



## PRODUÇÃO DE NANOEMULSÕES A PARTIR DE BIOPOLÍMEROS NATURAIS: ESTUDO DE ESTABILIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA

F. K. Müller<sup>1</sup>, A. L. L. Rezende<sup>2</sup>, L. H. Jaeger<sup>1,2</sup>, P. R. Chellini<sup>1</sup>, F. F. Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, campus universitário, São Pedro, Juiz de Fora - MG, Brasil, CEP. 36016-900.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, campus universitário, São Pedro, Juiz de Fora - MG, 36036-900.

fabianofreirecosta@gmail.com

**Palavras-Chave:** Atividade antiparasitária, Nanoestrutura, Sustentabilidade

### Introdução

O conhecimento popular possui um protagonismo essencial na construção de conhecimentos voltados ao desenvolvimento de medicamentos, principalmente em contextos onde o acesso a recursos formais de saúde é limitado. De acordo com Lopes *et al.*, 2023, nas ciências sociais, pesquisas sobre letramento em saúde e medicamentos têm demonstrado a importância de se considerar o contexto social nos processos de produção e apropriação de saberes, uma vez que tais fatores influenciam diretamente a forma como as populações compreendem, utilizam e disseminam práticas terapêuticas (Lopes *et al.*, 2023). Nesse cenário, observa-se a prática popular da utilização de sementes de abóbora (*Cucurbita* spp.) como alternativa ao tratamento de verminoses em comunidades de baixa renda (Embrapa, 2025).

Estudos prévios relacionados a atividade antiparasitária do óleo de semente de abóbora (OSA) demonstram o potencial fitoquímico desse insumo natural, o qual é amplamente reconhecido pela indústria devido à presença de compostos biologicamente ativos. Em uma investigação conduzida com óleo extraído de sementes da cultivar *Cucurbita moschata* (Jacarezinho), foi avaliada sua composição de ácidos graxos e conteúdo de tocoferóis, além de sua ação *in vitro* contra parasitas do gênero *Schistosoma*. Observou-se que apesar de sua ampla utilização popular como agente antiparasitário, os ensaios laboratoriais não evidenciaram mortalidade ou alterações significativas na morfologia ou motilidade dos parasitas adultos, assim indicando necessidade de estudos mais aprofundados sobre suas reais propriedades farmacológicas (Chellini *et al.*, 2022).

Ainda no contexto das parasitoses, assim como apontado por Michel, Tasca e Carli (2004), a tricomoniase é uma infecção sexualmente transmissível causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis*, considerada a doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais prevalente em nível global. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), ocorrem anualmente cerca de 170 milhões de casos entre indivíduos de 15 a 49 anos, com predominância em pacientes do sexo feminino (92%). Frente à relevância epidemiológica dessa infecção junto ao interesse em alternativas terapêuticas mais acessíveis e sustentáveis, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação antiparasitária do óleo de semente de abóbora em sua forma pura, em nanoemulsão (NE) e em combinação com o metronidazol, para conduzir a observação de possíveis efeitos sinérgicos. A formulação da NE foi baseada em isolado proteico de soro de leite (*whey protein isolate* [WPI]), um biopolímero de origem natural que alia

propriedades funcionais à sustentabilidade, o qual se destaca como promissora alternativa na veiculação de compostos bioativos (Müller; Costa, 2025).

## Material e Métodos

Foram preparadas duas formulações de NE em triplicata com 2% de OSA, variando os surfactantes: uma com 2% de whey protein isolado (WPI) + 1% de Tween 80 (T80) (Formulação 1) e outra com 2% de WPI (Formulação 2). Para a produção das NE, todos os componentes foram previamente agrupados e submetidos a duas etapas de homogeneização: a primeira foi realizada por meio de um Ultra-Turrax a 10.700 rpm por 10 minutos, seguida da aplicação de ultrassom com amplitude de 50% durante 6 minutos. Após 24 horas da produção, as amostras foram analisadas quanto aos parâmetros microestruturais, sendo avaliados o potencial zeta (PZ), o tamanho hidrodinâmico médio (THM) e o índice de polidispersão (PdI) em um equipamento Zetasizer.

