

EXTRATO HIDROALCÓOLICO DE *LACTARIUS DELICIOSUS* INCORPORADO À DIFERENTES VEÍCULOS COSMÉTICOS PARA TESTES DE ESTABILIDADE

Hydroalcoholic Extract of Lactarius Deliciosus Built to Different Cosmetics Vehicles for Stability Tests

Jaqueline Maisa Franzen¹
Jessica Camile Favarin²
Talita Regina Granemann Nunes³
Talize Foppa⁴

Recebido em: 23 jul. 2015

Aceito em: 20 jun. 2016

RESUMO: O fungo *Lactarius deliciosus* pertence à família *Russulaceae* comumente associado às essências florestais do gênero *Pinus*. Este fungo é amplamente utilizado na culinária devido seu potencial altamente nutritivo e propriedades antioxidantes, fato que justificaria seu uso em cosméticos; entretanto, até o momento não há registros de estudos com utilização em formulações cosméticas anti-idade. **Objetivo:** Testar a estabilidade e qualidade qualitativa do extrato hidroalcolico obtido a partir do *Lactarius deliciosus* e a sua incorporação à veículos de uso cosmético. **Métodos:** Os cogumelos foram coletados no reflorestamento de *Pinus taeda* da empresa ADAMI S.A no município de Caçador-SC, Brasil, no período da manhã no mês de março durante o outono. O extrato hidroalcolico foi obtido através do acréscimo de solução etanólica 80% encubados por sete dias. Os veículos cosméticos utilizados foram base Hydrafresh, Polawax®, Gel Carbopol®, Loção *Oil Free* e Lanette® com cafeína acrescidas de 6% do extrato de *Lactarius deliciosus*. Realizaram-se ensaios de determinação da densidade, solubilidade e do pH do extrato. O extrato foi incorporado às bases e após realizados testes como estabilidade da formulação, teste de centrífuga de compatibilidade com o material acondicionado e o pH de todas as amostras com o extrato incorporado. **Resultados:** Todas as bases com exceção do Lanette® com cafeína se mostraram estáveis macroscopicamente à incorporação do extrato. **Considerações finais:** O extrato do cogumelo *Lactarius deliciosus* apresenta possíveis ações antioxidantes pelo fato de possuir quantidades consideráveis de fenóis totais, flavonoides, capacidade antioxidante total frente ao radical DPPH e sistema caroteno/ácido linoleico. O extrato se mostrou estável macroscopicamente. Mais estudos de estabilidade e estabilidade acelerada devem ser executados.

Palavras-chave: *Lactarius deliciosus*. Extração hidroalcolica. Cosméticos. Antioxidantes.

ABSTRACT: The fungus *Lactarius deliciosus* belongs to *Russulaceae* family commonly associated with forest species of *Pinus*. This fungus is widely used in

¹ Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP Caçador/SC. E-mail: franzenjaqueline@gmail.com.

² Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP Caçador/SC. E-mail: je_favarin@hotmail.com.

³ Farmacêutica docente da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP Caçador/SC. E-mail: tali_granemann@yahoo.com.

⁴ Farmacêutica, Mestre em Controle de Qualidade pela Universidade Federal de Santa Catarina, professora titular do curso de Farmácia e Química Industrial de Alimentos pela Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP – Campus Caçador. E-mail: talize@uniarp.edu.br.

