

DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE DE NANOEMULSÕES CONTENDO O ÓLEO DE FRAMBOESA¹

DEVELOPMENT AND STABILITY OF NANOEMULSIONS CONTAINING THE RASPBERRY OIL

Andriéle Pinheiro Pinton² e Luis Otavio de Sousa Bulhões³

RESUMO

A estabilidade de nanoemulsões depende da interação interfacial entre as suas fases imiscíveis. Para o desenvolvimento de sistemas emulsionados estáveis, é importante conhecer o valor do número do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) da fase oleosa. Por causa da importância do óleo de framboesa, que contém uma fração de ácido oleico (ômega 9) o qual está associado com o fator de crescimento e com a regeneração dos tecidos dérmicos, o óleo pode atuar no tratamento de eritemas e da psoríase. Este estudo está focalizado na formulação de uma nanoemulsão do tipo óleo em água estável de óleo de framboesa com o objetivo de aumentar a bioacessibilidade para o ácido oleico. A sua potencialidade como ingrediente para cosméticos foi caracterizada em nanoemulsões do tipo óleo em água, determinando o EHL do óleo, com a utilização de medidas do tamanho de gotículas. As nanoemulsões foram preparadas pelo método de inversão de fases com uma mistura de tensoativos, variando o valor do EHL. O menor tamanho de gotas, 137 nm, foi obtido para a nanoemulsão com 5% w/w de óleo de semente de framboesa e uma mistura de surfactantes com um EHL igual a 10,7. O óleo é estável até 150°C, e a queima total sem resíduos inorgânicos ocorre na faixa de 350 a 450°C. O pH das formulações é próximo de 6,0, o que as torna adequadas para uso tópico.

Palavras-chave: ácido oleico, análise físico-química, dispersões óleo em água, equilíbrio hidrófilo-lipófilo.

ABSTRACT

The stability of nanoemulsions depends on the interfacial interaction between their immiscible phases. For the development of stable emulsion systems, it is important to know the value of the hydrophile-lipophile balance number (HLB) of the oil phase. Because of the importance of raspberry oil containing a fraction of oleic acid)omega-9(which is associated with the growth factor and regeneration of dermal tissue, the oil may act in the treatment of erythema and psoriasis. This study focuses on the formulation of an nanoemulsion of the oil in water type, of raspberry oil with the objective of increasing the bioaccessibility for oleic acid. Its potential as an ingredient for cosmetics was characterized in nanoemulsions in the oil in water type, for determining the HLB of the oil, with the use of droplet size measurements. The nanoemulsions were prepared by the method of phase inversion with a mixture of surfactants, with a variety in the value of HLB. The smaller droplet size, 137 nm, was obtained for the nanoemulsion with 5% w/w of raspberry seed oil and a mixture of surfactants with an HLB equal to 10.7. The oil is stable up to 150°C, and the total burning without inorganic residues is in the range of 350 to 450°C. The pH of the formulations is close to 6.0, which makes them suitable for topical use.

Keywords: oleic acid, physical and chemical analysis, oil in water dispersions, hydrophile-lipophile equilibrium.

¹ Trabalho realizado no Programa de Pós-graduação em Nanociências.

² Aluna de mestrado do Programa de Pós-graduação em Nanociências - Centro Universitário Franciscano.

³ Orientador - Professor do Programa de Pós-graduação em Nanociências - Centro Universitário Franciscano.

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia aplicada à cosmética consiste em colocar princípios ativos em partículas pequenas, capazes de penetrar nas camadas mais profundas da pele, potencializando os efeitos dos ativos. Com isso, produtos nanotecnológicos conseguem atuar na camada basal, local de origem das células da pele (BAUMANN, 2004). As nanoemulsões são caracterizadas por formar sistemas estáveis com diâmetros de gotículas na faixa de 50 a 500 nm, apresentando uma aparência translúcida quando o tamanho dos glóbulos for inferior a 100 nm e aparência leitosa para diâmetros maiores (FERNANDEZ et al., 2004). Os tensoativos são os compostos responsáveis pela estabilidade das nanoemulsões, sendo que esses compostos anfífilicos posicionam-se entre as duas fases da emulsão (aquosa e oleosa), o que dá origem a uma película interfacial que estabiliza o sistema (FERNANDEZ et al., 2004). A utilização de óleos vegetais em formulações para uso dermatológico e cosmético tem sido cada vez mais ampla, pois repõe as frações lipídicas, além de promover a hidratação (TADROS; KESSELL, 2004). Os óleos vegetais são habitualmente incorporados em formulações cosméticas emulsionadas (FERNANDEZ et al., 2004).

