A young woman with dark hair, wearing a white lab coat with blue trim, is looking through a black and white compound microscope. She is smiling slightly. The background is a warm orange color with a faint network of orange lines and dots. The text is in white on the right side.

# Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências

---

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

#### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
A872	Atividades de pesquisa em biotecnologia e nanociências [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-435-1 DOI 10.22533/at.ed.351192506  1. Biotecnologia. 2. Nanotecnologia. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.  CDD 553.7
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Quando utilizamos o termo Biotecnologia estamos mencionando um conceito na verdade muito antigo, porém extremamente atual e futurista. A muito tempo a humanidade se utiliza dos processos biotecnológicos para a obtenção de novos produtos, todavia o avanço da tecnologia em todos os seus aspectos tem oferecido estratégias e ferramentas altamente eficientes para maximizar a obtenção desses produtos essenciais para a subsistência do homem.

A revolução tecnológica contribuiu grandemente com a evolução no campo da pesquisa básica e aplicada e as descobertas propiciadas por tecnologias mais apuradas possibilitaram um entendimento mais profundo dos mecanismos moleculares gerando cada vez mais novas perspectivas.

Tudo isso culminou em investimentos públicos e privados, favorecendo o desenvolvimento principalmente de regiões onde a tecnologia é priorizada. Todavia outras regiões também tem crescido e avançado à medida que investem esforços em patentes, aplicações comerciais e prestação de serviços especializados. Assim, destacamos a importância desta literatura aqui publicada, haja vista a diversidade de capítulos que abordam temas e conceitos atuais das nanociências aplicadas.

São diversas as possibilidades de aplicações biotecnológicas em diversos campos, neste livro tentaremos otimizar os conceitos biotecnológicos e das nanociências abordando potencialidades de aplicação da biotecnologia no campo da saúde, nutrição, farmacologia, toxicologia e biologia molecular que têm atraído o interesse de pesquisadores, da indústria, investidores privados e empreendedores e muitos outros visionários.

Nosso profundo desejo é que esta obra seja o “ponta-pé” inicial para que outros livros nessa mesma perspectiva possam ser elaborados pela comunidade científica do nosso país. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que acadêmicos e docentes tenham em mãos material fundamentado nessa área tão promissora.

Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE GELEIA TIPO EXTRA DE MANGA COM CRAVO-DA-ÍNDIA	
Raul Felipe de Queiroz Freitas	
Dauany de Sousa Oliveira	
João Paulo do Rêgo Bezerra Travassos	
Pedro Victor Crescêncio de Freitas	
Sinthya Kelly Queiroz Moraes	
Jonnathan Silva Nunes	
Maria Eduarda Dantas Cândido	
Maria Mikalele da Silva Fernandes	
Alfredina dos Santos Araújo	
Maíra Felinto Lopes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925061</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>11</b>
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SORVETE DE MANGA A BASE DE KEFIR ELABORADO COM DIFERENTES TIPOS DE EDULCORANTES	
João Paulo do Rego Bezerra Travassos	
Wisla Kívia de Araújo Soares	
Larissa da Silva Santos Pinheiro	
Alfredina dos Santos Araújo	
Katiane Araújo do Bomfim	
Pedro Victor Crescêncio de Freitas	
Dauany de Sousa Oliveira	
Francisco Bruno Ferreira de Freitas	
Gloria Louine Vital da Costa	
Gleyson Batista de Oliveira	
Ranyelly Wellen Florentino de Oliveira	
Ayla Dayane Ferreira de Sá	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925062</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>20</b>
COMO AS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR AVANÇAM A PESQUISA SOBRE REGENERAÇÃO EM PLANÁRIAS?	
Reginaldo Ramos de Lima	
Benedito R. Da Silva Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925063</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>26</b>
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE CASCAS DO LIMÃO TAHITI	
Katia Davi Brito	
Emmanuel da Paixão Neto	
Antonio Jackson Ribeiro Barroso	
Flavia Cristina dos Santos Lima	
Henrique Bruno Lima de Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925064</b>	

<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>33</b>
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BARRA DE CEREAL ADICIONADA COM SEMENTE DE MORINGA ( <i>Moringa oleífera Lam.</i> )	
Thamires Queiroga dos Santos Ana Paula Costa Câmara Maíra Felinto Lopes Hozana Maria de Figueiredo Silva Robson Rogério Pessoa Coelho Fabrício Alves de Moraes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925065</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>40</b>
ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO USO DE DIFERENTES ADOÇANTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE BOLOS TIPO ESPONJA	
Alba Valéria de Oliveira Barbosa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925066</b>	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>49</b>
FARMACOGENÉTICA E CÂNCER DE MAMA: PESQUISA INTEGRATIVA	
Marília Silva Marques Benedito R. Da Silva Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925067</b>	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>63</b>
INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR <i>IN VITRO</i> DE EXPLANTES FOLIARES DE PEQUIZEIRO ( <i>Caryocar brasiliense</i> )	
Bruno Henrique Gomes Ana Paula Caetano Procópio Mariane Rabelo Coelho Fernandes Maristela Mota Moraes Carolina de Souza Misawa Paula Guimarães Rabelo Mariana Gonçalves Mendes Ana Paula Oliveira Nogueira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925068</b>	
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>73</b>
INFLUÊNCIA DA SONICAÇÃO NO TAMANHO DE GOTÍCULA DE NANOEMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE <i>Physalis Peruviana</i>	
Suelen Santos da Silva Maiara Taís Bazana Cristiane de Bona da Silva César Augusto Bizzi Cristiano Ragagnin de Menezes Cristiane Franco Codevilla	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925069</b>	

