



## **AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE MEDIANTE APLICAÇÃO DE LASER EM SOLUÇÃO MICELAR**

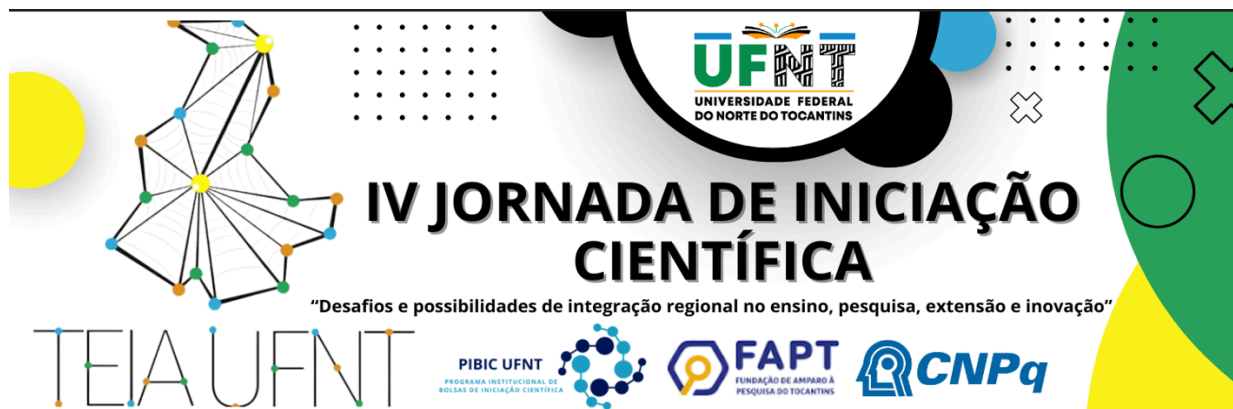
**DIONIZIO**, Lucas Menezes<sup>1</sup>; **LINS**, Renata Ferreira<sup>2</sup>;

### **RESUMO**

O oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) é uma espécie excitada do oxigênio molecular, altamente reativa e com aplicações relevantes em processos fotodinâmicos, incluindo terapias antimicrobianas e oncológicas. Entre os fotossensibilizadores mais utilizados, destaca-se o azul de metileno (MB), capaz de gerar  $^1\text{O}_2$  de maneira eficiente quando ativado por radiação em 660 nm. A quantificação dessa espécie reativa é usualmente realizada por meio do consumo da sonda química 1,3-difenilsobenzofurano (DPBF), que reage seletivamente com o  $^1\text{O}_2$ , apresentando diminuição da absorvância em torno de 420 nm. Contudo, fatores do microambiente, como a presença de surfactantes e antioxidantes, podem alterar significativamente a geração e a detecção do  $^1\text{O}_2$ . Nesse contexto, o presente trabalho investigou a influência do meio micelar formado pelo polisorbato 80 e da adição de  $\alpha$ -tocoferol sobre a disponibilidade do  $^1\text{O}_2$  produzido pelo MB. Foram preparadas amostras contendo três sistemas distintos: (1) MB + DPBF, (2) MB + DPBF + polisorbato 80 e (3) MB + DPBF + polisorbato 80 +  $\alpha$ -tocoferol. Cada solução (3 mL em cubeta de quartzo) foi irradiada em intervalos de até 180 segundos, utilizando laser de 660 nm (100 mW). As medidas de absorvância em 420 nm foram monitoradas em

<sup>1</sup> Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC/PIBITI). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Integradas. lucas.dionizio@ufn.edu.br.

<sup>2</sup> Professora Doutora da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), coordenadora do projeto de extensão. renata.ferreira@ufnt.edu.br



espectrofotômetro, e a taxa de consumo do DPBF foi determinada por regressão linear da curva de  $\ln(A(t)/A_0)$  em função do tempo, permitindo calcular a constante aparente de velocidade ( $k$ ). Os resultados mostraram que, na condição controle (MB + DPBF), houve a maior taxa de consumo da sonda, confirmando a intensa produção de  $^1O_2$ . Com a adição do polisorbato, observou-se redução da constante de velocidade, sugerindo que o surfactante modifica o microambiente da reação e limita a difusão do  $^1O_2$  até o DPBF. Na presença de  $\alpha$ -tocoferol, a taxa de consumo foi ainda menor, evidenciando a capacidade antioxidante do composto em neutralizar parte do  $^1O_2$ . Conclui-se que tanto o ambiente micelar quanto o antioxidante modulam significativamente a detecção do  $^1O_2$ . Esses achados possuem implicações práticas distintas: enquanto em terapia fotodinâmica a redução da disponibilidade de  $^1O_2$  pode comprometer a eficácia terapêutica, em formulações farmacêuticas e cosméticas esse efeito se mostra desejável, por aumentar a estabilidade de produtos fotossensíveis.