A framboesa possui um grande potencial nutracêutico, por suas propriedades antioxidantes, anticancerígenas e anti-inflamatórias e por atuar como agente quimiopreventivo, devido ao alto teor de antocianinas e de outros compostos fenólicos (TULIO et al., 2008; KAHKONEN et al., 2001). O óleo produzido pela prensagem da semente contém ácidos graxos essenciais: ácido oleico, alfa linolênico e gama linolênico. Esses óleos essenciais apresentam propriedades cosmeceúticas importantes com grande potencial para a criação de produtos promissores no mercado cosmético (KAHKONEN et al., 2001). O óleo de framboesa contém como componentes principais *p-anisidina*, 12,2% de proteína e 11-23% de óleo. A composição do óleo de framboesa contém 54,5% de ácido linolêico, 29,1% de ácido alfa-linolênico, 12% de ácido oleico e 4% de ácidos graxos saturados (OOMAH et al., 2000). Além disso, esse óleo é rico em tocoferol, que é encontrado nas amostras o alfa-tocoferol, beta-tocoferol e gama-tocoferol (BRAMLEY et al., 2000). Tem uma boa resistência à oxidação e estabilidade durante o armazenamento. O fracionamento do óleo de semente de framboesa bruto rende 93,7% de lipídeos neutros, 3,5% de fosfolipídeos e 2,7% de ácidos graxos. O óleo de semente de framboesa absorve na região do UVB e UVC, o que o faz com que tenha potencial para o uso como um fotoprotetor UV de amplo espectro (OOMAH et al., 2000; BUSHMAN et al., 2004).

Consideráveis quantidades de tocoferóis foram encontradas no óleo, principalmente o α -tocoferol e, por isso, é conhecido por suas propriedades antioxidantes. É um triglicerídeo primário composto de aproximadamente 80 a 85% de ácidos graxos essenciais. Esses ácidos graxos essenciais são conhecidos por facilitar a penetrabilidade de ativos lipofílicos na pele e por conterem mecanismos de proteção e regeneração da pele. Aumentam a efetividade em creme facial, creme

para o corpo, produtos de tratamento na região dos olhos, protetores solares, produtos de tratamentos para cabelos danificados e secos, pois tem benefícios, como penetração, hidratação e retenção de umidade na pele (OOMAH et al., 2000). O ácido oleico, em especial, contém a expressão da proteína do fator de crescimento que desempenha um papel importante na regeneração dos tecidos dérmicos e pode atuar com uma cinética rápida na restauração de eritemas e no equilíbrio da epiderme em portadores da psoríase.

A incorporação de óleo de semente de framboesa em cosméticos e em produtos farmacêuticos, por suas propriedades anti-inflamatórias, é útil para a prevenção de gengivite, erupção cutânea, eczema e outras lesões de pele. A atividade anti-inflamatória do óleo de semente de framboesa foi superior em comparação com os de outros óleos bem conhecidos, como o óleo de abacate virgem, óleo de semente de uva, óleo de avelã e óleo de germe de trigo. De acordo com trabalhos da literatura, o óleo de semente de framboesa pode ser usado como um filtro solar e em produtos cosméticos (POURRAT; CARNAT, 1981).

A psoríase é uma doença sistêmica inflamatória crônica, não contagiosa, que acomete cerca de 2% da população mundial. Na pele normal, as células da epiderme são formadas no plano basal e se transformam por queratinização até o topo da epiderme. Esse processo de renovação celular ocorre em um mês. Com a psoríase, esse processo ocorre em poucos dias, acumulando as células na superfície da epiderme (turnover epidérmico elevado) e pode ocorrer em várias regiões do corpo (SHAI et al., 2006; SCHAEFER et al., 2008; ICEN et al., 2009).

Emulsões estáveis são formuladas por meio de uma combinação de tensoativos sintéticos com o número do equilíbrio hidrofílico lipofílico (EHL) próximo ao valor do número do EHL do óleo. A estabilidade das emulsões do tipo óleo em água (O/A) pode ser obtida pela otimização da mistura de emulsificantes hidrofílicos e lipofílicos. Segundo pesquisas, a similaridade estrutural dos agentes emulsificantes com a fase dispersa é essencial para a estabilidade da emulsão; e a estabilidade pode ser favorecida pelo complexo formado entre o agente de viscosidade (GULLAPALLI; SHETH, 1999).

