



CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE MICROEMULSÃO CONTENDO O ÓLEO DE SEMENTE DE MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)

Kauane de Oliveira Bizi(PIBIC-EM) ^{1,2}; João Vitor Vicente da Silva (mestrado-CAPES) ^{1,2,3}; Beatriz Ferreira de Carvalho Patricio (orientadora)^{1,2,3}.

- 1 – Departamento de Ciências Fisiológicas; Instituto Biomédico; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.
- 2 – Laboratório de Inovação Farmacêutica e Tecnológica, Instituto Biomédico; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.
- 3 – Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular, Instituto Biomédico; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq, CAPES, UNIRIO

Palavras-chave: nanossistema, maracujá amarelo, microemulsão, caracterização físico-química, estabilidade.

Introdução: O maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) é um fruto tropical reconhecido por suas propriedades ansiolíticas, anti-inflamatórias e antioxidantes, destacadas na literatura científica (HE *et al.*, 2020; SALLES *et al.*, 2021; MONTANHER *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2011). Embora sua polpa seja amplamente consumida, partes significativas do fruto são frequentemente desperdiçadas (SILVA; RODRIGUES; BOTTOLI, 2021). O óleo de semente de maracujá (OSM) é rico em ácidos graxos e antioxidantes. Este material possui composição graxa similar ao óleo de girassol, que já é amplamente utilizado para prevenir e tratar lesões (TORRES *et al.*, 2021). A partir dessa similaridade e do potencial de agregar valor aos subprodutos agroindustriais do maracujá, idealizou-se o desenvolvimento de um nanossistema contendo o OSM para futuros estudos de sua atividade biológica. As microemulsões (ME), são um sistema termodinamicamente estável, composto por líquidos imiscíveis, que quando misturados na presença de tensoativos, cotensoativos e água formam um sistema homogêneo através de uma branda homogeneização do sistema (KARASULU, 2008; MADHAV GUPTA, 2011; CALLENDER *et al.*, 2017). Visando uma administração cutânea, as ME proporcionam algumas vantagens, visto que a quantidade de fármaco que interage com a pele é superior a outras formulações farmacêuticas, já que apresenta uma concentração de composto ativo por área de superfície maior, facilitando a interação com os sistemas biológicos. Além disso, apresenta uma maior estabilidade termodinâmica quando comparado a outros nanossistemas, facilitando a entrada do fármaco na pele (ZHU *et al.*, 2009; PATEL; PATEL; THAKKAR, 2021).

Objetivo: Avaliar a estabilidade de uma ME de OSM em relação aos seus parâmetros físico-químicos frente a diferentes temperaturas de armazenamento (8, 25 e 40°C), diluição e salinidade.