<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>83</b>
PRODUÇÃO DA ALGA <i>Scenedesmus subspicatus</i> UTILIZANDO EFLUENTE BRUTO DE ABATEDOURO DE AVES COMO MEIO ALTERNATIVO DE CULTIVO	
Elizabeth Venialgo Hotz da Silva Luis Fernando Souza Gomes Raquel Stroher Francieli Fernandes de Assis	
<b>DOI 10.22533/at.ed.35119250610</b>	
<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>86</b>
NANOTUBOS DE CARBONO – UMA REVISÃO SOBRE PROPRIEDADES, APLICAÇÕES E ASPECTOS TOXICOLÓGICOS	
Carolina Alvarenga Turini Paula Cristina Batista de Faria	
<b>DOI 10.22533/at.ed.35119250611</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>99</b>
MEMBRANA DE ULTRAFILTRAÇÃO MODIFICADA COM DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA REMOÇÃO DE NITRATO PRESENTE EM SOLUÇÃO AQUOSA	
Eduarda Freitas Diogo Januário Taynara Basso Vidovix Natália de Camargo Lima Beluci Nicole Novelli do Nascimento Angélica Marquetotti Salcedo Vieira Rosângela Bergamasco	
<b>DOI 10.22533/at.ed.35119250612</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>115</b>



## INFLUÊNCIA DA SONICAÇÃO NO TAMANHO DE GOTÍCULA DE NANOEMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE *Physalis Peruviana*

### **Suelen Santos da Silva**

Universidade Federal de Santa Maria,  
Departamento de Tecnologia e Ciência dos  
Alimentos  
Santa Maria – RS

### **Maiara Taís Bazana**

Universidade Federal de Santa Maria,  
Departamento de Tecnologia e Ciência dos  
Alimentos  
Santa Maria - RS

### **Cristiane de Bona da Silva**

Universidade Federal de Santa Maria,  
Departamento de Farmácia Industrial  
Santa Maria - RS

### **Cézar Augusto Bizzi**

Universidade Federal de Santa Maria,  
Departamento de Química  
Santa Maria - RS

### **Cristiano Ragagnin de Menezes**

Universidade Federal de Santa Maria,  
Departamento de Tecnologia e Ciência dos  
Alimentos  
Santa Maria - RS

### **Cristiane Franco Codevilla**

Universidade Federal de Santa Maria,  
Departamento de Tecnologia e Ciência dos  
Alimentos  
Santa Maria - RS

uma fruta rica em compostos bioativos. Esses compostos são instáveis a exposição de fatores químicos e físicos, além de possuírem baixa solubilidade em água. A associação de produtos naturais com sistemas nanoestruturados vem somando no desenvolvimento de pesquisas e aprimoramentos no controle da estabilidade, da solubilidade, da biodisponibilidade e da liberação dos bioativos. A nanoemulsão é um sistema constituído por uma fase dispersa e outra contínua, com boa estabilidade devido a faixa de tamanho de gota, entre 50 e 1000 nm. A sonicação aplicada no processo de nanoemulsificação é rápida e mais eficiente para diminuir o tamanho de gota e o índice de polidispersão. Otimizando parâmetros como tempo e frequência, foi possível observar uma influência positiva da energia ultrasônica sob a formulação de nanoemulsão. Neste trabalho, as análises de tamanho apontaram o banho de ultrassom com frequência de 37 kHz como tendo a melhor nanoemulsão com tamanho de gota inferior a 200 nm, com baixa polidispersão e sem a presença de micropartículas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nanoemulsão, ultrassom, *Physalis peruviana*

**ABSTRACT:** *Physalis peruviana* (goldenberry) is a fruit rich in bioactive compounds. These compounds are unstable to expose chemical and physical factors, in addition to having low

**RESUMO:** *Physalis peruviana* (goldenberry) é

solubility in water. The association of natural products with nanostructured systems has added to the development of research and improvements in the control of stability, solubility, bioavailability and bioactive release. The nanoemulsion is a system consisting of a dispersed and a continuous phase, with good stability due to the droplet size range, between 50 and 1000 nm. The sonication applied in the nanoemulsification process is quick and more efficient to decrease the droplet size and the polydispersity index. Optimizing parameters such as time and frequency, it was possible to observe a positive influence of the ultrasonic energy under the nanoemulsion formulation. In this work, the size analyzes pointed to the ultrasonic bath with a frequency of 37 kHz as having the best nanoemulsion with droplet size of less than 200 nm, with low polydispersion and without the presence of microparticles.

