

Avaliação Projeto

Alunos (as): Amanda Marante Gimenez; Andressa Mitiko Sibata; Beatriz Kinchin de Souza; Camila Mafalda; Carolina Coelho Barretto Dias.

(Grupo 4, Turma A)

Título: Encapsulamento da vanilina em carreadores lipídicos nanoestruturados: uma alternativa para otimizar o aroma em cosméticos e perfumaria.

Nota: 8,0

- Cada grupo irá entregar um trabalho escrito de no máximo 12 páginas contendo:
 1. Resumo (1 página);
 2. Introdução (máximo de 2-3 páginas);
 3. Métodos utilizados (descrevendo as massas pesadas, equipamentos, vidrarias, etc.);
 4. Resultados e discussão;
 5. Potencial aplicação da nanoestrutura indicando um produto que poderá ser obtido com essa nanoestrutura;
 6. Conclusão;
 7. Referências (Letra Times New Roman, 12, espaçamento 1,5).

Resumo	Clareza e objetividade; uso correto dos conceitos; resumo adequado ao relatório do projeto; capacidade de síntese sem perda de informações.	(1,5 pontos) Resumo sucinto, porém adequado ao projeto (1,5)
Introdução	Embasamento teórico; contextualização; problematização; atualidade, originalidade e relevância.	(1,5 pontos) Sucinto. Poderiam ter comentado sobre a dificuldade de encapsular aromas, se pode degradar, se é estável termicamente, a questão da escolha dos lipídeos da formulação, características do aroma a ser encapsulado, faltou apresentar referências, outros estudos (1,0)

Métodos	Clareza e objetividade; descrição correta dos procedimentos; coerência dos métodos com o intuito do projeto.	(2,0 pontos) As características da vanilina foram apresentadas fora de uma seção, antes de material e métodos. Apenas apresentaram as características e não discutiram as dificuldades, desafios. (1,8)
Resultados e discussão	Capacidade de comunicação; articulação; clareza e objetividade; concordância com o problema e os objetivos.	(2,0 pontos) Discutiram como poderiam melhorar as formulações que obtiveram, porém não compararam com outros trabalhos. (1,8)
Potencial da nanoestrutura	Conhecimento da aplicação; referências adequadas.	(1,0 ponto) Comentaram sobre uma possível aplicação do produto. (1,0)
Conclusão	Clareza, objetividade, concordância com os objetivos.	(1,0 ponto) Concorda com os objetivos, resume os principais resultados. (1,0)
Referências	Organização, formatação; referências correspondem às citadas no texto.	(0,5 ponto) Referências não padronizadas (0,4)
Adequação à estrutura do documento	Formatação do documento; estrutura (resumo, introdução, métodos, resultados e discussão, conclusões, referências); número de páginas.	(0,5 ponto) Adequado (0,5).

Total: 8,0



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto



Farmacotécnica, Tecnologia de Medicamentos e Cosméticos V

Projeto: Encapsulamento da vanilina em carreadores lipídicos nanoestruturados: uma alternativa para otimizar o aroma em cosméticos e perfumaria.

Grupo 4 - Turma A

Amanda Marante Gimenez 11787051
Andressa Mitiko Sibata 11786901
Beatriz Kinchin de Souza 10746011
Camila Mafalda 11786915
Carolina Coelho Barretto Dias 11786791

Ribeirão Preto

2023

Resumo

O encapsulamento é um método utilizado para obter maior eficiência no uso de fragrâncias como forma de promover sua liberação de maneira controlada, aumentando a durabilidade do aroma. Sendo assim, o projeto tem como intuito promover o encapsulamento da vanilina, principal componente da baunilha, por meio de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) como forma de aumentar a eficiência de de encapsulação quando comparado com o uso de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS). O preparo da formulação envolveu o método de homogeneização por ultrassom, resultando na nanoemulsão pelo método ‘Top-down’. Foram realizadas duas formulações distintas na tentativa de obter os CLNs. Na primeira formulação utilizou-se a mistura de lipídeos de Manteiga de Karité e Ácido Esteárico e Tensoativo Span 80, entretanto, ocorreu separação de fases da formulação, e por isso não foi possível a realização de análises de qualidade e estabilidade. Com isso, na formulação dois foi alterada a proporção de lipídios para uma mistura de óleo de amêndoas e ácido esteárico e uso dos tensoativos Span 80 e Tween 80. Como resultado, foi possível obter os CLNs com alta heterogeneidade de tamanhos, sendo estes acima do que seria indicado para uso tópico em cosméticos com os benefícios característicos de nanoestruturas, sendo necessárias adaptações da formulação