Metodologia: O processo de preparação das microemulsões foi guiado por estudos anteriores na literatura (Nandi *et al.*, 2003; Shinde *et al.*, 2018). A ME produzida consistia de Kolliphor® RH40, Span® 80, propilenoglicol (28% T: cT_{mix}) e OSM (9%), metilparabeno (0,1%) e água (62,9%). A ME foi armazenada sob as seguintes condições geladeira (8 ± 2 °C, Consul biplex CRD36), ambiente (25 ± 2 °C) e estufa (40 ± 2 °C, Venticell 222 – série ECO, Grupo MMM) - ME8, ME25 e ME40, respectivamente. O tamanho de gotícula e índice de polidispersividade (PDI) foram analisados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) no equipamento Zetasizer S90 (Malvern) conforme descrito na literatura (SABALE; VORA, 2012). Para leitura no aparelho, o ME foi diluído em água na proporção de 1:10 V/V. O pH foi determinado utilizando um medidor de pH (Bel W38). A condutividade elétrica (CE) foi aferida utilizando o condutivímetro CG2000 Gehaka. O índice de refração (IR) foi determinado comparando-o com o da água e do OSM por meio de um refratômetro Analytik Jena (SHINDE; MODANI; SINGH, 2018). Todas as análises foram realizadas em triplicata durante 45 dias. A metodologia para verificar a estabilidade das ME frente à diluição e alteração da salinidade do meio foi adaptada do estudo realizado por Tan e colegas (2022). Um volume de 500 µL das soluções de trabalho foram adicionados sucessivamente (0,0 mol.L⁻¹) – água destilada, 0,05 mol.L⁻¹, 0,1 mol.L⁻¹ e 0,2 mol.L⁻¹ de cloreto de potássio - KCl) até atingir volume final de 10 mL de solução adicionada. Após cada adição de 500 µL, o sistema foi submetido a agitação magnética moderada e posteriormente a condutividade elétrica (CG2000 condutivímetro Gehaka) e o índice de refração (Analytik Jena) foram mensurados. A análise estatística foi realizada utilizando o teste de Kruskal-Wallis (ANOVA não paramétrica) seguido pelo pós-teste de múltiplas comparações de Dunn para comparação de três grupos ou mais. Para a comparação de dois grupos, foram utilizados o teste de Wilcoxon ou Mann-Whitney para grupos pareados e não pareados, respectivamente. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados e discussão: Os valores de tamanho estavam de acordo com o esperado para uma ME, ou seja, entre 10 e 100 nm (TARTARO *et al.*, 2020). O PDI, que mede a uniformidade do tamanho de gotículas, varia de 0 a 1,0, sendo valores próximos a zero indicativos de maior uniformidade (MOGHIMIPOUR; SALIMI; EFTEKHAR, 2013). Não foram encontradas diferenças significativas no tamanho de gotícula ou PDI em relação ao modo de armazenamento, indicando que esse parâmetro não foi afetado. Em todas as condições testadas, o PDI foi inferior a 0,3, o que é considerado um indicador de população monodispersa (DANAEI *et al.*, 2018; SONG *et al.*, 2021). Ressalta-se, no entanto, que embora a ME40 tenha mostrado uma diferença estatisticamente significativa ao comparar D0 e D45, e também ao comparar ME25 com ME40 em relação ao PDI, essa diferença é considerada de menor relevância biológica, uma vez que os valores de tamanho e PDI ficaram dentro do tamanho esperado de ME. No geral, todas as formulações apresentaram PDI inferior a 0,3, demonstrando uma excelente uniformidade das gotículas. A condutividade elétrica foi utilizada para distinguir entre os diferentes tipos de MEs: água em óleo (A/O), óleo em água (O/A) ou bicontínuas (YOTSAWIMONWAT *et al.*, 2006). Geralmente, sistemas O/A e bicontínuos apresentam valores elevados de condutividade elétrica, enquanto A/O são fracos ou não condutores (KAHLWEIT; BUSSE; WINKLER, 1993; AGRAWAL; AGRAWAL, 2012). Segundo Fiori *et al.* (2017), uma ME pode ser considerada do tipo O/A se a condutividade for maior que a da água destilada ($>1,3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Inicialmente, foi verificada a condutividade do OSM ($0,000 \pm 0,000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) e da água ($2,720 \pm 0,069 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) para avaliar sua influência na condutividade da ME. Ao comparar a condutividade no D0 das MEs armazenadas em diferentes temperaturas (ME8, ME25 e ME40), não houve significância ($p > 0,05$), ao contrário do observado em D45, onde houve diferença entre ME8 e ME25 ($p = 0,0219$). Entretanto, todos os valores indicaram que as MEs eram do tipo O/A. Não houve diferença significativa na condutividade entre D0 e D45 dentro da mesma temperatura ($p > 0,05$), embora a condutividade da ME25 tenha aumentado ao longo do tempo. Em relação ao IR, inicialmente foi verificado tal valor da água, encontrando-se o valor de $1,333 \pm 0,000$, já para o OSM, o IR foi de $1,471 \pm 0,000$. As análises de IR não mostraram diferença estatística entre D0 e D45 para as MEs (ME8, ME25, ME40), nem dentro de uma mesma ME. A estabilidade dos valores de IR ao longo do tempo indica a estabilidade da formulação (TORRES *et al.*, 2018), e corroboram com os resultados da condutividade elétrica que indicam que os nanossistemas formados são do tipo O/A (ARAÚJO *et al.*, 2021). O pH é um parâmetro crucial na avaliação de formulações tópicas, influenciando diretamente na sua segurança e estabilidade. Estudos indicam que o pH da pele varia de 4,0 a 6,0 (SCHNEIDER *et al.*, 2007; WOHLRAB *et al.*, 2018; BOER *et al.*, 2016). Comparando os valores de pH entre o início (D0) e após 45 dias (D45) de armazenamento a 40°C, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa para ME8 e ME25, mas a ME40 apresentou uma diminuição no pH ($\text{pHD0} = 5,60 \pm 0,006$; $\text{pHD45} = 5,39 \pm 0,025$). Esta redução pode ser atribuída à degradação dos componentes lipídicos do óleo vegetal utilizado, liberando ácidos graxos livres sob condições de estresse térmico (GUIDONI *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2022). Os resultados indicam que os valores de pH obtidos são adequados para aplicação em pele íntegra e em feridas agudas, destacando a robustez das formulações estudadas em diferentes condições de armazenamento e análise (SOUZA *et al.*, 2022). No entanto, a temperatura de 40°C há variações nos valores de pH. As microemulsões, apesar de serem consideradas estáveis do ponto de vista termodinâmico, são sensíveis a mudanças de temperatura, pH e salinidade do meio, especialmente quando há uso de tensoativos iônicos (AGRAWAL & AGRAWAL, 2012; CALLENDER *et al.*, 2017). Diante dessas questões, foi investigada a estabilidade da microemulsão desenvolvida neste estudo frente a variações de pH (normal, 4, 7 e 10 - ME pHN, ME pH4, ME pH7 e ME pH10, respectivamente). Inicialmente, o IR da ME variou de 1,384 a 1,385 e diminuiu ao adicionar água destilada ($0,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e várias concentrações de KCl ($0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), estabilizando-se entre 1,357 e 1,360. Os valores de IR indicaram que a ME permaneceu do tipo O/A durante as diluições, aproximando-se dos valores de IR da água (1,325-1,333). De acordo com Callender *et al.* (2017), a adição de íons afeta a estabilidade dos MEs, principalmente daqueles que contêm surfactantes iônicos, o que difere do caso dos surfactantes não iônicos estudados neste artigo. A condutividade aumenta gradativamente com a concentração de KCl ($0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) de valores entre $258\text{-}300 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ até $1.690\text{-}5.130 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. O aumento gradual na condutividade para todas as concentrações testadas de KCl contrasta com a transição esperada entre diferentes tipos de ME (A/O, bicontínuo, O/A) que normalmente exibe um pico seguido por diminuições na taxa de condutividade (YOTSAWIMONWAT *et al.*, 2006; TARTARO *et al.*, 2020).

