RESVERATROL

Sabrina Ambrósio de Lima Souza<sup>1</sup>, Rodolfo Êlleson dos Santos Arruda<sup>2</sup>, Ticiano  
Gomes do Nascimento<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alagoas, <sup>2</sup> Universidade Federal de Alagoas , Universidade  
Federal de Alagoas <sup>3</sup>

Sabri\_ambrosio@hotmail.com<sup>1</sup>, Rodolfo.elleson@gmail.com<sup>2</sup>, Ticianogn@yahoo.com.br<sup>3</sup>

**Tipo de Apresentação:** Comunicação oral

### 1. Introdução

O resveratrol (3,5,4'-triidroxil-estilbeno) é um polifenol que desempenha diversas funções biológicas no organismo humano com sua ação antioxidante, anti-inflamatória, antifúngica, retardamento de envelhecimento, como também, ação anticarcinogênica em diversos estágios da evolução da doença. Esse composto polifenólico que pode ser encontrado em mais de 70 espécies de plantas, e apresenta-se em alimentos da dieta humana, principalmente, uvas e vinhos tintos, oferece essas características tão admiradas devido ação do seu isômero mais ativo, trans-resveratrol que através da luz UV, converte-se em seu enantiômero menos ativos, cis-resveratrol. Devido a tantas ações benéficas à promoção e prevenção da saúde, que desde 1997, depois da publicação de Jang e colaboradores, que demonstrou o isômero trans-resveratrol com ação quimiopreventiva, que deu-se impulso aos crescentes estudos relacionados às propriedades do resveratrol, especialmente na sua forma encapsulada, de maneira a obter-se um controle da conservação de suas características e de sua liberação no organismo (SOLEAS et al., 1997; BAUR; SINCLAIR, 2006).

A metodologia utilizada baseou-se na técnica apresentada por Fessi e colaboradores para obtenção da micropartícula encapsulada sob agitação, utilizando-se um biopolímero (CAZO et al, 2012) e secagem das amostras por liofilização, para posteriormente realizar análises que demonstraram o seu grau de encapsulamento, homogeneidade, solubilidade e degradação (BOSS et al, 2004; ARAÚJO, 2011)

Este trabalho teve como objetivo realizar estudos de caracterização de encapsulados de resveratrol em matriz polimérica através de análises químicas para demonstrar seu comportamento comparando-o ao da matéria-prima.



O presente trabalho foi dividido em três partes. Na primeira parte foi descrito todo o conteúdo relacionado às análises de forma a esclarecer do que se trata a pesquisa. A segunda parte demonstra o passo a passo de toda metodologia utilizada para sua concretização. E na última parte foi apresentado todos os resultados e discutidos de forma a esclarecer eventuais dúvidas. O trabalho foi finalizado com a conclusão acerca de todo o conteúdo explanado e a importância do estudo para a comunidade acadêmica.

## 2. Referencial Teórico

### 2.1 Resveratrol

O resveratrol foi descoberto em 1940, isolado das raízes de *Veratrum gradiflorum* O. Loes e, posteriormente, no ano de 1963, a partir de *Polygonum cuspidatum*, planta utilizada na medicina tradicional chinesa e japonesa. Porém foi apenas na década de 90 quando o trans-resveratrol foi identificado no vinho e com a publicação de Jang e colaboradores demonstrando que o resveratrol possui ação quimiopreventiva ao câncer em múltiplos estágios, que esse polifenol ganhou um real destaque e cresceram exponencialmente estudos evidenciando sua variedade de bioativos associados à promoção à saúde (SOLEAS et al., 1997;BAUR; SINCLAIR, 2006).

A nomenclatura do resveratrol segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) é 3,5,4'- triidroxí-estilbeno, com fórmula química  $C_{14}H_{12}O_3$  e massa molar de 228,25 g.mol<sup>-1</sup>(LU et al, 2009). Em sua estrutura molecular estão presentes dois anéis aromáticos ligados por um grupo vinila, pertencente a classe dos polifenóis estilbeno, não-flavonóides, e que apresenta duas isoformas provenientes da oxidação na luz UV, isômeros cis e trans (figura 1). O isômero trans possui maior atividade biológica, se protegido da luz UV e de pH elevado. Encontrado em mais de 70 espécies de plantas, o resveratrol é um composto químico que está presente principalmente na casca da uva e sementes, vinho tinto, mas também em oleaginosas(DORÉ,2005).



A biossíntese do resveratrol compreende a condensação entre três moléculas de malonil-CoA e uma de 4-coumaroil-CoA através da catalisação da enzima resveratrol sintase, obtendo ainda quatro moléculas de CO<sub>2</sub>(KING et al., 2006)(figura 2). Essa síntese ocorre praticamente de forma exclusiva na casca da uva, por estresse, radiações UV ou ataque de fungos, e por isso, considerado uma fitoalexina, classe de antibiótico das plantas(SOLAES,1997; LANGEAKE et al.,1979;BAUR; SINCLAIR,2006)Diversos estudos vem comprovando as propriedades biológicas antitumoral, anti-inflatória, antiplaquetária, antifúngica, neuroprotetora, analgésica e a mais conhecida, ação antioxidante( BAUR; SINCLAIR,2006).

