

CARACTERIZAÇÕES DE NANOEMULSÕES DE ALGINATO DE SÓDIO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *EUCALYPTUS CITRIODORA*¹**CHARACTERIZATIONS OF SODIUM ALGINATE NANOEMULSIONS WITH *EUCALYPTUS CITRIODORA* ESSENTIAL OIL****Joice Farias do Nascimento**Orcid: <https://Orcid.org/0000-0001-7662-1653>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7010922442055270>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: joyce.nascimento@aluno.uece.br**Emanuela Feitoza da Costa**Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2331-6318>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3146468945465773>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: emanuela.costa@fiocruz.br**Flávia Oliveira Monteiro da Silva Abreu**Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-4759-2739>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7921122115673207>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: flavia.monteiro@uece.br**RESUMO**

As propriedades de estabilidade das nanoemulsões são influenciadas pelas condições de emulsificação e pela composição das formulações. Nanoemulsões poliméricas foram preparadas com auxílio de um homogeneizador mecânico, no qual foram obtidas cinco formulações de diferentes concentrações, no intuito de avaliar a estabilidade com posteriores aplicações em sistemas de liberação controlada. Foi avaliada a Viscosidade, o Tamanho de Partícula e a Eficiência de Encapsulamento visando obter uma emulsão estável. As formulações N2 e N4, que foram produzidas com 2:1 (N2) 1:2 (N4) razão óleo e surfactante e 1:1 (N2) 2:1 (N4) alginato e surfactante, se destacaram por apresentar menor Tamanho de Partícula e distribuição de tamanho mais homogêneo. A formulação N2 obteve maior Eficiência de Encapsulamento, com valor de $68,2 \pm 0,09\%$. Supõe-se que a nanoemulsão N2 é a mais favorável, pois sua formulação possui uma maior quantidade de tensoativo fazendo com que a interação entre o óleo e a goma seja maior, assim tendo uma melhor capacidade de encapsulamento.

PALAVRAS-CHAVE: Alginato. Encapsulamento. Óleo Essencial.**ABSTRACT**

The stability properties of nanoemulsions are influenced by emulsification conditions and the composition of formulations. Polymer nano-emulsions were prepared with the help of a mechanical homogenizer, in which five formulations of different concentrations were obtained in order to evaluate the stability with subsequent applications in controlled release systems. Viscosity, Particle Size and Encapsulation Efficiency were evaluated in order to obtain a

¹ Artigo advindo dos Anais do I Simpósio de Meio Ambiente e Energia (I SiMAE) – Fortaleza, CE

stable emulsion. The N2 and N4 formulations, which were produced with 2:1 (N2) 1:2 (N4) oil and surfactant ratio and 1:1 (N2) 2:1 (N4) alginate and surfactant, stood out for having smaller Particle Size and more homogeneous size distribution. The N2 formulation obtained higher Encapsulation Efficiency, with a value of $68.2 \pm 0.09\%$. It is assumed that the N2 nanoemulsion is the most favorable, because its formulation has a greater amount of surfactant making the interaction between the oil and the gum greater, thus having a better encapsulation capacity.

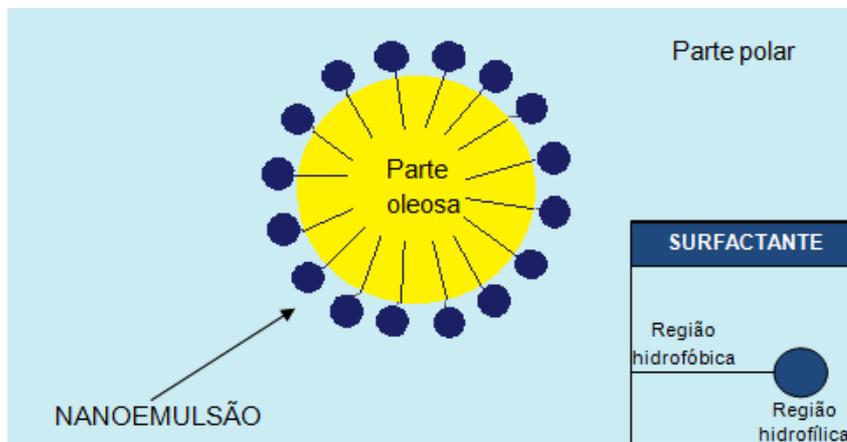
KEYWORDS: *Alginate. Encapsulation. Essential oil.*

