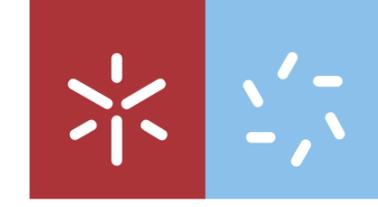




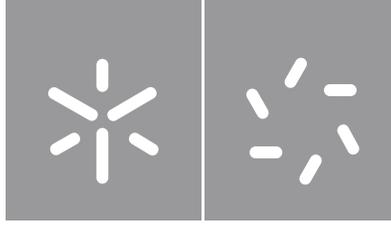
Mariana Isabel Penelas de Castro

**Biossíntese de potenciais alternativas de  
silicones para aplicação cosmética**

**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências







**Universidade do Minho**

Escola de Ciências

Mariana Isabel Penelas de Castro

**Biossíntese de potenciais alternativas de  
silicones para aplicação cosmética**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado em Química Medicinal

Trabalho efetuado sob a orientação de  
**Doutora Jennifer Martins Noro**  
e de  
**Professor Doutor Luís Sieuve Monteiro**

## **DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS**

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



**Atribuição-NãoComercial-SemDerivações**  
**CC BY-NC-ND**

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, especialmente, à Doutora Jennifer Noro, orientadora da presente dissertação, pela excelente orientação, amizade, apoio e disponibilidade constantes sempre que me surgiram dúvidas, pela paciência e dedicação que colocou neste projeto. A minha mais sincera gratidão, pois foi nos seus ensinamentos que consegui a motivação e confiança para dar continuidade a este estudo.

Ao Professor Doutor Luís Monteiro, coorientador desta dissertação, pela amabilidade e simpatia que demonstrou.

Ao Professor Doutor Artur Cavaco-Paulo, pela oportunidade de realizar esta dissertação no grupo Solfarcos, onde tive a oportunidade de aprender e crescer profissionalmente. Agradeço também a toda a equipa do grupo com os quais tive o prazer de conviver, pelo carinho e amizade com que me acolheram ao longo destes meses, sempre disponíveis para esclarecer as minhas dúvidas.

Ao Departamento do CEB, pela disponibilização do laboratório e material, e por me proporcionar a orientação necessária para uma correta utilização dos equipamentos.

A todas as pessoas com quem convivi no laboratório, agradeço todo o apoio, amizade e disposição proporcionados ao longo de todo o ano, que contribuíram para o bom ambiente que se verificou diariamente, pela forma como me acolheram, aconselharam e por se mostrarem sempre disponíveis para me ajudar.

Aos meus amigos e colegas de faculdade, gostaria de agradecer por toda a paciência e, principalmente, por sempre serem a minha "cobaia" nos testes desenvolvidos durante este projeto. Em especial, à minha amiga Catarina pela realização dos estudos de modelação molecular que constam nesta dissertação, e por toda a amizade e entajuda nos últimos anos.

Por fim, aos meus pais e irmã, à Marga e ao Diogo, que sempre me incentivaram e apoiaram, deixo um agradecimento especial por toda compreensão, companheirismo, apoio incondicional e força ao longo destes tempos e momentos mais difíceis.

A todos, muito obrigada!

### **DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE**

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho acadêmico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

## **RESUMO: Biossíntese de potenciais alternativas de silicones para aplicação cosmética**

A procura de produtos “verdes” e sustentáveis é uma realidade cada vez mais indispensável na indústria cosmética, sendo a substituição dos silicones um dos pontos fundamentais. Neste sentido, o objetivo principal deste trabalho foi a síntese de potenciais alternativas aos silicones, implementando métodos de produção mais verdes e amigos do ambiente, e a sua posterior avaliação quando aplicadas numa formulação cosmética comercial.

Para tal, foram inicialmente testadas diferentes lipases como biocatalisadores, nomeadamente *Aspergillus oryzae*, *Candida rugosa*, *porcine pancreas* e *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em Immobead 150. Dos diferentes substratos testados, etilenoglicol, dietilenoglicol, 1,3-propanediol, 1-heptanol e 1-decanol para esterificação com três ácidos carboxílicos (heptanóico, octanóico e decanóico), foram isolados com sucesso seis compostos hidrofóbicos: heptil heptanoato **4a** ( $\eta=66\%$ ), heptil octanoato **4b** ( $\eta=71\%$ ), heptil decanoato **4c** ( $\eta=67\%$ ), decil heptanoato **5a** ( $\eta=73\%$ ), decil octanoato **5b** ( $\eta=72\%$ ) e decil decanoato **5c** ( $\eta=69\%$ ). De todas as lipases testadas, a *Aspergillus oryzae* nativa, *Candida rugosa* e *porcine pancreas* não revelaram qualquer atividade catalítica. A catálise enzimática com a lipase *Aspergillus oryzae* modificada sem solvente foi o método mais eficiente e económico, cujo pior e melhor rendimento, correspondem ao produto **4a** e **5a**, respetivamente, com 66% e 73%. A caracterização de cada composto foi efetuada por <sup>1</sup>H RMN, HRMS, FTIR e termogravimetria. O potencial dos ésteres como alternativas viáveis aos silicones sintéticos foi confirmado, revelando propriedades semelhantes ao Cetiol® CC, ciclopentasiloxano (D5) e óleo de silicone 5 cSt (Sil.O5), nos diversos parâmetros avaliados. A viscosidade foi o parâmetro mais díspar, aumentando, de uma forma geral, com o aumento da cadeia carbonada.

Foram produzidas nove formulações cosméticas, com a respetiva variação de silicone incorporado: C1 (Cetiol® CC), C2 (D5), C3 (Sil.O5), C4 (**4a**), C5 (**4b**), C6 (**4c**), C7 (**5a**), C8 (**5b**) e C9 (**5c**). Todos os cremes apresentaram qualidade e estabilidade dos compostos sintetizados, com alguma uniformidade na avaliação das características organolépticas e pH, superando os testes de estabilidade acelerada e em ciclos de temperatura extrema. Nos ensaios reológicos todos os produtos exibiram um comportamento pseudoplástico. O creme C1 apresentou a melhor homogeneidade e coesão, o C3 o maior valor de viscosidade, considerado o mais espesso e rígido quando em fluxo. O C6 aparentou ser o mais fluido e cremoso. Apesar de espalhável, o C4 pode ser percebido como espesso e firme devido à maior resistência ao escoamento. O C9 evidenciou o menor valor de deformação para atingir o ponto de rutura da estrutura e o C7 o maior número de microfissuras na estrutura. O aumento de temperatura para 37°C, não influenciou as formulações em estudo. As diferenças no perfil de textura foram mínimas, no entanto, os cremes C7 e C4 aparentaram ser mais espalháveis e menos espessos e pegajosos, e contrariamente, o C1 e C9 como mais firmes, coesos, pegajosos e de menor espalhamento. Entre um creme com o silicone e a alternativa produzida (C4), os voluntários deram a preferência sensorial a este último, demonstrando o potencial dos ésteres e uma preocupação com a sustentabilidade.

**Palavras-chave:** Alternativas de silicones, caracterização, cremes, esterificação, lipases.

## **ABSTRACT: Biosynthesis of potential silicone alternatives for cosmetic applications**

The search for green and sustainable products is an increasingly indispensable reality in the cosmetic industry, leading to research on more "natural" products, capable of replacing synthetic ingredients. In this context, the main objective of this work was the development of silicone alternatives. For this purpose, a greener and more environmentally friendly production was adopted, followed by their incorporation and complete characterization in a commercial cosmetic formulation.

In order to achieve this, different lipases including those from *Aspergillus oryzae*, *Candida rugosa*, *porcine pancreas*, and *Thermomyces lanuginosus* immobilized on Immobead 150 were initially investigated as biocatalysts. From the different substrates tested, such as ethylene glycol, diethylene glycol, 1,3-propanediol, 1-heptanol and 1-decanol for the esterification with three carboxylic acids (heptanoic, octanoic, and decanoic), six hydrophobic compounds were successfully isolated. These included heptyl heptanoate **4a** ( $\eta=66\%$ ), heptyl octanoate **4b** ( $\eta=71\%$ ), heptyl decanoate **4c** ( $\eta=67\%$ ), decyl heptanoate **5a** ( $\eta=73\%$ ), decyl octanoate **5b** ( $\eta=72\%$ ) and decyl decanoate **5c** ( $\eta=69\%$ ). Native *Aspergillus oryzae*, *Candida rugosa* and *porcine pancreas* did not exhibit any catalytic activity when compared to the other lipases studied. Enzymatic catalysis with the modified lipase from *Aspergillus oryzae* without solvent was the most efficient and economical method, whose worst and best yields correspond to products **4a** and **5a**, respectively, with 66% and 73%. Each compound was characterized using  $^1\text{H}$  NMR, HRMS, FTIR, and thermogravimetry. The potential of the esters as viable substitutes for synthetic silicones was confirmed, revealing similar properties to Cetiol® CC, cyclopentasiloxane (D5) and 5 cSt silicone oil (Sil.05) in the various parameters evaluated. The most variable parameter was viscosity, which generally increased as the carbon chain lengthened.

The following nine cosmetic formulations were produced, with the corresponding silicone variation included: C1 (Cetiol® CC), C2 (D5), C3 (Sil.05), C4 (**4a**), C5 (**4b**), C6 (**4c**), C7 (**5a**), C8 (**5b**) e C9 (**5c**). All of the creams demonstrated the quality and stability of the synthesised compounds. The organoleptic properties showed similar behaviour between all formulations. In the rheological tests, all of the samples had a pseudoplastic behaviour. While C1 demonstrated the best homogeneity and cohesiveness, C3 had the highest viscosity value, and was judged to be the thickest and most firm when in flow. C6 seemed to be the creamiest and most fluid. Due to its higher flow resistance, C4 appear thicker and firmer even though it is spreadable. C7 exhibited the highest number of micro-cracks in the structure, whereas C9 displayed the lowest value of deformation required to reach the breaking point of the structure. The formulations under investigation were unaffected by the rise in temperature to 37°C. Although there were only minor differences in the textural profile, creams C7 and C4 seemed to be more spreadable and less thick and sticky, while C1 and C9 seemed harder, cohesive, sticky, and less spreadable. Between a commercial and an alternative cream (C4), the volunteers favoured the alternative cream over the one that included silicone, demonstrating the potential of esters on a sensory level and a concern for sustainability.

**Keywords:** Characterisation, creams, esterification, lipases, silicone alternatives.

## ÍNDICE

### Capítulo 1 – Introdução

1.1 Enquadramento geral .....	2
1.2 Silicones na cosmética.....	4
1.2.1 História dos silicones nos produtos cosméticos .....	4
1.2.2 Principais tipos de silicone utilizados na cosmética .....	5
1.2.2.1 Polidimetilsiloxanos (PDMS) .....	6
a) PMDS Voláteis (Silicones Voláteis).....	8
b) PDMS com aminas funcionalizadas.....	10
c) PDMS com poliol funcionalizado (Silicone poliéter).....	11
1.2.2.2 Ceras de silicones .....	11
1.2.2.3 Resinas de silicone .....	12
1.2.2.4 Elastómeros de silicone .....	13
1.3 Remoção de silicones nos produtos cosméticos .....	14
1.4 Alternativas aos silicones e métodos de produção .....	18
1.5 Uso de lipases em síntese de ésteres .....	24

### Capítulo 2 – Materiais e métodos

2.1 Técnicas gerais.....	29
2.2 Obtenção das lipases.....	30
2.2.1 Obtenção da lipase nativa.....	30
2.2.2 Obtenção da lipase modificada .....	30
2.3 Síntese das alternativas de silicones .....	31
2.3.1 Síntese do heptil heptanoato <b>4a</b> .....	32
2.3.2 Síntese do heptil octanoato <b>4b</b> .....	32
2.3.3 Síntese do heptil decanoato <b>4c</b> .....	33
2.3.4 Síntese do decil heptanoato <b>5a</b> .....	33
2.3.5 Síntese do decil octanoato <b>5b</b> .....	34
2.3.6 Síntese do decil decanoato <b>5c</b> .....	34
2.4 Estudos de modelação molecular .....	34
2.5 Isolamento das alternativas de silicones .....	35
2.6 Propriedades das alternativas de silicones.....	35
a) pH.....	35
b) Viscosidade .....	35

c) Tensão superficial .....	36
d) Densidade .....	36
e) Medição da propagação .....	36
f) <i>Log P</i> .....	36
g) Polaridade .....	37
2.7 Escolha e preparação das formulações cosméticas .....	37
2.8 Propriedades das formulações cosméticas .....	39
a) Propriedades organolépticas .....	39
b) pH.....	39
c) Viscosidade .....	40
d) Estabilidade acelerada .....	40
e) Estabilidade das formulações em ciclos de temperatura extrema .....	40
f) Espalhamento dinâmico da luz (DLS).....	40
g) Estrutura microscópica.....	41
h) Propriedades reológicas .....	41
i. Propriedades viscoelásticas.....	41
ii. Stress físico.....	41
iii. Curvas de fluxo.....	42
i) Texturómetro.....	42
i. Teste de penetração .....	42
ii. Teste de espalhamento .....	42
iii. Teste de extrusão de retorno .....	43
j) Propriedades sensoriais .....	43
<b>Capítulo 3 – Discussão de resultados</b>	
3.1 Síntese das alternativas de silicones .....	46
3.1.1 Síntese de ésteres usando diálcoois .....	47
3.1.1.1 Reações na presença de solvente.....	47
a) Reações com a lipase <i>Aspergillus oryzae</i> nativa .....	47
b) Reações com a lipase <i>Aspergillus oryzae</i> modificada .....	49
3.1.2 Síntese de ésteres usando monoálcoois .....	50
3.1.2.1 Reações na presença de solvente.....	51
a) Reações com a lipase <i>Aspergillus oryzae</i> nativa .....	51
b) Reações com a lipase <i>Aspergillus oryzae</i> modificada .....	53

c)	Reações com as lipases da <i>Candida rugosa</i> e <i>porcine pancreas</i> .....	55
3.1.3	Reações na ausência de solvente .....	56
a)	Reações com a lipase <i>Aspergillus oryzae</i> modificada .....	57
b)	Reações com a lipase <i>Thermomyces lanuginosus</i> imobilizada .....	58
3.2	Isolamento e caracterização dos compostos sintetizados .....	59
a)	<sup>1</sup> H RMN e HRMS .....	60
b)	FTIR .....	61
c)	TGA .....	62
3.3	Propriedades dos compostos sintetizados .....	65
▪	pH .....	66
▪	Viscosidade .....	66
▪	Tensão superficial .....	67
▪	Densidade .....	67
▪	Índice de refração .....	69
▪	Propagação .....	70
▪	<i>log P</i> .....	71
▪	Polaridade .....	71
3.4	Propriedades das formulações cosméticas .....	72
a)	Propriedades organoléticas .....	73
b)	pH .....	75
c)	Viscosidade .....	76
d)	Estabilidade acelerada e em ciclos de temperatura extrema .....	78
e)	DLS .....	79
f)	Estrutura microscópica.....	81
g)	Reologia .....	82
I.	Propriedades Viscoelásticas .....	83
II.	Stress Físico.....	85
III.	Curvas de Fluxo.....	87
h)	Texturómetro.....	89
i)	Propriedades sensoriais .....	92
<b>Capítulo 4 – Considerações finais e perspectivas futuras</b>		
	Considerações finais e perspectivas futuras.....	95
	<b>Referências Bibliográficas</b> .....	100

**Anexos**

Anexo 1 .....	108
Anexo 2 .....	109
Anexo 3 .....	113
Anexo 4 .....	115
Anexo 5 .....	119

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura geral dos silicones. ....	2
<b>Figura 2.</b> Funções e respetivos produtos cosméticos do uso de silicones, por ordem cronológica. ....	5
<b>Figura 3.</b> Estrutura geral do dimeticone. ....	7
<b>Figura 4.</b> Estrutura geral do dimeticonol. ....	7
<b>Figura 5.</b> Estrutura química do ciclopentasiloxano. ....	9
<b>Figura 6.</b> Estrutura geral de um silicone “organo-modificado”. ....	10
<b>Figura 7.</b> Estrutura geral dos silicones poliéter. ....	11
<b>Figura 8.</b> Estrutura geral do cetil dimeticone. ....	12
<b>Figura 9.</b> Aspeto geral de uma resina de silicone (trimetilsiloxisilicato). ....	12
<b>Figura 10.</b> Efeito anti-rugas de um creme com pó de elastómero de silicone. (Retirado de Maxon e Starch, 2016 <sup>5</sup> ) .....	14
<b>Figura 11.</b> Possíveis efeitos prejudiciais do ciclopentasiloxano (D5) para a saúde. ....	15
<b>Figura 12.</b> Classificação da origem das alternativas aos silicones. (Modificado de Bom <i>et. al</i> , 2019 <sup>27</sup> e Beerling, 2013 <sup>28</sup> ) ....	19
<b>Figura 13.</b> Etapas de produção do Alcano C15-19. ....	21
<b>Figura 14.</b> Estrutura química do Cetiol® CC. ....	22
<b>Figura 15.</b> Reação química da síntese de Cetiol® CC. ....	22
<b>Figura 16.</b> Estrutura química do cetil 2-etilhexanoato. ....	23
<b>Figura 17.</b> Alternativas de silicones de acordo com a classificação. ....	23
<b>Figura 18.</b> Estrutura química do palmitato de 2-etilhexil. ....	25
<b>Figura 19.</b> Imagem microscópica da lipase <i>Aspergillus oryzae</i> . ....	27
<b>Figura 20.</b> Aspeto visual da formulação cosmética testada para a incorporação das alternativas de silicones. ....	37
<b>Figura 21.</b> Amostras avaliadas sensorialmente. A - creme com o silicone comercial, ciclopentasiloxano; B - creme com a alternativa de silicone sintetizada, <b>4a</b> . ....	43
<b>Figura 22.</b> Estruturas químicas dos compostos desejados. ....	47
<b>Figura 23.</b> Percentagem de éster formado, conforme o ácido utilizado, <b>1</b> ) ácido heptanóico, <b>2</b> ) ácido octanóico e <b>3</b> ) ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima nativa, em heptano. ....	52

<b>Figura 24.</b> Interação do composto <b>4a</b> com a lipase nativa (PDB ID: 1TIB) (Imagem retirada do <i>software</i> PyMol). .....	53
<b>Figura 25.</b> Percentagem de éster formado, consoante o ácido utilizado, <b>1)</b> ácido heptanóico, <b>2)</b> ácido octanóico e <b>3)</b> ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima modificada, em heptano. ....	53
<b>Figura 26.</b> Interação do composto <b>4a</b> com a lipase modificada (PDB ID: 1TIB). (Imagem retirada do <i>software</i> PyMol).....	54
<b>Figura 27.</b> Percentagem de éster formado, de acordo com o ácido utilizado, <b>1)</b> ácido heptanóico, <b>2)</b> ácido octanóico e <b>3)</b> ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença das enzimas <i>Candida rugosa</i> (linha contínua) e <i>porcine pancreas</i> (tracejado), em heptano. ....	56
<b>Figura 28.</b> Percentagem de éster formado, conforme o ácido utilizado, <b>1)</b> ácido heptanóico, <b>2)</b> ácido octanóico e <b>3)</b> ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima modificada, sem heptano.....	57
<b>Figura 29.</b> Percentagem de éster formado, consoante ácido utilizado, <b>1)</b> ácido heptanóico, <b>2)</b> ácido octanóico e <b>3)</b> ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima imobilizada, sem heptano.....	58
<b>Figura 30.</b> Vantagens e desvantagens gerais de cada lipase, face ao observado neste trabalho. ....	59
<b>Figura 31.</b> Espetro <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto <b>4a</b> . ....	60
<b>Figura 32.</b> Espetros de FTIR do composto <b>4a</b> (a verde), do ácido heptanóico (cinza) e do álcool 1-heptanol (azul). .....	62
<b>Figura 33.</b> Relação entre a densidade e o comprimento da cadeia carbonada. ....	68
<b>Figura 34.</b> Aspeto visual de cada creme produzido. ....	72
<b>Figura 35.</b> Cor da formulação cosmética C1 ao fim de 6 meses, consoante o ciclo de temperatura. ....	74
<b>Figura 36.</b> Aspeto visual dos cremes após o teste de estabilidade acelerada ( <b>A</b> ) e após o teste de estabilidade em ciclos de temperatura extrema ( <b>B</b> ). ....	78
<b>Figura 37.</b> Estruturas microscópicas dos cremes produzidos, com um aumento de 40x. ....	82
<b>Figura 38.</b> Propriedades viscoelásticas das formulações: <b>A</b> cremes controlo, C4 e C5; <b>B</b> cremes controlo, C6 e C7; <b>C</b> cremes controlo, C8 e C9. ....	84
<b>Figura 39.</b> Stress físico das formulações: <b>A</b> cremes controlo, C4 e C5; <b>B</b> cremes controlo, C6 e C7; <b>C</b> cremes controlo, C8 e C9. ....	86
<b>Figura 40.</b> Viscosidade das formulações, segundo as curvas de fluxo: <b>A</b> cremes controlo, C4 e C5; <b>B</b> cremes controlo, C6 e C7; <b>C</b> cremes controlo, C8 e C9. ....	88
<b>Figura 41.</b> Viscosidade das formulações a 37°C, segundo as curvas de fluxo: <b>A</b> cremes controlo, C4 e C5; <b>B</b> cremes controlo, C6 e C7; <b>C</b> cremes controlo, C8 e C9. ....	89

**Figura 42.** Resultados da avaliação sensorial efetuada por voluntários.....93

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Funções e propriedades dos silicones aplicados nas respectivas indústrias.....	3
<b>Tabela 2.</b> Classes de silicones utilizados na cosmética .....	6
<b>Tabela 3.</b> Silicones fluídos classificados pela sua viscosidade.....	7
<b>Tabela 4.</b> Exemplos de alternativas de silicones.....	20
<b>Tabela 5.</b> Código atribuído a cada reação efetuada ao longo do estudo. ....	31
<b>Tabela 6.</b> Composição da formulação cosmética A .....	38
<b>Tabela 7.</b> Lista de cremes produzidos em função do silicone incorporado .....	39
<b>Tabela 8.</b> Quantidade de éster formado (%), passadas 3h e 30h de reação com a lipase nativa, em heptano..	48
<b>Tabela 9.</b> Quantidade de éster formado (%), ao fim de 3h e 30h de reação com a lipase modificada, conforme o ácido utilizado, em heptano.....	49
<b>Tabela 10.</b> Peso molecular esperado e obtido (por espectrometria de massa de alta resolução) de cada éster	61
<b>Tabela 11.</b> Análise termogravimétrica dos silicones, alternativas de silicones e reagentes de partida .....	63
<b>Tabela 12.</b> Valores obtidos da viscosidade, tensão superficial e densidade para os compostos sintetizados e comerciais.....	65
<b>Tabela 13.</b> Valores do índice de refração, propagação, log P e energia de transição molar obtidos para cada composto .....	69
<b>Tabela 14.</b> Propriedades organoléticas dos cremes após formulação e passados 6 meses .....	73
<b>Tabela 15.</b> Valores de pH dos cremes após formulação e passados 6 meses.....	76
<b>Tabela 16.</b> Viscosidades dos cremes após 1 mês e 6 meses da sua formulação .....	77
<b>Tabela 17.</b> Medidas do perfil de textura de cada creme .....	90

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Termogramas do produto <b>5c</b> (a vermelho) e do ácido DEC (a cinza) consoante o peso perdido (%) e a temperatura (°C).....	63
<b>Gráfico 2.</b> Variação do tamanho e da PDI para todos os cremes, depois de formulados (a azul) e após 3 meses (a laranja). Os desvios padrão têm como base duas réplicas.....	80
<b>Gráfico 3.</b> Variação da carga superficial para todos os cremes, depois de formulados (a azul) e após 3 meses (a laranja). Os desvios padrão têm como base duas réplicas. ....	81

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Lipases utilizadas consoante os substratos presentes na reação de esterificação. ....	26
<b>Esquema 2.</b> Tamanho dos reagentes e a estequiometria ácido:álcool utilizada em cada reação. ....	46
<b>Esquema 3.</b> Esquema reacional das reações com estequiometria de 2:1. ....	47
<b>Esquema 4.</b> Esquema reacional para obter os compostos de estequiometria 1:1 ( <b>4a</b> – <b>5c</b> ), e respetivos rendimentos obtidos. ....	51
<b>Esquema 5.</b> Mecanismo catalítico proposto para a esterificação do composto <b>4a</b> , representado a verde a tríade catalítica, a azul o oxianião e a preto o ácido heptanóico e o álcool 1-heptanol.....	55
<b>Esquema 6.</b> Síntese do número de voluntários no estudo, de acordo com o género, idade e escolha do creme final. ....	92

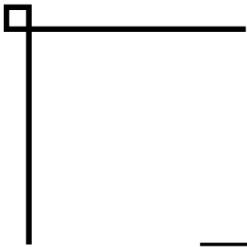
## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1.</b> Determinação da área de propagação ( $A$ ), onde $a$ representa o raio maior e $b$ o raio menor. ....	36
<b>Equação 2.</b> Determinação da polaridade. ....	37
<b>Equação 3.</b> Determinação da viscosidade representada por $\eta$ (Pa.s), $\tau$ a tensão de cisalhamento (Pa) e a $\gamma$ velocidade de corte ( $s^{-1}$ ). ....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b><sup>1</sup>H RMN</b>	Ressonância magnética nuclear de próton
<b>1-Hep</b>	1-Heptanol
<b>1,3-PDO</b>	1,3-Propanediol
<b>Asp</b>	Aspartato
$\lambda$	Comprimento de onda
<b>D4</b>	Ciclotetrasiloxano
<b>D5</b>	Ciclopentasiloxano
<b>DEC</b>	Ácido decanóico
<b>DEG</b>	Dietineloglicol
<b>DLS</b>	Espalhamento dinâmico de luz
$\rho$	Densidade
$\delta$	Desvio químico
<b>ECHA</b>	Agência Europeia das Substâncias Químicas
<b>ESI</b>	Ionização por <i>electrospray</i>
<b>FTIR</b>	Espetroscopia de infravermelho com transformada de <i>Fourier</i>
<b>G'</b>	Componente elástico/ <i>storage modulus</i>
<b>G''</b>	Componente viscoso/ <i>loss modulus</i>
<b>HEP</b>	Ácido heptanóico
<b>His</b>	Histidina
<b>HRMS</b>	Espectrometria de massa de alta resolução
<b>INCI</b>	Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos
<b><i>log P</i></b>	Coeficiente de partição octanol : água
<b>LVE</b>	Linear viscoelástica
<b>MEG</b>	Etilenoglicol
$\nu$	Número de onda
$n_o$	Refratividade
<b>OCT</b>	Ácido octanóico
<b>PDI</b>	Polidispersibilidade
<b>PDMS</b>	Polidimetilsiloxanos

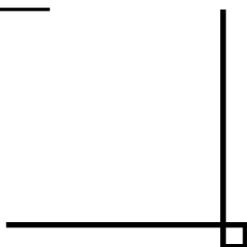
<b>PEG</b>	Polietilenoglicol
<b>pH</b>	Potencial de hidrogénio
<b>PPG</b>	Polipropilenoglicol
<b>ppm</b>	Partes por milhão
$\eta$	Rendimento
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>SCCS</b>	Comité Científico de Segurança do Consumidor
<b>SEAC</b>	Comité de Análise Socioeconómica
<b>Ser</b>	Serina
<b>Sil.05</b>	Óleo de silicone 5 cSt
<b>TA</b>	Temperatura ambiente
$T_{dmax}$	Temperatura de decomposição máxima
$\tau$	Tensão de cisalhamento
$\sigma$	Tensão superficial
<b>TGA</b>	Análise termogravimétrica
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-visível
<b>UE</b>	União europeia
$\gamma$	Velocidade de corte
$\eta$	Viscosidade



CAPÍTULO 1

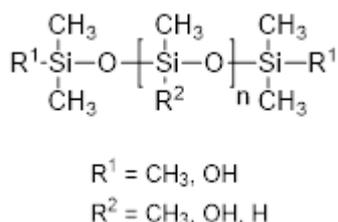
---

INTRODUÇÃO



## 1.1 Enquadramento geral

Os silicones são polímeros sintéticos que apresentam na sua estrutura unidades repetidas de átomos de silício e de oxigénio (siloxanos), com cadeias laterais orgânicas ligadas a cada átomo de silício<sup>1, 2</sup>, conforme a Figura 1.



**Figura 1.** Estrutura geral dos silicones.

Consoante o tamanho das moléculas, estes compostos podem ser voláteis ou não-voláteis. A capacidade de se conectarem a diferentes grupos orgânicos faz com que os estes polímeros pertençam a uma ampla e diversificada família, correspondendo o termo “silicone” a um nome genérico para muitas classes com as mais variadas propriedades e características únicas. Essas propriedades são atribuídas devido à força e flexibilidade da ligação Si-O, estando também diretamente relacionadas com o comprimento das ligações, concebendo-lhes um carácter iónico parcial, com moléculas anfífilas e baixas forças de interação<sup>3</sup>. Tal facto prende-se com a capacidade de rotação livre adquirida pelas moléculas, as quais adotam uma configuração de menor energia nas interfaces, levando a valores de tensão superficial substancialmente menores do que de outros polímeros orgânicos<sup>2, 4</sup>. Por exemplo, a presença em R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> de grupos metil, assim como hidrocarbonetos de cadeias mais longas, tornam os silicones hidrofóbicos, enquanto grupos polares podem produzir silicones solúveis em água<sup>5</sup>. Assim, por lhes ser permitido modificar o seu esqueleto, é possível obter uma combinação de propriedades favoráveis para um fim específico, e como tal, são utilizados na maior parte das indústrias, incluindo a alimentar, têxtil, de revestimento, automóvel, médica e cosmética<sup>6</sup>. Na seguinte tabela (Tabela 1) encontram-se, de forma sucinta, algumas funções/propriedades dos silicones, consoante a indústria aplicada.

Desde que foram introduzidos na indústria cosmética, os silicones tornaram-se ingredientes indispensáveis em muitas formulações, pelo que os seus benefícios levaram a um crescimento constante na produção de cosméticos de cuidado pessoal. Apesar de a indústria desenvolver centenas de diferentes materiais de silicone ao longo dos anos, este continua a ser um composto sintético, com elevados custos na sua produção. Assim, o químico medicinal visa descobrir novas formulações, que resultem num método de produção mais “verde” e “amigo do ambiente”, possibilitando uma redução nas etapas de transformação do composto, tentando assemelhar-se ao máximo a um produto natural.

**Tabela 1.** Funções e propriedades dos silicones aplicados nas respetivas indústrias

Indústria	Função/Propriedade
 <p><b>ALIMENTAR</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Agente antiespuma</li> <li>● Baixa tensão superficial</li> <li>● Insolubilidade em água</li> <li>● Estabilidade térmica</li> <li>● Quimicamente inerte</li> </ul>
 <p><b>TÊXTIL</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Revestimento hidrofóbico</li> <li>● Baixas forças de interação</li> <li>● Estabilidade térmica</li> <li>● Lubrificante</li> <li>● Agente antiespuma</li> <li>● Redução do coeficiente de fricção</li> </ul>
 <p><b>REVESTIMENTO</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Baixa tensão superficial</li> <li>● Resistência a elevadas temperaturas</li> <li>● Repelente à água</li> <li>● Proteção e preservação</li> <li>● Adesão</li> </ul>
 <p><b>AUTOMÓVEL</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Estabilidade térmica</li> <li>● Resistência à radiação UV e ozono</li> <li>● Adesão</li> <li>● Proteção e preservação</li> </ul>
 <p><b>MÉDICA</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Fácil de esterilizar</li> <li>● Baixa tensão superficial</li> <li>● Comportamento viscoelástico</li> <li>● Hidrofobicidade</li> <li>● Alta permeabilidade</li> <li>● Revestimento de agulhas e seringas</li> <li>● Lubrificação de dispositivos médicos</li> <li>● Excipientes na formulação de adesivos transdérmicos</li> <li>● Sistemas de entrega de drogas</li> </ul>
 <p><b>COSMÉTICA</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Alta volatilidade</li> <li>● Alta permeabilidade</li> <li>● Hidrofobicidade</li> <li>● Baixa tensão superficial</li> <li>● Agente antiespuma</li> <li>● Resistência de lavagem</li> <li>● Emoliente</li> </ul>

## **1.2 Silicones na cosmética**

Ao longo do tempo, os compostos de silicone foram ganhando sucesso pelas suas propriedades hidratantes e suavizantes na pele, especialmente por não deixarem um rasto gorduroso. As suas capacidades emolientes e parcialmente oclusivas fazem destes, os compostos ideais para servir de base aos mais diversos hidratantes, sendo uma eficaz alternativa às formulações à base de óleos<sup>2,7</sup>.

Os silicones usados nos produtos tópicos são referidos como hipoalergénicos, não comedogénicos e não acnegénicos. Para além disso, são também caracterizados como um líquido inodoro, incolor, atóxico, insolúvel em água, mas permeável ao vapor de água. Esta última característica tornou-se essencial na produção de cosméticos, uma vez que a transpiração deve evaporar mesmo com a utilização de hidratantes sob a pele. O facto de ser insolúvel em água também evita que ao transpirar o produto seja removido da superfície da pele. A sua capacidade para formar um filme sobre as superfícies confere a estes compostos propriedades para resistir à água, sendo por isso um composto comum na formulação de protetores solares<sup>8</sup>.

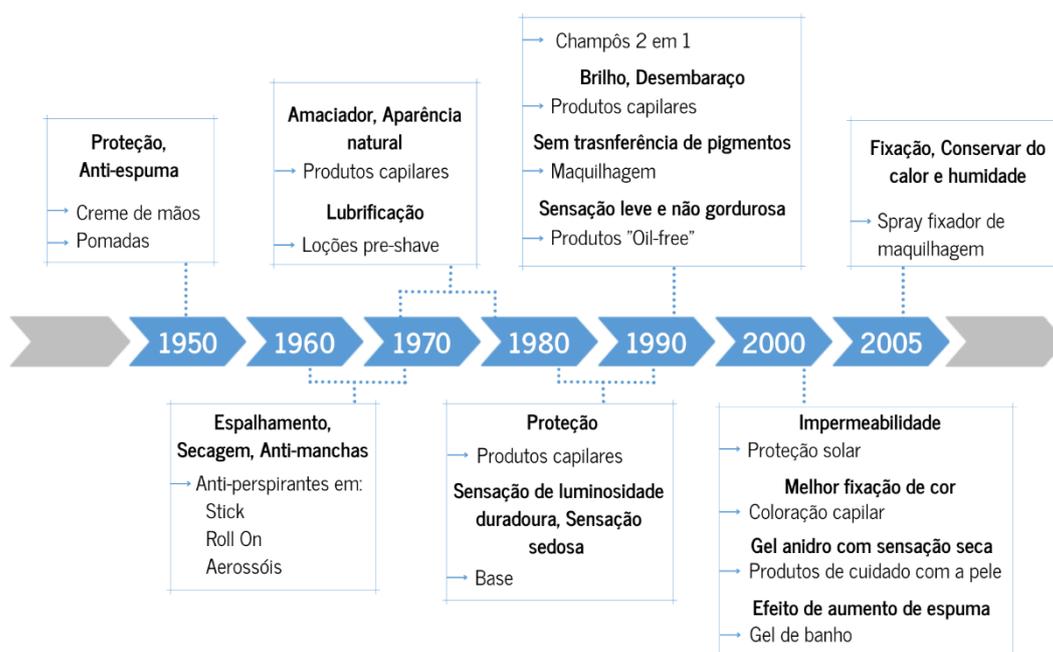
Através destas propriedades e características, esta gama de compostos encontra-se em grande parte dos produtos cosméticos oferecendo benefícios que contribuem no desempenho da sua função, conferindo uma boa dispersão, formação de filme, resistência à lavagem, boa sensação na pele, volatilidade, permeabilidade, entre outros<sup>2,6,9</sup>.

### **1.2.1 História dos silicones nos produtos cosméticos**

Os silicones contribuíram pela primeira vez na formulação comercial de um cosmético na década de 1950 (Figura 2), ficando assim registado o seu primeiro uso num creme de mãos para fornecer proteção à pele<sup>6,9</sup>. Nas décadas seguintes, o uso de silicones voláteis melhorou significativamente a qualidade geral dos produtos antiperspirantes, aumentando a sua aceitação por parte dos consumidores graças à agradável sensação de “pele seca” por eles conferida<sup>10</sup>, bem como as suas propriedades anti-manchas<sup>2,9</sup>. Nos anos 80, os compostos de silicone atingiram o auge expandindo-se para todos os produtos cosméticos. Estes foram introduzidos em formulações de maquilhagem, uma vez que melhoram o espalhamento de pigmentos, permitindo a sua conservação durante todo o dia de uso. Foram também incorporados em produtos para o cabelo, onde as suas formas fluídas ou em emulsão formularam champôs 2 em 1<sup>10</sup>, enquanto que as menos fluídas foram introduzidas em mousses e amaciadores<sup>5,6</sup>.

No início do século XXI, os elastómeros de silicone foram introduzidos no mercado, o que melhorou as propriedades das formulações tradicionais, as quais necessitavam de elevadas quantidades de óleo e álcoois de cadeias longas. Estes compostos conduziram os formuladores a uma nova direção sensorial em termos de sedosidade. Em 2005, foi criado o *Makeup Finishing Spray* da Skindinavia com a função de fixar a maquilhagem e a preservar na presença de calor e humidade, mantendo a superfície da pele fresca<sup>11</sup>.

Atualmente, os silicones encontram-se aplicados em praticamente todos os tipos de cosméticos, desde os produtos de cuidados com o cabelo e com a pele, até aos de proteção solar e para coloração.



**Figura 2.** Funções e respetivos produtos cosméticos do uso de silicones, por ordem cronológica.

### 1.2.2 Principais tipos de silicone utilizados na cosmética

A síntese de compostos de silicone envolve complexas etapas de transformação, que consoante os métodos implementados, dão origem a diferentes compostos de silicone. Como mencionado anteriormente, existem várias classes e categorias (Tabela 2), sendo que neste capítulo apenas será abordada uma pequena parte, as mais utilizadas em cosmética.

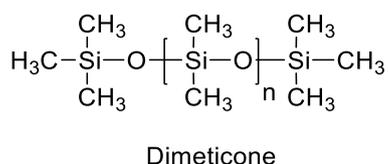
Os silicones apresentam diversas diferenças entre si, pelo que podem ser voláteis ou não voláteis, de cadeias lineares ou cíclicas, líquidos ou sólidos e ainda, fluidos ou não fluidos<sup>3, 5, 6</sup>.

**Tabela 2.** Classes de silicones utilizados na cosmética

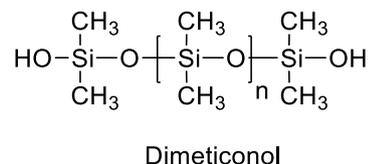
CLASSE	TIPO DE SILICONE	ESTADO FÍSICO	EXEMPLOS
POLIDIMETILSILOXANO (PDMS)	Silicone puro	Líquido	Dimeticone Dimeticonol Ciclometicone Tetrapentasiloxano
<ul style="list-style-type: none"> <li>SILICONES VOLÁTEIS</li> </ul>	Silicone puro	Líquido	(D4) Ciclopentasiloxano (D5)
<ul style="list-style-type: none"> <li>PDMS COM AMINAS FUNCIONALIZADAS</li> </ul>	Silicone modificado	Líquido	Amodimeticone
<ul style="list-style-type: none"> <li>SILICONES POLIÉTER</li> </ul>	Silicone modificado	Líquido	PEG 8 Dimeticone
CERA DE SILICONE	Silicone modificado	Sólido	Cetil dimeticone Estearil dimeticone
RESINA DE SILICONE	Silicone modificado	Sólido	Trimetilsiloxisilicato
ELASTÓMEROS DE SILICONE	Silicone modificado	Semi-sólido (tipo gel)	-

### 1.2.2.1 Polidimetilsiloxanos (PDMS)

Grande parte dos produtos de cuidado pessoal têm por base a presente classe de silicones, que se subdivide em várias categorias, incluindo silicones fluídos que podem ser voláteis ou não voláteis, lineares ou cíclicos. Característicos por serem constituídos apenas por cadeias laterais metílicas, o silicone mais conhecido desta classe designa-se de dimeticone. Quando o grupo funcional terminal é o silanol (grupos Si-OH) o composto denomina-se por dimeticonol. Ambos apresentam estruturas lineares, conforme representado na Figura 3 e 4, e existem em diferentes níveis de viscosidade, adquirindo, conseqüentemente, diversos pesos moleculares consoante a extensão das unidades de repetição ( $n$ )<sup>5</sup>.



