



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

Kauane de Oliveira Bizi(PIBIC-EM) <sup>1,2</sup>; João Vitor Vicente da Silva (mestrado-CAPES) <sup>1,2,3</sup>; Beatriz Ferreira de Carvalho Patrício (orientadora) <sup>1,2,3</sup>.

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 fisico-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, cotonsoativos 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<sub>mix</sub>) e OSM (9%), metilparabeno (0,1%) e água (62,9%). A ME foi armazenada sob as seguintes condições geladeira (8 ± 2 °C, Consul bixplex 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<sup>-1</sup>) – água destilada, 0,05 mol.L<sup>-1</sup>, 0,1 mol.L<sup>-1</sup> e 0,2 mol.L<sup>-1</sup> 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 (MOGHIMPOUR; 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 ( $\text{pH}_0 = 5,60 \pm 0,006$ ;  $\text{pH}_{45} = 5,39 \pm 0,025$ ). 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  $258-300 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  até  $1,690 - 5,130 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . 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; TÁRTARO *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 CO<sub>2</sub>-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.