Introdução

A vanilina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído) é o principal componente da essência da baunilha. Este aroma é muito requisitado na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica por conta de seu perfil adocicado e agradável. Esta substância é encontrada em sua forma natural na *Vanilla planifolia*, uma espécie de orquídea encontrada inicialmente no México. Apesar de atualmente grande parte da baunilha vendida mundialmente ser feita de forma artificial, a forma natural é ainda muito procurada principalmente para produzir perfumes, cosméticos e alimentos de alto padrão.

A encapsulação de fragrâncias, como a vanilina, é normalmente realizada em nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) já que permite sua liberação prolongada durante o uso do produto. A NLS é composta pelo ativo (fragrância), tensoativos e um tipo de lipídio sólido à temperatura ambiente e corporal. No entanto, esse método apresenta uma baixa eficiência de encapsulação por conta do ativo se encontrar nos espaços entre as cadeias lipídicas, oferecendo um menor espaço para este se “acomodar”, resultando, então, na liberação precipitada do ativo da nanoestrutura. Assim, surge como uma alternativa, a utilização de

carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs), uma vez que possuem melhor eficiência de encapsulação e menor expulsão do ativo por conta de sua organização interna. As CLNs, diferentemente das NLS, utilizam uma mistura de lipídeos sólidos em temperatura ambiente e corporal. A organização desta mistura de lipídeos pode ser classificada como imperfeita, amorfa ou múltipla, as quais permitem um aumento da distância entre as cadeias de ácidos graxos e, portanto, uma menor expulsão do ativo. As CLNs foi então o modelo escolhido neste projeto para nanoencapsular a vanilina. Para a obtenção deste modelo de nanopartículas é recomendado o uso da homogeneização de alta pressão à quente, uma vez que é muito eficaz para incorporar substâncias de natureza lipófila que são pouco ou nada solúveis em solvente orgânicos.

As vantagens do encapsulamento de fragrâncias podem ser resumidas em reduzir a degradação e evaporação do composto por formar uma barreira entre o ambiente externo e o ativo, melhoria das condições de armazenamento, promoção de liberação controlada (aumentando a durabilidade do aroma), aumento da funcionalidade, elevada estabilidade físico-química e, por fim, baixo custo de fabricação e facilidade de transferência do método para escala industrial.



Imagem 1: Flor da *Vanilla planifolia*, espécie na qual é obtido a essência natural da baunilha

Objetivos

Objetivo Principal: O principal objetivo deste projeto é desenvolver uma formulação para encapsular a vanilina em carreadores lipídicos nanoestruturados, visando aprimorar as fragrâncias de produtos cosméticos (via de administração tópica) que buscam incorporar o doce aroma da vanilina.

Objetivos Secundários:

1. Definir as matérias-primas, vidrarias, equipamentos e suas quantidades correspondentes necessárias para a fabricação da nanoestrutura.
2. Avaliar a eficácia da dispersão da fragrância encapsulada em formulações cosméticas e de perfumaria, explorando o potencial de aplicação dessa nanoestrutura em produtos finais (após finalizar a formulação final)

Características Físico-Químicas da Vanilina

Propriedades organolépticas: Sólido cristalino de coloração branca a levemente amarelado

Densidade a 20°C: 1,056

Ponto de fusão: 81°C

Fórmula química: C₈H₈O₃

Massa molar: 152,15 g/mol

Solubilidade: Água: 10 g/L (pouco solúvel)

Ligeiramente solúvel em álcool, clorofórmio éter, ácido acético, glicerol e piridina.