As nanoemulsões estáveis podem ser obtidas por um processo de emulsificação de baixa energia, a emulsificação por inversão de fase (FERNANDEZ et al., 2004), que transforma espontaneamente uma emulsão do tipo água em óleo para óleo em água com o aumento da quantidade de água no sistema. A estabilidade da emulsão é controlada pela presença de tensoativos na película interfacial (HOLMBERG, 2010).

Neste trabalho, foi realizado um estudo para determinar a estabilidade térmica do óleo de framboesa durante o processamento para a obtenção de nanoemulsões. Foi avaliada a estabilidade de emulsões do tipo óleo em água com misturas de tensoativos com o objetivo de determinar o número do equilíbrio hidrófilo lipófilo (EHL) do óleo de framboesa e desenvolver nanoemulsões para uso tópico, devido à presença do ácido oleico como um dos componentes do óleo.

METODOLOGIA

REAGENTES

Óleo de semente de framboesa (*Seiva Brasilis*), Monooleato de sorbitano (SPAN 80, Sigma Aldrich), Polissorbato 80 (TWEEN 80, Via Farma) e Imidazolidinyl ureia (Germal®) foram utilizados como recebidos. A água para o preparo das soluções foi purificada pelo processo de osmose reversa.

ANÁLISE TÉRMICA

A análise térmica do óleo de framboesa foi realizada com a utilização do sistema de análise térmica da TA Instruments modelo 2000. Para a análise, 8 mg do óleo foram colocadas no cadinho, e a variação de massa foi medida em função da temperatura em atmosfera de ar com a temperatura variando por 20°C/min.

PREPARO DAS NANOEMULSÕES

Foram desenvolvidas nanoemulsões do tipo óleo em água, contendo o óleo de framboesa. As emulsões foram preparadas com óleo de framboesa e uma mistura de tensoativos, o polissorbato 80 (Tween 80® - EHL 15) e o monooleato de sorbitano 80 (Span 80® - EHL 4,3). A composição dos tensoativos na emulsão foi variada, e na fase aquosa, foi adicionado o Germal Plus como preservante. Foi otimizada a proporção de tensoativos com a quantidade de óleo de framboesa a 5% e água na mistura, e a condição ótima associada com um EHL da mistura de tensoativos, entre 5,0 e 12,0. Esse valor de EHL corresponde ao valor requerido para essa mistura e está na mesma porção das proporções de constituintes do EHL para o óleo de framboesa, que é 10,0. As emulsões foram preparadas pelo método de inversão de fases. As fases aquosa e oleosa foram aquecidas em recipientes separados a 75°C. Posteriormente, foi vertida a fase aquosa na oleosa com uma agitação inicial de 700 rpm durante 5 minutos, no equipamento RW 20 digital – IKA®. Assim, obteve-se a emulsão simples e, posteriormente, resfriada a 15°C e agitada a 25000 rpm, no equipamento Turrax T18 – IKA®, durante 5 minutos, obteve-se a emulsão homogeneizada.

A avaliação da estabilidade foi realizada com medidas de cremeação, tamanho médio de partículas comparando a evolução do índice de polidispersão com o tempo e potencial zeta.

A composição das nanoemulsões preparadas neste trabalho estão descritas na tabela 1. Para determinação do EHL requerido, utilizou-se o par de tensoativos polissorbato 80 (Tween 80® – EHL 15) e para o monooleato de sorbitano 80 (Span 80® – EHL 4,3), a uma concentração a 5%, utilizou-se a equação 1 para o cálculo do EHL resultante.

$$EHL_R = EHL_A \times 0,01A + EHL_B \times 0,01B \quad (1)$$

em que $A + B = 100\%$, A é a porcentagem de tensoativo hidrofílico; B a porcentagem de tensoativo lipofílico; EHL_R o número do Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico Resultante; EHL_A o número do Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico de A; e EHL_B o número do Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico de B.

Tabela 1 - Composição das nanoemulsões contendo o óleo de framboesa para cada valor do número do Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico (EHL).

