



## **PRODUÇÃO DE PROLIPOSSOMAS CONTENDO ÓLEO DA POLPA DE PEQUI**

LETÍCIA KAKUDA<sup>1\*</sup>, WANDERLEY P. DE OLIVEIRA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - FCFRP

\*e-mail: leticia.kakuda@usp.br

**RESUMO** – A encapsulação e secagem são amplamente utilizadas no desenvolvimento matérias-primas cosméticas inovadoras. Neste cenário, a biodiversidade da flora brasileira apresenta enorme potencial, considerando o elevado número de espécies ricas em compostos que trazem benefícios à saúde humana, como os polifenóis e carotenoides. O óleo da polpa dos frutos do pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess), espécie nativa do cerrado, possui alto teor de carotenoides, podendo ser empregado no desenvolvimento de matérias-primas cosméticas. A encapsulação desse óleo em sistemas nanoestruturados pode aumentar sua estabilidade, atividade biológica, e permitir sua incorporação em formulações farmacêuticas e cosméticas. Nesse trabalho, foram produzidos lipossomas contendo 1% do óleo de pequi, sendo avaliada a estabilidade física das formulações por 49 dias. As formulações foram desidratadas por liofilização e *spray drying* variando a concentração e tipo de crioprotetores/adjuvantes. Os lipossomas se mantiveram estáveis durante o período avaliado. O rendimento de secagem no *spray drying* foi extremamente reduzido com os adjuvantes avaliados (sucrose, trealose e manitol), devido a ocorrência de elevada coesão das partículas e adesão nas paredes do secador. A liofilização se mostrou superior em relação ao rendimento do processo de secagem e qualidade do produto, exigindo o uso reduzido de adjuvantes, mantendo as características do produto próximas às originais.

### **INTRODUÇÃO**

A busca dos consumidores por cosméticos a base de matérias primas de origem natural aumentou significativamente nos últimos anos, bem como os incentivos públicos e privados visando a prospecção de ingredientes e o desenvolvimento de formulações sustentáveis (Birjandi Nejad et al., 2020; Kaliyadan et al., 2020). Neste cenário, a biodiversidade brasileira apresenta enorme potencial de aplicação no desenvolvimento de produtos cosméticos inovadores. O óleo extraído da polpa dos frutos da espécie *Caryocar brasiliense* Cambess, nativa do cerrado brasileiro e conhecida popularmente como pequi, é reconhecido por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e manutenção da função barreira da pele; que se devem à sua rica composição de metabólitos secundários como os polifenóis e carotenóides, e primários como o ácido oleico (Silva et al., 2020; Pegorin et al., 2020). Com isso, apresenta

potencial para aplicação no desenvolvimento de cosméticos para os cuidados da pele e cabelos. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi encapsular o óleo de pequi em lipossomas e avaliar diferentes crioprotetores para secagem das composições em *spray drying* e liofilização para a obtenção dos proliossomas e caracterizar os produtos obtidos, visando futura aplicação no desenvolvimento de formulações cosméticas para pele e cabelos.

### **METODOLOGIA**

#### **Encapsulação em lipossomas**

Para a nanoencapsulação do óleo de pequi foi utilizado a encapsulação via lipossomas baseado na aplicação das formulações finais, propriedades e biocompatibilidade com pele e cabelos, e eventuais adversidades durante o desenvolvimento da tecnologia.

As dispersões lipídicas lipossomais contendo óleo de pequi foram preparadas pelo

método adaptado de Jaafar-Maalej (2010). As formulações foram compostas por colesterol (Sigma-Aldrich; Missouri, EUA), fosfatidilcolina de soja (Phospholipon® 90H, Lipoid; Ludwigshafen, DE), álcool etílico absoluto, óleo de pequi (Amazon oil; Pará, Brasil) e água Miliq®. Para tal, foram desenvolvidas duas formulações: lipossomas sem a substância ativa (Branco - L1) e lipossomas contendo 1 % m/m de óleo de pequi (L2), como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição (%) das pré-formulações L1 e L2.

Matéria prima	Concentração (%)	
	L1	L2
Fosfatidilcolina de soja	5	5
Colesterol	1	1
Álcool etílico absoluto	12	12
Óleo de Pequi	-	1
Água Miliq®	qsp100	qsp100

Os lipossomas obtidos foram caracterizados e avaliados quanto a sua estabilidade em longo prazo pelos seguintes métodos:

**Determinação do potencial hidrogeniônico (pH):** As amostras dos lipossomas foram realizadas em um peagâmetro (Metrohm; Herisau, CH) calibrado, aferido com soluções tampão de referência de pH 4 e pH 7. As leituras foram realizadas em triplicata, após 24 horas, 7, 14, 28 e 49 dias em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C) e a 37°C.

**Determinação da condutividade elétrica:** As análises foram realizadas a temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C) e a 37°C em um condutivímetro Metrohm (Herisau, CH) modelo 856 calibrado com tampão padrão de KCl (100 µS/cm a 25°C). As medidas foram realizadas em triplicata após 24 horas, 7, 14, 28 e 49 dias.

