



BRUNA ANDRESSA ALVES CARVALHO

ESTUDO DA ESTABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DA
Pectis brevipedunculata **ENCAPSULADO EM**
MICROEMULSÃO DE ÓLEO DE COCO BABAÇU

São Luís
2021

BRUNA ANDRESSA ALVES CARVALHO

**ESTUDO DA ESTABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DA
Pectis brevipedunculata ENCAPSULADO EM
MICROEMULSÃO DE ÓLEO DE COCO BABAÇU**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Curso da Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Harvey Alexander Villa Vélez

São Luís
2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Alves Carvalho, Bruna Andressa.

Estudo da estabilidade do óleo essencial da *Pectis
brevipedunculata* encapsulado em microemulsão de óleo de
coco babaçu / Bruna Andressa Alves Carvalho. - 2021.
58 f.

Orientador(a): Prof. Dr. Harvey Alexander Villa Vélez.
Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do
Maranhão, São Luís-MA, 2021.

1. Encapsulamento. 2. Estabilidade. 3. Microemulsão.
4. Óleo essencial. I. Villa Vélez, Prof. Dr. Harvey
Alexander. II. Título.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. HARVEY ALEXANDER VILLA VELÉZ
Orientador – COEQ/CCET/UFMA

Prof^a. Dr^a. DIANA MARIA CANO HIGUITA
COEQ/CCET/UFMA

Prof^a. Dr^a. CLAUDIA QUINTINO DA ROCHA
DQUIM/CCET/UFMA

01 de maio de 2021.

DADOS CURRICULARES**Bruna Andressa Alves Carvalho**

NASCIMENTO 22/12/1994 – SÃO LUÍS / MA

FILIAÇÃO Fábio da Silva Carvalho
Andréa Luciana Furtado Alves Carvalho

2014/2021 Curso de Graduação
Engenharia Química - Universidade Federal do Maranhão

Dedico este trabalho ao Espírito Santo, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida. Sua presença é real.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e em primeiro lugar agradeço a Deus, aquele que me deu forças para alcançar todos os meus objetivos.

Aos meus pais, Andréa e Fábio, por serem meus maiores incentivadores e acreditarem no meu potencial. Vocês são meu exemplo de vida.

À minha querida irmã Beatriz, que jejuou e orou pela minha vida e da nossa família.

À minha amada tia Matilde, que cuidou de mim desde pequena liberando sempre as palavras mais doces de incentivo durante toda minha jornada, especialmente estudantil. A senhora sempre será um exemplo que doçura e compreensão.

À minha admirada tia Maria do Socorro, por apostar em mim e oferecer toda estrutura financeira dos meus anos de colegial. Esta etapa foi essencial para minha aprovação na UFMA.

À minha grande amiga de graduação, Dandara, que dividiu comigo todas as dificuldades e superações nesta universidade. Obrigada por todas as caronas e conversas, foi maravilhosa a sua companhia. Enfim, estamos nos formando!

Ao meu querido Vinícius, que me acompanhou durante a graduação e ofereceu apoio sempre que precisei. Serei eternamente grata a companhia, às caronas e ao amor.

À minha querida avó Antônia, que se alegrou junto comigo quando eu fui aceita. Não sabia do que se tratava a Engenharia Química, mas mesmo assim contou para todos os seus vizinhos da minha aprovação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Harvey, pela orientação, auxílio e oportunidade de desenvolver um trabalho tão especial na área que sempre almejei. Obrigada, pela confiança!

A esta Instituição e aos professores que contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

A todos os integrantes do Laboratório de Produtos Naturais, que cederam o óleo essencial utilizado neste trabalho e ajudaram no desenvolvimento da metodologia do mesmo.

A todos que me ouviram e participaram direta ou indiretamente desta etapa árdua da minha vida. Por fim, as dificuldades que passei e me fizeram crescer como pessoa e profissional. Levarei comigo cada lágrima, simbolizando os degraus das minhas vitórias.

Gratidão!

*“Melhor é o fim das coisas do que o princípio delas,
melhor é o paciente de espírito do que o ativo de
espírito.”*

Eclesiastes 7:8

CARVALHO, B. A. A. **Estudo da estabilidade do óleo essencial da *Pectis brevipedunculata* encapsulado em microemulsão de óleo de coco babaçu**. 2021. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

RESUMO

As microemulsões (MEs) são ferramentas utilizadas como potencializadoras de fármacos, caracterizadas por transparência, isotropia e estabilidade termodinâmica gerada por um filme interfacial de compostos tensoativos. Estudos vêm avançando nesta área, não somente pela importância técnico/científica, mas, sobretudo, pela relevância econômica que a formulação destes sistemas resulta para empresas farmacológicas. Assim, o presente trabalho visa desenvolver e avaliar o uso das MEs como veículo encapsulador de proteção e estabilidade do princípio ativo do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*, quando exposto a fatores degradantes do meio ambiente, como variação de temperatura e incidência de luz constante. A avaliação dos componentes majoritários do óleo essencial e suas estabilidades quando encapsulado foram determinados pelo HPLC-PDA, e analisados estatisticamente pela ANOVA, através da diferença mínima significativa de Fisher (LSD) e método “*stepwise fit regression*”. De acordo com a análise, ocorreu o encapsulamento da mistura, já que as MEs formadas se apresentaram translúcidas e estáveis após a adição do óleo essencial. No teste de estabilidade, a coloração do composto evidenciou degradação: amarelo mais claro a 30 °C, amarelo mais escuro a 60 °C, comprovando uma mudança no comportamento das amostras. O valor p (0,0025), resultou em algumas médias diferentes e significativas, sobretudo ao comparar os componentes majoritários Neral e Geranial, devido a distinções entre características e concentrações das mesmas. Todos os isômeros tiveram erro médio relativo (MRE) inferiores a 10%, e coeficiente de determinação próximos a 1, o que demonstrou um melhor ajuste, principalmente dos isômeros Geranial e Neral. Na comparação entre valores teóricos e experimentais, quantidade de resíduos e frequência dos mesmos, ocorreu melhores ajustes para todos os isômeros avaliados. Em função da temperatura e tempo, os isômeros apresentaram ajustes eficiente dos modelos considerando a influência destes fatores primordiais na característica das formulações obtidas, por determinarem alterações na composição das mesmas. Com isso, o encapsulamento de princípios ativos em ME pode ser uma opção vantajosa para tornar formulações estáveis, na indústria farmacêutica ou em outras áreas. Estudos adicionais são necessários para verificar a eficiência e a viabilidade econômica do processo.

Palavras-chave: Microemulsões. Encapsulamento. Estabilidade. Óleo Essencial. Degradação.

CARVALHO, B. A. A. **Stability Study of *Pectis brevipedunculata* Essential Oil Encapsulated in Babaçu Coconut Oil Microemulsion.** 2021. 58 f. Graduate Work (Graduate in Chemical Engineering) – Curso de Engenharia do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

ABSTRACT

Microemulsions (MEs) are tools used as drug enhancers, characterized by transparency, isotropy and thermodynamic stability generated by an interfacial film of surface-active compounds. Studies have been advancing in this area, not only because of the technical/scientific importance, but, above all, because of the economic relevance that the formulation of these systems results in for pharmacological companies. Thus, the present work aims to develop and evaluate the use of MEs as an encapsulating vehicle for protection and stability of the active principle of the essential oil of *Pectis brevipedunculata*, when exposed to environmental degrading factors, such as temperature variation and constant light incidence. The evaluation of the major components of the essential oil and their stability when encapsulated were determined by HPLC, and statistically analyzed by ANOVA, using Fisher's least significant difference (LSD) and the “*stepwise fit regression*” method. According to the analysis, the encapsulation of the mixture occurred, since the MEs formed were translucent and stable after the addition of the essential oil. In the stability test, the color of the compound showed degradation: lighter yellow at 30 °C, darker yellow at 60 °C, proving a change in the behavior of the samples. The *p* value (0.0025) resulted in some different and significant means, especially when comparing the majority components Neral and Geranial, due to distinctions between their characteristics and concentrations. All isomers had mean relative error (MRE) below 10%, and coefficient of determination close to 1, which demonstrated a better fit, especially for the Geranial and Neral isomers. In the comparison between theoretical and experimental values, amount of residues and their frequency, there were better fits for all evaluated isomers. As a function of temperature and time, the isomers presented efficient adjustments of the models considering the influence of these primordial factors in the characteristics of the obtained formulations, by determining changes in their composition. Thus, the encapsulation of active principles in ME can be an advantageous option to make formulations stable, in the pharmaceutical industry or in other areas. Additional studies are needed to verify the efficiency and economic feasibility of the process.

Keywords: Microemulsions. Encapsulation. Stability. Essential oil. Degradation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da organização das estruturas das microemulsões.....	05
Figura 2 - Representação da classificação de Winsor.....	07
Figura 3 - Sistema de classificação de Winsor mostrando as possíveis fases óleo e água em sistemas de microemulsões.....	07
Figura 4 - Exemplos de terpenos e terpenoides, comomonoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos presentes em óleos essenciais.....	11
Figura 5 - Ilustração da parte aérea da espécie <i>Pectis brevipedunculata</i>	13
Figura 6 - Balança semi-analítica, utilizada na pesagem das amostras.....	21
Figura 7 - Estufa incubadora B.O.D.....	22
Figura 8 - Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC-PDA).....	23
Figura 9 - Diagrama ternário de fases para o óleo de coco babaçu, água e surfactante.....	24
Figura 10 - Representação do parêlho Clevenger.....	25
Figura 11 - Procedimento de hidrodestilação utilizado para a extração do OE.....	25
Figura 12 - Representação da triplicata dos tubos de ensaio com a microemulsão com a proporção 7:3:1 (óleo:surfactante:água) e o óleo essencial puro, para a temperatura de 30°C.....	27
Figura 13 - Representação da triplicata dos tubos de ensaio com a microemulsão com a proporção 7:3:1 (óleo:surfactante:água) e o óleo essencial puro, para a temperatura de 60°C.....	27
Figura 14 - Caixa preta com luz uv acoplada para analisar teste de degradação por luz.....	28
Figura 15 - Representação do método empregado para analisar a incidência de luz negra.....	29
Figura 16 - Estudos de difusão química no sistema 7:3:1 (óleo:surfactante:água) microemulsionado obtido no diagrama ternário de fases.....	32
Figura 17 - Comportamento das microemulsões ao longo das análises.....	34
Figura 18 - Comportamento gráfico dos isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) da <i>Pectis brevipedunculata</i>	37
Figura 19 - Estruturas moleculares dos isômeros Geranial e Neral.....	37

Figura 20 - Diagrama de residuais e frequência entre valores experimentais e calculados pelos modelos obtidos pelo método “stepwise fit regression” para os isômeros (a) Neral, (b) ME Neral, (c) Geranial e (d) ME Geranial.....	43
Figura 21 - Valores simulados dos isômeros (a) Neral, (b) ME Neral, (c) Geranial e (d) Geranial obtidos pelo método “stepwise fit regression” em função da temperatura e tempo.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Especificações e característica do HPLC utilizado nas análises.....	22
Tabela 2 -	Quantidade de reagentes em massa usados para formulação da ME com OE.....	26
Tabela 3 -	Relação dos pesos dos componentes do sistema microemulsionado 7:3:1 (óleo:surfactante:água) determinado por estudo prévio do diagrama de fases.....	31
Tabela 4 -	Condutividade do sistema 7:3:1(óleo:surfactante:água) microemulsionado encontrado no diagrama ternário de fases.....	33
Tabela 5 -	Resultados dos estudos de estabilidade dos isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) da <i>Pectis brevipedunculata</i>	36
Tabela 6 -	Tabela anova para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial)..	39
Tabela 7 -	Médias obtidas pelo método de múltiplas faixas LSD – Fisher ($\alpha=95\%$)....	40
Tabela 8 -	Comparativo das diferenças das médias de significância entre os pares analisados.....	40
Tabela 9 -	Parâmetros estimados para os modelos dos isômeros obtidos utilizando o método “stepwise fit regression”.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
DFPT	Diagrama de Fases Pseudoternário
G	Geranial
EHL	Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico
HBL	Balanço Lipofílico-Hidrofílico
HPLC	Cromatografia Líquida de alta eficiência
LSD	Método da diferença mínima significativa de Fisher
MATLAB	Matrix Laboratory
ME	Microemulsão
MEG	Microemulsão Geranial
MEN	Microemulsão Neral
MRE	Erro médio relativo
MEs	Microemulsões
N	Neral
OE	Óleo essencial
OEs	Óleos essenciais
O/W	Fase óleo em água
SAXS	espalhamento de raios-X a baixo ângulo
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
UV	Ultravioleta
W/O	Fase água em óleo

LISTA DE SÍMBOLOS

A	ampere
C	Celcius
cm	centímetro
g	gramas
lm	lúmens
mg	miligramas
ml	mililitro
min	minutos
mm	milímetro
μ s	microsiemens
μ m	micrometro
μ l	microlitro
nm	nanômetro
R^2_{adj}	coeficiente de determinação ajustado
y	valores experimentais
y^*	valores calculados
\bar{y}	média dos valores experimentais
n	número de valores experimentais

SUMÁRIO

FOLHA DE APROVAÇÃO.....	iv
DADOS CURRICULARES.....	v
DEDICATÓRIA.....	vi
AGRADECIMENTOS.....	vii
EPÍGRAFE.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xv
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	03
2.1 Objetivo geral.....	03
2.1 Objetivos específicos	03
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
3.1 Emulsão, microemulsão e nanoemulsão.....	04
3.2 Tipos de microemulsões.....	05
3.2.1 Estrutura e características.....	05
3.3 Classificação de Winsor para sistemas microemulsionados.....	06
3.4 Diagrama de fases.....	08
3.5 Aplicações das microemulsões.....	08
3.6 Óleos essenciais (OEs)	10
3.6.1 Influência da temperatura e da luminosidade nos óleos essenciais.....	11
3.7 Óleo essencial da planta <i>Pectis brevipedunculata</i>	12
3.7.1 Gênero <i>Pectis</i>	12
3.7.2 Características e aplicações do óleo essencial da <i>Pectis brevipedunculata</i> ...	13
3.8 Encapsulamento de óleos essenciais por meio de microemulsões.....	14
3.8.1 Área de Higiene.....	15
3.8.2 Área Médica.....	16
3.8.3 Área Alimentícia.....	18

3.9	Teste de estabilidade.....	18
3.9.1	Fatores que afetam a estabilidade.....	20
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1	Local da pesquisa.....	21
4.2	Equipamentos utilizados.....	21
4.3	Análises, métodos e procedimentos experimentais.....	23
4.3.1	Preparação da microemulsão e seleção da melhor formulação.....	23
4.3.2	Obtenção do óleo essencial de <i>Pectis brevipedunculata</i>	24
4.3.3	Encapsulamento do óleo essencial no sistema micremulsionado.....	26
4.3.4	Teste da estabilidade da ME para a formulação.....	27
4.3.5	Medida da condutividade na microemulsão.....	29
4.4	Análise estatística e modelagem matemática.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1	Caracterização do sistema microemulsionado.....	31
5.2	Caracterização por difusão química.....	31
5.3	Caracterização por condutividade elétrica.....	33
5.4	Teste da estabilidade da ME quanto a incidência da luz ultravioleta e diferentes temperaturas.....	33
5.5	Resultados estatísticos do teste da estabilidade da ME quanto à incidência da luz ultravioleta e diferentes temperaturas.....	38
5.5.1	Tabela anova para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial).....	38
5.5.2	Método da diferença mínima significativa de Fisher (LSD).....	40
5.5.3	Modelagem utilizando o método “Stepwise Fit Regression”.....	41
6	CONCLUSÃO.....	47
	REFERÊNCIAS.....	48

1 INTRODUÇÃO

Relevantes mudanças têm ocorrido no século atual, sobretudo no que diz respeito à tecnologia e seus estudos científicos, que avançam de forma expressiva e trazem consigo um olhar mais crítico com expectativas de grandes transformações em futuros próximos. As microemulsões (MEs) são exemplos de inovações que geram significativas pesquisas atemporais, pois apesar de serem conhecidas há anos, recebem novos atributos e aplicações regularmente, sendo objeto de análise de cientistas em diversas áreas de conhecimento.

As microemulsões funcionam como sistemas termodinamicamente estáveis e solúveis, capazes de aumentar a estabilidade e a solubilidade quando misturadas a um óleo essencial, que poderá possibilitar seu uso como agente carregador e protetor de princípios ativos de plantas para aplicações diversas nas indústrias farmacêutica, alimentícia e química.

A microencapsulação apresenta como uma das suas principais vantagens o mecanismo de liberação controlada. Através deste mecanismo o agente ativo pode ser liberado em momento e local apropriado, sendo considerada, uma propriedade extremamente importante nos processos de encapsulação (SILVA et al., 2014).

Na indústria de alimentos, a microencapsulação e a liberação controlada são aplicadas com o objetivo de assegurar a manutenção das características nutritivas e sensoriais dos alimentos e prolongar seu período de armazenamento (DIMA et al., 2016).

Na área farmacêutica, as microemulsões surgem como importantes ferramentas para potencializar o efeito dos fármacos tendo em vista que, mesmo utilizando pequenas quantidades de princípios ativos, os mecanismos de liberação controlada desses fármacos promovem a otimização da entrega do mesmo no local de ação, melhoram sua biodisponibilidade, diminuem o risco de toxicidade e facilitam sua administração (FREITAS FILHO et al., 2012).

Sabe-se que óleos essenciais são suscetíveis às mudanças químicas, principalmente devido a fatores, como temperatura, luz solar e umidade, que diminuem seu potencial para uma aplicação específica. Assim, este trabalho tem como intuito o estudo da estabilidade de óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* carregado em uma microemulsão à base de óleo de coco babaçu, surfactantes (Span 80 e Tween 80), co-surfactante (álcool etílico) e água. Esta aplicação agrega valor não somente técnico/científico, mas também, regional e farmacêutico, por utilizar o óleo de babaçu e o óleo essencial da *Pectis brevipedunculata* como matérias-primas, que possuem origens locais e funções benéficas à saúde. Espera-se ao término deste estudo,

contribuir para um melhor conhecimento acerca do comportamento das MEs, em especial no que diz respeito a sua estabilidade em relação aos fatores degradantes das biomoléculas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver uma microemulsão e avaliá-la quanto ao efeito da temperatura e tempo na sua estabilidade, utilizando o óleo essencial da *Pectis brevipedunculata* como princípio ativo incorporado na mesma.