Diversos fatores como origem geográfica, luz solar, ataque de fungos e produção e conservação do vinho provocam uma variação nos níveis de resveratrol nas uvas (SOLARES et al., 1997) e, estudos mostraram que os vinhos brasileiros possuem umas das maiores concentrações de resveratrol do mundo, cerca de 2,57 mg/L, perdendo apenas para os franceses com 5,06 mg/Lacredita-se que pela umidade do clima gaúcho há facilidade de ação fúngica, desencadeando uma maior produção de resveratrol (SOUTO et al, 2001)

Diante de tantas propriedades benéficas aos seres humanos, o resveratrol vem sendo utilizado como suplemento alimentar, em cosméticos e em diversos estudos biológicos e químicos estão sendo desenvolvidos para determinar o seu comportamento.

## **2.2 PCL**

O PCL (Poli(ε-caprolactona)) também conhecido como biopolímero linear da classe dos poliésteres alifático, com cristalinidade de 50%, portanto um semicristalino; hidrofóbico e de origem sintética que vem sendo bastante estudado devido a sua utilização em sistema de liberação controlada de fármacos (CHIELLINI; SOLARO, 1996; ALVES, 2008), por sua ampla utilização na área médica, como por exemplo, em próteses de tecido ósseo, ficando sujeito a degradação no organismo humano principalmente pelo ciclo de Krebs (DOBRZAŃSKI et al, 2015) e também utilizado para produção de embalagens(BALKOSE et al, 2014). A degradação por microrganismos depende da morfologia do polímero, especialmente a cristalinidade (RIZZARELLI et al, 2004; GU, JD, 2003). No caso de polímero semicristalinos como o PCL, o agente antimicrobiano encontra barreiras na penetração dos cristais, limitando-se à fase amorfa. Apresenta uma temperatura na faixa de



transição vítrea(Tg) de  $-60^{\circ}\text{C}$  e um ponto de fusão baixo, por volta de  $60^{\circ}\text{C}$ , com tempo de degradação de cerca de 2 anos (LILI, 2007). O PCL utilizado neste trabalho tem massa molecular média de 10.000 g/mol da Sigma Aldrich com fórmula molecular  $(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2)_n$ (figura 3).

Por apresentar as características de hidrofobicidade e cristalinidade, esse polímero possui uma degradação bastante lenta, cerca de 2 a 3 anos(ALVES, 2008).Seu uso justifica-se por não ser um produto tóxico, ter elevada permeabilidade, ser biocompatível e biodegradável, ter alta resistência à hidrólise química e ser aquiral, portanto, impede que haja modificação na configuração estrutural desse polímero (PITT,1990).Geralmente, o PCL vem sendo sintetizado através de polimerização de massa, em suspensão ou em solução, utilizando um iniciador organometálico na ausência ou presença de um co-iniciador que contém hidrogênio ativo. A policaprolactona e seus copolímeros podem ser sintetizados por dois métodos químicos que, policondensação e polimerização pela abertura do anel de ésteres cíclicos, mais conhecido como ROP (Ring Opening Polymerization) para obtenção de polímeros com alta massa molecular (LILI, 2007; SANTOS, 2011; CASTRO, 2006). Esse biopolímero é solúvel em diversos solventes orgânicos.

### 2.3 Pluronic

O pluronic F 108 (Poly(ethylene glycol)-block-poly(propylene glycol)-block-poly(ethylene glycol)) é um polímeros tribloco não-iônicos da família dos poloxâmeroscom fórmula molecular geral  $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$ . (SHENOY, 2005)(figura 4). Os poloxâmeros são um grupo de mais 30 agentes ativos sintetizados em elevadas temperatura e pressão, por adição de óxido de propilcna e óxido de etileno a propileno glicol sob ação de um catalizador alcalino. Este é neutralizado e o sal neutro resultante, geralmente, fica detido no produto final (SCHMOLKA,1973). No âmbito comercial, além de serem conhecidos como pluronic, também são chamados de synperonics (CRODA, 2016) ou kolliphor(BASF, 2012). Podem ser encontrados comercialmente na forma líquida, sólida e semi-sólida e utilizados na indústria farmacêutica como emulsionantes, agentes tensoativos,



agentes molhantes e agentes de solubilização. O surfactante promove de forma simples a modificação de superfície e a estabilidade das nanopartículas da matriz polimérica de PCL (SHENOY, 2005).