A estabilidade das formulações foi avaliada por meio de testes qualitativos e quantitativos. Dentre os testes qualitativos, foram empregados: análise visual para identificação de separação de fases, coalescência e demais variações, realizado ao longo de 35 dias à 4 °C; teste de congelamento/descongelamento, conduzido por ciclos de 24 horas, sendo as amostras mantidas no congelador à -20 °C e em seguida, à temperatura ambiente, durante sete dias consecutivos; e teste de estabilidade acelerada. Neste último, realizou-se primeiramente a etapa de centrifugação a 3.000 rpm por 30 minutos. As formulações então avaliadas como estáveis a tal procedimento foram submetidas a ciclos térmicos alternados, com 24 horas à 40 °C em estufa e 24 horas à 4 °C em refrigerador, repetidos por quatro semanas consecutivas. Já como teste quantitativo, foi determinado o índice de cremeação (IC), obtido por medições com paquímetro, realizado ao longo de 35 dias à 4 °C.

Para os ensaios *in vitro*, trofozoítos de *Trichomonas vaginalis* (cepa CDC085, ATCC 50143, resistente ao metronidazol [MTZ]) foram cultivados. As NE foram testadas com nove diferentes concentrações (máxima 200 µg/mL) e a viabilidade celular foi avaliada com azul de tripan para o cálculo da concentração inibitória de 50% (CI50). Os ensaios *in vitro* foram feitos em triplicata.

## Resultados e Discussão

Os resultados das amostras analisadas das nanoemulsões (formulações 1 e 2) pelo Zetasizer retornaram os valores apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Resultados médios do tamanho hidrodinâmico (THM), potencial zeta (PZ) e índice de polidispersão (PdI) das nanoemulsões.

Características microestruturais		
Parâmetro	F1	F2
PZ (mV)	-33.3 ± 2.75* †	-33.9 ± 0.30* †
THM (d.nm)	170.8 ± 25.34* †	317.5 ± 67.48* †
PdI	0.384 ± 0.030* †	0.436 ± 0.035* †

\*Valores médios dos parâmetros calculados com intervalo de confiança em um nível de 95%.

†Valores obtidos no zetasizer após 24 horas de produção das nanoemulsões.

**Fonte:** Elaborada pelos autores (2025).

As emulsões, por serem sistemas coloidais e, portanto, estabilizados cineticamente, dependem em certa extensão da dinâmica elétrica ali presente. Isso ocorre, pois, as gotículas da fase dispersa possuem cargas elétricas ao seu redor, e este é um fator que impacta diretamente a intensidade de aglomeração das gotículas, em função dos princípios de repulsão e atração. Infere-se sobre este parâmetro através do PZ, o qual, para ambas as formulações, se mostram adequados e coerentes com a literatura científica. Isso é justificado pois valores superiores a 30 mV ou inferiores a -30 mV são considerados ideais sob a perspectiva da estabilidade. Sendo assim, corrobora-se a satisfação das formulações perante este parâmetro, as quais apresentaram valores próximos, com PZ na F1 =  $-33.3 \pm 2.75$  mV e na F2 =  $-33.9 \pm 0.30$  mV (Ponphaiboon; Limmatvapirat; Limmatvapirat, 2024).

Embora a estabilidade final de uma emulsão seja multifacetada, o tamanho das gotículas da fase dispersa possuem importante relevância. De forma geral, quanto menor o diâmetro dessas gotículas, hipoteticamente mais estável é a emulsão. Ao se desconsiderar as microemulsões, que não são consideradas emulsões verdadeiras devido a seu comportamento termodinâmico (Müller; Costa, 2025), as nanoemulsões são aquelas de menor tamanho hidrodinâmico médio, o qual varia de 20 nm à 500 nm (Musakhanian; Osborne, 2025). Logo, ambas as formulações resultaram em nanoemulsões, com valores teoricamente mais favoráveis à formulação 1 (THM =  $170.8 \pm 25.34$  nm).

O PDI varia de 0 a 1, sendo que quanto menor este valor, maior tendência à estabilidade das emulsões. A partir de valores menores que 0.3, infere-se sobre emulsões monodispersas (Yakoubi *et al.*, 2021). Sendo assim, ambas as formulações possuem valores com tendência à polidispersão, o que não é desejável, com a F1 =  $0.384 \pm 0.030$ , apresentando melhor resultado. Destaca-se, todavia, que os valores supracitados são aqueles obtidos após produção, e refletem o caráter microestrutural inicial das nanoemulsões e sua estabilidade hipotética. Portanto, justifica-se a necessidade de condução de testes de estabilidade.