2.1 Objetivos específicos

- Formular uma microemulsão a base de coco babaçu, surfactante e água, incorporada ao óleo essencial da *Pectis brevipedunculata* como princípio ativo da formulação;
- Estudar o efeito da microemulsão nos marcadores químicos do óleo de *Pectis brevipedunculata* através de um teste de estabilidade, como uma função do tempo, temperatura e incidência da luz;
- Avaliar estatisticamente o efeito da incidência da luz e do tempo nos compostos bioativos microemulsionados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Emulsão, microemulsão e nanoemulsão

Frequentemente existem dúvidas sobre o termo microemulsão, isto se deve ao fato de que este pode ser semelhante às nomeações emulsão e nanoemulsão, no entanto, há distinções relevantes entre os significados. Uma emulsão é definida como um sistema instável, ou seja, sua composição varia de acordo com a hidrofília ou lipofília da fase dispersante, o que gera uma fase dispersa dentro de uma fase contínua, e apresenta sistemas óleo em água (O/W) ou água em óleo (W/O) (FRANZOL; REZENDE, 2015). Para obter um sistema homogêneo e cineticamente estável, já que as emulsões são formadas por fases distintas e com tensão superficial diferente, é fundamental a junção de um agente emulsificante, para viabilizar a redução da tensão superficial (característica de cada componente, que apresenta determinada resistência para se misturar a outro) de ambas as fases, e certa quantidade de energia que favoreça a mistura dos componentes. Quanto ao tamanho dos glóbulos de emulsão, pode ser classificada em microemulsões ou nanoemulsões (SCHUH; BRUXEL; TEIXEIRA, 2014; FRANZOL; REZENDE, 2015).

As microemulsões (MEs) têm a mesma estrutura da composição e obtenção das emulsões, através da mistura de dois líquidos imiscíveis, sendo estes O/W e W/O, com a participação de um surfactante, redutor de tensão superficial da água e do óleo, e um co-surfactante que é um álcool de cadeia média, empregado quando há intenção de ampliar mais ainda a área superficial. É considerado um sistema isotrópico, opticamente transparente, com baixa viscosidade e termodinamicamente estável (SILVA et al., 2015; SOUZA et al., 2017). Em relação a sua estrutura, é formada por gotículas de tamanho nanométrico, normalmente menor que 0,001 dina/cm (SOUZA et al., 2017) diferenciando-se das emulsões, pois estas dispõem de tamanho goticular bem maior comparada às MEs. A situação atribui-se ao fato de haver transparência da mistura, dispersas em uma fase contínua de um solvente imiscível com a fase dispersa (SILVA et al., 2015).

Hoar e Shulman (1943) definiram as MEs, ao considerarem sistemas transparentes formados espontaneamente na mistura do óleo e água utilizando quantidades relativamente grandes de tensoativo iônico utilizando um álcool de cadeia média. Todavia o termo microemulsões foi inserido somente na década de 1950 (SCHULMAN et. al., 1959).

Já as nanoemulsões são constituídas por glóbulos com raios reduzidos que variam entre 20nm a 200nm, o que contribui para que esta seja opticamente transparente e/ou

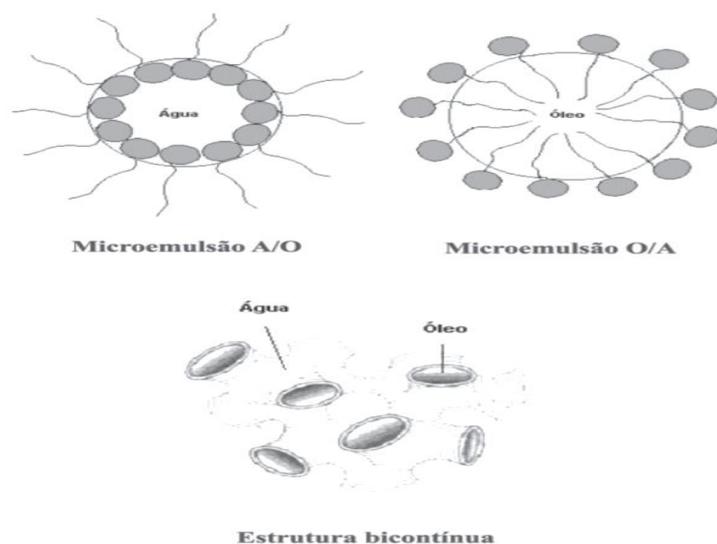
translúcida, transformando-se em estáveis durante um período de tempo (ZORZI et al., 2017). Assim como as emulsões, são termodinamicamente instáveis e precisam de fonte de energia de emulsificação para serem elaboradas (RODRIGUES et al., 2018).

3.2 Tipos de microemulsões

3.2.1 Estrutura e características

As microemulsões podem ser classificadas quanto a sua estrutura em três tipos: bicontínuas, água em óleo (W/O) e óleo em água (O/W) (D'CRUZ; UCKUN, 2001). Entretanto é importante ressaltar que a formação de estrutura de uma micela intumescida regular (O/W) ou reversa (W/O) só é possível em MEs diluídas (DAMASCENO et al., 2011). Na figura 1 observam-se os tipos de MEs.

Figura 1- Representação esquemática da organização das estruturas das microemulsões.



Fonte: McClements (2012).

Microemulsões (O/W) são formadas por gotículas de óleo cercadas por uma fase contínua aquosa. Assim, o componente lipofílico é representado através de dispersões de gotículas coloidais na região hidrofílica. Ao se tratar das microemulsões (W/O), observa-se que a fase contínua é o óleo sendo cercada por gotículas de água, ou seja, o componente hidrofílico é disperso na forma de gotículas coloidais no componente lipofílico (MO; ZHONG; ZHONG, 2000; MCEVOY et al., 2007).

A bicontínua tem sua formação quando os componentes hidrofílicos e lipofílicos se

juntam, apresentando canais adjacentes alongados com gotículas na faixa de 1 a 100nm (D'CRUZ; UCKUN, 2001; FORMARIZ et al., 2005).

Os surfactantes possuem a tendência de se distribuírem nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (O/W e W/O). Isto se dá em razão da presença dos grupos hidrofílico e hidrofóbico na mesma molécula. Para que eles possam desenvolver suas propriedades, há a formação de um filme molecular ordenado nas interfaces com objetivo de reduzir a tensão superficial (YANG; MCCLEMENTS, 2013).

Desta maneira, as MEs podem ser definidas tecnicamente como um balanço hidrofílico-lipofílico (HBL), que representa o equilíbrio entre as partes polar e apolar da molécula do surfactante (LI; KUNIEDA, 2003; CAPEK, 2004). O HBL é uma escala de valores, introduzida para caracterizar os tensoativos não iônicos, tendo como base o tamanho da cadeia polar do surfactante. De acordo com a escala, valores inferiores a dez indicam a predominância da parte apolar, indicando adequação ao preparo de ME do tipo W/O, já os superiores a dez mostram a predominância da região polar, indicando que estas substâncias podem ser empregadas na obtenção de MEs O/W e O/W (LAWRENCE; REES, 2000; MANIASSO, 2001).

Além disso, outro fator importante é o valor de Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) de um surfactante, que dá uma indicação útil da sua solubilidade nas fases de óleo e/ou água e pode ser utilizado para prever o tipo de emulsão que irá ser formada (DAVIS, 1994). Um surfactante com baixo EHL, entre 3 – 6, é predominantemente solúvel em óleo, estabiliza emulsões W/O e forma micelas reversas no mesmo. Um surfactante com alto EHL, entre 8 – 18, é hidrofílico, dissolve preferencialmente em água, estabiliza emulsões O/W e pode formar micelas em água. Um surfactante com um EHL intermediário, entre 6 – 8, não têm preferência por água ou óleo (BECHER, 1977; WALSTRA, 2005).

3.3 Classificação de Winsor para sistemas microemulsionados

Em 1948, Winsor, criou um parâmetro semiquantitativo para mensurar o equilíbrio entre as características hidrofílicas e lipofílicas do surfactante similar ao HBL (balanço hidrofílico-lipofílico). Nesse tipo de classificação foram estabelecidos quatro tipos de sistemas, baseados em quantidades de fases formadas em razão da quantidade de óleo e/ou água em excesso (WINSOR, 1948):

I) Winsor I: caracterizado pelo equilíbrio entre a fase emulsionada com a fase oleosa em excesso, especialmente na porção superior do sistema, formando uma região bifásica. Por

conter uma densidade menor que a da emulsão, a fase oleosa estabelece-se acima da emulsão;

II) Winsor II: caracteriza o equilíbrio entre a fase emulsionada e a fase aquosa em excesso. Por possuir densidade menor que a da fase aquosa, a emulsão posiciona-se na parte superior à fase aquosa e o excesso de água na parte inferior. Apresenta também sistema bifásico;

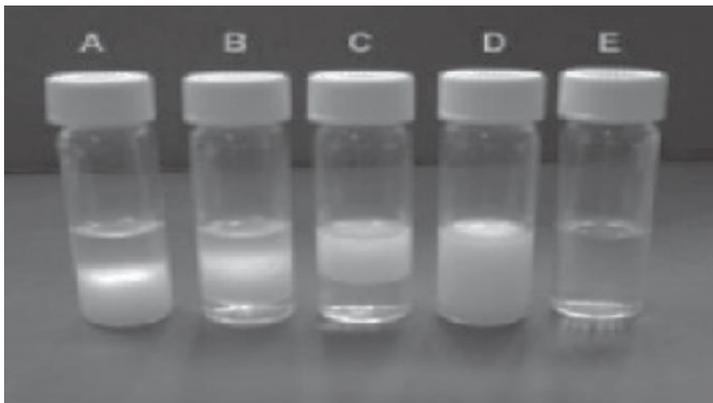
III) Winsor III: possui três fases em equilíbrio (trifásica), óleo, emulsão e água, em que o óleo é a fase superior, a emulsão a fase intermediária e a água, a fase inferior;

IV) Winsor IV: é um sistema em que há apenas uma fase (monofásico), que seria a microemulsão, ou seja, não há excesso de fase aquosa ou oleosa, tornando-se homogêneo.

As Figuras 2 e 3 representam o sistema de classificação de Winsor, identificando cada fase existente.

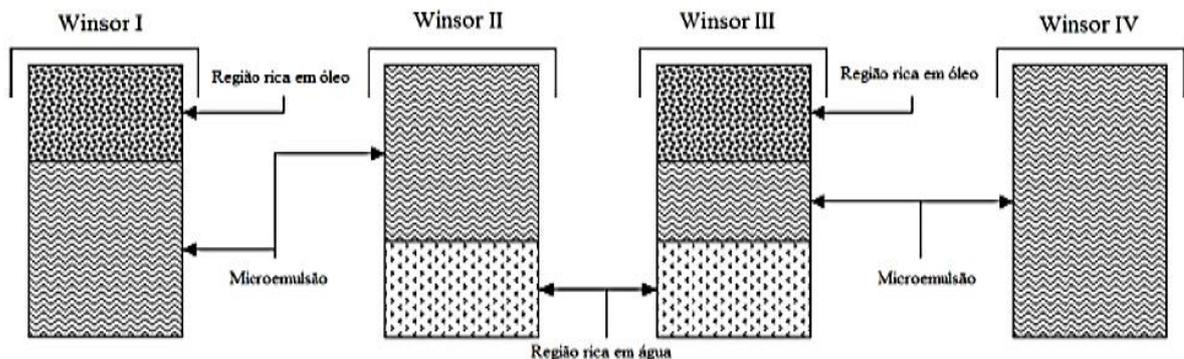
Figura 2 - Representação da classificação de Winsor.

A) Winsor I. B) Winsor III. C) Winsor II. D) Emulsão homogênea. E) Winsor IV.



Fonte: McClements (2012).

Figura 3 – Sistema de classificação de Winsor mostrando as possíveis fases óleo e água em sistemas de microemulsões.



Fonte: Flanagan e Singh (2006).

O sistema tipo Winsor IV é o mais importante em um sistema microemulsionado, pois ao adicionar co-surfactante, há diminuição do HLB dos surfactantes e ajuste da conformação geométrica do surfactante na interface para facilitar a formação da ME (TAN et al., 2011).

3.4 Diagrama de fases

O principal objetivo nos sistemas microemulsionados, é obter uma combinação crítica entre os componentes, de modo a conseguir uma solubilização máxima da fase interna ou dispersa (SHAH, 1998; GARTI, 2001; THEVENIN; GROSSIORD; POELMAN, 1996).

O diagrama de fases descreve em que condição experimental é possível se obter MÊs e as regiões limites de transição entre emulsões, fases separadas e microemulsões O/W e W/O. Ou seja, demonstra a relação entre as composições de um sistema e suas misturas (LAWRENCE; REES, 2000).

Normalmente se utiliza o Diagrama de Fases Pseudoternário (DFPT) ao invés do Ternário, devido à utilização de quatro componentes (água, óleo, tensoativo e cotensoativo). O que diferencia os dois é que se considera o cotensoativo e o tensoativo agrupados como um só componente, desde que a razão entre a massa destes elementos seja constante em todos os pontos do diagrama (GUIMARÃES, 2013).

Esta ferramenta facilita a escolha das formulações adequadas para se incorporar em fármacos, porque permite delimitar regiões no diagrama de fases apenas com a inspeção visual das amostras, já que apresenta suas características em cada fase, inclusive apontando os sistemas translúcidos ou opticamente transparentes, que caracterizam uma região microemulsionada (GUIMARÃES, 2013; FORMARIZ et al., 2005)

3.5 Aplicações das microemulsões

As microemulsões são conhecidas por seus atributos mais comuns, como sistemas termodinâmicos estáveis, opticamente transparentes, isotrópicos e de baixa viscosidade, formados por gotículas de tamanho nanométrico, disseminadas em uma fase contínua de um solvente imiscível com a fase dispersa. Entretanto, além do que já se sabe, possuem propriedades especiais, tornando-as de grande valor nos estudos e pesquisas desenvolvidos. Como, por exemplo, elevado poder de solubilização, uma baixa tensão interfacial entre suas fases contínua e dispersa, implicando na possibilidade de haver uma boa solubilização de substâncias polares, apolares e iônicas, o que comparadas às soluções micelares, as quais são

similares, são muito mais eficazes, já que permitem solubilização simultânea superior. Devido a tantas características próprias e diferenciadas, o campo das aplicações das microemulsões tem sido alvo de grandes questionamentos e até mesmo de curiosidades, sobretudo, nas suas funções benéficas ao homem (SILVA et al., 2015).

As aplicações abrangem as áreas de alimentos, farmacêutica e industrial. A primeira surge com o objetivo de trazer melhorias de solubilização e estabilidade dos ingredientes. Apesar de a iniciativa ser recente e por isso ainda pouco divulgada, o uso das microemulsões para esses fins apresenta-se convidativo, gerando baixo custo, rapidez e viabilidade ambiental. Isto se dá pelo fato de que ao fabricar alimentos surge a necessidade de solubilizar componentes lipofílicos, para a obtenção de carga nutricional e funcional, e a indústria, infelizmente possui dificuldade nesta adição, sobretudo quando é realizada em formulações hidrofílicas (DEUTCH-KOLEVZON; ASERIN; GARTI, 2011; ZHENG et al., 2011; MCCLEMENTS, 2012; ZIANI; FANG; MCCLEMENTS, 2012).

Ainda na alimentação, as ME vem sendo empregadas no racionamento e substituição de solventes em preparações de aromas, estabilidade química de flavorizantes e aumento da eficiência de antimicrobianos. Este último teve poucas evidências, mas com o aumento das pesquisas, foi comprovada a eficiência das microemulsões contra microrganismos, inclusive de interesse sanitário público, como bactérias, fungos e leveduras (SILVA et al., 2015).

Em relação às aplicações farmacêuticas, as microemulsões podem ser usadas para liberação de fármacos, que segundo a literatura tem o objetivo de proporcionar efeito prolongado, fazendo com que atinjam a concentração plasmática dentro dos padrões necessários (FORMARIZ et al., 2005). Nesse sentido, de acordo com as características das MEs, é possível saber a que tipo de aplicabilidade cada uma irá servir e poderá ser manipulada.

As microemulsões lipídicas do tipo O/W, por exemplo, é uma das alternativas em fármacos, devido à facilidade de solubilização de substâncias lipossolúveis, apresentando dessa forma, utilidade terapêutica. Isto se dá devido a sua estrutura, a qual possui um lipídeo neutro na região interna, sendo estabilizado por lipídios anfifílicos (LUNDBERG, 1996). Também se destaca o uso de microemulsões (W/O), sobretudo porque pode ser útil no transporte de fármacos hidrofílicos, especialmente tratando-se da posologia via oral e intramuscular (FORMARIZ et al., 2005).

Além destas, as MEs possuem um enorme potencial de liberação de fármacos lipofílicos via intravaginal e retal. Apesar de o sistema ser bem rigoroso, especialmente devido à sua toxicidade e a biodisponibilidade da fórmula, possui como ponto positivo uma absorção maior e melhoria da eficácia clínica (CRUZ, 2001).

Outra funcionalidade das microemulsões é a inibição da corrosão, a qual se apresenta como uma grande preocupação nas indústrias atuais, sobretudo, por causar deterioração, riscos ambientais e operacionais em equipamentos e materiais metálicos (SOUZA et al., 2017). As MEs permitem uma relação, entre a solubilidade em meio aquoso neutro ou salino. Nessa situação, elas se tornam pertinentes, por causa das suas características, como a baixa tensão interfacial, baixo custo e por serem facilmente obtidas, além de favorecerem a solubilização e finalidades diversificadas de moléculas orgânicas (SCHWUGER, 1995; MENDONÇA et al., 2005; ROSSI; MACIEL; DANTAS, 2007; MOURA et al., 2013).

3.6 Óleos essenciais (OEs)

Conforme Tavares (2007) os óleos essenciais podem ser denominados de óleos voláteis, devido sua alta sensibilidade à temperatura, óleos etéreos, devido a sua solubilidade em solventes orgânicos como o éter, e essências, pelo sabor doce e intenso aroma. Outra característica importante é a sua pouca estabilidade, reagindo muito facilmente com a luz, ar, umidade calor e metais, além de serem em grande parte incolores e opticamente ativos.