**Análise de cor:** A cor das amostras foi avaliada em espectrofotômetro de cor Color-Quest modelo XE (Hunter Lab; Virgínia, EUA), segundo procedimento apresentado em Tonon (2009). A análise colorimétrica foi avaliada de acordo com as coordenadas CIE. O parâmetro L\* indica a luminosidade da amostra. Já o parâmetro a\* é a coordenada vermelho/verde,

onde a+ indica tons mais próximos de vermelho e a- indica tons mais próximos de verde. O parâmetro b\* é a coordenada amarelo/azul, onde b+ indica tons amarelados e b- tons azuis (Seremet et al., 2022). Todas as medidas foram realizadas em quintuplicata após 24 horas, 7, 14, 28 e 49 dias nas três condições de estresse térmico.

**Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão (PdI) e potencial zeta:** O tamanho de partícula e o índice de polidispersão foram obtidos por meio do espalhamento de luz dinâmica (Dynamic Light Scattering - DLS), capaz de medir a velocidade das partículas submetidas ao movimento browniano (Bhattacharjee, 2016; Baldim et al., 2019).

Dessa forma, o tamanho de partícula e o PdI das pré formulações foram avaliadas após 24 horas, 7, 14, 28 e 49 dias em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C) e a 37°C. Alíquotas das formulações foram diluídas em concentrações 1:1000 (p/p) com água Miliq® e agitadas por um agitador magnético durante 40 minutos, permanecendo sob agitação até o momento da análise. Para a obtenção dos dados, em triplicata, 1,0 mL das soluções diluídas foram adicionadas à cubeta de quartzo e analisadas no Zetasizer Malvern modelo Nano - ZS90 (Malvern Panalytical; Malvern, GB) no modo Size a 25°C.

O potencial zeta foi determinado por microeletroforese – mensuração do deslizamento da partícula dispersa em um campo elétrico – permitindo a determinação da carga das nanopartículas (Bhattacharjee, 2016; Baldim et al., 2019). Dessa forma, potencial zeta foi medido após 24 horas, 7, 14, 28 e 49 dias em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C) e a 37°C. Pequenas amostras das formulações foram diluídas em concentrações 1:1000 com água Miliq® e devidamente agitadas em um agitador magnético por 30 minutos, permanecendo sob agitação até o momento da análise. Para a obtenção dos dados (triplicata), 750µL da solução diluída foram transferidos para a célula capilar descartável e, então, analisados no Zetasizer Nano - ZS90 no modo Zeta Potencial a 25°C.

**Eficiência de encapsulação (EE):** Os espectros de absorção do óleo de pequi foram medidos

por um espectrofotômetro UV–VIS HP modelo 8453 (Hewlett-Packard; Texas, EUA), na faixa de comprimento de 190 a 800 nm. Para a determinação da eficiência de encapsulação, 20 g dos lipossomas foram centrifugadas à 7000 rpm (5752 g), a 25 °C por 90 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi reconstituído em 10 mL de etanol absoluto, sob agitação magnética por 10 minutos. A solução foi filtrada em filtro Millipore® 0.45 µm e as amostras analisadas no espectrofotômetro (Meinhardt-Wollweber et al., 2018). Devido a sua alta concentração de carotenoides, o pico de absorvância em análise foi fixado na faixa de 350-500 nm. Para o cálculo de EE dos prolipossomas, os pós foram reconstituídos na concentração inicial e as mesmas etapas anteriormente descritas foram seguidas.

### **Obtenção de prolipossomas**

A secagem dos lipossomas acrescidas do óleo de pequi e dos crioprotetores/ adjuvantes de secagem foram realizadas por liofilização e *spray drying*, gerando os prolipossomas. Os parâmetros estudados foram baseados em diversos estudos desenvolvidos no grupo de pesquisa LAPROFAR/USP e da literatura (Baldim et al., 2020; Bankole et al., 2020).

A liofilização foi realizada em um liofilizador (modelo SNL108B; Thermo Fisher Scientific; Massachusetts, EUA). O equipamento contém uma unidade liofilizadora Micromodulvo 1,5 L (305×330×432 mm), um condensador em aço inoxidável, um compressor de 1/4 hp e potência de 0,30 kw, uma bomba de ultra-vácuo LyoPump VLP195FD, recipientes para liofilização e válvulas independentes. Para a secagem, as amostras foram pesadas, congeladas a -20 °C por 12 horas em tubos falcon de 50 mL, e posteriormente a -80 °C por mais 4 horas, sendo então liofilizadas por 48 horas.

A secagem por atomização foi realizada em um *spray dryer* SD-05 (Lab-Plant Ltd; Huddersfield, GB) e seguiu os seguintes parâmetros:

- Temperatura de entrada: 100°C
- Vazão de ar: 60 m³/h
- Vazão de alimentação: 4g/min
- Vazão de atomização: 17 L/min
- Pressão atomização: 1,5 kgf/cm²
- Diâmetro do bico atomizador: 1 mm

As propriedades físicas e químicas do produto seco foram determinadas pelos procedimentos descritos a seguir:

#### Umidade e atividade de água dos prolipossomas:

O conteúdo de umidade dos prolipossomas obtidos por secagem em *spray drying* e liofilização foram analisadas pelo método de titulação por Karl Fischer (Metrohm; Herisau, CH). Análises de atividade de água foram determinadas no medidor de atividade de água Aqua Lab 4TEV - Decagon Devices (Pullman, EUA) (Secolin et al., 2017).