EHL Nanoemulsões	Óleo de Framboesa % m/m	Span 80 % m/m	Tween 80 % m/m	H ₂ O % m/m	Germal %m/m
5,0	5	4,67	0,33	89,80	0,20
6,0	5	4,20	0,80	89,80	0,20
7,0	5	3,74	1,26	89,80	0,20
8,0	5	3,27	1,73	89,80	0,20
9,0	5	2,80	2,20	89,80	0,20
10,0	5	2,30	2,70	89,80	0,20
10,3	5	2,20	2,80	89,80	0,20
10,5	5	2,10	2,90	89,80	0,20
10,7	5	2,01	2,99	89,80	0,20
11,0	5	1,87	3,13	89,80	0,20
12,0	5	1,40	3,60	89,80	0,20

AVALIAÇÃO DO PH

Para as medidas de pH, foi utilizado um pHmetro digital potenciômetro Digimed® equipado com um eletrodo de vidro combinado. O sistema foi previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. As amostras foram analisadas à temperatura de $25,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$, com imersão direta do eletrodo na amostra, que foi diluída em água na proporção de 1:10 (nanoemulsão:água).

MEDIDAS DE DIÂMETRO MÉDIO, POTENCIAL ZETA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIVIDADE

As determinações de distribuição do diâmetro médio e do índice de polidispersão das partículas na emulsão foram realizadas por meio de espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer® Nanoseries). As suspensões foram diluídas 500 vezes em água Milli-Q®, e os resultados foram determinados a partir da média de três repetições.

O potencial zeta das nanoemulsões foi obtido por eletroforese (Zetasizer® Nanoseries). Essa determinação foi realizada após diluição de 500 vezes (v/v) das emulsões em solução aquosa contendo NaCl 10 mM. Os resultados foram obtidos a partir da média de três determinações.

ANÁLISE DE CREMEÇÃO

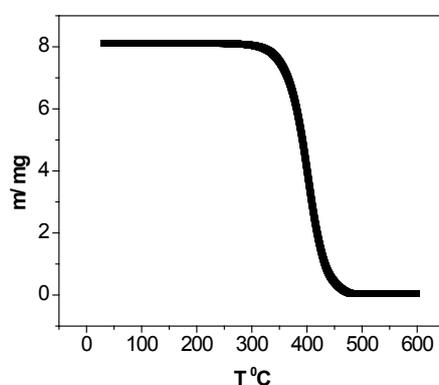
A análise de cremeação das nanoemulsões simples e homogêneas foi realizada em tubos de ensaio graduado (10 cm). Logo após a formulação das nanoemulsões, estas foram acondicionadas

nos tubos graduados e foi analisado seu comportamento de cremeação após 24h, 48h do preparo das nanoemulsões para avaliar a estabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise térmica foi realizada para avaliar se, na temperatura de processamento do sistema entre 60 a 80°C, ocorre perda de massa. Conforme os resultados, apresentados na figura 1, observa-se que a primeira variação de massa ocorre na faixa de 150 a 200°C. A queima total (sem resíduos) ocorre na faixa de 350 a 450°C. A partir da análise térmica, pode-se assegurar que o óleo de semente de framboesa é termicamente estável na temperatura de processamento para a obtenção de nanoemulsões na faixa de 60 a 80°C.

Figura 1 - Curva da análise térmica do óleo de framboesa obtida a 20°C/min em atmosfera com ar.



Na tabela 2, apresentam-se os perfis de cremeação e o tamanho de gotículas para as emulsões de óleo de framboesa preparadas com o número do EHL variando entre 5 a 12 para as emulsões simples.

Tabela 2 - Perfil de cremeação e tamanho das gotículas para as emulsões simples preparadas com diferentes valores do número do Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo (EHL).

EHL	Perfil de cremeação (%)	Tamanho das gotículas (µm)
5	10	2,9
6	22,5	4,0
7	12,5	2,9
8	10	2,8
9	10	2,9
10	90	1,7
10,3	90	2,4
10,5	90	2,8
10,7	90	0,43
11	10	1,2
12	10	1,9

Os resultados mostrados na tabela 2 indicam que o maior perfil de cremeação é 90% e está na faixa de menor diâmetro das gotículas, conforme proposto na literatura (GULLAPALLI; SHETH, 1999).

Para complementar a análise e determinar com maior precisão o número do EHL, são apresentados, na tabela 3, os mesmos dados que os apresentados para a emulsão simples. As emulsões simples foram homogeneizadas durante 5 min a 25000 rpm e observa-se, conforme exposto na tabela 3, uma alta homogeneidade para as nanoemulsões com uma mistura de tensoativos com o número do EHL maior do que 7, e a nanoemulsão com menor diâmetro corresponde à dispersão com EHL 10,7, que apresenta o valor mínimo para o diâmetro.