1. INTRODUÇÃO

As Nanoemulsões (NE) são compostas de misturas de óleos com surfactantes que formam emulsões com tamanho micelar de 10-1000 nm, refletindo em seu aspecto translúcido. Por consequência do seu tamanho reduzido, sofrem menor ação da gravidade, o que as confere maior estabilidade, e apresentam movimento Browniano (DONSÌ, FERRARI, 2016). As NE são compostas por três fases: fase aquosa, e fase oleosa, muitas vezes com a presença de um agente emulsificante atuando na interface, algumas vezes chamados de tensoativos ou surfactantes (CAPEK, 2004), na figura 1 tem-se um exemplo da estrutura de uma nanoemulsão. Nanoemulsões poliméricas tem se destacado devido a seu caráter hidrofílico, alta permeabilidade à água, biocompatibilidade e resistência à tração (BRUXEL, FERNANDA *et al.*, 2012). Polímeros naturais à base de polissacarídeos têm sido propostos como matrizes para formação de nanoemulsões, a fim de aprimorar a biocompatibilidade e biodegradabilidade dos sistemas e melhorar a estabilidade das nanoemulsões.

Algumas dessas moléculas, como os alginatos, são capazes de interagir com cadeias de surfactantes dispostas em torno das gotículas de óleo. (SALVIA-TRUJILLO, 2015). O Eucalyptus é uma planta pertencente à família Myrtaceae cultivada em todas as regiões do Brasil sendo conhecidas cerca de 800 espécies. A espécie Eucalyptus citriodora já foi reportada por vários autores quanto a sua ação antimicrobiana (ELAISSI, *et al.*, 2011). A encapsulação de óleos essenciais em nano escala representa uma abordagem viável e eficiente para aumentar a estabilidade física dos compostos bioativos (WEISS *et al.*, 2009). As NE aparecem como sistemas capazes de encapsular, proteger e liberar esses compostos efetivamente (SALVIA-TRUJILLO e McCLEMENTS, 2016). O presente trabalho busca uma nanoemulsão eficaz no encapsulamento para proteção de óleo essencial para aplicação em sistemas de liberação controlada.

Figura 1- Estrutura de uma nanoemulsão (FONTE: Próprio autor)



2. Materiais e Métodos

Materiais

Foi utilizado o Alginato de Sódio (DINÂMICA), óleo essencial de Eucalyptus citriodora (FERQUIMA), o agente surfactante utilizado foi o Tween 80[®]. Foi utilizado banho Maria (CIENITEC), chapas aquecedoras (QUIMIS), um Agitador mecânico de Alta energia, o Ultra-stirrer (10.000-29.000 rpm).

Preparação das nanoemulsões

Preparou-se três tipos de soluções de alginato de sódio com concentrações diferentes 2%, 1% e 0,5%. As nanoemulsões foram preparadas seguindo o método de Fernandez *et al.*, (2004) com adaptações. As fases aquosa e oleosa foram aquecidas separadamente à temperatura de $75 \pm 1^\circ\text{C}$, em um Banho Maria (CIENITEC), em seguida a fase oleosa foi vertida lentamente sobre a aquosa com o auxílio de uma seringa sob agitação variável de 12.000 a 15.000 rpm com o auxílio de Agitador mecânico de Alta energia (Ultra-stirrer) até que toda a fase oleosa fosse revertida sobre a aquosa, após esse processo a agitação seguiu por 22.000 rpm por 5 minutos, após esse período de tempo a solução foi levada a um agitador magnético até atingir a temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$). Em seguida na Tabela 1, têm-se as formulações relativas das nanoemulsões.

Tabela 1 - composição relativa das nanoemulsões de alginato e óleo essencial de eucalipto citriodora e surfactante

Condição Experimental	Alginato de sódio	Surfactante	Óleo	Surfactante e Óleo	Alginato e Surfactante
N1	(2%) 100 mg	75 mg	75 mg	1:1	1,33:1
N2	(1%) 100 mg	100 mg	50 mg	2:1	1:1
N3	(1%) 100 mg	75 mg	75 mg	1:1	1,33:1
N4	(1%) 100 mg	50 mg	100 mg	1:2	2:1
N5	(0,5%) 100 mg	75 mg	75 mg	1:1	1,33:1

Caracterizações das emulsões

Foi avaliada a viscosidade das emulsões em triplicata, através de soluções com diluições a 50%, 30%, 20%, 15% e 10%. A viscosidade foi medida depositando-se a solução em Viscosímetro de Otwald, onde cronometrou-se o tempo de escoamento.