**KEYWORDS:** Nanoemulsion, ultrasound, *Physalis peruviana*

## 1 | INTRODUÇÃO

No gênero *Physalis* podem ser encontradas aproximadamente 120 espécies espalhadas nas zonas temperadas do planeta, principalmente no sul da América do Norte e na América do Sul (Nurit Silva; Agra, 2005). A *Physalis peruviana* é a espécie de *physalis* mais conhecida. É um fruto que varia da cor amarela até um laranja escuro, com forma e estrutura semelhante ao tomate, porém de tamanho menor que este (Alvarado et al., 2004). Os frutos podem ter até 300 sementes e pesar entre 4 e 10 g cada, além de serem envoltos por um cálice (Avila et al., 2006). A *Physalis peruviana* é rica em compostos bioativos, como vitamina A e C, fitoesteróis,  $\beta$ -caroteno, fisalinas, entre outros, que tem como propriedades a ação antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e imunossupressora (Ramadan; Morsel, 2003; Briones-Labarca et al., 2013; Kuspka; Jélen, 2016).

Buscando amenizar os problemas que os compostos bioativos apresentam, tais como baixa solubilidade em água e a instabilidade frente a altas temperaturas, exposição a luz e oxigênio, tem-se procurado alternativas como micro e nanoencapsulação desses compostos, visando também a melhor absorção e aumento da biodisponibilidade dos mesmos (Codevilla et al., 2015; Schmaltz et al., 2005).

Compostos nanoestruturados conferem vantagens como direcionamento da substância ativa no sítio de ação, aumentando o efeito terapêutico e/ou diminuindo os efeitos adversos, além de melhorar a biodisponibilidade (Couvreur et al., 2002; Schaffazick et al., 2003). Dentre os principais nanocarreadores estudados estão as nanoemulsões, que são um sistema constituído por gotículas de óleo estabilizadas por tensoativos (Guterres et al., 2007; Anton et al., 2008). As nanoemulsões, ao contrário das microemulsões, não necessitam de grandes quantidades de tensoativos (entre 5 e 10%) e são sistemas estáveis por possuírem pequeno tamanho de glóbulo, que proporciona grande redução na força de gravidade superada pelo movimento browniano (Capék, 2004; Fernandez et al., 2004; Tadros et al., 2004). As nanoemulsões podem

ser do tipo água-em-óleo (A/O) ou óleo-em-água (O/A). O que definirá o tipo será a afinidade dos tensoativos pelas fases, aquosa e oleosa (Daudt et al., 2013). Quando a nanoemulsão for do tipo A/O, significa que a fase externa é a oleosa; quando for do tipo O/A, a fase externa é a aquosa (Pays et al., 2002).

Para que as nanoemulsões sejam formadas é necessário energia, geralmente de dispositivos mecânicos ou a partir do potencial químico dos componentes do sistema (Assis et al., 2012). As nanoemulsões podem ser preparadas usando os métodos de alta ou de baixa energia. Nos métodos de alta energia estão a homogeneização à alta pressão, a sonicação e a microfluidização. Nos de baixa energia, é utilizada a energia química armazenada nos componentes do nanosistema como, por exemplo, a emulsificação espontânea e a inversão de fases (Solans et al., 2005; Anton et al., 2008).

O ultrassom é usado em uma ampla gama de processos químicos, físicos e biológicos. Homogeneização, emulsificação, e dispersão são exemplos de processos físicos. A maioria das aplicações de ultrassom de alta intensidade são baseados em efeitos de cavitação. Os efeitos físicos da cavitação estão sendo usados em uma geração *top-down* de nanopartículas. Nesse caso, as partículas são reduzidas em tamanho pelas forças de cavitação, ou seja, a quebra de aglomerados e agregados (Hielscher, 2005). A sonicação é uma técnica rápida e eficiente para desenvolvimento de um sistema nanoemulsionado com boa estabilidade, tamanho de gota pequeno e baixo índice de polidispersão (Lin; Chen, 2008). O tamanho do diâmetro das gotículas pode ser controlado através de parâmetros do processo, tais como a concentração do óleo, a quantidade de tensoativo, a viscosidade da fase contínua e o tempo de emulsificação (Nakabayashi et al., 2011). A intensidade de sonicação é um dos parâmetros que tem grande influência no processo de emulsificação, visto que com o seu aumento, o tamanho das gotículas diminui (Almeida et al., 2008).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da sonicação no tamanho de gota de nanoemulsões do tipo óleo em água, usando diferentes frequências de banho e sonda de ultrassom.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

*Physalis peruviana* foi obtida da empresa Italbraz<sup>®</sup> localizada na região de Vacaria-RS. Etanol, metanol e acetona foram adquiridos da Dinâmica (São Paulo, Brasil). Tween 80 foi adquirido de Synth (São Paulo, Brasil), Span 80 foi adquirido de Fluka (São Paulo, Brasil) e Triglicerídeos de Cadeia Média (TCM) foi adquirido de Delaware (Porto Alegre, Brasil).