## **2.4 Microencapsulação**

As micropartículas são definidas como sistemas sólidos à base de polímeros (naturais, semi-sintéticos ou sintéticos) ou outros materiais, biodegradável ou não, com dimensões macrométricas, e que servem de transporte para substâncias ou fármacos. (REIS, 2007; COUVREUR et al, 1995). As micropartículas são subdivida em dois tipos: microesferas e microcápsulas. As microesferas correspondem a um sistema de matrizes em que um fármaco ou substância pode ser encapsulados no interior da microesfera, de forma homogênea ou heterogênea, ou adsorvido a superfície da mesma. Diferente das microesferas, as microcápsulas são sistemas vesiculares em que o fármaco, ou outro material a ser encapsulado ficam restritos a um núcleo líquido ou sólido limitado por um invólucro, membrana polimérica, de maneira adsorvida ou suspensa, ou ainda aderido à superfície da microcápsula (REIS, 2007).

## **2.5 Espectroscopia eletrônica na região ultravioleta visível UV-VIS**

A análise espectroscópica com ultravioleta visível compreende transições de elétrons provenientes de regiões de baixa energia para outro mais energético. Nessa análise são detectadas a intensidade da radiação promovida e absorvida é detectada pelo aparelho e esta é calculada (CONCEIÇÃO et al, 2014). Constituem meio de determinar parâmetros físico-químicos, como velocidade das reações e constantes de equilíbrio, de modo que absorve radiação, medidas pós derivação química e acoplamento de variadas técnicas e processos, como é o caso da cromatografia, eletroforese e análise de fluxo. A unidade de medida do aparelho ultravioleta compreende uma faixa de comprimento de até 4000 nm. O espectro de absorção permite identificação de substâncias, grupamentos químicos e comprimento de onda para a dosagem das substâncias. A espectrofotometria é baseada na lei de Lambert-Beer que calcula as medidas de absorção de radiação de amostras líquidas,



sólidas ou gasosas nas regiões UV e de infravermelho do espectro eletromagnético, utilizando base matemáticas. Através de cálculo consegue-se determinar o comportamento de soluções diluídas na concentração máxima de  $0,001 \text{ molL}^{-1}$ , em que compreende a transmitância, fração da radiação incidente transmitida pela amostra, e a absorbância, condicionada à natureza do comprimento de onda e do material absorvente. Tem como unidades  $\text{cm}^{-1} \text{ g}^{-1}\text{L}$  ou  $\text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$  para concentração em unidade de mol/L. (ROCHA, 2004).

## 2.8 Infravermelho

A radiação infravermelha (IR) está relacionada ao espectro eletromagnético da região visível e das micro-ondas, e subdivididas em IR-próximo, IR- médio e IR-distante, com frequência e comprimento de onda proveniente de uma absorção dependente das massas relativas dos átomos, da geometria e das constantes de força das ligações dos átomos (SKOOG et al, 2009; SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). A região de maior interesse para análise orgânica está localizada entre  $4000$  e  $400 \text{ cm}^{-1}$  (SKOOG et al, 2009) e de  $4000$  a  $670 \text{ cm}^{-1}$  para Silverstein; Webster, 2000. No entanto, fica claro que os dois autores citados concordam que a região IR-médio é a de maior relevância para estudos orgânicos instrumentais. Segundo Silverstein; Webster, 2000, a região do infravermelho próximo se enquadra entre  $14.290$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ . Já Skoog et al, 2009, diz que o número de ondas máximo se limita a  $12.800 \text{ cm}^{-1}$ , divergência que ocorre nas outras duas subdivisões. No presente trabalho o número de ondas compreendeu valor mínimo acima de  $700 \text{ cm}^{-1}$ .

No infravermelho pode-se trabalhar com amostras líquidas, sólidas e gasosas. Mesmo moléculas simples podem gerar espectro complexo, e apesar deste demonstrar a molécula como um todo, há grupos funcionais que originam bandas mais ou menos na mesma frequência, e por isso torna-se necessário a utilização de tabelas e de informações estruturais úteis para identificação da estrutura molecular. Existe um espectro característico para cada substância, com exceção dos compostos enantiômero.

A radiação infravermelha absorvida é convertida em energia de vibração, na faixa aproximada de  $10.000$  a  $100 \text{ cm}^{-1}$ , como também pode ser quantizado, aparecendo um espectro vibracional relacionado a uma série de transformações de níveis de energia



rotacional. As bandas observadas que surgem de linhas que se sobrepõem, são correspondentes a região de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; SANNA et al, 2013). As intensidades das bandas podem ser expressas como absorvância(A) ou transmitância(T). A transmitância é a razão entre a energia radiante transmitida por uma amostra e a energia radiante que nela é incidida. A absorvância corresponde ao logaritmo decimal do inverso da transmitância, ou seja,  **$A = \text{Log } 10(1/T)$** .

As vibrações que as moléculas provocam podem ser classificadas em deformações axiais ou angulares. A vibração de deformação do tipo axial é um movimento rítmico no eixo da ligação fazendo com que a distância interatômica aumente ou diminua de forma alternada. Já as vibrações de deformação do tipo angular, correspondem a variações rítmicas de ligações que tem um átomo em comum ou o movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula sem que haja alteração das posições relativas dos átomos. São observadas pelo infravermelho convencional apenas as vibrações que levam a modificações rítmicas do movimento de dipolo da molécula.