**Figura 3.** Estrutura geral do dimeticone.



**Figura 4.** Estrutura geral do dimeticonol.

Para compreender melhor cada propriedade, é necessário conhecer quais as diferentes viscosidades e como se relacionam. Deste modo, na Tabela 3 são apresentados os diversos níveis de viscosidade adquiridos pelos silicões fluidos.

**Tabela 3.** Silicões fluidos classificados pela sua viscosidade

Nível de viscosidade	Volátil	Viscosidade Baixa	Viscosidade Regular	Viscosidade Elevada	Viscosidade Ultra Elevada
<b>Viscosidade (mPa.s)</b>	0.65	5	50	10,000	100,000
	1	10	100	60,000	500,000
	3	20	200		1,000,000
			350		
			500		
			1,000		

Das cinco classes apresentadas, as mais utilizadas em produtos cosméticos são os silicões fluidos voláteis e os silicões de baixa viscosidade. Ambos são caracterizados por possuir uma baixa tensão superficial e exibir um espalhamento fácil e rápido, sendo comumente utilizados em produtos de cuidado pessoal devido à sua capacidade de lubrificação, capaz de preencher as cavidades da pele. O primeiro é utilizado numa grande variedade de produtos, desde a pele ao cabelo, e uma vez que apresenta grande destaque em diversas formulações, será mais detalhado noutra categoria mais à frente [ver ponto a) do capítulo 1.2.2.1]. Os silicões de baixa viscosidade são fluidos lípidos, inodoros e proporcionam uma sensação suave e não gordurosa na pele, sendo por isso utilizados em produtos como cremes, loções, óleos de banho e alguns produtos para cabelo<sup>3</sup>. Para além disso, são tidos como mais oleosos e de absorção mais rápida, enquanto que os compostos de alta viscosidade aparentam ser mais

gordurosos e de absorção mais lenta, tornando-se ótimos protetores da pele através da formação de barreiras<sup>5</sup>. Todos os silicones de diferentes viscosidades apresentam elevada estabilidade numa variada gama de temperaturas.

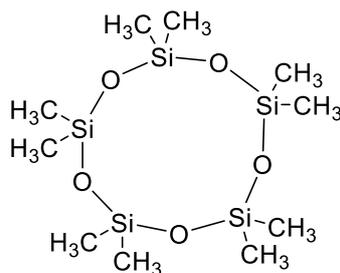
O silicone dimeticone é considerado o mais antigo, e a sua viscosidade é diretamente proporcional ao comprimento da cadeia da função siloxano. A maioria das formulações no mercado contém este composto devido à sua propriedade antiespumante, capaz de reduzir a formação de espuma numa loção<sup>5</sup>.

Quando aplicados nos champôs, a sua função consiste em bloquear a água e proteger a cor do cabelo das lavagens. Os silicones utilizados nestas formulações não são solúveis nos ingredientes aquosos, apresentando por isso uma coloração opaca. Quando inseridos nos amaciadores, estes depositam-se nas bordas das cutículas do cabelo (onde o dano ocorre mais facilmente), dando início ao processo de lubrificação. Para além disso, torna o cabelo mais suave e brilhante, reduzindo a resistência à escovação quando molhado ou seco, revertendo a sua condição debilitada, tornando-o saudável<sup>2,3</sup>.

O silicone dimeticonol é mais polar que o dimeticone e por esse motivo possui uma aplicação mais limitada na indústria cosmética. Nestes compostos, com o aumento do comprimento da cadeia observa-se uma rápida diminuição no efeito da polaridade dos grupos silanol. Os compostos com baixa viscosidade (de cadeia curta) são referidos por poder influenciar a solubilidade de outros ingredientes num produto cosmético, e por este facto, são menos utilizados<sup>5</sup>. Os dimeticonóis de altos níveis de viscosidade têm um efeito mínimo nos outros compostos, sendo utilizados como protetores na coloração do cabelo quando pintado e em formulações de brilho capilar. Para além de o selar, proporcionam uma sensação suave e aveludada ao toque, tornando-a duradoura<sup>2</sup>. São excelentes amaciadores que evaporam facilmente sem deixar resíduos, no entanto, consistem em formulações gordurosas antiaderentes, apresentando uma consistência do “tipo massa”<sup>3</sup>, desagradável para os consumidores.

### **a) PMDS Voláteis (Silicones Voláteis)**

Como referido anteriormente, esta categoria de silicones é utilizada numa extensa gama de diferentes produtos, nomeadamente, antiperspirantes/desodorizantes, cremes de limpeza, loções e cremes, óleos de banho, bronzeadores, maquilhagem, vernizes para as unhas, produtos de barbear, de cabelo e em *stick*<sup>2,3</sup>.



Ciclopentasiloxano, D5

**Figura 5.** Estrutura química do ciclopentasiloxano.

O silicone mais famoso desta categoria é o ciclometicone que abrange uma série de silicones cíclicos, do qual derivam predominantemente o ciclotetrasiloxano (D4), e em quantidades mais pequenas, o ciclopentasiloxano (D5) (onde D se refere, principalmente, à unidade de dimetilsiloxano e o número subscrito, às unidades Si-O que compõem a cadeia cíclica)<sup>4</sup>, representado na Figura 5.

No início da sua descoberta, o ciclotetrasiloxano (D4) era o composto mais utilizado, pois para além de apresentar as propriedades desejáveis, era também o mais abundante (85% de D4 para 15% de D5) logo mais económico de obter que o composto semelhante, D5. Porém, estudos de toxicidade demonstraram que a inalação deste composto provocava problemas reprodutivos em cobaias. No final dos anos 90, a indústria cosmética viu-se obrigada a suspender o seu uso e substituí-lo pelo D5, ainda hoje presente em alguns cosméticos<sup>5</sup>.

Estes foram primeiramente usados em antitranspirantes/desodorizantes pois requerem um baixo calor de evaporação, consumindo consideravelmente menos energia que o etanol<sup>2</sup>. Na época, a formulação continha sais de alumínio como princípio ativo que eram suspensos em D4, deixando uma agradável sensação seca na pele durante a aplicação, que ao evaporar permanecia apenas o princípio ativo na pele, sem manchas<sup>5</sup>.

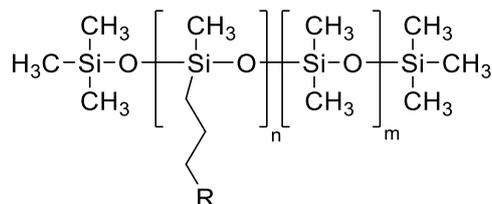
O ciclopentasiloxano (D5), por ser um silicone fluido volátil, apresenta baixa viscosidade, e como tal revela vários benefícios para produtos do cuidado da pele, especificamente: confere uma sensação suave e sedosa à pele do tipo “pele seca”<sup>7</sup>, evapora à temperatura ambiente, é compatível com uma ampla gama de ingredientes cosméticos, possui excelente qualidade de espalhamento (emoliente

transitório), não deixa resíduos oleosos nem é gorduroso, tem baixa tensão superficial, é incolor e essencialmente inodoro, sendo também utilizado como solvente<sup>3</sup>.

A sua aplicação nos produtos de maquiagem foi um grande avanço para a indústria cosmética, pois permitiu a formação de um filme homogêneo dos pigmentos sobre a pele, que depois de evaporar resiste à transpiração conservando a cor e o brilho<sup>9</sup>. Nas formulações de produtos para o cabelo, destacou-se como agente amaciante por conferir lubrificação, que facilita o pentear do cabelo molhado. Após a aplicação, este evapora à medida que o cabelo seca deixando uma sensação mínima de resíduo<sup>5</sup>.

### b) PDMS com aminas funcionalizadas

Esta classe deriva de silicones, não sendo propriamente um silicone de origem, ou seja, são silicones que foram modificados com outros tipos de grupos orgânicos ligados aos átomos de silício, sendo frequentemente chamados de silicones “organo-modificados”<sup>12</sup> (Figura 6).



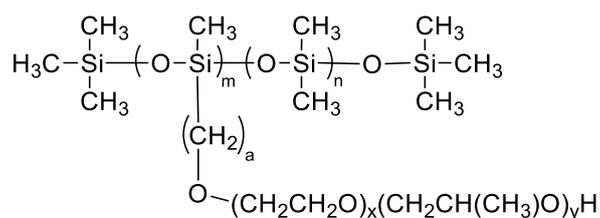
R= grupos orgânicos iônicos ou não iônicos

**Figura 6.** Estrutura geral de um silicone “organo-modificado”.

Os diferentes grupos introduzidos alteram as propriedades dos silicones, como por exemplo, a solubilidade ou a afinidade para uma superfície específica. A indústria têxtil desenvolveu dimetil silicones organo-modificados considerados como agentes amaciadores/lubrificantes eficazes em produtos capilares<sup>13</sup>. O primeiro a ser utilizado foi o silicone amodimeticone, um dimetilsiloxano no qual grupos amina foram introduzidos. Estes novos grupos funcionais por serem polares, adquirem uma carga positiva na água que ajuda a depositar o silicone nos tecidos e nos cabelos, fornecendo também lubrificação ao cabelo para facilitar a escovação<sup>5,10</sup>.

### c) PDMS com poliálcool funcionalizado (Silicone poliéter)

Os poliéteres de silicone ou antigamente conhecidos pelo nome genérico de Dimeticone Copoliálcool, abrangem uma grande variedade de nomes, uma vez que segundo o dicionário INCI (Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos), o comprimento da cadeia de cada tipo de poliéter deve ser incluído no nome. Estes silicones são também modificados, derivados de polímeros de dimetilsiloxano, alterados através da introdução de grupos polares na unidade de siloxano. Exemplos desses grupos são o polietilenoglicol (PEG), polipropilenoglicol (PPG), polibutilenoglicol, ou ainda uma combinação destes<sup>3,5</sup> (Figura 7).



PEG/PPG Silicone Poliéter

**Figura 7.** Estrutura geral dos silicones poliéter.

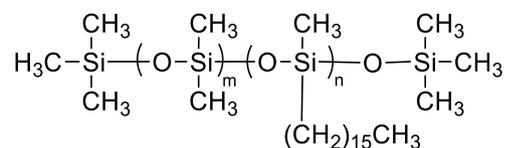
Estes compostos são utilizados em diversas indústrias como surfactantes por apresentarem propriedades anfífilas, ou seja, eles possuem grupos funcionais que na sua forma pura seriam insolúveis um no outro. Isto porque a estrutura principal do dimetilsiloxano é muito hidrofóbica e os poliéteres são hidrofílicos. Assim, as propriedades dos poliéteres de silicone dependem tanto do tipo, como da proporção de silicone / poliéter, pelo que se contiver um volume de PEG suficiente, o composto será solúvel em água. Essas propriedades incluem o humedecimento, a formação de espuma e emulsificação de óleos<sup>5,13</sup>.

#### 1.2.2.2 Ceras de silicones

É importante referir que todas as categorias anteriores eram compostas por silicones líquidos à temperatura ambiente. Nestes novos capítulos serão abordadas classes de compostos sólidos também usados em cosméticos.

As ceras de silicone são compostos com uma estrutura base semelhante aos dimetilsiloxanos, pelo que os diversos grupos metilo são substituídos por grupos alquila de cadeias longas, com pelo

menos 16 unidades de carbono<sup>13</sup>. O cetil dimeticone (Figura 8) e o estearil dimeticone são duas ceras comerciais que fundem, respetivamente, ligeiramente abaixo da temperatura ambiente e à temperatura da superfície da pele (cerca de 32°C). A substituição dos grupos metilo permitiu aumentar o ponto de fusão, e ainda alterar a solubilidade dos silicones. Estas propriedades tornaram os filmes por eles formados mais impermeáveis a pequenas moléculas como a água, sendo alguns quase tão oclusivos quanto o petrolato (agente oclusivo de eleição)<sup>5</sup>.



Cetil dimeticone

**Figura 8.** Estrutura geral do cetil dimeticone.

### 1.2.2.3 Resinas de silicone

As resinas de silicone pertencem a uma família de polímeros altamente ramificados que são utilizados na indústria de revestimentos. Estas visualmente assemelham-se a um pó com uma textura do tipo plástico (Figura 9) que se desintegram quando colocadas sobre pressão. A sua estrutura complexa é geralmente construída a partir de uma unidade de repetição de silsesquioxano<sup>3</sup>.

Um composto desta classe, o trimetilsiloxisilicato, é baseado em partículas de sílica muito pequenas e modificado pela adição de grupos muito hidrofóbicos, seguidamente revestidos com grupos trimetilsilil. Esta resina apresenta pontos de fusão extremamente altos<sup>5</sup>, e a sua utilização é muito popular como formadores de filme em cosméticos de cor<sup>10</sup>.



**Figura 9.** Aspeto geral de uma resina de silicone (trimetilsiloxisilicato).

Geralmente, estes compostos são adicionados à formulação na forma de soluções, onde a resina é dissolvida em ciclopentasiloxano (D5) (solvente volátil), que suavizará a resina de silicone normalmente quebradiça. A incorporação do silicone volátil permite um espalhamento eficaz, para além de servir como transportador da resina. Após aplicação, a resina forma uma película à medida que o solvente evapora<sup>5</sup>.

Quando formuladas adequadamente, tornam-se muito eficazes na produção de filmes hidrofóbicos resistentes à água, cuja aplicação em cosméticos de cor os torna duradouros, que não mancham e oferecem resistência à transferência dos pigmentos<sup>5, 14</sup> (por exemplo, reduz a fixação do batom para o copo). Esta classe pode ainda ser incorporada em pós com o intuito de os manter fluidos. São também utilizados como agentes de fixação de cabelo, proporcionando uma excelente retenção e resistência à humidade<sup>3</sup>. Estes proporcionam efeitos duradouros no cabelo, como ondulação e coloração permanente quando incorporados em champôs, condicionadores e *sprays*. As resinas de silicone podem aumentar a resistência e a durabilidade dos vernizes, sendo encontradas nas formulações de unhas artificiais, de modo a melhorar a sua aparência e fortalecer a superfície<sup>14</sup>.

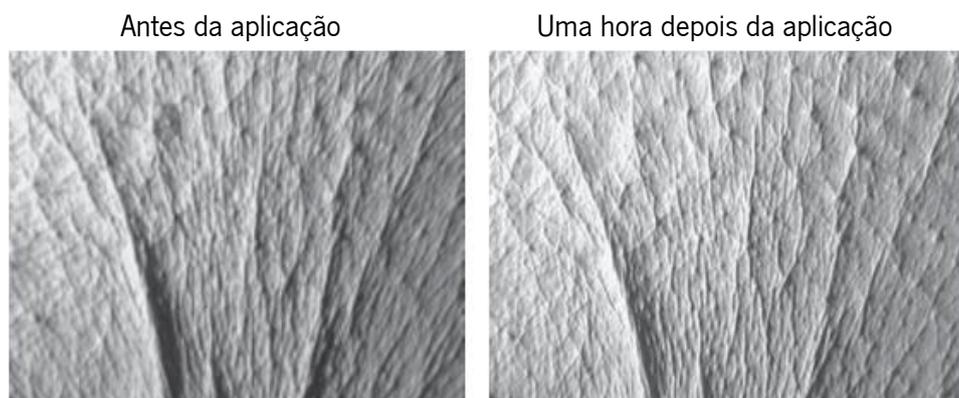
### **1.2.2.4 Elastómeros de silicone**

Estes compostos são sintetizados a partir de dimetilsiloxano através de um método de conversão de polímeros de silicone líquidos em sólidos (reticulação). O elastómero é um material de borracha macio que já se encontra aplicado numa gama de produtos de consumo, nomeadamente em painéis antiaderentes, biberões, entre outros<sup>5</sup>.

A sua primeira aplicação na indústria cosmética foi nos anos 90, formulando um pó de partículas esféricas de elastómero de silicone, conferindo uma sensação de pele macia e sedosa. Quando misturados com um solvente adequado, normalmente o D5, estes pós formam pastas translúcidas. Estas tornaram-se populares nos produtos faciais pela sua sensação sedosa na pele e efeito matificante<sup>10</sup>, objetivo que não era alcançado com os silicones líquidos<sup>5</sup>.

Estes novos silicones conseguem tornar a superfície da pele baça, sem brilho, através da redução da dispersão da luz, diminuindo assim a sombra formada pelas rugas. Para além de ver a sua aparência mascarada, o produto absorve o sebo da pele eliminando também a aparência oleosa, sendo comumente encontrado em formulações de maquilhagem como base primária (*primer*)<sup>3</sup>. A Figura 10 representa o efeito da redução das rugas visualmente, em que as fotografias retratam a textura da pele

antes e após a aplicação de um creme com 4% do pó de elastômero de silicone na sua formulação, mostrando que houve redução da aparência das rugas em 75% dos entrevistados<sup>5</sup>.

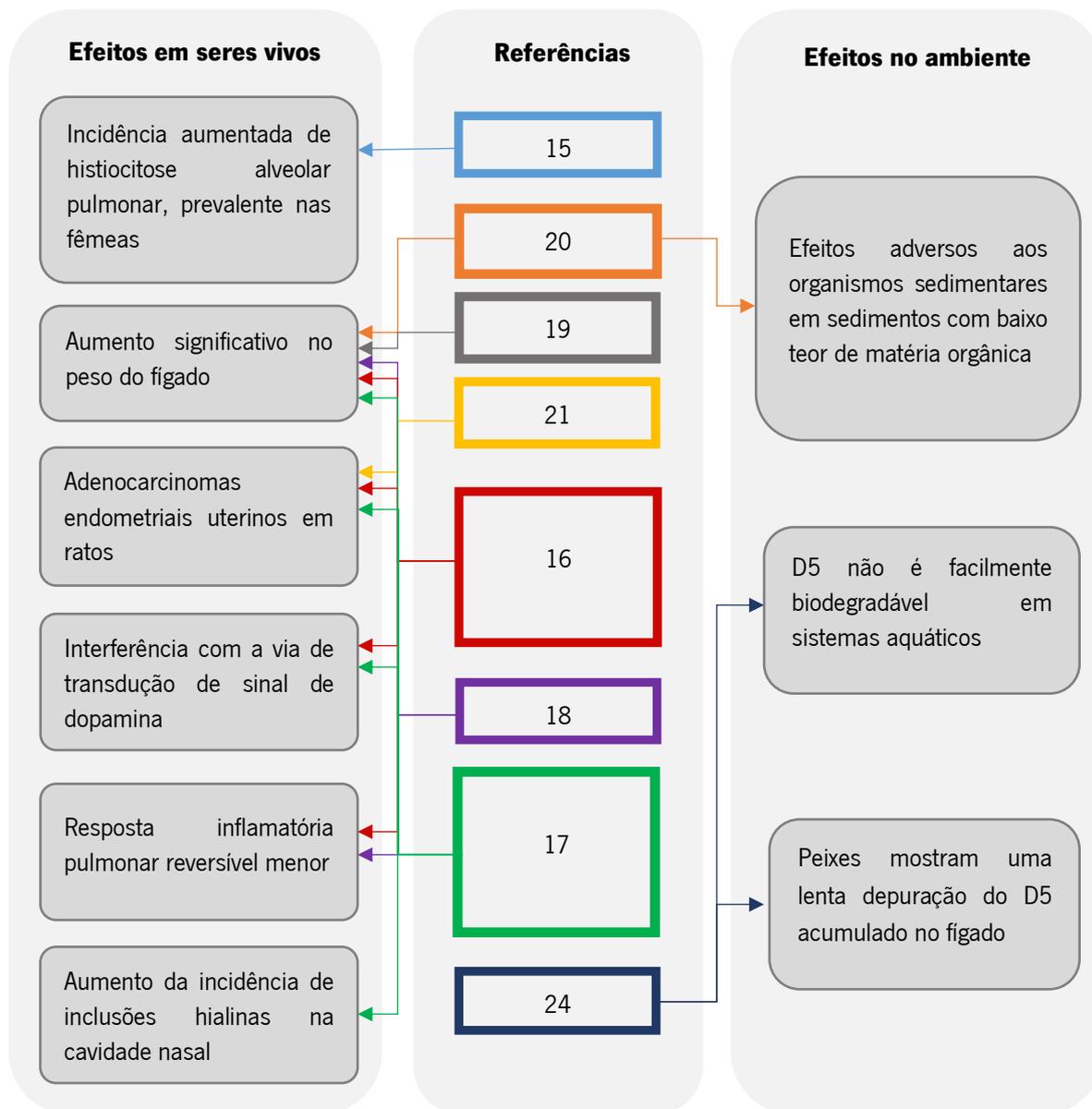


**Figura 10.** Efeito anti-rugas de um creme com pó de elastômero de silicone. (Retirado de Maxon e Starch, 2016<sup>5</sup>)

### **1.3 Remoção de silicones nos produtos cosméticos**

Desde 1950, que o uso de compostos de silicone na cosmética cresceu gradualmente ao longo das décadas, evidenciando-se pelas novas propriedades com a criação de novas texturas e características em todos os produtos de cuidado pessoal. Durante longos períodos da história foram bem acolhidos com forte presença em vários produtos, todavia, nos últimos anos, a sua potencial toxicidade tem sido abordada à medida que novas doenças e novos problemas ambientais são relatados todos os dias<sup>7</sup>.

Por derivar do D4, cuja inalação provocava problemas reprodutivos em cobaias, o silicone volátil ciclopentasiloxano (D5) tem sido abordado para diversos estudos toxicológicos, a fim de descobrir evidências de um efeito prejudicial deste composto. A sua elevada quantidade de uso e, conseqüentemente, exposição, levantaram preocupações para a saúde humana. Diversos estudos foram conduzidos em ordem de desmistificar este problema, sendo que a maior parte deles consistem na análise segundo a exposição ao silicone pela inalação e pela aplicação dérmica, uma vez que são os meios de exposição mais comuns no que toca aos humanos. Alguns exemplos dos possíveis efeitos prejudiciais encontram-se na Figura 11.



**Figura 11.** Possíveis efeitos prejudiciais do ciclopentasiloxano (D5) para a saúde.

Quanto aos efeitos nos seres vivos, vários estudos foram conduzidos através da avaliação da toxicidade. Um estudo realizado por Siddiqui *et. al*, 2007, em ratos de ambos os sexos, revelou um aumento da histiocitose alveolar pulmonar (proliferação de células nos pulmões), uma alteração que ocorre quando há uma resposta inflamatória pulmonar, notando-se mais prevalente nas fêmeas<sup>15</sup>.

Diversos estudos relatam um aumento estatisticamente significativo no peso do fígado e da relação fígado-peso corporal, após uma exposição por inalação<sup>16, 17, 18, 19, 20</sup>, o que levou a afirmar que uma concentração considerável de D5 era absorvida. Contudo, esse aumento era reversível após a cessação

da exposição, levando os investigadores a sugerir que esses resultados podiam não ser toxicológica ou biologicamente significativos.

Outro estudo determinou que o fígado era um órgão alvo para a deposição de D5 oral, e que as exposições por inalação demonstravam um potencial efeito carcinogénico. Os resultados mostraram que as cobaias expostas a uma elevada quantidade de D5 (450 mg) apresentaram um aumento estatisticamente significativo de tumores uterinos<sup>21</sup>. Outros autores<sup>16, 17</sup> também relatam um pequeno aumento, mas estatisticamente significativo, na incidência de adenocarcinomas endometriais uterinos em ratos, por inalação de D5 durante dois anos. Contrariamente, concluíram que esse aumento podia não ser resultante da exposição ao D5, mas sim da incidência de tumor espontâneo nesta linhagem de ratos. Estudos *in vitro* sugerem que este silicone pode interferir com um ou mais componentes da via de transdução de sinal da dopamina, e como tal, podem levar à aceleração do envelhecimento do eixo endócrino reprodutivo, provocando tumores uterinos. Deste modo, o D5 foi determinado como não genotóxico, considerando os resultados não relevantes para humanos<sup>16, 17, 19</sup>.

Devido à permeabilidade muito baixa do D5 e à rápida evaporação quando aplicado na pele, após a sua evaporação este é inalado e absorvido pelos pulmões, tornando o trato respiratório e o fígado<sup>16</sup> nas principais vias de exposição. Pela sua alta volatilidade, a exalação do ciclopentasiloxano (D5) inalterado é a principal via de eliminação quando absorvido. Os efeitos de exposição crônica por inalação foram observados, provocando uma resposta inflamatória pulmonar reversível menor<sup>18</sup>, nomeadamente, um aumento da incidência de inclusões hialinas na cavidade nasal<sup>17</sup> e o aumento da incidência de irritação do trato respiratório<sup>16</sup>.

Johnson *et al*, 2011 desenvolveu um estudo com participantes humanos, no qual avaliou a exposição de D5 por via inalatória e dérmica de quatro produtos, com uma percentagem do silicone entre 55,76% e 90,37%. Foi concluído que cerca de 0,05% de D5 era absorvido pela circulação sistémica, após aplicação nas axilas<sup>22</sup>. Mais de 83% do produto que atingiu a circulação foi eliminado por exalação em 24 horas, e uma potencial ingestão deste composto através de um batom não resultaria num risco para a saúde humana<sup>19</sup>.

Considerando o impacto ambiental destes silicões, Wang *et al*, 2013 relata que estes compostos não apresentam efeitos adversos em peixes, quando expostas a concentrações que não ultrapassam a sua solubilidade em água<sup>20</sup>. Refere ainda que o composto foi mais propenso a causar

efeitos adversos aos organismos sedimentares<sup>20</sup> sendo o D5 considerado tóxico para sedimentos e organismos do solo<sup>23</sup>.

Apesar de alguns estudos com peixes demonstrarem uma lenta depuração do D5 acumulado no fígado, não ficou esclarecido se esses efeitos são suficientes para o justificar como tóxico<sup>24</sup>. Existem evidências de que o D5 pode ser encontrado numa ampla gama de organismos (peixes e invertebrados aquáticos, aves e mamíferos) de todas as cadeias alimentares aquáticas, no entanto, os dados de toxicidade aquática mostram que não causa efeitos tóxicos<sup>23</sup>. Porém existe uma grande preocupação baseada na possibilidade de persistir nos corpos dos organismos e acumular-se continuamente, transmitindo efeitos desconhecidos e potencialmente tóxicos<sup>5</sup>.

Para além do mencionado, não é facilmente biodegradável em sistemas aquáticos (visto que é hidrofóbico), e situa-se nos critérios para substâncias muito persistentes e muito bioacumuláveis<sup>23, 24</sup>. Muitos dos produtos onde se encontram requerem lavagem com água (champôs, amaciadores), pelo que acabam por chegar às águas residuais, e muitas vezes aos oceanos (protetor solar) sendo um grande fator de risco para o ambiente. Uma vez na atmosfera, eles podem ser transportados por longas distâncias sendo detetados em regiões remotas<sup>23</sup>, embora permaneçam na atmosfera até serem degradados. No entanto, não se prevê que causem a destruição da camada de ozono ou que contribuam significativamente para o aquecimento global<sup>25</sup>.

Apesar de todos estes estudos, o Comité Científico de Segurança do Consumidor (SCCS) em julho de 2016 declarou que o ciclopentasiloxano (D5)<sup>22</sup>:

- Não apresenta genotoxicidade para os três níveis: mutações genéticas, aberrações cromossômicas e aneuploidia;
- É capaz de aumentar os níveis e atividades de importantes enzimas metabolizadoras de xenobióticos;
- Não tem atividade estrogénica direta, antiestrogénica, androgénica, antiandrogénica ou progestagénica, e como tal, é improvável que o modo de ação dos adenocarcinomas uterinos observados esteja relacionado a um efeito hormonal direto, sendo que o mecanismo de ação para os efeitos uterinos do D5 ainda não é compreendido;
- Pode atuar como agonista da dopamina, contribuindo assim para um potencial efeito carcinogénico observado em ratos (adenocarcinomas uterinos);
- É ligeiramente irritante para a pele e para os olhos;

- Pode contribuir para um aumento do peso do fígado;
- Tem como potenciais órgãos-alvo o fígado, o pulmão e o útero.

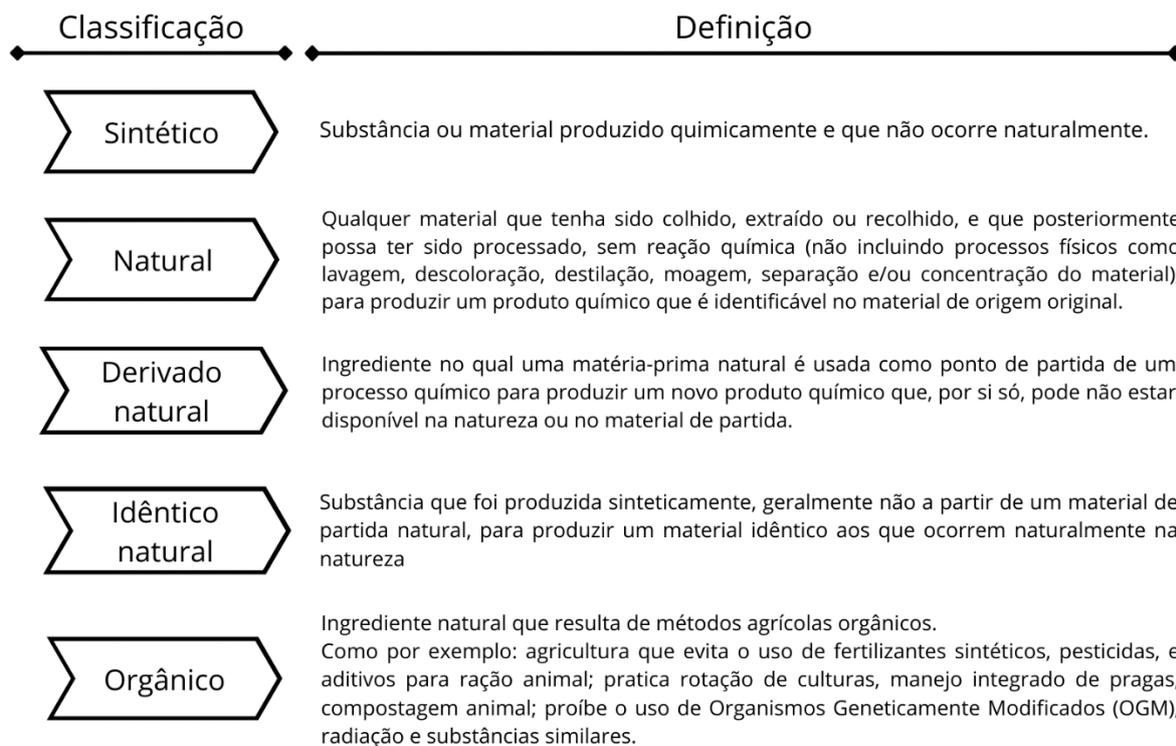
No final, foi considerado que a utilização de ciclopentasiloxano (D5) em produtos cosméticos é segura nas concentrações indicadas, exceto na utilização em aerossóis para o cabelo e em aerossóis para protetores solares. Nestes produtos, a exposição ao D5 pode levar a concentrações no ar localmente tóxicas. Este silicone deve ainda ser o mais puro possível (99%), de modo a não conter impurezas de ciclotetrasiloxano (D4), classificado na União Europeia (UE) como tóxico para a reprodução<sup>22</sup>.

Em março de 2020, a Agência Europeia das Substâncias Químicas (ECHA) propôs a restrição para a colocação no mercado de D4, D5 e D6 como substâncias, como constituintes de outras substâncias, ou em misturas numa concentração igual ou superior a 0,1% m/m de cada substância. O Comitê de Análise Socioeconómica (SEAC) concluiu que a restrição proposta é a medida mais adequada à escala da UE para fazer face aos riscos identificados em termos de proporcionalidade dos seus benefícios socioeconómicos aos seus custos<sup>26</sup>.

#### **1.4 Alternativas aos silicões e métodos de produção**

Devido a todas as preocupações com os silicões e tendo em conta o impacto ambiental e toxicidade para a saúde, surgem para a indústria cosmética cada vez mais produtos com alternativas aos silicões, pressionando a procura de novas soluções. O aumento da consciência pelo consumidor sobre a cosmética natural e sustentável, aliado ao impacto que estes compostos desenvolvem no meio ambiente e aquático, levou a uma procura de produtos sem silicone, forçando os formuladores a desenvolver novas alternativas aos silicões sintéticos.

Para este efeito, é importante esclarecer algumas definições da origem das alternativas aos silicões, uma vez que esta nem sempre é clara (Figura 12). No entanto, de momento, não existe um critério padrão europeu sobre as definições de cosméticos naturais e orgânicos<sup>27, 28</sup>.



**Figura 12.** Classificação da origem das alternativas aos silicones. (Modificado de Bom *et. al*, 2019<sup>27</sup> e Beerling, 2013<sup>28</sup>)

Assim, entende-se o termo de “cosmética natural” todos os produtos cosméticos formulados a partir de ingredientes naturais, derivados naturais e orgânicos. Os silicones, sendo compostos sintéticos, apresentam muitas características específicas, tornando complicada a procura de um substituto que disponha de todas as suas propriedades. Contudo, já existem algumas alternativas no mercado cosmético, apesar de nem todos os ingredientes utilizados seguirem o conceito de cosmética natural. Em algumas formulações, os silicones modificados são incluídos como alternativas viáveis.

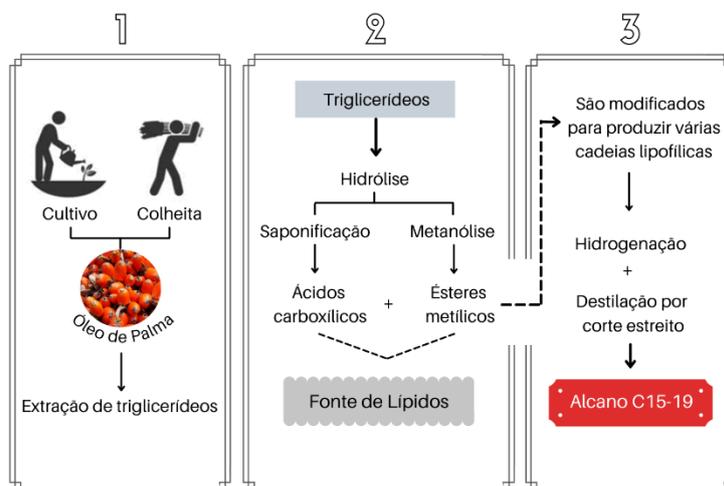
As substâncias mais utilizadas na substituição dos silicones derivam de óleos vegetais e ésteres, isto devido a sua baixa viscosidade, alta capacidade de extensão e uma boa compatibilidade com a pele, sendo compostos biodegradáveis com baixa toxicidade aquática<sup>24</sup>. Na Tabela 4 encontram-se algumas alternativas aos silicones comercialmente disponíveis.

**Tabela 4.** Exemplos de alternativas de silicones

Classificação	Nome INCI/ <u>nome</u> <u>comercial</u>	Origem	Propriedades	Refs
Orgânico	C15-19 Alkane / <u>EMOGREEN™</u>	Óleo de palma (exterior)	Sensação de frescura, bom espalhamento e acabamento suave. Hidratação da pele muito seca e diminuição da sensação de desconforto da pele.	29
Natural	Aqua and <i>Chondrus crispus</i> extract	Extrato da alga marinha <i>Chondrus crispus</i>	-	31
	Chitosan succinamide	Derivado de quitosano proveniente de cogumelo	-	
	<i>Silybum marianum</i> ethyl ester	Extrato de leite de <i>Silybum marianum</i>	Tensão superficial muito baixa, garante um espalhamento rápido e boa hidratação e dispersão dos pigmentos coloridos.	
Derivado Natural	Coconut alkane and Coco caprylate/caprato	Óleo Vegetal	Hidratante e bom dispersante de pigmentos coloridos, particularmente adequado para BB cremes.	31
	Heptyl undecylenate	Óleo de rícino	Sensação extremamente leve e seca, adequado para formulações com ingredientes naturais.	31
	Dicaprylyl carbonate / <u>Cetiol® CC</u>	Óleo de palma (interior)	Espalhamento rápido com uma sensação aveludada na pele seca, adequado para a dispersão de pigmentos coloridos e particularmente para formulações de proteção solar.	33, 34
Idêntico natural	Cetyl 2-ethylhexanoate	Óleo de penas de aves marinhas	Lubrificante eficaz, boa retenção de água com um efeito humectante, e uma sensação não gordurosa.	35

O alcano C15-19 (INCI – C15-19 alkane), de nome comercial EMOGREEN™, situa-se na classe dos ingredientes orgânicos. Como o nome indica, é um alcano não polar de base biológica, desenvolvido

através da biomassa sustentável de óleo de palma, sendo uma boa alternativa em termos sensoriais. Este composto fluido e de alta pureza, é facilmente biodegradável e não tóxico para os organismos aquáticos, sendo quimicamente inerte e, como tal, não sofre fenómenos de oxidação. O método de produção, sem necessidade de solventes, envolve uma hidrogenação de alta pressão seguida de destilação, processo que deriva de uma tecnologia patenteada<sup>30</sup>, como ilustrado na Figura 13.



**Figura 13.** Etapas de produção do Alcano C15-19.

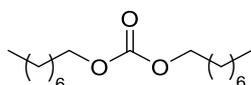
Estes compostos apresentam um rápido espalhamento e uma boa hidratação, devido à sua baixa tensão superficial, semelhante aos silicones voláteis. Para além de terem uma sensação de conforto e de pele menos seca após a aplicação, quando aplicados em batons, conseguem reduzir a sensação de “cola” (sensação pegajosa), fornecendo um acabamento mate. Também são introduzidos em produtos capilares, apresentando uma eficácia semelhante aos silicones comerciais quanto ao pentear, volume e controlo de “frizz” e na reparação superficial das fibras do cabelo<sup>30</sup>.

De modo a substituir o silicone mais antigo, o dimeticone, Beerling, 2013 propõe como alternativas naturais o extrato da alga marinha *Chondrus crispus* (INCI - Aqua and *Chondrus crispus* extract), o derivado de quitosano derivado de cogumelo (INCI - chitosan succinamide) e o extrato de leite de *Silybum marianum* (INCI - *Silybum marianum* ethyl ester). Segundo o autor, estes compostos conferem uma sensação de silicone natural a produtos ricos em água (emulsões), lubrificando o cabelo e a pele através de um filme suave e protetor não oclusivo<sup>28</sup>.

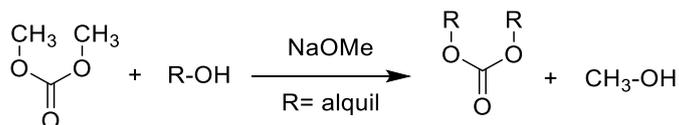
O ciclometicone, outro silicone muito comum nas formulações cosméticas, também adquiriu substitutos de acordo com a sua volatilidade e sensação sedosa. A mais utilizada é uma mistura de alcano de coco e caprilato/caprato de coco (INCI - Coconut alkane com Coco caprylate/caprato), igualmente volátil e de baixo odor, derivado natural de óleos vegetais. É muito útil em formulações que necessitem da dispersão homogênea de pigmentos, como por exemplo misturas de cremes com bases coloridas. Este pode ser produzido através da mistura de ésteres, obtidos a partir da reação dos álcoois gordos derivados do álcool de coco com ácido caprílico/cáprico<sup>28</sup>.

A partir da clivagem do óleo de ricínio, é possível obter o heptil undecilenato (INCI - Heptyl undecylenate), também um derivado natural, que fornece aos produtos cosméticos uma sensação leve e seca, sendo adequado para formulações com ingredientes naturais<sup>31</sup>.

Outro exemplo de um ingrediente desta classe é o carbonato de dicaprilil (INCI – Dicaprylyl carbonate), representado na Figura 14, conhecido comercialmente como Cetiol® CC. Este composto pode ser obtido pela reação de transesterificação do carbonato de dimetil e do octanol (obtido por origem vegetal), na presença de catalisador alcalino<sup>32</sup> (Figura 15). Este é um emoliente com excelente compatibilidade dermatológica, sendo límpido, incolor, quase inodoro, de baixa polaridade e baixo peso molecular<sup>33</sup>. Devido às suas capacidades de solubilização é principalmente adequado para formulações de proteção solar, além da sua utilização na dispersão de pigmentos. Oferece ainda uma sensação sensorial aveludada da pele com um espalhamento rápido<sup>34</sup>.