## 2.2 Extrato de Physalis

O extrato hidroalcoólico na figura 1, foi preparado seguindo a metodologia de Codevilla et al. (2018). A fruta *Physalis* foi previamente pesada (15 g) e macerada com o auxílio de grau e pistilo, após, 25 mL de etanol 60% (v/v) foi adicionado, e a mistura foi submetida a agitação mecânica por 2 horas, protegida da luz. O extrato foi filtrado com um filtro de poliamida de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade (Sartorius Stedim Biotec) e armazenado em frasco âmbar sob refrigeração (4 °C) até sua utilização.

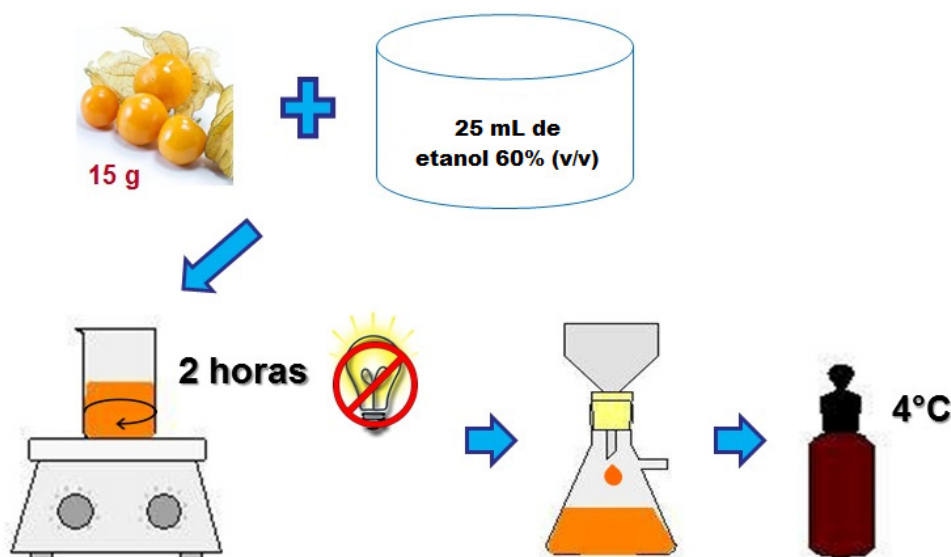


Figura 1. Esquema de obtenção do extrato hidroalcoólico de *Physalis peruviana*. Fonte: o autor.

## 2.3 Nanoemulsão

Um mapeamento prévio dos banhos de ultrassom (US) foi feito usando uma régua, caneta e papel alumínio. Três profundidades (fundo, meio e superfície do banho) foram avaliadas. As formulações foram preparadas de acordo com o método descrito por Bouchemal e colaboradores (2004), com algumas modificações. A fase orgânica consistiu de Span 80 (0,077 g), TCM (0,165 g), acetona (27 mL) e extrato de physalis (20 mg mL<sup>-1</sup>), e a fase aquosa consistiu de água ultrapura (54 mL) e Tween 80 (0,077 g). A fase orgânica foi vertida sob a fase aquosa com auxílio de uma seringa sem agulha, sob sonicação em banhos de diferentes frequências (25, 35, 37, 45, 80 e 130 kHz) ou sonda ultrassônica com frequência de 20 kHz (ambos da Elma Ultrasonic, Singen, Alemanha) pelos tempos de 3 e 10 minutos, em temperatura ambiente. Após o término da nanoemulsificação, o solvente orgânico foi evaporado sob pressão reduzida em rotaevaporador (Rotavapor R-210, Buchi, Flawil, Suíça) e o volume final da formulação foi fixado em 10 mL (20 mg mL<sup>-1</sup> de extrato de *Physalis peruviana*). O mesmo procedimento foi realizado para preparação de nanoemulsão contendo extrato de *Physalis* usando um método de baixa energia, a emulsificação espontânea com agitação magnética ao invés da sonicação. As amostras foram armazenadas em

frasco âmbar sob refrigeração (4 °C) até sua utilização.