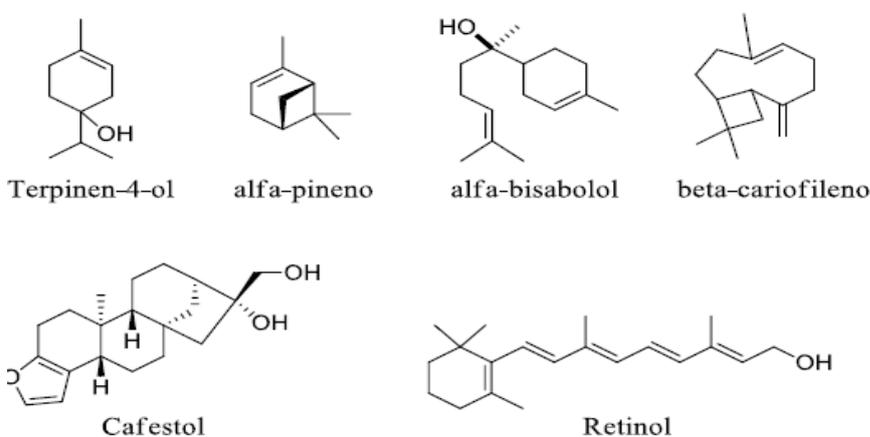
Vale ressaltar os métodos de extração dos óleos, que podem se dar por meio de técnicas como a destilação por arraste a vapor, hidrodestilação, extração com gás carbônico supercrítico, expressão a frio, entre outros, e são determinados pela localização dos mesmos na planta, desde as raízes até suas folhas, e sua utilização. A hidrodestilação é um dos procedimentos mais antigos e versáteis empregados, consistindo numa técnica no qual o material vegetal permanece em contato com a água em ebulição, e o vapor causa a abertura das paredes celulares, determinando a evaporação do óleo que está entre as células da planta. O vapor, que é a mistura do óleo e água, passa por um condensador, onde acontece o seu resfriamento (SILVA, 2011) e, devido à imiscibilidade dos componentes voláteis e a água, ocorre à formação de duas fases líquidas que podem ser separadas (SATOR, 2009).

Outro ponto relevante é quanto ao seu aspecto oleoso, geralmente representado em temperatura ambiente. Este fato os tornam mais voláteis e diferenciados dos óleos fixos, que são combinações de substâncias lipídicas, que em alguns casos, podem ser provenientes de sementes como a linhaça. Podem ser levemente amarelados, possuem sabor ácido e picante, sendo pouco estáveis em presença de luz, calor e ar e insolúveis em água (SIMÕES, SPITZER, 1999; SAITO, SCRAMIN, 2000).

Quanto a sua aplicação, o OE vem despertando grande interesse econômico. De acordo com Probst (2012) isso ocorre devido à grande demanda em relação às propriedades

dos óleos como o combate antimicrobiano, e a divergência dos fármacos sintéticos, já que são naturais e biodegradáveis, tornando-se assim fonte de pesquisa pra novos medicamentos. Analisando quimicamente, os óleos essenciais são compostos por uma mistura de terpenos, sendo hidrocarbonetos que, se oxigenados, são chamados de terpenóides (LASZLO, 2001), como representado na figura 4.

Figura 4 - Exemplos de terpenos e terpenoides, como monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos presentes em óleos essenciais.



Fonte: Laszlo (2001).

Para determinar a composição química dos óleos essenciais é necessário considerar não somente fatores genéticos, mas também as fontes metabólicas, ou seja, a relação química da planta e o ambiente em que se encontra, pois este pode interferir na rota metabólica e consequentemente modificar a biossíntese dos compostos envolvidos. A luminosidade e a temperatura são consideradas fatores abióticos de alteração nos rendimentos e propriedades dos óleos (MORAIS, 2009).

3.6.1 Influência da temperatura e da luminosidade nos óleos essenciais

Segundo Sousa et al. (2008), a temperatura e a luminosidade têm função fundamental na fotossíntese, já que colaboram para que o processo fisiológico ocorra em ambiente ideal e de forma eficiente nas plantas.

Para que ocorra adaptação das plantas ao habitat é necessário um sistema resistente às alterações de temperatura e luz no ambiente. Os óleos essenciais, na maioria das vezes, apresentam um aumento em seu teor quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperatura elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos

mesmos (MORAIS, 2009).

A luz também influencia de maneira visível sobre a qualidade de óleos essenciais, pois age diretamente na composição e constituição das propriedades do mesmo. De acordo com Voirin et. al. (1990) os óleos essenciais de *Menthapiperita* ou hortelã, possuem compostos majoritários como o mentol e a mentona, e traços de mentofurana, quando são submetidos a dia longo, ou fotoperíodo extenso. Entretanto, ao ser exposto durante dia curto, ou fotoperíodo pequeno, o composto majoritário mudou para a mentofurana, comprovando que a luz pode alterar a comportamento do OE.

3.7 Óleo essencial da planta *Pectis brevipedunculata*

3.7.1 Gênero *Pectis*

De acordo com Marques et al. (2006), *Asteraceae* é a família na qual a *Pectis* é originária e possui mais de 1.100 gêneros, somando 25.000 espécies, podendo ser encontrada em regiões tropicais, subtropicais, temperadas, ao nível do mar e em montanhas. Mas sua frequência é maior em terrenos arenosos e rochosos.

Ao longo dos anos foram realizados diversos estudos e classificações da *Pectis*. Como exemplo, pode-se citar Demo et al. (2005), que durante uma pesquisa sobre atividade antimicrobiana de óleos essenciais, descobriu que um tipo de *Pectis* denominada *odorata* inibia o crescimento de bactérias Gram-positivas. Consequente, foram aparecendo novas espécies do gênero, que inclusive são utilizadas com fins medicinais, como a *Pectis augustifolia*, encontrada nos Estados Unidos e México, sendo utilizado como condimento alimentar para o tratamento de desconfortos estomacais (KEIL, 2002).

A *Pectis brevipedunculata* é, segundo Barbosa et al. (2006), uma espécie do nordeste brasileiro. Possui características nativas de ambientes xerófilos, suportando longos períodos na ausência de chuva sem diminuir o teor de água, correspondente a 70%. Além disso, é de pequeno porte e se revelou rica em óleo essencial, por meio do estudo de palinologia realizado por Mendonça, Esteves e Esteves (2002). A figura 5 demonstra uma ilustração típica da parte aérea da espécie.

Figura 5- Ilustração da parte aérea da espécie *Pectis brevipedunculata*.



Fonte: Marques (2013).

3.7.2 Características e aplicações do óleo essencial da *Pectis brevipedunculata*

Quanto ao OE da *Pectis brevipedunculata*, observou-se que este possui como componentes majoritários geranial (61,0%), neral (25,6%) e o acetato de linalila (10,3%). E os minoritários são 1-trideceno (1,2%), nerol (1,0%) e limoneno (0,8%) (BRITO; MARQUES, 2008).

Além disso, descobriu-se através do estudo da anatomia e da estrutura foliar da *Pectis brevipedunculata* que esta perde pouca água e tem grande tolerância a alta irradiância, permitindo eficiência na fixação de gás carbônico, o que colabora para que haja uma via fotossintética. Nesta espécie o OE fica armazenado em cavidades subepidérmicas, em superfícies de excreção, as quais se apresentam como grandes vacúolos, de aspecto granular, sugerindo uma secreção lipofílica (AZEVEDO, 2007).

Outro ponto a ressaltar é que há muitas atividades biológicas descritas para este tipo de óleo, sobretudo na área farmacêutica, abrangendo propriedades bacteriológicas e fungicidas. E também aplicações médicas, através da aromaterapia com misturas de óleos contendo citral e limoneno, no qual atuaram como redutores de pressão arterial sistólica e auxiliaram na atividade do sistema nervoso simpático (CHA; LEE; YOO, 2010). Ou seja, o óleo essencial da *Pectis brevipedunculata* tem grande potencial vascular.

3.8 Encapsulamento de óleos essenciais por meio de microemulsões

Um dos maiores desafios do campo científico e tecnológico abrangendo desde a área da cosmética à ciência de alimentos e ainda médica, no sentido de fabricar medicamentos para controle de pragas, fungos e bactérias, sobretudo nos dias atuais, onde surgem opções variadas de serviços, porém sem eficácia comprovada, é encontrar formulações eficientes que aumentam a disponibilidade de moléculas hidrofóbicas, ou seja, dificilmente solúveis em água (BREUER et al., 2009). Essa limitação tem motivado grandes pesquisas na área de dispersão destas moléculas, objetivando a criação de métodos e plataformas que venham permitir a solubilização destes compostos (TRAN; TRAN, 2019; WAIS et al., 2016; GUZMÁN et al., 2017; ARGUDO et al., 2018). Devido a esta situação faz-se necessário desenvolver estratégias de aplicação de veículos carregadores das moléculas, que aumentem os compostos solubilizados e suportem os fatores degradantes da mesma sem acarretar danos as suas atividades, garantindo assim à proteção das moléculas contra a degradação, especialmente as de natureza física e química.

Uma das opções de sistemas coloidais que vem sendo estudada e aplicada como alternativa eficaz na solubilização de compostos é o uso de microemulsões com função de encapsular e conservar atividades importantes de óleos essenciais (ASBAHANI et al., 2015). Por serem termodinamicamente estáveis, com baixa energia mecânica necessária para a preparação de suas dispersões e possuem transparência e tamanho médio de gotícula na faixa de 4 a 200 nm, tem minimização dos seus efeitos potenciais nas propriedades organolépticas de produtos de consumo. Outra característica é sua alta área de superfície específica que contribui na acessibilidade das moléculas, o que é adequado para a solubilização (DONSI; FERRARI, 2016; MISHRA, 2015).

Além disso, o uso de MEs auxilia em tratamentos terapêuticos, reduzindo a toxicidade de medicamentos para o ser humano (FANUN, 2012). Isso ocorre especialmente no caso de microemulsões óleo em água, pois estas fornecem ambiente propício e protegido para a solubilização das gotas do óleo, fazendo com que haja melhor distribuição e aproveitamento do material solubilizado em meio aquoso (DONSI; FERRARI, 2016; JIMÉNEZ et al., 2018; CHATZIDAKI et al., 2019). É relevante ressaltar que estas são promissoras também por serem opções ecológicas e sustentáveis, que solubilizam moléculas potencializando suas atividades biológicas e estabilizam a instabilidade química existentes nos OE que impossibilita seu manuseio (AZZIZ et. al., 2019; DE GODÓI et. al., 2017).

O encapsulamento dos OE através de MEs pode ser encontrado em vários ramos. A seguir serão abordadas algumas serventias do mesmo em diversas áreas de aplicação.

3.8.1 Área de Higiene

Os alimentos frescos são considerados grupos de grande relevância quando se refere a produtos alimentares (RICO et al., 2007). Sobretudo por serem conceituados como saudáveis. Todavia, há o risco da transmissão de doenças causadas por patógenos que costumam se aproveitar de produtos mais frescos e pré-embalados (DOYLE; ERICKSON, 2008; HARRIS et al., 2003). Dessa forma, pelo fato de possuírem processamento mínimo e oferecerem um risco de contaminação maior, tornaram-se associados a surtos de doenças ocasionadas por alimentos (SIVAPALASINGAM et al., 2004).

O uso de desinfetantes e água para lavagem costuma ser a segurança contra as contaminações e aumenta o tempo de vida útil dos produtos frescos. No entanto a água utilizada na pré-lavagem e na lavagem de alimentos precisa ser reciclada e reutilizada para reduzir o consumo da mesma, tornando-a mais sustentável (ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009). Ocorre é que essa água é mais propensa a ter microorganismos patogênicos, já que por ser reciclada possui concentrações menores de desinfetante, favorecendo assim a propagação de doenças ao consumidor (LUO, 2007; LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 2010).

Neste sentido, para que indústria de produtos orgânicos se beneficie, uma alternativa para o seu problema é buscar a utilização de desinfetantes que possuem maior capacidade antimicrobiana e que tenha atividade estendida durante o tempo de pós e aplicação da lavagem após a colheita. Com este intuito os óleos essenciais derivados de plantas passaram a ser uma opção relevante para tal situação, visto que estão sendo amplamente estudados como conservantes de alimentos de ocorrência natural em virtude das suas amplas atividades microbianas (DAVIDSON et al., 2013). Além disso, a lavagem com OE permite maior alcance a microrganismos, já que estes podem estar localizados em regiões bem protegidas como superfícies de corte, estômatos e fendas (TAKEUCHI et al., 2000). Porém, possuem solubilidade limitada em água, assim estratégias precisam ser levantadas para usá-los como soluções de lavagem.

Dessa maneira, as MEs surgem como veículo composto por mistura de óleo, surfactantes, co-surfactantes e água que tem poder de minimizar energia livre de um sistema, sendo termodinamicamente estáveis (LAWRENCE; REES, 2000). Sendo a transparência, a presença de surfactantes, que podem diminuir as tensões interfaciais, aumentar a molhabilidade das soluções desinfetantes em superfícies de produtos hidrofóbicos, podendo assim ser usados para dissolver óleos essenciais (CHOI et al., 2002), e estas características de estabilidade são os motivos para considerá-las pretendentes para a elaboração de soluções de higienização à base

de OE, melhorando as propriedades umectantes.

3.8.2 Área Médica

Recentemente MEs para fornecer medicamentos para uso tópico, como zaltoprofeno, zidovudina, sertaconazol, resveratrol e curcumina vem sendo amplamente utilizadas (MISHRA; PRABHAVALKAR; BHATT, 2016). Isto acontece devido à grande parte dos compostos medicamentosos, como exemplo a quercetina, que apresenta diversas propriedades anti-inflamatórias, antibacteriana, antiviral entre outras (HATAHET et al., 2016), além de ser antioxidante e auxiliar na prevenção do envelhecimento e clareamento da pele com atividade rejuvenescedora (CHO, 2014), possuem algumas limitações, como a baixa solubilidade em água, pouca permeabilidade na pele e instabilidade sob a luz, pH e temperatura (FRIEDMAN; JURGENS, 2000). O encapsulamento com MEs apresenta-se como uma estratégia para a formulação dos compostos, já que conseguem aumentar os efeitos terapêuticos e a permeabilização das drogas até a epiderme, melhorar a solubilização em água, e traz estabilidade ao fármaco instável (KITAGAWA et al., 2009; CENSI et al., 2012).

O estudo de microemulsões contendo óleo essencial com finalidade de aplicação tópica também tem ganhado espaço nas pesquisas de cientistas (HERMAN; HERMAN, 2015). Isto se deve ao fato de que OEs, como de hortelã-pimenta, de cravo e de alecrim, tem muitas atividades biológicas, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antibacterianas, antifúngicas e antivirais, sendo amplamente utilizadas nas indústrias de cosméticos, farmacêutica, medicinal e alimentícia (SHEN; LI, 2007; RIACHI; DE MARIA, 2014; FU et al., 2007). Outro benefício é a diminuição de irritações sob a pele, devido à composição de terpenos (FOX et al., 2011). Com isso, a viabilização da quercetina combinada ao uso de OE, encapsulada por MEs não ajuda somente no aperfeiçoamento da solubilidade e estabilidade, como também evolui a permeabilidade dos componentes na pele, fortificando e protegendo a mesma.

Outro segmento importante a ser discutido são os benefícios do óleo essencial não somente à pele, mas também como agentes conservantes e anti-infecciosos, por serem misturas de compostos voláteis, lipofílicos e de baixo peso molecular (LEYVA-LOPEZ et al., 2017; KOKOSKA et al., 2018). Outro fator é a comprovação de serem eficazes como antimicrobianos. Segundo Lang e Buchbauer (2012) o uso de pesquisas recentes mostram afinidades antifúngicas e antibacterianas, inclusive alguns OEs resultaram ativos contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas. Devido sua característica hidrofóbica, o OE pode romper

estruturas microbianas determinando vazamento de íons e organelas internas (MIRANDA-NOVALES; SOLO, 2012).

No entanto, por causa das particularidades dos óleos essenciais, em relação a questões físico-químicas, instabilidade, volatilidade, pouca solubilidade, meia-vida rápida e, sobretudo degradação térmica, tornam-se mais limitados quanto as suas aplicações. Por isso, uma forma de regredir essas limitações é encapsulamento do OE em formulações adequadas (BILIA et al., 2014). Este pode ser feito através de ferramentas como as MEs, convenientes não somente pela facilidade de preparação, mas também em relação à produção industrial e as suas vantagens de estabilidade em longo prazo, aumento de solubilidade, biodisponibilidade de ingredientes ativos, liberação sustentada, uniformidade e dispersão adequadas.

Estudos apontam o OE como agente antimicrobiano natural e que se potencializam ao serem carregados por MEs (CAMPANA et al. 2017), principalmente em razão da estrutura molecular das microemulsões, que conseguem romper a membrana citoplasmática das estruturas internas das células (AL-ADHAM et al., 2013).

A indústria farmacêutica animal, principalmente nos últimos anos, que a tecnologia despontou tem sido fortemente influenciada por novas estratégias de mercado, sobretudo na qualidade dos produtos oferecidos e ao bem-estar dos animais (MARTIN; KADOKAWA, 2006; SALLES, 2008). O uso indiscriminado compromete não somente a eficácia, mas elevam os valores dos tratamentos e podem causar acúmulo de substâncias nos tecidos dos mesmos comprometendo o seu consumo (FREITAS FILHO et al., 2012), fomentando reações alérgicas e quadros severos de intoxicação, culminando para o uso de antibióticos que podem acarretar em resistência bacteriana a determinados fármacos (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000).

Assim é essencial aperfeiçoar os fármacos já existentes e criar novas técnicas e formulações que sejam mais eficazes nos tratamentos veterinários. É nesta linha de raciocínio que surgem as emulsões e microemulsões com o papel de potencializar o efeito dos fármacos, através de uma liberação controlada ao promover otimização de resultados no mesmo local de ação, e melhorar sua biodisponibilidade, ao diminuir o risco de toxicidade e facilitar a sua administração (FREITAS FILHO et al., 2012).

As razões fundamentais para o uso de MEs no sistema de saúde veterinário são as possibilidades de proporcionar um tratamento menos estressante ao animal, com baixo custo de produção, assim como reduzir a concentração de princípios ativos na formulação, o que torna os medicamentos mais aptos e seguros tanto para os animais, como para o ser humano. (ROTHEN-WEINHOLD et al., 2000).

3.8.3 Área Alimentícia

No âmbito alimentício, o encapsulamento surge como uma tecnologia impactante no sabor dos alimentos e na sua conservação, já que o óleo essencial possui um sabor próprio característico, que resulta em pouca aceitação dos produtos aos quais são adicionados. Além de que representa uma rápida volatilização dos seus componentes. Dessa forma, o microencapsulamento aparece como mediador desses efeitos ao mascarar o sabor dos alimentos e evitar a volatilização dos componentes do OE (CHAR et al., 2015; NIU et al., 2016). Outras contribuições das MEs na ciência alimentar se dão na busca por alta resistência as condições de processamento, estabilidade e manutenção da qualidade e armazenamento das propriedades dos produtos alimentícios (VELÁZQUEZ-CONTRERAS et al., 2014).