Log P: 1.21 (moderadamente lipofílica)

Constante de dissociação a 25°C (pKa) = 7,4

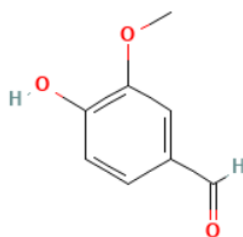


Imagem 2: Estrutura molecular da vanilina

Materiais e métodos

Materiais:

- | | |
|-------------------------|----------------------|
| Matérias primas: | - Manteiga de Karité |
| - Vanilina em pó | - Ácido Esteárico |

- Óleo de semente de uva
 - Span 80
 - Tween 80
 - Água destilada
 - 1 balança com 3 casas decimais
 - 2 bastões de vidro
 - 1 termômetro
 - Chapa de aquecimento
 - Homogeneizador ultrassônico
 - 1 frasco para a formulação final
 - Espátulas
- Vidrarias e equipamentos:**
- 1 béquer de 25 mL (Fase oleosa)
 - 1 béquer de 50 mL (Fase aquosa)
 - 1 barquinha

Método: Homogeneização por equipamento ultrassônico à quente.

Normalmente o método escolhido para a produção de CLNs é a homogeneização à alta pressão realizada à quente. Entretanto, buscando adaptar às condições no laboratório e equipamentos oferecidos, realizaremos através do método de homogeneização por ultrassom. O método é baseado no aquecimento de uma fase oleosa com a mistura de lipídeos escolhida (até sua fundição - 75°C) e da fase aquosa (tensoativos e água) em temperaturas iguais. Após esse aquecimento deve-se verter a fase aquosa na oleosa, formando a pré-emulsão.

A pré-emulsão é passada pelo homogeneizador de ponta ultrassônico enquanto ainda está quente para a obtenção da nanoemulsão e, em seguida, a nanoemulsão resultante é resfriada à temperatura ambiente, gerando as nanopartículas pelo método “Top-down”. O homogeneizador ultrassônico funciona gerando ondas sonoras de alta frequência (ultrassom) que são transmitidas através de uma sonda ou ponta de titânio ou aço inoxidável imersa no líquido a ser processado. Essas ondas ultrassônicas geram ciclos de alta pressão e baixa pressão no líquido, levando à formação e colapso de microbolhas. Esse fenômeno cria turbulência no líquido, quebrando aglomerados de partículas e promovendo a dispersão eficaz.

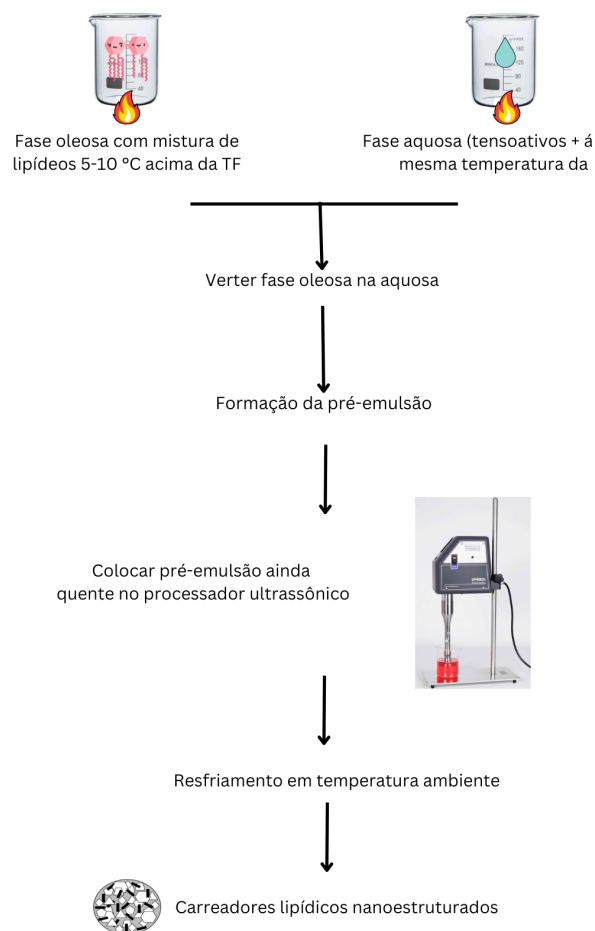


Imagem 3: Esquema do método utilizado em aula prática para produzir os carreadores lipídicos nanoestruturados

Formulação 1

(em % e gramas baseado em um produto final com 30g)

Ativo (Vanilina): 0,1%-0,5% (escolher uma porcentagem específica dentro deste intervalo com base na intensidade desejada do aroma)

- Massa: 0,03g - 0,15g

Lipídios (Mistura de Manteiga de Karité e Ácido esteárico): 5%

- 2,5% de cada
- Massa: 1,5g (0,75g de cada)
- PF manteiga de karité: 34° a 38°C
- PF ácido esteárico: 69,3°C

Tensoativo (Span 80): 3%

- Massa: 0,9g

Água: qsp 100%

- Massa: 27,45g - 27,6g

Teste da Formulação 1

O teste em laboratório foi feito, mas não foi possível realizar as análises de qualidade e estabilidade da formulação, pois ocorreu separação de fase. Na imagem 4, é possível visualizar o produto final do primeiro teste (foto tirada logo após a manipulação).