Foi avaliado o tamanho de partícula das emulsões usando o aparelho Zetasizer/Nanoseries 590 (MALVERN), com medidas em triplicata. As amostras foram diluídas na proporção de 1:100 e deixadas sob agitação por 24h antes da análise.

Mediu-se a eficiência de encapsulamento das emulsões de acordo com metodologia modificada a partir de Sebaaly *et al.*, (2015). Foram preparadas soluções de emulsões em álcool etílico 1:4, em seguida as soluções ficaram em repouso por 24 horas, houve a separação de fases onde foi analisada a parte incolor que representava a mistura de óleo com álcool. A Eficiência de Encapsulamento (EE) foi calculada a partir da Eq. 1:

$$EE(\%) = \frac{M}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

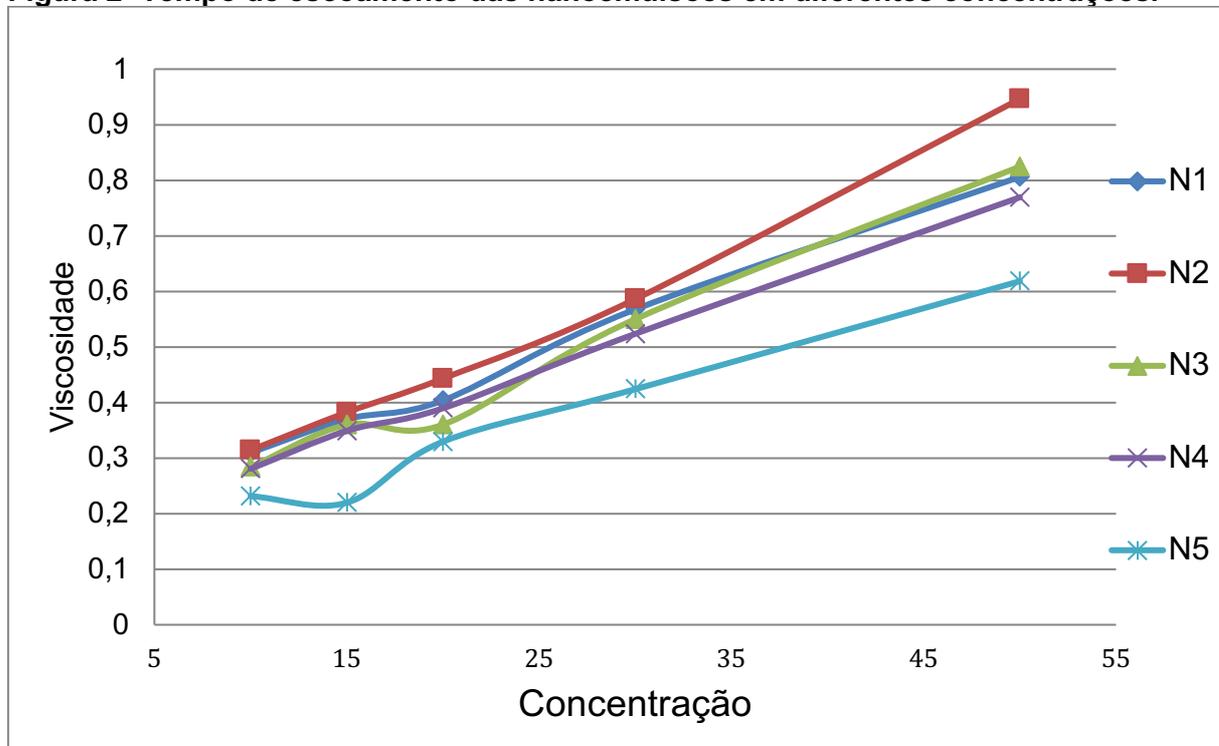
A determinação foi realizada medindo-se a concentração livre na NE. Foi determinado por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis no comprimento de onda de 214 nm. Foi preparado uma curva padrão do Eucalipto citriodora, para que fosse possível determinar a concentração de óleo no meio através de uma curva de calibração, representado pela Eq. 2:

$$Y = 0,0024x + 0,0615 \quad R^2 = 0,998 \quad (2)$$

Para a análise microscópica, foi utilizado um microscópio óptico da marca Olympus CX-31, para a observação da homogeneidade e morfologia da dispersão. Uma gota de cada formulação foi colocada sobre uma lâmina de vidro para microscopia e recoberta com uma lamínula. As lâminas foram analisadas em objetivas de 40x, 100x e 1000x.