Como exemplo, pode-se citar o uso do óleo essencial da casca de laranja, muito aplicado no ramo alimentício, devido ao seu aroma e baixo custo. No entanto limita-se aos alimentos pela sua baixa solubilidade aquosa, bem como estabilidade no decorrer do seu processamento e armazenamento, corroborando em mudanças sensoriais do mesmo e dos produtos que o contem (ASHURST, 1999). Dessa forma, o uso de MEs se adequam neste caso, como método de aprisionamento do óleo essencial dentro da camada protetora de materiais de revestimento, a fim de aumentar a estabilidade e a possibilidade do uso em formulações aquosas (FENG et al., 2009). Sendo o surfactante, um dos componentes formadores de MEs, um grande aliado nos sistemas, devido à formação de uma monocamada entre as partes polares e apolares, que podem ser utilizadas para encapsular diferentes compostos (RAJIB; BIDYUT, 2005), oferecendo melhor sabor e biodisponibilidade ao produto, o que se apresenta como vantajoso em relação às microemulsões, que não possuem estas propriedades (GARTI, 2003).

3.9 Teste de estabilidade

Apesar das microemulsões serem sistemas termodinamicamente estáveis, as propriedades físico-químicas dos componentes de uma determinada formulação, como exemplo, os óleos essenciais encapsulados nas MEs, influenciam no processo de obtenção e na estabilidade do sistema, podendo se manifestar através de diversos fenômenos, como cremeação ou sedimentação, floculação e coalescência (afinamento da ruptura do filme entre as gotículas) (TOPAN, 2012).

Como são amplamente utilizadas na incorporação de fármacos e ativos cosméticos, precisa está estável, o que torna a avaliação da sua estabilidade um fator fundamental (ZANON, 2010).

A estabilidade pode ser definida como a amplitude na qual um produto conserva suas mesmas características, que possuía no momento da sua fabricação, durante seu período de armazenamento e uso, ou seja, dentro de limites especificados. Um dos fatores que acarretam em instabilidade de emulsões são as reações de oxidação, que provocam alterações do odor e principalmente aparência do produto, podendo ser causada pelo oxigênio atmosférico ou ainda pela ação de microrganismos, especialmente na fase oleosa (ZANON, 2010).

Um aspecto relevante é saber reconhecer o mecanismo que tem causado a degradação, já que o método para cada situação se torna diferente. Essas alterações variam desde fatores externos em que o produto está exposto como, por exemplo, temperatura, luz, oxigênio, umidade, material de acondicionamento e microrganismos e a fatores intrínsecos, os quais estão relacionados à natureza das formulações, tais como, incompatibilidade física e incompatibilidade química (ZANON, 2010).

Medidas simples como adição de conservantes em formulações pode evitar a deterioração e aumentar o tempo de vida do produto garantido estabilidade ao mesmo (LACHMAN; LIEDERMAN; KANIG, 2001).

Os testes de estabilidade são realizados com objetivo de avaliar a capacidade de um produto em se manter com aspecto original, mantendo características físicas, químicas e microbiológicas, mesmo quando colocados a condições de estresse. Esses tipos de testes podem fornecer antecipadamente a indicação de problemas que poderão ocorrer nas formulações. E podem ser realizados por etapas, para auxiliar na seleção de produtos, compostos e formulações eficientes (MORAIS, 2006).

O teste de estresse térmico é um exemplo de estabilidade acelerada e utiliza a temperatura e o tempo como mediadores da qualidade de um fármaco ou produto. Nele observa-se, se o envelhecimento do produto altera sua composição, viscosidade e interfere na sua estabilidade (MORAIS, 2006).

3.9.1 Fatores que afetam a estabilidade

São diversos os fatores que alteram as condições de estabilidade de formulações, porém para este estudo as principais a serem abordadas são a temperatura, que pode afetar a estabilidade através do aumento da velocidade de uma reação, ocasionando assim alterações na atividade de componentes, viscosidade, aspecto, cor e odor do produto. No entanto, baixas temperaturas aceleram possíveis alterações físicas como precipitação, cristalização e turvação. Mas essa influência pode ser reduzida pela correta seleção da forma de armazenamento, seja à temperatura ambiente, sob refrigeração ou sob congelamento (BRASIL, 2004; THOMPSON, 2006). E a luz que pode gerar energia de ativação necessária para gerar uma reação de degradação, sendo minimizada adicionando recipientes resistentes à luz, opacos ou escuros (BRASIL, 2004; THOMPSON, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local da pesquisa

Tanto a coleta da *Pectis brevipedunculata* quanto a preparação das microemulsões e testes de estabilidade foram realizados na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Campus Bacanga, na cidade de São Luís – MA. O manuseio e os testes de estabilização ocorreram nos Laboratórios de Petróleo e da Central Analítica do Programa de Pós-graduação em Química, sendo este último o responsável pelas medições da degradação dos compostos.

4.2 Equipamentos utilizados

Para a pesagem das amostras foi utilizada uma balança semi-analítica de precisão, 10^{-3} g, modelo BL320H, marca Shimadzu, com capacidade de 320g e temperatura de operação variando entre 5°C à 40°C (Figura 6).

Figura 6 - Balança semi-analítica, utilizada na pesagem das amostras.



Fonte: Loja Synth (2020).

Utilizou-se também, duas estufas incubadoras B.O.D (Figura 7), medindo 30°C e 60°C, modelo SP-500, da marca SPLabor, com a finalidade de armazenar as caixas com as amostras formuladas e analisar a degradação da luz e temperatura incidentes sobre as mesmas.

Figura 7- Estufa incubadora B.O.D, utilizada na análise de degradação das amostras.



Fonte: Splabor (2021).

Um cromatógrafo líquido de alta eficiência– HPLC com detector PDA, mostrado na Figura 8, cujas especificações são apresentadas na Tabela 1, foi empregado para o estudo da degradação e análise de microemulsão com OE. As análises de cromatografia foram realizadas no Laboratório da Central Analítica do Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão- UFMA.

Tabela 1 - Especificações e característica do HPLC-PDA utilizado nas análises.

Modelo	LC20AT
Marca	Shimadzu
Detector	PDA (SPA-10A)
Coluna	Coluna Kinetex C-18, da marca phenomenex, com 50 mm de comprimento, 2,10 mm de diâmetro interno, com partículas de 2,60 µm.

Fonte: Elaborada pela autora.

O perfil cromatográfico das amostras foi obtido através de um HPLC-PDA, com o comprimento de onda de 234 nm, e um tempo de corrida de 15 minutos. A solução foi injetada diretamente no HPLC-PDA, para evitar perdas dos marcadores, já que a amostra era limpa. O fluxo de injeção foi de 1mL/minuto, e o volume de injeção da amostra foi de 10 µL. A solução que foi injetada foi pesada 5 mg da formulação e diluído em 1mL de metanol/HPLC. Empregou-se o método gradiente, no qual os solventes foram água e metanol. Iniciou-se com 70% de metanol até atingir 100%, em um período de 0 a 15 minutos. A água correspondeu a 30%. O cromatograma foi gerado pelo software LC Solutions.

Figura 8 - Cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo LC20AT.



Fonte: BaraScientific (2020).

4.3 Análises, métodos e procedimentos experimentais

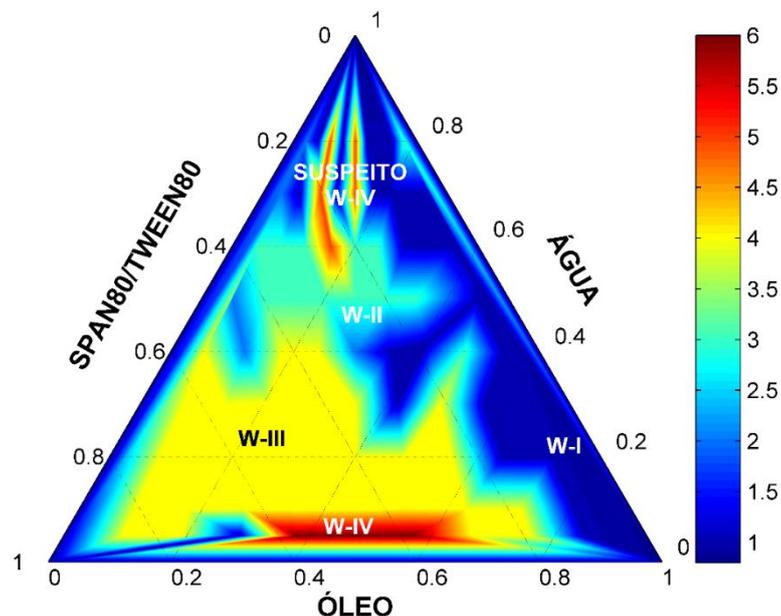
4.3.1 Preparação da microemulsão e seleção da melhor formulação

O trabalho teve como principal aspecto o sinergismo entre a criação de uma microemulsão e sua capacidade de proteção quando inserido uma pequena quantidade de óleo essencial. Assim, para fins de entendimento serão descritas duas etapas de preparação que convergirão, nas quais, foram delimitadas as principais atividades realizadas na execução dos objetivos propostos.

Para esta fase foram utilizados como reagentes o óleo de coco babaçu (Boa vista, Itapecuru), surfactantes Span 80 ou Monoleato de Sorbitan, (Sigma- Aldrich®, Brasil), e Tween 80 (Vertec®, São Paulo), álcool etílico (Quimex®, São Paulo) como co-surfactante e água destilada representando a fase aquosa.

Uma vez conhecidos os componentes e seus respectivos valores de equilíbrio hidrofílico-lipofílico ou EHL, calculou-se o ponto EHL de 8 como start para a construção do diagrama ternário, utilizando como surfactantes a mistura na proporção 50/50 de Twen 80 e Span 80.

Figura 9 – Diagrama ternário de fases para o óleo de coco babaçu, água e surfactante.



Fonte: Elaborada pela autora.

Na Figura 9, de todas as proporções avaliadas, a que obteve melhor característica de ME foi a proporção óleo:surfactante:água, 7:3:1, identificada por W-IV. Apesar da proporção já apresentar propriedades de Mês, adicionou-se o álcool etílico, como co-surfactante, com a finalidade de aumentar sua área superficial e assegurar ainda mais um maior espectro de formação da microemulsão, além de promover a fluidificação do filme interfacial que é formado pelo surfactante, impossibilitando a elevação significativa da viscosidade do sistema (ALTRIA, 2002; KALAITZAKI et al., 2013).

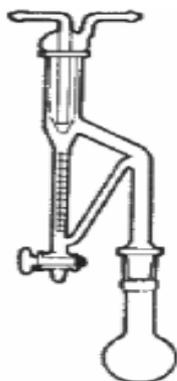
4.3.2 Obtenção do óleo essencial de *Pectis Brevipedunculata*

Na pesquisa foi utilizada a planta *Pectis brevipedunculata*, obtida no Campus Bacanga da Universidade Federal do Maranhão – UFMA. A coleta para este estudo ocorreu no mês de julho de 2020, na coordenada de S 2°33', 19.2" e W 44°18', 32.8". Para a identificação taxonômica, a planta foi submetida à análise no Herbário Rosa Mochel da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), com o seguinte número de tombo:5287. A obtenção do óleo essencial se deu no Laboratório de Química de Produtos Naturais.

As folhas foram amarradas em papelões e expostas à sombra para secagem durante 24 horas e, após iniciou-se a extração do OE pelo método de hidrodestilação (SERAFINI et al.,

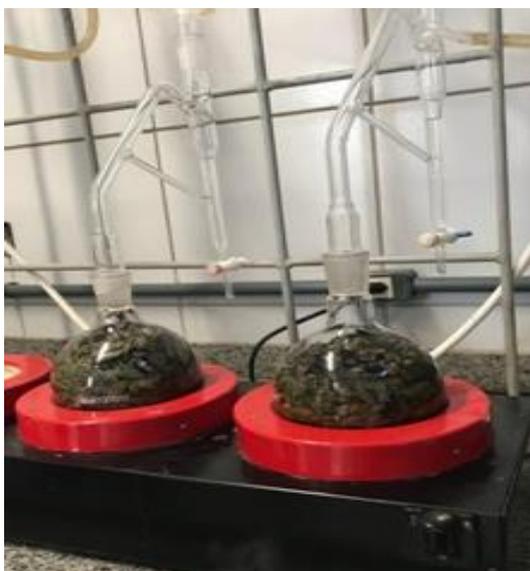
2002). O processo ocorreu, primeiramente, com a pesagem das folhas já secas e sua trituração. Em seguida, utilizaram-se dois balões volumétricos que foram preenchidos com 150g de folhas secas maceradas e 500 ml de água destilada. Para avaliar o rendimento do OE, a hidrodestilação foi acompanhada do uso do aparelho Clevenger, representado na Figura 10, por aproximadamente 2 horas e 30 minutos em uma temperatura média de 100° C. Após esta etapa, o óleo foi retirado do Clavenger e adicionou-se ao mesmo uma pitada de sulfato de sal anidro para retirada da água, sendo centrifugado logo após por 15 minutos. Em seguida, o material foi armazenado em ambiente refrigerado para conservação das suas propriedades. A Figura 11 demonstra o processo de hidrodestilação realizado.

Figura 10 - Representação do parelho Clevenger.



Fonte: Boone (2011).

Figura 11- Procedimento de hidrodestilação utilizado para a extração do OE.



Fonte: Registrada pela autora.

4.3.3 Encapsulamento do óleo essencial no sistema micremulsionado

Para o encapsulamento foram avaliadas três concentrações do óleo essencial, 5%, 10% e 20% em relação ao óleo de coco babaçu, cuja a maior concentração mostrou-se melhor para o estudo, uma vez que se apresentou com características de MEs. Descritas as etapas anteriores, procedeu-se com a incorporação do óleo essencial na microemulsão selecionada (proporção 7:3:1 óleo:surfactante:água) com concentração de 20% do óleo essencial na fase oleosa. A Tabela 2 mostra os valores das massas dos reagentes formulados na formação do sistema microemulsionado com OE adicionado.

Tabela 2 – Quantidade de reagentes em massa usados para formulação da ME com OE.

Span 80 (g)	Tween (g)	Óleo babaçu (g)	Óleo essencial (g)	Água deionizada (g)	Etanol (g)
2,454	1,060	1,2128	0,3032	0,264	0,264

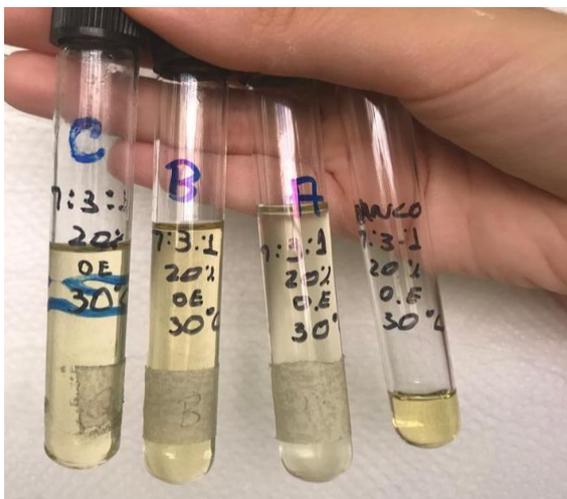
Fonte: Elaborada pela autora.

Apesar da ordem de adição dos componentes não afetar o resultado final de formação, cada reagente foi inserido em um tubo de ensaio, através de uma pipeta de Pasteur, conforme sequência disposta na tabela acima. As MEs serão sempre idênticas em qualquer distribuição dos seus compostos, especialmente após o tempo de equilíbrio. Este fator é essencial para que haja um teste preliminar para caracterizar a natureza da dispersão obtida (ANTON; VANDAMME, 2010).

Após a adição dos reagentes, o tubo de ensaio foi agitado manualmente para que ocorresse a mistura dos reagentes envolvidos, até a obtenção de uma fase homogênea visual.

Em seguida, a microemulsão foi armazenada em local com pouca incidência de luz, calor e umidade para garantir sua qualidade até a realização dos testes de estabilidade. A formulação das MEs foi realizada em triplicatas. Além disso, também se analisou o óleo puro. Foram utilizadas as temperaturas de 30°C e 60°C para a análise da estabilidade. As Figuras 12 e 13 mostram a organização dos tubos utilizados na preparação das microemulsões para as duas temperaturas avaliadas.

Figura 12- Representação da triplicata dos tubos de ensaio com a microemulsão com a proporção 7:3:1 (óleo:surfactante:água) e o óleo essencial puro, para a temperatura de 30°C.



Fonte: Registrada pela autora.

Figura 13- Representação da triplicata dos tubos de ensaio com a microemulsão com a proporção 7:3:1(óleo:surfactante:água) e o óleo essencial puro, para a temperatura de 60°C.



Fonte: Registrada pela autora.

4.3.4 Teste da estabilidade da ME para a formulação

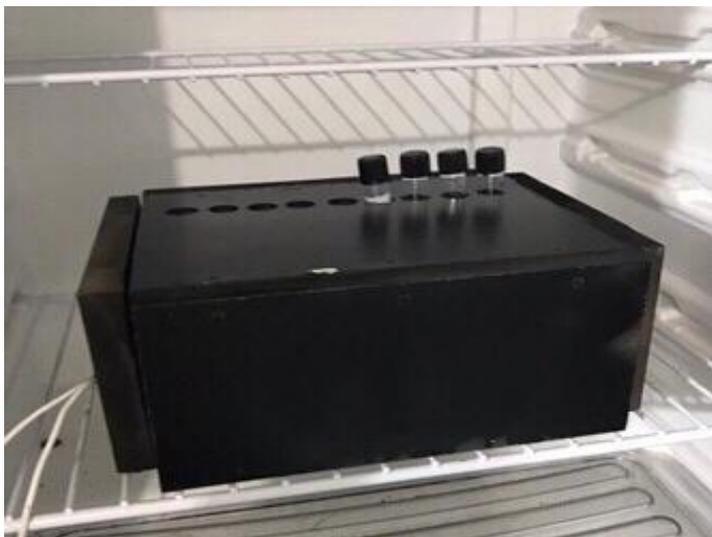
Os testes de estabilidade são responsáveis por fazer uma avaliação eficaz da capacidade de um produto em manter seu aspecto original, ou seja, suas características físicas, químicas e microbiológicas. Precisam ser realizados em condições específicas e controlados de acordo com o objetivo da análise, fornecendo indicações de problemas e acertos relacionados à formulação (MORAIS, 2006). Aqui, se buscou avaliar a resistência do óleo essencial na ME quanto à degradação do composto por meio da incidência de luz negra e

temperatura máxima e mínima.

Para o teste foram construídas duas caixas pretas, na qual foi acoplada uma luz negra fluorescente (26 W, 1300 lm, Taschibra, Brasil) no seu interior, e as amostras de MEs ficaram isoladas do ambiente externo e sob a influência desta luz. As caixas e as amostras em tubos de ensaio, já inseridas, foram armazenadas dentro de estufas. Uma caixa foi armazenada em uma estufa com temperatura de 60°C e a outra guardada em outra estufa com temperatura de 30°C, com o intuito de analisar a estabilidade quanto às temperaturas utilizadas nas estufas.