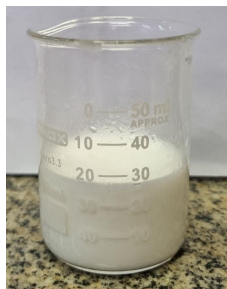


Imagem 4: Produto final após a manipulação da formulação 1

Resultados:

A partir deste resultado, o grupo avaliou a possibilidade de alterar a mistura de lipídeos e os tensoativos, assim como suas concentrações, para que no próximo teste fosse obtido um melhor resultado e que as análises pudessem ser feitas. Assim, foram feitas as pesquisas para que a formulação 2 fosse desenvolvida e posteriormente testada em aula.

Formulação 2

(em % e gramas baseado em um produto final com 30g)

Ativo (Vanilina): 0,1%-0,5% (escolher uma porcentagem específica dentro deste intervalo com base na intensidade desejada do aroma)

- Massa: 0,03g - 0,15g

Lipídios (Mistura de Óleo de Amêndoas e Ácido esteárico): 5%

- Óleo de amêndoas: 0,45g
- Ácido esteárico: 1,05g
- PF óleo de amêndoas: 22°C
- PF ácido esteárico: 69,3°C

Tensoativo (Span 80 + Tween 80): 3%

- Tween 80: 0,025g
- Span 80: 0,875g

Água: qsp 100%

- Massa: 27,45 - 27,57g

O método de preparação foi o mesmo utilizado para a formulação 1.

Teste da Formulação 2

Após a realização da formulação teste 1 o grupo discutiu e decidiu incluir mais um tipo de tensoativo, o Tween 80 (0,025g), além disso retirou-se a manteiga de karité e manteve o ácido esteárico, acrescentando o óleo de amêndoas (0,45g) com o objetivo de criar uma CLN múltipla com formação de nanocompartimentos oleosos. A proporção de tensoativos em relação a formulação 1 foi mantida (3%), apenas foi acrescentado mais um tensoativo na tentativa de criar as nanopartículas desejadas com distribuição homogênea (baixo PDI) e manter a formulação estável.

Resultados e discussão:

Após o preparo da segunda formulação, pudemos observar uma melhora significativa na sua análise visual, apresentando uma emulsão bem estruturada e mais clara. Após 24h, foram realizadas leituras no equipamento de DLS, onde obtivemos os seguintes resultados:

Results

	Size (d.nm...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1392	Peak 1: 762,6	72,0	107,9
Pdl: 1,000	Peak 2: 179,3	28,0	24,53
Intercept: 1,13	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality Refer to quality report

