



**DANDARA FIGUEREDO LIMA**

**ESTUDO DA ESTABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE**  
*Duguetia stelechantha* **ENCAPSULADO EM MICROEMULSÃO**  
**DE ÓLEO BABAÇU**

São Luís  
2021

**DANDARA FIGUEREDO LIMA**

**ESTUDO DA ESTABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Duguetia stelechantha* ENCAPSULADO EM MICROEMULSÃO  
DE ÓLEO 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

Lima, Dandara.

Estudo da Estabilidade do Óleo Essencial de *Duguetia Stelechantha* Encapsulado em Microemulsão de Óleo de Babaçu / Dandara Lima. - 2021.

57 f.

Orientador(a): Harvey Vélez.

Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, 2021.

1. Degradação. 2. Estabilidade. 3. Microemulsões. 4. Óleo essencial. I. Vélez, Harvey. II. Título.

**BANCA EXAMINADORA:**

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

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

Prof. Dr(a). CLÁDIA QUINTINO DA ROCHA  
LQPN/CCET/UFMA

**03 de Junho de 2021**

**DADOS CURRICULARES****Dandara Figueredo Lima**

**NASCIMENTO** 22/03/1996 – PAÇO DO LUMIAR / MA

**FILIAÇÃO** Leonardo Luciano Lima  
Vilma Figueredo Lima

**2014/2020** Curso de Graduação  
Engenharia Química - Universidade Federal do Maranhão

***Pelo carinho, afeto, dedicação e cuidado que meus pais me deram durante toda a minha existência, dedico esta monografia a eles. Com muita gratidão.***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças e persistência para enfrentar todos os desafios e noites sem dormir em busca do meu objetivo final.

Agradeço ao meu pai Leonardo Luciano Lima e a minha mãe Vilma Figueredo Lima por entenderem a minha ausência em diversos momentos para que eu pudesse estudar, além de todo o investimento e esforço para que minha vida estudantil fosse a mais confortável possível e por toda a paciência nos meus momentos de estresse e desespero dentro da graduação. Agradeço com muito amor.

Ao meu orientador, Prof. Harvey Alexander Villa Vélez, obrigada por me guiar nessa monografia e também por me apresentar o mundo das microemulsões. Sei que minha vida acadêmica teria sido muito diferente sem todo o apoio e ensinamentos.

Ao Prof. Romildo Martins Sampaio, que muito me auxiliou na cadeira de Processos Químicos Industriais e monografia, e me tirou muitas dúvidas em relação a estrutura e os tópicos e fez com que eu conseguisse sair dos estágios iniciais de escrita do meu trabalho.

À prof. Cláudia Quintino da Rocha que cedeu seu laboratório, tempo e equipe para me auxiliar e demonstrar a obtenção dos óleos essenciais.

À prof. Caritas de Jesus Silva Mendonça por ceder seu tempo e laboratório para realizar os experimentos no cromatógrafo a gás e por me explicar todo o processo.

À todos os meus amigos que fiz durante a graduação, sei que guardo boas memórias de cada um de vocês. E jamais esquecerei de todos os momentos de descontração em meio a tanta tensão.

Em especial a minhas amigas Bruna Andressa Alves Carvalho e Luciene Bastos Pinheiro de Almeida por me aturarem tantos anos reclamando de cansaço e por toda a ajuda em tantos momentos diferentes. Sei que não teria chegado até o fim sem vocês na minha vida. Muito obrigada por tudo. Nunca me esquecerei da nossa parceria.

Ao meu melhor amigo Christian Luã Dominice que me aturou esses mais de 10 anos de amizade. Obrigada por todos os momentos de risadas enquanto eu estava estressada com provas e trabalho.