Cada átomo considera três graus de liberdade de uma molécula que correspondem as coordenadas do plano cartesiano (x,y e z) fundamentais para descrever suas localizações relativas aos demais átomos da molécula.

A interpretação do espectro de infravermelho compreende pré-requisitos para ser confiável:

- O material utilizado deve ser razoavelmente puro;
- Apresentar resolução adequada e intensidade razoável;
- A metodologia de manipulação deve ser identificada, caso o material analisado esteja em meio aquoso, indicar o solvente, a concentração da solução e o passo óptico da célula utilizada;
- Realizar a calibração contra padrões, de modo que as bandas sejam observadas nos comprimentos de onda e frequências corretos. (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).



## **2.9 Tamanho de partícula e potencial zeta**

A determinação do tamanho de partícula e potencial zeta é um indicador da estabilidade de uma dispersão. O tamanho das partículas é influenciado pela composição da formulação, métodos utilizados para preparo, condições estabelecidas para produção como, tempo de preparo, temperatura e liofilização, visto que formulações adequadas devem apresentar diâmetro menor do que 1  $\mu\text{m}$  (REIS, 2007).

O potencial zeta caracteriza a carga elétrica global na superfície de uma partícula a velocidade de uma dada partícula por unidade de campo elétrico que demonstra a mobilidade eletroforética de partículas e é calculada pela aplicação de um campo elétrico sobre a dispersão de íons no meio aquoso, gerando força iônica forte ou fraca (LIMA, 2013), com resultado expresso com valores de potencial zeta compreendido entre -10 e +10 mV, considerados aproximadamente neutro, enquanto que as nanopartículas com valores de +30 mV maior do que ou menor do que -30 mV são considerados fortemente catiônicos e aniônicos (CLOPQSTON; PATRI, 2011).

## **2.10 Análise termogravimétrica TGA**

A análise termogravimétrica (TGA) é a técnica analítica que acompanha as mudanças de massa da amostra registrada continuamente em função da temperatura ou tempo programados, enquanto a temperatura da amostra é aumentada. O termograma ou curva de calibração é um gráfico de massa ou porcentagem de massa em função do tempo. O aparelho TGA apresenta uma microbalança sensível ou termobalança, em que a faixa usual de massa da amostra a ser analisada é de 1 a 100 mg, com muitas das balanças com capacidade para percepção de variações tão pequenas quanto 0,1  $\mu\text{g}$ . O aparelho apresenta ainda um forno, um sistema de gás de purga que proporciona uma atmosfera inerte ou mesmo relativa e um computador para controle do aparelho, aquisição e processo de dados. Os fornos para TGA compreendem uma faixa de temperatura ambiente até 1000  $^{\circ}\text{C}$ , apesar de alguns atingirem





1600 °C (SKOOG et al, 2009) ou 2000 °C (DENARI; CAVALHEIRO, 2012) com razão de aquecimento entre 1 °C cm<sup>-1</sup> a 100 °C cm<sup>-1</sup>. O nitrogênio ou argônio geralmente são utilizados para purgar o forno e prevenir a oxidação da amostra. Como um dos fatores mais importante tem-se as panelas feitas de alumínio, alumina ou platina, e esta é a mais frequentemente utilizada por ser inerte e fácil de limpar (SKOOG et al, 2009).

Diversos fatores instrumentais e que envolvem a amostra podem afetar o resultado da análise termogravimétrica. Em relação as interferências instrumentais estão a razão de aquecimento do forno, velocidade de registro, atmosfera do forno, geometria do suporte da amostra, sensibilidade da balança e composição do suporte da amostra. Já em relação aos interferentes da amostra é importante considerar a quantidade da amostra, a solubilidade dos gases envolvidos, o tamanho da partículas e o calor da reação, empacotamento da amostra, a natureza da amostra e a condutividade térmica são alguns dos fatores que podem afetar a medida do TGA (DENARI ; CAVALHEIRO, 2012).

### 2.11 Fotoestabilidade do resveratrol

A fotoestabilidade é a capacidade que uma molécula possui de não sofrer transformações estruturais após absorver fótons da radiação UV. A energia de absorção de um fóton por uma molécula que se encontrava num estado fundamental é dissipada através de desativação vibracional ou por emissão de um fóton, ou a molécula excitada pode sofrer reações fotoquímicas gerando radicais livres, fotodegradação ou formação de foto produtos (enantiômeros cis e trans (FREITAS, 2013)). O resveratrol é uma substância fotossensível que diante da luz UV apresenta duas isoformas, cis e trans, em que esta é a forma mais ativa do composto (DORÉ, 2005).