**Palavras-chave:** Oxigênio singleto; Azul de metileno; Terapia fotodinâmica;

## I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

O oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) é uma espécie excitada do oxigênio molecular, altamente reativa, com papel central em processos fotoquímicos e fotobiológicos, como na terapia fotodinâmica (PDT) e na proteção de formulações farmacêuticas e cosméticas sensíveis à luz. Entre os fotossensibilizadores, o azul de metileno (MB) destaca-se por sua eficiência na produção de  $^1O_2$  quando ativado por radiação em torno de 660 nm, sendo sua detecção comumente realizada por meio da degradação da sonda 1,3-difenilsobenzofurano (DPBF).

A eficiência da geração de  $^1O_2$  depende do microambiente químico. Surfactantes como o polisorbato 80 podem formar micelas que alteram a difusão das



espécies reativas, enquanto antioxidantes como o  $\alpha$ -tocoferol atuam sequestrando o  $^1\text{O}_2$ . Investigar como esses componentes modulam a geração e detecção do oxigênio singleto é essencial para conciliar a manutenção da reatividade desejada em aplicações terapêuticas com a proteção contra oxidação em produtos cosméticos e farmacêuticos, contribuindo para estratégias mais eficazes e seguras.

## II. BASE TEÓRICA

O oxigênio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) é a principal espécie reativa envolvida em processos fotodinâmicos, sendo sua detecção realizada por sondas como o DPBF, cuja degradação indica a disponibilidade da espécie (ENTRADAS, 2020; MARTIN; MARIN, 2015;). Estudos recentes reforçam a relevância desse processo em sistemas mediados pelo azul de metileno (SZEWCZYK et al., 2025). O microambiente químico pode influenciar diretamente essa geração. Surfactantes como o polisorbato formam micelas que alteram a difusão e reatividade do  $^1\text{O}_2$ , funcionando como barreiras difusionais (KUZNETSOVA; YAROSHENKO, 2014; MÁRTIR; BRAUN, 1994).

Outro modulador importante é o  $\alpha$ -tocoferol, capaz de neutralizar o  $^1\text{O}_2$  por mecanismos de quenching físico e químico, reduzindo sua disponibilidade (FUKUZAWA et al., 1998; NIKI, 2014). Embora isso possa comprometer a eficiência da terapia fotodinâmica, é vantajoso na proteção de formulações sensíveis (ATKINSON, 2007). A escolha do azul de metileno como fotossensibilizador se deve à sua ampla caracterização, eficiência fotodinâmica e ativação em luz visível (BUCK, 2009; DUTRA, 2013; ELIAS, 2021).

## III. OBJETIVOS

- Objetivo geral



Investigar como o meio micelar de polisorbato e a presença de  $\alpha$ -tocoferol influenciam a geração e detecção de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) produzido pelo azul de metileno ativado por laser, utilizando o DPBF como sonda química.

- Objetivos específicos
  - Comparar a taxa de consumo do DPBF nos diferentes sistemas estudados (MB+DPBF; MB+DPBF+polisorbato; MB+DPBF+polisorbato+ $\alpha$ -tocoferol);
  - Avaliar o efeito do meio micelar na disponibilidade de  $^1O_2$ ;

#### IV. METODOLOGIA

As amostras foram preparadas com azul de metileno (MB) como fotossensibilizador, DPBF como sonda química, polisorbato 80 como surfactante e  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante, em soluções estoques de DMSO e água ultrapura, protegidas da luz. Na primeira etapa, investigaram-se diferentes concentrações de MB (6,25–25  $\mu$ M) em meio micelar; na segunda, MB foi fixado em 6,25  $\mu$ M, e o DPBF a 44  $\mu$ M. As amostras foram testadas em três condições: MB + DPBF; MB + DPBF + polisorbato; e MB + DPBF + polisorbato +  $\alpha$ -tocoferol. Cada amostra (3 mL) foi irradiada com laser de 660 nm e a absorbância em 420 nm monitorada. A taxa de consumo do DPBF foi calculada a partir da regressão linear de  $\ln(A(t)/A_0)$  versus tempo, permitindo determinar a constante cinética aparente e a eficiência antioxidante do  $\alpha$ -tocoferol. Ensaios-controle foram realizados sem fotossensibilizador, sem irradiação e sem sonda.

#### V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo investigou a geração de oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) pelo azul de metileno (MB) fotoativado, usando a degradação do DPBF como sonda. Concentrações mais baixas de MB favoreceram maior geração homogênea de  $^1O_2$ .

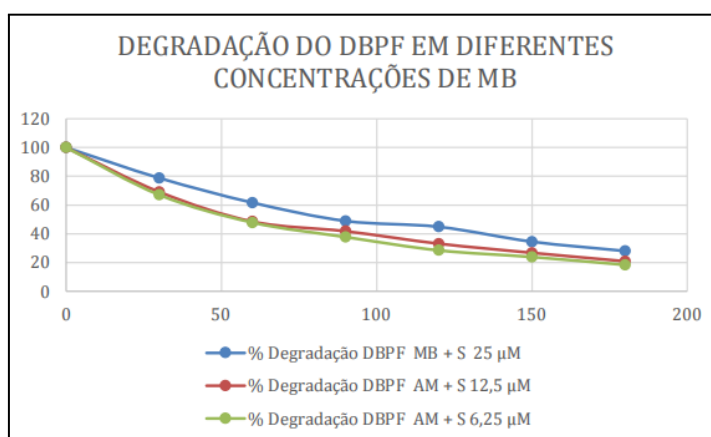


Figura 2: Curvas de degradação do DPBF em diferentes concentrações de MB ao longo do tempo de irradiação.