## 2.4 Análise do tamanho de gota

As análises de diâmetro médio e índice de polidispersão foram realizadas em espectrômetro de correlação de fótons (ZetaSizer Nanoseries, Malvern, United Kingdom). Foi retirada uma alíquota da nanoemulsão e feita uma diluição em água ultrapura (1:500). A análise de tamanho e verificação da ausência de gotas em escala micrométrica foi realizada através de difratômetro a laser (Master Sizer 3000 E, Malvern, United Kingdom).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Bouchemal e colaboradores (2004), a emulsificação espontânea é produzida por diferentes mecanismos os quais parecem ser afetados pela composição do sistema e suas características físico-químicas. Para Martini e colaboradores (2007) e Santos Magalhães e colaboradores (2000), o tamanho e a distribuição das gotículas são fortemente afetados pela natureza do solvente usado durante o processo de emulsificação espontânea, concentração do soluto, viscosidade do óleo, do tensoativos e principalmente pela energia aplicada no sistema, nesse caso, agitação magnética.

A determinação do diâmetro médio de gotícula das nanoemulsões é uma análise fundamental, pois o tamanho está diretamente ligado à estabilidade do sistema (Bruxel et al., 2012). O diâmetro é influenciado pela composição quali e quantitativa das formulações e pelo método de preparo utilizado. (Benita; Levy, 1993). Outro parâmetro importante na avaliação de tamanho de gotícula é o índice e polidispersão. Esse índice fornece informações a respeito da homogeneidade da distribuição dos tamanhos de gotícula do sistema. Valores menores que 0,3 de índice de polidispersão (PDI) indicam que o sistema é monodisperso (Lemos-Senna, 2011).

As nanoemulsões obtidas com agitação magnética para os tempos de 3 e 10 minutos apresentaram, respectivamente, 431 nm e 258 nm de tamanho de gota e um índice de polidispersão maior que 0,3. Mezadri (2010) elaborou nanoemulsão contendo extrato etanólico da polpa dos frutos de *Syagrus romanzoffiana*, obtida por método de baixa energia, que apresentou tamanho de glóbulo inferior a 200 nm, porém o valor de índice de polidispersão foi maior que 0,3, o que não é desejável para um sistema homogêneo e estável. A inerente estabilidade das nanoemulsões está diretamente relacionada ao processo de preparo que confere estabilização estérica, quando se emprega tensoativos não-iônicos e/ou polímeros; e ao diminuto tamanho dos glóbulos, cujo movimento browniano diminui a atuação da força da gravidade, prevenindo assim fenômenos de instabilidade (Tadros et al., 2004; Fernandez et al., 2004).

O banho e o homogeneizador ultrassônico, conhecido como sonda de US, são os equipamentos mais comumente empregados em laboratórios. Ambos são constituídos por um quartzo piezoelétrico, que pode expandir e contrair em resposta a voltagens

elétricas alternadas, gerando ondas sonoras. Com a utilização das ondas sonoras, ocorrem vibrações mecânicas seguidas da formação de cavitação acústica. Cavitação é a formação, crescimento e o implosivo colapso de bolhas em um líquido. Colapso cavitacional produz aquecimento local intenso ( $\sim 5000$  K), altas pressões ( $\sim 1000$  atm), altas taxas de aquecimento e resfriamento ( $> 10^9$  K  $\text{seg}^{-1}$ ), além de correntes de jato líquido ( $\sim 400$  km  $\text{h}^{-1}$ ). O colapso destas cavidades gera ondas de choque potentes, que quebram as gotículas em tamanho menores (Gosh et al., 2013; Suslick, 1998).

A frequência é diretamente proporcional a energia, ou seja, quanto maior a frequência maior a energia dissipada. A energia está ligada a intensidade, que é um parâmetro que tem grande influência no processo, pois com seu aumento, o tamanho de gota diminui. Mosavian e Hassani (2010) e Hielscher (2005) verificaram que a frequência e o tempo de sonicação, dentre outros parâmetros, influenciam diretamente no tamanho de gota de sistemas emulsionados. Na tabela 1, observam-se os resultados de tamanho de gota encontrados para as diferentes frequências dos banhos e sonda de US.