cooking because of its highly nutritional potential. The fungus *Lactarius deliciosus* has high antioxidant properties, a fact that would justify its use in cosmetics and there are no records of studies that used in anti-aging cosmetic formulations. **Objective:** To test the stability and qualitative quality of the hydroalcoholic extract obtained from *Lactarius deliciosus* and their incorporation into the cosmetic use of vehicles. **Methods:** The mushrooms were collected in loblolly pine reforestation of ADAMI SA in Caçador-SC, Brazil district, in the morning, in March during autumn. The hydroalcoholic extract was obtained by adding ethanolic solution of 80% hatched for 7 days. The cosmetic vehicles used were based Hydrafresh®, Polawax®, Carbopol® Gel, Lotion Oil Free, Lanette® and caffeine plus 6% *Lactarius deliciosus* extract. Assays were performed to determine the density, solubility, and the pH of the extract. The extract was incorporated in the bases and after tests and formulation stability, compatibility with the centrifuge test equipment and conditioning the pH of all samples to extract embedded. **Results:** All bases except Lanette® with caffeine, were stable to extract the merger. **Final thoughts:** The *Lactarius deliciosus* mushroom extract has potential antioxidant action because of having considerable amounts of total phenols, flavonoids, total antioxidant capacity across the DPPH radical and system carotene / linoleic acid. The extract showed stable macroscopically. More studies of stability and accelerated stability should be executed.

Keywords: *Lactarius deliciosus*. Hydroalcoholic extraction. Cosmetics. Antioxidants.

INTRODUÇÃO

A espécie *Lactarius deliciosus* é um fungo ectomicorrízico que pertence à família *Russulaceae* e pode ser comumente encontrado em simbiose com essências florestais do gênero *Pinus sp.* Seus basidiomas são amplamente caracterizados pela literatura como comestíveis e a alimentação com este cogumelo já acontece de forma incipiente em alguns países (FREIRE; MARCHETTI; OLIVEIRA, 2013).

Os cogumelos são mundialmente cultuados principalmente por suas características na culinária sendo considerados alimentos ricos em proteínas e com baixo teor de lipídios e valor calórico. Já do ponto de vista medicinal o que é levado em consideração é a sua capacidade antioxidante (WASSER, 2007).

Cheung et al. (2013), Elmastas et al. (2007) ao analisarem extratos metanólicos de algumas espécies de cogumelos correlacionaram diretamente a atividade antioxidante e a quantidade de tocoferóis e fenóis totais. O tipo de extração e o manejo da matéria prima são fatores preponderantes para a identificação e isolamentos de compostos ativos. Os cogumelos normalmente são usados desidratados e, para isso, são expostos a temperaturas elevadas e presença de oxigênio, causando maior susceptibilidade aos danos oxidativos.

Os cogumelos em geral apresentam diversos compostos biologicamente ativos tais como: polissacarídeos, glicoproteínas, ergosterol, enzimas e propriedades antioxidantes e antibióticas. Estes ativos são usados para fins medicinais, além de serem muito apreciados por suas características sensoriais e organolépticas (DA SILVA; 2011).

Para Pokorný (1991), os antioxidantes de origem natural são mais vantajosos porque são considerados produtos de maior segurança quando comparados a antioxidantes de origem sintética. O autor ainda afirma que estes antioxidantes naturais, tendem a ser mais bem vistos pelos consumidores, por protegerem os óleos vegetais contra a oxidação lipídica, também os conferem propriedades nutracêuticas.

A pele é dividida em estratos, formados por tecidos originados dos folhetos ectoderma e mesoderma, que se superpõem em três camadas distintas: a epiderme, a derme e a hipoderme. A pele atua como um órgão sensorial, desempenhando papéis fundamentais ao organismo como: participação no sistema imunológico, regulação da temperatura corpórea, auxiliar na síntese de vitamina D e absorção de radiação UV (FRANZEN; DOS SANTOS; ZANCANARO, 2013).

O estrato córneo da pele é a parte mais externa, e pode ser comparado com uma parede de tijolos, com os queratinócitos representando os tijolos e os lipídios lamelares o cimento (DAMAZIO; GOMES, 2013). Este estrato constitui a principal barreira a ser vencida por formulações cosméticas de aplicação tópica. Para o desenvolvimento destas formulações, deve-se levar em consideração, a concentração e as características farmacológicas dos princípios ativos, e principalmente o tipo de veículo a ser utilizado como base, e a interação deste com a pele (GUIRRO; GUIRRO, 2004). Os cosméticos desafiam ultrapassar uma das principais funções da pele, pois, estes precisam romper a proteção cutânea contra permeação de partículas do meio externo para o meio interno (FRANZEN; DOS SANTOS; ZANCANARO, 2013).