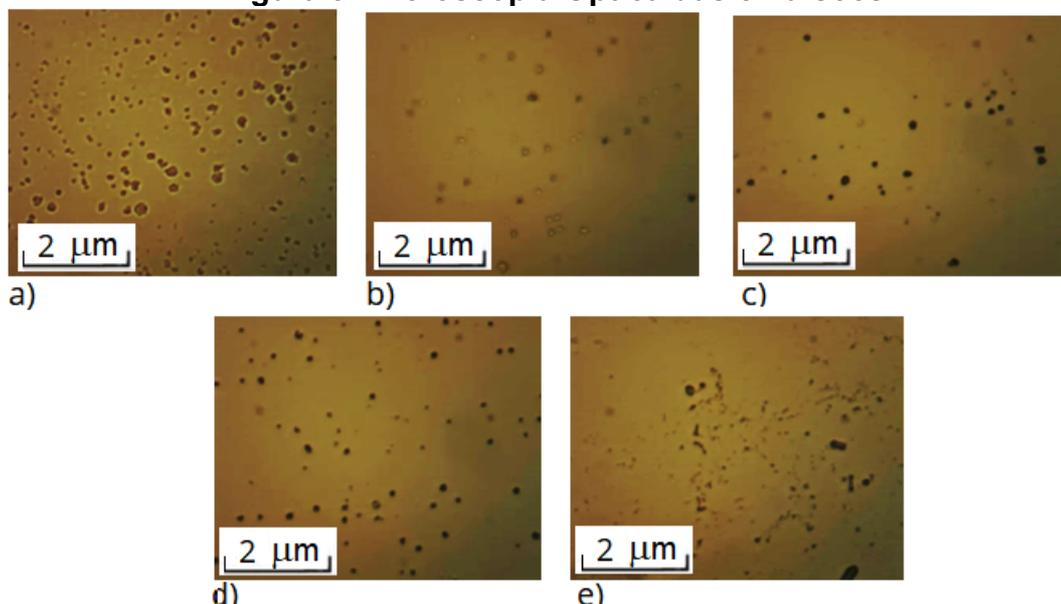
3. Resultados e Discussão

Foram realizadas caracterizações de Viscosidade, Tamanho de Partícula, Eficiência de Encapsulamento e Microscopia óptica. Espera-se que quanto menor a viscosidade menor o diâmetro de partícula correspondente e que a nanoemulsão tenha uma maior retenção de óleo. A Figura 2 mostra o tempo de escoamento das cinco amostras que aumentam com a concentração. Pode-se notar que as nanoemulsões N2, N3 e N1 respectivamente têm valores maiores de viscosidade, quanto maior a viscosidade, maior é a estabilidade e tempo de vida útil da amostra, portanto a N2 tem melhor perfil de Viscosidade. N2 contendo uma proporção de 2:1 surfactante e óleo e 1:1 alginato e surfactante. A amostra N5 possui menor valor de viscosidade o que lhe confere instabilidade. Para a literatura os surfactantes de baixa massa têm alta mobilidade na interface, adsorvendo-se assim prontamente às superfícies de gotas, diminuindo a tensão superficial ou interfacial entre elas (ARTIGA-ARTIGAS *et al.*, 2018).

Figura 2- Tempo de escoamento das nanoemulsões em diferentes concentrações.

O teste de microscopia ótica foi realizado em 8 semanas após o preparo das amostras.

A análise por microscopia ótica permitiu visualizar a morfologia das micelas, como consta na Figura 3. Observa-se que dentre os sistemas estudados os sistemas (N1, N2, N3, N4, N5.) exibiram certa homogeneidade, foi possível detectar as micelas formadas em diferentes reações de emulsificação e a presença de movimento browniano. O Tween 80, por apresentar cadeia apolar maior, consegue fazer a interface de estabilização entre o óleo e o Alginato de uma maneira mais bem-sucedida. (ABREU *et al.*, 2020).

Figura 3: Microscopia Óptica das emulsões

a) N1 (Surfactante e Óleo 1:1, Alginato e Surfactante 1,33:1), b) N2 (Surfactante e Óleo 2:1, Alginato e Surfactante 1:1), c) N3 (Surfactante e Óleo 1:1, Alginato e Surfactante 1,33:1), d) N4 (Surfactante e Óleo 1:2, Alginato e Surfactante 2:1), e) N5 Surfactante e Óleo 1:1, Alginato e Surfactante 1,33:1)

Em relação aos resultados de tamanho de partícula, levando em consideração as condições experimentais e a proporção de cada formulação obteve-se os seguintes dados exibidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Relação entre tamanho de partícula, condições reacionais e proporção de óleo, surfactante e goma.