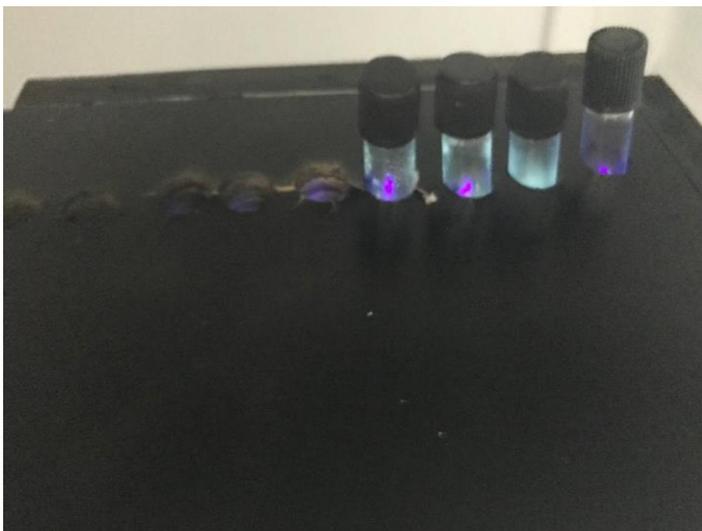
É importante ressaltar que no primeiro dia de formulação do composto, os mesmos foram submetidos aos testes no HPLC-PDA para o registro da medição inicial. Após, as amostras foram levadas para as caixas e para suas estufas, onde passaram por seis análises de medição realizadas a cada seis dias. As Figuras 14 e 15 apresentam a caixa preta utilizada para o teste e a representação do ensaio com incidência da luz negra, respectivamente, que permite observar a degradação quanto à luminosidade.

Figura 14 – Caixa preta com luz negra acoplada para analisar teste de degradação por luz.



Fonte: Registrada pela autora.

Figura 15 – Representação do método empregado para analisara incidência de luz negra.



Fonte: Registrada pela autora.

4.3.5 Medida da condutividade na microemulsão

Para cada sistema que apresentou formação de ME calculou-se a condutividade elétrica empregando um condutímetro acoplado a uma célula de condutividade. A medição foi realizada na temperatura ambiente (ROOHINEJAD et al., 2015).

4.4 Análise estatística e modelagem matemática

No estudo, as abordagens estatísticas foram realizadas empregando o software Statgraphics 19 (*Statgraphics Technologies, Inc.*) e as avaliações matemáticas foram realizadas através das funções do programa Matlab® R2020b (*The Mathworks Inc., Natick, MA, USA*).

Na análise estatística, a análise de variância entre as médias de grupos e intergrupos foram abordadas com um $\alpha = 95\%$. Além disso, foi realizada uma análise de variância para determinar a significância dos termos ($p < 0,05$) empregando modelos de regressão múltipla.

Uma vez avaliada a interação e a significância entre variáveis para cada resposta, foi realizada a modelagem matemática para cada resposta usando o método “passo a passo” ou “*stepwise regression*”, através da função “*stepwisefit*”, usando a melhor combinação dos fatores com base na adição ou exclusão de termos para estabelecer um modelo, sendo avaliados a partir de um teste de significância ($p < 0,05$) (CEVIK, 2007). Assim, o modelo estabelecido pelo método “passo a passo” compreende o conjunto de indicadores que têm um importante efeito sobre as variáveis dependentes e que melhor explica a resposta, de acordo com as

interações que devem ser consideradas (CHEN et al, 2013; GOODENOUGH; HART; STAFFORD, 2012).

Na validação estatística da modelagem e simulação foi empregado o coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}), Equação 1, e o erro médio relativo (MRE), Equação 2. O R^2_{adj} determina a eficiência dos modelos propostos frente à variação dos dados. Já o parâmetro estatístico MRE é um critério que avalia a precisão das estimativas. Um modelo com um MRE menor que 10% é considerado como um modelo com boa precisão (CASTELL-PALOU et al, 2012).

$$R^2_{adj} = 1 - (1 - R^2) \frac{n-1}{n-m} \quad (1)$$

$$MRE = \frac{100}{n} \sum_{k=1}^n \frac{|y_k - y_k^*|}{y_k^*} \quad (2)$$

Onde nas Equações (1) e (2), y representa os valores experimentais; y^* representa os valores calculados; \bar{y} é a média dos valores experimentais e n é o número de valores experimentais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A apresentação e discussão dos resultados foram divididas em caracterização do sistema microemulsionado, caracterização por difusão química e caracterização por condutividade elétrica, etapas referentes à formação da microemulsão e suas características próprias. Avaliou-se também a parte referente à análise de degradação das MEs empregando a técnica de HPLC-PDA e o estudo da estabilidade da mesma em relação a sua exposição à luz negra e a diferentes temperaturas (30°C e 60°C), juntamente com estudo estatístico para avaliar mais precisamente os resultados obtidos. Os dois processos são responsáveis pela garantia de qualidade, possuindo como intuito avaliar a resistência do óleo essencial na ME e sua aplicação na área farmacológica.

5.1 Caracterização do sistema microemulsionado

Dos sistemas estudados previamente, o que se mostrou mais eficiente para a formulação de uma microemulsão foi o 7:3:1, representando respectivamente, óleo, surfactante e água, em fase O/W, com características W-IV, típicos de sistemas microemulsionados, translúcidos e estáveis termodinamicamente, de acordo com a classificação de Winsor. Segundo Tan et al. (2011), este sistema é fundamental, sobretudo ao adicionar o co-surfactante, que provoca uma diminuição do HBL dos surfactantes e ajuste da conformação geométrica do mesmo na interface para facilitar a formação da ME. A Tabela 3, mostra os valores das proporções (p/p) utilizadas no sistema microemulsionado 7:3:1.

Tabela 3 – Relação dos pesos dos componentes do sistema microemulsionado 7:3:1 (óleo:surfactante:água) determinado por estudo prévio do diagrama ternário de fases

Proporção	Span 80 (g)	Tween 80 (g)	Óleo babaçu (g)	Água deionizada (g)	Etanol (g)
7:3:1	2,454	1,060	1,516	0,264	0,264

Fonte: Elaborada pela autora.

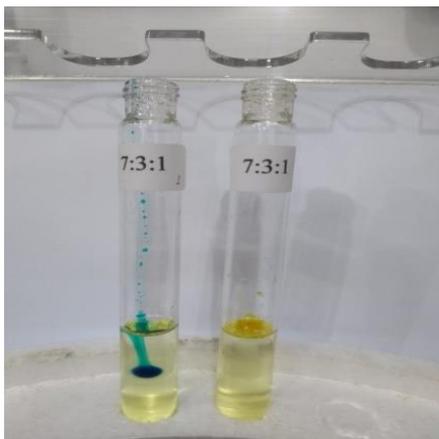
5.2 Caracterização por difusão química

Nesta caracterização utilizou-se o critério descrito por Roohinejad et al. (2015) com modificações. Neste, o corante hidrofílico, azul de metileno, e o corante lipofílico, curcumina,

foram adicionados aos sistemas que apresentaram formação de ME (sistema homogêneo e translúcido), com a finalidade de identificar se a ME pode ser considerada W/O ou O/A. Assim, se o azul de metileno se difundir rapidamente considera-se ME tipo O/W ou, se a curcumina difundir-se rapidamente, indica-se uma ME tipo W/O. No entanto é preciso destacar que a utilização deste método não indica com veracidade o tipo de ME, já que elas podem ter características bicontínuas ou até mesmo de outras estruturas.

No experimento foi possível analisar que a proporção 7:3:1 tornou-se nitidamente uma microemulsão, e já apresentou transparência adequada às condições de caracterização do sistema. Com o intuito de saber se essas proporções representavam sistemas O/W ou W/O foram utilizados o azul de metileno e a cúrcuma, sendo que os resultados podem ser observados na Figura 16.

Figura 16 - Estudos de difusão química no sistema 7:3:1 (óleo:surfactante:água) microemulsionado obtido no diagrama ternário de fases.



Fonte: Registrada pela autora.

Foi possível analisar pela figura que o azul de metileno se difundiu mais rápido que a cúrcuma, apresentando assim uma maior difusão do soluto aquoso. A difusão do azul de metileno se deve pelo fato deste ser um composto aromático heterocíclico e solúvel em água (MENDONÇA; BICA; PIATNICKI, 2003; MENDONÇA et al., 2009). Todavia é preciso destacar que isto não indica que a mesma seja uma ME O/W, podendo ser bicontínua ou de outros tipos de estrutura, pois somente o uso do instrumento SAXS (espalhamento de raios-X a baixo ângulo) que pode comprovar fielmente o tipo estrutural de microemulsão. Isto se deve ao fato de que o mesmo emprega técnicas analíticas e não destrutivas para analisar a forma e o tamanho de partículas pequenas não vistas a olho nu analisando a forma com que a radiação é espalhada pelo objeto.

5.3 Caracterização por condutividade elétrica

A medição da condutividade elétrica de uma microemulsão tem como objetivo fazer análise estrutural de uma ME, permitindo diferenciar as microemulsões do tipo gotícula bicontínua e do tipo solução, para indicar se o sistema microemulsionado se trata do tipo O/W ou W/O. Sabe-se que a microemulsão O/W (tipo gotícula) possui uma condutividade mais baixa, enquanto as ME W/O apresentam maior condutividade (tipo bicontínuas) (NAOUI et al., 2011). Assim, valores de 0,05 até 0,29 $\mu\text{S}/\text{cm}$ apresentam-se dentro dos valores da literatura estabelecidos para caracterizar uma microemulsão como sendo do tipo O/W (DAS et al., 2012). No entanto é importante frisar que em um sistema pressuposto, como é no caso deste estudo, somente a medição de condutividade não garante certeza na estrutura das MEs. A Tabela 4 demonstra o valor de condutividade obtido.

Tabela 4 – Condutividade do sistema 7:3:1(óleo:surfactante:água) microemulsionado encontrado no diagrama ternário de fases.

Proporção	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
7:3:1	0,06

Fonte: Elaborada pela autora.

Como pode se observar, o valor de condutividade da proporção 7:3:1 foi de 0,06 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dentro, portanto da faixa para microemulsão, sugerindo característica de difusão em sistema aquoso. Entretanto, reforça-se que esta característica é apenas uma hipótese, sendo necessários estudos com equipamento SAXS (espalhamento de raios-X a baixo ângulo), para afirmar com veracidade afirmações a respeito da estrutura das MEs, devido ao mesmo permitir o acompanhamento das mudanças morfológicas e estruturais em escala nanométrica, podendo ser correlacionadas às transições de fase do sistema, em função dos seguintes parâmetros: tamanho das partículas, forma, distribuição, razão entre a área e o volume (BRAS et al., 1995; RYAN, 1993).

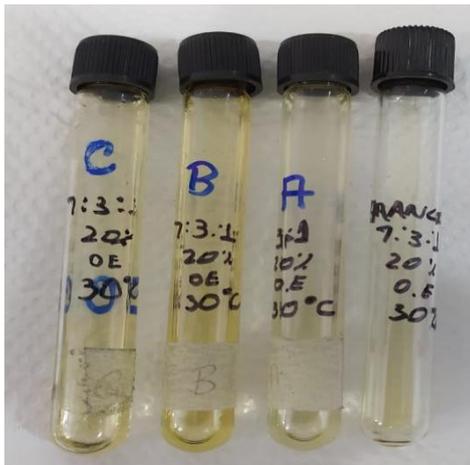
5.4 Teste da estabilidade da ME quanto a incidência da luz ultravioleta e diferentes temperaturas

A análise da estabilidade foi realizada seis vezes num intervalo de 6 dias. Ou seja, a cada seis dias as amostras eram injetadas no HPLC-PDA e submetidas novamente à incidência

de luz negra e temperaturas de 60°C e 30°C, com a finalidade de obter o nível de degradação e resistência das mesmas.

A Figura 17 demonstra como as microemulsões se comportaram no decorrer das análises. Verificou-se que no primeiro dia não ocorreu nenhuma mudança. Dessa forma utilizaram-se imagens para comparação a partir da segunda análise.

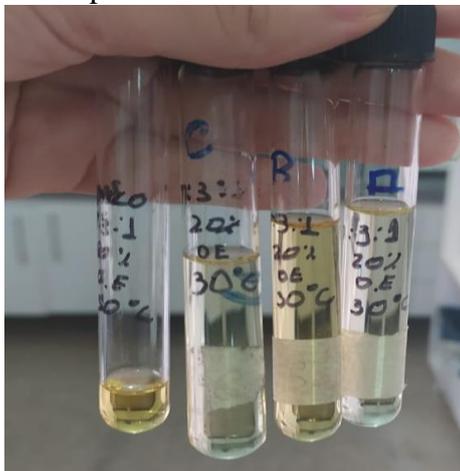
Figura 17- Comportamento das microemulsões ao longo das análises.



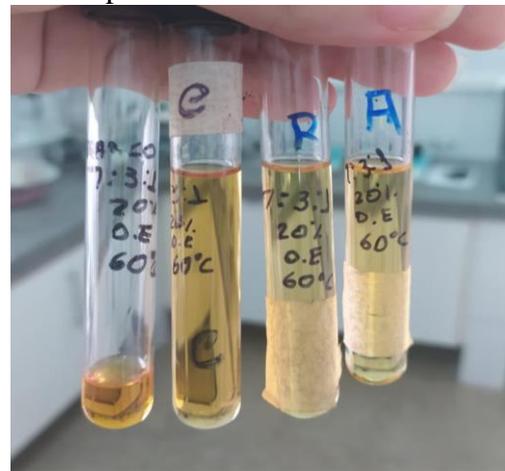
a) Amostras da 2ª análise para temperatura de 30°C



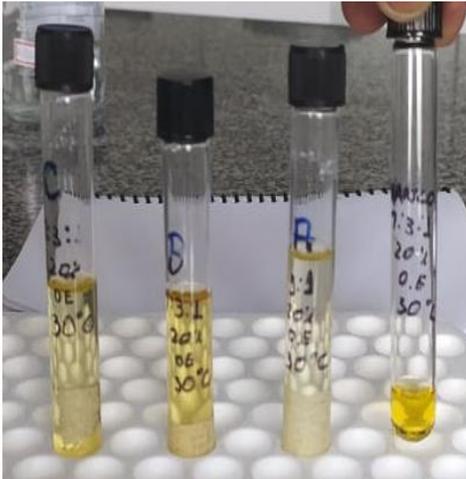
b) Amostras da 2ª análise para temperatura de 60°C



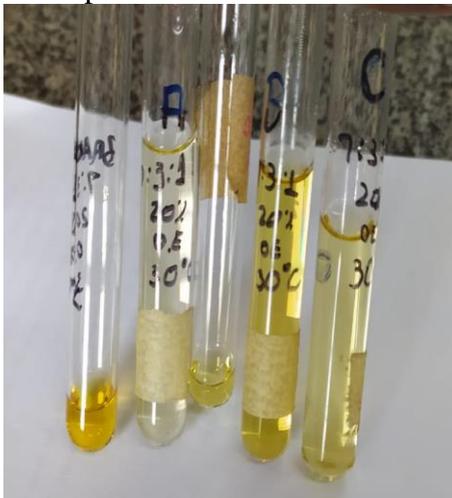
c) Amostras da 3ª análise para temperatura de 30°C



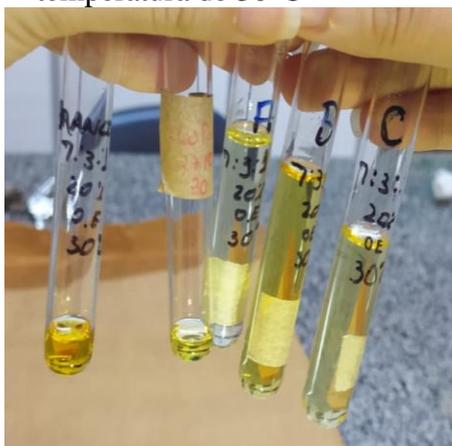
d) Amostras da 3ª análise para temperatura de 60°C



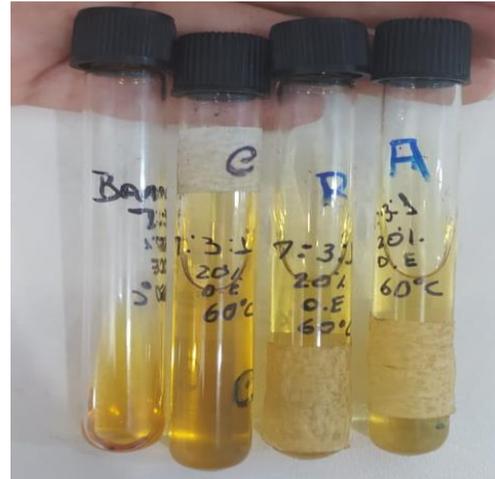
e) Amostras da 4ª análise para temperatura de 30°C



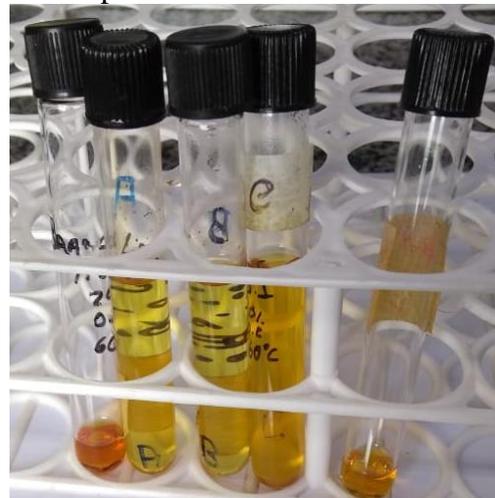
g) Amostras da 5ª análise para temperatura de 30°C



i) Amostras da 6ª análise para temperatura de 30°C



f) Amostras da 4ª análise para temperatura de 60°C



h) Amostras da 5ª análise para temperatura de 60°C



j) Amostras da 6ª análise para temperatura de 60°C

Como se observou na Figura 17, as microemulsões sofreram ação da temperatura utilizada. Verifica-se o escurecimento da coloração das amostras com o passar dos dias das análises, sobretudo as que foram submetidas à temperatura de 60°C. Dessa forma, compreende-se que quanto maior o estresse térmico, maiores alterações podem ser observadas. Segundo Brasil (2004) e Thompson (2006) isto ocorre porque a temperatura vai influenciar em um composto através do aumento da velocidade da reação, provocando mudanças dos componentes, viscosidade, cor, odor, entre outros. Esta intervenção pode ser alterada à medida que ocorre a correta seleção da forma de armazenamento, seja à temperatura ambiente, sob refrigeração ou através de congelamento.