Conclusão: Os resultados indicam que a melhor temperatura de armazenamento das ME é de até 25°C. Além disso, a ME se manteve estável em relação ao aumento de salinidade e diluição a que foram submetidas.

Referências:

- ARAÚJO, C. C. B. et al. Development of rivaroxaban microemulsion-based hydrogel for transdermal treatment and prevention of venous thromboembolism. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 206, p. 111978, out. 2021.
- CALLENDER, S. P. et al. Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 526, n. 1–2, p. 425–442, jun. 2017.
- HE, J. et al. Pharmacological effects and potential applications of *Passiflora edulis* (Passion fruit): A review. *Journal of Functional Foods*, v. 72, p. 104183, out. 2020.
- KARASULU, H. Y. Microemulsions as novel drug carriers: the formation, stability, applications and toxicity. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v. 5, n. 1, p. 119–135, jan. 2008.
- MADHAV, S.; GUPTA, D. A review on microemulsion based system. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 2, no. 8, 1 Aug. 2011.
- MONTANHER, A. B. et al. Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, n. 2, p. 281–288, jan. 2007.
- MOURA, K. P. A. DE et al. Farinha do albedo do maracujá (*Passiflora edulis* Sims) para o enriquecimento de produtos cárneos: Uma revisão. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 8, p. e53110817603–e53110817603, 9 jul. 2021.
- NANDI, S.; NIKAM, M.; RAO, M. S. et al. A review of the role of microemulsions in drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 13, n. 4, p. 287–293, jul. 2003.

PATEL, D.; PATEL, B.; THAKKAR, H. Lipid Based Nanocarriers: Promising Drug Delivery System for Topical Application. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 123, n. 5, p. 2000264, maio 2021.

SALLES, T. et al. Protective effect of *Passiflora edulis* in experimental models of inflammatory and oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 274, p. 114039, mar. 2021.

SILVA, G. C.; RODRIGUES, R. A. F.; BOTTOLI, C. B. G. Passion fruit seed extract enriched in piceatannol obtained by microwave-assisted extraction. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, v. 22, p. 100472, set. 2021.

SOUZA, A. V. et al. Development and application of a passion fruit seed oil microemulsion as corrosion inhibitor of P110 carbon steel in CO₂-saturated brine. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 599, p. 124934, ago. 2020.

SHINDE, S. D.; KOLHE, S. H.; KOKARE, C. R. et al. Nanoemulsion and its applications: A review. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, v. 9, n. 1, p. 1000182, jan. 2018.

TORRES, S. B. et al. Óleo de girassol (*Helianthus annus L.*) Como cicatrizante de feridas em idosos diabéticos / Sunflower oil (*Helianthus annus L.*) As a wound healer in diabetic elderly people. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 4, n. 2, p. 4692–4703, 2021.