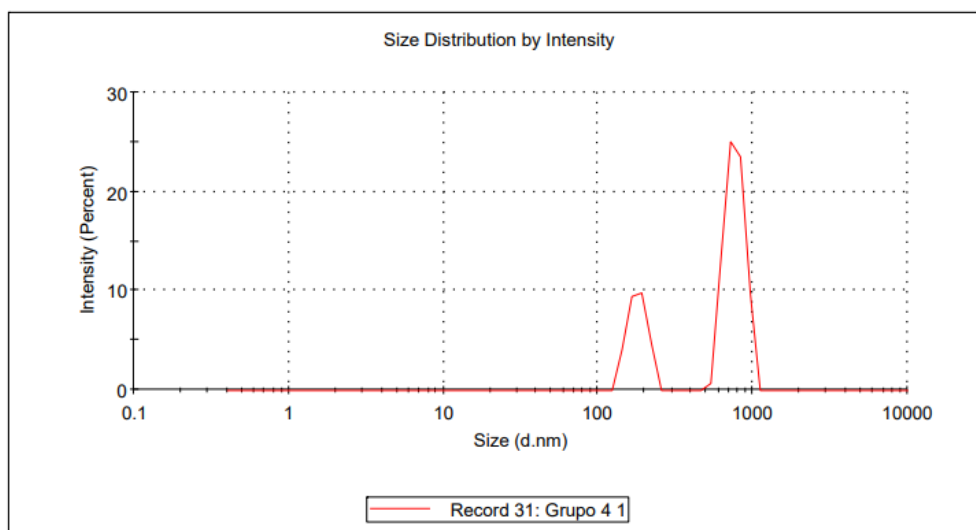


Imagem 5: Dados obtidos por DLS para avaliação do tamanho e PDI da formulação 2

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -36,1	Peak 1: -36,1	100,0	2,95
Zeta Deviation (mV): 2,95	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,118	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality Good

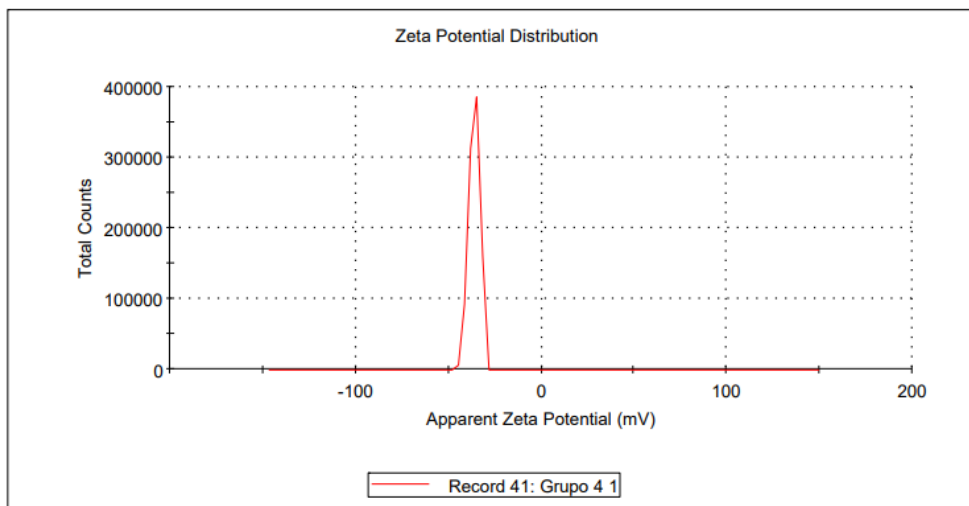


Imagem 6: Dados obtidos por DLS para avaliação do potencial zeta da formulação 2

Informações mais relevantes:

Tamanho	1392 nm
PdI	1
Potencial Zeta	-36,1

A partir da imagem 5, podemos ver no gráfico a presença de dois picos, podendo indicar a presença de contaminantes ou amostra com alta concentração resultando em múltiplos espalhamentos, isso levou a formação de nanopartículas com uma alta heterogeneidade de tamanhos, o que pode ser confirmado pela grande polidispersão medida (1,0).

Por ser uma nanoestrutura planejada para ser acrescentada em formulações cosméticas (portanto, de uso tópico) em que não se deseja sua absorção, o tamanho dela poderia ser maior que 200 nm, porém, para manter os benefícios de nanoestrutura previstos, o objetivo seria alcançar um tamanho entre 200 e 300 nm. Assim, o tamanho de diâmetro medido em nossa segunda formulação foi muito acima do ideal (1392 nm) e, portanto, a formulação deve ser avaliada novamente. Alguns pontos que poderiam ser revistos para diminuir o diâmetro da nanopartícula:

- Quantidade de tensoativos na formulação, uma vez que, ao aumentar sua quantidade, a tensão superficial da nanopartícula diminuiria, resultando na diminuição do tamanho da partícula. É importante avaliar se este aumento de tensoativo resultaria em algum efeito tóxico;
- Método de produção da nanopartícula, uma vez que o aparelho ultrassônico deve ser ajustado em sua potência e ciclos de sonicação para que a partícula chegue em seu tamanho ideal
- A concentração dos lipídeos pode estar alta, pois uma quantidade maior desses componentes tende a aumentar o diâmetro das partículas e também aumentar a viscosidade da formulação. Além disso, o tipo dos lipídeos também pode ser reavaliados, pois quanto mais cristalino o lipídio, maior será o tamanho da partícula final.