*“Because sometimes even if you know how something’s gonna end, that doesn’t mean you can’t enjoy the ride.”*

*Ted Mosby*



LIMA, D. F. **Estudo da Estabilidade do Óleo Essencial de *Duguetia stelechantha* Encapsulado em Microemulsão de Óleo de Babaçu**. 2021. 54p. 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 definidas como sistemas dispersos e termodinamicamente estáveis, isotrópicos e transparentes que são estabilizados por um filme interfacial de compostos tensoativos. Nesse trabalho, as MEs utilizadas possuem uma mistura estável composta por óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* conjunto com óleo de babaçu, água e co-tensoativo. Como objetivo, buscou-se evidenciar que as MEs servem para manter um isolamento e proteger o princípio ativo do óleo essencial sob condições de temperatura elevada. Para medir a degradação do óleo essencial de *Duguetia Stelechantha*, empregou-se o teste de estresse térmico utilizando o equipamento de cromatografia a gás acoplado a um espectrofotômetro de massa (CG-EM). Através de tais análises determinou-se que os marcadores da espécie no espectrofotômetro de massa da microemulsão com óleo essencial foram o  $\alpha$ -Pino e o  $\beta$ -Pino. Como resultado do estresse térmico determinou-se uma linearidade e decaimento da %área versus dia para a temperatura de 30°C e para 60°C. Através do cromatograma e áreas de pico pode-se afirmar que os compostos majoritários sofreram degradação com relação ao tempo, tendo em vista que entre o dia 0 do experimento e o dia 36 para a temperatura de 30°C o componente  $\alpha$ -Pino apresentou uma variação de 0,65% e o componente  $\beta$ -Pino apresentou uma variação de 12,19%. Já para a temperatura de 60°C o  $\alpha$ -Pino apresenta uma variação de 7,19% e o componente  $\beta$ -Pino uma variação de 19,36%. Demonstrando que os componentes majoritários degradaram com o efeito do tempo do experimento e também com o efeito da temperatura, sendo o comportamento mais agressivo notado na temperatura de 60°C para ambos os componentes. Tais resultados indicam que as microemulsões funcionam como um bom mecanismo de encapsulamento das propriedades do óleo essencial, podendo as mesmas serem uma ferramenta na área farmacológica no combate a oxidação dos produtos finais de interesse.

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

LIMA, D. F. **Stability Study of *Duguetia stelechantha* Essential Oil Encapsulated in Babacu Oil Microemulsion**. 2021. 54 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 defined as dispersed and thermodynamically stable, isotropic and transparent systems that are stabilized by an interfacial film of surface-active compounds. In this work, the MEs used have a stable mixture composed of essential oil of *Duguetia Stelechantha* together with babassu oil, water and co-surfactant. As an objective, we sought to show that MEs serve to maintain an isolation and protect the active principle of the essential oil under conditions of high temperature. To measure the degradation of the essential oil of *Duguetia Stelechantha*, the thermal stress test was used using gas chromatography equipment coupled to a mass spectrophotometer (GC-MS). Through such analyses, it was determined that the species markers in the mass spectrophotometer of the microemulsion with essential oil were  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene. As a result of thermal stress, linearity and decay of %area versus day were determined for the temperature of 30°C and for 60°C. Through the chromatogram and peak areas it can be stated that the major compounds suffered degradation with respect to time, considering that between day 0 of the experiment and day 36 for a temperature of 30°C, the  $\alpha$ -Pinene component showed a variation of 0.65% and the  $\beta$ -Pinene component presented a variation of 12.19%. As for the temperature of 60°C, the  $\alpha$ -Pinene presents a variation of 7.19% and the  $\beta$ -Pinene component a variation of 19.36%. Demonstrating that the major components degraded with the effect of the experiment's time and also with the effect of temperature, with the most aggressive behavior being noticed at the temperature of 60°C for both components. These results indicate that microemulsions work as a good mechanism for encapsulating the essential oil properties, and they can be a tool in the pharmacological area in combating the oxidation of the final products of interest.