No entanto, é preciso ressaltar que a luz também foi um meio de interferência no comportamento das microemulsões verificadas. De acordo com Brasil (2004) e Thompson (2006), a luz gera energia de ativação necessária para a ocorrência de reações de oxidação. Desta forma, visualiza-se a coloração mais escurecida, sendo até mesmo, em tonalidade mais alaranjada nas últimas análises, decorrentes de variações causadas pela incidência da luz negra utilizada. Este efeito pode ser diminuído acondicionando-se em recipientes resistentes à luz, que podem ser opacos ou escuros.

A Tabela 5 representa o resultado das áreas de pico, medidas em porcentagem, que demonstram o comportamento da estabilidade dos componentes microemulsionados e do OE da *Pectis brevipedunculata*. Pode-se identificar a formação de dois isômeros, Neral e Geranial, marcadores majoritários presentes no OE e na formulação da ME.

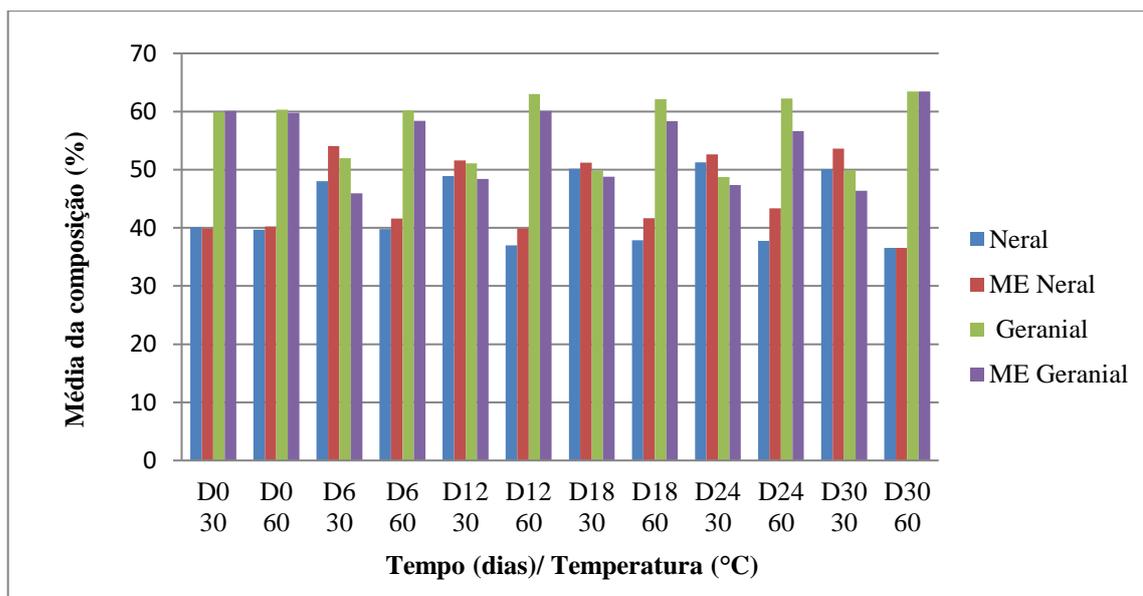
Tabela 5 - Resultados do estudo de estabilidade dos isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) da *Pectis brevipedunculata*.

Temperatura (°C)	Tempo (dia)	Neral (%)	ME Neral (%)	Geranial (%)	ME Geranial (%)
30	0	40,094±0,758	39,880±0,716	59,906±0,758	60,120±0,716
	6	48,035±0,026	54,081±0,437	51,965±0,026	45,919±0,437
	12	48,910±0,014	51,601±2,499	51,090±0,014	48,399±2,499
	18	50,170±1,321	51,215±1,759	49,830±1,321	48,785±1,759
	24	51,280±0,045	52,639±1,863	48,720±0,045	47,361±1,863
	30	50,101±0,152	53,625±0,888	49,899±0,152	46,375±0,888
60	0	39,666±0,770	40,207±0,508	60,334±0,770	59,793±0,508
	6	39,813±0,070	41,577±0,458	60,187±0,070	58,423±0,458
	12	36,997±0,104	39,914±0,296	63,003±0,104	60,086±0,296
	18	37,861±1,030	41,681±1,304	62,139±1,030	58,319±1,304
	24	37,745±0,061	43,343±1,018	62,255±0,061	56,657±1,018
	30	36,567±0,226	36,567±0,226	63,433±0,226	63,433±0,226

Fonte: Elaborada pela autora.

A Figura 18 demonstra graficamente o comportamento dos componentes encontrados na Tabela 5, no OE e na ME, através da média da composição (%) em relação ao tempo (dias) e a temperatura (°C).

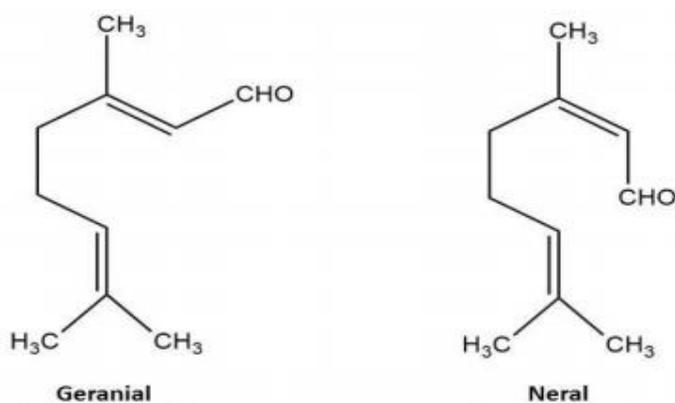
Figura 18- Comportamento gráfico dos isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) da *Pectis brevipedunculata*.



Fonte: Elaborada pela autora.

De acordo com os resultados observados na Figura 18 e na Tabela 5, verifica-se que os marcadores encontrados foram o Geranial (isômero trans) e o Neral (isômero cis), considerados assim, majoritários. A Figura 19 retrata a estrutura molecular dos isômeros encontrados nas análises.

Figura 19- Estruturas moleculares dos isômeros Geranial e Neral.



Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se através do comportamento gráfico que as microemulsões protegeram os compostos voláteis do óleo essencial, pois visualiza-se um aumento das áreas de pico na Tabela 5, funcionando assim como veículo encapsulador e protetor das características do mesmo.

Isto se deve a influência direta da temperatura nos isômeros que se interconvertem fazendo com que um aumente e o outro diminua dependendo do estresse térmico e da exposição a luz ao qual são submetidos, evidenciando estabilidade entre os mesmos adquirida pela proteção dos compostos voláteis do óleo pelo seu encapsulamento na microemulsão.

Pressupõe-se que a mudança na coloração das amostras, sugestivas de oxidação, observadas na Figura 17 estão relacionadas ao efeito do material de cobertura, o óleo de coco babaçu, que funciona como um protetor do princípio ativo do OE, e devido a isto, não são verificadas mudanças nos isômeros encontrados nas amostras. Porém é importante ressaltar que é necessário fazer outras pesquisas e testes adicionais para comprovar a hipótese.

A estabilidade é verificada nas formulações microemulsionadas, pois ao observar os resultados não há alterações significativas no comportamento das mesmas, seguindo o mesmo comportamento apresentado no OE, tanto em relação ao tempo quanto a temperatura. Apesar da mudança na coloração, as características e propriedades de uma ME são mantidas, como por exemplo, o sistema continua isotrópico, apresentam-se opticamente transparentes, com baixa viscosidade e estável termodinamicamente, como se analisou no gráfico (SILVA et al., 2015; SOUZA et al., 2017).

5.5 Resultados estatísticos do teste da estabilidade da ME quanto à incidência da luz ultravioleta e diferentes temperaturas

5.5.1 Tabela anova para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial)

A Tabela 6 representa a tabela ANOVA, que tem como objetivo realizar o teste estatístico para verificar se há diferença entre distribuição de uma medida entre três ou mais grupos. Este modelo estatístico divide a variação dos dados em dois componentes, o entre grupos, que representa a variação entre os quatro grupos existentes (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) e o intra grupos, que expressa a relação da variação da temperatura e dias dentro de um mesmo grupo.

Tabela 6 - Tabela ANOVA para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial).

Fonte	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	Fator F	Valor-P
Entre grupos	$4,091 \times 10^{19}$	3	$1,363 \times 10^{19}$	5,00	0,0025
Intra grupos	$3,822 \times 10^{20}$	140	$2,730 \times 10^{18}$		
Total	$4,231 \times 10^{20}$	143			

Fonte: Elaborada pela autora.

A análise de variância (ANOVA) foi usada para indicar quais termos são estatisticamente significativos e quais têm um positivo ou um negativo efeito sobre a estabilidade e comportamento das formulações, apontando os modelos que trazem maior precisão ao presente estudo.

Para determinar se a diferença entre as médias é estatisticamente significativa, é preciso avaliar e comparar o valor-*P* com seu nível de significância, e assim determinar a hipótese nula, a qual afirma que as médias populacionais são todas iguais. Adotou-se o nível padrão de significância, 0,05, que indica que o risco de se concluir que existe uma diferença, quando, na verdade, não existe nenhuma diferença real, é de 5%. Quando o valor-*P* é maior que o nível de significância, não há provas suficientes para rejeitar a hipótese nula de que as médias da população são todas iguais. Assim considera-se que as diferenças entre algumas das médias não são estatisticamente significativas. Para o valor-*P* menor, atribui-se que há diferenças entre algumas das médias e são estatisticamente significativas.

De acordo com os resultados estatísticos obtidos, verifica-se que o Fator F, que é representado pela razão dos quadrados médios, é igual a 4,9953, ou seja, aproximadamente 5,00. O valor-*P* do teste-F é 0,0025, ou seja, inferior a 0,05. Isto demonstra que não há hipótese nula, e nem todas as médias da população são iguais. Assim, há uma diferença estatisticamente significativa entre as médias entre grupos, que compara a variação entre os quatro grupos de isômeros existentes (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) com nível de confiança de 95,0%.

De acordo com Sodeifian, Sajadian e Ardestani (2017), os menores valores de *p* associados demonstram que os coeficientes correspondentes são mais significativos e também ilustram o melhor ajuste do modelo desenvolvido. Enquanto valores de quadrado médio apresentam o grau de precisão e confiabilidade dos experimentos.

5.5.2 Método da diferença mínima significativa de Fisher (LSD)

Para determinar quais médias são significativamente diferentes de outras, utilizou-se o procedimento de diferença mínima significativa de Fisher (LSD), no qual consiste em um risco de 5,0% em dizer que cada par de médias é significativamente diferente, quando a diferença real é igual a 0. As Tabelas 7 e 8 representam, respectivamente, as médias obtidas através do método de múltiplas faixas, e o comparativo entre as diferenças de significância entre os pares analisados.

Tabela 7 - Médias obtidas pelo método de múltiplas faixas LSD- Fisher ($\alpha=95\%$).

Amostras	Dados	Média	Grupos homogêneos
Neral	36	$3,889 \times 10^9$	X
ME Neral	36	$3,911 \times 10^9$	X
Geranial	36	$4,813 \times 10^9$	X
ME G	36	$5,085 \times 10^9$	X

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 8 - Comparativo das diferenças das médias de significância entre os pares analisados.

Comparativo	Sig.	Diferença	+/- Limites
Neral – ME Neral		$-2,201 \times 10^7$	$7,7 \times 10^8$
Neral – ME Geranial	*	$-1,195 \times 10^9$	$7,7 \times 10^8$
Neral – ME Geranial	*	$-9,234 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$
ME Neral – Geranial	*	$-1,173 \times 10^9$	$7,7 \times 10^8$
ME Neral – ME Geranial	*	$-9,014 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$
Geranial – ME Geranial		$-2,720 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$

* Indica que há diferença significativa entre os grupos.

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 7, identifica-se que a maior média relacionada a ME é referente ao composto Geranial, que se destacou e permaneceu mais presente, em relação ao componente Neral. O OE Geranial também teve maior média em comparação ao Neral, devido a ser mais frequente no princípio ativo do óleo.

Em relação à comparação da significância das médias, observa-se na Tabela 8 que para os pares com asterisco há uma diferença significativa entre as médias, com um nível de confiança de 95,0%, e todas são verificadas quando há comparação entre os componentes encontrados nas amostras, Geranial e Neral. Isso ocorre, pois as concentrações e características e até mesmo, a presença, de cada composto são distintas umas das outras. Carneiro et al. (2013)

destaca que há influências como, tamanho de partículas, e a concentração de um determinado composto na formulação, por exemplo, na qual o diâmetro médio das microemulsões está relacionado com o diâmetro médio da gotícula de emulsões de entrada, ou seja, microcápsulas com tamanho de partícula maior foram obtidas a partir de emulsões com tamanho de gota maior e maior viscosidade. Tudo isto modifica a interação desses componentes, gerando afinidades e quantidades diferentes dos mesmos em cada amostra, tanto de OE ou microemulsionada.

É importante ressaltar que através dos resultados obtidos, não há diferenças significativas ao comparar o OE com a ME de um mesmo componente majoritário, o que significa que ocorreu o esperado quanto à estabilidade dos mesmos, sendo OE, que possui características de volatilidade, mantendo-se estável na microemulsão.

5.5.3 Modelagem utilizando o método “Stepwise Fit Regression”

A Tabela 9 a seguir demonstra os resultados da modelagem utilizando o método “*stepwise fit regression*”. Nela são mostrados os parâmetros dos modelos de ajustes, como, valores dos coeficientes calculados, o valor-P, além do coeficiente de determinação adjacente (R^2_{adj}) e do erro relativo médio (MRE).

Tabela 9 – Parâmetros estimados para os modelos dos isômeros obtidos utilizando o método “*stepwise fit regression*”

Isômeros	Coefficiente	Valor do coeficiente	$p < 0,05$	R^2_{adj}	MRE (%)
Neral	<i>Intercepto</i>	40,463	---	0,968	1,868
	<i>t</i>	1,451	$4,365 \times 10^{-16}$		
	t^2	$-3,333 \times 10^{-2}$	$5,420 \times 10^{-11}$		
	$t \times T^2$	$-4,682 \times 10^{-4}$	$5,637 \times 10^{-16}$		
	$t^2 \times T^2$	$1,035 \times 10^{-5}$	$1,175 \times 10^{-9}$		
ME Neral	<i>Intercepto</i>	50,985	---	0,891	4,671
	<i>t</i>	0,632	$5,804 \times 10^{-6}$		
	<i>T</i>	-0,208	$2,168 \times 10^{-5}$		
	$t \times T^2$	$-3,745 \times 10^{-4}$	$3,886 \times 10^{-5}$		
Geranial	<i>Intercepto</i>	59,537	---	0,968	1,406
	<i>t</i>	-1,451	$4,365 \times 10^{-16}$		
	t^2	$3,333 \times 10^{-2}$	$5,420 \times 10^{-11}$		
	$t \times T^2$	$4,682 \times 10^{-4}$	$5,637 \times 10^{-16}$		
	$t^2 \times T^2$	$-1,035 \times 10^{-5}$	$1,175 \times 10^{-9}$		
ME Geranial	<i>Intercepto</i>	49,015	---	0,891	3,981
	<i>t</i>	-0,632	$5,804 \times 10^{-6}$		
	<i>T</i>	0,208	$2,168 \times 10^{-5}$		
	$t \times T^2$	$3,745 \times 10^{-4}$	$3,886 \times 10^{-5}$		

Fonte: Elaborada pela autora.

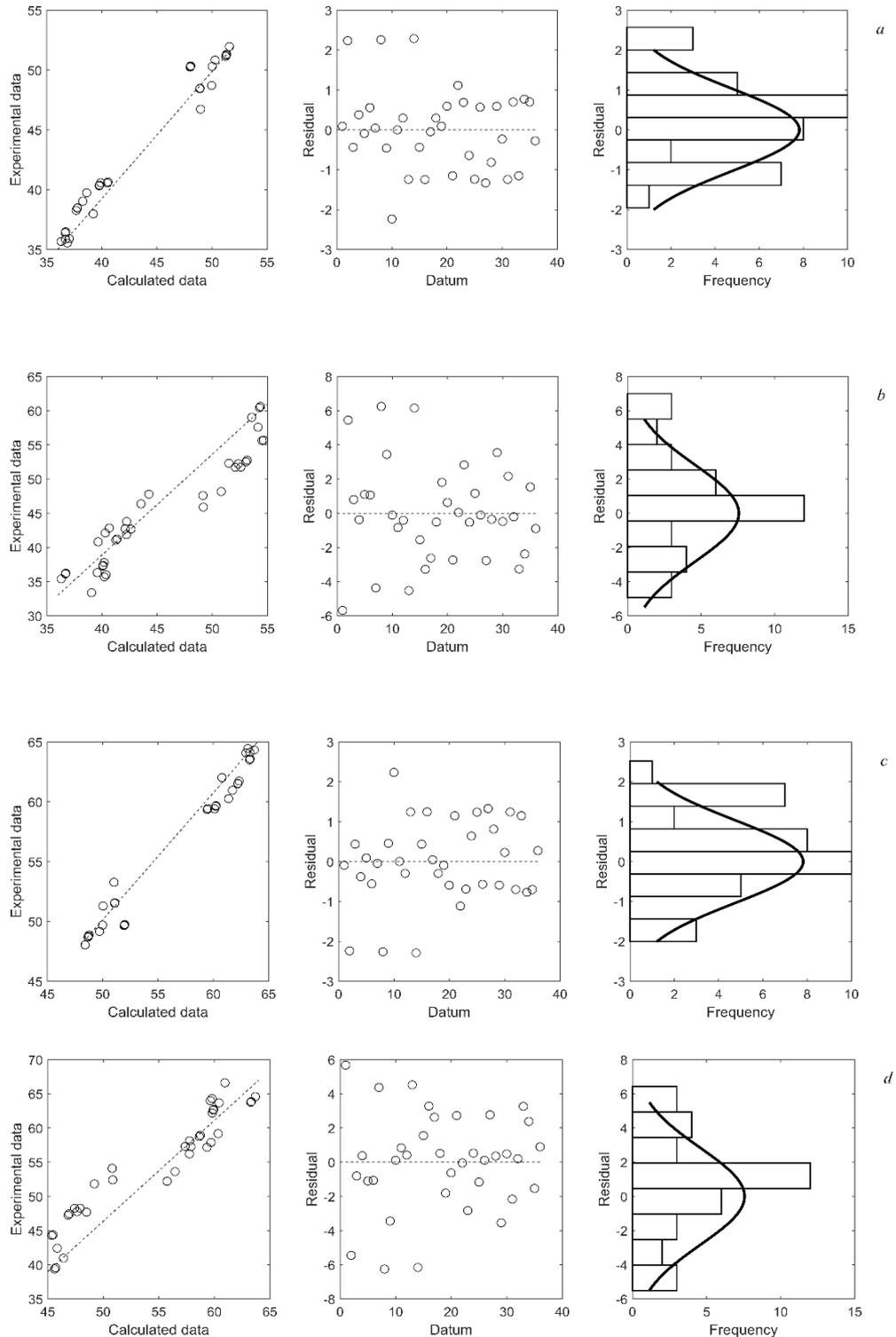
Sodeifian et al. (2017) demonstra que a qualidade do ajuste do modelo de regressão pode ser avaliada pelo valor estimado do coeficiente de determinação adjacente. Dessa forma, para verificar o grau de ajuste dos modelos dos isômeros, consideraram-se as magnitudes de determinação (R^2_{adj}) e do erro médio relativo (MRE), que, de modo geral, quanto menores forem seus valores, melhores são os resultados dos ajustes dos isômeros aos dados obtidos. O R^2_{adj} determina a eficiência dos isômeros propostos frente à variação dos dados. Já o parâmetro estatístico MRE é um critério que avalia a precisão das estimativas, que neste caso, relaciona-se a estabilidade dos compostos (VILLAVÉLEZ, et al, 2012).