#### Reconstituição dos prolipossomas:

Os produtos secos foram reconstituídos em água na mesma concentração inicial, segundo metodologia apresentada em Shaw et al. (2007), onde as determinações de pH, condutividade elétrica, tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão foram confrontados com os valores iniciais.

#### Análise estatística:

Os resultados experimentais foram submetidos à análise estatística utilizando os softwares Prism GraphPad 8.4.3 (San Diego, EUA) e Origin 9.7.0.185 (Massachusetts, EUA). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade das populações. Quando a distribuição normal foi determinada, aplicou-se ANOVA *one-way* com pós-teste de Tukey. Se a distribuição for não normal, se utilizou o teste de Kruskal-Wallis com o pós-teste Dunns. O valor de  $p \leq 0,05$  foi considerado significativo.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Desenvolvimento, caracterização e avaliação da estabilidade dos lipossomas**

As formulações de lipossoma (pré-formulações) desenvolvidas apresentaram baixa viscosidade e pH na faixa de 5 a 6. Não foram observadas alterações significativas ( $p > 0,05$ ) ao longo do estudo de estabilidade, mesmo quando submetidas ao estresse térmico de 5 °C e 37 °C. A condutividade elétrica dos lipossomas L1 e L2 também não se alterou significativamente durante o período de estudo. Esses resultados mostram que os lipossomas produzidos podem ser considerados estáveis.

A análise colorimétrica mostrou que todas as formulações não variaram em relação ao parâmetro de luminosidade e na coordenada amarelo/azul e vermelho/verde, em todos os tempos e temperaturas.

O tamanho de partícula do lipossoma branco (L1) foi menor que L2, uma vez que não possuía óleo em seu interior. O tamanho de partícula aumentou com a adição de óleo no tempo inicial (Figura 1.a). As formulações L1 e L2 não sofreram alterações significativas de tamanho ( $p>0,05$ ) com o passar dos 49 dias, mesmo quando submetidas ao estresse térmico de 5°C e 37°C.

A adição do óleo aumentou os valores obtidos do índice de polidispersão (PdI) (Figura 1.b), onde a L1 apresentou valor médio de PdI = 0,2 e L2 um PdI = 0,31. Durante o período de estudo, não foi observado alterações significativas ( $p>0,05$ ) deste parâmetro, mesmo quando submetidas ao estresse térmico, mostrando que ambas as pré formulações se mantiveram estáveis.

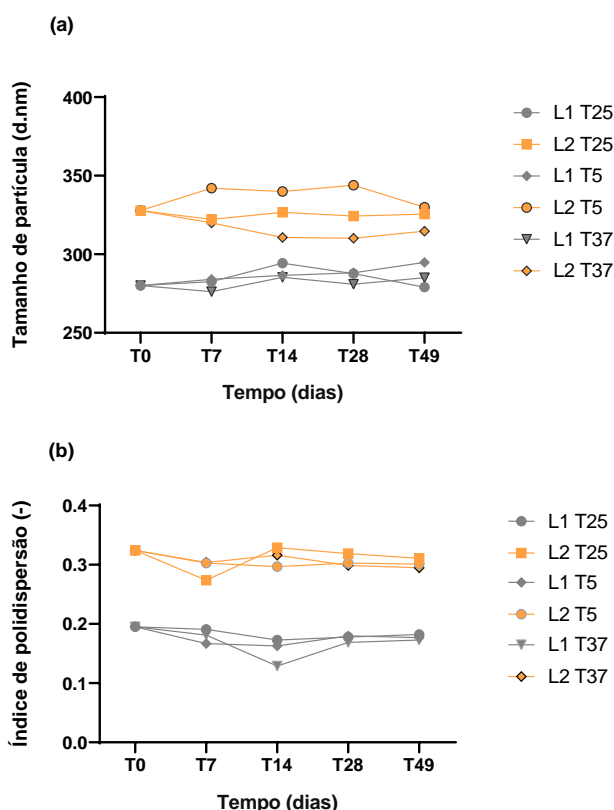


Figura 1. Tamanho de partícula (a) e índice de polidispersão (b) das pré-formulações L1 e L2 após 24 horas (T0), 7 (T7), 14 (T14), 28 (T28) e 49 (T49) dias do preparo e armazenadas nas temperaturas ambiente (25°C – T25), 5°C (T5) e 37°C (T37)

O potencial zeta permaneceu estável e próximo à -30 mV para ambas as formulações, indicando estabilidade eletroforética dos lipossomas (Agustinisari et al., 2020).

Dessa forma, as formulações L1 e L2 foram as consideradas estáveis frente aos testes de cor, pH, condutividade elétrica, índice de polidispersão, tamanho de partícula e potencial zeta.

Para a determinação do teor de óleo de pequi encapsulado nas formulações, inicialmente se procedeu a diluição do óleo puro em etanol (1:500), que apresentou uma absorbância de 0,16 no comprimento de onda de 448 nm. O precipitado de L2 após a centrifugação, diluído na mesma concentração apresentou o valor de 0,10, correspondendo a uma eficiência de encapsulação de 65,6 %. Esse resultado pode ser considerado adequado, uma vez que a eficiência de encapsulação de óleos essenciais em lipossomas geralmente varia de na faixa de 65 a 74% (Sherry et al., 2013).