Em relação ao potencial zeta, vemos que o aparelho deu o resultado como “bom”, mas o ideal seria que a estabilidade elétrica ficasse menor que 30mV,, uma vez que essa partícula deve ter ao final uma boa estabilidade eletrostática, que provém das cargas elétricas e dos estabilizantes (tensoativos) localizados na superfície.

Podemos afirmar então que há a necessidade de buscar alternativas para a melhora da formulação, como diminuir a quantidade de lipídios e/ou avaliar a composição dos mesmos. Além disso, aumentar a quantidade de tensoativos para auxiliar na melhoria da estabilidade eletrostática e diminuir o diâmetro das nanopartículas seria uma boa estratégia. Também, é possível aumentar o tempo no sonicador ou obter algum método de filtração dos aglomerados maiores para ajustar o tamanho.

Potencial aplicação da nanoestrutura desse projeto

Como já dito anteriormente, o objetivo do desenvolvimento dessa nanoestrutura é aprimorar as formulações de cosméticos que desejam incorporar de forma mais intensa e duradoura a fragrância doce da baunilha, a qual tem a vanilina como principal componente aromático. Assim, as nanoestruturas criadas previamente seriam depois incorporadas durante o processo de produção do cosmético. Como exemplo, podemos citar um hipotético creme hidratante corporal que tem como principal característica seu forte aroma de baunilha, o qual seria uma emulsão. As nanopartículas seriam adicionadas após a formação da emulsão para evitar qualquer degradação ou alteração da vanilina e da nanoestrutura.

Conclusão

Pode-se concluir que a primeira formulação desenvolvida para o encapsulamento da vanilina não apresentou os resultados esperados, devido à separação de fases da mistura e à não formação do carreador lipídico sólido. Foi discutido e decidido que, para realização de novas formulações visando melhores resultados, seria preciso a alteração das quantidades de tensoativos, Tween 80 e Span 80, além da alteração de manteiga de karité para o óleo de amêndoas.

Já na segunda formulação desenvolvida, com as alterações ditas anteriormente, foi possível visualizar um melhor aspecto macroscópico. Todavia, a formulação continuou apresentando um tamanho elevado, assim como alto índice de polidispersão. Isso indica que ainda há a necessidade de desenvolvimento de novas técnicas e formulações para aperfeiçoamento das partículas desenvolvidas, como alteração da quantidade de lipídeos e tensoativo, além de aumento do tempo da formulação no sonicador, além de métodos voltados para filtração de aglomerados maiores.

Por fim, acreditamos que, com os ajustes da formulação 2, o nosso objetivo de desenvolver uma formulação para encapsular a vanilina em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) visando aumentar a eficiência de encapsulamento e aprimorar a fragrância da baunilha em produtos cosméticos será conquistado, uma vez que, entre o primeiro e o segundo teste de formulação já houve grandes melhoras e, também, porque acreditamos que o produto final será de grande impacto para a indústria cosmética.

Referências

1. National Center for Biotechnology Information. "**PubChem Compound Summary for CID 1183, Vanillin**" *PubChem*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vanillin>. (2023)
2. Patrícia F. Priscyla D. **Desenvolvimento de carreador lipídico nanoestruturado (CLN) como sistema de co-encapsulação de curcuminóides e timol para aplicação tópica**. 186f. *Dissertação (Mestrado)*. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. (2017)
3. Ali I, Mısır M, Demir E *et al*. **Nano solid phase micro membrane tip and electrochemical methods for vanillin analysis in chocolate samples**. *Anal Biochem*. (2023)
4. Ruy B. Silvia G. Adriana P.. **Nanocosmetics and Nanomedicines, New Approaches for Skin Care**. *Springer* (2011)

5. Priscyla D. **Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)**. *Moodle USP*. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. (2023).
6. Pedro P. **Desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas utilizando manteiga natural para aplicação tópica**. 99f. *Dissertação (Mestrado)*. Faculdade de Medicina - Universidade de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais. (2015)
7. Ana C. **Obtenção e caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas como sistema de transporte para ibuprofeno**. 105 f. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Unesp, Araraquara, São Paulo. (2014)
8. Juliana G. **Desenvolvimento de formulação cosmética contendo carreadores lipídicos nanoestruturados à base de manteiga de Ourateasp. : uma estratégia nanotecnológica para o aumento da hidratação cutânea**. 95 f. *Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)* - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão (2015)