**Keywords:** Microemulsions. Stability. Essencial Oil. Degradation.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Estrutura das microemulsões em configuração A/O e O/A .....                                                                                | 03 |
| Figura 2 – Representação esquemática da classificação das microemulsões (1) óleo-água, (2) bicontínua e (3) água-óleo .....                           | 03 |
| Figura 3 – Representação esquemática do diagrama de fases onde (T) é tensoativo, (A) é fase aquosa e (O) é fase oleosa .....                          | 06 |
| Figura 4 – Diagrama esquemático ilustrando o processo de eluição cromatográfica e a correlação entre o processo de eluição e a formação do pico ..... | 16 |
| Figura 5 – Partes de um equipamento de cromatografia .....                                                                                            | 17 |
| Figura 6 – Diagrama esquemático de um CG/EM .....                                                                                                     | 18 |
| Figura 7 – Hidrodestilação das folhas de <i>Duguetia Stelechantha</i> no aparelho de Cleveger .                                                       | 21 |
| Figura 8 – Duplicada dos tubos de ensaio com a microemulsão com proporção 5:5:1 e o branco com o óleo essencial puro .....                            | 22 |
| Figura 9 – Caixa preta para teste de degradação .....                                                                                                 | 23 |
| Figura 10 – Gráficos gerados nas análises do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de <i>Duguetia Stelechantha</i> na primeira medição.....        | 24 |
| Figura 11 – Gráficos gerados nas análises do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de <i>Duguetia Stelechantha</i> na segunda medição .....        | 26 |
| Figura 12 – Relação da %área versus dias das amostras para temperatura de 30°C .....                                                                  | 28 |
| Figura 13 – Gráficos gerados nas análises do CG/MS da microemulsão com óleo essencial de <i>Duguetia Stelechantha</i> na primeira medição.....        | 29 |
| Figura 14 – Gráficos gerados nas análises do CG/MS da microemulsão com óleo essencial de <i>Duguetia Stelechantha</i> na segunda medição .....        | 31 |
| Figura 15 – Relação da %área versus dias das amostras para temperatura de 60°C.....                                                                   | 33 |

**LISTA DE TABELAS**

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Especificações do cromatógrafo empregado nas análises .....                                 | 20 |
| Tabela 2 – Quantidade de cada reagente utilizado na formulação de microemulsão com óleo essencial..... | 21 |

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

|       |                                                 |
|-------|-------------------------------------------------|
| MEs   | microemulsões                                   |
| CG/EM | cromatografia gasosa com espectrômetro de massa |
| CP    | cromatografia em papel                          |
| CCD   | cromatografia de camada delgada                 |
| CG    | cromatografia gasosa                            |
| CLC   | cromatografia líquida clássica                  |

**LISTA DE SÍMBOLOS**

O/W fase óleo - água

W/O fase água - óleo

A área interfacial

$\gamma$  tensão superficial

T temperatura

$G$  energia livre de formação

S entropia

## SUMÁRIO

|          |                                                      |           |
|----------|------------------------------------------------------|-----------|
|          | FOLHA DE APROVAÇÃO.....                              | ii        |
|          | DADOS CURRICULARES.....                              | ii        |
|          | DEDICATÓRIA.....                                     | iv        |
|          | AGRADECIMENTOS.....                                  | v         |
|          | EPÍGRAFE.....                                        | vi        |
|          | RESUMO.....                                          | vii       |
|          | ABSTRACT.....                                        | viii      |
|          | LISTA DE FIGURAS.....                                | ix        |
|          | LISTA DE TABELAS.....                                | x         |
|          | LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....                  | xi        |
|          | LISTA DE SÍMBOLOS.....                               | xii       |
|          | SUMÁRIO.....                                         | xiii      |
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                               | <b>01</b> |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS.....</b>                                | <b>02</b> |
| 2.1      | Objetivos gerais.....                                | 02        |
| 2.2      | Objetivos específicos.....                           | 02        |
| <b>3</b> | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>                   | <b>02</b> |
| 3.1      | Microemulsão (ME).....                               | 02        |
| 3.1.1    | Teoria da formação de microemulsões.....             | 04        |
| 3.1.2    | Diagrama de fases de sistemas microemulsionados..... | 05        |
| 3.2      | Óleo essencial de <i>Duguetia Stelechantha</i> ..... | 06        |
| 3.3      | Aplicações do óleo essencial.....                    | 08        |
| 3.3.1    | Área farmacêutica.....                               | 08        |
| 3.3.2    | Área alimentícia.....                                | 09        |
| 3.3.3    | Área cosmética.....                                  | 10        |
| 3.4      | Aplicações das microemulsões.....                    | 10        |
| 3.4.1    | Área farmacêutica.....                               | 10        |
| 3.4.2    | Área alimentícia.....                                | 12        |
| 3.4.3    | Área cosméticas.....                                 | 13        |
| 3.5      | Teste de estabilidade.....                           | 14        |