### Obtenção dos prolipossomas

**Liofilizador:** Para a realização da secagem no liofilizador foi feito um *screening* para escolha dos crioprotetores (Jangle e Thorat, 2013), conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2. % de Crioprotetores utilizados para a liofilização

Teste	Crioprotetor
1	5% de manitol
2	10% de sucrose
3	3% de manitol e 5% trealose
4	8% de sílica coloidal

Todos os testes resultaram em pós soltos, brancos para L1 e amarelos para L2, após a liofilização.

Quando comparamos o tamanho de partícula do lipossoma original com o lipossoma+crioprotetor, observa-se uma variação significativa ( $p<0,05$ ) com a adição de 8% de sílica (teste 4) para L1 e L2 (Figura 2). Para os prolipossomas redispersos, a adição dos crioprotetores aumentou significativamente o tamanho de partícula em todos os testes de L2. Para L1, apenas o prolipossoma obtido com a

adição de 5% de manitol e 8% de sílica na ressuspensão do pó apresentou aumento de tamanho em relação ao lipossoma com crioprotetor.

Para o lipossoma acrescido de 1% de óleo de pequi, o tamanho de partícula aumentou para todos os testes após liofilização e redispersão, possivelmente devido a ocorrência de agregados ou a formação de lipossomas multilamelares; o que poderá ser confirmado posteriormente pela técnica de espalhamento de raios X de baixo ângulo – SAXS (Wu et al., 2012; Silva et al., 2015). No entanto, o tamanho se manteve abaixo de 700 nm nos ensaios 2 e 3.

O potencial zeta está relacionado à estabilidade elétrica da formulação, onde valores próximos a  $\pm 30$  mV indicam boa estabilidade elétrica (Agustinisari et al., 2020). Os testes 1 e 4 apresentaram valores próximos a -30mV antes e após a secagem por liofilização para L1 e L2.

Já os testes 2 e 4 foram os que apresentaram menores valores de potencial Zeta, mostrando uma menor estabilidade elétrica antes da secagem. No entanto, após a secagem houve um aumento da carga, especialmente para esses ensaios (Figura 3).

O índice de polidispersão (PdI) indica a homogeneidade das nanopartículas (Agustinisari et al., 2020). Assim, quanto mais próximo de zero, maior é a homogeneidade. Para ambas as pré-formulações, a adição de 8% de sílica aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o PdI antes e após a secagem (0,72). A L1 foi a que apresentou menores valores de PdI para todos os testes. O teste 2 foi o que apresentou menor variação do PdI antes e após a secagem (Figura 4), tanto para L1 quanto para L2. No entanto, a adição do óleo aumenta os valores de PdI, provavelmente devido à agregação não homogênea dos crioprotetores na superfície do lipossoma (Agustinisari et al., 2020).

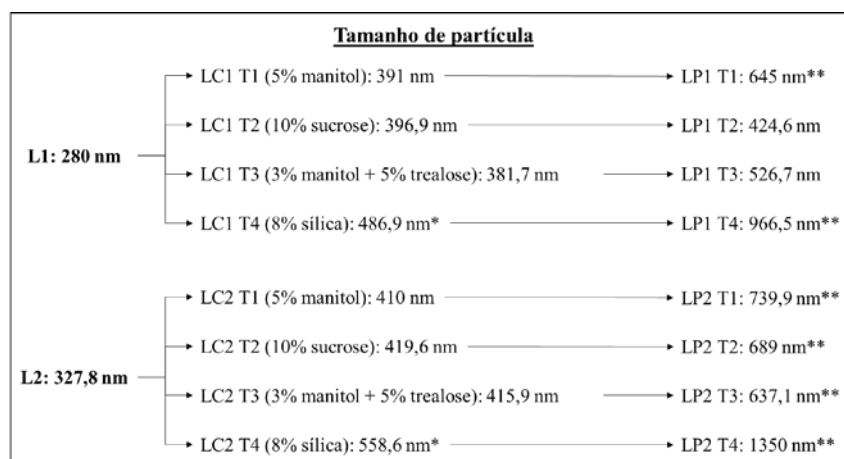


Figura 2. Tamanho de partícula antes, após a adição dos crioprotetores e após a liofilização e redispersão de L1 e L2. \*Diferença significativa em relação ao lipossoma (L) ( $p < 0,05$ ). \*\*Diferença significativa em relação ao lipossoma com crioprotetor ( $p < 0,05$ )