O teste de análise visual revelou que ambas as formulações apresentaram características macroscópicas similares, sem separação de fase, coalescência ou sedimentação. Indicando, assim, boa estabilidade sob refrigeração constante e ausência de estresse térmico ou mecânico. Em contrapartida, no teste de congelamento/descongelamento, os resultados foram discrepantes. Na formulação 1, observou-se separação total de fase, considerada a instabilidade gravitacional irreversível em estágio final; enquanto na formulação 2, observou-se cremação e coalescência. Isso indica a existência de uma menor taxa da desestabilização na formulação 2, dado o surgimento de uma instabilidade gravitacional reversível, o que é mais desejável, e o de uma irreversível que é, todavia, precursora da separação total de fase (Müller; Costa, 2025). Ainda sobre a cremação, o teste realizado para avaliar especificamente seu índice revelou que imediatamente após produção, não houve surgimento desta instabilidade. Já após 35 dias, o IC para formulação 1 foi de 0.45%, enquanto a formulação 2 apresentou 0.30%. Isso significa que a separação de fase potencial da formulação 2 é menor, e, portanto, apresenta uma maior estabilidade, pois há uma tendência menor de elevação da fase dispersa e uma consequente maior homogeneidade de dispersão das gotículas (Ghasemi *et al.*, 2020).

No teste de estabilidade acelerada (ANVISA, 2004), ambas as formulações ficaram estáveis após a primeira etapa de centrifugação. Na etapa dos ciclos térmicos, ambas sofreram desestabilização por coalescência após as 4 semanas, embora de forma menos expressiva do

que aquela observada no teste de congelamento/descongelamento. Não foram observadas diferenças significativas entre as formulações.

Assim como demonstrado na Tabela 2, as formulações testadas não apresentaram atividade anti-*Trichomonas vaginalis* até a concentração máxima avaliada de 200 µg/mL. Esse resultado foi observado tanto para o óleo puro quanto para as emulsões formuladas com WPI, T80, MTZ ou a combinação desses. A ausência de atividade inibitória, a qual é indicada pelos valores de  $CI_{50}$ , todos superiores a 200 µg/mL, demonstra que nas condições experimentais empregadas, os compostos presentes nas formulações não foram capazes de exercer ação eficaz. Isso sugere que o óleo de semente de abóbora, embora possua propriedades já descritas na literatura, pode não conter compostos ativos com afinidade significativa pelas estruturas celulares de *T. vaginalis*, ou ainda que tais compostos não estejam biodisponíveis na forma ativa ou nas concentrações testadas (Kussmann; Henrique; Berciano, 2023; Chellini *et al.*, 2022).

**Tabela 2.** Resultados dos ensaios *in vitro*.

Ensaio <i>in vitro</i> anti- <i>T. vaginalis</i>	
Formulação	Atividade $CI_{50}$ (µg/mL)
Óleo puro	>200
T80 + WPI	>200
WPI	>200
WPI + MTZ 20 µM	>200

**Fonte:** Elaborada pelos autores (2025).

A tentativa de potencializar a ação do óleo por meio da formulação de emulsões com WPI e T80 também não resultou em um efeito significativo. De forma geral, sistemas emulsificados são utilizados para melhorar a estabilidade, dispersão e biodisponibilidade de compostos bioativos lipofílicos, o que teoricamente facilita sua interação com os alvos biológicos (Keivan Sahebi *et al.*, 2024). Todavia, neste caso, a estrutura das emulsões não favoreceu a liberação dos compostos ativos do óleo ou sua penetração nas células do parasito em questão. Além disso, destaca-se que a formulação com MTZ também não apresentou atividade anti-*T. vaginalis* até a concentração testada. Logo, nestas condições, há ausência de sinergismo entre a emulsão e o fármaco.

## Conclusões

Neste estudo, foram desenvolvidas e caracterizadas duas formulações de nanoemulsões à base de óleo de semente de abóbora, com o objetivo de avaliar suas propriedades microestruturais, estabilidade físico-química e atividade anti-*Trichomonas vaginalis*. Ambas as formulações ficaram de acordo, em relação aos parâmetros de tamanho hidrodinâmico médio esperado, com a classificação de nanoemulsões.