De acordo com a Tabela 9 observa-se que para todos os modelos de isômeros encontrados, os valores do erro médio relativo (MRE) foram inferiores a 10%, o que demonstra um melhor ajuste para a degradação de compostos bioativos, representando com maior precisão a eficácia da estabilidade e do encapsulamento dos mesmos. No entanto, verifica-se que para os isômeros Geranial e Neral, obteve-se um maior coeficiente de determinação (0,968), sendo mais próximo de 1, e menores erros percentuais (0,01406 %; 0,01868 %), respectivamente, quando comparados aos isômeros microemulsionados, que obtiveram, para coeficiente de determinação (0,891), e erros percentuais (0,03981 %; 0,04671 %), respectivamente. Dessa forma, evidenciou-se que o melhor ajuste para descrever com maior precisão os diagramas residuais e de frequência obtidos, foram os modelos de isômeros Geranial e Neral, sendo o primeiro ainda mais eficiente. Esses valores são importantes para indicar as condições de estabilidade e degradação do material analisado.

Em relação ao valor- P , analisa-se comparando com seu nível de significância ($p < 0,05$). Como se visualiza através da Tabela 9, todos os modelos de isômeros possuem valor abaixo do nível de significância, o que resulta em diferenças entre algumas das médias e as mesmas são estatisticamente significativas. Os menores valores para p foram obtidos pelos modelos Geranial e Neral, destacando que há diferenças significativas entre os mesmos, devido a concentrações e outras características dos compostos, inclusive da sua predominância na formulação, dependendo das variações de temperaturas e dias em que foram expostos.

Na Figura 20, encontram-se representadas graficamente os diagramas de residuais e frequência entre valores experimentais e calculados obtidos por meio do método “stepwise fit regression” para os isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial), que exemplificam os resultados obtidos numericamente.

Figura 20 - Diagrama de residuais e frequência entre valores experimentais e calculados pelos modelos obtidos pelo método “stepwise fit regression” para os isômeros (a) Neral, (b), ME Neral, (c) Geranial e (d) ME Geranial.



Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se que ao comparar os valores teóricos com os experimentais, encontrou-se

uma análise que teve uma tendência na qual os valores experimentais comportaram-se semelhantemente aos teóricos, ou seja, houve proximidade entre eles, sobretudo para os modelos Neral (a) e Geranial (c). Isto indica que ocorreu uma boa precisão e exatidão nos resultados obtidos. A mesma tendência foi descrita por Maran et al. (2015), no qual os pontos de dados do gráfico estavam razoavelmente próximos da linha reta demonstrando uma concordância adequada entre os dados reais e os dados obtidos a partir dos modelos empíricos desenvolvidos. Dessa forma, pode-se confirmar que os dados são normalmente distribuídos e dentro dos limites aceitos.

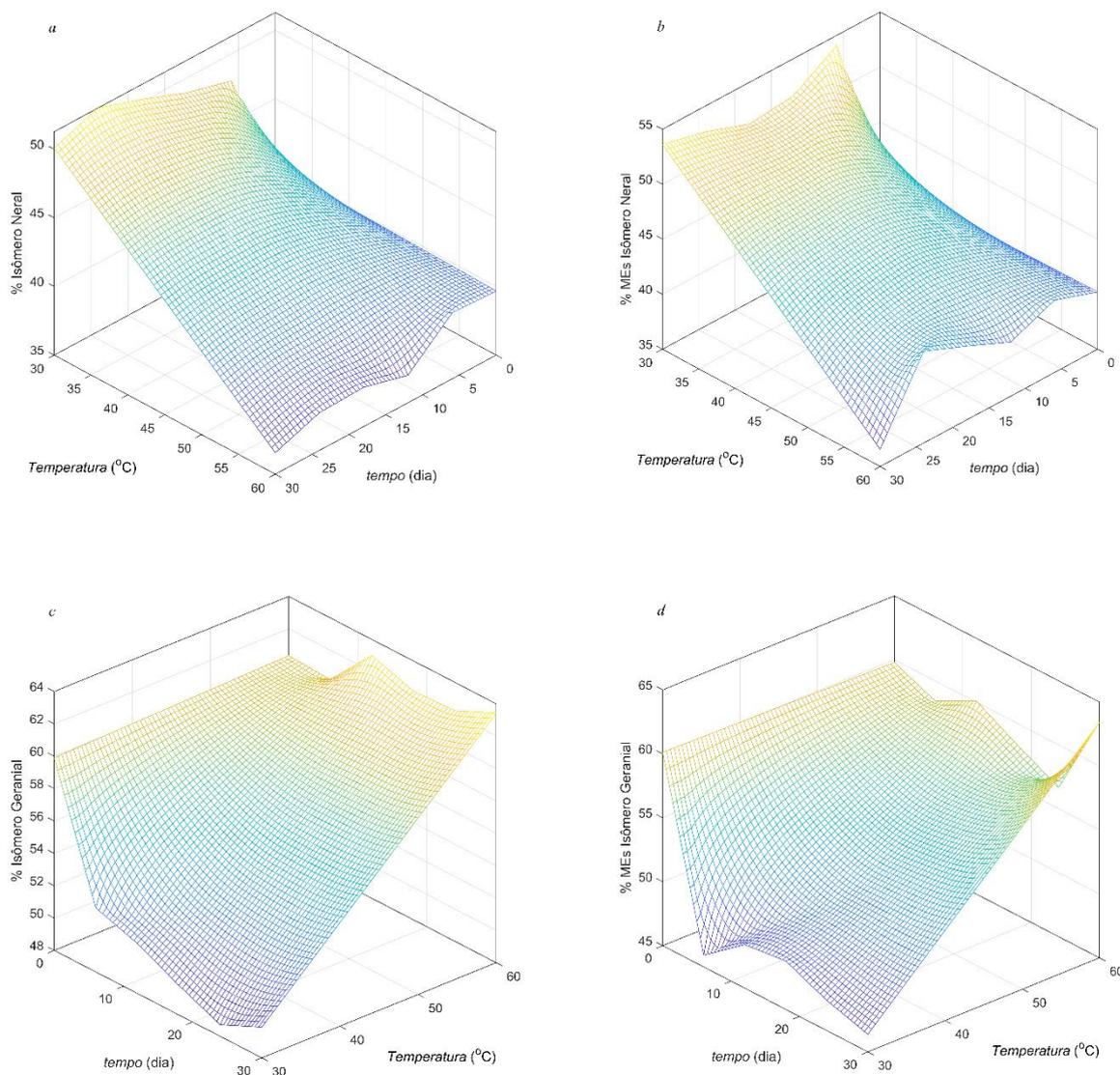
A análise dos resíduos consiste na diferença entre o valor teórico e o experimental, e pode ser considerada eficiente quando os valores se encontram próximos ao zero, ou seja, o valor experimental está bem aproximado do teórico. Na Figura 20 são descritos os comportamentos da distribuição de resíduos e frequências para os mesmos. Verifica-se que houve um bom ajuste para todos os modelos, especialmente para Neral (a) e Geranial (c), que apresentaram, resíduos concentrados entre 1 e -1 e presença de poucos resíduos extremos abaixo e acima do intervalo encontrado. Os resíduos ficaram distribuídos aleatoriamente em torno de zero, indicando o comportamento esperado para a distribuição de erros. Um modelo é considerado aleatório se os valores residuais se encontrarem próximos à faixa horizontal em torno de zero e também não formarem figuras definidas, não indicando tendenciosidade dos resultados. Se apresentar distribuição tendenciosa, o modelo é considerado inadequado para representar o fenômeno em questão (GONELI, 2011).

Em relação à frequência, que indica a quantidade de vezes que ocorreu determinado valor de resíduo, observa-se que a média central de cada amostra estudada esteve em torno de zero, sobretudo, os modelos Neral (a) e Geranial (b), verifica-se uma distribuição central, apresentando o maior ponto do gráfico na coluna que está em zero, conclui-se que as amostras tiveram resíduo zero, significando que houve correlação entre os valores experimentais e teóricos.

Essas evidências estatísticas deixam notório que as MEs preservaram os princípios ativos do OE da *Pectis brevipedunculata*, tornando-os estáveis.

A Figura 21 representa os valores simulados e o comportamento dos isômeros obtidos pelo método “stepwise fit regression” em função da temperatura e do tempo, e simboliza um gráfico de dispersão 3D, utilizado para explorar as relações potenciais entre três variáveis exibidas nos eixos x, y e z. Esta última é considerada a variável de reposta.

Figura 21 - Valores simulados dos isômeros (a) Neral, (b), ME Neral, (c) Geranial e (d) ME Geranial em obtidos pelo método “stepwise fit regression” em função da temperatura e tempo.



Fonte: Elaborada pela autora.

Constatou-se que em todas as representações foi possível identificar um bom ajuste dos modelos obtidos. Além disso, as mesmas retratam o comportamento encontrado na Tabela 5 e Figura 18, onde a porcentagem do componente Neral aumenta na temperatura de 30°C e diminui com o uso de 60°C. Já o componente Geranial tem sua porcentagem aumentada na temperatura de 60°C e diminui em 30°C. Isto se explica pelo comportamento de interconversão dos isômeros, devido a influência da temperatura, que é um fator muito importante no comportamento dos OEs. Esta mesma característica se repete nos componentes microemulsionados. Ranitha et al. (2014) demonstra em seus estudos que composições de OE

podem ser qualitativamente semelhantes, no entanto apresentam-se quantitativamente diferentes. Isso é causado pela presença de compostos que sofreram processo de oxidação, hidrólise ou outras reações químicas que os mesmos podem sofrer no seu processo de extração, onde são submetidos a temperaturas e períodos de análises diferentes.

Segundo Liu et al. (2018) as diferenças de extração produzem quantidades distintas de componentes principais e resultarão em aumentos de temperatura durante o processo de extração que causa mudanças na composição de óleos essenciais.

6 CONCLUSÃO

O encapsulamento de óleos essenciais através de microemulsões pode ser considerado uma ferramenta de proteção dos compostos voláteis do mesmo contribuindo para manter sua estabilidade, podendo ser aplicáveis em diversas áreas de pesquisa. O sistema com composição 7:3:1 (óleo:surfactante:água) foi escolhido por apresentar, de acordo com o diagrama ternário, características W-IV, típicos de sistemas microemulsionados. Os isômeros identificados, Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial se interconverteram conforme a temperatura em que foram submetidos, considerando que a influência da temperatura é primordial no comportamento dos componentes das formulações estudadas, atuando na estabilidade dos mesmos. As alterações de coloração, como o escurecimento das mesmas ao longo do tempo, apontaram ocorrência de degradação quando submetidas às temperaturas diferentes, e incidência da luz, indicando que o estresse térmico e a incidência da luz ultravioleta contribuíram para as mudanças observadas.

Estatisticamente encontrou-se modelos de isômeros com bons ajustes e tendências, que apresentaram valores teóricos e experimentais semelhantes, indicando precisão e exatidão em conformidade aos aspectos avaliados.

Comparando os resultados obtidos da análise estatística com os alcançados experimentalmente, por meio das amostras, evidencia-se que ocorreu a proteção do OE pela ME, gerando estabilidade na formulação, uma vez que todos os modelos encontrados se mostraram dentro dos parâmetros esperados no estudo estatístico. Nesse sentido, conclui-se que o uso das micromeulsões como veículo encapsulador de compostos instáveis, como os OEs é fundamental para a proteção dos seus compostos. Estudos futuros podem ser feitos para avaliar e explorar a biodisponibilidade dessas formulações em diferentes áreas de trabalho.

REFERÊNCIAS

- AL-ADHAM, I.S.I et al. Studies on the kinetics of killing and the proposed mechanism of action of microemulsions against fungi, **Int. J. Pharm.** n. 454, p. 226–232, 2013.
- ALTRIA, K. Capillary Electrophor. **Microchip Technology**, v. 7, n. 11, 2002.
- ATKINS, P. W. Físico-Química. ed. 1999. p.
- ANTON, N.; VANDAMME, T. F. Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 5, p. 978-985, 2010.
- ARGUDO, P.G.; et al. Preparation and Application in Drug Storage and Delivery of Agarose Nanoparticles. **Int. J. Polymer Sci.** 2018.
- ASBAHANI, A.E. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **Int. J. Pharm.** v. 483, p. 220–243, 2015.
- ASHURST, P.R. **Food flavoring**. Glasgow: Blackie, 1999. p. 34-35.
- AZEVEDO, C.S. **Anatomia e ultra-estrutura foliar de *Pectis brevipedunculata*: ontogenia de cavidades secretoras e estrutura Kranz**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 2007. p. 45.
- AZIZ, Z. A. A. et al. Enrichment of Eucalyptus oil nanoemulsion by micellar nanotechnology: Transdermal analgesic activity using hot plate test in rats' assay. **Sci. Rep.** 2019.
- BARAS CIENTIFIC. Disponível em: <http://www.barascientific.com/slide/>. Acesso em: 10 dez. 2020.
- BARBOSA, M.R.V.et al. Checklist das plantas do nordeste brasileiro: angiospermas e gymnospermas. Brasília: **Ministério de Ciência e Tecnologia**, 2006, p.143.
- BILIA, A. R. et al. Essential oils loaded in Nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach, evidence-based complement. **Altern.Med.** 2014.
- BECHER, P. **Emulsions: theory and practice**. ed. R. E. Krieger Pub. Co., 1977.
- BOONE, C. V. **Estudo químico do óleo essencial das raízes de *Piper amalago***. 2011. 13f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2011.
- BRAS, W.; DERBYSHIRE, G. E.; DEVINE, A.; CLARK, S. M.; KOMANSCHER, B. E. & RYAN, A. J.- J. Appl. Cryst 28, p.26 (1995).
- BRASIL. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Anvisa**. Brasília: Anvisa, v.1, p. 52, 2004.
- BREUER, E. et al. Glossary of Terms related to Pharmaceutics. **Pure Appl.Chem.** v. 81, p. 971–999, 2009.

BRITO, T.C.R., MARQUES, A.M. **Comparação das técnicas hidrodestilação e microextração em fase sólida na obtenção do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata***, 2008. Disponível em <http://www.sigma.uff.br/UFRJ/SIGMA>. Acesso em: 23 out. 2021.

CAMPANA, R. et al. International Journal of Food Microbiology Activity of essential oil-based microemulsions against *Staphylococcus aureus* biofilms developed on stainless steel surface in different culture media and growth conditions, **Int. J. Food Microbiol.** n. 241, p. 132–140, 2017.

CAPEK, I. Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 110, n. 1, p. 49-74, 2004.

CARNEIRO, H. C. F. et al. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, 115, 443–451, 2013.

CASTELL-PALOU, A et al. Mathematical modeling of moisture distribution and kinetics in cheese drying, *Drying technology*, Singapore, v. 30, n. 11-12, p. 1247-1255, 2012.

CENSI, R. et al. Permeation and skin retention of quercetin from microemulsions containing Transcutol (R) P. **Drug Dev Ind Pharm.** v. 38, n.9, p. 1128–33, 2012.

CEVIC, A. Unified formulation for web crippling strength of cold-formed steel sheeting using stepwise regression. **Journal of constructional steel research**, Guildford, v. 63, n. 10, p.1305-1316, 2007.

CHA, J.H.; LEE, S.H.; YOO, Y.S. Effects of aromatherapy on changes in the autonomic nervous system, aortic pulse wave velocity and aortic augmentation index in patients with essential hypertension. **J. Korean Acad. Nurs.** n. 40, p. 705–713, 2010.

CHAR, C. et al. Effect of the emulsification on the antimicrobial activity of carvacrol. **J Food Sci1**, p.1–6, 2015.

CHATZIDAKI, M. D. et al. Reverse micelles as nano-carriers of nisin against foodborne pathogens. Part II: The case of essential oils. **Food Chemistry**, n. 278, p. 415–42; 2019.

CHEN, Y. et al. Ensemble and enhanced PM10 concentration forecast model based on stepwise regression and wavelet analysis. **Atmospheric environment**, v. 74, p. 346-359, 2013.

CHO, S. The role of functional foods in cutaneous anti-aging. **Journal of lifestyle medicine.** v. 4, n. 1, p. 8–16, 2014.

CHOI, W. Y. et al. Wettability of chitosan coating solution on ‘Fuji’ apple skin. **Journal of Food Science**, v.67, n. 7, p. 2668–2672, 2002.

CRUZ, D. J. O. U., M.F. Gel-microemulsions as vaginal spermicidal and intravaginal drug delivery vehicles. **Contraception**, v. 64, p. 113-123, 2001.

D’CRUZ, O. J.; UCKUN, F. M. Gel-microemulsions as vaginal spermicides and intravaginal drug delivery vehicles. **Contraception**, v. 64, n. 2, p. 113-123, 2001.

DAMASCENO, B. P. G. L. et al. Microemulsão um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.

DAS, N. C. et al. Shape and Size of Highly Concentrated Micelles in CTAB/NaSal Solutions by Small Angle Neutron Scattering (SANS). **Langmuir**, v. 28, n. 33, p. 11962-11968, 2012.

DAVIDSON, P.M.; CRITZER, F.J.; TAYLOR, T.M. **Ocorrendo naturalmente antimicrobianos para alimentos minimamente processados**. Avaliações Anuais em Ciência e Tecnologia de Alimentos, n. 4, p. 163–190, 2013.

DAVIS, H. T. Factors determining emulsion type: Hydrophile—lipophile balance and beyond. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 91, p. 9-24, 1994.