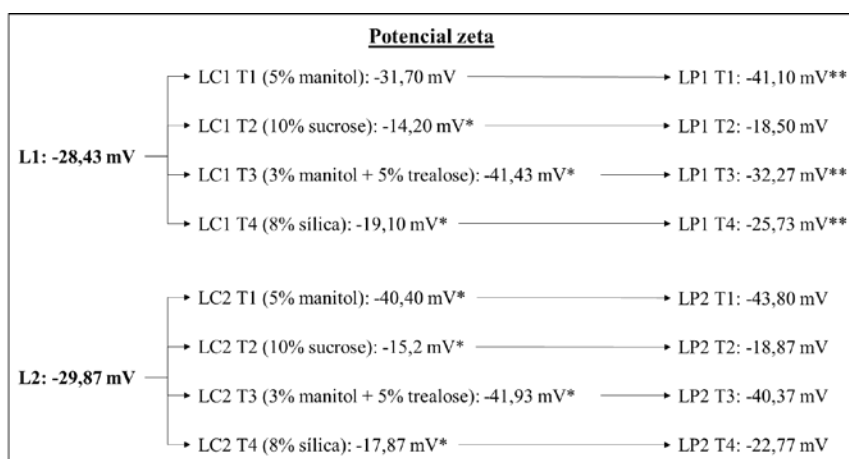


Figura 3. Potencial zeta antes, após a adição dos crioprotetores e após a liofilização e redispersão de L1 e L2. \*Diferença significativa em relação ao lipossoma (L) ( $p < 0,05$ ). \*\*Diferença significativa em relação ao lipossoma com crioprotetor ( $p < 0,05$ )

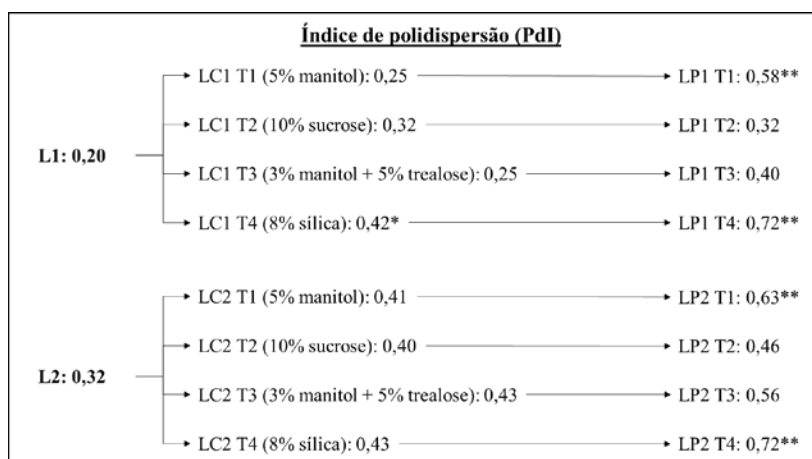


Figura 5. Índice de polidispersão (Pdl) antes, após a adição dos crioprotetores e após a liofilização e redispersão de L1 e L2. \*Diferença significativa em relação ao lipossoma (L) ( $p < 0,05$ ). \*\*Diferença significativa em relação ao lipossoma com crioprotetor ( $p < 0,05$ )

A umidade dos prolipossomas obtidas por liofilização ficou em 0,94 % para L2 nos testes 2 e 3, e 1,69 % e 3,08 % nos mesmos testes para L1. As nanopartículas liofilizadas se mostraram higroscópicas e tendem a absorver água com o tempo (Abdelwahed et al., 2006). Dessa forma, é necessário manter a umidade de armazenamento do produto em níveis reduzidos para garantir sua estabilidade e evitar agregação das partículas.

Já a atividade de água ( $a_w$ ) de L2 foi menor para todos os testes, em relação à L1. O teste 3 foi o que apresentou melhores valores de  $a_w$  para ambas as pré-formulações ( $a_{wL1} = 0,228$  e  $a_{wL2} = 0,103$ ), próximos à faixa de 0,2-0,3, onde há menor taxa de peroxidação lipídica e reações de escurecimento. Valores abaixo da

atividade correspondente ao teor de umidade da monocamada ( $\sim 0,4$ ) contribuem para a estabilidade do produto, diminuindo as reações de degradação e crescimento microbiano, exceto para a peroxidação lipídica que aumenta em valores de  $a_w$  reduzidos (Labuza e Altunakar, 2020).

Os resultados de eficiência de encapsulação determinados para os prolipossomas foram de 55,1 % para T1, 61,5% para T2, 55,3% para T3 e 56,2% para T4. O teste com 10% de sucrose foi o que proporcionou maior teor de óleo nos lipossomas, sendo o mais próximo do valor obtido para o lipossoma original (65,6%), garantindo menor perda de óleo encapsulado durante o processo. Em relação à L2, o rendimento foi de 83,9%, 93,8%, 84,3% e

85,7% para T1 a T4, respectivamente, mostrando que T2 foi a composição que proporcionou retenção do óleo encapsulado próximo de 100%, em relação à formulação inicial.

*Spray-drying*: Os adjuvantes de secagem selecionados foram a sucrose, o manitol e a trealose – testes 2 e 3, devido aos resultados promissores de tamanho de partícula, PdI, potencial zeta, atividade de água e umidade, observadas na etapa de liofilização. No entanto, após realizado o primeiro teste de secagem no *spray dryer* (teste A) com 8% de sucrose, os demais testes foram sendo modificados, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. % de Adjuvantes utilizados na secagem no *spray-drying*

Teste	Crioprotetor
A (L1)	8% de sucrose
B (L2)	40% de sucrose
C (L1)	15% de manitol e 25% trealose
D (L2)	15% de manitol, 50% trealose e 5% de sílica coloidal

No primeiro teste (A), a maior parte do pó ficou grudado no ciclone. Após a retirada do pó, o rendimento foi de 16,6 %. Dessa forma, a concentração de crioprotetor foi aumentada nos seguintes testes. No entanto, nos testes B, C e D, os pós continuaram grudando no ciclone, sendo extremamente pegajoso. O rendimento de B, C e D foi de 11,1 %, 8,1 % e 5,8 %, respectivamente.