Até o momento, não há registros de pesquisas que envolvam o fungo *Lactarius deliciosus* a formulações cosméticas para nenhum fim, como creme antioxidante, anti-idade, hidratantes e diversos outros. Também, não há estudos mostrando a estabilidade do extrato hidroalcolico 80% deste fungo incorporado a diferentes veículos de uso cosmético. Este trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade do extrato hidroalcolico 80% de *Lactarius deliciosus*, bem como sua incorporação a bases usualmente utilizadas na preparação de produtos cosméticos. Uma vantagem da utilização deste fungo como componente ativo, pode ser o custo final do produto. Devido sua capacidade de se desenvolver junto às essências florestais de Pinus, pode ser amplamente utilizado na região do planalto serrano de Santa Catarina, explorando de maneira sustentável esta espécie.

METODOLOGIA

Coleta dos cogumelos: a coleta foi realizada no reflorestamento de *Pinus taeda* da empresa ADAMI S.A no município de Caçador/SC, no período da manhã no mês de março na estação de outono do ano de 2014.

Preparo do extrato hidroalcolico: os corpos de frutificação dos cogumelos foram lavados em água corrente e após com água destilada para posterior realização da secagem dos mesmos. A secagem foi realizada em estufa de circulação de ar forçado, a 40°C no

laboratório de Química de Alimentos da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe UNIARP campus Caçador-SC, Brasil. Após secagem os cogumelos foram resfriados em temperatura ambiente, cortados em frações menores, homogeneizados, pesados e transferidos para balões de erlenmeyer e imediatamente acrescidos com o solvente etanol 80%. Estes, posteriormente incubados e protegidos da luz para evitar oxidação, a temperatura ambiente (cerca de 20°C) durante sete dias. Em seguida, dispostos sob filtros para separação dos corpos de frutificação e extrato. Para completa evaporação do solvente, utilizou-se Rotavapor e o produto final foi armazenado em balões de erlenmeyer previamente esterilizados.

Preparação das bases: as bases cosméticas utilizadas foram preparadas de acordo com o Formulário Nacional Da Farmacopeia Brasileira 2ª edição, (2010) e de acordo com a RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 67, DE 8 DE OUTUBRO DE 2007, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. As bases foram preparadas na Farmácia Escola de Manipulação da UNIARP e os veículos escolhidos para testes de compatibilidade foram: Hydrafresh®, Polawax®, Carbopol®, Lanette® com cafeína e *Oil Free*, cuja formulação contendo componentes e concentração está informada na Tabela 1.

Tabela 1 – Representação dos componentes, pH e especificações de cada base cosmética utilizada.

| | Hydrafresh® | Polawax® | Gel Carbopol® | Lanette® com cafeína | Oil Free |
|----------------------|--|---|---|--|---|
| | Hydrafresh® cera, álcool cetílico, água deionizada, EDTA dissódico, phenogard, triglicérides do ácido cáprico, dry-flue, DC-7 3101 elastômero, net FS, glicerina, propilenoglicol, aristoflex. | Polawax® cera, propilparabeno, metilparabeno, água deionizada, propilenoglicol. | Carbopol®, trietanolamina, água deionizada, metilparabeno, propilenoglicol. | Lanette® cera, cafeína anidra, metilparabeno, propilparabeno, água destilada, propilenoglicol. | Aristoflex, água deionizada, BHT, EDTA, metilparabeno, propilenoglicol, net FS. |
| pH | 5,5 | 6,0 | 7,0 | 6,5 | 6.5 |
| Especificação | Parcialmente oleosa | Oleosa | Gel a base de água | Oleosa | Sem adição de óleo |

Fonte: Autor, 2014.