|          |                                                                  |           |
|----------|------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.6      | Cromatografia.....                                               | 15        |
| 3.6.1    | Cromatografia gasosa com espectrômetro de massas (CG/EM).....    | 16        |
| <b>4</b> | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                   | <b>19</b> |
| 4.1      | Material.....                                                    | 19        |
| 4.2      | Local da pesquisa.....                                           | 19        |
| 4.3      | Instrumentos/equipamentos/software utilizados.....               | 20        |
| 4.4      | Análises, métodos e procedimentos experimentais.....             | 20        |
| 4.4.1    | Obtenção do óleo essencial de <i>Duguetia Stelechantha</i> ..... | 20        |
| 4.4.2    | Formulação da microemulsão.....                                  | 21        |
| 4.4.3    | Análise no cromatógrafo a gás (CG).....                          | 22        |
| 4.4.4    | Teste de estabilidade para formulação.....                       | 23        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                               | <b>23</b> |
| 5.1      | Teste térmico da estabilidade da degradação.....                 | 23        |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                            | <b>35</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                          | <b>36</b> |



## 1 INTRODUÇÃO

As microemulsões são mencionadas primeiramente na literatura por Hoar e Shulman, em 1943, ao descreverem sistemas transparentes formados espontaneamente quando óleo e água eram misturados em quantidades relativamente grandes de tensoativo iônico misturado a um álcool de cadeia média (OLIVEIRA et al., 2004). Microemulsões são definidos como sistemas termodinamicamente estáveis e opticamente transparentes, isotrópicos e de baixa viscosidade, que são formados por gotículas de tamanho nanométrico, onde essas gotículas são dispersas em uma fase contínua de um solvente imiscível com a fase dispersa (SILVA et al., 2015).

Sistemas termodinamicamente estáveis e transparentes têm sido alvo de diversos estudos durante os últimos anos, principalmente devido ao seu elevado poder de solubilização (GÚLLON et al., 2003). Desde então, esse sistema vem sendo desenvolvido para diversas aplicações na indústria, tendo um papel importantíssimo na indústria de fármacos onde atua principalmente como carregador/transportador de compostos químicos. Raramente a experiência clínica com agentes terapêuticos satisfaz as expectativas criadas em torno de resultados pré-clínicos com medicamentos, já que entre o local de administração e o órgão ou tecido alvo existe uma série de barreiras anatômicas, químicas ou biológicas que contrariam a obtenção do efeito terapêutico desejado (OLIVEIRA et al., 2004).

As microemulsões são vistas como importantes ferramentas para potencializar o efeito dos fármacos levando em consideração que, mesmo utilizando mínimas quantidades dos princípios ativos, os mecanismos de liberação controlada desses fármacos promovem uma otimização de entrega do mesmo no local de ação e dessa forma são capazes de realizar uma melhora na sua biodisponibilidade, diminuindo assim o risco de toxicidade e facilitando sua administração (FREITAS FILHO et al., 2012). Isso traz uma vantagem para a indústria farmacêutica que pode reduzir os gastos de seus produtos ao utilizar pequenas quantidades de compostos com princípios ativos que são geralmente mais caros, gerando conseqüentemente uma diminuição dos preços de medicamentos para o consumidor.

Com base nisso, o presente trabalho busca analisar e determinar o tempo de prateleira do produto de óleo essencial da planta *Duguetia Stelechantha* encapsulado em uma microemulsão com óleo de babaçu, com ambos os óleos nativos do Maranhão.