### 3. Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análises Farmacêuticas e Alimentícia (LAFa-UFAL), além da análise em UV-VIS. No Laboratório TecNano-UFAL foram realizados: determinação do tamanho de partícula, potencial zeta e espectro



Infravermelho. Nos laboratórios LPQRN-UFAL e LCQA-UFAL foi feita a secagem por liofilização. E por último realizou-se análise termogravimétrica (TGA) e imagem em esteriomicroscópio de campo no Laboratório de Análise Instrumental (IFAL).

### 3.1 Preparação das amostras

O método utilizado no presente trabalho é uma adaptação do método de Fessi et al, 1989, conhecido como deslocação do solvente. Há a utilização de um polímero pré-formado, dissolvido inicialmente em uma fase orgânica com a substância de interesse a ser encapsulada, num solvente miscível em água com polaridade intermediária, e posteriormente, adiciona-se uma fase aquosa, que contém um tensoativo dissolvido no mesmo solvente, ocorrendo adição de água, agitação mecânica e posterior centrifugação, obtendo-se o precipitado da substância encapsulada. A secagem por liofilização é o último passo para obtenção do material encapsulado, com eliminação total do solvente orgânico e da água, conseguindo um material em pó de fácil dissolução.

Para o preparo da amostra foram pesados em triplicata a matéria-prima a 20% 72 mg, o PCL 2 (Polycaprolactona) 231 mg e 39mg Pluronic F 108 (Poly(ethylene glycol)). Após essa pesagem, separou-se para solubilização em acetona em duas fases: orgânica e aquosa. Na etapa da fase orgânica, o pcl foi solubilizado em um becker com 10mL de acetona, em seguida acrescentou-se aos poucos o resveratrol, todo esse processo utilizando o ultrassom por cerca de 5 minutos, então separou-se 60 eppendorfs pipetando 100µL da solução em cada um, obtendo a uma concentração de 7,2mg/mL (m/v). Já na fase aquosa, o pluronic também foi solubilizado em um becker de 100ml com 10mL de acetona, e ficou cerca de 1 minuto no ultrassom, então os eppendorfs, já com a solução orgânica, foram separados em três grupos de 20 unidades, para a adição de cada volume de 100µL, 75µL e 50µL, a ser pipetado, chegando às concentrações final de 0,6000 mg/mL(m/v), 0,6127 mg/mL(m/v) 0,6260 mg/mL (m/v) respectivamente. Para evitar a evaporação do solvente, acetona, acrescentou-se em cada eppendorfs 1mL de água milli-Q e levados ao agitador tipo vórtex para



homogeneização, deixando não mais do que 10 segundos. Todas as mostras foram centrifugadas à 5000 rpm por 15 minutos.

**Figura 10-** Abaixo, a bandeja com as amostras. A. amostra antes da centrifugação. B. Amostras após a primeira centrifugação com formação de precipitado. C. Precipitado da primeira centrifugação A1. D. Precipitação das partículas após a segunda centrifugação A1.2.

### 3.2 Coleta do precipitado

Finalizada a centrifugação, retira-se 1ml de sobrenadante e separa-se três recipientes identificando-os como S1 50 $\mu$ L, S1 75 $\mu$ L e S1 100 $\mu$ L. Já para os precipitados, separa-se três vidrarias que serão pesadas e identificadas como A1 50 $\mu$ L, A1 75 $\mu$ L e A1 100 $\mu$ L. Por ainda estarem turvos, os sobrenadantes são centrifugados novamente e após a repetição desse processo, separa-se mais três vidrarias para adicionar os precipitados, mas agora identificadas com A1.2 50 $\mu$ L, A1.2 75 $\mu$ L e A1.2 100 $\mu$ L, e os sobrenadantes são adicionados aos seus respectivos volumes da primeira centrifugação. Cobrir todos recipientes e vidrarias com amostra com papel laminado, por se tratar de uma substância fotossensível, e papel filme. Os precipitados são levados ao freezer para serem congelados a uma temperatura de ...°C por um período de 48 horas. Também foram preparados os brancos das amostras identificados como: B1 50 $\mu$ L, B1 75 $\mu$ L e B1 100 $\mu$ L, em que foi submetido ao mesmo procedimentos das amostras A1, separando-se também o seu sobrenadantes para análises posteriores.

### 4.3 Liofilização

Após 48hs de congelamento, antes de liofilizar, as mostras ficaram em banho maria em nitrogênio líquido por um período de 15 minutos numa frequência de 5 minutos. Após esse prévio congelamento e com o aparelho já a 43°C, coloca-se todas as seis amostras que



passarão pelo processo de liofilização por 24 horas, tempo suficiente para desidratar as amostras e obter o resveratrol microencapsulado em pó.