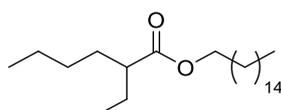


**Figura 14.** Estrutura química do Cetiol® CC.



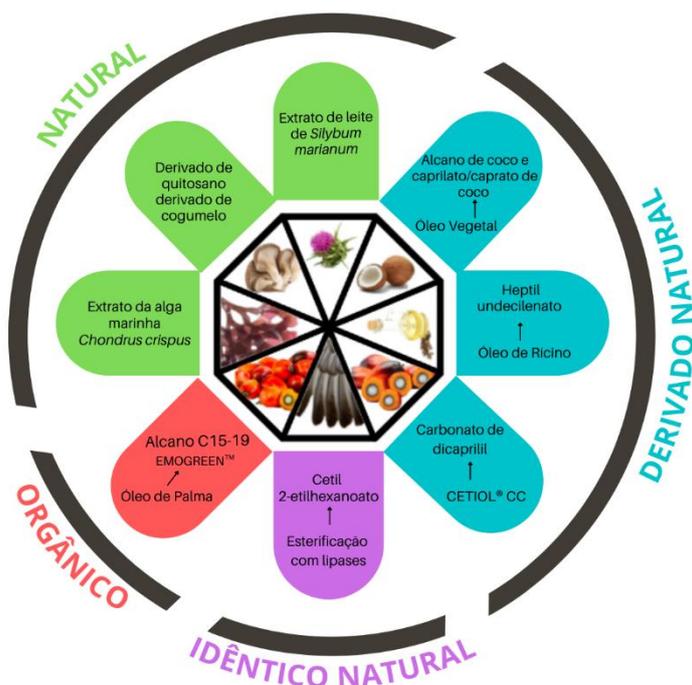
**Figura 15.** Reação química da síntese de Cetiol® CC.

Na classe dos ingredientes idênticos naturais encontra-se o cetil 2-etilhexanoato (INCI – Cetyl 2-ethylhexanoate, Figura 16), ingrediente principal de um óleo natural existente nas penas de aves marinhas. Chen *et al*, 2011 sintetizaram o composto cetil 2-etilhexanoato por esterificação direta do álcool cetílico com o ácido 2-etilhexanoico, usando como catalisador uma lipase imobilizada (Novozym® 435) em *n*-hexano. Este composto é amplamente utilizado em cosméticos com base de óleo devido à sua lubricidade, retenção de água e propriedades não tóxicas. Apresenta ainda um excelente comportamento humectante com uma sensação não gordurosa quando aplicado na superfície da pele<sup>35</sup>.



**Figura 16.** Estrutura química do cetil 2-etilhexanoato.

Na Figura 17 encontra-se um resumo ilustrativo dos compostos apresentados de acordo com a classificação e origem.



**Figura 17.** Alternativas de silicones de acordo com a classificação.

A disponibilidade e obtenção, assim como o custo dos recursos naturais são limitados, pelo que há necessidade de descobrir novos métodos para a obtenção de compostos naturais. Muitas das alternativas de silicones existentes são baseadas na síntese de ésteres ramificados produzidos por enzimas, uma vez que a sua produção envolve materiais de partida mais baratos e métodos simples e económicos. Estes novos compostos são sustentáveis, uma vez que são realizados em condições de temperatura ambiente de forma a economizar energia, com ausência de catalisadores poluentes e ainda em processos sem solventes. Os produtos obtidos evidenciam uma alta pureza, evitando etapas de separação e purificação, simplificando o processo e valorizando a proteção ambiental<sup>24</sup>.

### **1.5 Uso de lipases em síntese de ésteres**

As lipases são enzimas de grande estabilidade capazes de resistir a várias condições adversas. Estas podem ser obtidas através de animais, plantas e microrganismos sendo consideradas as enzimas mais importantes para aplicações biotecnológicas. Esta família de enzimas apresenta uma boa compatibilidade, com alta quimio- e estereosseletividade que, em condições naturais, catalisam a hidrólise dos triglicerídeos e, quando em condições não aquosas, a sua função é redirecionada para reações de esterificação<sup>36</sup>.

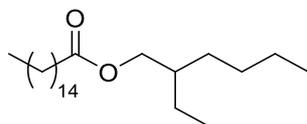
Atualmente, a esterificação através do uso de lipases é considerada uma alternativa competitiva para a tradicional síntese química de vários ésteres comerciais comumente utilizados na fabricação de sabores, fragrâncias, emolientes, lubrificantes, agentes antimicrobianos e tensoativos não tóxicos para as indústrias alimentar, cosmética e farmacêutica<sup>37</sup>. Na produção de cosméticos, estas podem funcionar tanto como ingredientes ativos, quanto como biocatalisadores na síntese de produtos químicos cosméticos específicos<sup>36</sup>.

Quando comparado com a síntese orgânica a esterificação enzimática, apresenta algumas vantagens, nomeadamente:

- (1) 100% de seletividade sem formação de subprodutos e com especificidade muito alta para substratos;
- (2) Método de produção das reações ocorre de forma eficiente a baixa temperatura, geralmente entre 20°C e os 40°C;
- (3) Não existe a necessidade do uso de equipamentos para remoção da água formada durante a esterificação.

No entanto, a esterificação enzimática utiliza concentrações relativamente baixas dos substratos (ácido e álcool) e, conseqüentemente, de produto (éster) num solvente orgânico, o que torna o processo de purificação do produto mais demorado<sup>37</sup>.

Apesar de existirem uma ampla variedade de lipases, um mesmo produto pode ser catalisado a partir de lipases de diferentes origens. Monteil *et. al*, 2019 sumariza 8 processos diferentes de obter o composto palmitato de 2-etilhexil (INCI - 2-ethylhexyl palmitate), representado na Figura 18, com lipases de diferentes fontes, livres (nativas) ou imobilizadas de formas distintas, na ausência ou presença de solventes como éter de petróleo, *n*-heptano ou água. O melhor resultado foi alcançado com a utilização da lipase nativa *Candida antarctica*, com 100 % de conversão, em 18 horas. Conversões de 98 % e 97 % em 60 e 90 minutos foram obtidas respetivamente, usando lipases comerciais imobilizadas (Novozym® 435 e Novozym® 40086) em sistemas sem solventes. Estes resultados foram ligeiramente melhorados na presença de heptano e ativação por micro-ondas, com maior tempo de operação e maior excesso de álcool (1:2)<sup>24</sup>.



**Figura 18.** Estrutura química do palmitato de 2-etilhexil.

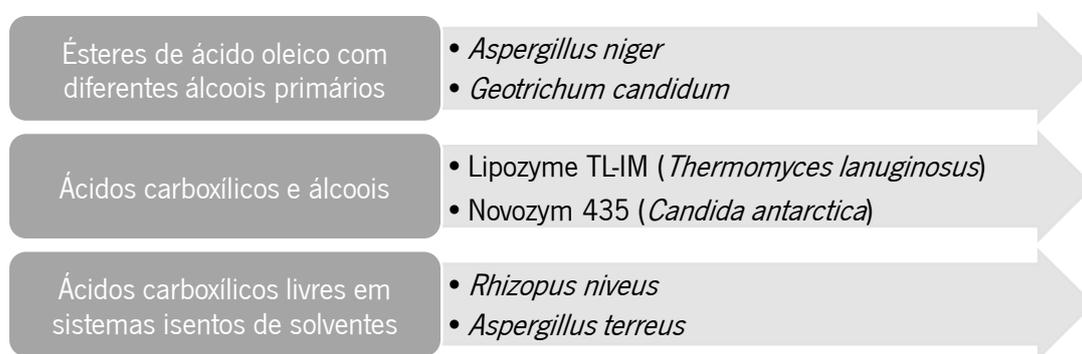
A fim de aumentar o rendimento de utilização das enzimas, novas estratégias foram investigadas. O método de imobilização apresenta vários benefícios, nomeadamente na reutilização da enzima, termoestabilidade, seletividade, resistência aos inibidores<sup>38</sup>, entre outras. Para além de ser um método dispendioso, o desempenho catalítico da enzima é diminuído face à redução da sua mobilidade<sup>39</sup> pelo que, de modo a ultrapassar esta barreira, a modificação química de lipases foi considerada, revelando-se uma estratégia eficiente.

Noro *et. al*, 2021 modificaram a lipase da *Thermomyces lanuginosus* com 4 cadeias de dodecilo, e avaliaram o seu impacto na atividade de transesterificação e esterificação. Para ambos os estudos foram utilizados 11 álcoois lineares, diferindo no tamanho cadeias alifáticas (de 1 a 20 carbonos). Para a reação de transesterificação, foi utilizado o palmitato de *p*-nitrofenilo com 3 álcoois distintos em *n*-heptano seco. Para as reações de esterificação, foi utilizado o ácido oleico e 11 álcoois. Os resultados demonstraram que a lipase modificada obteve uma atividade catalítica superior em ambas as reações testadas, quando comparado com a forma nativa<sup>39</sup>.

Uma outra estratégia foi desenvolvida por Druteika *et al*, 2020, com o objetivo de sintetizar compostos para formulações de produtos de limpeza, usando a lipase bacteriana *Geobacillus* (GD-95RM), e uma lipase modificada através da mutagénese aleatória da lipase mãe GD-95<sup>40</sup>. Neste estudo foi abordada a sua capacidade de realizar reações de transesterificação e esterificação. Em ambos os estudos foram utilizados várias combinações de substratos, diferindo apenas na fonte de ácidos carboxílicos. Foram utilizados 16 óleos naturais (abacate, coco, etc.) e 3 ácidos carboxílicos (ácido butírico, octanóico e oleico), respetivamente, e como álcoois o etanol, octanol, decanol e álcool isoamílico. Nas reações de transesterificação, os reagentes de partida funcionaram como solvente, não afetando a capacidade da lipase na produção de ésteres. Nas reações de esterificação, apenas foi observado a síntese de ésteres nas reações compostas por ácido oleico com diferentes álcoois e lipase. A lipase GD-95RM revelou ser uma potencial aplicação industrial por meio de transesterificação, mas também de esterificação<sup>40</sup>.

Estes dois estudos revelam a importância da necessidade de métodos alternativos aos existentes, sendo a modificação química uma técnica económica, versátil e eficiente para a síntese de muitos produtos com grande valor industrial.

Na literatura, a aplicação de lipases como catalisadores encontra-se bem documentada, nomeadamente em reações de esterificação. Diferentes lipases são utilizadas consoante a esterificação pretendida<sup>41</sup>, como os exemplos identificados no Esquema 1.



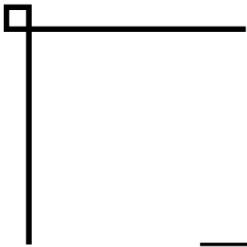
**Esquema 1.** Lipases utilizadas consoante os substratos presentes na reação de esterificação.

Acredita-se que alterações na morfologia micelial dos fungos filamentosos possam ter um efeito na atividade catalítica da lipase. Foi proposto que no fungo *Aspergillus oryzae*, o inchaço observado na ponta da hifa poderia ser resultado de uma produtividade elevada<sup>41</sup> (Figura 19).



**Figura 19.** Imagem microscópica do fungo *Aspergillus oryzae*.

Assim, o uso de lipases na síntese de ésteres revelou ser uma estratégia inovadora, não só pelos altos rendimentos obtidos, mas também pela sua seletividade, baixas condições de temperatura e redução do tempo de reação, características importantes na economização de custos. Além disso, o uso de enzimas como biocatalisadores prevê ser uma metodologia “verde”, visto que são biodegradáveis e não apresentam as características tóxicas dos catalisadores à base de metal. Isto aponta para uma maior sustentabilidade dos processos de produção, levando mais uma vez à valorização da proteção ambiental, fazendo com que os produtos finais sejam rotulados de “naturais”, ganhando a atenção do consumidor.



CAPÍTULO 2

---

MATERIAIS E MÉTODOS



## 2.1 Técnicas gerais

No desenvolvimento deste projeto, todos os reagentes e solventes foram adquiridos e usados sem purificação adicional. Especificamente, o etanol, o acetato de etilo, a acetona e o *n*-heptano foram obtidos à Fisher Scientific; o reagente hidrogenofostato de sódio foi adquirido à Panreac; o cloreto de sódio adquirido à Labkem; os ácidos heptanóico, octanóico e decanóico, e os álcoois etilenoglicol, dietilenoglicol, 1,3-propanediol, 1-heptanol e 1-decanol comprados à TCI Chemicals (Tokyo); e por fim, o aldeído de dodecil, a fenolftaleína, o cianoborohidreto de sódio, o sulfato de magnésio, o bicarbonato de sódio e o hidróxido de sódio foram adquiridos à Sigma-Aldrich.

As lipases da *Aspergillus oryzae* (Lipolase,  $\geq 100,000$  U/g), *Candida rugosa* (type VII,  $\geq 700$  U/mg), *porcine pancreas* (type II, 46 U/mg), assim como a lipase *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em Immobead 150 ( $\geq 3000$  U/g), foram adquiridas à Sigma-Aldrich.

Os ingredientes necessários para a produção das formulações cosméticas foram adquiridos da Sigma-Aldrich, BASF, TCI, DKSH, alexmo cosmetics, plena natura® e IFF lucasmeyer cosmetics.

As reações de esterificação foram controladas por titulação ácido-base com uma solução de NaOH 20 mM, e fenolftaleína 0,5% (m/v) como indicador.

Os espectros de  $^1\text{H}$  RMN foram obtidos no espectrômetro Bruker Avance III, a 400 MHz. O solvente deuterado, clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ , Cortecnet), foi usado como referência interna nos espectros. Os desvios químicos são referenciados como  $\delta$  em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em hertz (Hz). As multiplicidades dos sinais apresentam-se como: tripleto (t), quinteto (q) ou multipletto (m).

A evaporação a pressão reduzida foi efetuada num evaporador rotativo da HEIDOLPH.

Os espectros de infravermelhos foram obtidos no equipamento FTIR-ATR da Bruker Alpha II, equipado com um diamante. As amostras foram analisadas entre os  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ , com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ , num total de cerca de 24 scans, cada.

Para a metodologia ESI-MS as amostras foram dissolvidas em acetonitrilo. Os espectros de HRMS foram obtidos num espectrômetro de massa QqTOF Impact II™ (Bruker Daltonics). Os ensaios em modo ESI negativo foram obtidos por infusão direta da amostra. Em ESI modo positivo, as análises foram realizadas por *flow injection analysis* (FIA), usando um gradiente isocrático 70 A:30 B de 0.1% ácido fórmico em água (A) e em acetonitrilo (B), com um fluxo  $10\ \mu\text{Lmin}^{-1}$ , durante 15 min. A calibração do analisador de massa foi obtida com uma solução de formato de amónio 10 mM, com uma velocidade

de varrimento de 1 Hz, e num intervalo entre 100-1000  $m/z$ . O processamento dos dados foi efetuado com o *software* Data Analysis 4.2 software.

Os valores do índice de refração foram obtidos no equipamento RX-9000CX a 25°C, com as amostras analisadas no estado líquido. A leitura foi repetida duas vezes, sendo os resultados apresentados como a média dos valores obtidos.

A análise termogravimétrica das amostras (200  $\mu$ L) foi efetuada no equipamento TGA 4000 (PerkinElmer), numa gama de aquecimento de 20°C/min de 30 a 500°C sob fluxo de nitrogénio de 20 mL/min (3 bar).

## **2.2 Obtenção das lipases**

### **2.2.1 Obtenção da lipase nativa**

A enzima *Aspergillus oryzae* foi ultrafiltrada para remoção dos aditivos presentes, utilizando um sistema de ultrafiltração, com discos de 10 kDa compostos de celulose regenerada (47 mm, Millipore) com água ultrapura (Milli-Q). A enzima nativa foi obtida na forma de um sólido bege após liofilização durante 48 horas (FreeZone 2.5 Benchtop Freeze Dryer - Labconco).

### **2.2.2 Obtenção da lipase modificada**

A modificação da lipase da *Aspergillus oryzae* foi efetuada utilizando o procedimento descrito na literatura<sup>42</sup>. Sucintamente, 2 mL da lipase foram adicionados a 5 mL de tampão fosfato contendo NaBH<sub>3</sub>CN (pH 5,5, fosfato de sódio 0,1 M, NaBH<sub>3</sub>CN 0,02 M) seguido da adição do dodecil aldeído (240  $\mu$ L, 4:1 m/m aldeído:lipase). A solução foi mantida a 4°C durante a noite sob agitação forte. Os precipitados foram removidos através de filtração por gravidade seguida de ultrafiltração (10 kDa). A enzima modificada foi recuperada após 48 horas de liofilização, na forma de um sólido branco. A atividade de ambas as lipases foi confirmada replicando o método descrito na literatura<sup>42</sup>.

### 2.3 Síntese das alternativas de silicones

A uma suspensão de enzima (5 mg) em heptano (3 mL) adicionou-se  $9,5 \times 10^{-4}$  moles do ácido para 1 equivalente do álcool respetivo (1:1 ácido:álcool), ou  $1,9 \times 10^{-3}$  moles do ácido para 1 equivalentes do álcool correspondente (2:1 ácido:álcool). Na Tabela 5 encontram-se os códigos atribuídos a cada reação realizada. As reações foram colocadas, em duplicado, num banho de parafina a 37°C, sob agitação. O progresso das reações foi seguido através de titulação ácido-base utilizando 3 gotas de fenolftaleína 0,5% (m/v) como indicador. Para tal, foram retirados 100 µL da reação para um balão volumétrico de 5 mL, perfazendo-se com solução acetona:etanol (1:1), seguindo-se titulação com NaOH 0,02 M.

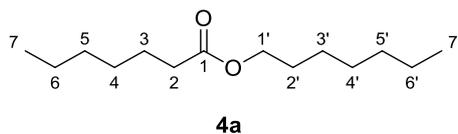
**Tabela 5.** Código atribuído a cada reação efetuada ao longo do estudo.

		Álcool				
		2:1			1:1	
		Etilenoglicol	Dietilenoglicol	1,3-Propanediol	1-Heptanol	1-Decanol
Ácido Carboxílico	Heptanóico	<b>1a</b>	<b>2a</b>	<b>3a</b>	<b>4a</b>	<b>5a</b>
	Octanóico	<b>1b</b>	<b>2b</b>	<b>3b</b>	<b>4b</b>	<b>5b</b>
	Decanóico	<b>1c</b>	<b>2c</b>	<b>3c</b>	<b>4c</b>	<b>5c</b>

Os controlos da reação foram efetuados sem adição da enzima.

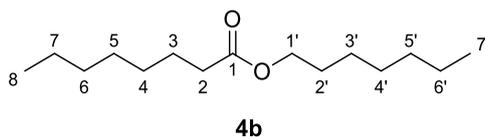
Posteriormente, o protocolo foi repetido na ausência de solvente para as enzimas modificada e imobilizada, com um tempo de reação de 48 horas. O seu progresso foi seguido por titulação ácido-base, retirando 10 µL da mistura reacional para um balão volumétrico de 5 ml, perfazendo-se com solução acetona:etanol (1:1).

### 2.3.1 Síntese do heptil heptanoato **4a**



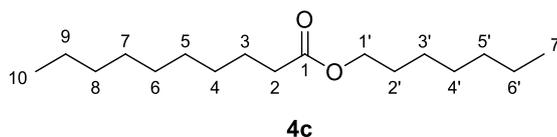
A reação de esterificação ocorreu na proporção estequiométrica de 1:1, (134  $\mu\text{L}$  de ácido e 136  $\mu\text{L}$  de álcool), pelo que foi isolado um líquido incolor identificado como sendo o produto **4a** ( $\eta=66\%$ ) por  $^1\text{H}$  RMN.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 4,06 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ); 2,30 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ); 1,62 (q,  $J = 7,6$  Hz, 4H,  $\text{H}_{3+2'}$ ); 1,30 (m, 14H,  $\text{H}_{4+6} + \text{H}_{3'+6'}$ ); 0,88 (m, 6H,  $\text{H}_{7+7'}$ ). FTIR  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2929, 1737, 1170. HRMS calculada: 229,3840 g/mol ( $\text{MH}^+$ ); obtida: 229,2177 g/mol ( $\text{MH}^+$ ).

### 2.3.2 Síntese do heptil octanoato **4b**



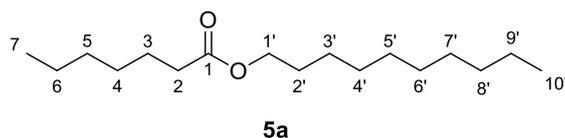
A reação de esterificação ocorreu na proporção estequiométrica de 1:1, (151  $\mu\text{L}$  de ácido e 136  $\mu\text{L}$  de álcool), pelo que foi isolado um líquido incolor identificado como sendo o produto **4b** ( $\eta=71\%$ ) por  $^1\text{H}$  RMN.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 4,06 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ); 2,30 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ); 1,62 (q,  $J = 7,6$  Hz, 4H,  $\text{H}_{3+2'}$ ); 1,30 (m, 16H,  $\text{H}_{4+7} + \text{H}_{3'+6'}$ ); 0,88 (m, 6H,  $\text{H}_{8+7'}$ ). FTIR  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2929, 1737, 1168. HRMS calculada: 243,4110 g/mol ( $\text{MH}^+$ ); obtida: 243,2341 g/mol ( $\text{MH}^+$ ).

### 2.3.3 Síntese do heptil decanoato **4c**



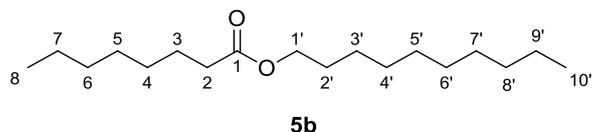
A reação de esterificação ocorreu na proporção de estequiométrica de 1:1, (183  $\mu\text{L}$  de ácido e 136  $\mu\text{L}$  de álcool), pelo que foi isolado um líquido incolor identificado como sendo o produto **4c** ( $\eta=67\%$ ) por  $^1\text{H}$  RMN.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 4,06 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ); 2,30 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ); 1,62 (q,  $J = 7,6$  Hz 4H,  $\text{H}_{3+2'}$ ); 1,30 (m, 20H,  $\text{H}_{4+9} + \text{H}_{3+6'}$ ); 0,88 (m, 6H,  $\text{H}_{10+7'}$ ). FTIR  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2929, 1737, 1170. HRMS calculada: 271,4650 g/mol ( $\text{MH}^+$ ); obtida: 271,2651 g/mol ( $\text{MH}^+$ ).

### 2.3.4 Síntese do decil heptanoato **5a**



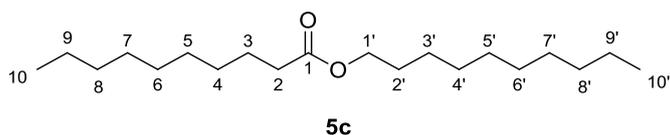
A reação de esterificação ocorreu na proporção estequiométrica de 1:1, (134  $\mu\text{L}$  de ácido e 181  $\mu\text{L}$  de álcool), pelo que foi isolado um líquido incolor identificado como sendo o produto **5a** ( $\eta=73\%$ ) por  $^1\text{H}$  RMN.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 4,06 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ); 2,30 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ); 1,62 (q,  $J = 7,6$  Hz 4H,  $\text{H}_{3+2'}$ ); 1,30 (m, 20H,  $\text{H}_{4+6} + \text{H}_{3+9'}$ ); 0,88 (m, 6H,  $\text{H}_{7+10'}$ ). FTIR  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2921, 1735, 1168. HRMS calculada: 271,4650 g/mol ( $\text{MH}^+$ ); obtida: 271,2651 g/mol ( $\text{MH}^+$ ).

### 2.3.5 Síntese do decil octanoato **5b**



A reação de esterificação ocorreu na proporção estequiométrica de 1:1, (151  $\mu\text{L}$  de ácido e 181  $\mu\text{L}$  de álcool), pelo que foi isolado um líquido incolor identificado como sendo o produto **5b** ( $\eta=72\%$ ) por  $^1\text{H}$  RMN.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 4,06 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ); 2,30 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ); 1,62 (m, 4H,  $\text{H}_{3,2'}$ ); 1,30 (m, 22H,  $\text{H}_{4,7} + \text{H}_{3',9'}$ ); 0,88 (m, 6H,  $\text{H}_{8,10'}$ ). FTIR  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2925, 1735, 1239, 1168. HRMS calculada: 285,4920 g/mol ( $\text{MH}^+$ ); obtida: 285,2809 g/mol ( $\text{MH}^+$ ).

### 2.3.6 Síntese do decil decanoato **5c**



A reação de esterificação ocorreu na proporção estequiométrica de 1:1, (183  $\mu\text{L}$  de ácido e 181  $\mu\text{L}$  de álcool), pelo que foi isolado um líquido incolor identificado como sendo o produto **5c** ( $\eta=69\%$ ) por  $^1\text{H}$  RMN.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 4,06 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ); 2,30 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_2$ ); 1,62 (m, 4H,  $\text{H}_{3,2'}$ ); 1,30 (m, 26H,  $\text{H}_{4,9} + \text{H}_{3',9'}$ ); 0,88 (m, 6H,  $\text{H}_{10,10'}$ ). FTIR  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2929, 1737, 1241, 1170. HRMS calculada: 313,5460 g/mol ( $\text{MH}^+$ ); obtida: 313,3129 g/mol ( $\text{MH}^+$ ).

## 2.4 Estudos de modelação molecular

Para a realização dos estudos de modelação molecular foi utilizado o produto **4a** como composto modelo, e as enzimas da *Aspergillus oryzae* nativa e modificada. Primeiramente, o ligando foi otimizado através do *software* Gaussian09<sup>43</sup>, com recurso a cálculos DFT com a base B3LYP/631+G (d,p). De

seguida, no software Autodock4<sup>44</sup> as estruturas foram convertidas em ficheiros pdbqt através do OpenBabel<sup>45</sup>. O estudo foi iniciado com a colocação do produto numa caixa de resolução 1 Å, a qual comportava o centro ativo. As interações entre o composto e as enzimas foram observadas por meio do *software* PyMol<sup>46</sup>, onde as experiências consistiram em 20 corridas independentes com um máximo de avaliações de energia de 2500000.

## 2.5 Isolamento das alternativas de silicones

Depois de comprovado o seu sucesso através de titulação ácido-base, a escala para a síntese das reações foi aumentada em três vezes. Após 48 horas de reação em banho de parafina a 37°C, as suspensões foram filtradas lavando com acetato de etilo. O solvente foi removido através de evaporação à secura (a 60°C). Os produtos foram transferidos para um funil de separação, seguindo-se três lavagens sucessivas com uma solução de NaHCO<sub>3</sub> (5%) e uma lavagem com água destilada. Quando necessário, uma lavagem adicional com uma solução saturada de NaCl era efetuada. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada, e por fim evaporada à secura. Os produtos foram obtidos na forma de óleos incolores.

## 2.6 Propriedades das alternativas de silicones

### a) pH

O pH foi determinado à temperatura ambiente (22°C ± 2°C) usando um medidor de pH da marca METRIA M92, equipado com um eletrodo para amostras orgânicas. As medições foram realizadas colocando o eletrodo diretamente na amostra a analisar.

### b) Viscosidade

As medições de viscosidade foram efetuadas num viscosímetro rotativo, para a medição do torque requerido pela rotação de uma agulha (*spindle* VOL-SP.6.7) imersa numa amostra. Os valores da viscosidade foram obtidos no equipamento IKA® ROTAVISC lo-vi, à temperatura ambiente (22°C ± 2°C). O torque aplicado variou ligeiramente entre os 15% (± 1,5%), e a velocidade rotacional oscilou dos 65 aos 100 rpm, consoante a amostra em questão.

### c) Tensão superficial

A tensão superficial foi determinada no tensiómetro K100C Force Tensiometer (KRÜSS) segundo o método do anel de Du Noüy. As medições das amostras foram realizadas à temperatura ambiente e calculadas em quintuplicado pelo *software* Advance, recorrendo ao método de correção Harkins-Jordan.

### d) Densidade

A medição da densidade das amostras foi efetuada pesando 5 mL de cada composto no interior de um picnómetro de  $5,00 \pm 0,025$  mL, sendo o valor de densidade obtido através do quociente entre a massa e o volume das amostras. As medições foram efetuadas à temperatura ambiente.

### e) Medição da propagação

De modo a avaliar a propagação das amostras foi efetuado um teste de “*spreadability*” para líquidos. Uma lâmina de comprimento 76x26 cm e uma base de 12,5 cm de diâmetro foram colocadas numa superfície plana, onde se pipetou sobre o centro 50 µL dos compostos sintetizados, do Cetiol® CC (alternativa de silicone comercial) e dos silicones comerciais (D5 e óleo de silicone 5 cSt). Após 10 minutos, o diâmetro da superfície das amostras foi medido e a respetiva área (*A*) calculada segundo a equação:

$$A (\textit{ellipse}) = a \times b \times \pi$$

**Equação 1.** Determinação da área de propagação (*A*), onde *a* representa o raio maior e *b* o raio menor.

### f) *Log P*

O coeficiente de partição foi determinado teoricamente através do *software* molinspiration (<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>), onde a estrutura química de cada composto foi desenhada e estimado o respetivo *log P*.

### g) Polaridade

O teste de polaridade foi realizado no espectrofotómetro BioTek SynergyMx, através da determinação espectrofotométrica UV/Vis da energia de transição molar do corante solvatocromático *Nile Red*, dissolvido nos respetivos compostos. O ensaio foi efetuado nos compostos produzidos, assim como nos compostos comerciais, reagentes de partida e ainda para o etanol e água. Uma concentração de  $10^{-5}$  M de solução de corante foi colocada nos compostos. Após leitura do espetro de absorção do corante ( $\lambda_{max}$ ), a polaridade foi calculada pela equação<sup>47</sup>:

$$E_{NR} : E_{NR} (kcal mol L^{-1}) = \frac{hcNA}{\lambda_{max}} = \frac{28591}{\lambda_{max}}$$

**Equação 2.** Determinação da polaridade.

As medições de todas as amostras foram realizadas a uma temperatura de 60°C.

## 2.7 Escolha e preparação das formulações cosméticas

Com base numa receita comercial foi inicialmente produzida e testada uma formulação cosmética, representada na Figura 20, para a incorporação dos compostos sintetizados, sendo a sua seleção suportada pela homogeneidade e estabilidade da mesma.

Creme A



**Figura 20.** Aspeto visual da formulação cosmética testada para a incorporação das alternativas de silicones.

Para tal foi efetuado um ensaio de estabilidade acelerada, sendo a formulação cosmética comercial submetida a um ciclo de centrifugação no aparelho Microcentrifuge 1730R (GYROZEN), de 20 minutos a 3000 rpm a 20°C. O estudo prosseguiu com a formulação comercial, designada por creme A, cuja composição se encontra descrita na Tabela 6.

**Tabela 6.** Composição da formulação cosmética A

	<b>Fase</b>	<b>Ingrediente</b>	<b>Nome INCI</b>	<b>Quantidade (%)</b>
A		Água	Aqua	88
		Agente quelante	Sodium Phytate (and) Aqua (and) Alcohol	0,10
		euxyl® PE 9010	Phenoxyethanol (and) Ethylhexylglycerin	1
B		Lecigel™	Sodium Acrylates Copolymer (and) Lecithin	1,50
		Lipex®	<i>Butyrospermum Parkii</i>	1
C		Cetiol® CC	Dicaprylyl Carbonate	3
		Óleo de Amêndoas Doces	<i>Prunus Amygdalus Dulcis</i>	5
		Tocoferol	DL-alpha-Tocopherol	0,2
D		Fragrância	Gracefruit 164499	0,2

\*Receita adaptada de: IFF Lucas Meyer Cosmetics- SIMPLY LIGHT CREAM\*.

Apesar de ser um produto comercial, todas as formulações cosméticas para avaliação neste estudo foram produzidas em laboratório com base na receita acima mencionada. A sua produção foi efetuada em quatro etapas distintas: preparação da fase aquosa (Fase A), adição do agente gelificante (Fase B), adição da fase oleosa (Fase C) e fragrância (Fase D). A fase A previamente aquecida (70°C), foi colocada na centrífuga misturadora com fluxo de água também a 70°C (IKA® RW20 digital). De seguida adicionou-se o agente gelificante (Fase B), e homogeneizou-se até apresentar um aspeto uniforme (5min.). A fase C foi fundida (70°C) e adicionada à misturadora sob agitação forte (1000 rpm). Após emulsificação e arrefecimento, foi adicionada a fragância (Fase D) abaixo dos 40°C. A solução final tinha pH 5,0-6,0 não sendo necessário ajuste do pH.

Os compostos sintetizados foram incorporados no creme substituindo o Cetiol® CC. Silicones comerciais (ciclopentasiloxano e o óleo de silicone 5 cSt) também foram utilizados como cremes controlo. Os cremes foram armazenados em *falcons* (50 mL) à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

Na Tabela 7 encontram-se os códigos de cada creme em função da alternativa de silicone e silicones comerciais, e dos compostos sintetizados.

**Tabela 7.** Lista de cremes produzidos em função do silicone incorporado

<b>Código do creme</b>	<b>Composto utilizado como função de silicone</b>
C1	Cetiol® CC
C2	Ciclopentasiloxano (D5)
C3	Óleo de silicone 5 cSt (Sil.05)
C4	<b>4a</b> (heptil heptanoato)
C5	<b>4b</b> (heptil octanoato)
C6	<b>4c</b> (heptil decanoato)
C7	<b>5a</b> (decil heptanoato)
C8	<b>5b</b> (decil octanoato)
C9	<b>5c</b> (decil decanoato)

## 2.8 Propriedades das formulações cosméticas

### a) Propriedades organoléticas

A análise das propriedades organoléticas constitui a indicação mais acessível para avaliar a qualidade de um creme e o seu estado de conservação. Os cremes foram armazenados em frascos de vidro e colocados a diferentes temperaturas, nomeadamente a temperatura reduzida ( $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), à temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e a temperatura elevada ( $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). As características organoléticas como cor, odor, aspeto e separação de fases foram avaliadas por exame visual, durante 6 meses.

### b) pH

A medição do pH foi efetuada a todos os cremes submetidos à avaliação das propriedades organoléticas, a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Este foi determinado após a produção das formulações, e mensalmente durante 6 meses. Como se tratam de soluções espessas, um elétrodo de pH de epóxi (METRIA) foi utilizado, colocando-o diretamente na amostra.

### **c) Viscosidade**

Para a medição da viscosidade das formulações cosméticas foi utilizado o viscosímetro rotativo IKA® ROTAVISC lo-vi, através da medição do torque requerido pela rotação de uma agulha (*spindle* VOL-SP.2.1) imersa na amostra. Os valores da viscosidade foram obtidos para os cremes iniciais após 1 mês da sua formulação, à temperatura ambiente (23°C). Os cremes foram colocados a três temperaturas distintas (4°C, temperatura ambiente e 37°C) e após 6 meses de formulação uma nova medição foi efetuada. O torque aplicado variou ligeiramente entre os 70%, e a velocidade rotacional oscilou dos 1,00 aos 10,00 rpm, consoante o creme em questão.

### **d) Estabilidade acelerada**

Neste estudo, foi utilizado o ensaio de estabilidade acelerada pelo método da centrifugação. Os diferentes cremes produzidos foram colocados em *eppendorfs* de 2 mL e submetidos a um ciclo de centrifugação no equipamento Microcentrifuge 1730R (GYROZEN), com a duração de 20 minutos, a 3000 rpm, a uma temperatura de 20°C. Este ensaio foi realizado após a produção dos cremes e passados três meses.

### **e) Estabilidade das formulações em ciclos de temperatura extrema**

As formulações cosméticas foram sujeitas a três ciclos de temperaturas extremas, sendo que cada ciclo corresponde à colocação das amostras a -18°C durante 24 horas e logo de seguida, à temperatura ambiente durante outras 24 horas. No fim dos três ciclos, efetuou-se uma avaliação visual das características organolépticas, nomeadamente da cor, do aspeto e do odor, e um teste centrifugação durante 20 minutos, a 20°C, a 3000 rpm.

### **f) Espalhamento dinâmico da luz (DLS)**

O tamanho, a distribuição e a carga superficial das partículas das formulações foram determinadas no equipamento Malvern Zetasizer NS (Malvern Instruments), à temperatura ambiente (25°C). As amostras, cerca de 15-16 mg, foram diluídas em 1 mL de água destilada com o intuito de

minimizar o efeito de espalhamento múltiplo e assim permitir uma leitura de tamanho de partícula adequada, com baixo índice de polidispersividade (PDI). A carga superficial, expressa em potencial zeta, foi medida utilizando uma célula de eletrodos (DTS1070). Ambas as leituras foram realizadas mensalmente, pelo período de três meses e após 24 horas de repouso face à diluição das amostras. As medições foram efetuadas em duplicado, pelo que os resultados apresentados demonstram a média dos valores obtidos.

### **g) Estrutura microscópica**

Os cremes obtidos foram examinados microscopicamente, tendo em conta a estrutura, distribuição e o tamanho das gotículas. Estes parâmetros foram observados sob o microscópio de fluorescência extremo Olympus BX51 e as fotografias das amostras foram tiradas com um aumento de 10x e 40x.

### **h) Propriedades reológicas**

Os ensaios reológicos das formulações cosméticas produzidas foram realizados no reómetro rotacional Discovery HR1 (TA Instruments). Um sistema de medição de placa de cone com os parâmetros de cone  $d = 20$  mm,  $2^\circ$  foi aplicado, assim como uma folga de medição de 0,130 mm. Para cada amostra, os ensaios foram realizados em duplicado, a uma temperatura de  $20^\circ\text{C}$ , após produção dos cremes.

#### **i. Propriedades viscoelásticas**

Para a análise das propriedades viscoelásticas foram medidos os valores dos módulos  $G'$  e  $G''$  na função de deformação ( $\gamma$ ) para a frequência selecionada de 1 Hz<sup>49</sup>. A dependência da deformação (stress) de  $G'$  e  $G''$  foi controlada na faixa do menor valor (0,005 Pa.s) do equipamento até aos 100,0 Pa.s.

#### **ii. Stress físico**

O valor da tensão de escoamento determinou-se através da aplicação de tensão nas amostras, que aumentou linearmente ao longo do tempo. Durante este procedimento, a frequência selecionada

variou dos 0,1 aos 100 Hz e o valor máximo da tensão aplicada foi de 2%, selecionada a partir do ensaio anterior, que determinou a região linear dos cremes.

### **iii. Curvas de fluxo**

Este parâmetro foi efetuado através de três testes sucessivos, pela seguinte ordem:

- Medição de tensão de cisalhamento e tensão normal no modo de taxa de cisalhamento crescente controlada  $0 \text{ s}^{-1} - 40,0 \text{ s}^{-1}$  com um tempo de medição de 60 segundos;
- Medição da tensão de cisalhamento e tensão normal no modo de taxa de cisalhamento constante  $40,0 \text{ s}^{-1} - 40,0 \text{ s}^{-1}$  durante 60 segundos;
- Medição da tensão de cisalhamento e tensão normal no modo de taxa de cisalhamento decrescente controlada  $40,0 \text{ s}^{-1} - 0 \text{ s}^{-1}$  durante 60 segundos.

Para além da temperatura referida, foram também efetuados ensaios à temperatura de 37°C.

## **i) Texturómetro**

A análise do perfil da textura das formulações cosméticas foi avaliada no texturómetro TA.HD plus (STABLE MICRO SYSTEMS). Para cada amostra foram efetuados três ensaios diferentes, repetidos duas vezes, à temperatura ambiente, sob o modo de teste de compressão.

### **i. Teste de penetração**

Este ensaio visa mimetizar a força utilizada para deformar a amostra quando tocada por um dedo humano durante a aplicação do creme, fornecendo dados sobre a força de rutura e elasticidade de cada formulação cosmética. Para tal, foi utilizada uma sonda hemisférica de 10 mm de diâmetro (10 mm Cyl. Delrin, P/10), que ao atingir uma força de 1 grama começa a penetrar na amostra a uma velocidade de 1 mm/seg, por uma distância de 15 mm. Na realização do teste utilizaram-se cerca de 15 g de cada amostra com uma deformação de 75% da altura da mesma.

