



Universidade de Brasília – UnB
Faculdade de Ceilândia – FCE
Curso de Farmácia

ANNA PAULA OLIVEIRA FARIA

Nanoestruturação do óleo de Baru (*Dipteryx alata* Vog.)

Ceilândia

2014

Prof. Dr. Elton Clementino da Silva

Orientador



Universidade de Brasília

Nanoestruturação do óleo de Baru (*Dipteryx alata* Vog.)

Trabalho de conclusão de curso apresentado
a Faculdade de Ceilândia, Universidade de
Brasília, como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Elton Clementino da Silva

Ceilândia

2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a quem me deu a vida e me permitiu trilhar o caminho que me conduziu até aqui: minha mãe, meu exemplo e minha heroína.

Aos mestres que tive a honra de conhecer, aprender e me inspirar. Em especial ao meu orientador, Prof. Dr. Elton, e aos discentes da Faculdade de Ceilândia Tatiana Lavich, José Eduardo Pandóssio e Paulo Barboni, por serem, ainda que sem saber, minha motivação para seguir a carreira acadêmica e me tornar uma profissional de excelência.

A todo o corpo docente da Faculdade de Ceilândia, por todo aprendizado que me foi proporcionado, pela luta diária que travamos juntos contra todos os inconvenientes que acabaram nos ensinando muito mais do que se costuma aprender na vida acadêmica.

Aos meus familiares, que acompanharam de perto minha trajetória e me sustentaram sempre que pensei em fraquejar.

Aos meus amigos, que souberam proporcionar momentos de descontração quando sentiram que eu precisava, mas também me ajudaram a manter o foco quando a situação assim pediu.

À farmacêutica Aiessa Balest Pagliarini, pelo companheirismo de bancada e muito além dela, pelo aprendizado compartilhado, pela paciência e esperança que cultivamos na execução dos trabalhos.

Aos técnicos do laboratório da Ceilândia, pelo auxílio nos procedimentos, pelas informações compartilhadas e pela confiança depositada.

E um agradecimento especial ao meu noivo, que é quem despertou em mim a vontade de construir um futuro grandioso e ser sempre alguém melhor, por mim, por ele e pela família que construiremos juntos.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO.....	5
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
1.1. BARU.....	5
1.1.1. Descrição botânica e morfológica.....	5
1.1.2. Composição físico-química da amêndoa de baru.....	9
1.1.3. Aplicações.....	11
1.1.4. Obtenção do óleo de baru.....	13
1.2. NANOCÁPSULAS.....	14
1.2.1. Poli (ϵ -caprolactona).....	17
1.2.2. Nanotecnologia na indústria cosmética.....	18
1.2.3. Características físico-químicas das nanocápsulas.....	19
1.2.3.1. Distribuição do tamanho.....	20
1.2.3.2. Potencial zeta	20
1.2.3.3. Teor de encapsulação.....	21
1.2.3.4. Estudo de estabilidade.....	22
JUSTIFICATIVA.....	22
OBJETIVOS.....	23
1. OBJETIVO GERAL.....	23
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
METODOLOGIA.....	24
1. MATERIAIS.....	24
2. MÉTODOS.....	24
2.1. OBTENÇÃO DO ÓLEO DE BARU.....	24
2.2. PREPARAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS.....	25
2.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOCÁPSULAS.....	26

2.3.1. Análise macroscópica.....	26
2.3.2. Distribuição de tamanho.....	26
2.3.3. Potencial zeta.....	27
2.3.4. Análise de pH.....	27
2.3.5. Eficiência de Encapsulamento.....	27
2.4. ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	30
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOCÁPSULAS.....	31
1.1. ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	31
1.2. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO.....	31
1.3. POTENCIAL ZETA.....	32
1.4. ANÁLISE DE PH.....	33
1.5. EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO.....	33
2. ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	37
CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

RESUMO

O cerrado brasileiro corresponde a cerca de 23% do território nacional, e estima-se que seja responsável por 5% da biodiversidade mundial. O desenvolvimento sustentável deve contemplar, simultaneamente, o aproveitamento do potencial produtor contido nesse bioma e a minimização dos impactos ambientais decorrentes de sua exploração. O baru (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie nativa do cerrado, a qual tem destaque por sua amplitude de ocorrência, propriedades nutricionais e, mais recentemente, propriedades farmacológicas. Com base nessas propriedades e nos benefícios associados à nanoencapsulação de fármacos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a nanoestruturação do óleo de baru. As nanocápsulas com óleo de baru, produzidas pelo método de precipitação de polímero pré-formado, apresentaram aspecto leitoso, diâmetro de $396,3 \pm 37,7$ nm, índice de polidispersão (PDI) de 0,3, potencial zeta de $-33,6 \pm 0,9$ mV, pH de $5,53 \pm 0,06$ e eficiência de encapsulamento de 36,02%. Após a produção das nanocápsulas, foi analisada a estabilidade da suspensão sob temperatura ambiente pelo período de 30 dias. Nas condições experimentais analisadas, as nanocápsulas contendo óleo de baru possuem características físico-químicas próprias para uso tópico e são estáveis à temperatura ambiente durante 30 dias de armazenamento.

Palavras-chave: baru, *Dipteryx alata* Vog., nanocápsulas, poli (ε-caprolactona)

ABSTRACT

The Brazilian cerrado is equivalent to about 23% of the national territory, and is estimated to account for 5% of global biodiversity. Sustainable development must include both the use of the potential producer contained in this biome and the minimization of environmental impacts of their exploitation. The baru (*Dipteryx alata* Vog) is a native cerrado specie, which is highlighted by its extent of occurrence, nutritional properties and, more recently, pharmacological properties. Based on these properties and the associated nanoencapsulation drug benefits, the aim of this study was to evaluate the nanostructuring of baru oil. Nanocapsules with baru oil produced by the preformed polymer precipitation method showed milky aspect, diameter 396.3 ± 37.7 nm, polydispersity index (PDI) of 0.3, the zeta potential of -33.6 ± 0.9 mV, pH 5.53 ± 0.06 and encapsulation efficiency of 36.02%. After the production of the nanocapsules was analyzed suspension stability at room temperature for a period of 30 days. Under the experimental conditions analyzed, the nanocapsules containing baru oil have physical and chemical characteristics appropriate for topical use and are stable at room temperature for 30 days of storage.

Keywords: Baru, *Dipteryx alata* Vog, Nanocapsules, Poly (ε-caprolactone)

INTRODUÇÃO

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 BARU (*Dipteryx alata* Vog.)

1.1.1 Descrição botânica e morfológica

O cerrado brasileiro corresponde a cerca de 23% do território nacional (CORRÊA et al, 2000) e calcula-se que este bioma seja responsável por 5% de toda a biodiversidade mundial (BORGES & ALMEIDA, 2006). A ocupação do cerrado está centrada na região Centro-Oeste, entretanto também é encontrado na fronteira ou penetrando em outros tipos de vegetação (BORGES, 2002). Quanto ao endemismo de plantas, estima-se que 1,5% de toda flora mundial é composto por espécies endêmicas do cerrado. Os progressos da globalização alcançaram a biodiversidade dos mais variados biomas, sendo estes fontes para a elaboração de drogas medicinais por comunidades tradicionais e, posteriormente, pela indústria farmacêutica.

O baru (*Dipteryx alata* Vog) é uma espécie nativa do cerrado, principalmente da região de Goiás, e tem tido destaque no cenário nacional pela amplitude de sua ocorrência (CORRÊA et al, 2000), propriedades nutricionais e, mais recentemente, propriedades farmacológicas relacionadas a tal espécie. O baru é uma espécie da família Fabaceae, classificada como leguminosa arbórea. A altura dessa árvore de grande porte pode chegar a 25 metros e seu diâmetro, 70 cm ao longo dos aproximadamente 60 anos de vida útil dessa espécie. Seu crescimento é rápido, a copa apresenta-se densa e com formato arredondado. A primeira frutificação ocorre em torno de 6 anos a depender das características do solo. (CARRAZZA, 2010; LEMOS et al, 2011; OLIVEIRA et al, 2006).

Apresenta safra bruscamente variada de um ano para outro, considerando-se para efeitos de uso comercial apenas uma safra produtiva a cada 2 anos. Em termos de produtividade, uma árvore produz aproximadamente 150 kg de fruto por safra produtiva. Cada fruto possui uma única semente, da qual são utilizados endocarpo, polpa e semente (CARRAZZA, 2010).

A copa do baruzeiro pode ser larga ou alongada, possuindo de 6 a 11m de diâmetro. Sua casca tem coloração cinza-clara, as quais se apresentam creme quando da descamação de placas de formato variável (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).



Figura 1. Árvore de baru. Fonte: Brandt, 2014.

As folhas são caracterizadas como alternas, compostas, pinadas, imparipinadas, pecioladas, sem estípulas e ráquis alada. Possui de 7 a 12 folíolos, alternos ou subopostos, subsésseis ou com pecíolo de até 2 mm (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

Apresentam limbo oblongo ou suborbicular, cartáceo, medindo entre 4 e 13 cm de comprimento e 2 a 6,5 cm de largura. Seu ápice é obtuso e abrupto-acuminado, base arredondada e irregular, truncada ou subcordada (OLIVEIRA et al, 2006). A nervura mediana apresenta-se

plana na fase ventral e as nervuras secundárias numerosas, ascendentes e salientes em ambas as faces (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

Na parte terminal dos ramos e nas axilas das folhas superiores encontra-se sua inflorescência, do tipo panícula, apresentando de 200 a 1.000 flores. Estas flores são hermafroditas, medem cerca de 0,8 cm, são curto-pediceladas e possuem cálice petaloide. O ovário é unilocular, súpero, linear e possui um só óvulo parietal inserido próximo ao ápice. No que diz respeito à citogenética, o baru é caracterizado como diploide e seu número de cromossomos é $2n=16$ (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

O fruto do barueiro possui de 1,5 a 5 cm, do tipo drupa, ovoide, pouco achatado, cálice persistente, marrom-claro. Possui endocarpo lenhoso, de coloração mais escura que o mesocarpo fibroso (ROCHA & CARDOSO SANTIAGO, 2009). Por fruto, observa-se a incidência de apenas uma semente, que é elipsoide, de dimensão e massa variadas, juntamente à massa do fruto. Sua largura varia de 0,9 a 1,3cm e seu comprimento de 1 a 3,5 cm. O tegumento possui cor brilhante que varia de marrom-amarelada a quase preta, podendo apresentar fissuras transversais (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

O fruto do baru é formado por uma casca fina e polpa adocicada que contém semente (amêndoa) dura que corresponde à fração comestível do fruto. Essa castanha representa cerca de 5% do fruto na íntegra em termos de rendimento. Todavia, a polpa é pouco inserida na alimentação humana apesar de inúmeras possibilidades de aplicação alimentícia após seu processamento (ROCHA & CARDOSO SANTIAGO, 2009).