Ensaio Organolépticos do extrato: determinação de cor, odor, aspecto inicial e descrição para posterior comparação, realizados de acordo com o Guia De Qualidade De Produtos Cosméticos – Uma abordagem sobre ensaios químicos e físicos da ANVISA (2008).

Determinação do pH: utilizando o phmetro, previamente calibrado em solução tampão de ph 4 e 7 para determinação do pH do extrato puro e deste incorporado às bases (ANVISA (2008)).

Determinação da densidade: em picnômetro de vidro para produtos líquidos e picnômetro de metal para os produtos semissólidos e viscosos. Pesou-se o picnômetro vazio e anotou-se o seu peso (M0). A seguir, o mesmo foi preenchido completamente com água purificada, evitando a introdução de bolhas. Após, secou-se cuidadosamente, pesar novamente e anotar seu peso (M1). Por último, encher completamente o picnômetro (limpo e seco) com a amostra, evitando a formação de bolhas. Depois de seca-lo cuidadosamente, ele deve ser pesado mais uma vez e ter seu peso (M2) anotado (ANVISA (2008)).

Determinação da solubilidade: O extrato foi misturado em água, álcool e propileno para observar formação de fases e precipitados realizados de acordo com o Guia De Qualidade De Produtos Cosméticos – Uma abordagem sobre ensaios químicos e físicos da ANVISA (2008).

Teste de Centrifuga: A força da gravidade atua sobre os produtos, fazendo com que as partículas se movam no seu interior. A centrifugação produz estresse na amostra e simula um aumento na força de gravidade, eleva a mobilidade das partículas e antecipa possíveis instabilidades. Estas puderam ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, formação de sedimento compacto (*caking*) e coalescência, entre outras. As amostras foram centrifugadas em temperatura, tempo e velocidade padronizados. Em seguida, procedeu-se a avaliação visual. Este teste é estendido ao controle de processo realizado de acordo com o Guia De Qualidade De Produtos Cosméticos – Uma abordagem sobre ensaios químicos e físicos da ANVISA (2008).

Teste de estabilidade: o extrato foi incorporado às bases para observação de possíveis alterações visíveis, realizados de acordo com o Guia De Qualidade De Produtos Cosméticos – Uma abordagem sobre ensaios químicos e físicos da ANVISA (2008).

Teste de compatibilidade entre formulação e material de acondicionamento: A estabilidade do produto e sua compatibilidade com o material de acondicionamento devem ser aplicadas no produto antes de ser comercializado. Neste teste são avaliadas inúmeras alternativas de matérias de acondicionamento para determinar o melhor material que atenda às condições de estabilidade e compatibilidade com a formulação sem alterar o produto final (ANVISA, 2004). A embalagem escolhida deve além de atender as características de qualidade e estabilidade, também ser atrativa ao consumidor, e caracterizar um ponto positivo na escolha do produto, como estratégia de *marketing*. Para realização dos testes, três embalagens distintas foram escolhidas: bisnaga de alumínio, pote estilo fundo falso de plástico e bisnaga de plástico. As embalagens foram submetidas a condições de luz UV, calor, exposição á ambientes de elevada umidade e temperatura elevada (cerca de 35-40°C).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O extrato de etanol 80% do cogumelo *Lactarius deliciosus* foi escolhido para elaboração do creme com possíveis ações antioxidantes pelo fato de possuir quantidades

consideráveis de fenóis totais (16,65 equivalentes de ácido gálico/mg), flavonoides (11,82 equivalentes querceatina/mg) e capacidade antioxidante total (54,36%) e frente ao radical DPPH e sistema caroteno/ácido linoleico (51,63%), segundo estudos de FAVARIN et al., (2013). Os testes em sua maioria se mostraram compatíveis para as amostras Hydrafresh®, Polawax®, Carbopol® e Oil free, descartando apenas a base Lanette® com cafeína que reprovou no teste de centrifuga.