Além disso, apresentaram potenciais zeta com indicativos de estabilidade eletrostática. A formulação com WPI e T80 demonstrou melhores parâmetros iniciais de estabilidade, como menor THM e PdI. Todavia, apresentou maior suscetibilidade à separação de fases em condições de congelamento/descongelamento e maior índice de cremação após armazenamento prolongado, o que, sob essas condições, indica uma estabilidade inferior à da formulação contendo apenas WPI. Os testes de estabilidade acelerada indicaram que ambas as



formulações resistem ao estresse centrífugo inicial, mas não são capazes de manter integridade estrutural frente à alternância térmica prolongada.

Em relação à atividade biológica, nenhuma das formulações testadas e nas condições estipuladas, incluindo o óleo puro e a combinação com metronidazol, apresentou atividade contra a cepa resistente de *T. vaginalis*.

### Agradecimentos

Agradecemos às equipes dos Laboratórios Multiusuário de Bioprodutos e Bioprocessos (CENTRALBIO) e o de Desenvolvimento de Sistemas Nanoestruturados (LDNano). Agradecemos também à Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPP) pela bolsa de iniciação científica. Este estudo teve apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (APQ -00149/23).

### Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. 1. ed. Brasília, DF: ANVISA, 2004. 52 p. (Série Qualidade em Cosméticos, v. 1). ISBN 85-88233-15-0.
- CHELLINI et al. Pumpkin seeds (*Cucurbita moschata* - Jacarezinho cultivar): characterization of the oil extracted by solvent and supercritical fluid and study of anti-parasitary activity / Sementes de abóbora (*Cucurbita moschata* - cultivar Jacarezinho): caracterização do óleo extraído por solvente e fluido supercrítico e estudo da atividade antiparasitária. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 2, p. 15285–15299, 28 fev. 2022.
- EMBRAPA. Obtenção de farinha de sementes de cucurbitáceas com propriedades funcionais. Brasília, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/210770/obtencao-de-farinha-de-sementes-de-cucurbitaceas-com-propriedades-funcionais>. Acesso em: 8 ago. 2025.
- GHASEMI, H. et al. Preparation of stable multiple emulsions using food-grade emulsifiers: evaluating the effects of emulsifier concentration, W/O phase ratio, and emulsification process. *SN Applied Sciences*, v. 2, n. 12, 16 nov. 2020.
- KEIVAN SAHEBI et al. In vitro and in vivo anti-parasitic activity of curcumin nanoemulsion on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). *BMC Complementary Medicine and Therapies*, v. 24, n. 1, 18 jun. 2024.
- KUSSMANN, M.; HENRIQUE, D.; BERCIANO, S. Bioactive compounds for human and planetary health. *Frontiers in Nutrition*, v. 10, 17 jul. 2023.
- LOPES, N. et al. Medicines and Medication Literacy: Social Practices and Use of Information. *Social Sciences*, v. 12, n. 7, p. 392, 1 jul. 2023.
- MACIEL, G. DE P.; TASCA, T.; DE CARLI, G. A. Clinical aspects, pathogenesis and diagnostic of *Trichomonas vaginalis*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 3, p. 152–160, 1 jun. 2004.
- MÜLLER, F. K.; COSTA, F. F. Innovations and stability challenges in food emulsions. *Sustainable Food Technology*, v. 3, n. 1, p. 96-122, 18 nov. 2025.
- MUSAKHANIAN, J.; OSBORNE, D. W. Understanding Microemulsions and Nanoemulsions in (Trans)Dermal Delivery. *AAPS PharmSciTech*, v. 26, n. 1, 10 jan. 2025.
- PONPHAIBOON, J.; LIMMATVAPIRAT, S.; LIMMATVAPIRAT, C. Development and evaluation of a stable oil-in-water emulsion with high ostrich oil concentration for skincare applications. *Molecules*, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 982, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules29050982>.
- YAKOUBI, S. et al. Essential-Oil-Loaded Nanoemulsion Lipidic-Phase Optimization and Modeling by Response Surface Methodology (RSM): Enhancement of Their Antimicrobial Potential and Bioavailability in Nanoscale Food Delivery System. v. 10, n. 12, p. 3149–3149, 20 dez. 2021.