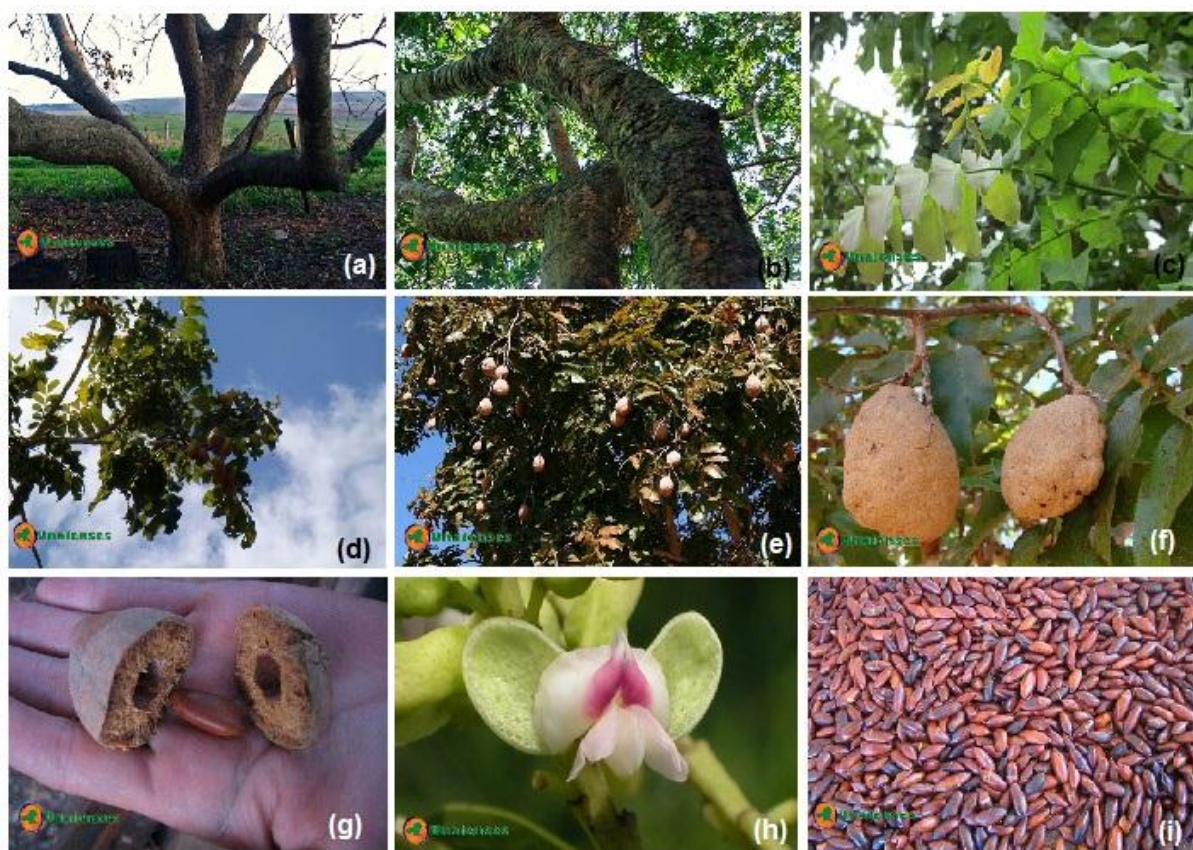


Figura 2. Características do baru. (a) Tronco do barueiro. (b) Galhos. (c) Brotos e folhas (d) Galho e frutos. (e) Copa carregada de frutos (f) Folhas de frutos. (g) Corte transversal do fruto. (h) Flor. (i) Castanhas assadas com a casca interna. Fonte: <http://unaienses.blogspot.com.br>

A ocorrência da espécie é observada em solos drenados do bioma Cerrado. A maior abundância é encontrada no Cerradão e Mata Semidecídua, sendo também frequente na fitofisionomia Cerrado Sentido Restrito e em solos areno-argilosos mesotróficos. O baru é amplamente distribuído no Brasil, podendo ser observado no Cerradão nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso, mas também no Paraguai e próximo ao complexo do Pantanal (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

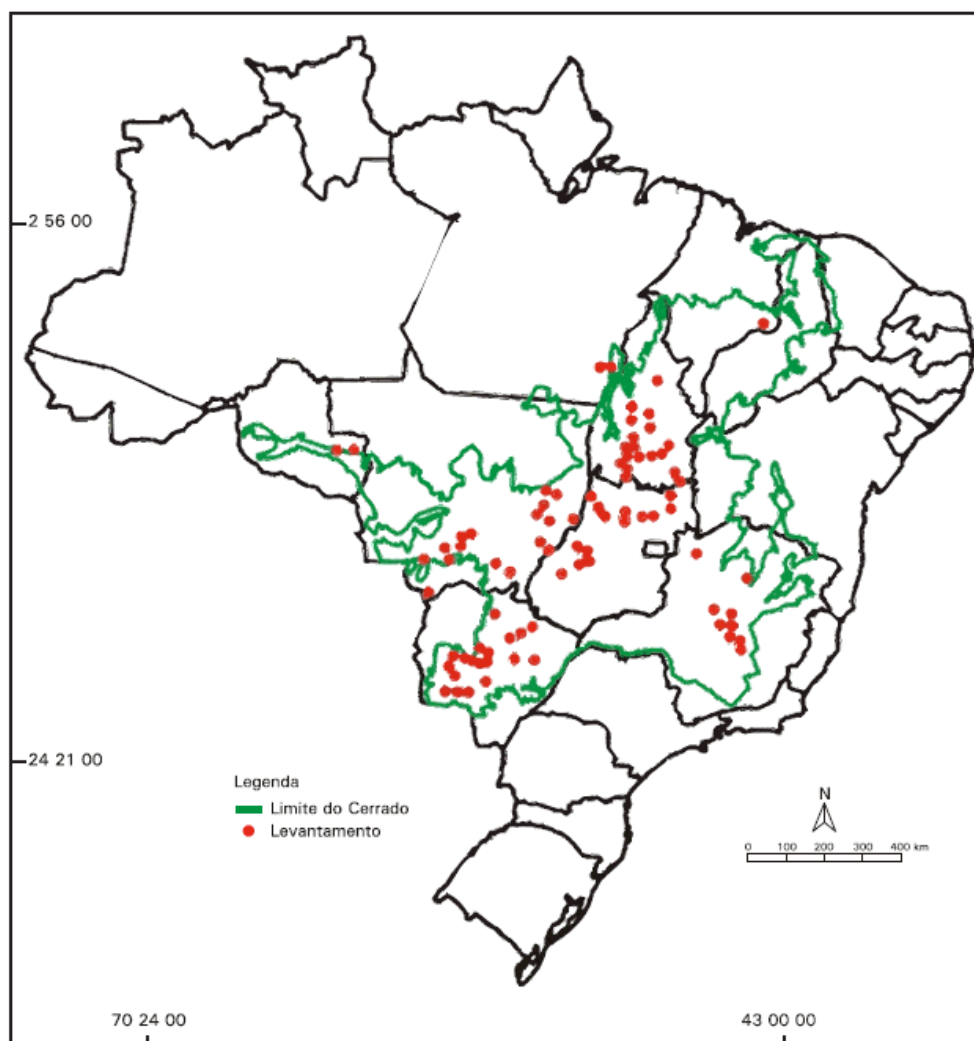


Figura 3. Distribuição geográfica do baru no Cerrado Sentido Restrito, em 84 localidades entre 316 levantamentos no Bioma Cerrado. Fonte: SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014.

1.1.2 Composição físico-química da amêndoa de baru

Os frutos do baru fornecem carboidratos, proteínas e óleo, sendo o valor nutricional da polpa de aproximadamente 300 kcal em 100 g. Dentre os carboidratos, há predomínio de amido, fibras insolúveis e açúcares. A semente possui um valor nutricional mais elevado em função da presença de óleos (40,2%), variando entre 476 e 560 kcal a cada 100g (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

A composição da amêndoa do baru é marcada pelo alto grau de instauração (TAKEMOTO et al, 2001; SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

Observam-se na Tabela 1 os principais ácidos graxos com a predominância de ácido oleico e linoleico, considerados ácidos graxos essenciais, isto é, moléculas necessárias ao organismo, mas que não são naturalmente sintetizadas por ele.

Tabela 1. Composição em ácidos graxos (%p/p) no óleo de baru *in natura*.

	Vera, 2009	Takemoto et al, 2001	Thays, 2013
Saturados	22,21	18,8	20,00
<i>Palmítico</i>	6,14	7,6	6,63
Insaturados	75,06	81,2	79,94
<i>Oléico</i>	47,65	50,4	48,80
<i>Linoléico</i>	24,04	28,0	28,26

As funções biológicas dos ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido linoleico, são variadas, sendo destacadas: manutenção da integridade das células endoteliais, prevenindo aterosclerose e alterações cardiovasculares; estimulação da liberação de insulina, inibição da vasoconstrição e agregação plaquetária; entre outras. Além disso, tais moléculas podem ainda alterar propriedades físicas das membranas, como fluidez, estabilidade e suscetibilidade ao dano oxidativo (ANDRADE & CARMO, 2006).

Além da concentração considerável de ácidos graxos, a amêndoa do baru é constituída, ainda, por tocoferóis, sendo o α -tocoferol presente em níveis comparados ao de óleo de amendoim (CORRÊA et al, 2000). Genericamente, o tocoferol corresponde à vitamina E, caracterizada pela sua lipofilicidade e por atuar na prevenção do dano oxidativo. Essa substância age como um antioxidante fisiológico das estruturas celulares.

Dentre as substâncias que compõem o baru foram identificadas algumas com propriedades antinutricionais, como tanino, ácido fítico e inibidor de tripsina (BORGES, 2013). Os taninos concentram-se na polpa e

estão ausentes na semente, sendo o teor dessas substâncias decrescentes ao longo do tempo de maturação do fruto. O inibidor de tripsina é inativado pelo processo de torragem da semente (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014; TAKEMOTO et al, 2001).

Quanto à composição em macro e micronutrientes, a semente de baru apresenta elementos como potássio, fósforo, magnésio, manganês, ferro, zinco e cobre (CÔRREA et al, 2000; VERA et al, 2009). O quantitativo de proteínas da amêndoa é mais elevado que muitas sementes popularmente utilizadas na culinária, como ervilha, grão de bico, castanha de caju e castanha do Pará (TAKEMOTO et al, 2001; SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

1.1.3 Aplicações

A utilização da amêndoa de baru na dieta de indivíduos com hipercolesterolemia moderada resultou numa melhora no perfil lipídico dos mesmos. A suplementação auxiliou na redução do colesterol total, na fração LDL e no colesterol não-HDL. Além disso, o consumo da amêndoa de baru não alterou os biomarcadores de oxidação avaliados, tornando-a apta para inclusão em dietas para redução do risco cardiovascular (NAVES, 2014).

Mesmo sem comprovação científica, a utilização tradicional do baru relaciona-se ao tratamento do reumatismo – nome popular dado às doenças reumáticas, i.e., aquelas que acometem o sistema músculo-esquelético, envolvendo ossos, articulações, cartilagens, músculos, fâscias, tendões e ligamentos (BORGES, 2002; PETEAN et al, 1997).

A utilização culinária do baru é frequente na região de Goiás, por exemplo, da cidade de Pirinópolis onde este é comercializado na forma de paçoca, barra de cereais e bolos. Deste fruto, tanto a polpa quanto a amêndoa são comestíveis e seu sabor é apontado como agradável e mais suave que o sabor do amendoim (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

O processamento dos produtos da amêndoa dá origem ainda a bebidas alcoólicas (como o Baruzeto e licor de baru), panetone e

bombom. O consumo direto da amêndoa não é indicado pela presença de inibidores de tripsina, o que afeta a absorção, dentre outros, dos aminoácidos essenciais (BORGES, 2013).

O baru tem aplicabilidade como forrageiro, sendo importante para as pastagens no sentido de fornecer abrigo para os animais e ser um alimento de valores energético e nutricional elevado, sendo consumido durante a seca quando a oferta de forragem é escassa (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

A madeira obtida a partir do baru (Figura 4) é de alta resistência a fungos e cupins, portanto é indicada para a produção de estacas, postes, vigas, caibros, taboas, tacos para assoalho. Além disso, pode ser utilizada para a fabricação de carrocerias e implementos agrícolas.



Figura 4 – Tronco do baru (à esquerda) e a madeira (à direita).
Fonte: LORENZI, Harri. “Árvores brasileiras”. Ed. Plantarum

Do fruto foi isolada a substância betafarneseno, cuja ação observada foi a inibição de atividades mediadas por acetilcolina. A utilização da casca do baru para o tratamento de dores na coluna conduziu pesquisas para a identificação das substâncias responsáveis por tal atividade terapêutica. Assim, foram isolados três compostos pentacíclicos: lupeol, lupen-3-ona e betulina.

A partir do extrato etanólico de baru foi obtida uma substância capaz de inibir a formação de melanina, a qual teve sua patente solicitada pela empresa Ichimaru Pharcos Inc. no ano de 2002.

Outra aplicabilidade do baru é no ramo de paisagismo, pois apresenta características propícias como bom crescimento, baixa necessidade de manutenção, e recuperação de áreas degradadas por sua alta produção de massa foliar (SANO, RIBEIRO & BRITO, 2014).