Esses resultados podem ser explicados pela temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) da sucrose (73,85 °C), o qual é menor que 100 °C (Simperler et al., 2006). Um baixo valor de transição vítrea ( $T_g$ ) contribui para o aumento da pegajosidade, especialmente quando o produto é seco a temperaturas médias maiores que 20°C o valor de  $T_g$  (Muzaffar et al., 2015). A pegajosidade é um desafio quando pensamos em secagem de nanopartículas acrescidas de açúcares no *spray drying*, devido a um possível aumento da propriedade de coesão-adesão. A coesão é avaliada pela interação partícula-partícula e a adesão é uma propriedade

interfacial que é uma medida através da força do contato da partícula com outra interface (parede do secador) (Boonyai et al., 2004; Tian et al., 2020). Com isso, o aumento da força de coesão leva à formação de grumos no pó. Já a força de adesão é responsável pelas partículas grudarem na parede do secador e ciclone (Muzaffar et al., 2015). Ambas as forças podem coexistir, especialmente quando os adjuvantes de secagem são açúcares, levando à formação de agregados pegajosos (Boonyai et al., 2004; Muzaffar et al., 2015). Devido à essa característica, o pó formado ficou, em sua maioria, retido na parede do ciclone, resultando em um rendimento extremamente baixo. Além disso, quando apenas 8% de sucrose (teste A) foi adicionado na pré-formulação, resultou em um rendimento superior aos demais, mostrando que quanto maior a adição de açúcares, se intensificou as características de pegajosidade do produto.

Embora a trealose e a sucrose sejam consideradas açúcares de alto peso molecular, 342 g/mol e 324 g/mol, respectivamente, ambos são dissacarídeos, ou seja, ainda possuem baixo peso molecular, quando comparados com a maltodextrina, por exemplo. Além disso, a trealose, que possui  $T_g = 118,85^\circ\text{C}$  (Simperler et al., 2006), quando misturada com o manitol, tem sua temperatura de transição vítrea diminuída (Kim et al., 1998), ocasionando os mesmos problemas descritos anteriormente para a sucrose.

Dessa forma, os crioprotetores/adjuvantes utilizados não se mostraram adequados para a secagem dos lipossomas em *spray drying*, sendo necessário utilizar um adjuvante de maior peso molecular como a goma arábica, maltodextrina e o amido modificado (Muzaffar et al., 2015).

O tamanho de partícula e o índice de polidispersão após a adição dos crioprotetores não variou em relação ao tamanho antes da secagem no liofilizador (Figura 5.a e 5.b). No entanto, após a secagem no *spray drying*, o tamanho foi significativamente maior ( $p < 0,0001$ ), permanecendo na faixa de 785 a 1795 nm, com índice de polidispersão  $> 1$ . Esses resultados corroboram com o que foi observado durante o processo de secagem por *spray drying*, devido à alta temperatura (100 °C) que

causou agregação das partículas, tornando-as mais grudentas/pegajosas.

Por outro lado, o potencial zeta se manteve  $>20\text{mV}$  para todos os testes, indicando uma estabilidade elétrica do produto redisperso.

Nos testes A, B e C a umidade foi superior, respectivamente 3,33%, 3,20% e 3,83%, em relação à umidade dos pós resultantes da liofilização. O teste D apresentou menor teor de umidade (1,46%). Os valores da atividade de água foram maiores em todos os testes em relação ao produto liofilizado, porém ainda próximos de 0,4, sendo considerados adequados – apresentando baixas velocidades de reações de degradação e inibição do crescimento microbiano (Labuza e Altunakar, 2020).

O teor de óleo encapsulado após a secagem foi baixo: 69,2 % para TB e 53,4 % para TD em relação a L2. Esses resultados mostram que os adjuvantes utilizados para secagem em *spray drying* não foram apropriados.