DE GODOI, S.N. et al. Evaluation of Stability and In Vitro Security of Nanoemulsions Containing Eucalyptus globulus Oil. **Biomed. Res. Int.** 2017.

DEMO, M. et al. Antimicrobial activity of essential oils obtained from aromatic plants of Argentina. **Pharm. Biol.** London, U. K., v. 43, n. 2, p. 129-134, 2005.

DEUTCH-KOLEVZON, R.; ASERIN, A.; GARTI, N. Synergistic cosolubilization of omega-3 fatty acid esters and CoQ10 in dilutable microemulsions. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 164, n. 7, p. 654-663, 2011.

DIMA, C. et al. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of Coriandrum sativum L. essential oil from chitosan/alginate/inulinmicrocapsules. **Food Chemistry**, v. 195, p. 39-48, 2016.

DONSÌ, F.; FERRARI, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **J. Biotech.** n. 233, p. 106– 120, 2016.

DOYLE, M.P.; ERICKSON, M.C. Reunião de verão de 2007 - os problemas com produtos frescos: uma visão geral. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, n. 2, p. 317-330, 2008.

FANUN, M. Microemulsions as delivery systems. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* n. 17, p. 306–313, 2012.

FENG, J.L.; WANG et al., **Colloids Surface A.**, n. 339, p. 1–6, 2009.

FLANAGAN, J.; SINGH, H. Microemulsions: A potential delivery system for bioactives in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 221-237, 2006.

FORMARIZ, T.P. et al. Microemulsões e fases cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 41, n. 3, p. 301-313, 2005.

FOX L.T. et al. Transdermal drug delivery enhancement by compounds of natural origin. **Molecules**, 2011.

FU, Y. et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. **Phytotherapy Research**, vol. 21, p. 989-994, 2007.

FRANZOL, A.; REZENDE, M. C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, v. 25, p. 1-9, 2015.

FREITAS FILHO, J.R. et al. Medicamentos Veterinários: contextualizando o ensino de Química Orgânica/Veterinary Medicines: contextualizing the teaching of Organic Chemistry. **Acta Scientiae**, v. 13, n. 2, p. 129-144, 2012.

FRIEDMAN M.; JURGENS H.S. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. **J Agric Food Chem**. v. 48, n. 6, p. 2101-10, 2000.

GARTI, N., ed.; Thermal behavior of dispersed systems; **Marcel Dekker**: New York, 2001.

GARTI, N. **Curr. Opin. Colloid. In**, n. 8, p. 197-211, 2003.

GONELI, A. Variação das propriedades físico-mecânicas e da qualidade de mamona (*Ricinus communis* L.) durante a secagem e o armazenamento. 2008. 186 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

GOODENOUGH, A. E.; HART, A. G.; STAFFORD, R. Regression with empirical variable selection: description of a new method and application to ecological datasets. **Plos one**, v. 7, p. 1-10, 2012.

GUIMARÃES, G. P. **Desenvolvimento e caracterização de microemulsão antifúngica contendo derivado de tiofeno**. 2013. 120f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, 2013.

GUZMÁN, E et al. Layer-by-Layer polyelectrolyte assemblies for encapsulation and release of active compounds. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 249, 249, p. 290-307, 2017. doi:10.1016/j.cis.2017.04.009.

HATAHET T. et al. Quercetin topical application, from conventional dosage forms to nanodosage forms. **Eur J Pharm Biopharm**. n. 108, p. 41-53, 2016.

HARRIS, L. J. et al. Outbreaks associated with fresh produce. Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, s1, p. 78-141, 2003.

HERMAN A.; HERMAN A. P. Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery: a review. **J Pharm Pharmacol**.v. 67, n. 4, p. 473-485, 2015.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water in oil dispersions: the oleopathie hydromicelle. **Nature**, v. 152, p. 102-105, 1943.

JIMÉNEZ, M. et al. Elaboration and characterization of O/W cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and black pepper (*Piper nigrum*) emulsions. **Food Hydrocolloids**. n. 77, p. 902-910, 2018.

KALAITZAKI, A.; EMO, M.; STÉBÉ, M. J.; XENAKIS, A.; PAPADIMITRIOU, V. Biocompatible nanodispersions as delivery systems of food additives: A structural study. **Food Research International**, v. 54, n. 2, p. 1448-1454, 2013.

KEIL, D. J. Two new species of *Pectis* (Asteraceae: Tageteae) from South America. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, v.12, n. 4, p. 471-473, 2002.

KITAGAWA, S. et al. Enhanced skin delivery of quercetin by microemulsion. **J Pharm Pharmacol**. v. 61, n. 7, p. 855–60, 2009.

KOKOSKA, L. et al. Plant-derived products as antibacterial and antifungal agents in human health care, **Curr. Med.Chem.**, 2018.

LACHMAN, L.; LIEDERMAN, H. A. E.; KANIG, J. L. The theory and practice of industrial pharmacy, Lisboa, **Fundação Calouste Gulbenkian**, 2001.

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008 – 2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. **A review, Flavour Fragrance J.** v. 27, p. 13–39, 2012. <https://doi.org/10.1002/ffj.2082.012>.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 45, n. 1, p. 89-121, 2000.

LASZLO. Extração de Óleos Essenciais. **Laszlo Aromaterapia**. São Paulo, 2001. Disponível em: www.laszlo.ind.br. Acesso: 23 out. 2020.

LEYVA-LOPEZ, N. et al. Essential oils of Oregano: biological activity beyond their antimicrobial properties. **Molecules**. n. p. 989, 2017.

LI, X.; KUNIEDA, H. Catanionic surfactants: microemulsion formation and solubilization. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 8, n. 4, p. 327-336, 2003.

LIU, Z. et al. Optimization of solvent-free microwave assisted extraction of essential oil from *Cinnamomum camphora* leaves. **Ind. Crops Prod.**, v. 124, p. 353–362, 2018.

LOJA SMITH. 2020. Disponível em: <https://www.lojasynth.com/> Acesso em: 1 jun 2021.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F. et al. Cruz- A contaminação da alface minimamente processada após uma exposição de curta duração durante a pré-lavagem não pode ser controlada após a lavagem subsequente com dióxido de cloro ou hipoclorito de sódio. **Microbiologia Alimentar**, v. 27, n. 2, p. 199-204, 2010.

LUNDBERG, B. B. M., B.C.; REDGRAVE, T.G. Submicron lipid emulsions containing antipathies polyethylene glycol for use as drug-carriers with prolonged circulation time. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 134, p. 119-127, 1996.

LUO, Y. A reutilização da água de lavagem de produtos recém-cortados afeta a qualidade da água e qualidade do produto embalado e crescimento microbiano em alface romana. **HortScience**, v. 42, n. 6, p. 1413-1419, 2007.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, v. 24, p. 87-93, 2001.

MARAN, J.P. et al. Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. **J. Food Sci. Technol.** v. 52, p. 92–104, 2015.

MARAN, J.P.; PRIYA, B. Supercritical fluid extraction of oil from muskmelon (*Cucumis melo*) seeds. **J. Taiwan Inst. Chem. Eng.** v. 47, p. 71–78, 2015.

MARTIN, G.B.; KADOKAWA, H. “Clean, Green and Ethical” Animal Production. Case Study: Reproductive Efficiency in Small Ruminants. **Journal of Reproduction and Development**, v. 52, n.1, 2006.

MARQUES, A.M. et al. (2006) Comparação do óleo essencial de três espécimens de *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip. **Anais [...]**. Florianópolis: Reunião Anual da SBPC, 58., 2006.

MARQUES, A. ET AL. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, v.25, n. 10, 798, 2013.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.

MCEVOY, E. e al. Microemulsion Based HPLC Methods. In: WILSON, I. D. (Ed.). **Encyclopedia of Separation Science**. Oxford: Academic Press. p. 1-10, 2007.

MENDONÇA, C. R. B. et al. Electrokinetic capillary chromatography in a polar continuous phase water-in-oil microemulsion constituted by water, sodium dodecyl sulfate, and n-pentanol. *Electrophoresis*, Valência, v. 26, p. 858-866, 2005.

MENDONÇA, C. B. F.; ESTEVES, V. G.; ESTEVES, R. L. Palinologia de espécies de *Asteroidae* (Compositae) ocorrentes na restinga de Carapebus, Carapebus, Rio de Janeiro. **Hoehnea**, v. 29, n. 3, p. 233-240, 2002.

MENDONÇA, C. R. B.; BICA, C. I. D.; PIATNICKI, C. M. S. Water in soybean oil microemulsions as medium for electrochemical measurements. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, p. 628-636, 2003.

MENDONÇA, C. R. B. et al. Role of the co-surfactant nature in soybean w/o microemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 337, n. 2, p. 579-585, 2009.

MIRANDA-NOVALES, M.G.; SOLO, F. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents, **Curr. Opin. Biotechnol.** v. 23, p. 136–141, 2012.

MISHRA, M. Handbook of Encapsulation and Controlled Release. Ed. **CRC Press Boca Raton**, United States of America, 2015.

MISHRA, R.; PRABHAVALKAR K.S.; BHATT L.K. Preparation, optimization, and evaluation of Zaltoprofen-loaded microemulsion and microemulsion-based gel for transdermal delivery. **J Liposome Res.** v. 26, n. 4, p. 297–306, 2016.

MO, C.; ZHONG, M.; ZHONG, Q. Investigation of structure and structural transition in microemulsion systems of sodium dodecyl sulfonate+n-heptane+n-butanol+water by cyclic voltammetric and electrical conductivity measurements. **Journal of Electroanalytical Chemistry**,v. 493, n. 1, p. 100-107, 2000.

MORAES, F.P. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia.** v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/W com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite).** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2006.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira.** v. 27, n. 2, p. 4050- 4063, 2009.

MOURA, E. C. M. S. et al. **Química Nova**, 2013.

NAOUI, W. et al. Microemulsion Microstructure Influences the Skin Delivery of an Hydrophilic Drug. **Pharmaceutical Research**,v. 28, n. 7, p. 1683-1695, 2011.

NIU F.; PAN W.; SU Y.; YANG Y. Physical and antimicrobial properties of thyme oil emulsions stabilized by ovalbumin and gum Arabic. **Food Chem**, n. 212, p. 138–145, 2016.

ÖLMEZ, H., & KRETZSCHMAR, U. Possíveis métodos alternativos de desinfecção para indústria de corte mínimo orgânico para minimizar o consumo de água e o impacto ambiental. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 686-693, 2009.

PROBST, I.S. **Atividade Antibacteriana de Óleos Essenciais e Avaliação de Potencial Sinérgico.** 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Setor de Concentração de Biomoléculas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2012.

RAJIB, K.M.; BIDYUT, J. K. P. **Colloid Interf. Sci.**, n. 283, p. 565–577, 2005.

RANITHA, M. et al. A comparative study of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil extracted by microwave- assisted hydrodistillation (MAHD) and conventional hydrodistillation (HD) method. **Int. J. Chem. Eng. Appl.** v. 5, p. 104–108, 2014.

RIACHI, L.G.; DE MARIA, C.A. B. Peppermint antioxidants revisited. **Food Chem.**, v. 176, p. 72–81, 2015. doi:10.1016/j.foodchem.2014.12.028.

RICO, D. et al. Estendendo e medindo a qualidade de frutas e vegetais minimamente processados: uma revisão. **Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 7, p. 373-386, 2007.

RODRIGUES, F. V. S. et al. Preparation and characterization of nanoemulsion containing a natural naphthoquinone. **Química Nova**, v. 41, p. 756-761, 2018.

ROOHINEJAD, S. et al. Formulation of oil-in-water β -carotene microemulsions: Effect of oil type and fatty acid chain length. **Food Chemistry**, v. 174, p. 270-278, 2015.

ROSSI, C. G. F. T. S. J., H.; MACIEL, M. A. M.; DANTAS, T. N.; C.;. **Química Nova**, 2007.

ROTHEN-WEINHOLD, A. et al. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. **Pharmaceutical science & technology today**, v. 3, n. 7, p. 222-231, 2000.

RYAN, A. J. - J. Thermal Anal. 40, p.887 (1993).

SAITO ML; SCRAMIN S. Plantas aromáticas e seu uso na agricultura. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**. p. 48 . 2000. (Série Documentos, n. 20).

SALLES, H.O. Efeito macho: alternativa natural de sincronização do estro para a produção orgânica de caprinos e ovinos. **Embrapa Caprinos e Ovinos**. Comunicado Técnico, 2008.

SPLABOR. 2021. Disponível em: <https://www.splabor.com.br/>. Acesso em: 1 jun. 2021.

SARTOR, R. B. **Modelagem, Simulação e Otimização de uma Unidade Industrial de Extração de Óleos Essenciais por Arraste a Vapor**. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos). Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

SCHUH, R. S.; BRUXEL, F.; TEIXEIRA, H. F. Physicochemical properties of lecithin-based nanoemulsions obtained by spontaneous emulsification or high-pressure homogenization. **Química Nova**, v. 37, p. 1193-1198, 2014.

SCHULMAN, J. H.; STOECKENIUS, W.; PRINCE, L. M. Mechanism of Formation and Structure of Micro Emulsions by Electron Microscopy; **J. Phys. Chem.** n. 63, p. 1677, 1959.

SCHWUGER, M. J. S., R.. **Chem. Rev.** 1995.

SCHWUGER, M.-J.; STICKDORN, K.; SCHOMAECKER, R. Microemulsions in Technical Processes. **Chemical Reviews**, v. 95, n. 4, p. 849-864, 1995.

SERAFINI, L.A. et al. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

SHAH, D. O., ed. **Micelles, microemulsions, and monolayers: Science and technology**; Marcel Dekker: New York, 1998.

SHEN, Q.; LI, W. The effect of clove oil on the transdermal delivery of ibuprofen in the rabbit by in vitro and in vivo methods. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 33, n. 12, p.1369-74, 2007. doi:10.1080/03639040701399346.

SILVA, P. T et al.. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2011. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Química – Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

SILVA, J. D. F. D. et al. Microemulsões: componentes, características, potencialidades em química de alimentos e outras aplicações. **Química Nova**, v. 38, p. 1196-1206, 2015.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES CMO. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC. p. 387-415, 1999.

SIVAPALASINGAM, S. et al. Produtos frescos. Uma causa crescente de surtos de doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos, de 1973 a 1997. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 10, p. 2342-2353, 2004.

SODEIFIAN, G.; SAJADIAN, S.A.; ARDESTANI, N.S. Experimental optimization and mathematical modeling of the supercritical fluid extraction of essential oil from *Eryngium billardieri*: Application of simulated annealing (SA) algorithm, **Journal Supercritical Fluids** v. 127, p. 146–157, 2017.

SOUZA, J.R.P. et al. Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. **Horticultura Brasileira**. n. 26, p. 40-44, 2008.

SOUZA, Á. D. N. D. et al. Inibição à corrosão de aço-carbono em meio salino pelo heterociclo isatina veiculado em microemulsões. **Química Nova**, v. 40, p. 760-768, 2017.

TAKEUCHI, K. et al. Comparação do apego de *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, e *Pseudomonas fluorescência* em folhas de alface. **Journal of Food Protection**. v. 63, n. 10, p. 1433-1437, 2000.

TAN, T. T. Y. et al. Microemulsion preparative methods (Overview). **Comprehensive Nanoscience and Technology**, v. 5, p. 399-441, 2011.

TAVARES, J. A. **Projeto, construção, testes e operação de um extrator de óleos vegetais**. 2007. 98 f., Tese (Mestre em Engenharia Química) – Setor de Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

THEVENIN, M. A.; GROSSIORD, M. C.; POELMAN, M. C. **Int. J. Pharm.** n. 137, p. 177, 1996.

THOMPSON, J. E. A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos. Porto Alegre: **Artmed**, 2006.

TOPAN, J. F. **Emulsões à base de óleo de girassol (*Helianthus annus* L.) com cristal líquido**: avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética. 2012. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós – Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2012.

TRAN, T.T.D.; TRAN, P.H.L. Nanoconjugation and Encapsulation Strategies for Improving Drug Delivery and Therapeutic Efficacy of Poorly Water-Soluble Drugs. **Pharmaceutics**. n. 11, p. 325, 2019.

VAN DEN BOGAARD, A.E.; STOBBERINGH, E.E. **Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans**. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.14, n.4, p.327-335, 2000.

VELÁZQUEZ-CONTRERAS, C.; OSORIO-REVILLA, G.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T. Encapsulation of orange oil in spout-fluid bed dryer with a draft tube on a bed of inert solids. **Dry Technol.**n. 32, p. 1718–1726, 2014.

VILLA-VÉLEZ, H. A. et al. Modelling thermodynamic properties of banana waste by analytical derivation of desorption isotherms. **International Journal of Food Engineering**, 2012.

VOIRIN, B.; BRUN, N.; BAYNET, C. Effects of Daylength on the Monoterpene Composition of Leaves of *Mentha X Piperita*. **Phytochemistry**, Vol. 29, No. 3, pp. 749-755, 1990.

WAIS, U.; JACKSON, A.W.; HE, T.; ZHANG, H. Nanoformulation and encapsulation approaches for poorly water-soluble drug nanoparticles. **Nanoscale**. n. 8, p. 1746–1769, 2016.

WALSTRA, P. **Sistemas dispersos: consideraciones basicas**. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). *Química de los Alimentos*. Acribia, 2005. cap. 3, p.112-181.

WINSOR, P. A. Hidrotody solubilization and related emulsification process. **Chemical Trans**, v. 44, p. 376-398, 1948.

_____. Hydrotropy, solubilization and related emulsification processes. Part IX.-The electrical conductivity and the water dispersibility of some solubilized systems. **Transactions of the Faraday Society**, v. 46, n. 0, p. 762-772, 1950.

YANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. **Food Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 473-481, 2013.

ZANON, A. B. **Aspecto Teórico e prático sobre a avaliação da estabilidade de emulsão manipuladas em farmácia**. Universidade Federal do Rio Grande do sul, Porto Alegre, 2010.

ZHENG, M.-Y.; LIU, F.; WANG, Z.-W.; BAOYINDUGURONG, J.-H. Formation and characterization of self-assembling fish oil microemulsions. **Colloid Journal**,v. 73, n. 3, p. 319-326, 2011.

ZIANI, K.; FANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Fabrication and stability of colloidal delivery systems for flavor oils: Effect of composition and storage conditions. **Food Research International**,v. 46, n. 1, p. 209-216, 2012.

ZORZI, G. K.; SCHUH, R. S.; CAMPOS, A. M. D.; CARVALHO, E. L. S.; ROTT, M. B.; TEIXEIRA, H. F. Biomateriais para formulações de base nanotecnológica visando terapia genética ocular. **Química Nova**, v. 40, p. 74-84, 2017.