ROCHA & CARDOSO SANTIAGO (2009) avaliaram a utilização da casca e polpa do baru para a produção de pães e concluíram que estes são ingredientes aplicáveis para a aplicação tecnológica na panificação, obtendo produtos com bons aspectos nutricionais e sensoriais.

1.1.4 Obtenção do óleo de baru

A obtenção do óleo de baru para utilização terapêutica ou cosmética deve ser realizada a frio, para que sejam preservadas as características e os componentes do fruto. As etapas a seguir foram descritas por CARRAZZA (2010) e estão demonstradas na Figura 5.

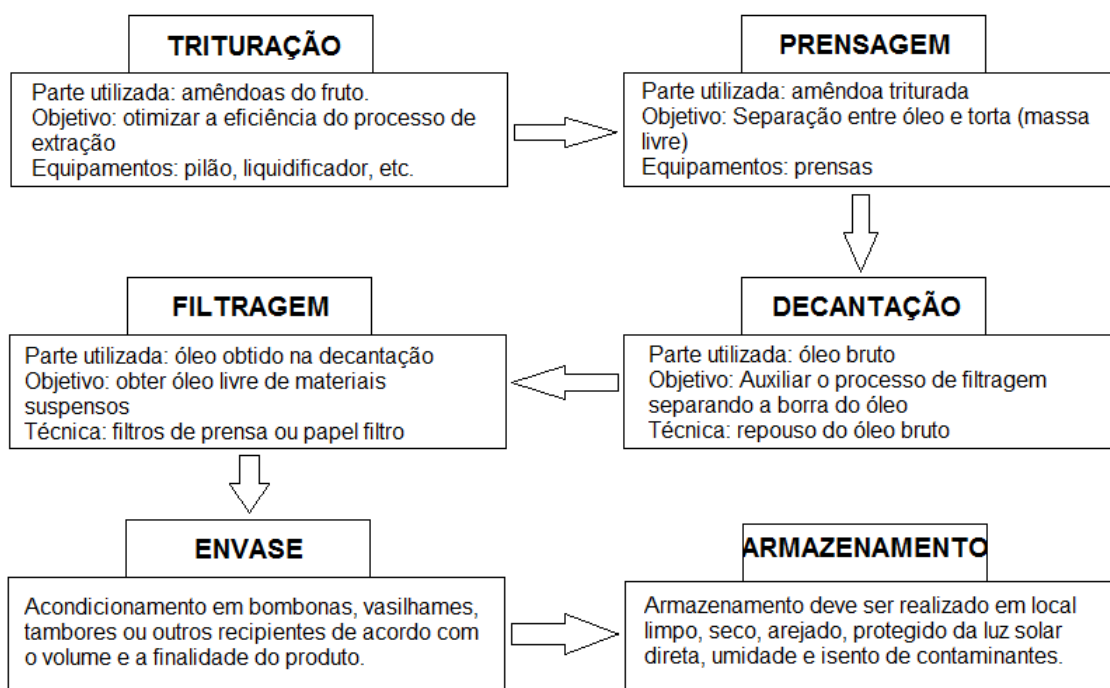


Figura 5 – Processo de obtenção do óleo de baru. Fonte: Próprio autor.

1.2 NANOCÁPSULAS

O termo nanotecnologia faz referência a uma unidade de medida que equivale a 10^{-9} metros. Dentre os sistemas contemplados por esse ramo tecnológico estão nanoestruturas chamadas nanocápsulas, as quais tem ganhado destaque por sua capacidade de carrear substâncias ativas, sendo utilizadas previamente à adição do ativo em algum veículo (GUTERRES et al, 2005).

Por definição, nanocápsulas são estruturas coloidais compostas por vesículas de um invólucro de baixa espessura de polímero, contendo em seu centro um núcleo onde a substância ativa será dissolvida e armazenada, sendo considerado por isso um sistema reservatório. O diâmetro dessas estruturas varia entre 10 e 1000nm. O comportamento do ativo pode se dar de duas formas: permanecer dissolvido na cavidade central ou adsorvido na parede polimérica (SCHAFFAZICK et al, 2003; GUTERRES et al, 2005).

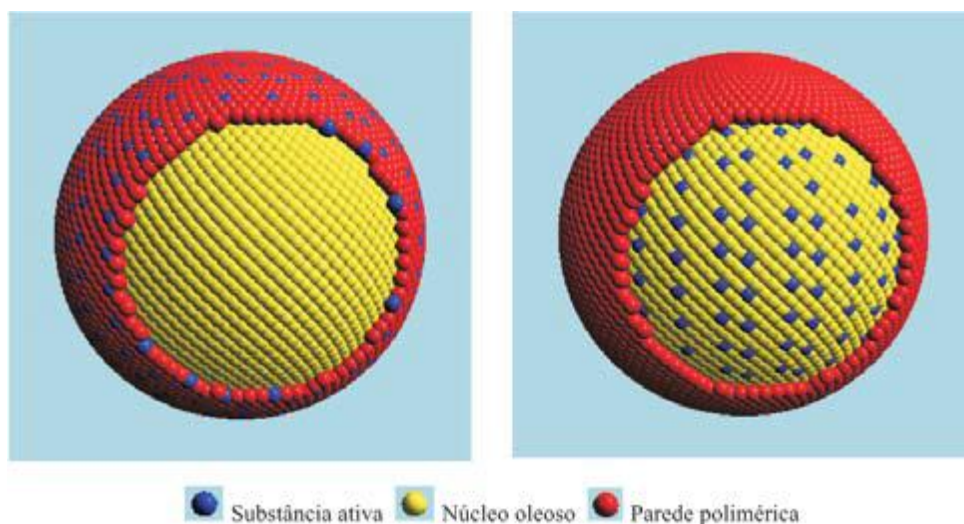


Figura 5 – Representação esquemática de nanocápsulas com a substância ativa: adsorvida à parede polimérica (esquerda) e dissolvida no núcleo oleoso (direita). Fonte: GUTERRES et al, 2005.

As vantagens oferecidas por esse sistema de carregamento são a proteção contra degradação, visto que proporcionam um menor contato da substância ativa com a formulação e um melhor desempenho associada à

liberação gradual (DINGLER et al., 1999) ao mesmo tempo em que aumenta o tempo de contato com a pele, minimizando o risco de irritações que comumente acontecem com a exposição de grandes quantidades do ativo (GUTERREZ et al, 2005; LBOUTONNE et al, 2002; JIMENEZ et al, 2004).

Grande parte do material científico disponível sobre nanoestruturas diz respeito ao carreamento de fármacos. Apesar disso, estima-se que existam inúmeras pesquisas para sua aplicação na área cosmética, todavia as mesmas devem estar sob proteção patentária e/ou em fase de desenvolvimento (GUTERRES et al, 2005).

A área cosmética ingressou na nanotecnologia por meio de nanoemulsões, nanopartículas lipídicas, lipossomas e nanocápsulas. Os lipossomas constituem a classe mais estudada e utilizada na aplicação cosmética, todavia há indícios de que sua aplicação tópica por um longo período pode culminar em irritações cutâneas (DANIELS, 2001). Além disso, a aplicação de fosfolipídios – componentes dos lipossomas pode impactar no metabolismo lipídico da derme (GUTERRES et al, 2005).

As limitações na utilização de lipossomas referem-se à baixa eficiência de encapsulamento, baixa estabilidade durante o armazenamento, entre outros. Neste cenário surge a alternativa da utilização de nanoestruturas poliméricas biodegradáveis, como as nanocápsulas, capazes de minimizar as adversidades do uso de lipossomas (GUTERRES et al, 2005).

As nanocápsulas são obtidas por duas técnicas principais: a deposição interfacial de polímeros pré-formados e a polimerização interfacial de monômeros dispersos. Para aplicação tópica, a técnica de deposição interfacial tem sido a mais utilizada, tendo como polímero a poli(ϵ -caprolactona) (GUTERRES et al, 2005).

A técnica de polimerização interfacial de monômeros dispersos proposta por AL KHOURI e colaboradores (1986) é baseada na mistura de uma fase orgânica com uma fase aquosa, sendo a primeira composta por solução etanólica contendo o monômero, óleo, tensoativo opcional e o fármaco de caráter lipofílico. A fase aquosa que recebe a fase orgânica de forma gradativa é composta por um tensoativo não-iônico e o sistema é

mantido sob agitação. As desvantagens desta técnica são a presença de monômeros residuais, bem como oligômeros, com potencial toxicidade, podendo ainda ocorrer reações entre o fármaco e o monômero, inviabilizando o controle de liberação (QUINTANAR-GUERRERO et al, 1996).

O método de deposição interfacial de polímeros pré-formados, proposto por Fessi (1989), consiste na dissolução do polímero em solvente orgânico, com acréscimo do tensoativo lipofílico e o ativo a ser encapsulado. A fase orgânica é injetada na fase aquosa, composta por água e um tensoativo hidrofílico, formando espontaneamente as nanocápsulas com diâmetros entre 200 e 500nm. Posteriormente a essa formação, o solvente orgânico e a água são retirados da mistura, reduzindo o volume de produto formado (FESSI, 1989).

A obtenção de nanocápsulas utilizando polímeros pré-formados pode ser realizada por quatro técnicas: emulsificação-evaporação do solvente, deslocamento do solvente, *salting out* e emulsificação-difusão do solvente. A escolha da técnica deve ser feita pela análise de algumas variáveis, tais como solubilidade do princípio ativo, razão ativo/polímero viável para obter uma eficiência de encapsulamento adequada e uma reduzida toxicidade do produto final (SOUTO, 2012).

Na técnica de deslocamento de solvente o polímero é precipitado na interface de uma emulsão O/A, onde a fase interna (orgânica) é composta pelo polímero dissolvido em solvente polar (LEGRAND et.al., 2007), o princípio ativo e um tensoativo para prevenir a coalescência das gotículas. A fase externa (aquosa) contém um tensoativo O/A, sendo a fase interna dispersa sobre esta, num sistema sob agitação magnética. Durante essa mistura há a emulsificação das fases, resultando num sistema opalescente. Procede-se, então, à remoção do solvente orgânico, o que permite a formação das nanopartículas.

No processo de obtenção de nanocápsulas pelo método de deslocamento de solvente é recomendada a utilização de um sistema de tensoativos, isto é, em ambas as fases (interna e externa/orgânica e aquosa) a fim de promover uma redução no diâmetro médio e tornar a suspensão coloidal mais estável.

A natureza e volume do óleo utilizado para dissolver o princípio ativo e compor a fase orgânica pode influenciar o tamanho médio das partículas. Óleos mais viscosos formam gotículas maiores e, conseqüentemente, contribuem para o aumento das nanoestruturas. Mygliol® 810 e 812 é apontado como um óleo adequado à administração intravenosa devido ao tamanho reduzido das nanocápsulas formadas (ZHANG, 2012).

1.2.1. Poli (ϵ -caprolactona)

A Poli (ϵ -caprolactona) (PCL) corresponde a um poliéster biodegradável e biocompatível, muito utilizado no desenho de estruturas carreadoras para fármacos nanoestruturados. Trata-se de um polímero sintético, degradado no organismo em frações menores mais facilmente excretados ou em metabólitos que são naturais ao organismo.

A PCL é obtida a partir da abertura do anel do monômero cíclico ϵ -caprolactona e a polimerização do mesmo. Para catalisar esta reação são utilizados catalisadores como octoato estanoso e para controlar a massa molecular do produto final utiliza-se alcoóis de baixa massa molecular.(OKADA, 2002)

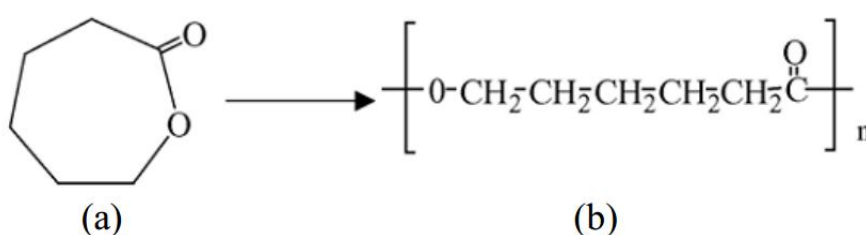


Figura 6. a) Monômero ϵ -caprolactona; b) Polímero Poli (ϵ -caprolactona) Fonte: Kim, 2005.