Condição Experimental	Surfactante e Óleo	Alginato e Surfactante	Tamanho de Partícula (nm)	EE%
N2	2:1	1:1	313 (94,8%); 88,15 (5,2%)	68,2±0,09
N4	1:2	2:1	309,8 (100%)	41,0±0,1
N5	1:1	1,33:1	371 (80,8%); 5362 (19,2%)	54,6±0,07

Conforme pode ser observado as nanoemulsões apresentaram diâmetro de gota compreendido entre 88,15 e 5362 nm, em concordância com as formulações avaliadas. Na Tabela 2 encontram-se os valores médios dos picos para as NE das condições experimentais N2, N4 e N5. As NE N2 e N5 apresentaram distribuição bimodal, com dois picos representando uma porção de partículas com tamanho médio diferenciado, com uma pequena fração de 88,15 nm (5,2%) e com perfil majoritário de 313 nm (94,8%) para N2. Para N5 uma fração de 5362 nm (19,2%) e com perfil predominante de 371 nm (80,8%). Já a NE N4, apresentou menor tamanho geral em uma distribuição unimodal com uma fração de partículas de tamanho médio de 309,8 nm.

Os menores tamanhos de gota foram obtidos nas formulações N2 e N4 onde se observa que foi utilizado o surfactante Tween 80 em ambas. Quando Tween 80 é usado, tamanhos de partícula menores são obtidos, o que significa que houve menos coalescência ou menor grau de maturação de Ostwald. O grau de

encapsulamento foi calculado em função do teor de óleo adicionado na emulsão e consta na Tabela 1. As amostras NE2 e NE5 se destacam com valores de $68,2 \pm 0,09$ e $54,6 \pm 0,07$, respectivamente. Essas formulações apresentam a maior quantidade de surfactante que faz com que a interação da fase aquosa e oleosa seja maior que as outras formulações conferindo maior estabilidade.

4. CONCLUSÕES

A amostra que alcançou melhores resultados nos testes físico-químicos foi a nanoemulsão NE2, pois apresenta valores de viscosidade estáveis, Tamanho de Partícula entre 88,15 e 313 nm e um valor de Eficiência de Encapsulamento superior a 68,0% conforme já foi discutido por conta da quantidade superior de tensoativo. Comprovou-se que a nanoemulsão de Alginato de sódio com óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* é uma boa alternativa para encapsulamento e para proteção de óleo essencial para uso em sistemas de liberação confere nanoemulsões estáveis.

5. REFERÊNCIAS

ABREU, Flávia Oliveira Monteiro da Silva et al. Polymeric nanoemulsions enriched with *Eucalyptus citriodora* essential oil. **Polímeros**, v. 30, n. 2, 2020.

ARTIGA-ARTIGAS, María; LANJARI-PÉREZ, Yamel; MARTÍN-BELLOSO, Olga. Estabilidade das nanoemulsões carregadas com curcumina conforme afetada pela natureza e concentração do surfactante. **Química alimentar**, v. 266, p. 466-474, 2018.

BRUXEL, Fernanda et al. Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.

CAPEK, I. Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions. **Advances in colloid and interface science**, v. 110, n. 1-2, p. 49-74, 2004.

DONSÌ, Francesco; FERRARI, Giovanna. Nanoemulsões de óleo essencial como agentes na timicrobianos em alimentos. **Journal of biotechnology**, v. 233, p. 106-120, 2016.

ELAISSI, A., SALAH, K. H., MABROUK, S., LARBI, K. M., CHEMLI, R., HARZALLAH-SKHIRI, F. Antibacterial activity and chemical composition of 20 *Eucalyptus* species' essential oils. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1427-1434, 2011.

FERNANDEZ, Patrick et al. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 251, n. 1-3, p. 53-58, 2004.

SALVIA-TRUJILLO, L.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of nanoemulsion addition on the stability of conventional emulsions. **Food Biophysics**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2016.

SALVIA-TRUJILLO, Laura et al. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. **Food hydrocolloids**, v. 43, p. 547-556, 2015.

SEBAALY, Carine et al. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. **Food chemistry**, v. 178, p. 52-62, 2015.

WEISS, Jochen et al. Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In: **Global issues in food science and technology**. Academic Press, p. 425-479.2009.