De acordo com os testes realizados, obtiveram-se os seguintes resultados dispostos conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados obtidos após execução de ensaios físico-químicos do extrato hidroalcolico de *Lactarius deliciosus*

| Ensaio | Especificações |
|----------------|---|
| Aspecto físico | Líquido límpido a turvo |
| Cor | Amarelo âmbar a escuro |
| Odor | Característico |
| Ph | 6,70 |
| Solubilidade | Água- Miscível Álcool- Miscível Propilenoglicol- Miscível |

Fonte: Autor, 2014.

Bouillot; Teychené e Biscans (2013), em seu estudo relatou a dificuldade encontrada na predição de solubilidade de compostos orgânicos, dificuldade que pode estar ligada à complexidade das moléculas envolvidas, que possuem a capacidade de formar complexos e interações de diferentes proporções em diversos tipos de formulações. De acordo com a ficha técnica descrita, o extrato hidroalcolico se mostrou com excelentes características, onde o pH se encontra levemente acidificado e boa solubilidade nos solventes testados. Esta última característica, de extrema importância, pois representa facilidade de incorporação em diversos meios, não indo de encontro com a dificuldade relatada pelos autores.

Densidade: Para à análise da densidade, primeiramente foi pesado o picnômetro vazio $M_0 = 28,85g$. Após pesou-se o picnômetro com água, $M_1 = 55,20 g$ e com o extrato $M_2 = 52,120g$, e procedeu-se a realização do cálculo de acordo com a seguinte fórmula:

Teste de estabilidade: Todas as bases se mostraram estáveis após a adição do extrato do cogumelo *Lactarius deliciosus*. Após incorporação não houve separação de fases, ou formação de grumos, manteve-se com aspecto homogêneo sem reação exotérmica ou formação de precipitados. A cor da base foi ligeiramente alterada para cor bege claro, fato que se julgou normal, devido coloração do extrato hidroalcolico apresentar-se âmbar.

Determinação do Ph dos cremes, géis: O extrato foi incorporado às bases e depois feita a medição do pH utilizando o phmetro, obtendo os resultados de acordo com a Tabela 3 abaixo.

Tabela 3 – Representação do pH obtido após incorporação do extrato em cada base

| BASE COM EXTRATO | pH |
|---------------------------|------|
| BASE HYDRAFRESH® | 4,84 |
| BASE POLAWAX® | 4,83 |
| BASE CARBOPOL® | 4,60 |
| BASE LANETTE® COM CAFEÍNA | 6,90 |
| BASE OIL FREE | 4,50 |

Fonte: Autor, 2014.

Teste de centrífuga: A base Lanette® com cafeína foi à única amostra que demonstrou separação de fases, houve formação de um pequeno anel de cor mais clara na superfície do tubo de ensaio atingindo cerca de 5% da totalidade do creme disposto no mesmo. Houve também formação de leves traços esbranquiçados nos 95% restantes da superfície. Após este teste, a base Lanette® com cafeína se mostrou instável para a preparação da formulação final, sendo então descartada da composição do produto. O restante das bases permaneceu sem alterações se mostrando estáveis e com possíveis chances de compor o produto final.

Teste de compatibilidade entre formulação e material de acondicionamento: Após realização dos testes de estabilidade em três tipos de embalagens distintas, que se mostraram igualmente eficazes quanto a compatibilidade e proteção do produto cosmético. Sendo assim, o requisito para escolha da embalagem foi a estratégia de marketing, escolhendo-se a embalagem que se acreditou ser mais atraente aos olhos do consumidor final. A embalagem escolhida foi o pote fundo falso de plástico, devido estética e por se assemelhar às embalagens de produtos já disponíveis no mercado.

Elaboração do produto final: A elaboração do produto foi realizada no Laboratório de Farmacotécnica da UNIARP, de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 67, de 8 DE outubro de 2007, ANVISA. Respeitando os parâmetros de higiene e ética profissional farmacêutica.