### **ii. Teste de espalhamento**

O teste de espalhamento tem como objetivo fornecer a medida da firmeza, assim como o valor da energia requerida para deformar a amostra (dureza efetuada). O ensaio foi efetuado com recurso a um conjunto de cones de Perspex, 45° macho e fêmea, em forma de cone (TTC Spreadability Rig, HDP/SR). O cone fêmea, preenchido com a amostra, foi penetrado a uma velocidade de 3 mm/seg, por

uma distância de 23 mm de profundidade. Para cada amostra, o cone macho foi colocado a uma distância de 3 mm acima da superfície de medida.

### iii. Teste de extrusão de retorno

A partir do teste de extrusão é possível comprimir e deformar a amostra à medida que o êmbolo desce, sendo que a força exercida aumenta de forma constante. Quando a amostra se torna mais compacta a força aumenta acentuadamente e a extrusão começa. Deste modo são avaliados quatro parâmetros: firmeza, consistência, coesão e trabalho de coesão. Para a realização deste ensaio foi utilizado um sensor de acrílico, em forma de disco com uma base cilíndrica (Backward Extrusion Rig, A/BE, parâmetros: disco  $d = 35$  mm, base cilíndrica  $d = 50$  mm). Essa base foi preenchida com cerca de 100 g de cada amostra com uma deformação de 75% da altura da mesma. O teste foi iniciado ao atingir uma força de 30 gramas, penetrando na amostra com uma velocidade de 2 mm/seg, por uma distância de 25 mm.

### j) Propriedades sensoriais

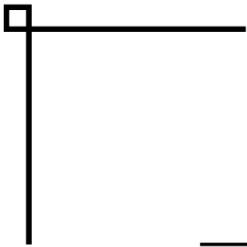
Para o estudo das propriedades sensoriais foram envolvidos 30 voluntários, aparentemente saudáveis, de ambos os sexos, caucasianos, entre 20 e 70 anos, não familiarizados com ensaios de análise sensorial. Foram avaliadas duas amostras, uma formulada com um silicone comercial e outra com um dos compostos sintetizados. As amostras foram rotuladas em código de modo a não divulgar qual o composto em estudo, e colocadas em potinhos de plástico, conforme a Figura 21. A escolha do composto utilizado foi baseada em função dos resultados obtidos nos ensaios de caracterização realizados anteriormente.



**Figura 21.** Amostras avaliadas sensorialmente. A - creme com o silicone comercial, ciclopentasiloxano; B - creme com a alternativa de silicone sintetizada, **4a**.

## Capítulo 2 – Materiais e métodos

Neste estudo, através de um questionário (Anexo 5), foram avaliadas seis características conferidas aos cremes, nomeadamente o espalhamento, a absorção, a sensação pegajosa, a oleosidade, a suavidade e a hidratação. Os parâmetros foram avaliados através da aplicação dos produtos nas costas da mão, em movimentos circulares, até que desaparecessem. De seguida, os voluntários responderam às questões indicando a pontuação desejada para cada amostra numa escala de 1 a 4 (menor – maior). A cada dois voluntários as amostras eram renovadas.



CAPÍTULO 3

---

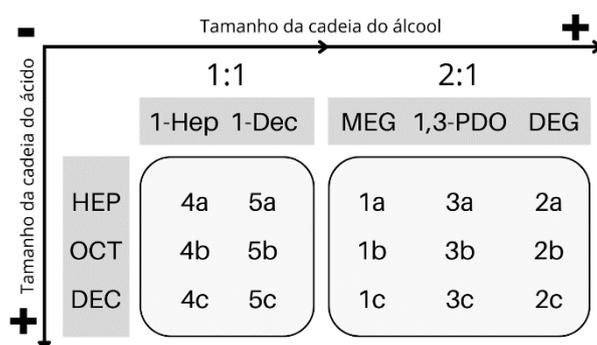
DISCUSSÃO DE RESULTADOS



### 3.1 Síntese das alternativas de silicones

Este trabalho iniciou-se com a síntese de ésteres hidrofóbicos com potencial de uso como alternativas de silicones cosméticos. Deste modo, foram exploradas diferentes conjugações de ácido:álcool, na presença de diferentes lipases. Todas as reações foram realizadas a 37°C, atendendo ser a temperatura ótima das enzimas em estudo, e de modo a acarretar um menor custo energético e, consequentemente tornar o método mais económico e “verde”.

Neste estudo, o progresso das reações foi observado através de titulações ácido-base, calculando o rendimento do éster formado, até 30h de reação. Desta forma, foram testados cinco álcoois distintos, especificamente etilenoglicol (MEG), dietilenoglicol (DEG) e 1,3-propanediol (1,3-PDO), como bifuncionalizados, e 1-heptanol (1-Hep) e 1-decanol (1-Dec) como monofuncionalizados para a esterificação com três ácidos carboxílicos (heptanóico, octanóico e decanóico), com variação da cadeia alifática, cujo tamanho e estequiometria utilizada se encontra no Esquema 2. Primeiramente, as reações foram realizadas na presença do solvente heptano, e numa fase posterior, com o objetivo de otimizar o método de produção, o solvente foi retirado.

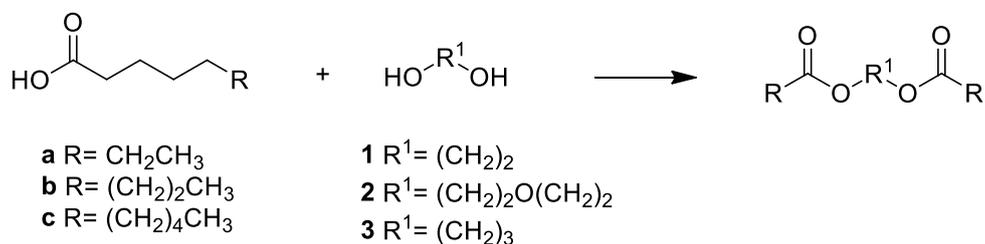


**Esquema 2.** Tamanho dos reagentes e a estequiometria ácido:álcool utilizada em cada reação.

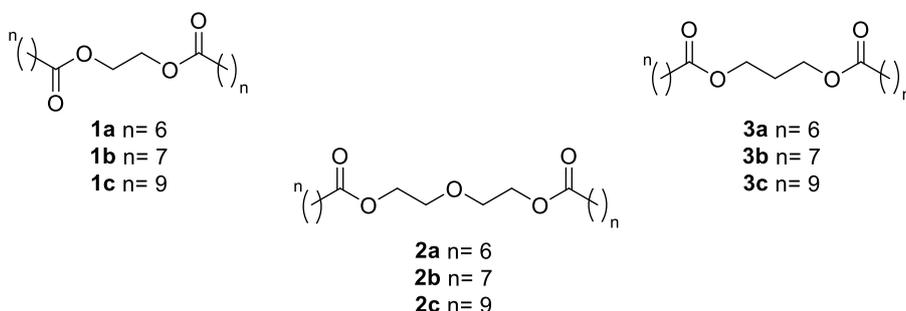
Assim, na secção seguinte, o trabalho encontra-se dividido consoante a utilização de álcoois bi- ou monofuncionalizados, de acordo com a enzima utilizada, e ainda em reações na presença e ausência de solvente.

### 3.1.1 Síntese de ésteres usando diálcoois

O esquema reacional das sínteses realizadas na estequiometria de 2:1 encontra-se a seguir (Esquema 3), juntamente com a representação das estruturas químicas dos compostos desejados (Figura 22).



**Esquema 3.** Esquema reacional das reações com estequiometria de 2:1.



**Figura 22.** Estruturas químicas dos compostos desejados.

#### 3.1.1.1 Reações na presença de solvente

Todas as reações realizadas na presença de heptano, foram monitorizadas por titulação, calculando-se a percentagem de conversão em vários intervalos de tempo, nomeadamente após 1h, 2h, 3h, 6h, 7h, 24h e 30 horas de reação.

##### a) Reações com a lipase *Aspergillus oryzae* nativa

Foram realizadas um total de nove reações com a enzima nativa (*Aspergillus oryzae*), sendo que as percentagens de conversão de cada reação em função do tempo encontram-se agrupadas na Tabela 8, consoante o ácido utilizado.

**Tabela 8.** Quantidade de éster formado (%), passadas 3h e 30h de reação com a lipase nativa, em heptano

				ÁLCOOL		
				Etilenoglicol	Dietilenoglicol	1,3-Propanediol
ÁCIDO	Heptanóico	TEMPO DE REAÇÃO	3H	0	0	0
			30H	50	0	0
	Octanóico	TEMPO DE REAÇÃO	3H	0	0	15
			30H	62	0	65
	Decanóico	TEMPO DE REAÇÃO	3H	0	0	0
			30H	59	0	78

Relativamente ao ácido HEP, é possível observar que o produto **1a** foi o único a formar o éster após 30h de reação. As reações entre o ácido HEP e os álcoois DEG e 1,3-PDO não foram bem-sucedidas. Quanto ao ácido OCT, os produtos **1b** e **3b** estabilizaram passadas 24h de reação, com conversões de 62% e 65%, respetivamente. O produto **2b** não foi sintetizado. Relativamente ao último ácido, nomeadamente o DEC, o produto **1c** e o produto **3c** foram sintetizados com 59% e 78% de conversão, respetivamente. O produto **2c**, à semelhança do produto **2b**, não foi formado.

Existem diversos fatores que podem influenciar a atividade enzimática de uma lipase, o que a leva a adquirir diferentes conformações. As enzimas apresentam na sua estrutura uma espécie de tampa com resíduos hidrofóbicos (denominado *lid*) que, na presença de interfaces hidrofóbicas, interagem possibilitando a abertura da mesma. Esta tampa cobre o centro ativo, composto pela tríade catalítica formada pelos resíduos de serina (Ser), histidina (His) e aspartato (Asp)<sup>50</sup> que quando aberta, torna o local ativo da enzima acessível para interagir com os substratos. Este fenómeno é denominado de ativação interfacial da lipase. A afinidade do *lid* aos substratos aumenta de acordo com a sua hidrofobicidade. Neste estudo, uma parte da ativação é promovida pelo solvente heptano<sup>51, 52</sup>.

Atendendo aos resultados apresentados na Tabela 8, é possível observar que o álcool MEG foi o único a atingir bons rendimentos em todas as reações com os diferentes ácidos carboxílicos. Este álcool (MEG) é o que apresenta o menor peso molecular de todos os álcoois testados. No entanto, após o isolamento dos produtos (**1a**, **1b** e **1c**), verificou-se por <sup>1</sup>H RMN e por espetrometria de massa de alta resolução, que o produto maioritário de todas as reações foi o composto monoéster. Posteriormente, foi testado o aumento do número de moles do ácido (2.3 eq.), na tentativa de promover a síntese do produto

desejado, no entanto obtiveram-se os mesmos resultados. O mesmo se sucedeu para o álcool 1,3-PDO. Apesar dos ótimos rendimentos na presença dos ácidos OCT e DEC, os produtos **3b** e **3c**, são apenas monofuncionalizados com um grupo éster. Para o ácido HEP, a reação não ocorreu, podendo dever-se ao facto deste ácido ser o de menor tamanho, sendo a hidrofobicidade geral dos substratos insuficiente para decorrer a ativação interfacial da enzima.

O álcool DEG é o composto mais polar testado, e o álcool bifuncional de tamanho superior, apresentando o dobro do tamanho do álcool MEG e ainda um átomo de oxigénio adicional. Estes fatores poderão ser a causa do insucesso de todas as reações testadas com os ácidos HEP, OCT e DEC<sup>52</sup>.

### b) Reações com a lipase *Aspergillus oryzae* modificada

De modo a verificar-se se o insucesso na obtenção dos compostos desejados se deveu à baixa atividade da lipase da *Aspergillus oryzae*, foi utilizada uma forma modificada desta enzima, com 4 cadeias de dodecil à sua superfície (ligada a lisinas). Esta lipase quimicamente modificada, revelou previamente uma atividade catalítica bastante superior à sua forma nativa, com uma cavidade do centro ativo de tamanho superior, capaz de alocar uma maior variedade de substratos, transpondo-se numa elevada performance catalítica quer em reações de hidrólise, como de esterificação e transesterificação<sup>39, 42, 52</sup>.

Na Tabela 9 são apresentadas as percentagens de conversão obtidas na presença desta lipase modificada para as nove reações efetuadas.

**Tabela 9.** Quantidade de éster formado (%), ao fim de 3h e 30h de reação com a lipase modificada, conforme o ácido utilizado, em heptano

				ÁLCOOL		
				Etilenoglicol	Dietilenoglicol	1,3-Propanediol
ÁCIDO	Heptanóico	TEMPO DE REAÇÃO	3H	0	0	34
			30H	0	0	65
	Octanóico	TEMPO DE REAÇÃO	3H	0	0	31
			30H	43	0	68
	Decanóico	TEMPO DE REAÇÃO	3H	0	0	15
			30H	50	0	78

Através dos resultados obtidos, podemos verificar que o perfil de atividade da enzima nativa (Tabela 8) e da enzima modificada (Tabela 9) é bastante similar. A única exceção foi observada para o produto **1a** que não obteve sucesso na reação, quando utilizada a lipase modificada, mas a possível síntese do produto **3a**. Outra notória observação, é a cinética inicial de reação quando utilizado o álcool 1,3-PDO com a lipase modificada, para o qual se verificam em todas as reações, a formação de pelo menos 15% de produto ao final de 3 horas de reação.

Estes resultados podem ser justificados pelo aumento do tamanho da cavidade da lipase modificada. No entanto, este aumento, aparenta não ser suficiente para a reação com o álcool DEG. Quanto ao produto **1a**, é possível que este tenha assumido uma conformação diferente, não estabelecendo nenhuma interação com a tríade catalítica no centro ativo da enzima. É ainda sabido que os ácidos podem causar acidificação da interface microaquosa da enzima, podendo levar a sua inativação<sup>53</sup>.

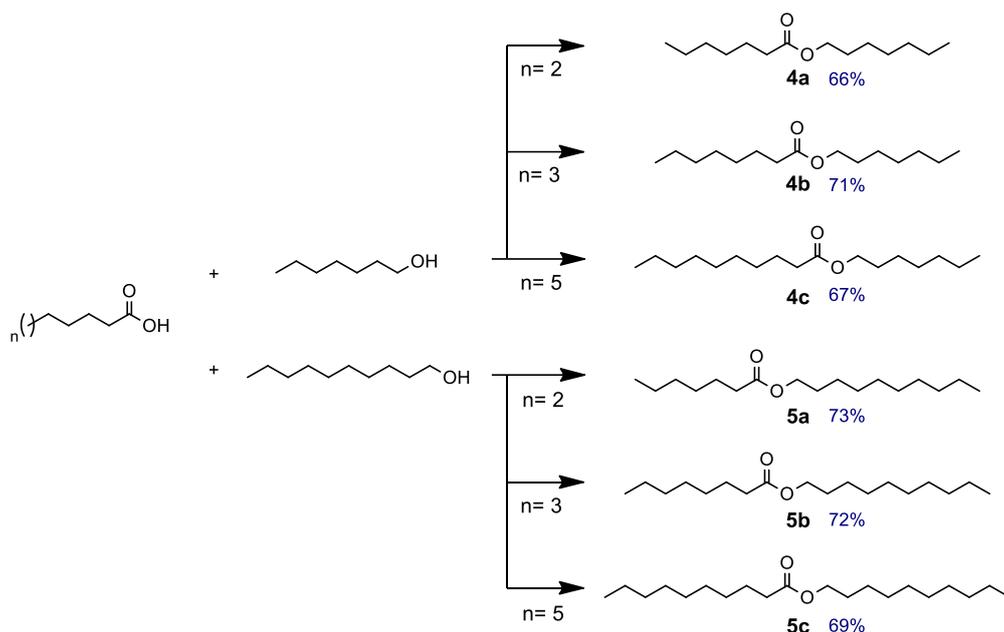
Todavia, tal como previamente observado para a lipase nativa, as análises de <sup>1</sup>H RMN e de espectrometria de massa de alta resolução revelaram que o produto principal da reação continha apenas 1 grupo éster, permanecendo o outro álcool livre. O aumento do número de equivalentes do ácido carboxílico também se revelou infrutífero.

É importante, no futuro, recorrer à modelação molecular de modo a elucidar o comportamento de cada enzima face aos diferentes substratos testados.

Uma potencial alternativa de silicone deverá ser um composto hidrofóbico, sem possível interferência com os restantes ingredientes cosméticos. Deste modo, o insucesso da síntese dos diésteres apresentados, levou-nos a abandonar estes produtos reacionais, não sendo estes posteriormente incorporados numa formulação cosmética, atendendo à possível reação do álcool livre com os restantes ingredientes.

### **3.1.2 Síntese de ésteres usando monoálcoois**

O estudo prosseguiu com a síntese de ésteres monofuncionalizados, como potenciais alternativas aos silicões. O esquema reacional de cada composto com estequiometria de 1:1, encontra-se descrito no Esquema 4.



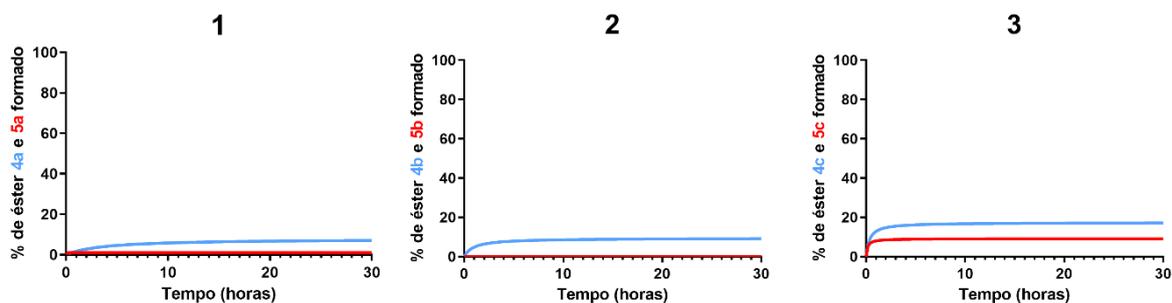
**Esquema 4.** Esquema reacional para obter os compostos de estequiometria 1:1 (**4a** – **5c**), e respectivos rendimentos obtidos.

### 3.1.2.1 Reações na presença de solvente

Todas as reações de estequiometria 1:1 foram realizadas de modo semelhante ao indicado na secção 3.1.1.1.

#### a) Reações com a lipase *Aspergillus oryzae* nativa

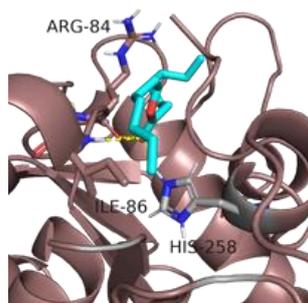
Nesta etapa do trabalho, foram utilizados os mesmos ácidos carboxílicos que anteriormente (HEP, OCT e DEC), mas alterando para álcoois monofuncionais (1-Hep e 1-Dec). Foram realizadas um total de seis reações com a enzima nativa (*Aspergillus oryzae*), estando os gráficos com a percentagem de éster formado ao longo do tempo agrupados na Figura 23, consoante o ácido utilizado.



**Figura 23.** Percentagem de éster formado, conforme o ácido utilizado, **1)** ácido heptanóico, **2)** ácido octanóico e **3)** ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima nativa, em heptano.

No primeiro gráfico (1) relativo ao ácido HEP, é possível observar que o produto **4a**, após 2h, estabilizou nos 9% e o **5a** encontra-se junto da linha de base, sem qualquer sucesso na reação. Exatamente o mesmo comportamento foi observado para o ácido OCT (gráfico 2) com os álcoois 1-Hep e 1-Dec. Relativamente ao ácido DEC (gráfico 3), os produtos **4c** e **5c** obtiveram valores entre os 10% e 20% de conversão em produto.

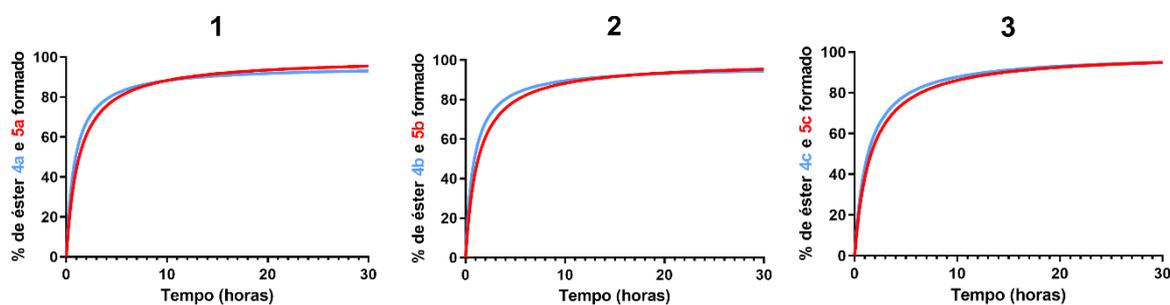
Através dos dados obtidos é possível observar que a enzima nativa não possui qualquer/escassa atividade catalítica para a síntese dos produtos desejados. Apesar de serem álcoois monofuncionalizados, estes são de peso molecular superior aos bifuncionais testados anteriormente, e mais hidrofóbicos. Deste modo, seria expectável que esta lipase fosse capaz de realizar a síntese dos ésteres desejados. De modo a compreender os resultados obtidos, recorreu-se à modelação molecular. Na Figura 24 é apresentada uma imagem relativa à interação do composto **4a** com a enzima nativa. É possível observar que a interação do produto **4a** com a tríade catalítica é escassa, existindo apenas uma interação com o aminoácido histidina (HIS-258). Deste modo, é possível concluir que este tipo de compostos sintetizados apresentam uma baixa afinidade para o centro ativo da lipase nativa, justificando o insucesso das reações realizadas.



**Figura 24.** Interação do composto **4a** com a lipase nativa (PDB ID: 1TIB) (Imagem retirada do *software* PyMol).

### **b) Reações com a lipase *Aspergillus oryzae* modificada**

As mesmas reações foram efetuadas na presença da lipase modificada, apresentando-se na Figura 25 os gráficos agrupados de acordo com o ácido utilizado.

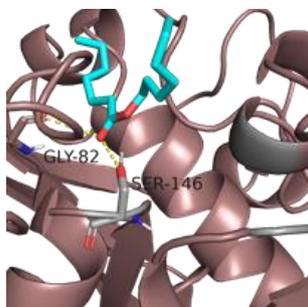


**Figura 25.** Percentagem de éster formado, consoante o ácido utilizado, **1)** ácido heptanoico, **2)** ácido octanoico e **3)** ácido decanoico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima modificada, em heptano.

Através da Figura 25, é possível observar que todos os compostos desejados foram sintetizados com sucesso. Todos os ésteres foram obtidos através de um perfil muito semelhante, com cerca de 87% de produto ao fim de 6h de reação.

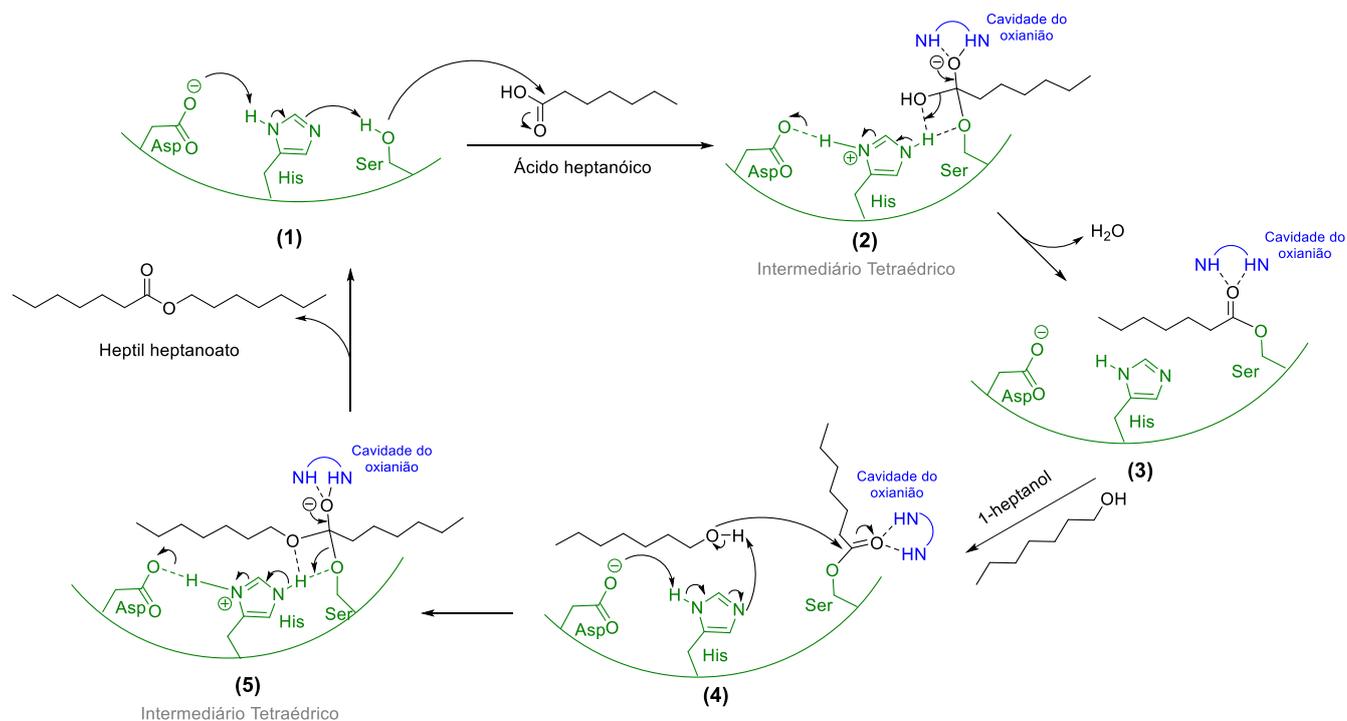
Contrariamente ao observado com a lipase nativa, os produtos de estequiometria 1:1 (álcool 1-Hep e 1-Dec como reagentes) foram sintetizados com elevada eficiência pela lipase modificada. Para compreender melhor a atividade desta enzima face aos substratos, é apresentada na Figura 26 uma imagem de modelação molecular relativa à interação do composto **4a** com a enzima modificada. Através desta podemos observar que no centro ativo são realizadas duas interações entre o aminoácido serina. A SER-146 é um aminoácido da tríade catalítica, levando a uma maior retenção do composto na cavidade, justificando os rendimentos superiores.

Estudos de modelação molecular revelaram previamente que esta enzima modificada possui um centro ativo com tamanho superior comparativamente ao da lipase nativa<sup>42</sup>. Este facto pode também justificar os resultados obtidos, atendendo que ambos os álcoois monofuncionais são de peso molecular superior que os bifuncionais testados inicialmente.



**Figura 26.** Interação do composto **4a** com a lipase modificada (PDB ID: 1TIB). (Imagem retirada do *software* PyMol).

Como referido anteriormente, a utilização de lipases como biocatalisadores para reações de esterificação é considerada uma alternativa competitiva à tradicional síntese química. O mecanismo de ação sugerido apresenta, essencialmente, dois componentes estruturais importantes, a tríade catalítica (resíduos de Ser, His e Asp)<sup>51</sup> e a cavidade do oxianião, que se encontram no local ativo das lipases<sup>54</sup>. Apesar de, no Esquema 5, ser proposto o mecanismo de reação para a síntese do composto **4a**, todas as reações efetuadas neste estudo, têm por base o mecanismo apresentado.



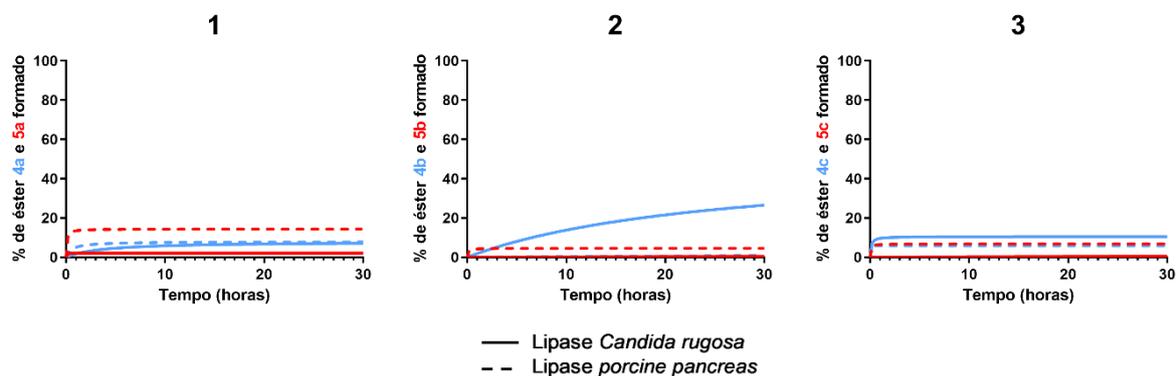
**Esquema 5.** Mecanismo catalítico proposto para a esterificação do composto **4a**, representado a verde a tríade catalítica, a azul a cavidade do oxianião e a preto o ácido heptanóico e o álcool 1-heptanol.

O início da reação prevê-se com base na tríade catalítica, onde o grupo terminal OH da serina é ativado, possibilitando o ataque nucleofílico ao grupo carboxílico do ácido heptanóico (1). Este ataque leva à formação do intermediário tetraédrico (2) que é estabilizado pela presença da cavidade do oxianião durante o mecanismo catalítico. Após a libertação de uma molécula de água, forma-se um complexo acil-enzima, através da ligação entre o ácido e o resíduo de serina da tríade catalítica (3). Essa ligação reativa sofre facilmente um ataque nucleofílico pelo álcool 1-heptanol (4), formando um novo intermediário (5). A renovação da ligação dupla do carbonilo desfaz o intermediário, formando o éster que é libertado da enzima, restaurando a tríade catalítica<sup>41, 54</sup>.

### c) Reações com as lipases da *Candida rugosa* e *porcine pancreas*

As mesmas reações de estequiometria 1:1, foram estudadas com duas enzimas comercialmente disponíveis (lipases da *Candida rugosa* e *porcine pancreas*), mais económicas que a lipase da *Aspergillus oryzae*, de modo a diminuir os custos associados à produção dos compostos.

Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 27 com a representação gráfica das percentagens de éster formado ao longo do tempo.



**Figura 27.** Percentagem de éster formado, de acordo com o ácido utilizado, **1**) ácido heptanóico, **2**) ácido octanóico e **3**) ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença das enzimas *Candida rugosa* (linha contínua) e *porcine pancreas* (tracejado), em heptano.

Com base nos gráficos apresentados é possível observar que apenas o produto **4b** conseguiu atingir um rendimento superior a 20%, nomeadamente de 31%, sendo que os restantes produtos estabilizaram entre os 0% e os 15%.

É possível concluir, que ambas as lipases testadas não são viáveis para a produção dos compostos pretendidos. Podemos presumir que os compostos testados não são hidrofóbicos o suficiente para realizar a ativação interfacial de ambas as lipases, à semelhança do que aconteceu para a lipase da *Aspergillus oryzae* nativa. Outra possível explicação será a baixa afinidade dos substratos no centro ativo das enzimas. De modo a corroborar estas afirmações, será necessário recorrer a estudos de modelação molecular.

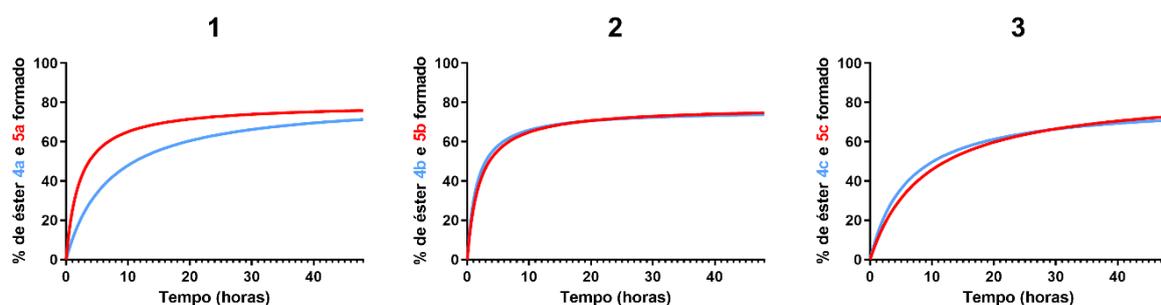
### 3.1.3 Reações na ausência de solvente

As reações na ausência de heptano foram realizadas de modo semelhante às anteriores, sendo o progresso da reação seguido em vários intervalos de tempo, nomeadamente após 3h, 6h, 24h, 30h e 48 horas de reação. Apenas a lipase modificada e uma forma imobilizada desta, foram exploradas na ausência de solvente, atendendo que todas as restantes (*Aspergillus oryzae* nativa, *Candida rugosa* e

*porcine pancreas*) demonstraram baixa atividade catalítica na síntese dos produtos desejados nas condições descritas como mais favoráveis.

### a) Reações com a lipase *Aspergillus oryzae* modificada

Os resultados obtidos para as seis reações realizadas na presença da enzima modificada sem solvente, encontram-se compilados na Figura 28, consoante o ácido utilizado.



**Figura 28.** Percentagem de éster formado, conforme o ácido utilizado, **1)** ácido heptanóico, **2)** ácido octanóico e **3)** ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima modificada, sem heptano.

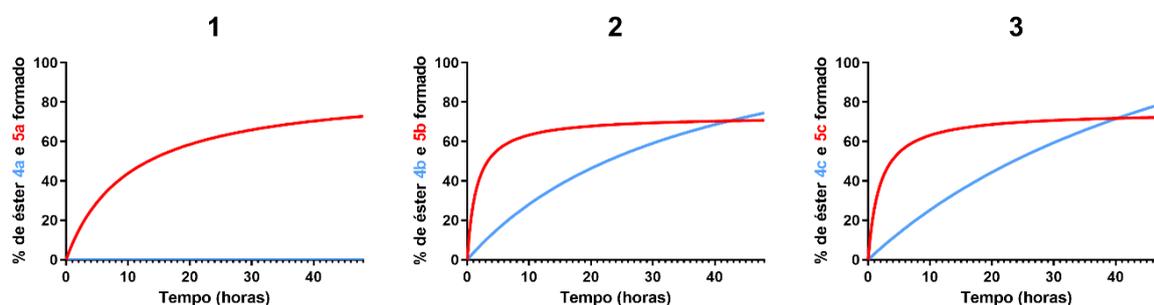
Todas as reações atingiram bons rendimentos, apesar da percentagem de éster formado estabilizar entre 66% e 73%, passadas 24h de reação. Estes valores revelaram-se inferiores aos obtidos na presença de solvente (87%). Esta discrepância é natural, atendendo à remoção do heptano. O meio reacional é um dos fatores que pode influenciar o desempenho da enzima como biocatalisador da reação, pelo que a presença de solvente possibilitava uma elevada solubilidade dos reagentes, conferindo uma maior estabilidade à lipase. Para além disso, a presença de heptano influencia a quantidade de água disponível para que a enzima possa manter a sua atividade. Os solventes hidrofóbicos, geralmente com  $\log P$  superior a 3 (como o heptano), mantêm a hidratação necessária para a máxima atividade enzimática, sendo incapazes de retirar água associada à enzima<sup>51</sup>. Assim, a lipase é estabilizada interfacialmente, que reflete a sua flexibilidade face as interações da enzima com o substrato, levando a maiores rendimentos. Ao remover o solvente, o meio reacional fica concentrado levando ao ponto máximo de saturação. Isto leva a que a enzima não tenha uma ligação máxima ao substrato, resultado da perda de flexibilidade sendo dificultada a sua mudança de conformação. Nestes ensaios foi obtida uma

diminuição em cerca de 15% de produto. Contudo, esta diferença não é significativa perante um processo para aplicação industrial, tendo em conta que o método aplicado é mais económico e amigo do ambiente.

### b) Reações com a lipase *Thermomyces lanuginosus* imobilizada

As enzimas imobilizadas oferecem um variado leque de vantagens, tais como a facilidade de recuperação e consequente reutilização, apresentam uma maior estabilidade e são catalisadores eficientes e ecológicos, pois não necessitam de condições rigorosas (pressões, temperaturas e ambientes químicos agressivos)<sup>55</sup>.

A sua elevada estabilidade, e possível reutilização, foram as principais causas da sua exploração para a síntese dos produtos desejados na ausência de solvente. Os resultados obtidos, encontram-se agrupados na Figura 29.



**Figura 29.** Percentagem de éster formado, consoante ácido utilizado, **1)** ácido heptanóico, **2)** ácido octanóico e **3)** ácido decanóico com os álcoois 1-heptanol a azul e 1-decanol a vermelho, na presença da enzima imobilizada, sem heptano.

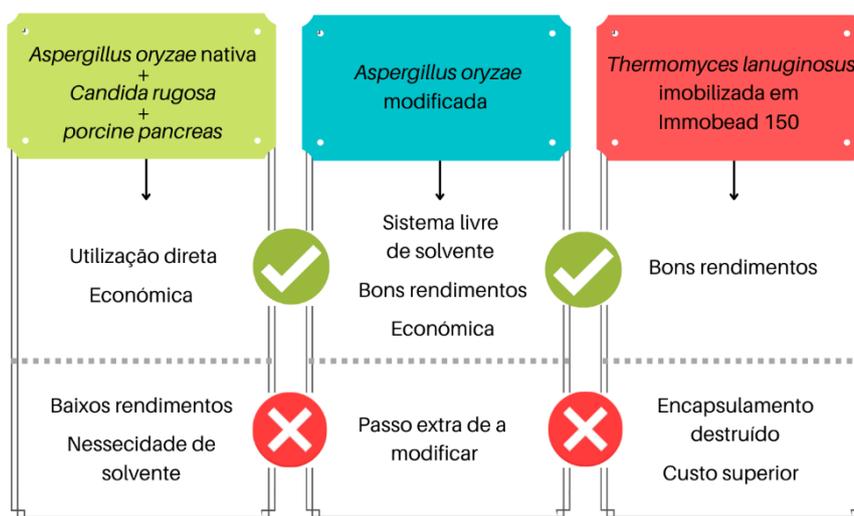
Das seis reações realizadas, apenas não foi possível a síntese do produto **4a**. Os produtos **5a**, **5b** e **5c** (a vermelho) atingiram valores de formação de produto de 67%, 70% e 69% respetivamente, enquanto que os produtos **4b** e **4c** estabilizaram nos 72% e 73%.

Apesar do sucesso observado na maioria das reações, é necessário esclarecer que ao longo do tempo de reação o suporte de imobilização da lipase foi destruído, por consequência da agitação aplicada. Deste modo, a limitação da mobilidade comumente associada à utilização deste tipo de enzimas, foi ultrapassada, levando a lipase a adquirir uma conformação semelhante ao da lipase

modificada. Podemos aferir que este suporte sólido livre adquiriu uma função idêntica às cadeias do aldeído utilizado na modificação da lipase *Aspergillus oryzae*. A possível reutilização da lipase imobilizada, de modo a tornar o processo economicamente mais rentável foi também inviabilizado<sup>53</sup>.

De um modo geral, podemos concluir que a lipase quimicamente modificada revelou ser a mais eficiente, atendendo à possível síntese dos compostos desejados (**4a – 5c**) com rendimentos superiores a 66%.

A Figura 30 representa um resumo das vantagens e desvantagens de cada enzima face à sua utilização neste estudo. Assim, de todos os métodos utilizados, o mais eficiente e “*eco-friendly*” foi a catálise enzimática com a lipase *Aspergillus oryzae* modificada na ausência de solvente. Isto porque, a lipase *Aspergillus oryzae* nativa, *Candida rugosa* e *porcine pancreas* não revelaram atividade catalítica suficiente perante os substratos utilizados. A lipase *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em Immobead 150 apesar de não necessitar de solvente, e apresentar valores semelhantes aos da enzima modificada, não é viável atendendo ao seu preço e à impossibilidade de reutilização, tal como anteriormente discutido.