### 3.4 Tamanho de partícula e potencial zeta

Os sobrenadantes SA1 50 $\mu$ L, SA1 75 $\mu$ L, SA1 100 $\mu$ L e SB1 100  $\mu$ L , foram utilizados para medição do potencial zeta(PZ), tamanho de partícula e índice de polidispersão (IP) das dimensões das micropartículas foram medidos por Dispersão Dinâmica de Luz (DLS) num Zetasize Nano ZS90(Malvern Instruments, UK), equipado com ângulo de espalhamento de 173° e alíquota de 1,5 mL de cada amostra, a 25°C. Para realizar a medição do potencial zeta utilizou-se uma célula específica 150mV.

### 3.5 Espectrofotometria UV-Vis e de varredura

As análises com UV foram realizadas para se determinar o % do grau de encapsulamento do resveratrol, experimento dividido em duas etapas de análise: A) A<sub>1</sub> 100  $\mu$ L e B<sub>1</sub>100  $\mu$ L; B) Matéria-prima (resveratrol).

Realizamos um experimento com no aparelho UV-vis em que a leitura foi realizada em modo varredura com o alcance 200-600nm e em modo espectrometria de  $\lambda=280-305$ nm. A)Foi pesado 10mg do pó (B<sub>1</sub>100  $\mu$ L) correspondente à 2mg de resveratrol em frasco ampicilina e solubilizado em 6ml de água milli-Q e colocado no aparelho ultrassom durante 15 minutos, em seguida transferido para balão volumétrico de 10 mL completando o volume para obter concentração de 200 $\mu$ g/mL. A partir daí foi diluído em 500 $\mu$ L da solução anterior com metanol e transferiu-se para balão de 10mL para obter concentração de 10 $\mu$ g/mL. B) Pesou-se 20mg de resveratrol, matéria-prima, em frasco ampicilina, solubilizada em 6 mL de metanol, com 5 minutos no ultrassom, transferiu-se para balão volumétrico de 10mL completando volume para 10mL para obter concentração de 2mg/ML (m/v). Retirou-se 50 $\mu$ L da solução anterior e dilui-se com metanol, transferindo para balão volumétrico de 10 mL obtendo concentração de 10 $\mu$ g/mL (m/v).



### **3.6 Espectrofotometria de Infravermelho (FT-IR)**

A análise das amostras de resveratrol, A1 100 $\mu$ L, A1 100 $\mu$ L, B1 100  $\mu$ L e B1.2 100  $\mu$ L, foram realizadas no aparelho Thermo Scientific modelo Nicolet Is 10 com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e analisados por espectro KBr, no alcance de 500- 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.7 Análise termogravimétrica**

As curvas termogravimétricas (TGA) foram obtidas em um Analisador Térmico modelo TGA-51H SHIMADZU em um intervalo de temperatura de 50 a 900°C, na razão de aquecimento de 10°C/min, atmosfera de Nitrogênio, vazão de 10mL.min<sup>-1</sup>, com cadinho de Platina MACRO, sendo utilizado cerca de 2,0mg em cada análise para resveratrol, das amostras A1(50 $\mu$ L, 75  $\mu$ L e 100  $\mu$ L) B1 e B1.2 de 100 $\mu$ L.

### **3.9 Esteriomicroscópio de campo**

As imagens foram obtidas com câmera fotográfica FullHD Nikon D5100, com lente Carl Zeiss 18-55mm acoplada ao esteriomicroscópio de campo escuro COLEMAN NSZ 405 iluminado por Led transmitido com controle de luminosidade e ocular EW 10x/20mm com aumento de 50x.

## **4. Resultados e Discussões**

Para determinação do comportamento químico do resveratrol, foram realizadas as análises principais e mais simples que conseguiu apresentar resultados de como as partículas estavam dispersas no meio aquoso, a presença de grupos funcionais importantes que evidenciam a



ação desse composto fenólico, a sua degradação e oxidação, sua absorvência para o cálculo do % do grau de encapsulação.

#### **4.1 Fotoestabilidade do resveratrol**

Através da obtenção dos perfis de conversão do trans-resveratrol em cis-resveratrol na forma de percentagem de área absoluta em função do tempo, utilizando a solução padrão de 5,0  $\mu\text{g/mL}$  (m/v) conclui-se que o trans-resveratrol é extremamente sensível à luz UV 365 nm (Gráfico 1), visto que se converte em 50% em seu isômero cis a partir de 4 minutos de exposição; sendo exposto à luz branca, há uma conversão de 89% em 11 dias (Gráfico 2). Durante o período de 11 dias de análise, uma amostra foi protegida da exposição tanto da luz branca quanto da luz UV, não houve detecção de deformação do isômero cis- resveratrol, evidenciando a estabilidade do trans-resveratrol (Gráfico 3). Resultados de fotoconversão confirmados através da análise CLAE-UV à 365nm.

#### **4.2 Tamanho de partícula e potencial zeta**

O potencial zeta, o tamanho de partícula e o PDI estão demonstrados na Tabela 1. Os resultados indicam que o diâmetro da partícula está com valores bem aproximados, com exceção do S1 100 $\mu\text{L}$  que apresenta um tamanho bastante superior aos outros, mesmo assim o seu potencial zeta apresentou um valor satisfatório maior do que -30mV. As outras amostras apresentaram valores ainda mais satisfatório. O S1 100 $\mu\text{L}$  também apresentou um valor de PDI acima de 0,1, caracterizando-o como uma solução polidispersa, diferente das outras amostras que apresenta menor tensão superficial, homogeneidade maior e partícula monodispersa.