A base escolhida atendeu aos requisitos de qualidade dos testes efetuados, assim como outras bases. Sua composição lhe confere vantagens em relação às outras bases utilizadas, tais como toque macio à pele, indicada para todos os tipos de pele, principalmente peles oleosas. Sua fórmula contém ativos com finalidade ampla e alto poder hidratante, suas características comportam formulações para uso facial, onde geralmente formulações antioxidantes são aplicadas. Outras bases utilizadas, não apresentam amplas características de hidratação e indicação à diferentes tipos de pele e, por este motivo foram excluídas da fórmula final.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de etanol 80% do cogumelo *Lactarius deliciosus* apresenta possíveis ações antioxidantes pelo fato de possuir quantidades consideráveis de fenóis totais, flavonoides, capacidade antioxidante total frente ao radical DPPH e sistema caroteno/ácido linoleico. O extrato se mostrou estável macroscopicamente. Mais estudos de estabilidade

e estabilidade acelerada devem ser executados.

REFERÊNCIAS

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2. ed edição, revista – Brasília: Anvisa, 2008.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. -- 1. ed. -- Brasília: ANVISA, 2004.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 67, de 08 de outubro de 2007**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias e seus anexos. Diário Oficial da União, 09 out. 2007. p. 1-58.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 481, de 23 de setembro de 1999**. Dispõe sobre os parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos. Diário Oficial da União, 27 set. 1999. p. 29.

Brasil. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

BOUILLOT, B.; TEYCHENÉ, S.; BISCANS, B. Na Evaluation of COSMO-SAC Model and Its Evolutions for the Prediction of Drug-Like Molecule Solubility; Part 1. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 2013, n. 1, p. 130221153250009, 21 fev. 2013.

CHEUNG, L. M.; CHEUNG, Peter CK; OOI, Vincent EC. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 249-255, 2003.

DAMAZIO, Marlene Gabriel; GOMES, Rosaline Kelly. **Cosmetologia**: descomplicando os princípios ativos. 4. ed. rev. São Paulo: Livraria Médica Paulista, 2013.

SILVA, Ana Carolina da; JORGE, Neuza. Cogumelos: compostos biativos e propriedades antioxidantes. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, p. 375-384, 2011.

ELMASTAS, M; ISILDAK, O; TURKEKUL, I; TEMUR, N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**. p. 337-345, 2007.

FAVARIN, Jéssica; FOPPA, Talize; OLIVEIRA, Leyza Paloschi; LOCATELLI, Claudriana. Avaliação físico química e nutricional do cogumelo *Lactarius deliciosus*: aplicabilidade como alimento e ativo farmacológico. **Extensão em Foco**, v. 1, n. 1, p. 59-64, 2013.

FRANZEN, Jaqueline Maisa; DOS SANTOS, Juliangela Mariane Schröder Ribeiro; ZANCANARO, Vilmair. Colágeno: uma abordagem para a estética. **Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde**, v. 2, n. 2, p. 49-61, 2013.

FREIRE, Cássio Geremias; MARCHETTI; Marithsa Mayara; OLIVEIRA; Leyza Paloschi.

Caracterização morfológica e nutricional do fungo ectomicorrízico *Lactarius deliciosus*. **Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde**, v 2, n 1, p7-12, 2013.

GUIRRO, E. C. De O; GUIRRO, R de J. **Fisioterapia Dermato-Funcional: fundamentos, recursos, patologias**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2004.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends Food Sci Technol**; 2(9): p. 223-7, 1991.

UNITED STATES OF PHARMACOPEIA. 26 ed. Rockville: United States **Pharmacopeial** Convention, 2003.

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms: ancient traditions, contemporary knowledge, and scientific enquiries. **International journal of medicinal mushrooms**. V. 9, n. 3 & 4, p. 187-188, 2007.