A PCL é um polímero semicristalino, cujo ponto de fusão varia entre 59 e 64°C e a massa molecular entre 3.000 e 80.000 g/mol. A solubilidade em temperatura ambiente deste composto é alta em substâncias como clorofórmio, diclorometano e tetracloreto de carbono. Por outro lado, possui baixa solubilidade em acetona e acetonitrila e é insolúvel em

álcool, éter de petróleo e éter etílico (CHANDRA; RUSTGI, 1998), sendo também apontado na literatura como insolúvel em hexano (ALBINI, 2012).

1.2.2 Nanotecnologia na indústria cosmética

As constantes inovações tecnológicas mundiais inseridas no século XXI atingem os mais variados campos de atuação, constituindo elementos fundamentais, por exemplo, da evolução no setor de cosméticos. Nesse âmbito, a nanotecnologia – já bastante evidenciada nos setores de equipamentos eletrônicos, emerge como uma tendência notável, geradora de custos financeiros e de recursos humanos da indústria especializada. Atualmente, países como Estados Unidos e Japão são referência de investimento no setor de nanotecnologia, enquanto países como Rússia, China, Índia e Brasil vêm gradativamente incrementando a sua parcela de contribuição no incentivo a esse ramo. (BARIL, 2012)

Em 1995, a empresa L'Oréal®, em sua divisão de luxo Lancôme, inseriu no mercado internacional um produto indicado para o rosto contendo nanocápsulas de vitamina E pura, com o objetivo de combater o envelhecimento cutâneo. A empresa tornou-se pioneira no âmbito de cosméticos com base nanotecnológica, seguida por outras como Christian Dior, Anna Pegova, Procter & Gamble, Revlon, Garnier e Johnsons & Johnsons que investiram no lançamento de produtos com essa tecnologia (GUTERRES et al, 2005; BARIL, 2012).

A nível nacional, a primeira empresa a inserir no mercado produtos baseados na nanotecnologia foi O Boticário. O produto inicial foi o Nanoserum, um creme para a região dos olhos, testa e contorno labial com propriedades anti-sinais, sendo posteriormente lançados VitActive Nanopeeling Renovador Microdermoabrasão, Liftserum Anti-Sinais e o Sistema Avançado Anti-Sinais 65+. Também no Brasil, a empresa Natura lançou no mercado um produto hidratante para o corpo, Brumas de Leite, o qual possui em sua composição partículas de diâmetros próximos a 150nm.

A nanotecnologia na indústria cosmética tem sido aplicada predominantemente em produtos com propriedade antienvelhecimento e

fotoprotetora, principalmente por sua capacidade de penetrar em camadas mais internas da pele (ALVAREZ-ROMÁN et al, 2004; BARIL, 2012).

A penetração cutânea está diretamente relacionada ao diâmetro da partícula veiculada em uma preparação. Na porção mais externa e exposta da epiderme, a derme permite a absorção de partículas de até 2 mm; nas camadas basal, espinhosa e granulosa, 150 μm ; e a camada córnea, 15 μm (BRASSEUR et al, 1991).

Outros pontos de extrema relevância e atratividade para a indústria nanotecnológica aplicada à área cosmética são a possibilidade de proteção dos ingredientes no que diz respeito à degradação, seja ela de origem química ou enzimática, a previsibilidade da liberação do ingrediente veiculado e o aumento do tempo de contato do ativo com a superfície alvo do mesmo (BARIL, 2012; KULKAMP et al, 2009; SCHAFFAZICK, 2006).

A aplicação de óleos e substâncias antioxidantes em preparações cosméticas está condicionada à manutenção da estabilidade desses componentes, visto que há uma variedade de processos que podem culminar na degradação dos mesmos. Uma das opções disponíveis para auxiliar na conservação dessas substâncias é a utilização de nanocápsulas, um dos tipos de nanopartículas aplicado para encapsulação de substâncias oleosas (KULKAMP et al, 2009).

1.2.3. Características físico-químicas das nanocápsulas

Para a avaliação físico-química das nanocápsulas são utilizados parâmetros como: tamanho da partícula (determinação do diâmetro médio) e índice de polidispersão, distribuição do potencial zeta, pH da suspensão, eficiência de encapsulamento, entre outros.

A avaliação destas variáveis permite estimar o comportamento das partículas em uma formulação, demonstrando, por exemplo, sua tendência à agregação, sua capacidade de atravessar membranas biológicas, sua estabilidade durante o processo de armazenamento e sua decomposição em função do tempo e/ou condição de estocagem.

Os materiais utilizados na produção de nanocápsulas interferem diretamente nas características finais dessas partículas. O polímero utilizado por influenciar na sua instabilidade química em função de sua degradação ou suas interações com o fármaco a ser carregado. A concentração do princípio ativo ou do óleo em que ele será diluído pode influenciar no tamanho da partícula, tornando-a mais ou menos apta a difundir-se por membranas biológicas.

A determinação desses fatores é de suma importância à qualidade final das nanopartículas e permite avaliar a estabilidade da suspensão produzida pela comparação dos valores obtidos ao início e ao final do tempo de armazenamento.

1.2.3.1 Distribuição do tamanho

O diâmetro médio das nanopartículas varia geralmente entre 100 e 500nm, a depender de fatores relativos aos materiais utilizados, bem como a técnica de preparação.

O índice de polidispersão indica o comportamento da distribuição das partículas, sendo que valores elevados para este parâmetro demonstram heterogeneidade nos diâmetros das partículas, enquanto valores menores revelam uma faixa estreita de diâmetros. Variações neste índice ao longo do tempo podem indicar a formação de novas populações, possivelmente oriundas de agregação ou degradação das partículas no meio (SOUZA, 2012). Os valores de PDI mais comumente relatados na literatura e considerados satisfatórios para nanocápsulas poliméricas encontram-se em torno de 0,3 (KULKAMP *et al*, 2009).

1.2.3.2 Potencial Zeta

A determinação do potencial zeta indica o potencial elétrico da superfície das nanocápsulas. Seus valores são influenciados pelas reações sofridas nos grupos funcionais do meio dispersante e/ou dos componentes das partículas, como os polímeros ou os tensoativos.

A relação entre o potencial zeta e a estabilidade da suspensão de nanocápsulas é diretamente proporcional, pois quanto maiores os valores observados para este parâmetro maior será a repulsão entre as partículas e menor a tendência à agregação (SCHAFFAZICK, 2003; SONVICO, 2006).

A carga da nanocápsula será fortemente influenciada pelo tipo de grupamentos funcionais presentes no polímero. A utilização do polímero poli(ϵ -caprolactona) é relacionada na literatura a valores negativos de potencial zeta. Tal característica está relacionada à composição e ao comportamento dos grupamentos na interface entre o polímero e o agente de revestimento externo, visto que a estabilização da partícula é obtida a partir de impedimento estérico (JAGER et al, 2009; KULKAMP et al, 2009; FALQUEIRO, 2011).

1.2.3.3 Teor de encapsulação

A determinação da eficiência de encapsulamento diz respeito à medição do teor do fármaco inserido nas nanocápsulas. Para esse cálculo é necessário avaliar a quantidade do fármaco total e subtrair a concentração obtida na fração livre.

As amostras devem ser previamente tratadas para que possa ser determinado o teor de encapsulação. O tratamento mais básico consiste em técnicas de separação, a fim de possibilitar o doseamento do fármaco no sobrenadante, após a separação, e na fração total, após o rompimento das nanocápsulas por utilização de um solvente.

Um dos métodos de separação é a técnica de ultrafiltração/ultracentrifugação, onde o fármaco livre é quantificado no sobrenadante após a centrifugação e a total após a completa dissolução das nanocápsulas em solvente adequado (FALQUEIRO, 2011).

A eficiência de encapsulação pode ser influenciada pelas características físico-químicas do fármaco e/ou dos componentes das nanocápsulas, pH da suspensão, solubilidade/quantidade de fármaco e também pela própria técnica de obtenção no que diz respeito à ordem de adição dos componentes (GOVENDER et al, 1999).

Os valores encontrados na literatura para a eficiência de encapsulamento variam de acordo com o fármaco a ser encapsulado, o método de obtenção e os componentes utilizados, como 64,9% para o fármaco selol (FALQUEIRO, 2011), 77 a 90% para o ácido lipoico (KÜLKAMP, 2009), 89,4 a 94,3% para a atrazina (SOUZA, 2012) e de 60 a 66,8% para etionamida (LOPES et al, 2000).

1.2.3.4 Estudo de estabilidade

A estabilidade da suspensão de nanocápsulas poliméricas tem como interferente principal o processo de sedimentação. Concomitante a este fator, está a possibilidade de decomposição química dos componentes utilizados para a preparação, principalmente relacionada ao fármaco e/ou ao polímero.

Os parâmetros mais frequentemente utilizados para a caracterização físico química das nanocápsulas compõem o estudo de estabilidade das mesmas, o qual avalia por um determinado período de tempo o comportamento da suspensão sob condições específicas de armazenagem. Desta forma, são avaliados itens como distribuição das partículas (diâmetro e índice de polidispersão), potencial zeta, pH, o teor do fármaco e análise morfológica (MAGENHEIM & BENITA, 1991; MÜLLER-GOYMAN, 2004; SCHAFFAZICK et al., 2003).

JUSTIFICATIVA

A caracterização físico-química do óleo de baru evidencia um elevado grau de instauração devido à presença majoritária dos ácidos graxos oleico e linoleico. A utilização de tais componentes em formulações cutâneas confere às mesmas a propriedade umectante, favorecendo a manutenção da umidade da pele.

A nanoencapsulação pode atuar como uma ferramenta eficaz para proteger princípios ativos de processos de degradação, como a oxidação. Além disso, a utilização dessa técnica em formulações cutâneas tem

significativas melhoras no processo de absorção, além de evitar a toxicidade por tempo excessivo de contato com a pele.

Na área cosmética, o aspecto sensorial das formulações tem impacto direto na sua valorização comercial. Por esta razão, a tecnologia tem sido empregada nesse campo objetivando a obtenção de produtos com melhor aceitabilidade pelo público.

Diante do exposto, a ideia de nanoencapsular o óleo de baru se dá em função das características desse produto e dos benefícios atribuídos a utilização de nanocápsulas para veicular o mesmo, dentre os quais se destacam a prevenção de processos de oxidação, uma possível melhora no perfil de absorção e uma melhora no aspecto sensorial da formulação contendo nanocápsulas quando comparada a uma formulação com a utilização direta do óleo. Outro item de extrema relevância para a execução desse projeto é a utilização de uma espécie do cerrado como matéria-prima de um produto cosmético, visando a viabilidade do abastecimento para a produção e a valorização deste bioma.

OBJETIVOS

1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver nanocápsulas contendo óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog) e caracterizá-las.

2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar a nanoestruturação do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog) por meio de uma suspensão de nanocápsulas poliméricas.

Realizar a caracterização da suspensão de nanocápsulas segundo os parâmetros: distribuição do tamanho das nanocápsulas, potencial zeta, pH e eficiência de encapsulamento.

Realizar a avaliação da estabilidade do óleo nanoestruturado.

METODOLOGIA

1 MATERIAIS

O ácido oléico foi adquirido na Sigma-Aldrich® (EUA), monoestearato de sorbitano (Span 60) e o polissorbato 80 (Tween 80) foram obtidos da Delaware (Porto Alegre, Brasil), Poli (E-caprolactona) - PM 60.000 Daltons foi obtido da Aldrich (Estrasburgo, França), Miglyol 810 (uma mistura de triglicerídeos dos ácidos cáprico/caprílico) foi adquirido da Brasquim (Porto Alegre, Brasil).