**Figura 30.** Vantagens e desvantagens gerais de cada lipase, face ao observado neste trabalho.

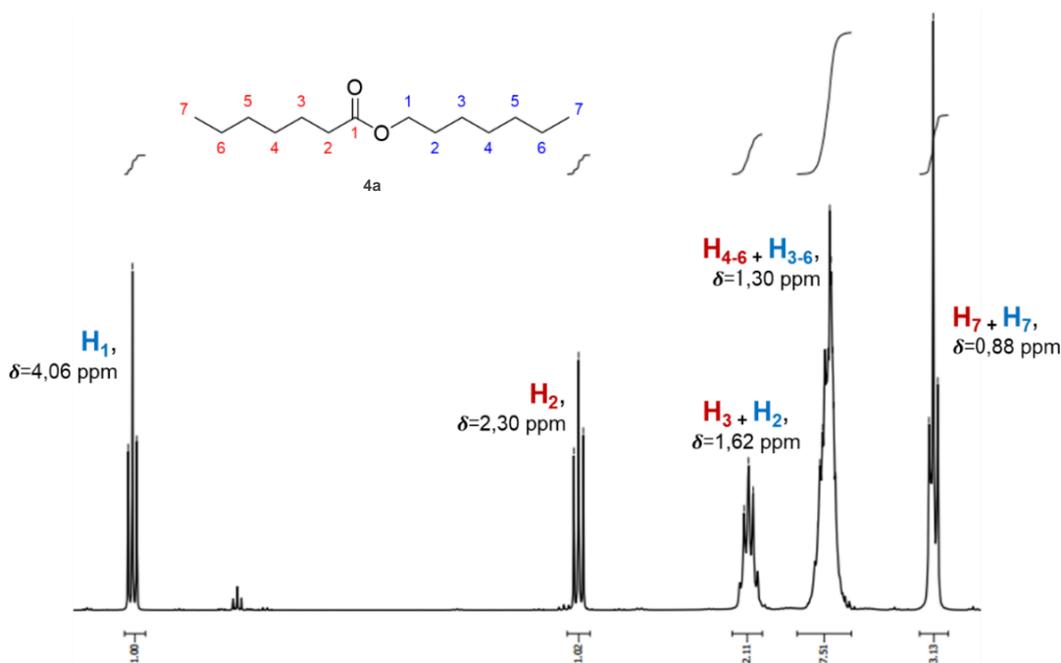
### 3.2 Isolamento e caracterização dos compostos sintetizados

Como mencionado previamente, apenas os compostos cujos reagentes de partida foram álcoois monofuncionais, deram origem aos produtos desejados. Foi possível proceder ao *scale-up* das reações,

de modo a isolarem-se os ésteres na escala dos grama, com o mesmo rendimento. Como previamente demonstrado, apenas a lipase modificada da *Aspergillus oryzae* revelou elevada performance catalítica na síntese dos compostos **4a**, **4b**, **4c**, **5a**, **5b** e **5c**, sendo a enzima utilizada. Após o isolamento dos compostos, procedeu-se à sua caracterização.

### a) $^1\text{H}$ RMN e HRMS

Os compostos sintetizados foram caracterizados por  $^1\text{H}$  RMN, apresentando-se a título exemplificativo na Figura 31 o espectro do composto **4a**. A formação dos ésteres foi confirmada pelo aparecimento de um novo sinal, nomeadamente um tripleto a  $\delta_{\text{H}}$  4,06 ppm, sendo este atribuído ao grupo  $\text{CH}_2$  adjacente ao oxigénio (C1). No reagente de partida, este tripleto é observado a  $\delta_{\text{H}}$  3,62 ppm, observando-se o seu desaparecimento após a reação de esterificação. Um outro tripleto é observado a um desvio químico de  $\delta_{\text{H}}$  2,30 ppm, correspondente ao grupo  $\text{CH}_2$  adjacente ao grupo carbonilo (C2). Este sinal sofreu um ligeiro desvio químico em comparação ao reagente de partida, em que aparece a  $\delta_{\text{H}}$  2,35 ppm. Em todos os espectros, os  $\text{CH}_3$  são visíveis a um desvio químico de  $\delta_{\text{H}}$  0,88 ppm, com uma integração para 6H. Os restantes prótons são observados a  $\delta_{\text{H}}$  1,62 ppm na forma de quinteto e a  $\delta_{\text{H}}$  1,30 ppm como multipletto, integrando, respetivamente, para 4H e 14H.



**Figura 31.** Espectro  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **4a**.

Todos os espectros de  $^1\text{H}$  RMN dos compostos sintetizados foram semelhantes ao apresentado na Figura 31, sendo que os mesmos podem ser encontrados no Anexo 2. A confirmação do peso molecular foi efetuada por espectrometria de massa de alta resolução estando de acordo com os valores teóricos esperados (Tabela 10).

**Tabela 10.** Peso molecular esperado e obtido (por espectrometria de massa de alta resolução) de cada éster

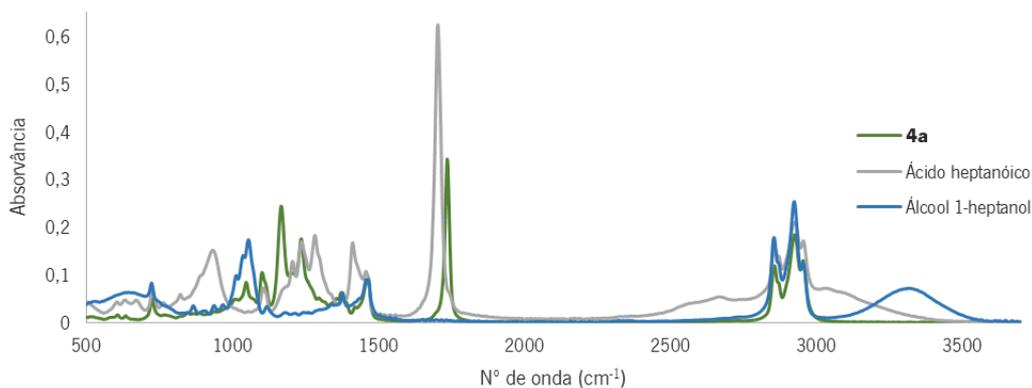
Composto	Massa (g/mol)		Composto	Massa (g/mol)	
	Calculada (MH <sup>+</sup> )	Obtida (MH <sup>+</sup> )		Calculada (MH <sup>+</sup> )	Obtida (MH <sup>+</sup> )
<b>4a</b>	229,3840	229,2177	<b>5a</b>	271,4650	271,2657
<b>4b</b>	243,4110	243,2341	<b>5b</b>	285,4920	285,2809
<b>4c</b>	271,4650	271,2651	<b>5c</b>	313,5460	313,3129

### b) FTIR

A técnica de FTIR foi utilizada para a caracterização estrutural dos compostos sintetizados, sendo também efetuada a análise dos reagentes de partida, com exceção do álcool 1-Dec visto que necessita de condições especiais para ser manipulado. Contudo, através de bases de dados disponíveis na literatura<sup>56</sup>, a sua avaliação foi efetuada, sendo o espectro semelhante ao do 1-heptanol.

A principal alteração observada foi o desaparecimento da banda de estiramento típica do OH entre os 3141 – 3520  $\text{cm}^{-1}$  presente nos espectros dos álcoois, assim como na região dos 2504 – 3315  $\text{cm}^{-1}$  para os ácidos carboxílicos.

Todos os espectros dos produtos mostram bandas de estiramento entre 1133 – 1305  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas à presença de um grupo C-O, sendo também observado um pico de forte intensidade a 1710 – 1758  $\text{cm}^{-1}$  característico do grupo C=O, o que demonstra a formação do éster. Na região de 2822 – 3025  $\text{cm}^{-1}$  são visíveis as bandas de estiramento dos grupos C-H alifáticos da cadeia carbonada. Estas bandas foram visíveis para todos os compostos produzidos, apresentando-se um exemplo do composto **4a** na Figura 32. Os espectros de FTIR (Anexo 3) confirmam a formação dos compostos sintetizados, uma vez que todos os picos de ambos os componentes aparecem com pequenos desvios.

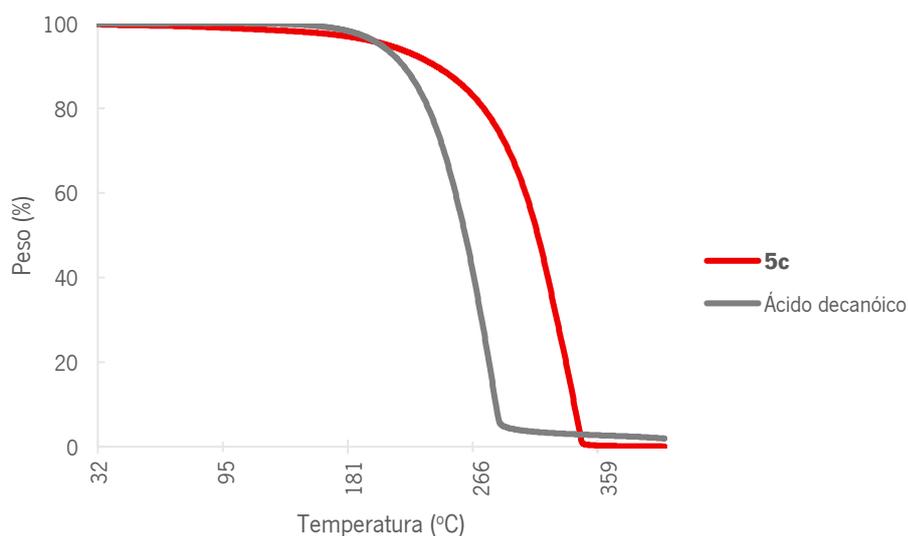


**Figura 32.** Espectros de FTIR do composto **4a** (a verde), do ácido heptanóico (cinza) e do álcool 1-heptanol (azul).

### c) TGA

A análise termogravimétrica de um composto para aplicação cosmética é indispensável, fornecendo as informações necessárias sobre o comportamento térmico dos mesmos.

A estabilidade térmica dos compostos sintetizados e dos respectivos reagentes de partida foi avaliada, e os termogramas foram obtidos de modo a determinar a perda de massa em cada etapa de degradação. Esta técnica dá-nos a indicação da resistência do composto ao calor, pelo que quanto menor a temperatura de degradação, maior a volatilidade da amostra. Contrariamente, uma maior temperatura de degradação revela uma maior tolerância ao calor, bem como melhor estabilidade térmica<sup>57</sup>. No Gráfico 1 é demonstrado um exemplo dos resultados obtidos para o éster **5c**.



**Gráfico 1.** Termogramas do produto **5c** (a vermelho) e do ácido DEC (a cinza) consoante o peso perdido (%) e a temperatura (°C).

Na Tabela 11, é possível observar os resultados obtidos para os restantes compostos e os seus constituintes, pelo que as temperaturas apresentadas ( $T_{dmax}$ ) correspondem à temperatura máxima de decomposição da totalidade do composto<sup>58</sup>.

**Tabela 11.** Análise termogravimétrica dos silicones, alternativas de silicones e reagentes de partida

<b>Composto</b>	<b><math>\Delta</math>Peso (%)</b>	<b><math>T_{dmax}</math> (°C)</b>
Cetiol® CC	99,9	314,5
Ciclopentasiloxano	99,8	207,0
Óleo de silicone 5 cSt	99,9	253,0
Ácido HEP	99,4	229,2
Ácido OCT	97,4	249,5
Ácido DEC	96,2	274,0
Álcool 1-Hep	-*	-*
Álcool 1-Dec	-*	-*
<b>4a</b>	96,1	277,2
<b>4b</b>	99,1	281,2

<b>4c</b>	99,5	305,5
<b>5a</b>	99,6	297,6
<b>5b</b>	95,9	311,3
<b>5c</b>	99,7	333,7

\*O equipamento encontrava-se avariado

Neste estudo, os termogramas dos diferentes compostos (Anexo 4) revelam perda de água, entre os 96,93°C – 99,98°C, demonstrada em  $\Delta$ Peso através das percentagens inferiores a 100%.

A relação da estabilidade térmica obtida entre os ácidos foi: DEC <OCT <HEP e da mesma forma entre os produtos: **5c** <**5b** <**4c** <**5a** <**4b** <**4a**. Assim, de entre os compostos sintetizados é possível observar que o produto **4a** é o que apresenta uma menor resistência à temperatura, sendo a sua decomposição máxima a 277,2°C. Contrariamente, o produto **5c** atingiu a maior temperatura de decomposição total e estabilidade térmica, de 333,7°C. Apesar de os compostos **4c** e **5a** apresentarem o mesmo peso molecular, é interessante como o facto do comprimento das cadeias ligadas a cada lado do grupo carbonilo influencia de um modo diferente as suas propriedades. Neste caso, uma cadeia mais longa de ácido e mais curta de álcool oferece maior termoestabilidade (**4c**) do que o contrário (**5a**). Quanto aos compostos comerciais, o Cetiol® CC apresentou a maior estabilidade térmica, com uma  $T_{dmax}$  de 314,5°C, seguido do Sil.O5 com 253,0°C, e por fim o D5 com 207,0°C. Na literatura é referido o valor de 210,0°C para o ponto de ebulição do D5<sup>22</sup>, temperatura semelhante à obtida. Ainda assim, todas as alternativas de silicones produzidas são termicamente mais estáveis do que os silicones comerciais (Sil.O5 e D5). Globalmente, o produto **5c** atingiu uma  $T_{dmax}$  de 333,7°C sendo o composto mais tolerante ao calor, ou seja, o termicamente mais estável, em seguida o Cetiol® CC (314,5°C), os restantes compostos sintetizados (311,3°C – 277,2°C), e por último os silicones comerciais (253,0°C e 207,0°C).

Uma vez que nem todos os reagentes de partida foram avaliados, não é possível comparar os termogramas dos mesmos com o dos produtos. No entanto, todos os compostos produzidos demonstraram uma  $T_{dmax}$  superior às observadas para seus constituintes, separadamente. Na literatura são referidas, respetivamente, temperaturas de ebulição de 222,2°C, 239,0°C e 268,7°C, para os ácidos HEP, OCT e DEC, semelhante às obtidas neste ensaio<sup>59-61</sup>. Em suma, um alto perfil de estabilidade

térmica foi observado em todos os ésteres produzidos com uma temperatura de decomposição superior a 275°C.

A estabilidade térmica está relacionada com diversos fatores, como a estrutura química, incluindo o comprimento da cadeia alifática, o grau de insaturação e a ramificação. De acordo com a literatura, compostos insaturados são mais propensos à oxidação (através das ligações duplas) e, como tal, são menos estáveis do que aqueles com cadeias de carbono saturadas<sup>57</sup>. Neste estudo apenas foram avaliados compostos com cadeias saturadas pelo que o único fator aplicado foi o comprimento da cadeia alifática. Assim, foi observado que a estabilidade térmica é proporcional ao aumento da cadeia alifática, visível tanto para os ácidos como para os produtos finais, de acordo com o descrito na literatura<sup>7, 57, 62</sup>.

### 3.3 Propriedades dos compostos sintetizados

Todos os compostos sintetizados foram avaliados nas diversas propriedades consideradas relevantes para aplicação cosmética. Na Tabela 12 encontram-se os valores do pH, de viscosidade ( $\eta$ ), da tensão superficial ( $\sigma$ ) e da densidade ( $\rho$ ) obtidos para cada um dos compostos, incluindo os comerciais.

**Tabela 12.** Valores obtidos da viscosidade, tensão superficial e densidade para os compostos sintetizados e comerciais

Composto	pH	Viscosidade ( $\eta$ ) (mPa.s)	Tensão superficial ( $\sigma$ ) (mN/m)	Densidade ( $\rho$ ) (g/cm <sup>3</sup> )
Cetiol® CC	6,40	7,1	27,842±0,008	0,886
Ciclopentasiloxano	5,67	4,6	18,5 <sup>a</sup>	0,944
Óleo de silicone 5 cSt	5,42	4,8	17,980±0,000	0,902
<b>4a</b>	5,32	2,8	26,980±0,030	0,845
<b>4b</b>	5,03	3,2	26,744±0,017	0,843
<b>4c</b>	5,45	3,9	27,919±0,007	0,866
<b>5a</b>	5,07	4,2	26,191±0,096	0,852
<b>5b</b>	4,56	4,2	27,275±0,006	0,851
<b>5c</b>	5,22	6,2	26,154±0,094	0,848

<sup>a</sup>A lamela de medição quebrava constantemente, sendo apresentado o valor teórico

#### ▪ pH

Entre os compostos produzidos, o éster **5b** foi o que apresentou menor valor (4,56) e, contrariamente, o éster **4c** o maior valor (5,45), correspondendo também ao pH do silicone comercial Sil.05. De todos os compostos, o Cetiol® CC apresentou o maior valor de pH (6,4), e os restantes compostos apresentaram valores muito semelhantes entre os 5,0 e os 5,6. Todos os compostos apresentam valores de pH dentro do ideal para aplicações cosméticas (4-6)<sup>63</sup>.

#### ▪ Viscosidade

A viscosidade ( $\eta$ ) encontra-se relacionada com a capacidade de resistência que um fluido apresenta ao escoamento, pelo que, quanto maior a viscosidade, menor será a velocidade com que este se movimenta<sup>68</sup>. Segundo a literatura, a viscosidade aumenta com o aumento do grau de saturação, visto que, aumentando as interações intermoleculares aleatórias, aumenta, conseqüentemente, a viscosidade<sup>64</sup>. Esta é uma das propriedades mais importantes na avaliação do potencial de um composto como uma alternativa de silicone.

Quanto aos resultados obtidos, é referido na literatura que o composto Cetiol® CC possui uma viscosidade de 7 mPa.s, valor também obtido experimentalmente<sup>65</sup>. A alternativa de silicone **5c** foi a que apresentou o maior valor (6,2 mPa.s), sendo aquela que apresentou um valor mais próximo da alternativa de silicone comercial (Cetiol® CC). Os restantes compostos sintetizados durante este trabalho, demonstraram valores próximos entre si (2 a 4 mPa.s), pelo que todos estes valores foram inferiores ao obtido pelo silicone comercial D5. Este é referido por apresentar uma viscosidade de 3,87 mPa.s<sup>22</sup> valor ligeiramente diferente ao obtido. O éster **4a** apresentou o menor valor de viscosidade (2,8 mPa.s).

Era esperado um aumento da viscosidade com o aumento da cadeia carbonada, de acordo com o obtido para o álcool 1-Hep. Porém, para o álcool 1-Dec, a regra não foi tão linear visto que os produtos **5a** e **5b** obtiveram o mesmo valor, aumentando no composto **5c**.

Na Tabela 3 (capítulo 1.2.2.1) foram mencionados os tipos de silicones fluídos consoante a viscosidade. De acordo com os valores de referência, a alternativa comercial Cetiol® CC e o produto **5c** são compostos de viscosidade baixa (5–20 mPa.s), utilizados principalmente em produtos de cosmética decorativa e proteção solar, cremes, loções, óleos de banho e alguns produtos para cabelo<sup>3, 65</sup>. Os restantes compostos enquadram-se na categoria de silicones voláteis (<5 mPa.s), sendo a sua utilização

apropriada numa extensa gama de produtos, nomeadamente, antiperspirantes e desodorizantes, cremes de limpeza e hidratantes, loções, óleos de banho, bronzeadores e protetores solares, produtos de barbear e cosmética decorativa, produtos de cabelo e produtos em *stick*.

#### ▪ **Tensão superficial**

A tensão superficial ( $\sigma$ ) é uma propriedade física que visa medir a força de coesão entre um líquido e a sua superfície, através da energia intrínseca entre as moléculas do líquido<sup>66</sup>. Através deste ensaio, é possível avaliar as propriedades de espalhamento de cada composto, melhorando com a diminuição da tensão superficial<sup>7</sup>.

Neste estudo, não foi possível obter um valor para o composto D5 uma vez que, durante as medições, a lamela quebrava constantemente. No entanto, um valor de 18,5 mN/ m, é reportado na literatura para este silicone<sup>22</sup>. Os restantes compostos obtiveram valores muito semelhantes entre si (26 – 27 mN/m), à exceção do composto comercial Sil.05 que apresentou o menor valor (17,980 mN/m). É referido na literatura que os silicones apresentam uma média de 19,9 mN/ m para a tensão superficial<sup>67</sup>, o que vai de encontro ao obtido. Ainda assim, o maior valor corresponde ao produto **4c** com 27,919±0,007 mN/m, e o menor ao **5c** com 26,154±0,094 mN/ m. Deste modo, é conferido ao Sil.05 e ao D5 o melhor espalhamento, seguido do produto **5c** e, com a pior capacidade de espalhar, o produto **4c** antecedido pelo Cetiol® CC.

Apesar de valores baixos de tensão superficial estarem atribuídos a melhores propriedades de espalhamento, é crucial a existência de uma boa afinidade para superfícies polares como a pele (baixa tensão interfacial). Os silicones e óleos de silicones, por exibirem um comportamento anfífilico apresentam uma alta espalhabilidade, mas segundo a literatura, alternativas aos silicones baseadas em ésteres adquirem um melhor e fácil espalhamento na superfície da pele, devido à sua semelhança com os lípidos da epiderme<sup>7</sup>.

#### ▪ **Densidade**

A medição da densidade ( $\rho$ ) é uma das propriedades físicas mais importantes aquando a caracterização de novos compostos, pelo que o valor da densidade da água (0,997 g/cm<sup>3</sup>) foi utilizado como referência<sup>58</sup>. Comparando com a densidade da mesma, todos os compostos apresentaram valores

de densidade inferiores, espectáveis atendendo à aplicação desejada. As densidades dos compostos produzidos variaram entre 0,843 e 0,866 g/cm<sup>3</sup>, valores correspondentes ao composto **4b** e **4c**, respetivamente. De todas as amostras, o D5 foi o mais denso, com um valor de 0,944 g/cm<sup>3</sup>.

Segundo a literatura os valores de densidade podem ser influenciados não só pela composição de ácidos gordos, mas também pela pureza do composto. É então referido que a densidade aumenta com a diminuição do comprimento da cadeia (Figura 33), e pode ser alterada na presença de contaminantes de baixa densidade, como o metanol<sup>64</sup>.



**Figura 33.** Relação entre a densidade e o comprimento da cadeia carbonada.

Neste estudo, a afirmação encontrada na literatura é consistente com o observado para a maior parte dos compostos produzidos, à exceção do produto **4c**. Uma vez que a ordem crescente de cadeia, segundo o ácido, é HEP – OCT – DEC, era expectável que a densidade para os produtos com o álcool 1-Hep fosse correspondente, porém a ordem obtida foi **4c** < **4a** < **4b**. É possível que o produto **4c** se encontre na presença de contaminantes, levando à alteração da densidade. Os valores obtidos para o álcool 1-Dec foram de encontro ao esperado, nomeadamente **5a** < **5b** < **5c**. Na literatura estão disponíveis os valores da densidade para os silicones comerciais D5 e Sil.05, nomeadamente de 0,958 e 0,913 g/cm<sup>3</sup>, valores semelhantes aos obtidos.

Na Tabela 13 são apresentados outros valores de técnicas de caracterização complementares, nomeadamente os valores de refratividade ( $n_D$ ), da propagação (área de espalhamento em mm<sup>2</sup>/10 min.), do coeficiente de partição ( $\log P$ ) e da energia de transição molar.

**Tabela 13.** Valores do índice de refração, propagação,  $\log P$  e energia de transição molar obtidos para cada composto

Composto	Índice de refração ( $n_D$ )	Propagação (mm <sup>2</sup> /10min.)	$\log P$	Energia de transição molar (kcal mol <sup>-1</sup> ) ( $\lambda$ , nm)
Cetiol® CC	1,43416	143	7,06	55,1950 (518)
Ciclopentasiloxano	1,39601	- <sup>b</sup>	4,86	58,4683 (489)
Óleo de silicone 5 cSt	1,39605	1791	- <sup>c</sup>	58,3490 (490)
<b>4a</b>	1,42320	151	5,77	54,3555 (526)
<b>4b</b>	1,43094	134	6,28	71,2993 (401)
<b>4c</b>	1,43142	86	7,29	53,9453 (530)
<b>5a</b>	1,43287	112	7,29	54,2524 (527)
<b>5b</b>	1,42930	64	7,79	54,3555 (526)
<b>5c</b>	1,43267	71	8,59	54,9827 (520)

<sup>a</sup>Valores teóricos calculados segundo <https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>; <sup>b</sup>Composto volátil à temperatura ambiente; <sup>c</sup>O número de repetições do polímero não é fornecido pelo comerciante.

#### ▪ Índice de refração

O índice de refração ( $n_D$ ) foi medido para todas as amostras a 25°C, observando-se para todos os compostos um índice superior ao da água ( $n_D = 1,333$ )<sup>58</sup>. Estes valores encontram-se correlacionados com o brilho adquirido pela superfície da pele ou do cabelo, pelo que um maior valor de refratividade está associado a uma aparência mais brilhante<sup>7</sup>. Na literatura é disponibilizado o valor de refração do composto Cetiol® CC, correspondente a 1,436  $n_D$ , valor idêntico ao obtido<sup>65</sup>. Da mesma forma, é referido um valor de 1,396  $n_D$  e 1,403  $n_D$  para o silicone D5 e Sil.05, respetivamente, também de acordo ao obtido durante o ensaio<sup>68, 69</sup>. Todas as potenciais alternativas de silicones apresentam valores de refratividade muito semelhantes entre si, e também à alternativa de silicone já existente no mercado (Cetiol® CC). Os silicones comerciais D5 e Sil.05, apresentaram valores praticamente iguais, abaixo dos obtidos para as alternativas de silicones. Entre as amostras produzidas, a **5a** apresentou o maior valor (1,43287  $n_D$ ) e, por outro lado a amostra **4a** com a menor refratividade (1,42320  $n_D$ ).

### ▪ Propagação

Como referido anteriormente, é expectável que um fluido se movimente mais lentamente quanto maior for a sua viscosidade, pelo que menor será a sua área de propagação. Os valores da distância a que se propagam os compostos, também conhecido como área de espalhamento, foram calculados através da área percorrida ao final de 10 min ( $\text{mm}^2/10\text{min.}$ ).

Devido à volatilidade do composto ciclopentasiloxano (D5) à temperatura ambiente, foi impossível obter uma medição da propagação, não sendo referido qualquer valor para este ensaio, na ficha técnica do composto. O valor obtido para o Cetiol® CC foi bastante distinto do referenciado, nomeadamente de 143 e 1600  $\text{mm}^2/10\text{min}^{65}$ . Contudo, na literatura não são mencionadas as condições de medição, pelo que podem ser bastante distintas das efetuadas. Globalmente, o composto Sil.05 foi o que apresentou uma maior área de espalhamento (1791  $\text{mm}^2/10\text{min.}$ ). As alternativas **4a** e **4b** atingiram a área mais semelhante ao Cetiol® CC, sendo que a menor área correspondeu à alternativa **5b** (64  $\text{mm}^2/10\text{min.}$ ). Era esperado que a área de propagação fosse inversamente proporcional à viscosidade, o que não foi observado com tanta linearidade. De acordo com os valores obtidos para a viscosidade, o Cetiol® CC devia atingir a menor área de propagação, o que não se verificou. No entanto, é importante referir que houve um decaimento da área de espalhamento consoante o aumento da cadeia carbonada para o álcool 1-Hep, correspondente com a viscosidade obtida e conforme o pressuposto. Para além disso, é referido que para uma dada viscosidade, quanto menor a tensão superficial, maior o comportamento de propagação<sup>67</sup>. Assim, ao comparar o Sil.05 ( $\sigma=17,980$ ) com os produtos **5a** ( $\sigma=26,191$ ) e **5b** ( $\sigma=27,275$ ), todos com a mesma viscosidade, a área de propagação vai de encontro ao pressuposto, nomeadamente, Sil.05 >**5a** >**5b**.

A discrepância entre as áreas obtidas pode ser explicada devido à diferença estrutural entre os ésteres, ou seja, é reportado na literatura que diferentes ésteres com viscosidade reduzida, como é o caso, podem apresentar um comportamento específico quanto ao espalhamento. Apesar de a viscosidade ser um fator preponderante na área de propagação, existem outros que devem ser considerados, especificamente, a densidade, a tensão superficial, assim como a própria estrutura química<sup>67</sup>.

▪ ***log P***

O coeficiente de partição octanol-água indica o carácter hidrofílico ou hidrofóbico de uma molécula, através da sua divisão entre uma fase aquosa e orgânica. É esperado que um composto hidrofílico apresente um *log P* menor (*log P* = -3), contrariamente a um composto hidrofóbico, cujo *log P* será elevado<sup>70</sup> (*log P* = 7).

O maior valor obtido corresponde ao produto **5c** com 8,59 e o menor ao silicone ciclopentasiloxano com 4,85. Segundo a literatura o *log P* experimental deste silicone é igual a 5,2<sup>22</sup>, valor semelhante ao obtido. De entre todos os compostos produzidos, os valores obtidos através do *software* molinspiration foram muito semelhantes, entre 5 e 7. Era esperado que os valores aumentassem conforme o aumento da cadeia (aumento da hidrofobicidade), o que foi de encontro aos valores obtidos. O composto **4a** apresentou o valor mais baixo (5,77) e o **5c** o mais alto (8,59).

A simulação do *log P* para o composto comercial óleo de silicone 5 cSt não foi possível, uma vez que este composto é um polímero, cujo número de repetições não é fornecido pelo comerciante. Apesar do ensaio ter sido realizado experimentalmente, a dificuldade de medir diretamente a concentração do composto devido à alta facilidade de formação de emulsões ou micelas<sup>70</sup>, não o tornou admissível. O coeficiente octanol-água obtido experimentalmente também não se revelou credível, devido à necessidade de liofilizar a amostra durante o ensaio, pelo que parte dela pode ter sido perdida neste processo, e como tal, não seria possível confirmar a veracidade dos valores. O *log P* também pode ser obtido através da técnica de HPLC<sup>71</sup>, no entanto, devido à escassez de tempo e à elevada taxa de utilização do equipamento, não foi possível a sua realização.

▪ **Polaridade**

A polaridade pode ser designada como a capacidade que um solvente apresenta na dissolução de compostos polares ou não polares<sup>58, 72</sup>. Neste método, a avaliação da polaridade dos compostos sintetizados foi efetuada através dos valores da energia de transição molar obtidos, na presença do corante *Nile Red*<sup>2</sup>. Assim, foram considerados como referência os valores de energia de transição molar da água (50,9644 kcal mol<sup>-1</sup>) e do etanol (55,4089 kcal mol<sup>-1</sup>), para moléculas polares e menos polares, respetivamente, confirmando que quanto maior a energia menos polar é o composto<sup>58</sup>.

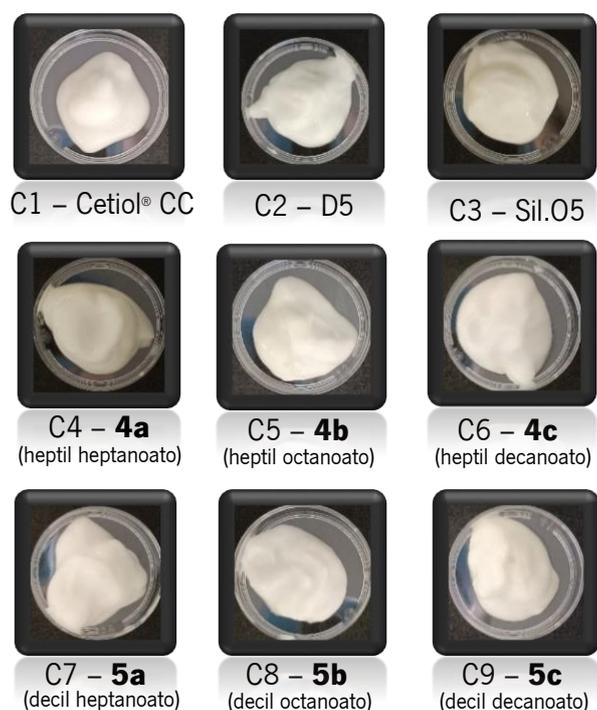
À exceção do produto **4b** e dos compostos comerciais, todos os restantes obtiveram energias entre os valores da água e do etanol. Dos resultados obtidos podemos inferir que o **4b** é o menos polar

(71,2993 kcal mol<sup>-1</sup>), seguido dos compostos comerciais D5 (58,4683 kcal mol<sup>-1</sup>) e Sil.O5 (58,3490 kcal mol<sup>-1</sup>), cujos valores obtidos foram superiores ao do etanol. Entre os valores de referência, o composto Cetiol® CC (55,1950 kcal mol<sup>-1</sup>) foi o menos polar, seguido do produto **5c** com energia de transição molar de 54,9827 kcal mol<sup>-1</sup>, **4a** e **5b** com o mesmo valor de energia (54,3555 kcal mol<sup>-1</sup>), **5a** (54,2524 kcal mol<sup>-1</sup>) e o mais polar **4c** (53,9453 kcal mol<sup>-1</sup>).

Este parâmetro pode influenciar e ser influenciado pelos restantes, afetando diferentes propriedades das formulações cosméticas, nomeadamente, o espalhamento, a permeabilidade e hidratação da pele, a estabilidade e ainda o modo como os pigmentos são dispersos<sup>73</sup>.

### 3.4 Propriedades das formulações cosméticas

Após completa caracterização dos compostos sintetizados, foi possível observar que os 6 produtos demonstraram propriedades físico-químicas semelhantes à alternativa de silicones comercial (Cetiol® CC) e aos silicones (D5 e Sil.O5). Os ésteres (**4a** – **5c**) foram incorporados numa formulação cosmética comercial, e as propriedades destas foram avaliadas desde a sua formação até a um máximo de 6 meses. A sua caracterização visa garantir que estes apresentam segurança e qualidade para quem os utiliza. Na Figura 34 são apresentadas as fotos do aspeto visual dos cremes formulados.



**Figura 34.** Aspeto visual de cada creme produzido.

**a) Propriedades organoléticas**

A caracterização das propriedades organoléticas consistiu na avaliação de quatro parâmetros, nomeadamente: a cor, o odor, o aspeto e a separação de fases. A sua análise constitui a indicação mais acessível para a avaliação da qualidade e estabilidade de uma formulação cosmética ao longo do tempo, de forma a detetar possíveis alterações. O exame visual reflete a homogeneidade e uniformidade da formulação, pelo que a cor e o odor, também representam indicadores seguros, elucidando quanto ao estado de conservação do creme.

Neste trabalho, a medição destas propriedades foi exercida ao longo de 6 meses iniciando a sua medição em t0 e terminando em t6 (Tabela 14).

**Tabela 14.** Propriedades organoléticas dos cremes após formulação e passados 6 meses

Creme	Cor				Odor				Aspeto			
		4°C	TA	37°C		4°C	TA	37°C		4°C	TA	37°C
	t0	t6	t6	t6	t0	t6	t6	t6	t0	t6	t6	t6
<b>C1</b>	B	B	B	B+	C	C	C	C-	H	H	H	H
<b>C2</b>	B	B	B	B+	C	C	C	C-	H	H	H	H
<b>C3</b>	B	B	B	B+	C	C	C	C-	H	H	H	H
<b>C4</b>	B	B	B	B+	C	C	C-	SO	H	H	H	H
<b>C5</b>	B	B	B	B+	C	C	C-	C-	H	H	H	H
<b>C6</b>	B	B	B	B+	C	C	C	C-	H	H	H	H
<b>C7</b>	B	B	B	B+	C	C	C	C-	H	H	H	H
<b>C8</b>	B	B	B	B+	C	C	C	SO	H	H	H	H
<b>C9</b>	B	B	B	B+	C	C	C-	C-	H	H	H	H

**Legenda:** B: Branco; B+:Branco amarelado; C: Conforme o C1; C-: Odor suave; SO: Sem odor; H: Aspeto homogéneo.

Todas as formulações cosméticas após a produção apresentaram uma cor branca e um odor intenso e agradável. O aspeto era homogéneo e foi verificado que não havia separação de fases, através do teste de centrifugação. Após a avaliação pós-produção (t0), uma porção igual de cada creme foi colocada a 4°C, à temperatura ambiente (22°C) e a 37°C.

A cor dos cremes manteve-se inalterada (branco) para a temperatura inferior (4°C) e amena (TA), ao contrário dos expostos a uma temperatura mais elevada (37°C), alterando a sua coloração para branco-amarelado. Esta alteração foi visível ao fim de 1 mês no referido ciclo de temperatura, iniciando-se por uma cor mais ténue, que ao longo do tempo foi intensificando para branco-amarelado. Na Figura 35 é apresentada uma fotografia com a respetiva cor final do creme C1, após 6 meses da sua formulação, no ciclo de temperaturas mencionadas. No geral, a alteração de cor pode ser considerada como insignificante, visto que a uma temperatura superior pequenas alterações são aceitáveis<sup>74</sup>.



**Figura 35.** Cor da formulação cosmética C1 ao fim de 6 meses, consoante o ciclo de temperatura.

Relativamente ao odor, os cremes expostos a uma temperatura de 4°C permaneceram com o odor inicial, intenso e agradável. Para as formulações em TA, ao terceiro mês (t3) houve uma diminuição da intensidade do odor inicial, nos cremes C4, C5 e C9. O odor suave manteve-se até ao final da avaliação, nos cremes referidos, sendo que os restantes conservaram a intensidade inicial da fragância. A uma temperatura de 37°C, de forma semelhante, em t3 as formulações C4, C5, C8 e C9 revelaram uma diminuição de odor que se manteve no mês seguinte. Na última avaliação olfativa, apesar de todos os cremes apresentarem um odor suave e agradável, o odor dos cremes C4 e C8 tornou-se impercetível. Segundo as diretrizes para testes de estabilidade de produtos cosméticos<sup>75</sup>, as fragrâncias são mais propensas a interagir com o produto, pelo que é aconselhável testar diferentes variações de fragrâncias.

O aspeto geral de todas as formulações cosméticas permaneceu idêntico desde o início até ao final da avaliação, pelo que a homogeneidade dos cremes foi regular em todos os ciclos de temperatura. A sua aparência era muito consistente, assemelhando-se a um gel-creme. Ao longo da avaliação visual,

também não foi observada qualquer separação de fases, sendo a integridade dos cremes constante e estável.

Em comparação com os cremes de controlo (C1, C2 e C3), os factos indicam que os compostos produzidos não alteram a estabilidade das formulações cosméticas, no entanto alguns compostos (**4a**, **4b**, **5b** e **5c**) podem reduzir a intensidade da fragância inserida no creme.

## **b) pH**

A medição do pH é um ensaio de elevada importância, uma vez que as formulações não devem perturbar o pH natural da pele ( $\cong 5,0$ ). O pH das formulações foi medido após a produção de cada creme ( $t_0$ ) e, de seguida, cada amostra foi colocada no respetivo ciclo de temperatura e avaliada mensalmente. Na Tabela 15 são apresentados os valores obtidos em todos os ciclos de temperatura após produção, e ao fim de 6 meses à TA, 4°C e 37°C.

Ao longo do ensaio não foram observadas alterações significativas na mudança de pH, pelo que no geral, todas as formulações cosméticas apresentaram valores entre 5,4 – 5,6. Para todas as amostras, as variações sentidas foram na ordem das décimas (0,10 – 0,20), para os diferentes ciclos de temperatura. À TA a maior parte dos produtos manteve o valor inicial, havendo em poucos casos (C4, C5 e C6) uma mínima descida de pH, ao fim dos 6 meses ( $t_6$ ). Para o ciclo de temperatura de 4°C, comparativamente à TA, houve um ligeiro aumento nos resultados obtidos para a maioria dos cremes, com exceção das formulações C7, C8 e C9, cujos valores permaneceram idênticos. Contrariamente, a uma temperatura de 37°C, verificou-se uma pequena diminuição para todos os cremes, à exceção do creme C8, que em toda a sua avaliação os valores permaneceram constantes.

Assim, a incorporação dos ésteres sintetizados não influencia o valor de pH, observando-se em todas as amostras, valores semelhantes aos cremes controlo (C1, C2 e C3).