A *Duguetia Stelechantha* possui marcadores antiparasitários, antitumorais, inseticidas e antibacterianos podendo também ser usada para o tratamento de diversas enfermidades como infecção por fungos, febre, úlcera e até mesmo na prevenção da oxidação das células e formação de câncer. Já o óleo babaçu é um ingrediente barato, abundante em diversas regiões do país e serve como um ótimo transportador do princípio ativo para uso tópico de fármacos fitoterápicos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Estudar a estabilidade e eficiência de uma microemulsão contendo óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* em presença de temperatura elevada.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar a influência da variação da temperatura no nível de deterioração da emulsão, através da análise da concentração do princípio ativo do óleo essencial encapsulado em função do tempo;
- Analisar através das técnicas de CG/EM a degradação dos marcadores do óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* encapsulada em microemulsão de óleo de babaçu.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

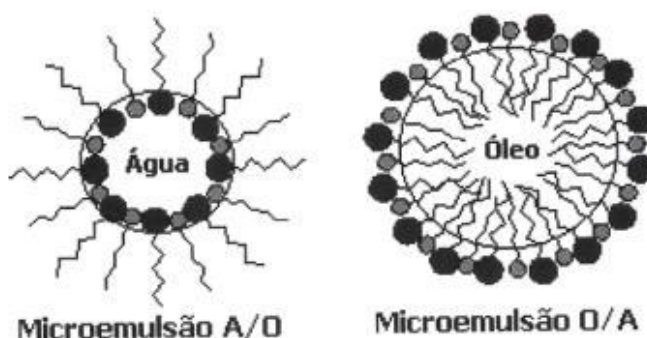
### 3.1 Microemulsão (MEs)

Microemulsões são dispersões termodinamicamente estáveis e homogêneas compostas de água, óleo, surfactante e às vezes, com o auxílio de um cosurfactante que caracteristicamente é um álcool com cadeia de carbonos pequena (ABOOFAZELI et al., 1995).

Hoar e Schulman foram os precursores no estudo das MEs. No entanto, tais sistemas só foram chamados de microemulsões e considerados como um tipo especial de dispersão coloidal após 1958, com os trabalhos de Schulman e colaboradores (HOAR; SCHULMAN, 1943).

Já na área farmacêutica, as MEs podem ser definidas como emulsões transparentes, onde um óleo ou um fármaco lipofílico é disperso em um meio aquoso, ou vice-versa. Essa emulsão conta ainda com um tensoativo ou as vezes esse tensoativo nem é necessário, e dessa forma é gerado um sistema termodinamicamente estável como demonstrado na figura 1 (OLIVEIRA et al., 2004).

Figura 1 – Estrutura das microemulsões em configuração A/O e O/A



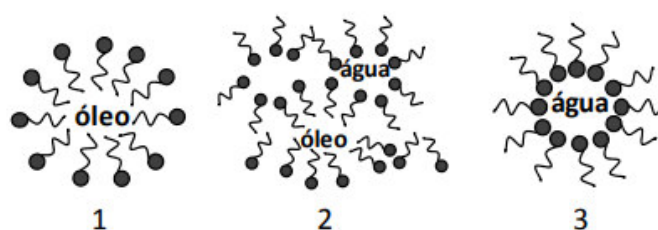
Fonte: OLIVEIRA et al. (2004)

Microemulsões com fase (O/W) são formadas principalmente por gotículas de óleo envolvidas em uma fase contínua aquosa. O componente lipofílico da mistura é encontrado em dispersões de gotículas presentes na região hidrofílica. Já as microemulsões com fase W/O apresentam um óleo envolvido por gotículas de água em uma fase contínua e dessa forma encontra-se que o componente hidrofílico está disperso na fase lipofílica contínua (OLIVEIRA et al., 2004 apud MO; ZHONG, 2000).

Entretanto, deve-se deixar claro que emulsões e microemulsões são diferentes em sua essencialidade. Uma das principais diferenças é que apesar das emulsões apresentarem uma estabilidade física, as mesmas são termodinamicamente instáveis e eventualmente acabam por separar suas fases (SHINODA; LINDMAN, 1987). Outra diferenciação pode ser através da aparência das mesmas, onde emulsões apresentam uma superfície turva enquanto microemulsões são transparentes e límpidas (LAWRENCE; REES, 2000).

As MEs podem ser classificadas quanto a sua polaridade apresentada na sua fase dispersa. Dessa forma, encontra-se três distintas classificações, como óleo-água (O/W), água-óleo (W/O) e bicontínuas. Tais classificações são representadas na figura 2 (REZENDE, 2013).