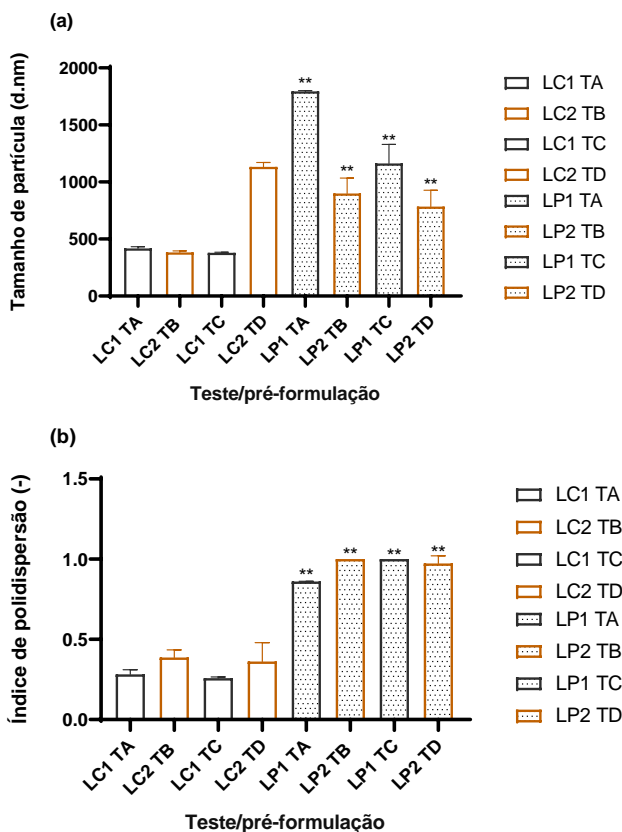


Figura 5. Tamanho de partícula (a) e índice de polidispersão (b) antes, após a adição dos crioprotetores e após a liofilização e redispersão de L1 e L2. \*\*Diferença significativa em relação ao lipossoma com crioprotetor ( $p < 0,0001$ )

## CONCLUSÃO

As pré-formulações de lipossomas se mantiveram estáveis frente à variação de cor, tamanho, PDI e potencial zeta, durante 49 dias de estudo. O uso de açúcares como adjuvantes de secagem só se mostra viável para a secagem por liofilização. Para a secagem em *spray drying* é recomendado o uso de crioprotetor/adjuvante de secagem com maior Tg e peso molecular. O uso da técnica de liofilização vem se mostrando vantajosa em relação ao rendimento do processo de secagem, uso reduzido de adjuvantes e conservação das características iniciais das partículas, e nesse estudo se mostrou superior ao *spray drying*. Apesar do custo mais elevado, a liofilização se mostra promissora para a obtenção de ativos para uso no setor farmacêutico e cosmeceutico, onde os custos de produção não é uma limitação.

## ABREVIações

Tg: temperatura de transição vítrea

PDI: índice de polidispersão

Figuras 3 a 5:

LC1 T1: lipossoma branco acrescido de 5% de manitol

LC1 T2: lipossoma branco acrescido de 10% de sucrose

LC1 T3: lipossoma branco acrescido de 3% de manitol e 5% de trealose

LC1 T4: lipossoma branco acrescido de 8% de sílica

LC2 T1: lipossoma com óleo de pequi acrescido de 5% de manitol

LC2 T2: lipossoma com óleo de pequi acrescido de 10% de sucrose

LC2 T3: lipossoma com óleo de pequi acrescido de 3% de manitol e 5% de trealose

LC2 T4: lipossoma com óleo de pequi acrescido de 8% de sílica

LP1 T1: prolipossoma branco acrescido de 5% de manitol

LP1 T2: prolipossoma branco acrescido de 10% de sucrose

LP1 T3: prolipossoma branco acrescido de 3% de manitol e 5% de trealose

LP1 T4: prolipossoma branco acrescido de 8% de sílica

LP2 T1: prolipossoma com óleo de pequi acrescido de 5% de manitol



LP2 T2: prolipossoma com óleo de pequi acrescido de 10% de sucrose  
 LP2 T3: prolipossoma com óleo de pequi acrescido de 3% de manitol e 5% de trealose  
 LP2 T4: prolipossoma com óleo de pequi acrescido de 8% de sílica

#### Figuras 6 a 7:

LC1 TA: lipossoma branco acrescido de 8% de sucrose  
 LC2 TB: lipossoma com óleo de pequi acrescido de 40% de sucrose  
 LC1 TC: lipossoma branco acrescido de 15% de manitol e 25% de trealose  
 LC2 TD: lipossoma com óleo de pequi acrescido de 15% de manitol, 50% de trealose e 5% de sílica  
 LP1 TA: prolipossoma branco acrescido de 8% de sucrose  
 LP2 TB: prolipossoma com óleo de pequi acrescido de 40% de sucrose  
 LP1 TC: prolipossoma branco acrescido de 15% de manitol e 25% de trealose  
 LP2 TD: prolipossoma com óleo de pequi acrescido de 15% de manitol, 50% de trealose e 5% de sílica

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo: 2021/11000-8, 2018/26069-0 e 2014/15905-1) pelo suporte financeiro e CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Código 001).

### REFERÊNCIAS

ABDELWAHED, W.; DEGOBERT, G.; FESSI, Hatem (2006). Investigation of nanocapsules stabilization by amorphous excipients during freeze-drying and storage. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals*, v. 63, n. 2, p. 87-94.

AGUSTINISARI, I.; MULIA, K.; NASIKIN, M. (2020). The effect of eugenol and chitosan concentration on the encapsulation of eugenol using whey protein–maltodextrin conjugates. *Applied Sciences*, v. 10, n. 9, p. 3205.

BALDIM, I., TONANI, L., VON ZESKA KRESS, M.R., OLIVEIRA, W.P. (2019). *Lippia sidoides* essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-Candida agent. *Industrial Crops and Products*, 127, 73-81.

BALDIM, I.; ROSA, D.M.; SOUZA, C.R.F. ; DA ANA, R.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; SANTINI, A.; SOUTO, E.B.; OLIVEIRA, W.P (2020). Factors affecting the retention efficiency and physicochemical properties of spray dried lipid nanoparticles loaded with *Lippia sidoides* essential oil. *Biomolecules*, v. 10, p. 693.