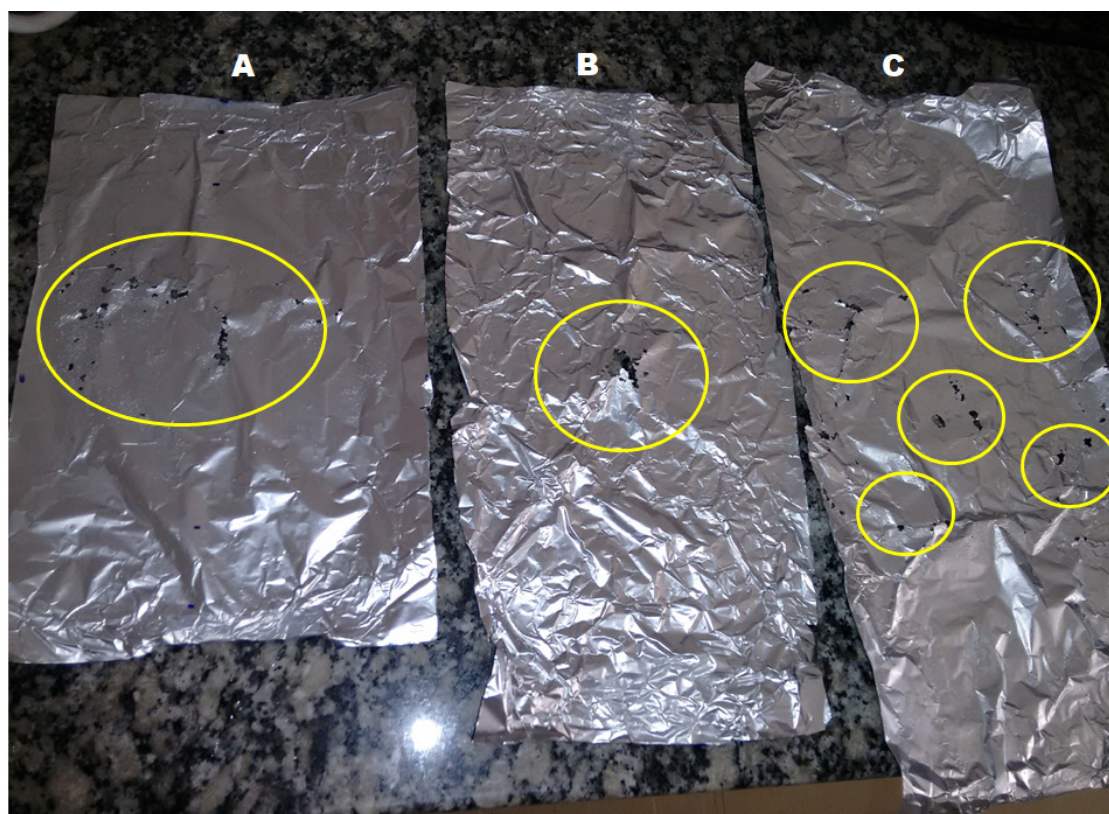
US/Frequência (kHz)	Tempo (min)	Difração a laser		Correlação de fótons	
		D [4:3] ( $\mu\text{m}$ )	Span	Diâm. Méd. (nm)	PDI
Banho / 25	3	0,494	0,610	186	0,093
Banho / 25	10	0,491	0,610	297	0,221
Banho / 35	3	0,495	0,607	250	0,262
Banho / 35	10	0,510	0,623	253	0,292
Banho / 37	3	0,490	0,607	169	0,141
Banho / 37	10	0,478	0,624	162	0,166
Banho / 45	3	0,862	0,977	308	0,292
Banho / 45	10	0,488	0,609	173	0,115
Banho / 80	3	0,505	0,612	198	0,128
Banho / 80	10	0,602	0,646	193	0,128
Banho / 130	3	0,529	0,645	225	0,184
Banho / 130	10	0,758	0,791	216	0,157
Sonda / 20	3	1,820	4,586	178	0,125
Sonda / 20	10	3,540	5,629	163	0,173

Tabela 1. Resultados de tamanho de gota das nanoemulsões para diferentes frequências nos tempos de 3 e 10 minutos.

Apesar da análise de espectroscopia de correlação de fótons ter apresentado tamanho de gota na faixa de nanômetros para as amostras elaboradas por sonda de US, os valores obtidos na análise por difração a laser, tanto para o tempo de 3 quanto para o de 10 minutos, mostraram a presença de micropartículas, além de um alto valor de dispersão, chamado de Span. De acordo com Washington e Davis (1988) o método com sonda de US, embora conveniente e de baixo custo, tem numerosas desvantagens, incluindo o excessivo aquecimento da amostra, a contaminação do

produto com resíduos de titânio provenientes da sonda e a ocorrência de ampla distribuição do tamanho de gotícula, que impede a reprodutibilidade do tamanho de gotícula nos produtos obtidos.

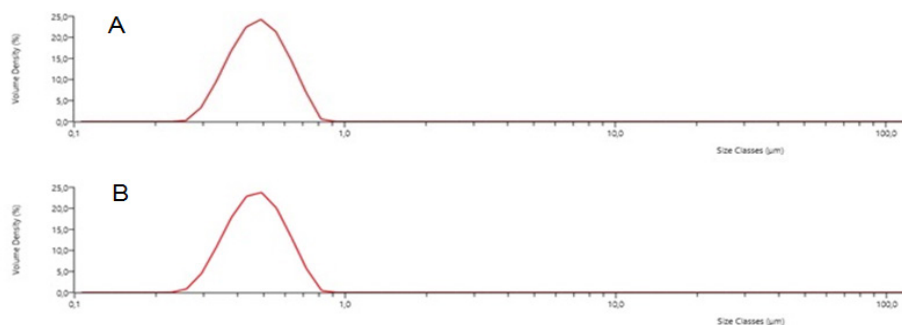
Segundo Avvaru e Pandit (2008), a posição da amostra em determinada profundidade e lado na cuba do banho de US também influencia no melhor aproveitamento da eficiência das bolhas de cavitação e, conseqüentemente no tamanho de gota. Foi realizado um mapeamento dos banhos em diferentes frequências, onde foi possível observar a localização ótima da amostra na cuba. Na figura 2, observa-se o mapeamento do banho de 37 kHz nas profundidades e diferentes áreas/lados de localização do recipiente da amostra. Como o recipiente de emulsificação era pequeno, devido ao volume de amostra, e o mapeamento da superfície mostrou a área central com maior incidência de ondas mecânicas, optou-se pelo uso dessa profundidade (2 cm) (figura 2A) nesse banho, dessa forma mantendo também a reprodutibilidade.