Com MB a 6,25  $\mu\text{M}$ , testou-se o efeito de um surfactante (polisorbato 20) e do antioxidante  $\alpha$ -tocoferol. O surfactante reduziu a taxa de consumo do DPBF, indicando que dificulta o acesso do  $^1\text{O}_2$  à sonda. A adição do  $\alpha$ -tocoferol diminuiu ainda mais essa taxa, confirmando sua ação neutralizadora eficiente sobre o  $^1\text{O}_2$ .

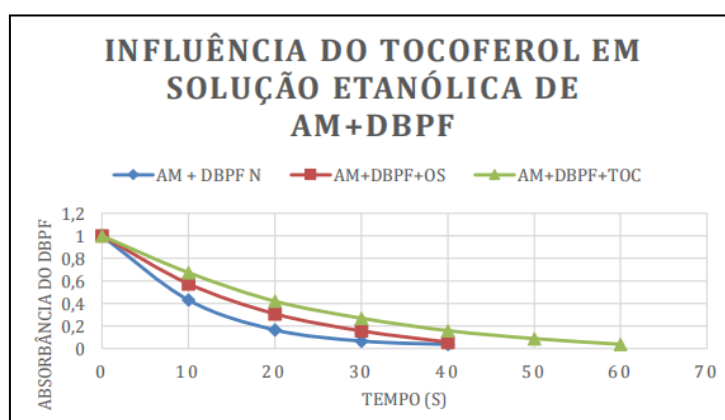


Figura 4: Perfis de absorvância do DPBF em 420 nm ao longo do tempo para as três condições experimentais.



A análise cinética mostrou que o polisorbato conferiu proteção parcial ao DPBF (32%), enquanto o  $\alpha$ -tocoferol aumentou essa proteção para 52%, evidenciando seu papel como quencher físico e químico do  $^1O_2$ .

Esses resultados têm implicações práticas: em Terapia Fotodinâmica, antioxidantes podem reduzir a eficácia citotóxica do  $^1O_2$ , enquanto em formulações cosméticas ou farmacêuticas, atuam como proteção contra degradação foto-oxidativa.

## VI. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo mostrou que o azul de metileno ativado por laser gera oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), cuja disponibilidade é reduzida pelo polisorbato e ainda mais pelo  $\alpha$ -tocoferol, evidenciando a ação antioxidante deste último. Esses resultados indicam que a interação entre fotossensibilizador, surfactante e antioxidante influencia o comportamento do sistema, sendo prejudicial à eficácia da terapia fotodinâmica, mas benéfica em formulações cosméticas e farmacêuticas ao proteger contra a foto-oxidação.

## VII. REFERÊNCIAS

AMANI, A.; SALLOUM, G.; KHALIL, M. Molecular simulation of Tween 80 micelles: insights into surfactant aggregation. *Journal of Molecular Liquids*, v. 158, n. 2, p. 122–128, 2011.

BAPTISTA, M. S.; WAINWRIGHT, M.; DOLPHIN, D. Photosensitizers: molecular design and applications in photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, v. 93, n. 4, p. 912–929, 2017.

BUCK, H. M. Methylene blue as a versatile photosensitizer. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 208, p. 115–120, 2009.



BURTON, G. W.; TRABER, M. G. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annual Review of Nutrition*, v. 10, p. 357–382, 1990.

DUTRA, C. E. Azul de metileno como fotossensibilizador em terapia fotodinâmica: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 49, n. 3, p. 415–423, 2013.

ELIAS, A. A. Azul de metileno em aplicações biomédicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 42, p. 125–133, 2021.

ENTRADAS, T. Studies on singlet oxygen generation and detection. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 19, p. 485–499, 2020.

FUKUZAWA, K.; TOKUMURA, A.; TSUKAMOTO, Y. Kinetics and dynamics of singlet oxygen scavenging by  $\alpha$ -tocopherol. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 300, p. 517–522, 1998.

KUZNETSOVA, N.; YAROSHENKO, I. Influence of micellar systems on photophysical processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 130, p. 245–251, 2014.

MÁRTIRE, D. O.; BRAUN, A. M. Interactions of singlet oxygen with surfactant micelles. *Langmuir*, v. 10, p. 467–471, 1994.

MARTIN, J. P.; MARIN, C. Application of DPBF as a singlet oxygen probe. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 300, p. 30–37, 2015.

NIKI, E. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 66, p. 3–12, 2014.

SZEWCZYK, A. et al. Singlet oxygen in photodynamic therapy: generation, detection and biological implications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 241, p. 112–118, 2025.

## VIII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins – FAPT – Tocantins, Brasil