BANKOLE, V.O.; OSUNGUNNA, M.O.; SOUZA, C.R.F. ; SALVADOR, S.L. ; OLIVEIRA, W.P (2020). Spray-Dried Proliposomes: an innovative method for encapsulation of *Rosmarinus officinalis* L. polyphenols. *AAPS Pharmscitech*, v. 21, p. 143.

BHATTACHARJEE, S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *Journal of controlled release*, 235, 337-351.

BIRJANDI NEJAD, H., BLASCO, L., MORAN, B., CEBRIAN, J., WOODGER, J., GONZALEZ, E., ... ; MILLIGAN, J. (2020). Bio-based Algae Oil: an oxidation and structural analysis. *International Journal of Cosmetic Science*, 42(3), 237-247.

BOONYAI, P., BHANDARI, B., HOWES, T. (2004). Stickiness measurement techniques for food powders: a review. *Powder Technology*, 145(1), 34-46.

JAAFAR-MAALEJ, C., DIAB, R., ANDRIEU, V., ELAISSARI, A., FESSI, H. (2010). Ethanol injection method for hydrophilic and lipophilic drug-loaded liposome preparation. *Journal of liposome research*, 20(3), 228-243.

JANGLE, R.D.; THORAT, B.N. (2013). Effect of freeze-thawing study on curcumin liposome for obtaining better freeze-dried product. *Drying Technol.*, v. 31, n. 9, p. 966-974.

KALIYADAN, F., AL DHAFIRI, M., AATIF, M. (2020). Attitudes toward organic cosmetics: A cross-sectional population-

- based survey from the Middle East. *Journal of Cosmetic Dermatology*.
- KIM, A.I., AKERS, M.J., NAIL, S.L. (1998). The physical state of mannitol after freeze-drying: effects of mannitol concentration, freezing rate, and a noncrystallizing cosolute. *Journal of pharmaceutical sciences*, 87(8), 931-935.
- LABUZA, T.P.; ALTUNAKAR, B. (2020). Water activity prediction and moisture sorption isotherms. *Water activity in foods: fundamentals and applications*, p. 161-205.
- MEINHARDT-WOLLWEBER, M., SUHR, C., KNIGGENDORF, A. K., ROTH, B. (2018). Absorption and resonance Raman characteristics of  $\beta$ -carotene in water-ethanol mixtures, emulsion and hydrogel. *AIP Advances*, 8(5), 055320.
- MUZAFFAR, K., NAYIK, G.A., KUMAR, P. (2015). Stickiness problem associated with spray drying of sugar and acid rich foods: a mini review. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, (S12), 1.
- PEGORIN, G.S.A., MARQUES, M.O.M., MAYER, C.R.M., SANTOS, L. (2020). Development of a Phytocosmetic Enriched with Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess) Oil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 63.
- SECOLIN, V.A.; SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P (2017). Spray drying of lipid-based systems loaded with *Camellia sinensis* polyphenols. *Journal of Liposome Research*, 27(1), 11–20.
- ŠEREMET, D., ŠTEFANČIĆ, M., PETROVIĆ, P., KUZMIĆ, S., DOROČI, S., MANDURA JARIĆ, A., ... KOMES, D. (2022). Development, Characterization and Incorporation of Alginate-Plant Protein Covered Liposomes Containing Ground Ivy (*Glechoma hederacea* L.) Extract into Candies. *Foods*, 11(12), 1816.
- SHERRY, M., CHARCOSSET, C., FESSI, H., GREIGE-GERGES, H. (2013). Essential oils encapsulated in liposomes: a review. *Journal of liposome research*, 23(4), 268-275.
- SILVA, G.S., JANGE, C.G., PINHO, S.C. (2015). Produção e caracterização de prolipossomas por recobrimento de sacarose micronizada. *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, 2(1), 114-120.
- SILVA, G.T., DI PIETRO FERNANDES, C., HIANE, P.A., FREITAS, K.D.C., FIGUEIREDO, P.S., INADA, A.C., ... GUIMARÃES, R.D.C.A (2020). *Caryocar brasiliense* Cambess. Pulp Oil Supplementation Reduces Total Cholesterol, LDL-c, and Non-HDL-c in Animals. *Molecules*, 25(19), 4530.
- SIMPERLER, A., KORNHERR, A., CHOPRA, R., BONNET, P. A., JONES, W., MOTHERWELL, W. S., ZIFFERER, G. (2006). Glass transition temperature of glucose, sucrose, and trehalose: an experimental and in silico study. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(39), 19678-19684.
- TIAN, X. X., KALBASI, R., JAHANSHAHI, R., QI, C., HUANG, H. L., ROSTAMI, S. (2020). Competition between intermolecular forces of adhesion and cohesion in the presence of graphene nanoparticles: Investigation of graphene nanosheets/ethylene glycol surface tension. *Journal of Molecular Liquids*, 311, 113329.
- TONON, R.V (2009). Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimento, (Tese).
- WU, Y.; LUO, Y.; WANG, Q. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. *LWT-Food Science and Technology*, v. 48, n. 2, p. 283-290.