### 4.3 UV-vis de varredura e espectrofotometria

Através dos valores da Tabela 2, calculou-se o percentual do grau de encapsulação (**% grau encapsulado**)= $(Abs\ A1ouB1/Abs\ RSV) \times 100$ ) nos comprimentos de onda 210nm, 280 e 305 nm, em matriz polimérica, PCL. O grau de encapsulação para A1 foi 61,51% em 210nm, 68,60% em 280nm e 62,37% em 305nm na leitura de espectrofotometria UV-VIS. Já na análise do B1, demonstrou-se resultados 40,16% em 210nm, 30,72% em 280nm e 20,65% em 305nm. Também foi realizada análise em espectrometria em modo varredura 200 a 600nm, demonstrando de forma comparativa, o comportamento da amostra A1 100 $\mu$ L e B1 100 $\mu$ L em relação ao resveratrol, evidenciando uma estabilidade por parte da amostra encapsulada A1 em relação ao RSV (gráfico 4).

### 4.4 Infravermelho

A composição qualitativa das amostras investigadas é demonstrada através do infravermelho FT-IR. Nas bandas de 3300-3500  $cm^{-1}$  corresponde a grupos terminais de hidroxilas, que fica bastante evidente apenas no espectro do resveratrol. Para B1 e B1.2, compostas por Pluronic F108 e PCL, as bandas muito fortes ficam evidentes no alongamento da carbonila em 1770-1700  $cm^{-1}$  devido a alquil-acetona presente na estrutura do PCL. Ainda se identificam bandas fortes em 2949-2865  $cm^{-1}$ , 1300-800  $cm^{-1}$ , 1240  $cm^{-1}$  e 1190  $cm^{-1}$  correspondente, respectivamente a, CH<sub>2</sub>, C-C, COC assimétrico, e CO-O alongado. Bandas de 3000  $cm^{-1}$  e 2860  $cm^{-1}$ , devido ao estiramento C-H de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>, respectivamente. O espectro de RVS é caracterizado por bandas de C-O entre 1050 e 1300  $cm^{-1}$  e oleofinas 1010-968  $cm^{-1}$ , C=C anéis aromáticos em 1500-1600  $cm^{-1}$  de intensidade variável (SKOOG et al, 2009; SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; SANNA et al, 2013).

Há variações pequenas, mas significativas nos espectros das amostras A1 e B1 em relação a A1.2 e B1.2. Diferenças que ocorrem por mudanças na concentração durante a metodologia de preparo das amostras devido as duas centrifugações realizadas.



Fica evidente a presença do PCL nos quatro primeiros espectros, visto que quando comparado ao espectro do RVS, este apresenta bandas diferentes, suprimidas nos outros espectros. Ainda é possível fazer uma análise comparativa entre os espectros de A1 e B1 em relação a A1.2 e B1.2, evidenciando que os quatro possuem bandas muito fortes em comum, mas quando observadas bandas mais fracas, percebe-se que há comportamentos em comum que demonstram que há diferenças significativas que ocorrem no momento do preparo das amostras, entre a primeira e a segunda centrifugação.

#### **4.5 Análise termogravimétrica –TGA**

Através da análise termogravimétrica pôde-se observar o mecanismo de decomposição das amostras a uma dada temperatura de 900°C a taxa de 10°C/min. O termograma demonstra que em temperaturas próximas a 400°C dar-se início a decaimento do percentual de massa das amostras encapsuladas e dos brancos (B1 e B1.2), evidenciando um padrão de comportamento condizente com a maioria dos polímeros (SKOOG et al, 2009). O RSV apresentou dois momentos de perda de peso: um acima de 300°C e outro acima de 450°C, comportamento de degradação diferente das outras amostras, evidenciando a pureza do RSV. É importante salientar um comportamento incomum, em dois momentos do termograma: um em relação ao acréscimo de massa no início da análise de todas as amostras, evidenciando o percentual de massa maior do que 100% e; outro problema está relacionada a amostra A1 50µL que apresenta uma perda de massa abaixo de zero. Esses dois fatores não devem ser desconsiderados, já que era de conhecimento que o aparelho TGA estava apresentando alguns problemas técnicos.

#### **4.6 Esteriomicroscópio de campo**

As imagens demonstram as diferenças na morfologia das amostras. No primeiro, percebe-se o aspecto de cristais do resveratrol (A). Apesar de não ser visível a formação do encapsulado, notou-se uma mudança para um pó mais fino e mais agregado, de aspecto aparentemente de maior solubilidade, evidenciando a presença do biopolímero PCL, e conseqüentemente, das micropartículas.