Figura 2 – Representação esquemática da classificação das microemulsões (1) óleo-água, (2) bicontínua e (3) água-óleo



Fonte: JÚNIOR et al.; 2003.

### 3.1.1 TEORIA DA FORMAÇÃO DE MICROEMULSÕES

A formação de sistemas de MEs depende de diversos fatores, um deles, o balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo. Essas propriedades não somente dependem da estrutura química, mas também da sua temperatura, força iônica e presença de co-tensoativos. A mistura de tensoativos que apresentam equilíbrio hidrófilo – lipofílico adequado tem a capacidade de proporcionar uma condição máxima de solubilização do óleo e da água. Dessa forma, a formação de sistemas de MEs envolvem uma combinação de três a cinco componentes, sendo as orientações O/W ou W/O dependentes diretamente das propriedades físicas do tensoativo e das proporções envolvidas de água e óleo (REZENDE, 2013; FORMARIZ et al.; 2005; OLIVEIRA et al., 1999).

Historicamente três teorias são continuamente utilizadas para a explicação de formação de microemulsões: teoria da interface ou mistura de filmes, teoria da solubilização e teoria de tratamentos termodinâmicos. Através de uma racionalização termodinâmica de  $\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S$  é possível se perceber que a energia livre para a formação de uma ME pode ser considerada como sendo dependente diretamente de qual surfactante é capaz de diminuir a tensão da superfície em uma interface O/W e mudar a entropia do sistema. Essa relação matemática possui o  $\Delta G_f$  responsável pela energia livre de formação, já o  $\gamma$  é o termo que representa a tensão superficial da interface O/W,  $\Delta A$  é a mudança na área interfacial da MEs,  $\Delta S$  é conhecido como o termo que representa a mudança na entropia do sistema, e por fim T, representa a temperatura. Um importante ponto a ser levado em consideração é que quando a MEs é formada, o termo  $\Delta A$  apresenta um valor muito grande e isso é causado pela formação de gotículas muito pequenas dentro da MEs. Deve-se notar que a energia livre de formação negativa acontece quando há uma grande redução na tensão superficial o que possibilita uma mudança favorável na entropia do sistema. Nesse caso, a MEs formada pode ser considerada espontânea e uma dispersão termodinamicamente estável (LAWRENCE; REES, 2000).

Os fatores que formam uma MEs podem ser determinados qualitativamente através de diversos fatores. E intuitivamente leva-se a acreditar que a mistura mais propensa a formar uma MEs é aquela na qual a fase apresenta um volume menor de formação de gotículas. Porém esse caso de formação de MEs não é exclusivo e a formação de MEs com um grande volume de gotículas também é possível. Na verdade, um fato curioso é que a MEs com fase O/W tem maior geração de gotículas na sua formação em comparação com a fase W/O. Além disso, no caso onde há a presença de surfactantes iônicos essa característica de volume de partículas é

atribuído a presença de uma dupla camada elétrica na superfície das gotículas da MEs com fase O/W onde acaba por introduzir um termo de repulsa muito forte entre as moléculas. E nas MEs, onde não há a presença de surfactantes, o fator de repulsa das moléculas pode ser atribuído a interações químicas estéricas (ZEMB et al.; 2016). Adicionalmente, é necessário deixar claro que é mais fácil provocar um arranjo de MEs onde haja um surfactante que possua uma interface com uma curvatura alta, com poucas gotículas e com cadeia estendida até a fase de óleo contínua. Esse arranjo é ainda termodinamicamente mais favorável, já que a cadeia de hidrocarbonetos fica direcionalmente livre. Como resultado, a tensão interfacial tende a diminuir para W/O mais do que para fase W/O fazendo com que a preparação da MEs seja um processo mais fácil. Entretanto, mesmo com as MEs termodinamicamente estáveis pode haver barreiras físicas para a formação das mesmas. Dessa forma, compreende-se que a ordem dos componentes adicionados à mistura pode impactar na formação da MEs e em alguns casos, é ainda necessário utilizar agitação mecânica ou aquecimento para que a formação seja mais rápida (SILVA et al.; 2015).