Os solventes utilizados na Cromatografia Gasosa (CG) foram de grau CG. As demais substâncias químicas usadas foram de grau analítico. Água deionizada foi utilizada para todos os experimentos (Deionizador Elga, Brasil).

Os equipamentos usados na preparação e caracterização das nanocápsulas foram: rotavapor (Heidolph), Zetasizer Nano (Malvern), cromatógrafo a gás GC-2010 (SHIMADZU), e phametro PG 1800 (GEHAKA)

2 MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO DE BARU

O óleo obtido para a preparação das nanocápsulas de baru foi produzido por prensagem a frio, e adquirido pela empresa TERRA FLOR.



Figura 7 – Óleo vegetal de baru, prensado a frio, utilizado para a obtenção das nanocápsulas de baru. Fonte: BELEZA DO CAMPO, 2014.

2.2 PREPARAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS

As nanocápsulas contendo óleo de baru (NB) foram preparadas pelo do método de precipitação de polímero pré-formado (ESPUELAS et al, 1997) o qual consiste na adição, sob agitação, da fase orgânica sobre a fase aquosa, conforme demonstrado na Figura 8.

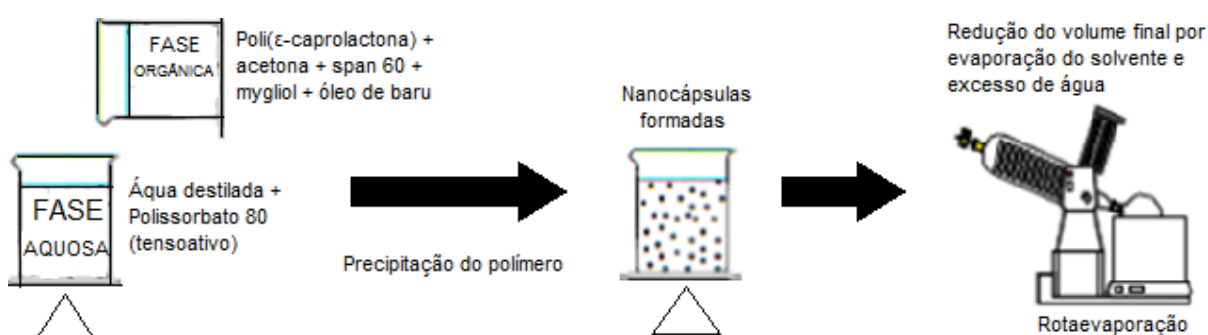


Figura 8 – Obtenção das Nanocápsulas pelo método de polímero pré-formado. Fonte: Próprio autor.

O sistema foi mantido sob aquecimento e agitação em chapa aquecedora magnética, com temperatura controlada mantida abaixo de

45°C, por cerca de 30 minutos. As nanocápsulas formadas foram então evaporadas em rotavapor Heidolph®, à pressão de 40 mbar, rotação de 210 rpm e temperatura de 45°C até o volume final de aproximadamente 10 mL, ajustado em balão volumétrico (CORRÊA, et al, 1989). Para a avaliação da influência do óleo de Baru nas nanocápsulas poliméricas foram preparadas nanocápsulas controle (NC), pela mesma metodologia excluindo apenas o óleo de Baru da fase orgânica. Todas as suspensões preparadas foram realizadas em triplicata.

2.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOCÁPSULAS

2.3.1 Análise macroscópica

Foram analisadas características como aparência, odor, cor, presença ou ausência de precipitados e/ou separação de fases. Para tal, as suspensões foram acondicionadas em frasco transparentes e analisadas sob luz natural.

2.3.2 Distribuição do tamanho

O diâmetro das nanopartículas em suspensão foi determinado após a preparação das mesmas, por diluição 5µL de cada amostra em 10 mL de água purificada (1:500), sendo o volume final acertado em balão volumétrico de igual capacidade. Em seguida, aproximadamente 1mL da solução diluída recém preparada foi colocado em uma cubeta específica e foi procedida a análise. Para tal determinação foi utilizado o equipamento ZetaSizer® Nano (Malvern) pelo método de espalhamento de luz dinâmica observada em ângulo de 90°, em dispositivos de poliestireno. Além da determinação do diâmetro, esse teste permitiu a avaliação do índice de polidispersão. As medidas foram realizadas em triplicata e logo após a preparação das nanocápsulas.

2.3.3 Determinação do potencial zeta

O potencial zeta das amostras foi determinado após a diluição de 5µL de cada amostra em 10 mL de água purificada, medida em balão volumétrico com essa capacidade. Foi pipetado aproximadamente 1mL da solução supracitada em células capilares fechadas, as quais foram submetidas à leitura em equipamento ZetaSizer® Nano (Malvern). A análise foi realizada em triplicata, sucessivamente à análise do tamanho de partícula realizada no mesmo aparelho.

2.3.4 Análise de pH

O pH das suspensões contendo tanto nanocápsulas controle quanto com óleo de Baru foi determinado por meio de pHmetro (potenciômetro) devidamente calibrado nos valores de pH 4 e 7 com as respectivas soluções tampão.

2.3.5 Eficiência de encapsulamento

Para a determinação da eficiência de encapsulamento do óleo foi utilizada cromatografia em fase gasosa onde foi analisada a concentração do ácido oleico – marcador selecionado para a determinação.

Previamente a essa análise, foi realizada a extração e metilação do óleo das suspensões. O primeiro valor de referência corresponde à concentração total (CT) do óleo contido na formulação, e foi obtido após a lise das nanocápsulas (1mL da suspensão) pela adição de 4 mL de acetonitrila. A suspensão obtida foi então filtrada com filtro de 45 µm e lavada com 5 mL de hexano. O processo para obtenção da concentração total está representado na Figura 9.

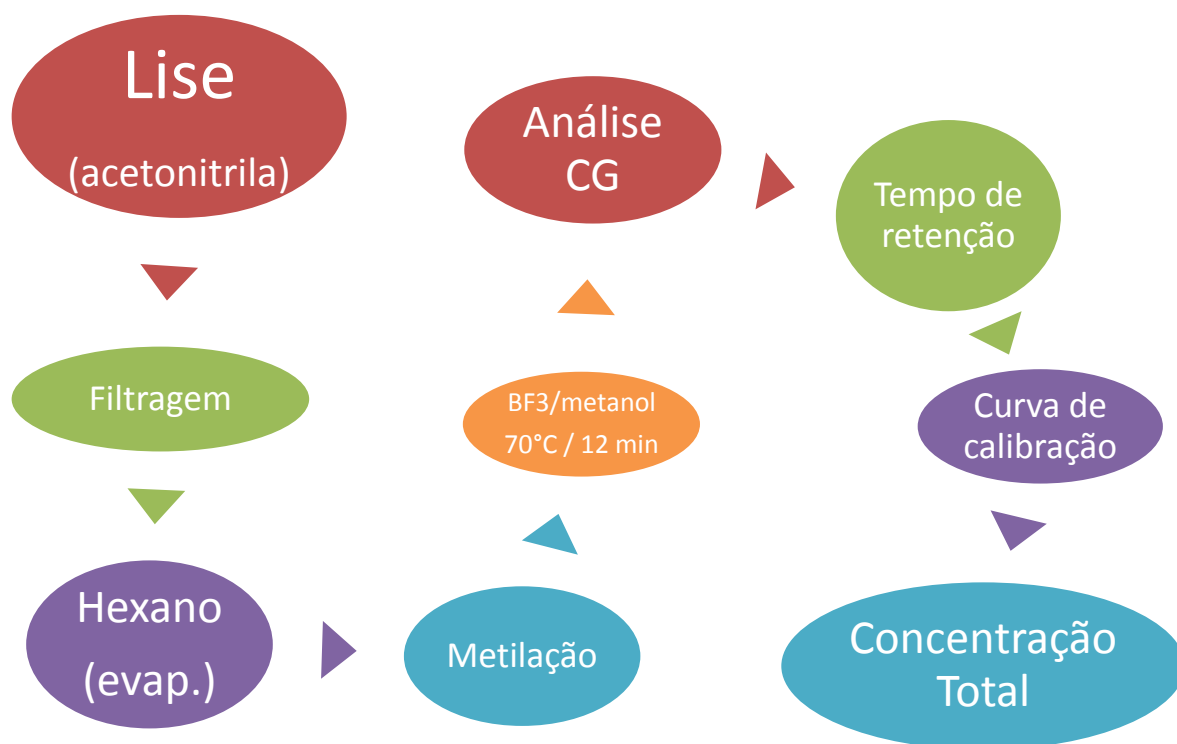


Figura 9 – Processos realizados para o cálculo da concentração total. Fonte: Próprio autor.

O segundo valor avaliado foi referente à concentração livre (CL) de óleo, equivalente ao teor não encapsulado. Para sua determinação, 1 mL da suspensão foi centrifugado por 10 minutos a 4.500 rpm. O sobrenadante foi retirado e tratado com 5 mL de hexano, sendo esse solvente posteriormente evaporado a 50°C. Este procedimento está demonstrado na Figura 10.

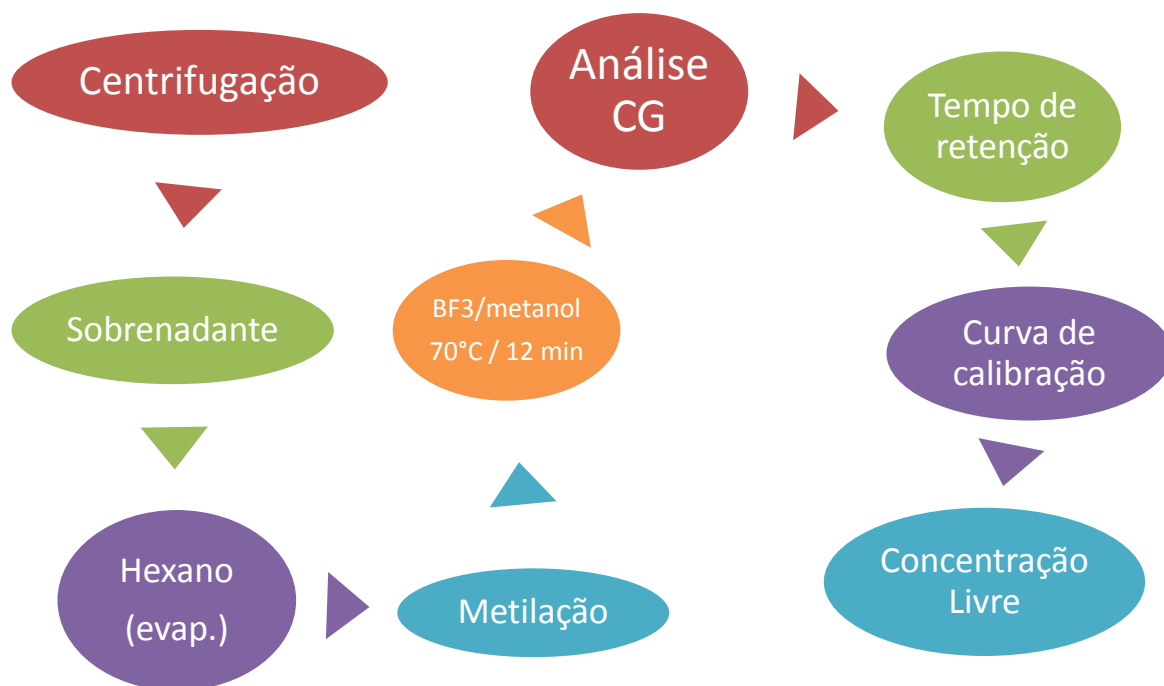


Figura 10 – Processos realizados para o cálculo da concentração livre. Fonte: Próprio autor.