**Figura 2.** Mapeamento do banho de US de 37 kHz, onde A é mapeamento de maior concentração de energia na superfície do banho, B na altura média do banho e C no fundo da cuba do banho. Fonte: o autor.

As formulações elaboradas com banho de US na frequência de 37 kHz com tempos de 3 e 10 minutos tiveram melhor granulometria e distribuição de gotas (tabela 1 e figura 3) pela análise de difração a laser. É possível observar (figura 3) que não houve picos na faixa micrométrica no gráfico, indicando que não há presença de micropartículas em ambos tempos de sonicação. Essa também foi a condição que apresentou menor tamanho de gota e PDI, pela análise de espectroscopia de

correlação de fótons, quando comparados aos resultados de outras condições de frequência e tempo (tabela 1).



**Figura 3.** Gráfico da distribuição do tamanho de gota da nanoemulsão contendo extrato de *Physalis peruviana*, por análise de difração a laser. Banho de US, frequência de 37 kHz (A) 3 minutos e (B) 10 minutos.

## 4 | CONCLUSÃO

A sonicação é um eficiente método de nanoemulsificação, possibilitando um menor tamanho de gotícula e menor índice de polidispersão quando comparado ao método convencional com agitação magnética. Com isso, as duas análises de tamanho de gota apontaram o banho de US na frequência de 37 kHz como sendo a melhor opção para otimização do tamanho das gotículas em nanoemulsão de extrato de *Physalis peruviana*.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. E.; TEIXEIRA, E. F.; KOESTER, L. S. **Preparação de Emulsões Submicrométricas: Aspectos Teóricos sobre os Métodos Empregados na Atualidade.** Latin American Journal of Pharmacy, v. 27, p. 780-788, 2008.
- ALVARADO, P.A.; BERDUGO, C.A.; FISCHER, G. **Efecto de um tratamiento a 1,5 °C y dos humedades relativas sobre las características físico-químicas de fruto de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento.** Agronomía Colombiana, v. 22, p. 147-159, 2004.
- ANANDHARAMAKRISHNAN, C. **Techniques for Nanoencapsulation of Food Ingredients.** Springer, p. 1-89, 2014.
- ANTON, N.; BENOIT, J. P.; SAULNIER, P. **Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates- a review.** Journal of Controlled Release, v. 128, p. 185-199, 2008.
- ASSIS, L. M.; ZAVAREZE, E. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. **Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos.** Brazilian Journal of Food Technology, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.



- AVILA, J. A.; MORENO, P.; FISCHER, G.; MIRANDA, D. **Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18 °C.** Acta Agronomica (Colombia), v. 55, p. 29-38, 2006.
- AVVARU, B.; PANDIT, A. B. **Experimental investigation of cavitation bubble dynamics under multifrequency system.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 15, p. 578-589, 2008.
- BENITA, S.; LEVY, M. Y. **Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 82, n. 11, p. 1069-1079, 1993.
- BRIONES-LABARCA, V.; GIOVAGNOLI-VICUÑA, C.; FIGUEROA-ALVAREZ, P.; QUISPE-FUENTES, I. E. PÉREZ-WON, M. **Extraction of  $\beta$ -carotene, vitamin C and antioxidant compounds from *Physalis peruviana* (Cape Gooseberry) assisted by high hydrostatic pressure.** Food and Nutrition Sciences, v. 4, p. 109-118, 2013.
- BRUXEL, F.; LAUX, M. WILD, L. B.; FRAGA, M.; KOESTER, L. S.; TEIXEIRA, H. F. **Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos.** Quimica Nova, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.
- BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H. **Nanoemulsion formulations using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization.** International Journal of Pharmaceutics, v. 280, n° 1, p. 241-251, 2004.
- CAPEK, I. **Degradation of Kinetically-stable o/w emulsions.** Advances in Colloid Interfacial Science, Amsterdam, v. 107, p. 125-155, 2004.
- CODEVILLA, C. F.; BAZANA, M. T.; SILVA, C. B.; BARIN, J. S.; MENEZES, C. R. **Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas.** Ciência e Natura, v. 37, p. 142-151, 2015.
- CODEVILLA, C. F.; TISCHER, B.; GINDRI, A. L.; NOGUEIRA-LIBRELOTTO, D. R.; BARIN, J. S.; SILVA, C. B.; ROLIM, C. M. B.; ZEPKA, L. Q.; MENEZES, C. R. **Cytotoxicity and antioxidante of goldenberry extracts obtained with high intensity ultrasound.** Ciência Rural, v. 48, n.2, e20170362, 2018.
- COUVREUR, P.; BARRATT, G.; FATTAL, E.; LEGRAND, P.; VAUTHIER, C. **Nanocapsule technology: a review.** Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier System, v. 19, p. 99-134, 2002.
- DAUDT, R. M.; EMANUELLI, J.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. **A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos.** Ciência e Cultura, v. 65 n. 3, p. 28-31, 2013.
- FERNANDEZ, P.; ANDRE, V.; RIEGER, J.; KUHMLE, A. **Nano-emulsions formation by emulsions phase inversion.** Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, Amsterdam, v. 251, p. 53-58, 2004.
- GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; NATARAJAN, C. **Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity.** Ultrasonics Sonochemistry, v.20, p.338-344, 2013.
- GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. **Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications.** Drug Target Insights, v. 2, p. 147-157, 2007.
- HIELSCHER, T. **Ultrasonic Production of Nano-Size Dispersions and Emulsions.** TIMA Editions, p. 138-143, 2005.
- KUSPKA, M.; JÉLEN, H.H. **In-tube extraction for the determination of the main volatile compounds in *Physalis peruviana* L.** Journal of Separation Science, v. 40, n. 2, p. 532-541, 2016.