### 3.1.2 DIAGRAMA DE FASES DE SISTEMAS MICROEMULSIONADOS

A mudança progressiva da composição de uma mistura de solventes miscíveis causa mudanças que podem traduzir importantes variações nas propriedades termodinâmicas dos compostos que a envolvem. A observação dessas propriedades e sua evolução com a mudança de composição da solução pode oferecer informações específicas sobre a estrutura do meio (OLIVEIRA et al., 2004).

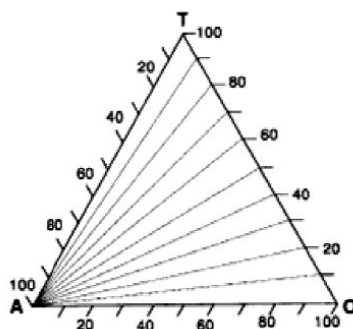
Nos sistemas microemulsionados, o objetivo principal é a determinação da combinação crítica entre os componentes envolvidos, de modo que seja possível a obtenção de uma solubilização máxima da fase dispersa (SHAH, 1998).

O diagrama de fases (figura 3) é capaz de descrever a condição experimental na qual é possível obter uma MEs e as regiões limites de transição entre emulsões, fases separadas e MEs com fase O/W ou W/O (OLIVEIRA et al., 2004).

A melhor forma de descrever esses sistemas de mistura de quatro componentes é através do diagrama de fases pseudoternário. Nesse tipo de diagrama, a fase aquosa, fase oleosa e a mistura de tensoativos/cotensoativos são representadas nos vértices de um triângulo (KHAN, 1996).

A utilização desse diagrama facilita na escolha de quais proporções são adequadas para a incorporação de um composto ativo na formulação de um fármaco, pois através da delimitação das regiões no diagrama de fases é possível observar a característica de cada fase e apontar quais os sistemas são translúcidos para a formação eficiente de uma MEs (FORMARIZ et al.; 2005).

Figura 3 – Representação esquemática do diagrama de fases onde (T) é tensoativo, (A) é fase aquosa e (O) é fase oleosa



Fonte: DAMASCENO; 2011.

### 3.2 Óleo essencial de *Duguetia Stelechantha*

O termo óleo essencial surgiu para representar um grupo de substâncias portadoras de aromas que são resultado de substâncias produzidas em seu metabolismo (SPERRY, 2000). Tais substâncias são frequentemente produzidas por estruturas secretoras como células glandulares, canais oleíferos dentre outras substâncias específicas (SIMÕES; MARIOT, 2003).

Óleos essenciais em plantas servem na natureza como mecanismos de defesa das plantas. E além disso inclui atividade bactericida contra gram-positivos e gram-negativos, antivirais, funções antifúngicas, funções inseticidas e defesa contra herbívoros. Esses compostos são ainda responsáveis por atrair abelhas e outros animais para realizar a dispersão de pólen e sementes (BAKKALI et al., 2008; RIVOAL et al., 2010).

O óleo essencial da planta de *Duguetia Stelechantha* é proveniente da família Annonaceae que possui uma diversidade de compostos químicos, advindos do metabolismo secundário. No Brasil, atualmente existem cerca de 386 espécies com 29 diferentes gêneros, e grande parte se encontra no Cerrado que é berço de 10 diferentes gêneros e 47 espécies (XAVIER et al., 2016).

Levando em consideração que a única diferenciação entre a *Annona Squamosa* L e a *Duguetia Stelechantha* é o fruto com diferentes colorações, é possível inferir que as mesmas apresentam quimiotipos semelhantes.

Ao estudar o extrato de sementes da espécie *Annona Squamosa* L descobriu-se uma atividade larvicida contra *Trichoplusia ni* (SEFFRIN et al., 2010). Já outros estudos realizados mostram que o óleo essencial obtido da casca do fruto possui atividade contra bactérias gram-positivo. Esse mesmo estudo demonstrou que esse óleo essencial tem alta porcentagem de óxido de cariofileno (cerca de 29,39%), componente que possui diversos estudos sobre sua atividade biológica (CHAVAN et al., 2006).