Para a metilação, foram adicionados ao óleo residual dos dois processos supracitados 100 μL de solução KOH 1M em etanol, sendo essa adição seguida pela agitação em vórtex por 10 segundos e aquecimento em banho-maria a 100°C por 5 minutos. Resfriada, a solução formada recebeu 400 μL de HCl 20% e aproximadamente 20 mg de NaCl, além de 60 μL de acetato de etila. Após agitada em vórtex por 10 segundos e mantida em repouso por 5 minutos, uma alíquota da fase orgânica (300 μL) foi coletada e evaporada em banho-maria. Os ácidos graxos livres liberados após essas reações receberam 100 μL de $\text{BF}_3/\text{metanol}$ (14%) e a solução obtida foi mantida por 12 minutos em banho-maria a 80°C. Após esse processo, as amostras foram diluídas em 900 μL de metanol e analisadas por cromatografia gasosa (CHRISTIE, 1989)

A análise foi realizada em cromatógrafo a gás GC-2010 (Shimadzu) com detector por ionização de chamas (DIC/FID). A coluna utilizada foi

RESTEK RTX – 5 MS30m x 0,25um com gradiente de temperatura: 150°C no tempo 0 min, 7°C/min até 250°C; injetor (split de 1/50) e detector a 250°C. O gás de arraste utilizado foi o Hélio (1mL/min) e volume de injeção de 1 µL.

A construção da curva de calibração foi feita a partir do padrão de ácido oleico (Sigma-Aldrich). A metilação do ácido oleico foi realizada a partir da adição de 1ml de BF₃/metanol a 1mg do padrão, sob aquecimento em banho-maria a 70°C por 12 minutos. As diluições foram feitas em metanol a fim de obter as seguintes concentrações: 3 µg/mL, 7 µg/mL, 15 µg/mL, 35 µg/mL, 75 µg/mL e 150 µg/mL. As soluções foram acondicionadas em vials, sob temperatura de -20° C até a realização da análise cromatográfica.

A quantificação se deu pela comparação do tempo de retenção com padrões e pelo cálculo da área sobre o pico indicado no cromatograma. O percentual de encapsulação foi determinado a partir da razão entre a diferença da concentração total de ácido oleico na amostra e a concentração de ácido oleico livre, dividido pela concentração total, multiplicada por 100 (KÜLKAMP et al, 2009).

Equação 1- Eficiência de encapsulamento

$$EE (\%) = \frac{(CT - CL)}{CT} \times 100$$

2.3 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Para a realização do estudo de estabilidade das nanocápsulas poliméricas contendo óleo de baru em comparação às nanocápsulas brancas foram analisados os parâmetros físicos de tamanho e distribuição de partículas, pH e potencial zeta nos tempos 1, 7, 15 e 30 dias. As metodologias aplicadas para as análises foram idênticas às descritas anteriormente para a análise desses parâmetros. As condições de

armazenamento das suspensões de nanocápsulas foram: temperatura ambiente (25°C) e proteção contra a luz por envoltório opaco.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os valores obtidos nos experimentos foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) ou test “t” considerando o nível de significância de 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOCÁPSULAS

1.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

A análise macroscópica da suspensão de nanocápsulas contendo óleo de baru permitiu a visualização do aspecto leitoso, inodoro, sem visualização de precipitação. As mesmas características foram observadas para as nanocápsulas controle.

Em comparação aos relatos encontrados na literatura, as nanocápsulas apresentaram características macroscópicas dentro da normalidade (LARA, 2009; SCHAFFAZICK et al, 2006; KULKAMP et al, 2009).

1.2 DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO

Os resultados obtidos após o preparo das nanocápsulas demonstraram um aumento do diâmetro após a incorporação do óleo – o que condiz com as expectativas iniciais relacionadas à adição desse componente ao núcleo oleoso, conduzindo à expansão do diâmetro inicial.

As nanocápsulas controle apresentaram diâmetro médio de $343,3 \pm 5,1$ nm, enquanto que o diâmetro médio das nanocápsulas contendo óleo de baru foi $396,3 \pm 37,7$, resultados semelhantes aos obtidos por outros

autores (DOMINGUES, 2008; KULKAMP *et al*, 2009). Além disso, os variados métodos de preparação de nanocápsulas dão origem a partículas geralmente com diâmetros de 100 a 500 nm (QUINTANAR-GUERRERO *et al*, 1996).

As diferenças observadas no diâmetro das partículas estão relacionadas, dentre outras variáveis, à natureza do óleo nanoencapsulado, viscosidade, hidrofobicidade ou tensão superficial dos materiais utilizados no preparo das nanocápsulas (SCHAFFAZICK *et al*, 2003).

O índice de polidispersão (PDI) demonstra a amplitude de distribuição do tamanho das nanocápsulas formadas, sendo esse parâmetro determinante da homogeneidade da suspensão. Os valores de PDI observados para as nanocápsulas contendo óleo de Baru foram próximos a 0,3, sendo esse resultado avaliado como baixo em trabalho com metodologia semelhante à proposta, o que reflete um comportamento unimodal do sistema (KÜLKAMP *et al*, 2009).

1.3 POTENCIAL ZETA

A determinação do potencial zeta reflete a carga superficial das partículas, o que permite a associação deste parâmetro com a estabilidade da suspensão (MAGENHEIM & BENITA, 1991). A carga superficial é influenciada diretamente pela relação entre os componentes do polímero que reveste a nanocápsula e o meio dispersante, que pode ser dada tanto pela dissociação de alguns grupamentos quanto pela adsorção de outros.

Grandes forças repulsivas estão diretamente relacionadas à prevenção da aglomeração das partículas, caracterizando dispersão e estabilidade adequadas à preparação. Diante disso, o potencial médio das nanocápsulas preenchidas com óleo de baru - $33,6 \pm 0,9$ mV caracteriza um bom resultado para esse parâmetro considerando o valor médio de pH obtido, em concordância com valores negativos descritos em outros trabalhos envolvendo a nanoencapsulação, como KULKAMP *et al* (2009) que encontraram valores entre $-7,42 \pm 0,38$ e $-9,06 \pm 0,27$ variando em

função do aumento do ativo veiculado, e CALVO et al (1996) que obtiveram potencial zeta em nanocápsulas de -41,94 mV. Os valores negativos para o potencial zeta de nanocápsulas descritos anteriormente por outros autores tem associação direta com a utilização da poli (ϵ -caprolactona) como polímero (KULKAMP et al, 2009; CALVO, 1996).

1.4 ANÁLISE DE PH

Os valores de pH observados para as nanocápsulas com óleo foram semelhantes àqueles apresentados pelas nanocápsulas brancas, demonstrando que a adição do óleo de Baru não influenciou esse parâmetro. Resultados como os apresentados (NC $5,56 \pm 0,04$ e NB $5,53 \pm 0,06$), apesar de indicarem leve acidez das suspensões, estão de acordo com outros estudos de metodologia semelhante (OBACH, E.S., 2002; RAFFIN, 2003), além de adequados para a aplicação tópica, visto que o pH cutâneo varia entre 4,6 e 5,8 (LEONARDI, GASPAR & CAMPOS, 2002).

1.5 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO

A quantificação da taxa de associação do óleo de Baru foi realizada pelo doseamento do ácido oleico por cromatografia gasosa, por meio da determinação da concentração desse padrão no sobrenadante das nanocápsulas e concentração total no interior destas, calculada após o rompimento das mesmas.

A Figura 8 representa a curva de calibração, realizada a partir de diferentes concentrações do padrão de ácido oleico (Tabela 2), com o valor de r^2 e a equação da reta.

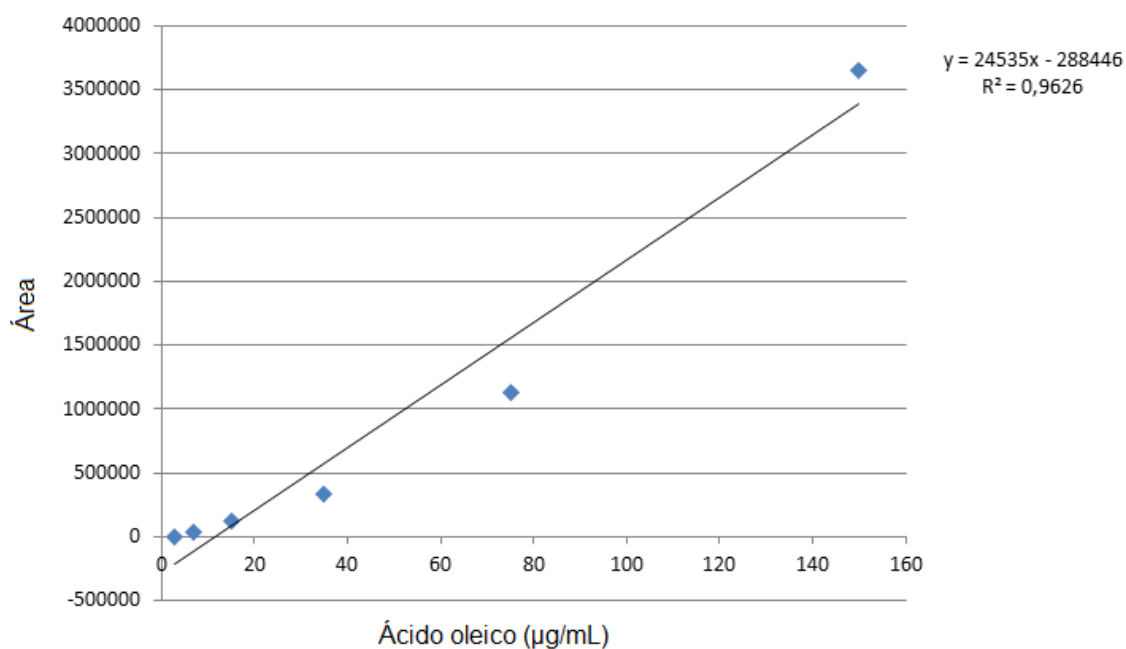


Figura 8 – Curva de calibração do padrão de ácido oleico.

Tabela 2 - Diluições do padrão de ácido oleico para a construção da curva de calibração

Concentração (µg/mL)	Área sob o pico
3	0
7	40036
15	122395
35	327502
75	1126999
150	3644974

A partir dos resultados observados com a construção da curva, é possível afirmar a existência de uma boa correlação entre os pontos, indicando que 96,26% da variação observada nos dados do eixo das ordenadas (y) é explicada pelas variações do eixo das abscissas (x). Tais informações corroboram à ideia de linearidade na curva construída dentro das concentrações avaliadas.

O tempo de retenção do padrão ficou entre 10,9 e 11,0 minutos, como é possível observar na Figura 9.

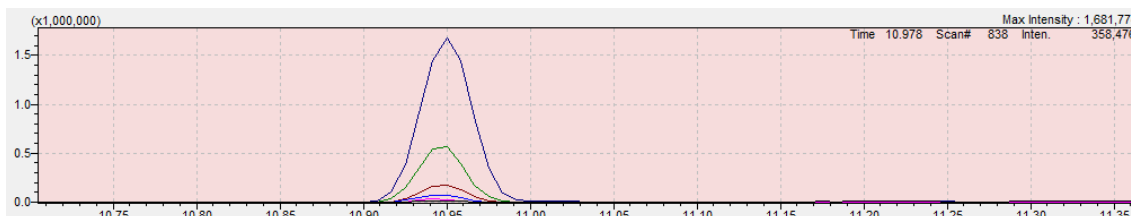


Figura 9 – Tempo de retenção do padrão de ácido oleico

A segunda determinação foi a do ácido oleico no óleo de baru, a qual foi determinada pela presença do pico no intervalo esperado. Utilizando a equação da reta proposta pela curva de calibração, estima-se que a concentração de ácido oleico no óleo de Baru variou entre 64,49 e 103,84 $\mu\text{g/ml}$.

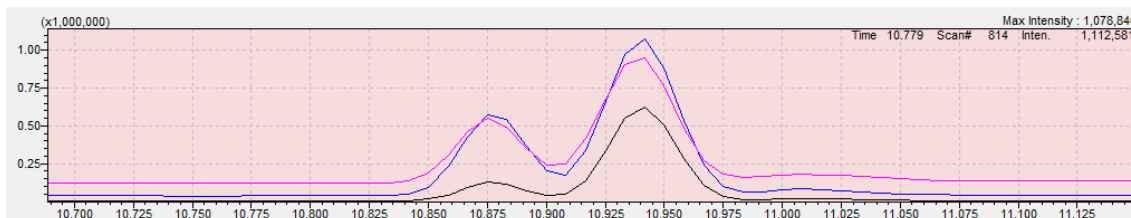


Figura 10 – Determinação do ácido oleico no óleo de Baru

A concentração total de ácido oleico contida na suspensão de nanocápsulas de Baru foi determinada a partir do pico demonstrado na Figura 11, o qual evidenciou uma concentração de 21,96 $\mu\text{g/mL}$ de suspensão.