#### **4.8 Rendimento da amostra**

Para conseguir obter o rendimento das amostras, todos os recipientes utilizados para armazenamento das amostras foram pesados e identificados, a partir daí pesou-se com a adição do precipitado em meio aquoso e após a liofilização. Sabendo que a massa geral utilizada para o preparo das amostras foi de 342 mg (PCL, Pluronic F 108 e RSV) e que a massa total da amostra seca foi de 128,1 mg, então o percentual da massa obtida foi de 37,45%, uma perda de 213,9mg.

#### **Referências**

ABREU, G.S. **Obtenção de compósito abrasivo no sistema d-si utilizando sinterização cíclica em altas pressões e altas temperaturas.** 2014. Dissertação de mestrado.

Universidade Estadual do Norte Fluminense.

ALMEIDA, J.F. **Atividade antioxidante e microencapsulação de extrato etanólico de tomilho (*Thumus vulgaris* L.).** Trabalho de conclusão de curso, 2013, Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

ALMEIDA, L.M.V. **Efeito do resveratrol em astrócitos: uma abordagem sobre parâmetros gliais específicos em cultura e em fatias hipocampais,** 2007. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica.

ALVES, S. S. **Síntese de poli(ésteres-uretanas) à base de polióis de poli(hidroxibutirato) e poli(caprolactona).** Dissertação de mestrado. 2008. Departamento de Físico-Química, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.



ARAÚJO, A.L. **Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa.** Trabalho de conclusão de curso. 2011.Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BARROS, Y.N.; Santos, M.J.L.; Peixoto, T.A.; Campelo, M.S.A.; Morais, S.A.; Souza, S.A.L.; Brandão, M. P.; Arruda, R.E.S.; Imai, H.; Almeida, C.P.; Nascimento, N.M.; Azevedo, L.F.; Silva, P.F.; Oliveira, J.M.; Nascimento, T.G. **Estudo de fotoestabilidade do resveratrol.** Universidade Federal de Alagoas. Resumo SBQNordeste 2015. Ago. 2015.

**BASF - Product information the chemicals catalog - Pluronic.** BASF Corporation Website. Disponível em: <[http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA~en\\_US/Catalog/ChemicalsNAFTA /info/ BASF/PRD/30089184](http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA~en_US/Catalog/ChemicalsNAFTA /info/ BASF/PRD/30089184)> .Acessado em: 22 abr 2016.

BAUR, J.A.; Sinclair, D.A. Therapeutic potentialof resveratrol: the in vivo evidence. **Nature Reviews Drug Discovery** v,5, 493-506. Jun. 2006.

BERNARDO, C. **Básico de Análise termogravimétrica.** 18p. Instituto Federal de Alagoas-IFAL. 2014.

BORDES, C.; Fréville, V.; Ruffin, E.; Marote, P.; Gauvrit, J. Y.; Briçon, S.; Lantéri, P. Determination of poly( $\epsilon$ -caprolactone) solubility parameters: Application to solvent substitution in a microencapsulation process.**International Journal of Pharmaceutics**, v. 383, p.236-243. Jan. 2010.

BOSS, E.E.; Filho, R.M.; Toledo, E.C.V. Freeze-drying process: real time model and optimization. **Chemical Engineering and Processing**, v. 13, p. 333-367. Dec. 2004.



CASTRO, M. L. **Copolímeros estatísticos biodegradáveis de  $\epsilon$ - caprolactona e 1,1-dilactideo – Síntese, caracterização e propriedades.** 2006. 150p. Tese de doutorado. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

CAZO, N.A.; Filho, E.R.P.; Siva, M.F.G.F.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Puhl, A.C.; Forim, M.R. Nanopartículas de poli- $\epsilon$ -caprolactona carregadas com hidrocortisona: preparação usando planejamento fatorial e sua avaliação. **The Electronic J. of Chemistry.** Jul. 2012.

CESUR, S.; Alp, B.; küçüköksel, Y.; Kahraman, T.; Bölköse, D. Crystallization kinetics and affecting parameters on polycaprolactone composites with inorganic and organic additives. **Journal of Vinyl & Additive Technology.** Jul.2014.

CHIELLINI, E.; Solaro, R. **Biodegradable Polymeric Materials.** VCH, 8, n 4, 1996

CLOGSTON, J.D.; Patri, A.K. Zeta Potencial measurement. **Methods Mol. Biol.** 697, 63-70. 2011.

CONCEIÇÃO, V.N.; Souza, L.M.; Merlo, B.B.; Figueiras, P.R.; Poppi, R.J.; Romão. W. Estudo do teste de scott via técnicas espectroscópicas: um método alternativo para diferenciar cloridrato de cocaína e seus adulterantes. **Química Nova.** v. 37, n° 9, 1538-1544, 2014.

COUVREUR, P.; Dubernet, C.; Puisieux, F. Controlled drugs delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** v. 41, p. 2-13, 1995.