**Tabela 15.** Valores de pH dos cremes após formulação e passados 6 meses

Creme	pH			
		4°C	TA	37°C
	t0	t6	t6	t6
<b>C1</b> – Cetiol® CC	5,4	5,5	5,4	5,3
<b>C2</b> – D5	5,6	5,7	5,6	5,5
<b>C3</b> – Sil.O5	5,5	5,6	5,5	5,4
<b>C4</b> – 4a (heptil heptanoato)	5,6	5,6	5,5	5,4
<b>C5</b> – 4b (heptil octanoato)	5,5	5,5	5,4	5,4
<b>C6</b> – 4c (heptil decanoato)	5,6	5,6	5,5	5,4
<b>C7</b> – 5a (decil heptanoato)	5,5	5,5	5,5	5,4
<b>C8</b> – 5b (decil octanoato)	5,4	5,4	5,4	5,4
<b>C9</b> – 5c (decil decanoato)	5,5	5,5	5,5	5,4

### c) Viscosidade

A viscosidade, como referido anteriormente, é um parâmetro que reflete a medida da resistência de um fluido ao escoamento, pelo que quanto mais viscoso, maior será a quantidade de energia requerida para produzir um fluxo pretendido<sup>76</sup>. Este teste foi efetuado em dois períodos, nomeadamente após 1 mês (t1) da sua produção e passados 6 meses (t6), apresentando-se na Tabela 16 os resultados obtidos. A sua avaliação em t0 não foi possível, uma vez que o equipamento necessário à realização do ensaio não se encontrava disponível.

Numa fase inicial, para os ensaios à TA, à exceção do creme C9 que apresentou uma viscosidade de 81 670 mPa.s, todos os restantes obtiveram valores entre os 55 000 – 70 000 mPa.s. Apesar de os valores obtidos se encontrarem acima do referido na receita original (30 000 – 50 000 mPa.s), o desvio apresentado entre ambos os limites, é de 20 000 mPa.s. Ademais, não é referido o valor do torque utilizado, nem a tipologia do aparelho, e como tal, a aplicação de parâmetros distintos leva, consequentemente, a diferentes valores de viscosidade.

Passados 6 meses, a maioria dos valores permaneceu constante com pequenas diferenças ( $\pm 20\,000$  mPa.s), excluindo os cremes C1 e C9 cujos valores diminuíram. Para o creme C1 esta

diferença foi bastante significativa, com uma diferença de 58 000 mPa.s. Para um ciclo de temperatura inferior (4°C), todos os valores de viscosidade diminuíram de forma idêntica, atingindo os 10 000 mPa.s, sendo que o creme C1 atingiu o menor valor (3 794 mPa.s) e o C3 o maior (20 505 mPa.s). A 37°C, mais uma vez, a maioria dos valores permaneceram constantes aos atingidos à TA para o mesmo mês de avaliação, sendo que o C1, C4 e C8, aumentaram a sua viscosidade. Segundo a literatura, a viscosidade pode aumentar com o aumento da temperatura, uma vez que as formulações cosméticas são constituídas por diversos ingredientes voláteis, possíveis de evaporar com temperaturas elevadas (água, fragâncias, óleos e emulsificantes)<sup>77</sup>, tal como observado.

De acordo com os resultados obtidos, a incorporação dos ésteres não influencia a viscosidade dos cremes, uma vez que não aparenta haver uma relação entre ambos. Assim, foi possível observar que os cremes desenvolvidos com as alternativas de silicones produzidas neste estudo, apresentam um comportamento semelhante aos cremes controlo (silicones e alternativa comercial).

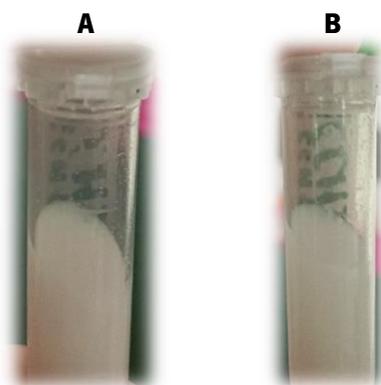
**Tabela 16.** Viscosidades dos cremes após 1 mês e 6 meses da sua formulação

Creme	Viscosidade (mPa.s)			
		4°C	TA	37°C
	t1	t6	t6	t6
<b>C1</b> – Cetiol® CC	68 253	3 794	10 428	54 056
<b>C2</b> – D5	58 670	9 428	70 792	82 021
<b>C3</b> – Sil.05	56 931	20 505	62 733	82 023
<b>C4</b> – 4a (heptil heptanoato)	53 665	11 684	58 587	94 259
<b>C5</b> – 4b (heptil octanoato)	67 570	10 253	57 750	58 754
<b>C6</b> – 4c (heptil decanoato)	70 109	10 251	58 754	40 366
<b>C7</b> – 5a (decil heptanoato)	55 306	9 113	60 595	41 421
<b>C8</b> – 5b (decil octanoato)	54 681	10 936	40 894	74 458
<b>C9</b> – 5c (decil decanoato)	81 670	10 921	55 696	72 754

**d) Estabilidade acelerada e em ciclos de temperatura extrema**

Numa primeira fase, testes de estabilidade acelerada foram efetuados, pois permitem uma previsão da estabilidade de um creme num curto período de tempo, recorrendo a forças rotacionais bruscas às quais as amostras são sujeitas. Através deste ensaio podemos avaliar a integridade (“vida útil” num ambiente de comercialização) do produto sob condições normais de armazenamento<sup>75</sup> à temperatura ambiente.

O teste acelerado foi avaliado em dois momentos, após a formulação do creme e passados 3 meses. Em ambos os momentos, foi possível observar que nenhum dos cremes apresentou separação de fases, ou aspeto irregular na sua constituição. A avaliação estética (cor, aspeto e odor) estava também de acordo com os resultados iniciais (Figura 36 **A**).



**Figura 36.** Aspeto visual dos cremes após o teste de estabilidade acelerada (**A**) e após o teste de estabilidade em ciclos de temperatura extrema (**B**).

Numa fase posterior, foram realizados testes de estabilidade recorrendo a ciclos de temperatura extrema, de forma a mimetizar as condições de temperatura e pressão extremas durante o transporte e armazenamento. Os ensaios de “congelamento-descongelamento” permitem revelar a instabilidade dos produtos de forma mais rápida do que o armazenamento a uma temperatura constante. Deste modo é possível detetar se existem problemas como a tendência para cristalizar ou turvar, o enrugamento ou perda de rótulos e rachaduras na embalagem<sup>75</sup>.

As amostras foram então submetidas a 3 ciclos de temperatura extrema e avaliadas visualmente, seguindo-se um teste de centrifugação. Todos os cremes se mantiveram homogêneos ao longo dos ciclos, pelo que a cor e o odor, foram preservados em todas as formulações cosméticas testadas. Após o teste

de centrifugação surgiu, em todas as amostras, uma quantidade de líquido quase impercetível (Figura 36 **B**), e como tal, considerada insignificante nos resultados. Deste modo, as amostras foram tidas como estáveis e sem separação de fases.

Os resultados de ambos os testes indicam que as formulações baseadas nos ésteres sintetizados não influenciam a estabilidade, assim como as características das formulações cosméticas, sendo consideradas estáveis e uniformes.

### **e) DLS**

O Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS) foi avaliado através da medição do tamanho da partícula, da carga superficial e do índice de polidispersividade das formulações cosméticas. Para que os cremes possam ser aplicados topicamente, as formulações cosméticas devem apresentar os parâmetros de partícula adequados, sendo que a maioria das formulações comerciais apresentam um tamanho de partícula que varia entre 200 nm a 100 000 nm<sup>78</sup>. Partículas com dimensões dentro desta escala revelam benefícios para a estabilidade dos produtos, no entanto, se o limite for ultrapassado a estabilidade será menos eficiente<sup>79</sup>.

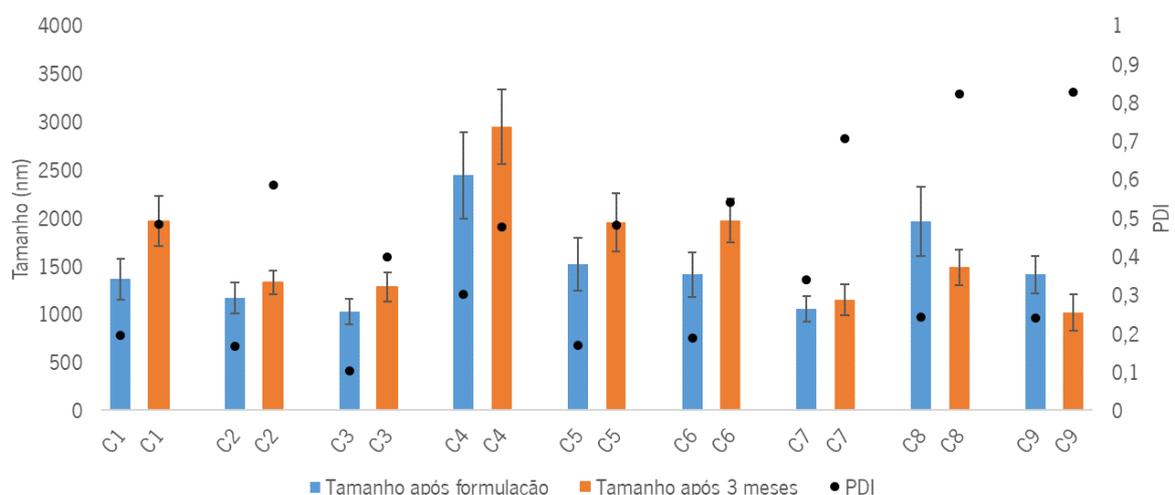
No Gráfico 2, são apresentados os valores do tamanho das partículas e da PDI para todos os cremes, após a sua formulação e passados 3 meses. A medição do tamanho de partícula é efetuada para perceber se um fenómeno de floculação e coalescência pode ocorrer durante a vida do produto, sendo que a probabilidade de acontecimento dos fenómenos é maior consoante o tamanho da partícula<sup>80</sup>.

O tamanho das partículas dos cremes controlo que continham os silicones (C2 e C3) revelaram uma variação mínima entre os 1026 – 1330 nm, assim como o creme C7, apresentando valores constantes. Para o creme controlo C1, os resultados foram aumentando gradualmente ao longo dos meses, à semelhança das formulações C4, C5 e C6, e contrariamente aos restantes (C8 e C9) que sofreram uma diminuição de tamanho.

Ao fim dos 3 meses de avaliação, o creme C4 foi o que apresentou maior tamanho, com 2949 nm, e contrariamente, o C9 com 1017 nm. A relação entre o tamanho de partícula e o tamanho da cadeia do éster incorporado não foi assim tão linear. Apenas foi possível deduzir que os cremes formulados com os ésteres cujo álcool 1-heptanol foi utilizado como reagente de partida, revelaram um tamanho de partícula superior (1955 – 2949 nm), em comparação com os sintetizados com o álcool 1-

decanol (1017 – 1486 nm). Sendo assim, a probabilidade de ocorrerem agregações entre as partículas do creme C4 é mais elevada do que no creme C9. Contudo, todos os cremes produzidos apresentaram tamanhos adequados face aos limites apresentados para a maioria das formulações comerciais.

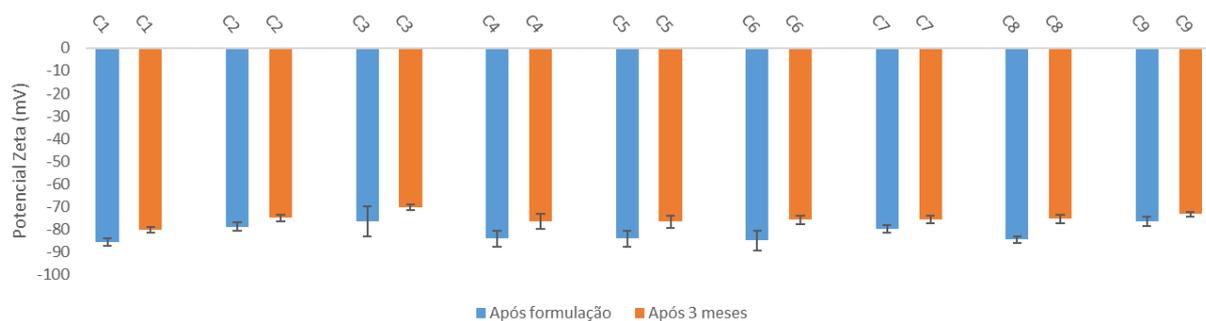
A determinação do índice de polidispersividade (PDI) indica a distribuição do tamanho de partícula nas formulações cosméticas, pelo que a sua medição foi efetuada simultaneamente ao tamanho de partícula. Os valores de PDI definem a homogeneidade das formulações, em que 0 corresponde à elevada homogeneidade, e 1 à elevada heterogeneidade. Inicialmente, a PDI das amostras encontrava-se entre 0,1 e 0,3, sendo que no final da avaliação (3 meses) os valores subiram maioritariamente para os 0,5, à exceção dos cremes C7, C8 e C9 cuja PDI atingiu os 0,7–0,8. A grande parte das amostras revelou uma homogeneidade moderada e aceitável, de acordo com a aplicação tópica. Os cremes com alta PDI demonstraram partículas heterogêneas com diversidade de tamanhos, pelo que pode resultar, provavelmente, numa distribuição da formulação na superfície da pele menos uniforme.



**Gráfico 2.** Variação do tamanho e da PDI para todos os cremes, depois de formulados (a azul) e após 3 meses (a laranja). Os desvios padrão têm como base duas réplicas.

A medição da carga superficial (expressa em potencial zeta) está diretamente relacionada à repulsão eletrostática entre as partículas dispersas. Um alto valor de potencial zeta é importante para a estabilidade física e química das formulações, uma vez que as forças repulsivas tendem a evitar uma possível agregação e floculação<sup>80</sup>. No Gráfico 3 são apresentados os respetivos valores de potencial zeta

para cada creme. Todas as cargas superficiais medidas apresentaram valores semelhantes e uniformes ao longo do período de avaliação, nomeadamente entre -85,4 mV e -76,4 mV, e ainda -79,9 mV e -70,2 mV, valores respetivos a um período de 0 meses e 3 meses. As amostras apresentaram uma mínima redução de potencial zeta, considerada insignificante, revelando que os valores obtidos são elevados, de forma a possibilitar uma elevada estabilidade às formulações cosméticas, impedindo a agregação das partículas e consequente floculação.

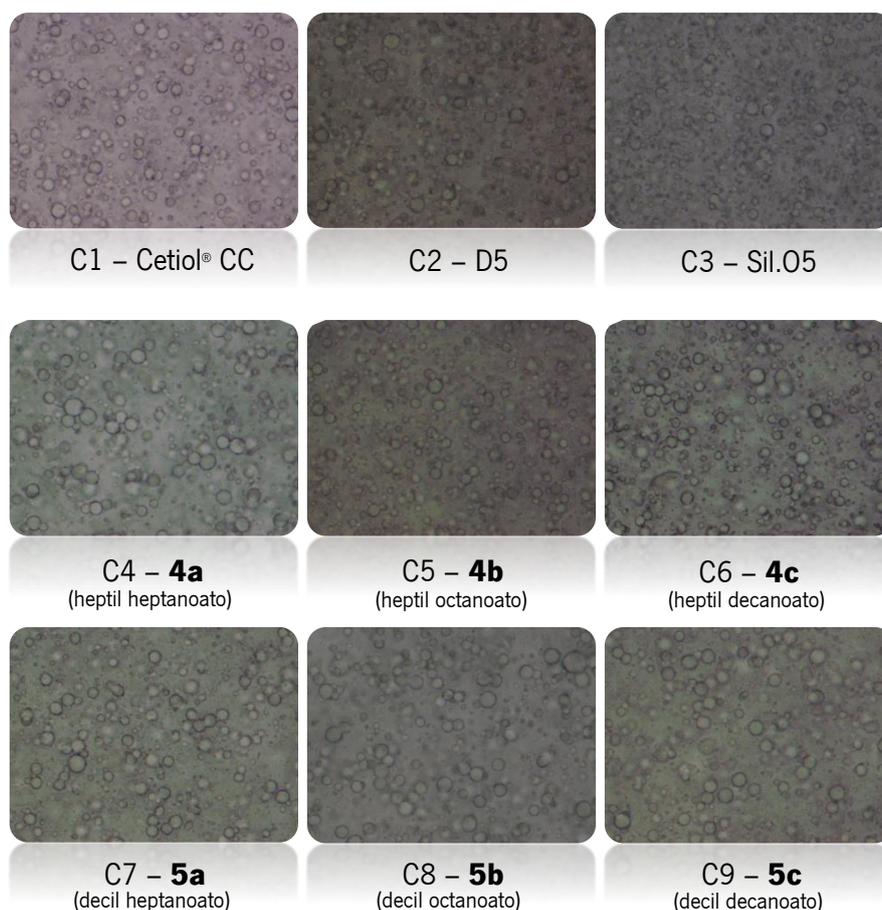


**Gráfico 3.** Variação da carga superficial para todos os cremes, depois de formulados (a azul) e após 3 meses (a laranja). Os desvios padrão têm como base duas réplicas.

#### f) Estrutura microscópica

O simples exame visual pode demonstrar a homogeneidade de uma formulação cosmética, contudo, através de uma análise microscópica este parâmetro pode ser avaliado com mais rigor, permitindo determinar a estrutura, a distribuição e o tamanho das gotículas dispersas na formulação. Assim, é demonstrado na Figura 37 uma ampliação de 40x da estrutura de cada creme formulado.

No geral, todas as fotografias capturadas apresentam estruturas com partículas distribuídas uniformemente. É possível observar que o creme C4 apresenta partículas ligeiramente maiores do que as restantes formulações, de acordo com os resultados obtidos no DLS, uma vez que apresentou o maior tamanho de partículas. Os restantes dados do DLS não podem ser confirmados uma vez que as fotografias foram captadas num único momento, coincidente com o t = 0 meses para o ensaio de DLS.



**Figura 37.** Estruturas microscópicas dos cremes produzidos, com um aumento de 40x.

Para a escala aplica-se que 20 $\mu$ m corresponde a 0,43cm, em cada imagem

### **g) Reologia**

Os ensaios reológicos permitem compreender como se deformam e fluem os materiais quando lhes é aplicada uma força externa, neste caso denominada de tensão de cisalhamento ( $\tau$ ), e segundo uma velocidade de corte ( $\gamma$ ). Ao longo do desenvolvimento e aplicação do produto, este pode sofrer modificações pelo que a caracterização das propriedades reológicas é essencial, sendo a viscosidade ( $\eta$ ) uma delas (Equação 3). Esta pode ser descrita como a resistência que um material oferece ao movimento ou fluxo, pelo que quanto maior a viscosidade, menor a velocidade com que o fluido se movimenta<sup>81</sup>.

$$\eta = \frac{\tau}{\gamma}$$

**Equação 3.** Determinação da viscosidade representada por  $\eta$  (Pa.s),  $\tau$  a tensão de cisalhamento (Pa) e a  $\gamma$  velocidade de corte ( $s^{-1}$ ).

De modo a caracterizar a viscoelasticidade de um material, são realizados estudos de oscilação, que podem ocorrer de duas formas: através de uma frequência de oscilação constante e aumentando a amplitude de deformação (teste I. Propriedades Viscoelásticas) ou mantendo a deformação constante e aumentando a frequência de oscilação (teste II. Stress Físico). Para além disso, os materiais são também submetidos a testes de fluxo (teste III. Curvas de Fluxo), para avaliação do tipo de movimento que apresentam e quantificar a resistência oferecida, elucidando sobre a viscosidade aparente de um produto.

### **I. Propriedades Viscoelásticas**

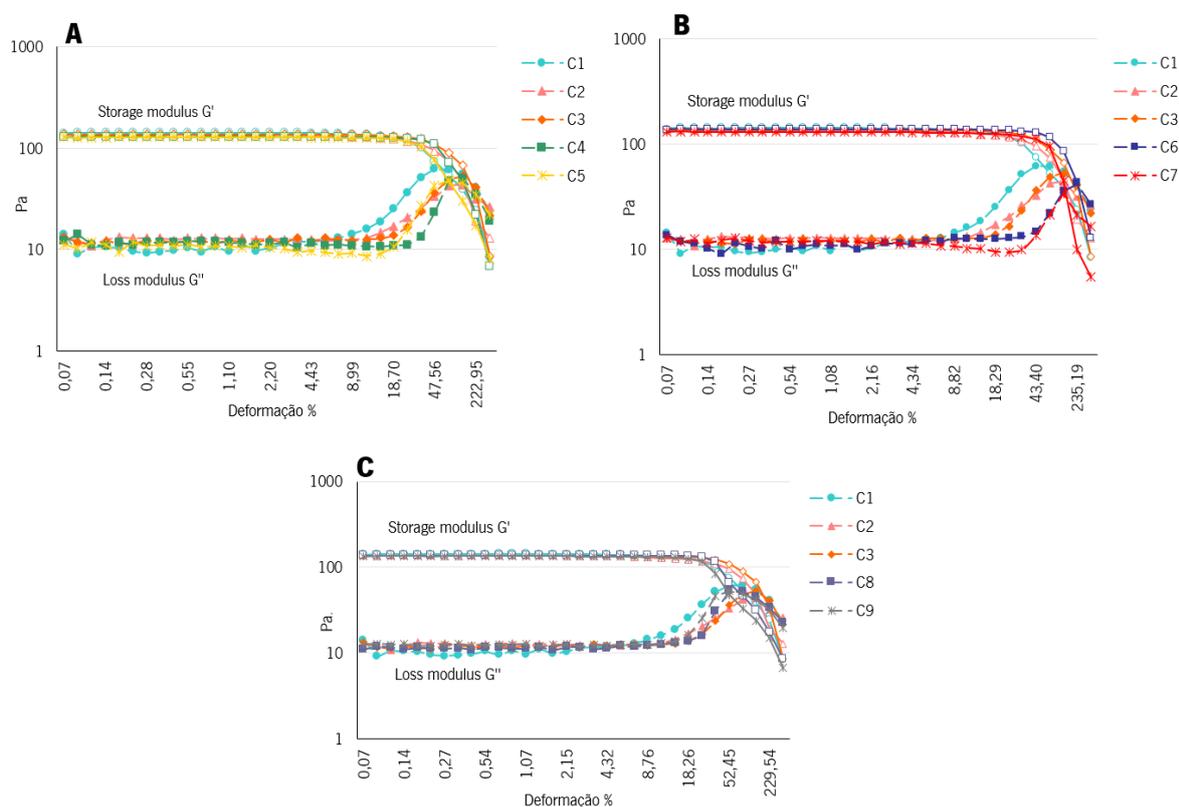
Este estudo, tal como referido, é um ensaio de oscilação caracterizado por uma frequência constante e uma amplitude variável. Nestes ensaios são exibidas duas curvas: as curvas de varredura de deformação com o componente elástico  $G'$  (*storage modulus*) e o componente viscoso  $G''$  (*loss modulus*). Os testes de amplitude visam obter informações sobre o comportamento de escoamento (elástico ou viscoso), através da observação da região linear viscoelástica (LVE)<sup>82</sup>. Esta região indica a faixa em que o teste pode ser realizado sem destruir a estrutura da amostra, pelo que numa primeira fase, é seleccionada uma faixa de tolerância para avaliação dos valores de  $G'$  e  $G''$ .

Neste estudo uma faixa de  $\pm 2\%$  de deformação foi considerada para todas as amostras. Os valores de  $G'$  representam a resistência da amostra e  $G''$  descreve a energia de deformação que é perdida durante o cisalhamento. No caso de  $G' > G''$ , a amostra revela uma estrutura semelhante a um gel ou um material sólido, denominada de material sólido viscoelástico. Se  $G'' > G'$ , a amostra apresenta uma estrutura fluida, denominada de líquido viscoelástico<sup>83</sup>.

Em todas as amostras (Figura 38) foi verificado, inicialmente, um comportamento constante de ambas as curvas na região LVE, sendo que  $G'$  domina sobre  $G''$ , predominando um comportamento elástico, pelo que os cremes podem ser considerados materiais sólidos viscoelásticos<sup>81</sup>, apresentando uma estrutura consistente. Ao ultrapassar a faixa de tolerância, a curva  $G'$  pode demonstrar dois tipos de quedas: uma quebra gradual associada a um comportamento cremoso, e uma quebra acentuada associada a um comportamento não cremoso, quebrando de forma heterogénea. A curva  $G''$  ao sair da região LVE sobe acentuadamente e, após atingir um pico máximo, volta a cair abruptamente, revelando a rutura da estrutura. Antes da subida acentuada pode haver um ligeiro decaimento, correspondente a microfaturas desenvolvidas, que com o aumento da tensão de cisalhamento, se tornam em

macrofissuras que atravessam toda a amostra. Isto é demonstrado pelo ponto de cruzamento  $G' = G''$ , que depois de excedido, atribui ao material um comportamento viscoso agora dominante ( $G'' > G'$ ), pelo que toda a amostra se torna fluida (líquido viscoelástico)<sup>83</sup>.

Todos os cremes analisados apresentaram valores próximos, sendo apenas identificadas ligeiras diferenças, pelo que a maioria dos cremes com os ésteres incorporados se assemelhou aos cremes controlo com os silicones comerciais (C2 e C3). Comparando as curvas  $G'$ , o creme C9 apresentou o decaimento mais abrupto (18,26%), e como tal, associado a um comportamento menos cremoso, quebrando a sua estrutura em partículas de diferentes dimensões. Contrariamente, o C6 tem uma queda mais gradual (43,40%), com o ponto de cruzamento mais tardio (235,19%), revelando um comportamento cremoso.



**Figura 38.** Propriedades viscoelásticas das formulações: **A** cremes controlo, C4 e C5; **B** cremes controlo, C6 e C7; **C** cremes controlo, C8 e C9.

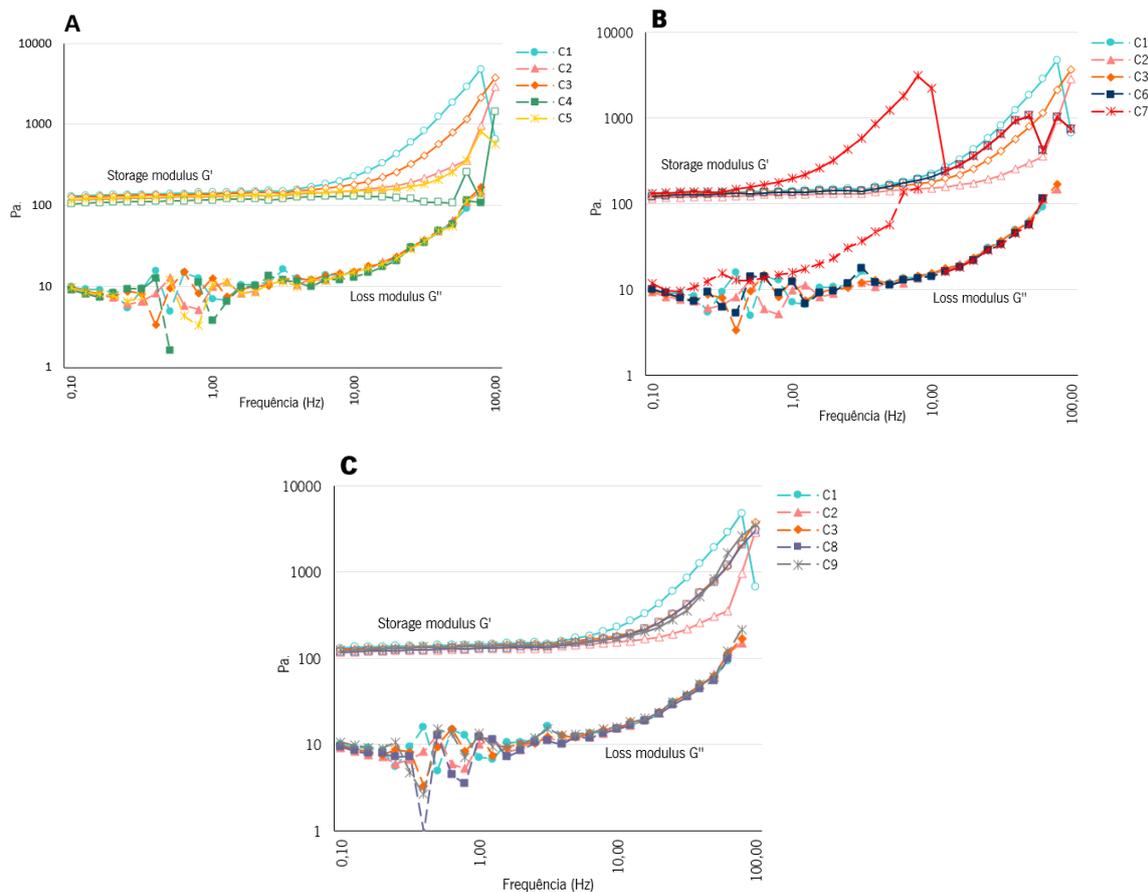
Quanto às curvas  $G''$ , o creme C1 apresenta a subida mais precoce (8,82%) sem decaimento inicial, obtendo uma boa homogeneidade e coesão, uma vez que microfissuras não foram desenvolvidas. Por outro lado, o creme C7 revelou o decaimento inicial mais profundo, indicando um maior número de

fissuras desenvolvidas. Para além disso, é importante referir que o creme C9 apresentou o ponto de cruzamento mais precoce, com apenas 52,97% de deformação atingida, sendo o menor valor de deformação necessário para atingir o ponto de rutura da estrutura. Os resultados observados encontram-se de acordo com a literatura<sup>84</sup>, uma vez que formulações cosméticas como os cremes, apresentam uma estrutura mais frágil levando a fraturas. Nestes produtos foi também observado que a porção elástica é dominante, sendo necessários níveis altos de tensão de cisalhamento para deformar os produtos do seu estado sólido viscoelástico para um estado líquido viscoelástico.

## II. Stress Físico

Tal como o teste anterior, este ensaio é também oscilatório relacionando as curvas  $G'$  e  $G''$ , sendo que a frequência exercida é agora variável e a amplitude aplicada constante (Figura 39). Estes testes fornecem informações sobre a estabilidade mecânica e a interação das estruturas internas dos produtos a longo prazo, descrevendo o comportamento das amostras numa faixa de deformação não destrutiva. Deste modo, foi necessário controlar a tensão de cisalhamento em 2% para que a medição ocorresse dentro da região LVE. Durante o ensaio, as altas frequências simulam o movimento rápido, e as baixas frequências mimetizam o movimento lento. Se os componentes apresentarem fracas interações entre si, a formulação é principalmente viscosa ( $G'' > G'$ ), caso contrário, a formulação é principalmente elástica ( $G' > G''$ ) exibindo fortes interações<sup>81</sup>.

### Capítulo 3 – Discussão de resultados



**Figura 39.** Stress físico das formulações: **A** cremes controlo, C4 e C5; **B** cremes controlo, C6 e C7; **C** cremes controlo, C8 e C9.

Com exceção do creme C7, todas as formulações obtiveram curvas  $G'$  lineares, e curvas  $G''$  semelhantes com oscilações iniciais. No entanto, todos os comportamentos obtidos encontram-se em conformidade com o ensaio anterior, visto que em toda a faixa de frequência foi verificado que  $G' > G''$ . As formulações assumem um comportamento elástico com fortes interações entre estruturas permitindo um espalhamento, adesão e uma capacidade pegajosa adequados para aplicação na pele e ainda uma boa estabilidade. Através da avaliação das curvas  $G'$ , é possível observar que a maioria dos cremes revelaram uma boa resistência da estrutura individual, sendo apenas corrompida quando atingida a frequência máxima do equipamento. O creme C4 revelou a curva linear mais longa, iniciando a sua deformação aos 50,12 Hz, sendo o mais resistente. Contrariamente, a formulação C7 apresentou a menor resistência, visto que mesmo em baixas frequências (0,50 Hz) foi a primeira formulação a ceder estruturalmente. Para frequências baixas todos os cremes sentiram oscilações nas curvas  $G''$ , pelo que o creme C1 foi o mais linear e o C8 o que apresentou a maior oscilação.

### III. Curvas de Fluxo

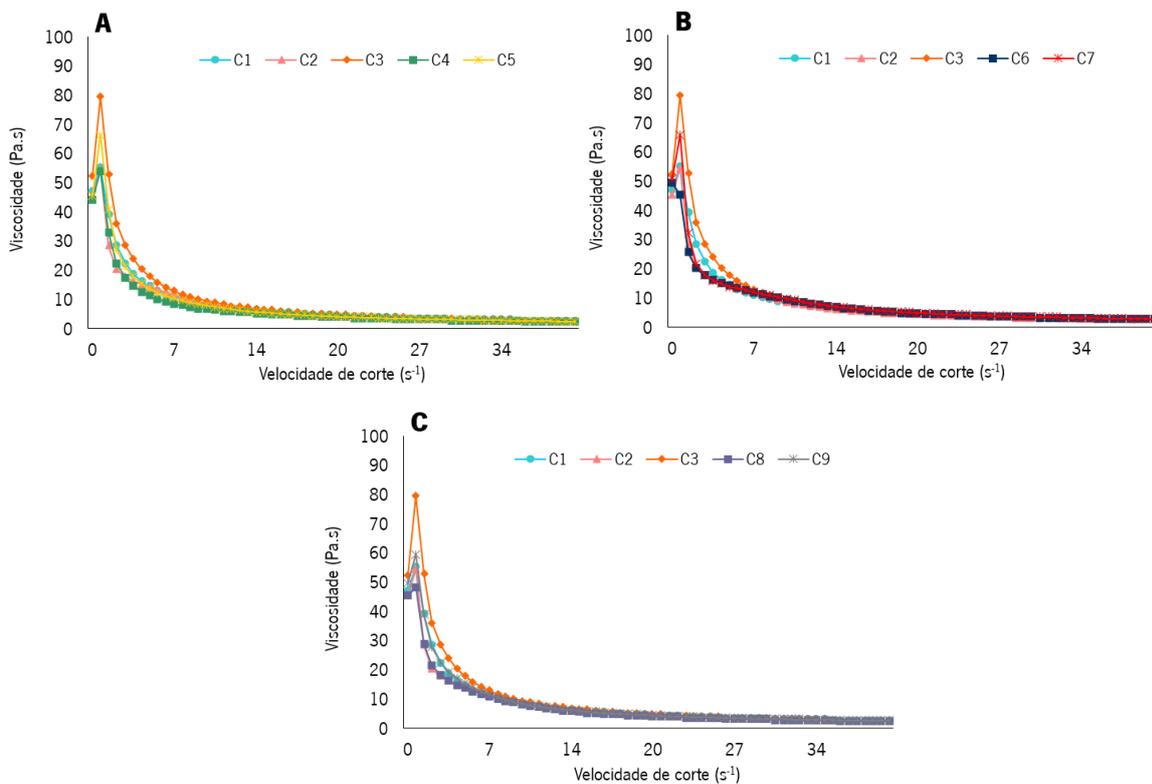
Existem diferentes respostas de fluxo, dividindo-se em dois grandes grupos: os fluidos newtonianos, onde a viscosidade permanece inalterada independente da força aplicada; e fluidos não-newtonianos, que com um aumento da força se verifica mudanças na viscosidade<sup>85</sup>. Este último pode ser subdividido em fenômenos independentes do tempo: fluxo plástico, pseudoplástico e dilatante; e em fenômenos dependentes do tempo: tixotropia e reopexia.

Os materiais plásticos exibem uma tensão de cisalhamento mínima, pelo que quando o limite de escoamento é excedido, a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento (ex: maionese). Os pseudoplásticos apresentam uma diminuição da viscosidade com o aumento da tensão de cisalhamento, sendo que assim que a tensão é removida, a viscosidade original volta a ser revertida (ex: sistemas coloidais). No fluxo dilatante verifica-se um aumento imediato da viscosidade à medida que a força é aplicada, quando removida o material volta a fluir naturalmente (ex: areia movediça)<sup>85</sup>.

Apesar de o perfil tixotrópico ter sido traçado, o perfil das amostras não foi avaliado, utilizando apenas os dados do primeiro teste (modo de taxa de cisalhamento crescente controlada), de forma a avaliar o tipo de fluxo das formulações cosméticas. Nas Figuras 40 e 41 encontram-se os gráficos com os dados referidos, a uma temperatura respetiva de 20°C e 37°C.

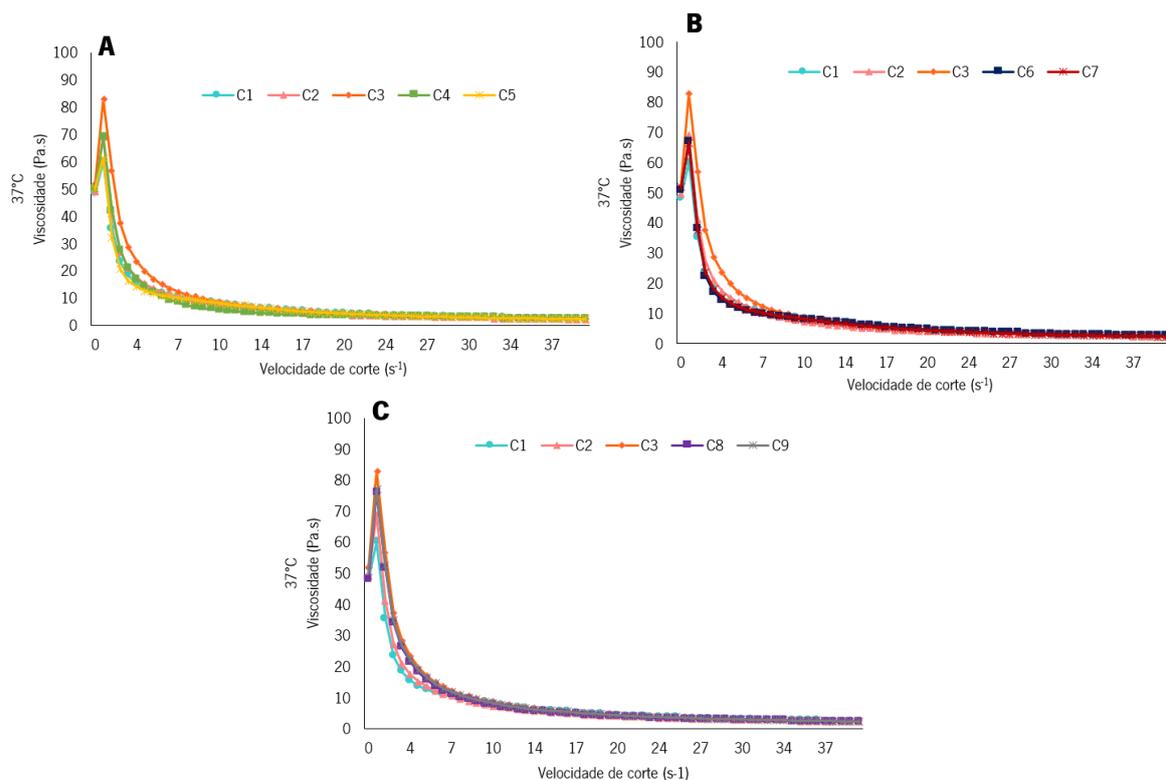
Todas as formulações cosméticas apresentaram uma diminuição da viscosidade consoante o aumento da velocidade de cisalhamento, revelando um comportamento pseudoplástico. Este carácter é o esperado num produto cosmético, tendo em conta a necessidade de um fácil espalhamento quando em contacto com a pele. Um creme com uma menor viscosidade será mais fácil de espalhar, logo menos rígido quando em fluxo. Esta característica foi apresentada pelo creme C6 com 45 Pa.s. O creme C3 revelou ser o mais resistente ao fluxo com 79 Pa.s. De acordo com os valores, foi obtida a seguinte ordem crescente de viscosidade aparente: C6 (45 Pa.s) < C8 (48 Pa.s) < C2 e C4 (54 Pa.s) < C1 (55 Pa.s) < C9 (59Pa.s) < C5 e C7 (66 Pa.s) < C3 (79 Pa.s). Deste modo, segundo os resultados obtidos, a consistência da formulação C6 aparenta ser mais fluída e menos consistente, enquanto que o C3 será mais espesso e rígido<sup>86</sup>. Contudo, devido aos resultados obtidos nos testes oscilatórios, o creme C6 e C4 podem ser percebidos como sendo comparativamente mais espessos e mais firmes devido à maior resistência ao escoamento.

### Capítulo 3 – Discussão de resultados



**Figura 40.** Viscosidade das formulações, segundo as curvas de fluxo: **A** cremes controlo, C4 e C5; **B** cremes controlo, C6 e C7; **C** cremes controlo, C8 e C9.

Os resultados obtidos para o mesmo teste efetuado a uma temperatura de 37°C foram muito semelhantes aos resultados anteriores, sendo que as alterações sentidas foram pouco significativas. Deste modo, para o intervalo de tempo em que o ensaio foi efetuado (3 min.), foi observado que o aumento de temperatura aplicado não parece influenciar as formulações em estudo.