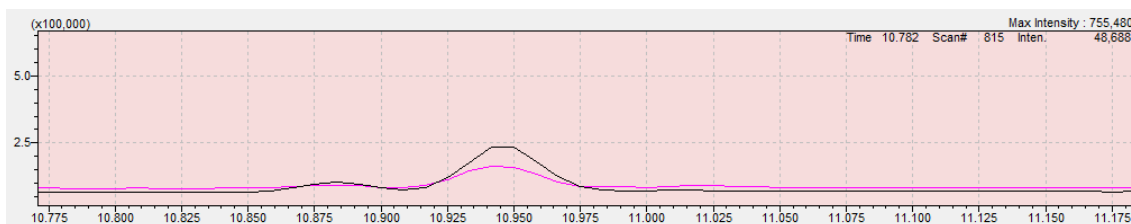


Figura 11 – Determinação do ácido oleico na suspensão de nanocápsulas de baru

Para possibilitar o cálculo da taxa de associação, a concentração de ácido oleico no sobrenadante foi também determinada, conforme exposto na Figura 12. Diante do pico observado, estima-se que a concentração no sobrenadante corresponda a 14,05 µg/mL.

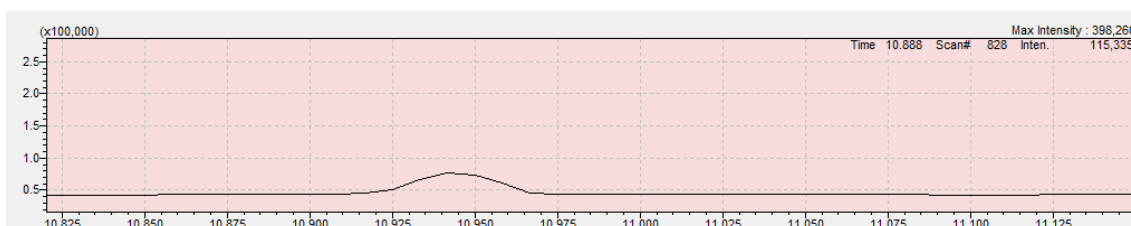


Figura 12 – Determinação de ácido oleico no sobrenadante da suspensão de nanocápsulas

Com base nos dados expostos, o cálculo da taxa de associação pode ser realizado a partir da Equação 1:

$$EE (\%): \frac{(CT - CL)}{CT} \times 100$$

CT

Onde:

EE: eficiência de encapsulação

CT: concentração total de ácido oleico na suspensão

CL: concentração livre de ácido oleico no sobrenadante.

Aplicando os resultados encontrados na equação descrita acima, a taxa de associação foi de 36,02%.

O resultado apresentado difere de muitos na literatura, como FALQUEIRO (2011), que obteve uma eficiência de encapsulamento de $64,9\% \pm 7,85$, KÜLKAMP (2009), 77, 79 e 90% de taxa de associação em função do acréscimo da concentração do ativo utilizado e SOUZA (2012), $91,5\% \pm 3,2$ de eficiência de encapsulamento na nanoencapsulação do herbicida atrazina, todavia estes utilizaram metodologias de doseamento diferentes, as quais não necessitaram de processos prévios, como a metilação.

2 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Na avaliação da estabilidade do sistema, foram avaliados os parâmetros físico-químicos utilizados na caracterização das nanocápsulas poliméricas. No que se refere ao aspecto macroscópico, após 30 dias de armazenamento ao abrigo da luz e sob temperatura de 25 ± 1 °C a suspensão manteve-se opaca, inodora e sem sedimentação aparente.

O estudo de estabilidade da suspensão de nanocápsulas poliméricas contendo óleo de baru (NB) ou as nanocápsulas controle (NC) foi baseado na determinação do tamanho e distribuição das partículas, potencial zeta e pH durante os tempos 1, 7, 15 e 30 dias para verificar a influência do armazenamento a 25° C na estabilidade das preparações, conforme demonstrado nas Figuras 13 e 14 e nas Tabelas 3 e 4.

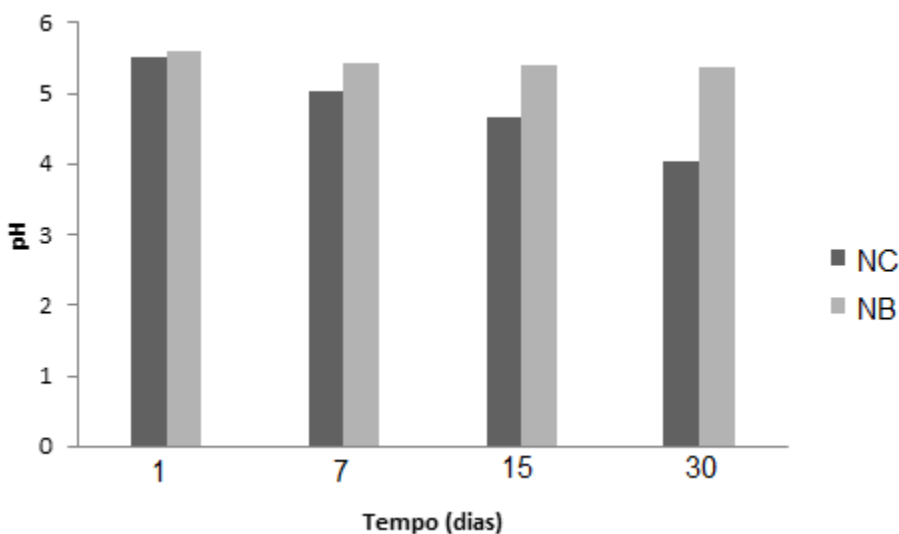


Figura 13- pH das suspensões de nanocápsulas controle (NC) e das nanocápsulas contendo óleo de baru (NB) em 30 dias de armazenamento

Os valores de pH mantiveram-se ao longo do tempo dentro da faixa de variação desejável para utilização cosmética (uso tópico) (PEYREFITTE, et al, 1998). Nas nanocápsulas controle houve uma variação significativa ($p < 0,05$) de 0,41 ao longo do período de armazenamento, enquanto que nas nanocápsulas contendo óleo de baru o pH foi mantido sem variação significativa ($p > 0,05$).

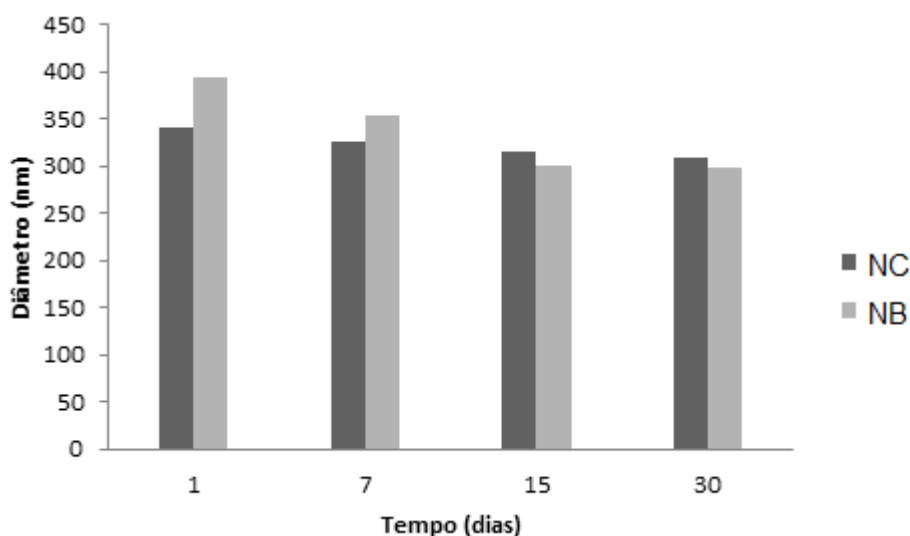


Figura 14 – Variação de diâmetro das nanocápsulas controle (NC) e das nanocápsulas contendo óleo de baru (NB) durante 30 dias de armazenamento

A análise do tamanho das partículas revelou que não houve variação significativa entre os grupos ($p > 0,05$) no diâmetro das nanocápsulas contendo óleo de baru, bem como nas nanocápsulas controle.

Após análise estatística baseada no teste t, constatou-se que o tamanho das partículas, de modo geral, foi reduzido, sendo que aquelas contendo óleo de baru mostraram uma redução mais acentuada quando comparadas às brancas. A redução observada pode ocorrer em função de

alguns fenômenos, tais como ejeção do óleo, aumento na interação do núcleo oleoso com os grupamentos do polímero ou decomposição das nanopartículas.

Tal comportamento de redução no diâmetro médio é contrário ao encontrado na literatura, uma vez que os autores relatam um aumento nesse parâmetro, muitas vezes em função da agregação das partículas, acompanhado de um aumento no índice de polidispersão, demonstrando que o sistema passa a adotar um comportamento polimodal, isto é, um perfil heterogêneo de disposição no meio em função das novas populações de diâmetros distintos.

Possíveis causas para a contração no diâmetro médio são as interações dos grupamentos do polímero com constituintes do óleo e também a degradação da matriz polimérica, sendo a segunda alternativa pouco provável em função da manutenção do valor de pH, o qual seria afetado por tal decomposição.

Outra hipótese para a redução no tamanho é a ejeção do óleo do interior das nanocápsulas, a qual poderá ser comprovada ou descartada em estudos posteriores pela realização da eficiência de encapsulação ao final do tempo de armazenamento.

Conforme observado na tabela 3, os valores do índice de polidispersão se mantiveram estatisticamente ao longo do tempo de armazenamento.

Tabela 3 – Variação no Índice de Polidispersão (PDI) das nanocápsulas controle (NC) e contendo óleo de baru (NB) durante 30 dias de armazenamento.

Tempo (dias)	NC	NB
1 dia	0,300 ± 0,03*	0,351±0,02*
7 dias	0,321 ± 0,09*	0,323±0,01*
15 dias	0,256 ± 0,01*	0,296±0,06*
30 dias	0,263 ± 0,02*	0,231±0,05*

* Valor correspondente à média de 3 análises

Conforme observado nos valores de diâmetro médio, o índice de polidispersão corrobora a hipótese de manutenção no perfil de distribuição das nanocápsulas e do comportamento unimodal ao longo dos 30 dias de armazenamento. Os valores abaixo de 0,3 são caracterizados como satisfatórios e demonstram que a população de nanocápsulas da suspensão possui tamanhos semelhantes.

A ausência de variação no índice de polidispersão ($p > 0,05$) demonstra uma elevada estabilidade do sistema, uma vez que a variabilidade neste parâmetro ocorre geralmente por agregação/degradação das nanocápsulas poliméricas.

O potencial zeta manteve-se em valores negativos conforme observado na tabela 4, o que caracteriza uma boa estabilidade a suspensão, uma vez que forças repulsivas previnem a agregação e consequente precipitação das nanopartículas (SCHAFFAZICK, 2003).

Tabela 4- Variação do Potencial Zeta das NC e NB durante 30 dias de armazenamento

Tempo (dias)	NC	NB
1 dia	$-29,93 \pm 2,22^*$	$-33,65 \pm 0,91^*$
7 dias	$-34,33 \pm 0,58^*$	$-33,51 \pm 1,01^*$
15 dias	$-32,66 \pm 3,43^*$	$-34,01 \pm 3,58^*$
30 dias	$-37,12 \pm 0,85^*$	$-33,30 \pm 4,22^*$

* Valor correspondente à média de 3 análises sob $\text{pH } 5,32 \pm 1,04$ (média de pH das NC e das NB durante o tempo de armazenamento); unidade de medida: milivolts (mV).