- LEMOS-SENNA, E. N., DAIANE. **Preparação e caracterização de suspensões colodais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea.** Química Nova, v. 34(3), p. 408-413, 2011.
- LIN, C.; CHEN, I. **Comparison of fuel properties and emission characteristics of two and three-phase emulsions prepared by ultrasonically vibrating and mechanically homogenizing emulsification methods.** Fuel, v. 87, p. 2154-2161, 2008.
- MARTINI, E.; CARVALHO, E.; TEIXEIRA, H.; LEÃO, F.; OLIVEIRA, M. C. **Adsorção de oligonucleotídeos em nanoemulsões obtidas por emulsificação espontânea.** Química Nova, v. 30, No. 4, 930-934, 2007.
- MEZADRI, H. **Desenvolvimento de nanoemulsões contendo extratos dos frutos de *Syagrus romanzoffiana*(Cham.) Glassman e estudo fitoquímico destes extratos.** 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, 2010.
- MOSAVIAN, M. T. H.; HASSANI, A. **Making Oil-in-Water Emulsions by Ultrasound and Stability Evaluation Using Taguchi Method,** Journal of Dispersion Science and Technology, v. 31, n. 3, p. 293-298, 2010.
- NAKABAYASHI, K.; AMEMIYA, F.; FUCHIGAMI, T.; MACHIDA, K.; TAKEDA, S.; TAMAMITSUB, K.; Atobe, M. **High clear and transparent nanoemulsion preparation under surfactant-free conditions using tandem acoustic emulsification.** Chemical Communications, v. 47, p. 5765-5767, 2011.
- NURIT SILVA, K.; AGRA, M. F. **Estudo fármaco botânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae).** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 15 ,n. 4, p. 344-351, 2005.
- PAYS, K. MABILLE, C.; SCHMITT, V.; LEAL-CALDERON, F.; BIBETTE, J. **Understanding the stability and lifetime of emulsions.** Journal of Dispersion Science and Technology, v. 23, n. 1-3, p. 175-186, 2002.
- RAMADAN, M. F.; MÖRSEL, J. T. **Oil goldenberry (*Physalis peruviana* L.).** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 4, p. 969-974, 2003.
- SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; PONTES, A.; PEREIRA, V. M. W.; CAETANO, M. N. P. **Colloidal carriers for benzathine penicilina G: nanoemulsions e nanocapsules.** International Journal of Pharmaceutics, v. 208, p. 71-80, 2000.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S. FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. . **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos.** Química Nova, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SCHMALTZ, C., SANTOS, J. V., GUTERRES, S. S. **Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: A imensa potencialidade deste pequeno grande recurso.** Infarma, v. 16, p. 13-14, 2005.
- SOLANS, C., IZQUIERDO, P., NOLLA, J., AZEMAR, N. **Nano-emulsions.** Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 10, p. 102-110, 2005.
- SUSLICK, K. S. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology;** 4th Ed. J. Wiley & Sons: New York, v. 26, p. 517-541, 1998.
- TADROS, T. F.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J. **Formation and Stability of nano-emulsions.** Advances in Colloid Interfacial Science, v. 108-109, p. 227-258, 2004.
- WASHINGTON, C.; DAVIS, S.S. **The production of parenteral feeding emulsions by Microfluidizer.** International Journal of Pharmaceutics, v. 44, p. 169-176, 1988.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-435-1