**Figura 41.** Viscosidade das formulações a 37°C, segundo as curvas de fluxo: **A** cremes controlo, C4 e C5; **B** cremes controlo, C6 e C7; **C** cremes controlo, C8 e C9.

#### **h) Texturómetro**

O perfil de textura de cada creme foi avaliado de acordo com os seguintes testes: teste de penetração, teste de espalhamento e teste de extrusão de retorno (Tabela 17). Estas medições permitem avaliar se as formulações estudadas apresentam diferentes propriedades de textura.

No teste de penetração, a força de rutura mais elevada corresponde à amostra mais firme, e no mesmo sentido, valores mais elevados de elasticidade correspondem a uma maior adesividade, ambos indicando que é necessário uma maior energia para que a amostra seja deformada<sup>87</sup>. O teste de espalhamento representa os parâmetros da firmeza e dureza efetuada. Semelhante ao teste anterior, valores elevados significam que a formulação é menos espalhável e mais firme, requerendo um esforço maior para deformar a amostra e, contrariamente, valores mais baixos indicam uma amostra mais fácil de espalhar<sup>88</sup>.

Por último, o teste de extrusão de retorno apresenta a força máxima atingida como medida para a firmeza, cujo valor mais elevado corresponde à amostra mais firme. A consistência é expressa pela área positiva, sendo uma formulação mais consistente e espessa consoante o aumento do valor. Os valores negativos correspondem à coesão, que quando aumenta, mais coesa/pegajosa é a amostra<sup>89</sup>, e consequentemente, a resistência à distribuição na superfície da pele diminui<sup>90</sup>. A área negativa correspondente é referente ao trabalho de coesão, indicando também a adesividade através da força de coesão entre as moléculas da amostra com a superfície da pele<sup>89</sup>, que quanto maior mais forte a interação<sup>90</sup>.

**Tabela 17.** Medidas do perfil de textura de cada creme

	Teste de penetração		Teste de espalhamento		Teste de extrusão de retorno			
	Força de rutura (g)	Elasticidade (mm)	Firmeza (g)	Dureza efetuada (g.sec)	Firmeza (g)	Consistência (g.sec)	Coesão (g)	Trabalho de coesão (g.sec)
<b>C1</b> – Cetiol® CC	9,02 ± 0,88	14,99 ± 0,09	192,82 ± 0,44	179,44 ± 2,20	105,03 ± 0,34	1114,32 ± 1,20	-80,84 ± -0,44	-802,83 ± -0,43
<b>C2</b> – D5	8,03 ± 0,42	14,99 ± 0,05	171,85 ± 0,51	156,13 ± 3,58	95,94 ± 0,42	1039,75 ± 1,44	-73,24 ± -0,43	-747,54 ± -2,16
<b>C3</b> – Sil.05	8,85 ± 3,09	14,93 ± 0,31	182,62 ± 1,25	160,10 ± 2,05	100,14 ± 0,07	1074,46 ± 0,90	-77,26 ± -0,31	-765,77 ± -0,28
<b>C4</b> – 4a (heptil heptanoato)	8,10 ± 1,50	14,97 ± 0,13	161,70 ± 0,96	148,20 ± 3,07	91,47 ± 0,10	998,08 ± 0,39	-69,32 ± -1,10	-696,99 ± -0,35
<b>C5</b> – 4b (heptil octanoato)	8,84 ± 4,05	15,00 ± 0,00	174,89 ± 0,19	156,74 ± 4,88	99,80 ± 0,18	1082,40 ± 1,10	-76,84 ± -0,37	-762,53 ± -0,11
<b>C6</b> – 4c (heptil decanoato)	8,90 ± 1,43	14,95 ± 0,13	180,33 ± 0,96	168,31 ± 3,08	99,05 ± 0,34	1072,21 ± 1,16	-76,64 ± -0,51	-760,83 ± -1,02
<b>C7</b> – 5a (decil heptanoato)	7,73 ± 0,47	14,95 ± 0,09	157,21 ± 2,91	134,68 ± 0,36	87,64 ± 0,15	953,00 ± 0,84	-64,66 ± -0,24	-651,16 ± -0,59
<b>C8</b> – 5b (decil octanoato)	8,24 ± 1,47	14,96 ± 0,25	168,22 ± 0,01	141,80 ± 1,72	95,20 ± 0,27	1020,78 ± 0,58	-71,95 ± -0,50	-705,47 ± -0,01
<b>C9</b> – 5c (decil decanoato)	9,03 ± 1,62	14,97 ± 0,13	190,81 ± 2,13	172,79 ± 3,16	107,69 ± 0,05	1165,83 ± 0,17	-84,03 ± -0,30	-841,34 ± -0,74

Os valores obtidos durante as medições foram, de forma geral, idênticos entre si, no entanto, os que obtiveram os valores mínimos e máximos serão avaliados com maior detalhe. O parâmetro da elasticidade foi o mais idêntico entre as amostras, diferenciando-se na ordem das milésimas, pelo que todas as formulações apresentam igual adesividade.

A formulação C7 foi a que apresentou os menores valores em todos os testes efetuados, com uma consistência de 953 g.sec e uma força de rutura de 7,73 g. Estes valores foram concordantes com os ensaios oscilatórios, uma vez que foi o creme cuja estrutura cedeu em primeiro lugar e a uma frequência mais baixa, sendo também a menos espessa e menos pegajosa. O creme C4 apesar de apresentar uma consistência igualmente baixa (998 g.sec), exibiu uma dureza efetuada e força de rutura superior a outras formulações cuja consistência é superior. Conforme os testes oscilatórios, a resistência deste creme foi a mais elevada, e como tal demonstrou uma coesão mais fraca (mais espalhável e menos pegajoso), sendo também aquele cujo éster com menor viscosidade (2,8 mPa.s) foi incorporado. Ambos os cremes referidos apresentam um baixo trabalho de coesão o que significa que as forças internas da estrutura são fracas. De acordo com os resultados obtidos no DLS, o creme C7 encontrava-se entre as formulações com o tamanho de partícula mais pequeno, e o C4 com o mais elevado, indicando que, neste estudo, o tamanho de partícula não está relacionado com as propriedades de textura.

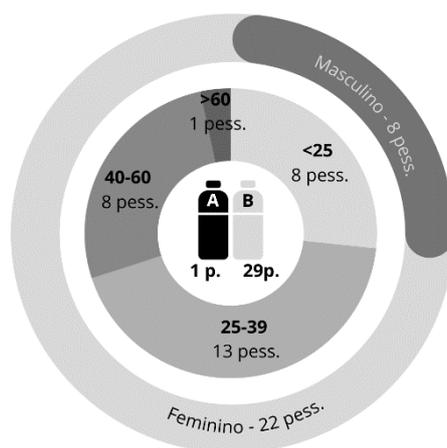
O maior valor de consistência foi atribuído à formulação C9 (1165 g.sec), assim como o maior trabalho de coesão, contudo, estes valores encontravam-se muito próximos dos obtidos para o creme C1 (1114 g.sec), sendo que este último apresenta um valor de firmeza ligeiramente superior. Ambos necessitam de uma força de rutura e dureza efetuada igual para quebrar a estrutura, sendo por este motivo considerados os mais firmes e coesos. Estes cremes (C9 e C1), são também aqueles que apresentam os compostos com a maior viscosidade (6,2 e 7,1 mPa.s, respetivamente) e de certa forma, apresentam a maior sensação pegajosa (menor espalhamento). As restantes formulações exibiram valores semelhantes entre si, pelo que a gama de viscosidade dos óleos utilizados foi também idêntica.

Segundo a literatura, o tipo de óleo utilizado na formulação pode influenciar as características da textura dos cosméticos, especialmente a sua viscosidade. Esta afirmação foi confirmada durante o estudo, uma vez que compostos com maior viscosidade deram origem a formulações mais coesas e menos espalháveis, sendo que os ésteres de viscosidade menor, deram origem a formulações de fácil espalhamento e menos espessas, sendo também mais resistentes à deformação. Além disso, é também referido que a modificação química aplicada ao componente oleoso pode levar à obtenção de formulações com características de textura diferentes<sup>90</sup>.

### i) Propriedades sensoriais

A avaliação das propriedades sensoriais desempenha um papel importante na formulação de um produto, uma vez que na indústria cosmética é essencial perceber a aceitação de um cosmético por parte do consumidor. Deste modo, com o intuito de perceber qual a preferência dos consumidores, foi elaborado um questionário baseado em 6 parâmetros sensoriais (espalhamento, absorção, sensação pegajosa, oleosidade, suavidade e hidratação) que foram avaliados por voluntários.

No esquema 6 encontra-se representado o número de voluntários que participaram no estudo de acordo com o género, idade e preferência dos cremes apresentados.



**Esquema 6.** Síntese do número de voluntários no estudo, de acordo com o género, idade e escolha do creme final.

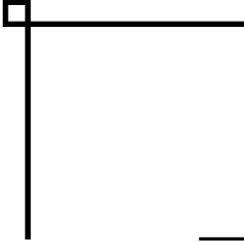
Os cremes C2 (ciclopentasiloxano), designado de A e o C4 (éster **4a**), designado de B, foram os submetidos para análise sensorial, pelo que a avaliação dos parâmetros foi medida entre 1 ponto e 4 pontos, sendo os resultados apresentados na Figura 42. A escolha do creme C2 baseou-se no facto de este incorporar na sua formulação, o silicone mais antigo e utilizado ao longo dos tempos, sendo as suas propriedades e características há muito apreciadas pelos consumidores. O creme C4 foi escolhido por apresentar resultados semelhantes ao creme C2 nos ensaios reológicos e diferenças não significativas na análise da textura. Além disso, as viscosidades dos silicones eram distintas, 4,6 mPa.s e 2,8 mPa.s correspondentes ao C2 e C4, respetivamente, de modo a perceber se este fator influencia a perceção sensorial das formulações.

Analisando os resultados da Figura 42, podemos verificar que algumas das propriedades avaliadas obtiveram a mesma classificação para os dois cremes, nomeadamente o espalhamento (4 pts), a sensação pegajosa (1 pt), a oleosidade (2 pts) e a suavidade (3 pts). Assim, ambas as formulações foram consideradas muito fáceis de espalhar, suaves, com pouca oleosidade e não eram pegajosas. Estes resultados encontram-se em conformidade ao esperado pela avaliação no texturómetro, visto que apresentaram valores mais baixos para a quantidade de energia necessária para deformar a amostra. Quanto à absorção, a classificação mais alta (4 pts) foi atribuída ao creme A, com diferença de 1 ponto para o creme B. Os voluntários consideraram que o creme A desaparecia mais rapidamente quando em contacto com a pele. Este resultado vai de encontro ao esperado, atendendo que o creme A contém ciclopentasiloxano, um silicone de absorção rápida atendendo à sua elevada volatilidade. Para a hidratação, o creme B foi mais apreciado, alcançando a pontuação máxima (4 pts), também com diferença de 1 ponto para o creme A. Assim, através dos resultados foi observado que as diferenças da viscosidade não foram significativas de modo a afetar a avaliação sensorial dos cremes.

Normalmente, as preparações cosméticas com silicones incorporados são apreciadas pelos consumidores devido ao seu ótimo espalhamento, sendo sedosas e escorregadias ao toque quando comparadas com formulações sem silicones<sup>90</sup>. Deste modo, foi elaborada uma questão final sobre a probabilidade de adquirir os produtos em questão e se os voluntários optariam por um consumismo mais ambiental aquando da sua compra. As respostas mostraram claramente a preferência pela formulação B, demonstrando preocupação com a sustentabilidade, no entanto, para uma pessoa o desempenho dos produtos foi o fator decisivo, escolhendo o creme A.



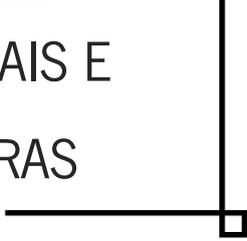
**Figura 42.** Resultados da avaliação sensorial efetuada por voluntários.



CAPÍTULO 4

---

CONSIDERAÇÕES FINAIS E  
PERSPETIVAS FUTURAS



### **Considerações finais e perspectivas futuras**

O objetivo proposto nesta dissertação visou encontrar potenciais alternativas de silicones para aplicação cosmética, tendo sido atingido. A sua incorporação numa formulação cosmética para aplicação tópica foi também efetuada, mostrando-se compatível com os ingredientes utilizados.

No capítulo 3.1, é demonstrada a biossíntese dos ésteres com recurso a lipases, pelo que a necessidade de métodos mais sustentáveis e amigos do ambiente motivou o uso destes catalisadores. Primeiramente, houve a tentativa de sintetizar diésteres (capítulo 3.1.1) através de álcoois difuncionalizados, na presença da lipase *Aspergillus oryzae* na sua forma nativa e modificada, em heptano. Após caracterização, os produtos principais das reações não foram os esperados. O aumento do número de equivalentes do ácido carboxílico não foi eficaz, pelo que estes produtos reacionais foram excluídos.

Numa fase seguinte, foram sintetizados os ésteres monofuncionalizados (capítulo 3.1.2), também nas mesmas condições. Verificado o sucesso da reação e obtenção dos produtos desejados, novas reações com diferentes enzimas foram realizadas. A lipase *Aspergillus oryzae* nativa, *Candida rugosa* e *porcine pancreas* não revelaram atividade catalítica suficiente perante os substratos testados. A lipase *Thermomyces lanuginosus* imobilizada em Immobead 150 apresentou valores de conversão semelhantes aos da lipase modificada, no entanto, atendendo ao seu preço e à impossibilidade de reutilização, o método mais eficiente foi a catálise enzimática com a lipase de *Aspergillus oryzae* modificada. Quanto à presença e ausência de solvente, perante a mínima diferença de rendimento, um processo livre de solvente foi eficaz, mais económico e verde.

A caracterização de cada composto por  $^1\text{H}$  RMN, espectrometria de massa de alta resolução e FTIR (capítulo 3.2), demonstraram o sucesso na síntese das estruturas hidrofóbicas. A análise termogravimétrica revelou um alto perfil de estabilidade térmica de todos os ésteres produzidos, com uma temperatura de decomposição superior a  $275^\circ\text{C}$ .

O potencial dos compostos como alternativas de silicones foi testado pela avaliação das propriedades (capítulo 3.3) e da respetiva caracterização através da sua incorporação numa formulação cosmética comercial (capítulo 3.4). Quanto às propriedades dos ésteres, os valores obtidos para os parâmetros de pH rondaram os 4,5 – 5,5, para a tensão superficial 26 – 28 mN/ m, para a densidade 0,84 – 0,86 g/cm<sup>3</sup> e para o índice de refração 1,42 – 1,43  $n_D$ , sendo muito semelhantes entre si, e com ligeiras diferenças para os compostos de referência (Cetiol® CC, D5 e Sil.05). A viscosidade foi o parâmetro mais díspar, com valores compreendidos entre 2,8 e 6,2 mPa.s. De uma forma geral, a

viscosidade aumentou com o aumento da cadeia carbonada, pelo que o éster **4a** obteve o menor valor e, contrariamente, o **5c** de acordo com o previsto. Este último, enquadra-se na categoria de viscosidade baixa (cosmética decorativa e proteção solar), pertencendo os restantes à categoria de silicones voláteis (antiperspirantes e desodorizantes, produtos em *stick* e de cabelo). Era esperado que a área de propagação fosse inversamente proporcional à viscosidade, contudo neste trabalho, o pressuposto não foi observado com tanta linearidade. A discrepância entre as áreas obtidas pode ser explicada devido à diferença estrutural. O  $\log P$  foi calculado através de um *software*, pelo que conforme o aumento da cadeia carbonada o valor de  $\log P$  correspondente aumentou, como pressuposto. O ensaio de energia de transição molar revelou que o produto **4b** (71,2993 kcal mol<sup>-1</sup>) assim como os compostos comerciais, são os menos polares, atingindo valores acima dos utilizados como referência, sendo o **4c** (53,9453 kcal mol<sup>-1</sup>) o composto mais polar.

De acordo com a caracterização através da incorporação dos compostos em cremes, todos garantiram a qualidade e estabilidade dos compostos sintetizados. Todas as formulações revelaram-se bastante estáveis na avaliação das características organoléticas e na medição do pH. Após 3 meses de formulação a intensidade de odor de algumas formulações à temperatura ambiente diminuiu, mantendo-se até ao final da avaliação (6 meses). De forma semelhante para uma temperatura de 37°C, ao fim de 3 meses, o odor de todas as formulações diminuiu, e ao fim de 6 meses este tornou-se impercetível para as formulações C4 (éster **4a**) e C8 (éster **5b**). Além disso, todos os cremes colocados a esta temperatura sofreram uma alteração de cor para branco-amarelado, levando a entender que os cremes não devem ser armazenados a temperaturas tão elevadas e por um longo período de tempo.

A incorporação dos ésteres não pareceu influenciar a viscosidade dos cremes uma vez que não houve uma relação entre ambos, pelo que também apresentaram um comportamento semelhante aos cremes controlo (silicones e alternativa comercial).

Os testes de estabilidade acelerada e em ciclos de temperatura extrema, indicaram que as formulações com os ésteres sintetizados não influenciam a estabilidade, assim como as características das formulações cosméticas, sendo consideradas estáveis e uniformes.

Todas as formulações cosméticas apresentaram um tamanho de partícula aceitável, sendo que o creme C4 (éster **4a**) apresentou o maior tamanho (2949 nm) ao longo do estudo, tal como observado no ensaio de microscopia. A maioria das formulações revelou uma homogeneidade moderada e aceitável, de acordo com a aplicação tópica, à exceção dos cremes C7 (éster **5a**), C8 (éster **5b**) e C9 (éster **5c**), que apresentaram uma PDI elevada referente a partículas heterogéneas. Por outro lado, todas

apresentaram valores de potencial zeta elevados, característicos de uma elevada estabilidade, impedindo a agregação e floculação das partículas.

Para os ensaios reológicos fixou-se uma deformação de 2% para todas as amostras. Aquando a caracterização das propriedades viscoelásticas foi verificado que, o comportamento elástico é dominante ( $G' > G''$ ), necessitando de níveis altos de tensão de cisalhamento para deformar os produtos até um estado fluido de comportamento viscoso ( $G'' > G'$ ). Todos os cremes analisados apresentaram valores próximos, idênticos ao obtidos com os formulados com silicones comerciais. O creme C1 (Cetiol® CC) apresentou a melhor homogeneidade e coesão, pois não foram desenvolvidas microfissuras, contrariamente ao C7 (éster **5a**), com o maior número. O creme C6 (éster **4c**) revelou o comportamento mais cremoso, e pelo contrário, o C9 (éster **5c**) devido a um decaimento mais abrupto, o qual apresentou o ponto de cruzamento mais precoce, e deste modo o menor valor de deformação necessário para atingir o ponto de rutura da estrutura. Os resultados observados encontram-se de acordo com a literatura<sup>84</sup>, visto que cremes demonstram estruturas mais frágeis levando a fraturas. O ensaio do stress físico foi concordante com o anterior, demonstrando que todas as formulações assumem um comportamento elástico com fortes interações, permitindo um espalhamento, adesão, capacidade pegajosa e estabilidade adequados para aplicação na pele. No geral, foi alcançada uma boa resistência das estruturas individuais, sendo o creme C4 (éster **4a**) o mais resistente. A facilidade de espalhamento foi avaliada através das curvas de fluxo, as quais exibiram um comportamento pseudoplástico para todas as formulações. Neste ensaio, o creme C3 (Sil.05) apresentou o maior valor de viscosidade, considerado o mais espesso e rígido quando em fluxo. Apesar de o creme C6 (éster **4c**) aparentar ser o mais fluido e menos consistente, devido aos resultados dos testes oscilatórios, também o C4 (éster **4a**) pode ser percebido como mais espesso e mais firme devido à maior resistência ao escoamento. O aumento de temperatura para 37°C, não influenciou as formulações em estudo.

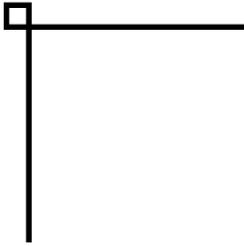
As diferenças no perfil de textura foram mínimas embora tenham sido avaliadas com mais detalhe. O teste de penetração revelou igual adesividade para todas as formulações. A formulação C7 (éster **5a**) apresentou a menor firmeza e dureza no teste de espalhamento, concordante com os ensaios oscilatórios, por ceder em primeiro lugar e, como tal, ser a menos espessa e pegajosa. O teste de extrusão de retorno elucidou sobre a consistência das amostras, sendo os cremes C1 (Cetiol® CC) e C9 (éster **5c**), os mais firmes e coesos. Como apresentam também, os compostos cuja viscosidade é maior, exibiram, de certa forma, a maior sensação pegajosa (menor espalhamento). O éster de menor viscosidade (**4a**) incorporado no creme C4 revelou uma coesão mais fraca (mais espalhável e menos

pegajoso). No geral, compostos com maior viscosidade originaram formulações mais coesas e menos espalháveis, e ésteres de viscosidade menor, formulações de fácil espalhamento, menos espessas e mais resistentes à deformação.

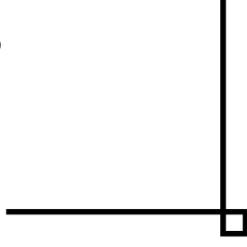
Por último, vários voluntários avaliaram as propriedades sensoriais das formulações C2 (D5) e C4 (éster **4a**), que foram consideradas muito fáceis de espalhar, suaves, com pouca oleosidade e não pegajosas. Estes consideraram que o creme C2 (D5) foi melhor absorvido quando em contacto com a pele, e o C4 (éster **4a**) o mais hidratante. Numa situação de compra, à exceção de uma pessoa, a preferência pelo creme C4 (éster **4a**) prevaleceu, demonstrando preocupação com a sustentabilidade.

Ao longo desta dissertação, os resultados obtidos confirmam o potencial dos ésteres **4a – 5c** como alternativas viáveis aos silicones sintéticos, tornando as formulações cosméticas mais “naturais”, parâmetro cada vez mais requerido pelos consumidores. O facto de apresentarem características semelhantes aos silicones mais utilizados é um ponto extremamente importante, pois o objetivo da sua utilização nas formulações é o acréscimo de propriedades de interesse, sem interagir com os ingredientes da formulação.

Apesar dos diversos ensaios que foram realizados, o estudo das formulações pode ser mais aprofundado. Futuramente, as formulações cosméticas deveriam ser testadas quanto à sua potencial toxicidade para garantir a segurança e eficácia do produto final e dos seus ingredientes. Testar o seu efeito na pele, a fim de verificar potenciais reações alérgicas ou irritações, através do teste hipovalgénico (HRIPT), assim como testes microbiológicos, para avaliar a presença de bactérias e fungos contaminantes potencialmente nocivos. Seria ainda interessante avaliar o efeito de formulações cosméticas por meio de uma análise das propriedades da pele dos voluntários, nomeadamente através de uma análise dos parâmetros cutâneos (viscoelasticidade da pele, oleosidade, melanina e eritema, nível de hidratação, entre outros). Este ensaio estava inicialmente no planeamento do trabalho, mas devido a questões logísticas na aquisição do aparelho necessário (CUTOMETER DUAL MPA580) não foi realizado.



REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS



### Referências Bibliográficas

1. Horii, Y.; Kannan, K., Survey of organosilicone compounds, including cyclic and linear siloxanes, in personal-care and household products. *Archives of environmental contamination and toxicology* **2008**, *55* (4), 701–710.
2. Van Reeth, I., Silicones—A Key Ingredient in Cosmetic and Toiletry Formulations. In *Handbook of cosmetic science and technology*, 3rd ed.; CRC Press: New York, **2009**; pp 389-398.
3. O'Lenick Jr, A. J., *Silicones for Personal Care*. 2<sup>nd</sup> ed.; Allured Publishing Corporation: USA, **2008**.
4. O'Lenick Jr, A. J., Silicones—Basic chemistry and selected applications. *Journal of Surfactants and Detergents* **2000**, *3*(2), 229-236.
5. Maxon, B.; Starch, M., Formulating Skin Care Products with Silicones: Approaches and Strategies. *Handbook of Formulating Dermal Applications* **2016**, 59-114.
6. Andriot, M.; Chao, S.; Colas, A.; Cray, S.; de Buyl, F.; DeGroot, J.; Dupont, A.; Easton, T.; Garaud, J.; Gerlach, E., Silicones in industrial applications. *Journal of Inorganic polymers* **2007**, 61-161.
7. Goussard, V.; Aubry, J.-M.; Nardello-Rataj, V., Bio-based alternatives to volatile silicones: Relationships between chemical structure, physicochemical properties and functional performances. *Advances in Colloid and Interface Science* **2022**, *304*, 102679.
8. Draelos, Z. D., The science behind skin care: Moisturizers. *Journal of Cosmetic Dermatology* **2018**, *17*(2), 138-144.
9. Berthiaume, M., Silicones in cosmetics. In *Principles of polymer science and technology in cosmetics and personal care*, Goddard, E. D.; Gruber, J. V., Eds. Marcel Dekker, Inc.: New York, **1999**; Vol. 22.
10. Garaud, J.-L., Les silicones - 50 ans d'innovation en cosmétique. *l'actualité chimique* **2008**, (323-324), 29-34.
11. Skindinavia®. About Our Brand. <https://skindinavia.com/about-us/>. (Consult. 17 de dezembro de 2021).
12. Floyd, D. T., Organo-Modified Silicone Copolymers for Cosmetic Use. In *Cosmetic and Pharmaceutical Applications of Polymers*, Gebelein, C. G.; Cheng, T. C.; Yang, V. C., Eds. Springer US: Boston, MA, **1991**; pp 49-72.
13. Williams, D. F.; Schmitt, W. H., *Chemistry and Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry*. 1 ed.; Springer Science & Business Media: New York, **1992**; p 344.
14. Olejnik, A.; Sztorch, B.; Brząkalski, D.; Przekop, R. E. Silsesquioxanes in the Cosmetics Industry—Applications and Perspectives *Materials* [Online], **2022**.

## Referências bibliográficas

15. Siddiqui, W. H.; Stump, D. J.; Reynolds, V. L.; Plotzke, K. P.; Holson, J. F.; Meeks, R. G., A two-generation reproductive toxicity study of decamethylcyclopentasiloxane (D5) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reproductive Toxicology* **2007**, *23* (2), 216-225.
16. Dekant, W.; Klaunig, J., Toxicology of Decamethylcyclopentasiloxane (D5). *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP* **2015**, *74S*, 1-10.
17. Klaunig, J. E.; Dekant, W.; Plotzke, K.; Scialli, A. R., Biological relevance of decamethylcyclopentasiloxane (D5) induced rat uterine endometrial adenocarcinoma tumorigenesis: Mode of action and relevance to humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2016**, *74*, 44-56.
18. Burns-Naas, L. A.; Mast, R. W.; Klykken, P. C.; McCay, J. A.; White, K. L.; Mann, P. C.; Naas, D. J., Toxicology and Humoral Immunity Assessment of Decamethylcyclopentasiloxane (D5) Following a 1-Month Whole Body Inhalation Exposure in Fischer 344 Rats. *Toxicological Sciences* **1998**, *43* (1), 28-38.
19. Johnson, W. J.; Bergfeld, W. F.; Belsito, D. V.; Hill, R. A.; Klaassen, C. D.; Liebler, D. C.; Marks, J. G. J.; Shank, R. C.; Slaga, T. J.; Snyder, P. W.; Andersen, F. A., Safety assessment of cyclomethicone, cyclotetrasiloxane, cyclopentasiloxane, cyclohexasiloxane, and cycloheptasiloxane. *International Journal of Toxicology* **2011**, *30* (6), 149-227.
20. Wang, D.-G.; Norwood, W.; Alaei, M.; Byer, J. D.; Brimble, S., Review of recent advances in research on the toxicity, detection, occurrence and fate of cyclic volatile methyl siloxanes in the environment. *Chemosphere* **2013**, *93* (5), 711-725.
21. US, E. P. A. Siloxane D5 in Drycleaning Applications. <https://www.epa.gov/laws-regulations>. (Consult. 29 de janeiro de 2022).
22. European, C.; Directorate-General for, H.; Food, S., *Opinion on decamethylcyclopentasiloxane (cyclopentasiloxane, D5) in cosmetic products*. Publications Office: **2017**.
23. European Chemicals Agency. Annex XV Restriction Report. <https://echa.europa.eu/documents/10162/9a53a4d9-a641-4b7b-ad58-8fec6cf26229>. (Consult. 19 de fevereiro de 2022).
24. Montiel, M. C.; Máximo, F.; Serrano-Arnaldos, M.; Ortega-Requena, S.; Murcia, M. D.; Bastida, J., Biocatalytic solutions to cyclomethicones problem in cosmetics. *Engineering in Life Sciences* **2019**, *19*, 370-388.
25. Colas, A., Silicones: preparation, properties and performance. *Dow corning, life sciences* **2005**, 1-14.
26. European Chemicals Agency. Annex to a news release ECHA/NR/20/09. [https://echa.europa.eu/documents/10162/29085596/annex\\_rac\\_seac\\_march\\_2020.pdf/e892702b-2f44-078c-ed05-047e7706682d](https://echa.europa.eu/documents/10162/29085596/annex_rac_seac_march_2020.pdf/e892702b-2f44-078c-ed05-047e7706682d). (Consult. 21 de fevereiro de 2022).

## Referências bibliográficas

27. Bom, S.; Jorge, J.; Ribeiro, H. M.; Marto, J., A step forward on sustainability in the cosmetics industry: A review. *Journal of Cleaner Production* **2019**, *225*, 270-290.
28. Beerling, J., Green Formulations and Ingredients. *Sustainability: How the Cosmetics Industry is Greening Up* **2013**, 197-215.
29. SEPPIC EMOGREEN™ L19. <https://www.seppic.com/en/emogreen-l19>. (Consult. 4 de março de 2022).
30. Duprat-de-Paule, S.; Guilbot, J.; Roso, A.; Cambos, S.; Pierre, A., Augmented bio-based lipids for cosmetics. *Oilseeds & fats Crops and Lipids* **2018**.
31. Woodruff, J. Silicones and silicone alternatives. *Cosmetics Business*. [www.creative-developments.co.uk](http://www.creative-developments.co.uk) (Consult. 17 de março de 2022).
32. Hill, K., Industrial development and application of biobased oleochemicals. *Journal Pure and Applied Chemistry* **2007**, *79* (11), 1999-2011.
33. BASF Care Creations. <https://carecreations.basf.us/products/cetiol-cc>. (Consult. 24 de março de 2022).
34. SpecialChem Cetiol® CC. <https://cosmetics.specialchem.com/product/i-basf-cetiol-cc>. (Consult. 24 de março de 2022).
35. Chen, H. C.; Kuo, C.-H.; Chen, H. H.; Liu, Y.-C.; Shieh, C. J., Optimization of Enzymatic Synthesis of Cetyl 2-Ethylhexanoate by Novozym® 435. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **2011**, *88* (12), 1917-1923.
36. Ansorge-Schumacher, M. B.; Thum, O., Immobilised lipases in the cosmetics industry. *Chemical Society Reviews* **2013**, *42* (15), 6475-6490.
37. Kovalenko, G.; Perminova, L.; Beklemishev, A., Catalytic properties of recombinant *Thermomyces lanuginosus* lipase immobilized by impregnation into mesoporous silica in the enzymatic esterification of saturated fatty acids with aliphatic alcohols. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis* **2019**, *128*.
38. Sousa, R.; Pinto, M.; Aguiéiras, E.; Cipolatti, E.; Manoel, E.; Silva, A.; Pinto, J.; Freire, D.; Ferreira-Leitao, V., Comparative performance and reusability studies of lipases on syntheses of octyl esters with an economic approach. *Bioprocess and Biosystems Engineering* **2022**, *45*, 1-15.
39. Noro, J.; Cavaco-Paulo, A.; Silva, C., Chemically Modified Lipase from *Thermomyces lanuginosus* with Enhanced Esterification and Transesterification Activities. *ChemCatChem* **2021**, *13* (21), 4524-4531.
40. Druteika, G.; Sadauskas, M.; Malunavicius, V.; Lastauskiene, E.; Statkeviciute, R.; Savickaite, A.; Gudiukaite, R. A.-O. X., New engineered *Geobacillus* lipase GD-95RM for industry focusing on the cleaner production of fatty esters and household washing product formulations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2020**, *36* (3).

## Referências bibliográficas

41. Stergiou, P.-Y.; Foukis, A.; Filippou, M.; Koukouritaki, M.; Parapouli, M.; Theodorou, L. G.; Hatziloukas, E.; Afendra, A.; Pandey, A.; Papamichael, E. M., Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. *Biotechnology Advances* **2013**, *31* (8), 1846-1859.
42. Noro, J.; Castro, T. G.; Cavaco-Paulo, A.; Silva, C., Substrate hydrophobicity and enzyme modifiers play a major role in the activity of lipase from *Thermomyces lanuginosus*. *Catalysis Science & Technology* **2020**, *10* (17), 5913-5924.
43. Tomberg, A., Gaussian 09w tutorial (An introduction to computational chemistry using G09W and Avogadro software). **2013**, 1-36.
44. Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J., AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry* **2009**, *30* (16), 2785-2791.
45. Hutchison, G. R.; Morley, C.; James, C.; Swain, C.; De Winter, H.; Vandermeersch, T.; O'Boyle, N. M., Open Babel Documentation. *Journal of Cheminformatics* **2011**.
46. DeLano, W. L.; Bromberg, S. J. D. S. L., PyMOL user's guide. **2004**, 629.
47. Ogihara, W.; Aoyama, T.; Ohno, H., Polarity Measurement for Ionic Liquids Containing Dissociable Protons. *Chemistry Letters - CHEM LETT* **2004**, *33*, 1414-1415.
48. IFF Lucas Meyer Cosmetics. Simply Light Cream. [https://www.lucasmeyercosmetics.com/sites/lucasmeyer-corp-v2/files/formulation/62.Simply\\_Light\\_Cream\\_-\\_14\\_070\\_05\\_C153.pdf](https://www.lucasmeyercosmetics.com/sites/lucasmeyer-corp-v2/files/formulation/62.Simply_Light_Cream_-_14_070_05_C153.pdf). (Consult. 8 de fevereiro de 2022).
49. Lukic, M.; Pantelic, I.; Krstonošić, V.; Cekić, N.; Savic, S., A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: The influence of emollient on textural, sensorial and in vivo skin performance. *International journal of cosmetic science* **2011**, *34*, 140-9.
50. Liu, Z.; Gosser, Y.; Baker, P. J.; Ravee, Y.; Lu, Z.; Alemu, G.; Li, H.; Butterfoss, G. L.; Kong, X.-P.; Gross, R.; Montclare, J. K., Structural and Functional Studies of *Aspergillus oryzae* Cutinase: Enhanced Thermostability and Hydrolytic Activity of Synthetic Ester and Polyester Degradation. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (43), 15711-15716.
51. Matte, C. R. Estudos de imobilização de lipase de *Thermomyces lanuginosus* em Immobead 150, caracterização dos derivados e suas aplicações em reatores contínuos e em batelada para a síntese de butirato de butila e biodiesel. Doctorate, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2015**.
52. Noro, J.; Cavaco-Paulo, A.; Silva, C., Chemical modification of lipases: A powerful tool for activity improvement. *Biotechnology Journal* **2022**, 1-14.
53. Güvenç, A.; Kapucu, N.; Mehmetoglu, Ü., The production of isoamyl acetate using immobilized lipases in a solvent-free system. *Process Biochemistry* **2002**, *38*, 379-386.

## Referências bibliográficas

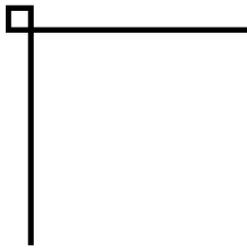
54. Castillo, E.; Casas-Godoy, L.; Sandoval, G., Medium-engineering: a useful tool for modulating lipase activity and selectivity. *Biocatalysis* **2016**, *1* (1), 178-188.
55. Tran, D. N.; Balkus, K. J., Perspective of Recent Progress in Immobilization of Enzymes. *ACS Catalysis* **2011**, *1* (8), 956-968.
56. NIST 1-Decanol. Infrared Spectrum. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C112301&Type=IR-SPEC&Index=1> (Consult. 1 de setembro de 2022).
57. Li, J.; Liu, J.; Sun, X.; Liu, Y., The mathematical prediction model for the oxidative stability of vegetable oils by the main fatty acids composition and thermogravimetric analysis. *LWT - Food Science and Technology* **2018**, *96*, 51-57.
58. Freitas, D. S.; Rocha, D.; Castro, T. G.; Noro, J.; Castro, V. I. B.; Teixeira, M. A.; Reis, R. L.; Cavaco-Paulo, A.; Silva, C., Green Extraction of Cork Bioactive Compounds Using Natural Deep Eutectic Mixtures. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2022**, *10* (24), 7974-7989.
59. PubChem® Heptanoic acid (Compound). Boiling Point. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8094#section=Boiling-Point> (Consult. 3 de setembro de 2022).
60. PubChem® Octanoic acid (Compound). Boiling Point. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/379#section=Boiling-Point> (Consult. 3 de setembro de 2022).
61. PubChem® Decanoic acid (Compound). Boiling Point. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2969#section=Boiling-Point> (Consult. 3 de setembro de 2022).
62. Keng, P. S.; Basri, M.; Zakaria, M. R. S.; Rahman, M. B. A.; Ariff, A. B.; Rahman, R. N. Z. A.; Salleh, A. B., Newly synthesized palm esters for cosmetics industry. *Industrial Crops and Products* **2009**, *29* (1), 37-44.
63. Wiechers, J. W. Cosmetics&Toiletries. Formulating at pH 4-5: How Lower pH Benefits the Skin and Formulations. <https://www.cosmeticsandtoiletries.com/research/literature-data/article/21836958/formulating-at-ph-4-5-how-lower-ph-benefits-the-skin-and-formulations#6> (Consult. 20 de julho de 2022).
64. Refaat, A. A., Correlation between the chemical structure of biodiesel and its physical properties. *International Journal of Environmental Science & Technology* **2009**, *6* (4), 677-694.
65. BASF Personal Care and Nutrition GmbH. Choosing the Right Emollient. <https://pt.slideshare.net/primo173/choosing-right-emollientsspreadsheetopfformatfinal6>. (Consult. 20 de fevereiro de 2022).
66. Speight, J. G., Chapter 5 - Properties of Organic Compounds. In *Environmental Organic Chemistry for Engineers*, Speight, J. G., Ed. Butterworth-Heinemann: **2017**; pp 203-261.

## Referências bibliográficas

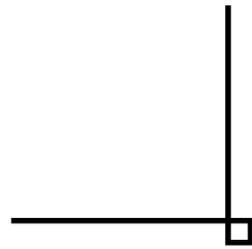
67. Douguet, M.; Picard, C.; Savary, G.; Merlaud, F.; Loubat-bouleuc, N.; Grisel, M., Spreading properties of cosmetic emollients: Use of synthetic skin surface to elucidate structural effect. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2017**, *154*, 307-314.
68. MERCK Silicone oil. Properties. [https://www.sigmaaldrich.com/PT/en/product/aldrich/317667?gclid=CjwKCAjw6fyXBhBgEiwAhhjZsqAAtz9b4pJwDJ0Uo1QiPRiDLVG19yQzNxOPG4FDZF6EMLVssf2rjBoC7iwQAvD\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/PT/en/product/aldrich/317667?gclid=CjwKCAjw6fyXBhBgEiwAhhjZsqAAtz9b4pJwDJ0Uo1QiPRiDLVG19yQzNxOPG4FDZF6EMLVssf2rjBoC7iwQAvD_BwE). (Consult. 28 de julho de 2022).
69. MERCK Decamethylcyclopentasiloxane. Properties. <https://www.sigmaaldrich.com/PT/en/product/aldrich/444278>. (Consult. 28 de julho de 2022).
70. Biotage. What is the Role of LogP in Sample Prep Methods?. <https://sampleprep.biotage.com/blog/what-is-the-role-of-logp-in-sample-prep-methods> (Consult. 2 de junho de 2022).
71. Andrés, A.; Rosés, M.; Ràfols, C.; Bosch, E.; Espinosa, S.; Segarra, V.; Huerta, J., Setup and validation of shake-flask procedures for the determination of partition coefficients (log D) from low drug amounts. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* **2015**, *11*.
72. Katritzky, A.; Fara, D.; Yang, H.; Tämm, K.; Tamm, T.; Karelson, M., Quantitative Measures of Solvent Polarity. *Chemical reviews* **2004**, *104*, 175-98.
73. O'Lenick, A., Altering polarity to improve formulation stability. **2020**.
74. Group, O. Cosmetic Product Stability Test. Acceptance Criteria. <https://www.obelis.net/cosmetic-product-stability-test/> (Consult. 10 de setembro de 2022).
75. EUROPE, C. GUIDELINES ON STABILITY TESTING OF COSMETIC PRODUCTS. [https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/Guidelines\\_on\\_Stability\\_Testing\\_of\\_Cosmetics\\_CE-CTFA\\_-\\_2004.pdf](https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/Guidelines_on_Stability_Testing_of_Cosmetics_CE-CTFA_-_2004.pdf). (Consult. 8 de agosto de 2022).
76. Djjobie Tchienou, G. E.; Tsatsop Tsague, R. K.; Mbam Pega, T. F.; Bama, V.; Bamseck, A.; Dongmo Sokeng, S.; Ngassoum, M. B., Multi-Response Optimization in the Formulation of a Topical Cream from Natural Ingredients. *Cosmetics* **2018**, *5*(1).
77. Brummer, R., *Rheology Essentials of Cosmetic and Food Emulsions*. **2006**.
78. Masucci, S. F.; Little, C., Emulsion stability basics. *Processing: solutions for the process industries*® **2017**.
79. Ali, A.; Yilmaz, E.; Sjöo, M., A Novel Technology for Personal Care Emulsions. *SOFW Journal* **2015**, *141*.
80. Gianeti, M.; Wagemaker, T.; Seixas, V.; Campos, P., The Use of Nanotechnology in Cosmetic Formulations: The Influence of Vehicle in the Vitamin A Skin Penetration. *Current Nanoscience* **2012**, *8*, 526-534.