CONCLUSÃO

- A nanoestruturação de óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) com a utilização de nanocápsulas poliméricas obtidas pelo método de deposição de polímeros pré-formados foi adequada para a obtenção de nanocápsulas contendo 1mg/ml do óleo.
- A caracterização da suspensão de nanocápsulas realizada demonstrou que a mesma apresentou-se estável (potencial zeta - $33,6 \pm 0,9$ mV, diâmetro $396,3 \pm 37,7$ nm, índice de polidispersão $0,351 \pm 0,02$) e compatível à aplicação tópica (pH $5,53 \pm 0,06$, mantido durante 30 dias de armazenamento).
- Durante o estudo de estabilidade foi possível observar que a suspensão de nanocápsulas contendo óleo de baru se manteve estável durante o período analisado sob as condições propostas (temperatura ambiente e acondicionamento em frasco opaco), parâmetro este avaliado pela análise de pH, diâmetro, Pdl e potencial zeta.

REFERÊNCIAS

ALBINI, L T. *Solubilidade do biopolímero PCL em solventes para aplicação no processo de microencapsulação*. 2012. 83 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Curitiba. Universidade Federal de Curitiba, Curitiba, 2012.

AL KHOURI, N.; ROBLOT-TREUPEL, L.; FESSI, H.; DEVISSAGUET, J-Ph.; PUISIEUX, F. Development of a New Process for the Manufacture of Polyisobutylcyanoacrylate Nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 28, p. 125-132, 1986.

ALVAREZ-ROMÁN, R., NAIK, A., KALIA, Y.N., GUY, R.H. AND FESSI, H. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. *J. Control Release*, v. 99, p.53–62, 2004.

ANDRADE, P. M. M., CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. *MN- metabolic*, v. 8, n. 3, p. 32-35, 2006.

BARIL, M. B.; FRANCO, G. F.; VIANA, R. S.; ZANIN, S.M.W. Nanotecnologia aplicada aos cosméticos. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.13, n.1, 2012.

BECK, R.C.R.; POHLMANN, A.R.; GUTERRES, S.S. Nanoparticle-Coated Microparticles: Preparation and Characterization. *Journal of Microencapsulation*, v.21, p.499-512, 2004.

BELEZA DO CAMPO. Figura 7 - Óleo vegetal de baru prensado a frio. Disponível em: <http://www.belezadocampo.com.br/oleo-vegetal-de-baru-terra-flor>. Acesso em: 16 mar 2014.

BORGES V. C., ALMEIDA, M. G. *A biodiversidade do cerrado brasileiro: os (as) raizeiros (as) de Goiás/GO*. Instituto de Estudos Sócio-Ambientais/IESA – UFG, 2006.

BORGES C. L. *Cerrado: extração da flora nativa para fins ornamentais e medicinais e o desenvolvimento sustentável*. Monografia (Bacharelado em Farmácia), Faculdade de Ciências da Saúde do Centro Universitário UniCeub, 2002.

BORGES, T. H. P. *Estudo da caracterização e propriedades das amêndoas de baru submetido ao aquecimento*. Dissertação (Mestrado), Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (UFG). Goiânia, 2013.

BRANT, LILIAN. Árvore de Baru (Figura 1). Disponível em <http://www.cerratinga.org.br/baru/>. Acesso em: 16 set 2014.

BRASSEUR, N.; BRAULT, D.; COUVREUR, P. Adsorption of hematoporphirin onto polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: carrier capacity and drug release. *Int. J. Pharm.* v. 70. p. 129-135, 1991.

CALVO, P.; REMUÑAM-LOPEZ, C.; VILA-JATO, J.; ALONSO, M. J. Development of positively charged colloidal drug carriers: chitosan-coated polyester nanocapsules and submicron-emulsions. *Colloid and Polymer Science*, v.275, p.46-53, 1997.

CALVO, P.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers. *J. Pharm. Sci.* v. 85, p. 530- 536, 1996.

CARRAZZA, L.; CRUZ E ÁVILA, J. C. *Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Baru*. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2ª Ed. Brasil, 2010.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*. v. 23, p. 1273-335, 1998.

CORRÊA, G. C. *et al.* – Caracterização física de frutos de baru (*Dipteryx alata* Vog.) *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 30(2): 5-11, jul./dez. 2000.

CHRISTIE, W. W. Gas Chromatography and Lipids. *The Oily Press*, p.307, 1989.

DANIELS, R. Galenic principles of modern skin care products. 2001. Disponível em: <<http://www.skin-care-forum.basf.com/en/author-articles/galenic-principles-of-modern-skin-care-products/2001/04/15?id=81fb2fb5-f040-4e82-9f6f-8f4b20e9e05f&mode=Detail>> Acesso em 11 out. 2013.

DINGLER, A.; BLUM, R.P.; NIHEUS, H.; MULLER, RH.; GOHLAS. Solid lipid nanoparticles (SLN tm/Lipopearls TM) - a pharmaceutical and cosmetic Carrier for the application of vitamin E in dermal products. *Journal Microencapsulation*, v. 16, n. 6, p. 751-767, 1999.

DOMINGUES, Gislane Scholze et al. Micropartículas nanorrevestidas contendo um fármaco modelo hidrofóbico: preparação em etapa única e caracterização biofarmacêutica. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 31, n. 8, 2008.

DURÁN, N.; MATOSSO, L.H.C.; MORAIS, P.C. *Nanotecnologia, introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação*. 1. ed. São Paulo: Artliber, p. 161-164, 2006.

ESPUELAS, M.S.; LEGRAND, P.; IRACHE, J.M.; GAMAZO, C.; ORECCHIONI, A.M.; DEVISSAGUET, J.P.; YGARTUA, P. Poly(ϵ -caprolacton) nanospheres as an alternative way to reduce amphotericin B toxicity. *Int. J. Pharm.* v.158, p.19-27, 1997.

FALQUEIRO, A. M. *Nanocápsulas contendo selol e fluído magnético: preparação, caracterização e avaliação da atividade tumoral in vitro*. 2011. 69 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J-PH.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *Int. J. Pharm.* v. 55, p. 1-4, 1989.

GUTERRES, S. S.; SANTOS, J. V.; SCHMALTZ, C. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. *Infarma*, v.16, nº 13-14, 2005.

GOVENDER, T. et al. PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water soluble drug. *Journal of Controlled Release*, v. 57, p. 171-185, 1999.

JAGER, E.; VENTURINI, C.G.; POLETO, F.S.; COLOMÉ, L.M.; POHLMANN, J.P.U.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A.M.O., GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R. Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. *J. Biomed. Nanotechnol*, v.5, p.130–140, 2009.

KIM, B. K.; HWANG, S. J.; PARK, J. B.; PARK, H. J. Characteristics of felodipine-located poly(ϵ -caprolactone) microspheres. *Journal of Microencapsulation*. v. 22, n. 2, p.193-203, 2005.

KULKAMP, I.; PAESE, K; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 32, n. 8, 2009.

LARA, V.C.D., *Desenvolvimento de nanocápsulas contendo ácido retinóico para tratamento tópico da acne*. 2008. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais. 2008.

LBOUTOUNNE, H.; CHAULET, J.F.; PLOTON, C.; FALSON, F.; PIROT, F. Sustained ex vivo skin antiseptic activity of chlorhexidine in poly((-caprolactone) nanocapsule encapsulated form and as a digluconate. *J.Control. Rel.* v.82, p.319-334, 2002.

LEGRAND, P.; LESIEUR, S.; BOCHOT, A.; GREF, R.; RAATJES, W.; BARRATT, G.; VAUTHIER, C. Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. *Int. J. Pharm.*, v. 344, p. 33, 2007.

LEMOS, *et al.* *Composição do teor de lipídeos da amêndoa de baru (Dipteryx alata Vog.) antes e após tratamento térmico*. XIII ENPOS, 2011. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/enpos/2011/anais/pdf/CA/CA_00507.pdf <Acesso 13 abr 2012>

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. *An bras Dermatol*, vol. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

LOPES, E.; POHLMANN, A. R.; BASSANI, V.; GUTERRES, S. S. Polymeric colloidal systems containing ethionamide: preparation and physico-chemical characterization. *Pharmazie*, v. 55, n. 7, p. 527-530, 2000.

LORENZI, Harri. Figura 4. *Árvores brasileiras*. Ed. Plantarum, 1992.

MAGENHEIM, B.; BENITA; S.; S.T.P.Nanoparticles characterization.A comprehensive physicochemical approach. *Pharma Sci.* v. 1, p. 221- 241, 1991.

MÜLLER-GOYMANN, C. C. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 58, p. 343-356, 2004.

NAVES, M. M. V., SIMÕES FILHO, A., COMINETTI, C., BENTO, A. P. N. Baru almond improves lipid profile in mildly hypercholesterolemic subjects: A randomized, controlled, crossover study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. Disponível em: <[http://www.nmcd-journal.com/article/S0939-4753\(14\)00227-0/abstract](http://www.nmcd-journal.com/article/S0939-4753(14)00227-0/abstract)> Acesso em 24 set 2014.

OBACH, E.S. *Avaliação dos Perfis de Liberação In Vitro e da Toxicidade Gastrointestinal In Vivo de Indometacina a partir de Nebulizados de Nanopartículas*. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2002.

OLIVEIRA, A.N. et al. VARIAÇÕES GENÉTICAS PARA CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA RADICULAR DE MUDAS DE BARU (*Dipteryx alata* Vog.). *R. Árvore*, Viçosa-MG, v.30, n.6, p.905-909, 2006.

OKADA, M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, v. 27, p. 87-133, 2002.

PETEAN, F. C., et al. Tratamento farmacológico das doenças reumáticas. *Medicina*, Ribeirão Preto, 30: 522-531 out./dez. 1997.

PEYREFITTE,Y.; MARTINE, C. M.; CHIVOT,M. *Estética cosmética: cosmetologia, biologia geral, biologia da pele*. São Paulo: Organização Andrei, cap. 3, p.325-482,1998.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; ALLÉMANN, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers.*Drug Dev. Ind.Pharm.*, v. 24, p. 1113- 1128, 1998.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; FESSI, H.; ALLÉMAN, E.; DOELKER, E. Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly(D,L-latic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 143, p. 133-141, 1996.

RAFFIN, R.P.; OBACH, E. S.; MEZZALIRA, G.; POHLMANN, A.R.; GUTERRES, S.S. Nanocápsulas Poliméricas Secas Contendo Indometacina: Estudo de Formulação e de Tolerância Gastrintestinal em Ratos. *Acta Farm. Bonaerense*, vol.22, no. 2, p. 163-72, 2003.

ROCHA, L. S.; CARDOSO SANTIAGO, R. A. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipteryx alata* Vog.) na elaboração de pães. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 29(4): 820-825, out-dez. 2009.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. *Baru: biologia e uso*. ISSN 1517-5111. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastacimento – MAPA. EMBRAPA, 2014.

SCHAFFAZICK, Scheila Rezende et al . Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 26, n. 5, Oct. 2003.

SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; DE LUCCA FREITAS, L; GUTERRES, S. S. Caracterização e estudo de estabilidade de suspensões de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas contendo diclofenaco. *Acta Farm. Bonaerense*, v. 21, p. 99 - 106, 2002.

SOUTO, E. B. et al. - Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados – parte II. *Polímeros*, vol. 22, n. 1, p. 101-106, 2012.

SOUZA, P M S; LOBO, F A; ROSA, A H; FRACETO L F. Desenvolvimento de nanocápsulas de poli-e-caprolactona contendo o herbicida atrazina. *Quim. Nova*, v. 35, n. 1, p. 132-137, 2012.

TAKEMOTO, E. et al. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 60(2):113-117, 2001.

VERA, Rosângela et al . Características químicas de amêndoas de barueiros (*dipteryx alata vog.*) de ocorrência natural no cerrado do estado de Goiás, Brasil. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal , v. 31, n. 1, 2009

ZHANG, X.; SUN, M.; ZHENG, A., CAO, D.; BI, Y.; SUN, J. Preparation and characterization of insulin-loaded bioadhesive PLGA nanoparticles for oral administration. *Eur J Pharm Sci.* v.45 p.632-638, 2012.