Nas nanoemulsões homogeneizadas, o pH fica próximo de 6,0 para todas as composições. A estabilidade em longo prazo das emulsões está sendo realizada, e os resultados indicam que o número do EHL para a obtenção de nanoemulsões estáveis deve ser da ordem de 10,7, que apresenta o menor tamanho de gotículas e o menor IPD. A presença de múltiplos óleos torna a emulsão de óleo de framboesa um caso particular com um número de EHL necessário para a sua estabilidade com a característica dessa mistura de óleos.

Tabela 3 - Perfil de cremeação, tamanho das gotículas, índice de polidispersão (IPD) e pH para as emulsões homogeneizadas preparadas com diferentes valores de número do Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo (EHL).

EHL	Perfil de cremeação (%)	Tamanho das gotículas (nm)	IPD	pH
5	5	449 ± 51	0,6 ± 0,1	6,22 ± 0,2
6	5	397 ± 32	0,4 ± 0,2	6,02 ± 0,2
7	100	286 ± 26	0,5 ± 0,1	5,8 ± 0,2
8	100	253 ± 20	0,4 ± 0,1	5,9 ± 0,2
9	100	215 ± 16	0,4 ± 0,1	5,99 ± 0,2
10	100	176 ± 12	0,2 ± 0,1	6,14 ± 0,2
10,3	100	158 ± 9	0,3 ± 0,1	6,59 ± 0,2
10,5	100	149 ± 8	0,3 ± 0,1	6,43 ± 0,2
10,7	100	137 ± 8	0,2 ± 0,1	6,43 ± 0,2
11	100	222 ± 12	0,4 ± 0,1	5,64 ± 0,2
12	100	141 ± 8	0,4 ± 0,1	5,52 ± 0,2

CONCLUSÕES

Foram desenvolvidas nanoemulsões estáveis com 5% m/m de óleo de framboesa, 5% m/m de uma mistura de tensoativos composta por polissorbato 80 e monooleato de sorbitano 80 e 0,2% de conservante em água purificada. As nanoemulsões com o número do EHL maior que 7,0 são estáveis, e o pH das formulações é próximo de 6,0, o que as torna adequadas para uso tópico. A nanoemulsão homogeneizada com o número do EHL igual a 10,7 é o sistema que apresenta o menor diâmetro médio de gotícula (137 nm) e alta homogeneidade, sendo esse valor considerado o EHL requerido para estabilizar a nanoemulsão do tipo o/a.

REFERÊNCIAS

BAUMANN, L. **Dermatologia Cosmética: Princípios Básicos**. Revinter, Rio de Janeiro: 2005. 238p.

BRAMLEY, P. M. et al. Vitamin E. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 80, p. 913-938, 2000.

BUSHMAN, B. S. et al. Chemical Composition of Caneberry (*Rubus* spp.) seeds and oils and their antioxidant potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7982-7987, 2004.

FERNANDEZ, P. et al. Nanoemulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and surfaces A: Physicochem Engineering Aspects**, v. 251, p. 53-58, 2004.

GULLAPALLI, R. P.; SHETH, B. B. Influence of an optimized non-ionic emulsifier blend on properties of oil-in-water emulsions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 48, p. 233-238, 1999.

HOLMBERG, K. Surfactant – templated nanomaterials synthesis. **J. Coll. Interf. Sci.**, v. 274, p. 355-364, 2010.

ICEN, M. et al. Trends in incidence of adult-onset psoriasis over three decades: a population-based study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 60, p. 394-401, 2009.

KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINONEN, M. Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4076-4082, 2001.

OOMAH, B. D. et al. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. **Food Chemistry**, v. 69, p. 187-193, 2000.

POURRAT, H.; CARNAT, A. P. Chemical composition of raspberry seed oil (*Rubus idaeus* L. Rosaceae). **Revue Francaise des Corps Gras**, v. 28, p. 477-479, 1981.

SCHAEFER, I. et al. Prevalence of skin diseases in a cohort of 48,665 employees in Germany. **Dermatology**, v. 217, p. 169-172, 2008.

SHAI, A.; MAIBARCH, H. I.; BARAN, R. **Handbook of Cosmetic Skin Care**. Inglaterra: Martin Dunitz®, 2006.

TADROS, T.; KESSELL, L. Stabilizing nanodispersions in personal care and cosmetic application. **Cosmetics and Toiletries**, v. 119, p. 41-46, 2004.

TULIO, J. R. A. Z. et al. Cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-xylosylrutinoside as primary phenolic antioxidants in black raspberry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 1880-1888, 2008.