## Referências bibliográficas

81. Nae, H., Rheological properties of topical formulations. In *Handbook of Formulating Dermal Applications: A Definitive Practical Guide*, John Wiley & Sons New Jersey: **2016**; pp 287-348.
82. Manral, K., Viscoelastic properties and rheological characterization of carbomers. *Int. J. Res. Eng. Technol.* **2015**, *1*, 17-30.
83. Paar, A. Amplitude sweeps. <https://wiki.anton-paar.com/en/amplitude-sweeps/>. <https://wiki.anton-paar.com/en/amplitude-sweeps/> (Consult. 25 de agosto de 2022).
84. Dabbaghi, M.; Namjoshi, S.; Panchal, B.; Grice, J.; Prakash, S.; Roberts, M.; Mohammed, Y., Viscoelastic and Deformation Characteristics of Structurally Different Commercial Topical Systems. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 1351.
85. IFSCC, *Monograph No. 3: An Introduction to Rheology*. Micelle Press: England, **1997**; Vol. 3, p 43.
86. Lab, R. Spreadability of Topical Pharmaceutical Products. Viscosity measurements and the high shear rates of application. <https://www.rheologylab.com/articles/pharma/spreadability-topical-products/> (Consult. 25 de agosto de 2022).
87. AMETEK®, B. ISO 9001 CERTIFIED. Personal Care Products. Moisturizing Cream Firmness. <https://www.brookfieldengineering.com/brookfield-university/learning-center/application-notes/texture-applications/personal-care-products/moisturizing-cream-firmness> (Consult. 26 de agosto de 2022).
88. AMETEK®, B. ISO 9001 CERTIFIED. Personal Care Products. Moisturizing Cream Spreadability. <https://www.brookfieldengineering.com/brookfield-university/learning-center/application-notes/texture-applications/personal-care-products/moisturizing-cream-spreadability> (Consult. 26 de agosto de 2022).
89. AMETEK®, B. ISO 9001 CERTIFIED. Personal Care Products. Moisturizing Cream Consistency. <https://www.brookfieldengineering.com/brookfield-university/learning-center/application-notes/texture-applications/personal-care-products/moisturizing-cream-consistency> (Consult. 26 de agosto de 2022).
90. Kulawik-Pióro, A.; Drabczyk, A.; Kruk, J.; Wroblewska, M.; Winnicka, K.; Tchórzewska, J., Thiolated Silicone Oils as New Components of Protective Creams in the Prevention of Skin Diseases. *Materials* **2021**, *14*, 4723.

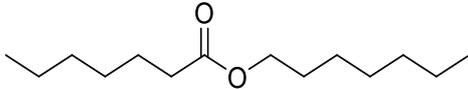
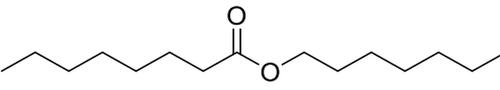
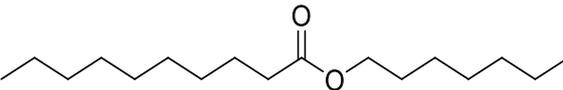
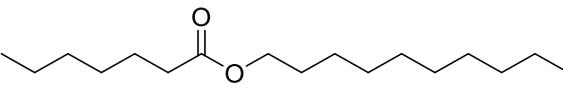
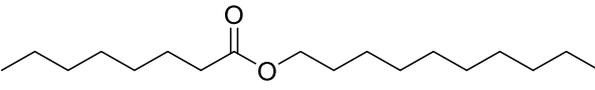
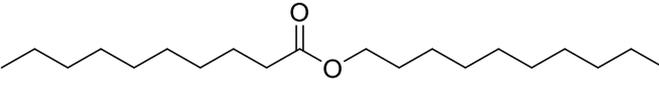


ANEXOS



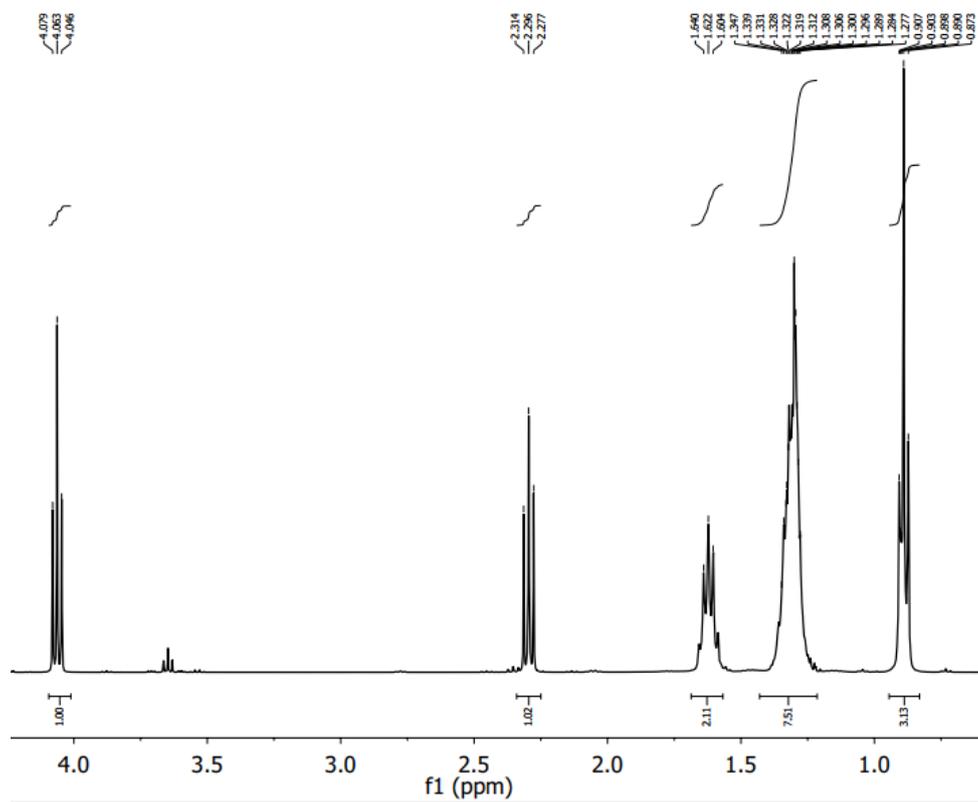
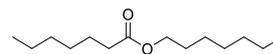
**Anexo 1**

Lista dos novos compostos sintetizados

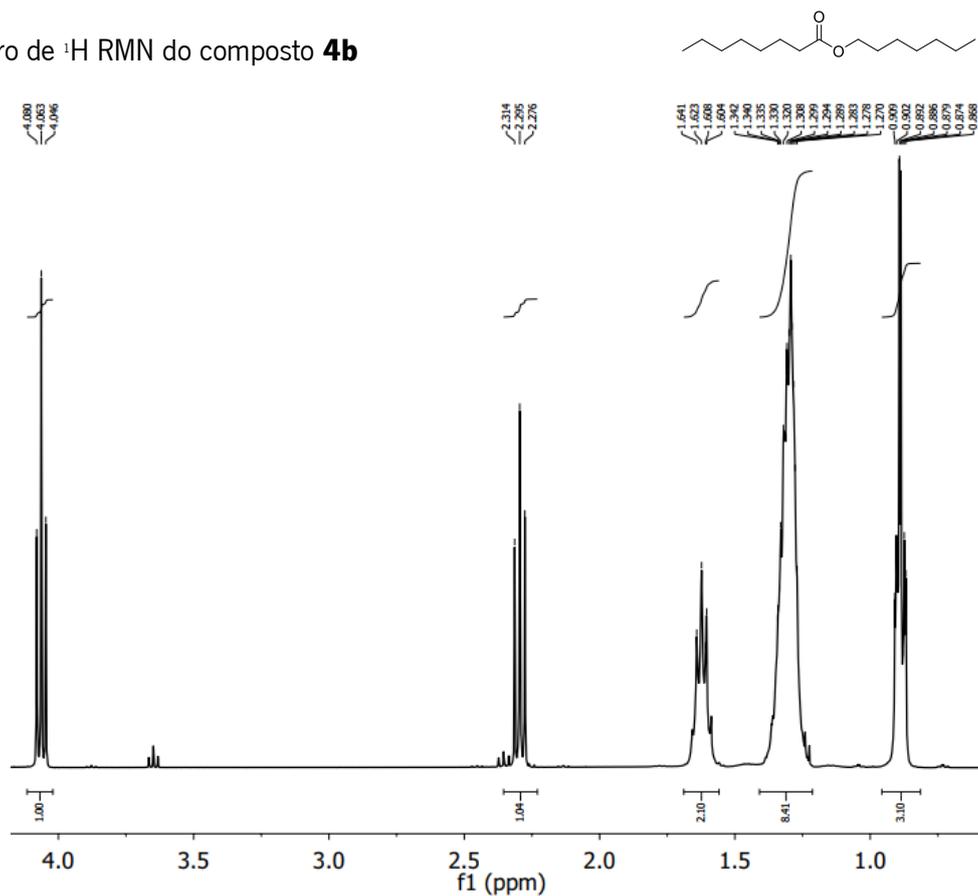
<b>Código do composto</b>	<b>Estrutura química</b>
<b>4a</b>	 <chem>CCCCCCCC(=O)OCCCCCCCC</chem>
<b>4b</b>	 <chem>CCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCC</chem>
<b>4c</b>	 <chem>CCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCC</chem>
<b>5a</b>	 <chem>CCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>
<b>5b</b>	 <chem>CCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>
<b>5c</b>	 <chem>CCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>

**Anexo 2**

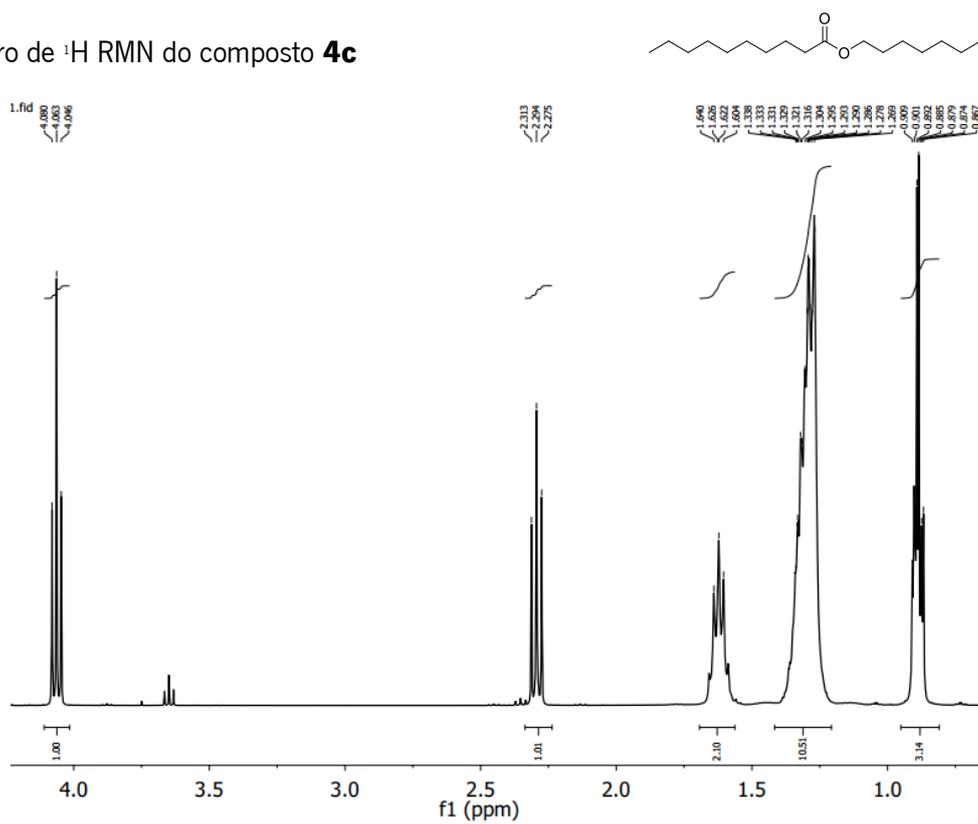
Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **4a**



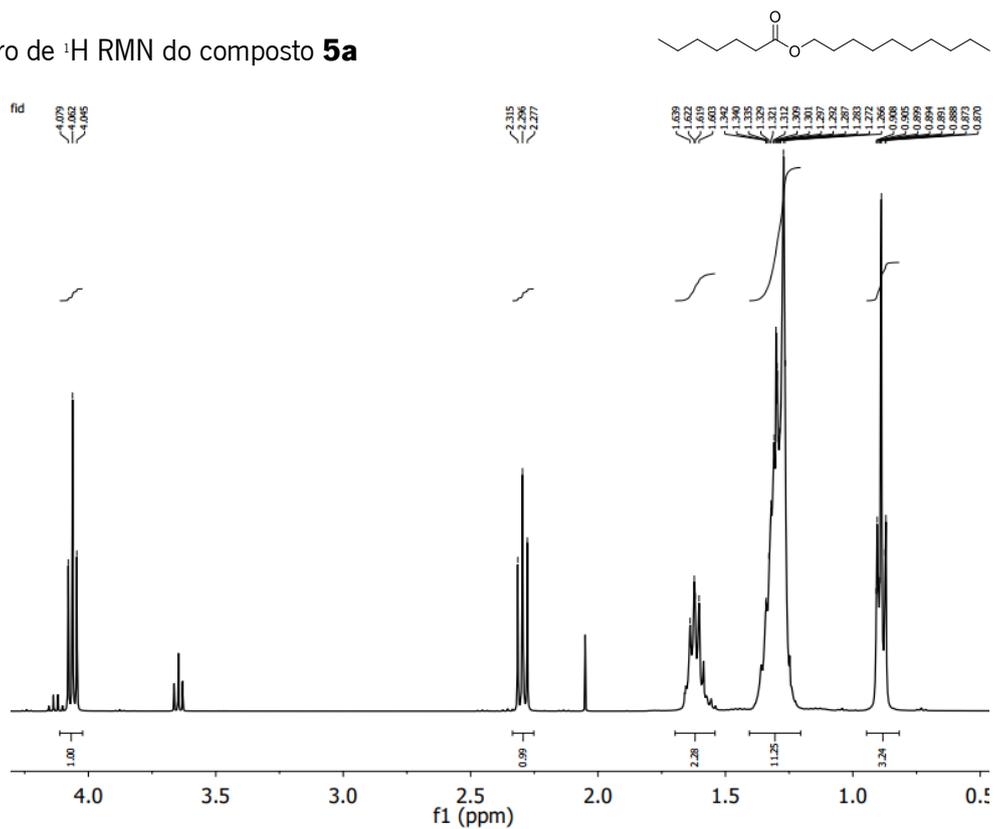
Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **4b**



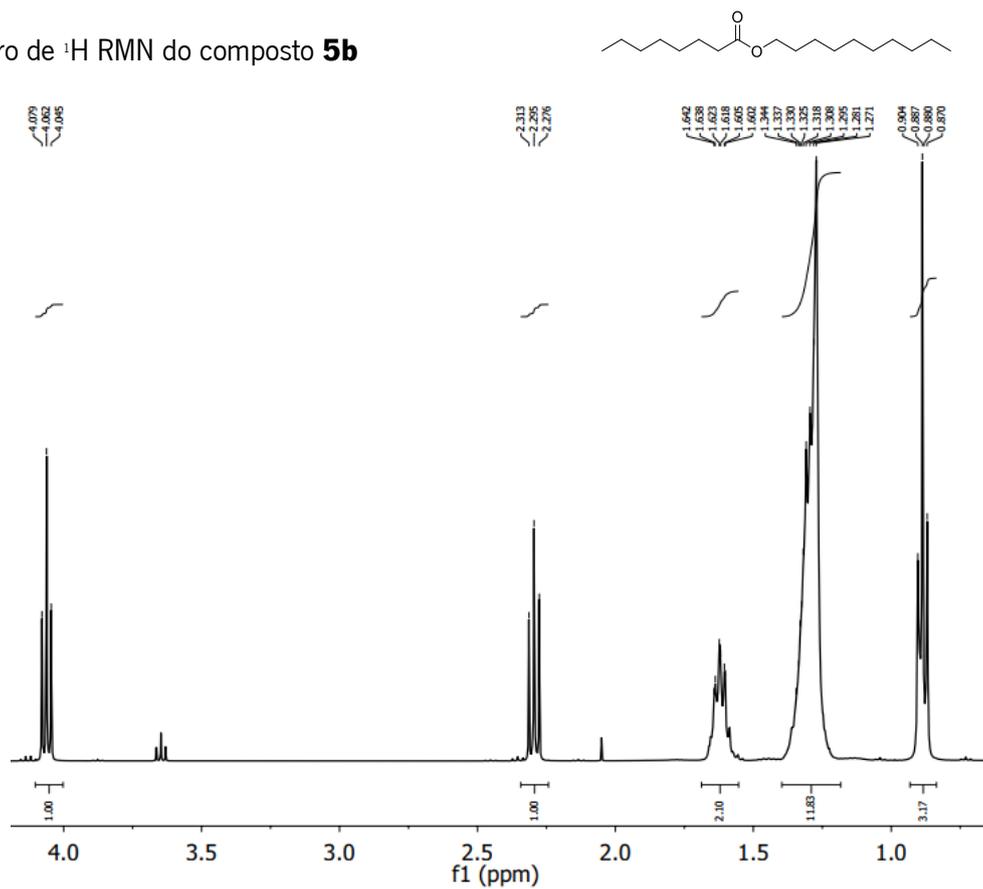
Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **4c**



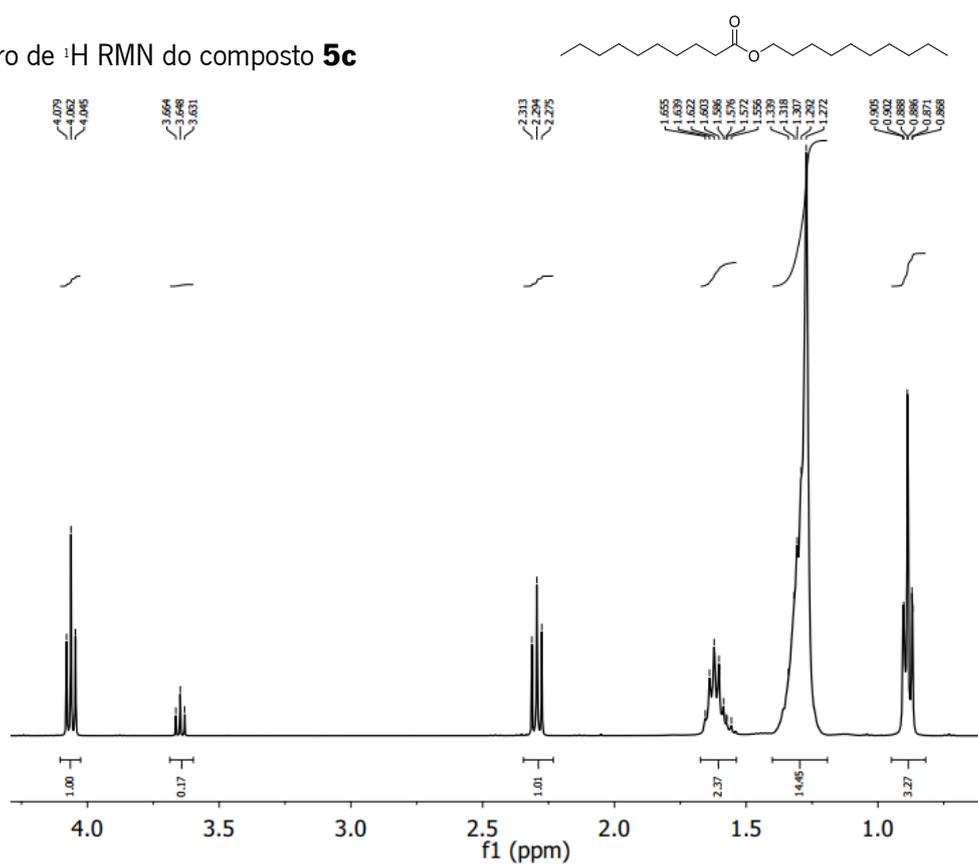
Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **5a**



Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **5b**

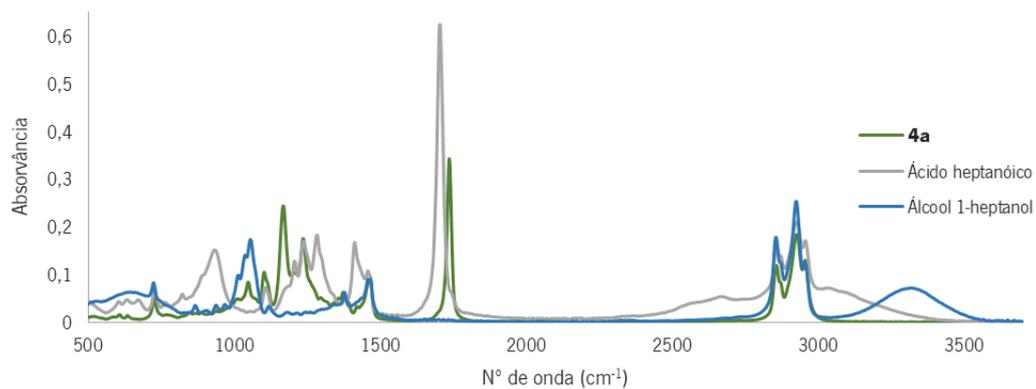


Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **5c**

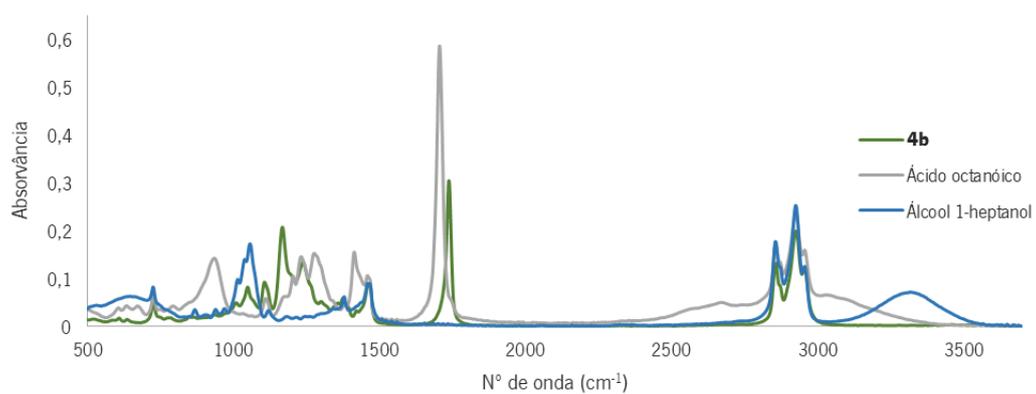


### Anexo 3

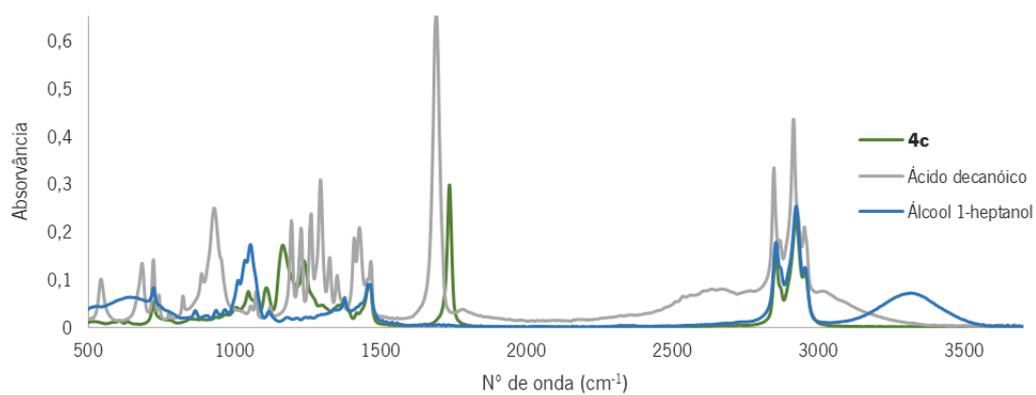
Espetros de FTIR do composto **4a** e dos respectivos reagentes de partida



Espetro de FTIR do composto **4b** e dos respectivos reagentes de partida

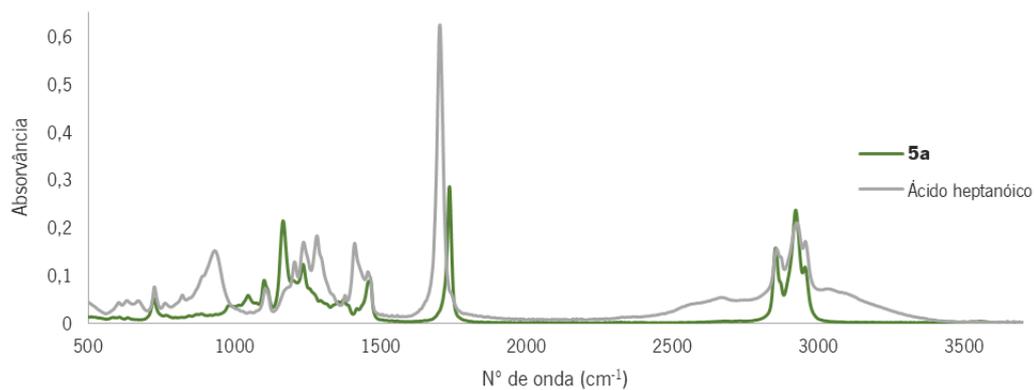


Espetro de FTIR do composto **4c** e dos respectivos reagentes de partida



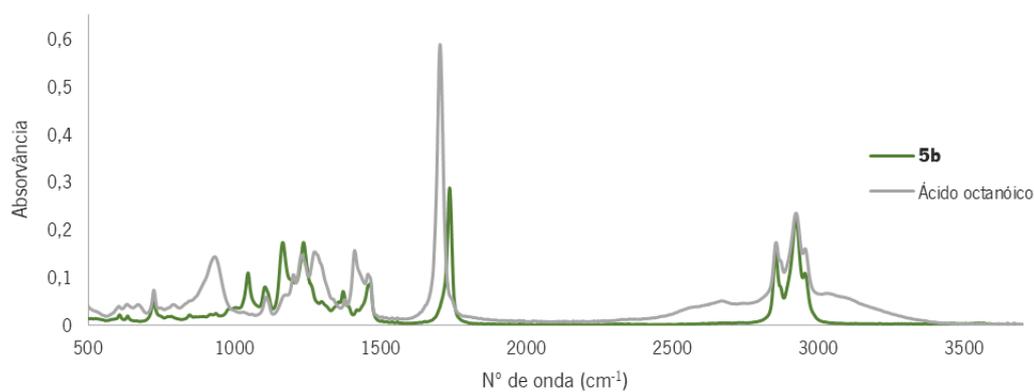
## Anexos

### Espetro de FTIR do composto **5a** e do respectivo ácido



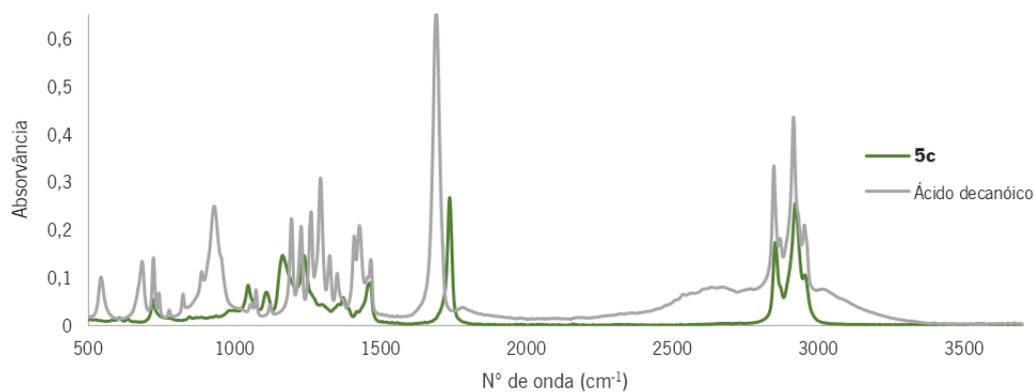
NOTA: As características perigosas do álcool 1-decanol impediram a realização deste ensaio.

### Espetro de FTIR do composto **5b** e do respectivo ácido



NOTA: As características perigosas do álcool 1-decanol impediram a realização deste ensaio.

### Espetro de FTIR do composto **5c** e do respectivo ácido

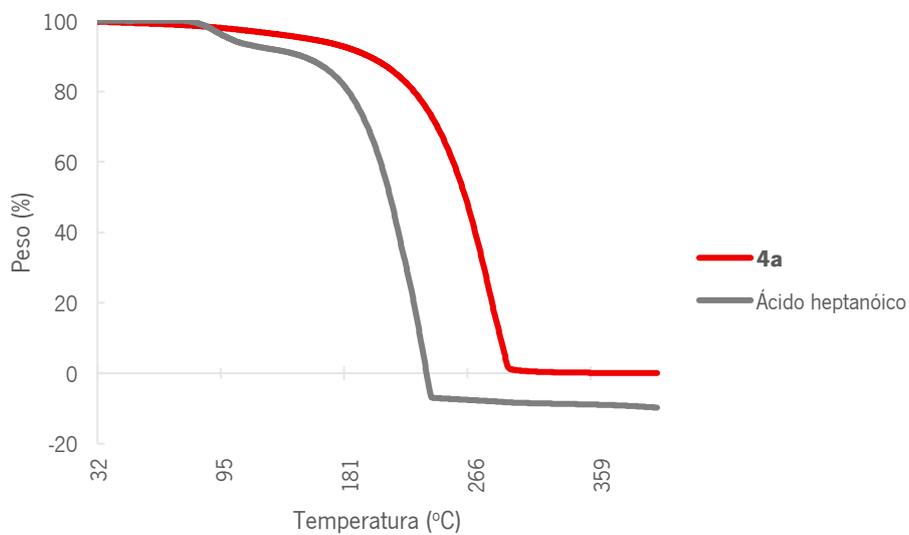


NOTA: As características perigosas do álcool 1-decanol impediram a realização deste ensaio.

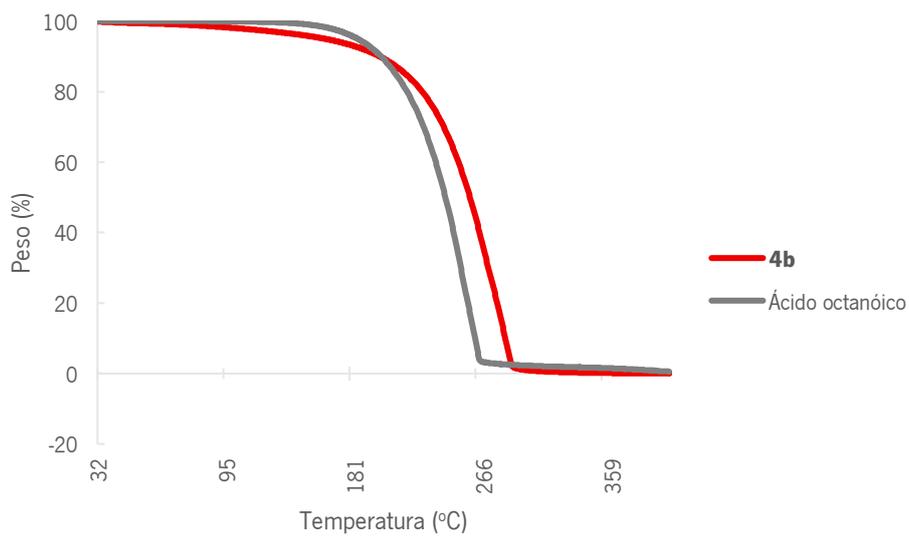
#### Anexo 4

Devido à avaria do equipamento para o ensaio, em todos os termogramas os valores respetivos ao álcool de partida não são apresentados.

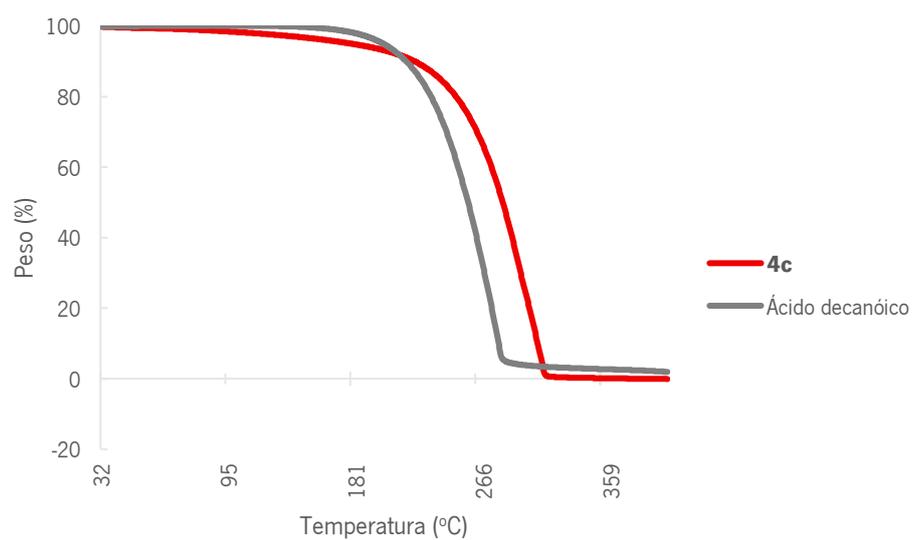
Termogramas do composto **4a** e do respetivo ácido



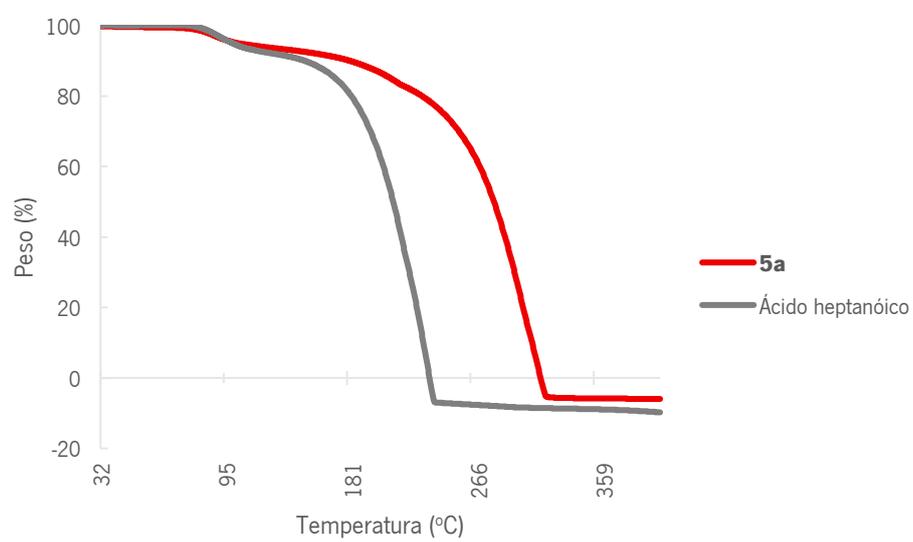
Termogramas do composto **4b** e do respetivo ácido



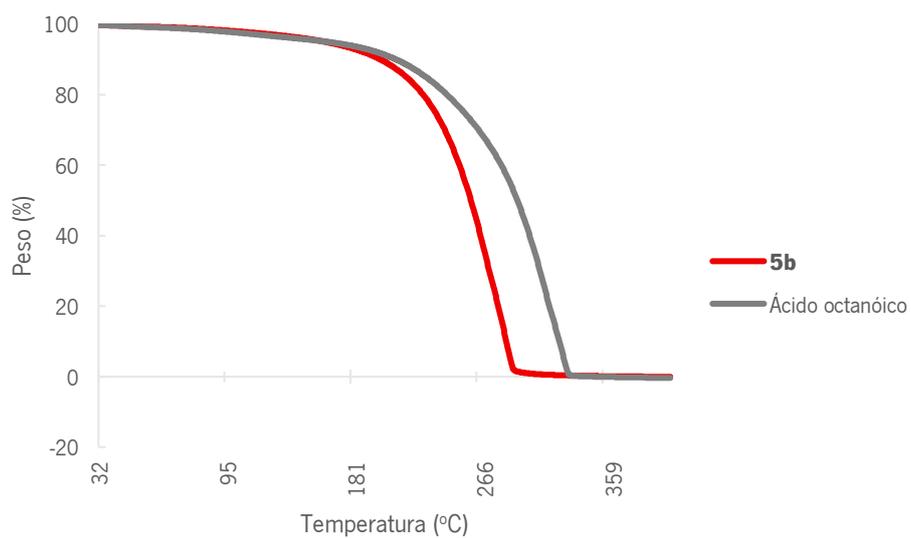
Termogramas do composto **4c** e do respetivo ácido



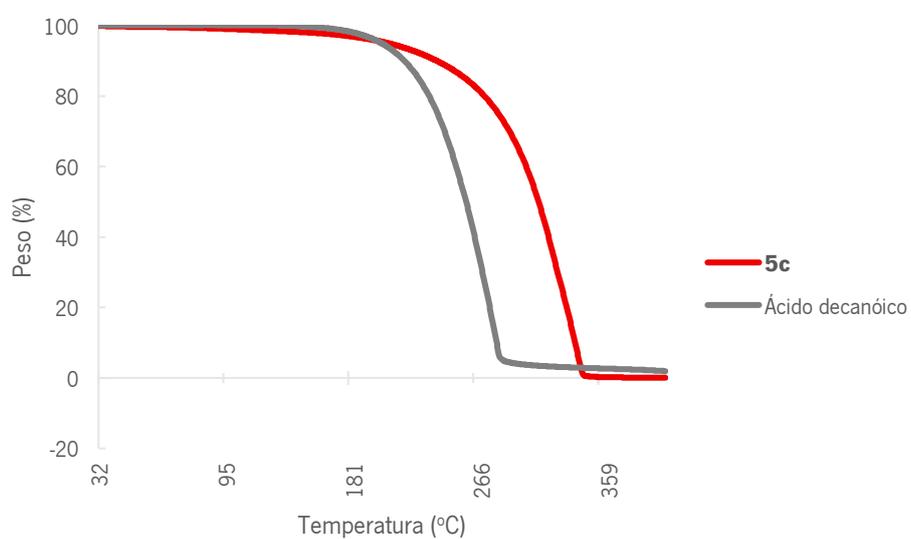
Termogramas do composto **5a** e do respetivo ácido



Termogramas do composto **5b** e do respetivo ácido



Termogramas do composto **5c** e do respetivo ácido



Anexos

Termogramas do Ciclopentasiloxano, Óleo de silicone 5 cSt e do Cetiol® CC