O óleo essencial de *Annona Squamosa* L extraído de casca, caules e folhas tem em sua composição grandes quantidades de  $\alpha$ -pineno, limoneno,  $\beta$ -cubebeno,  $\beta$ -cariofileno, espatulenol, óxido de cariofileno, e  $\alpha$ -cardinol (THANG et al., 2012).

O extrato ou o chá de *Annona Squamosa* L possuem propriedades hipoglicemiantes e antidiabéticas obtidas através do extrato etanólico das folhas e dessa forma apontam potencial de tratamento da diabetes mellitus, auxiliando no controle da insulina (NAIR; AGRAWAL, 2017).

Outro estudo apontou que o extrato aquoso de folhas de *Annona Squamosa* L pode melhorar sintomas de hipertireoidismo que é frequentemente considerado um fator causador de diabetes de diversos tipos (SHIRWAIKAR et al., 2004).

### **3.3 Aplicações dos óleos essenciais**

#### **3.3.1 ÁREA FARMACÊUTICA**

Os primeiros relatos do uso de produtos de origem natural para tratamento de enfermidades datam de 2000 anos a.C., nos livros sânscritos dos Ayurvedas. Esta prática corresponde ao sistema de medicina mais antigo do mundo conhecido até hoje, e ao exercício mais comum de medicina não alopática vivenciada na região da Índia, em especial na área rural (BOURRET, 1981; GOGTAY et al.; 2002). Já os antigos persas e egípcios conheciam óleos como o de Terebintina (obtido da madeira de pinheiro) e resina de mastiche (conhecido como *Pistacia Lentiscus*), que é sem dúvidas os primeiros óleos essenciais obtidos a partir da destilação a seco. Vasos de alabastros que foram localizados em tumbas antigas de faraós possuíam em seu interior óleos essenciais que datavam cerca de mais de 6000 anos (PRICE, 1994).



A Farmacopeia Portuguesa registra atualmente cerca de 50 fármacos preparados com plantas aromáticas. Esses fármacos apresentam partes das plantas sendo elas em forma pulverizada, frescos, secos ou em formas de óleo essencial. Além disso, os estudos dedicados a formulação dos fármacos de origem natural têm revelado um vasto número de compostos aromáticos, dos quais é possível obter extratos com elevado potencial terapêutico e que é de grande interesse para a indústria de medicamentos (CAVALEIRO, 2007).

As plantas que possuem em sua composição substâncias capazes de serem usadas com propósito terapêutico são muito utilizadas no cuidado da saúde tradicional e constituem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos (OLIVEIRA et al., 2006). Já na medicina popular, as plantas com esse potencial terapêutico são ministradas juntamente a medicamentos convencionais.

Anualmente a produção mundial de óleos essenciais é estimada em 110 mil a 120 mil toneladas e sua utilização não se restringe somente a aromaterapia, muitos são também empregados na indústria cosmética, alimentícia, de saneantes e até mesmo bebidas (GARLET et al., 2007). Além disso, pesquisas recentes indicam que essa prática milenar de curar enfermidades através da aromaterapia é uma forma de terapia complementar e pode estar associada a melhorias no tratamento de problemas de saúde como transtornos de humor e declínio cognitivo (HOROWITZ, 2011).

Além de todos esses atrativos que os óleos essenciais oferecem, a comunidade científica conseguiu ainda provar que dentre as atividades farmacológicas presentes em óleos essenciais é possível usar os mesmos como antinociceptivos, anticonvulsionantes e hipotensivos (BRITO et al., 2012).

### 3.3.2 ÁREA ALIMENTÍCIA

Na indústria alimentícia, os óleos essenciais são usados na produção de aromatizantes e conservantes, e fabricação de alimentos e bebidas em geral (DAVID et al., 2006).

Os óleos essenciais têm sido muito utilizados no preparo de alimentos em virtude do sabor e do aroma diferenciado que proporcionam ao produto final, contribuindo também para o aumento da vida de prateleira do produto, por inibir o crescimento do microrganismo indesejável que conseqüentemente causa a deterioração dos alimentos (TRAJANO et al., 2009).

A crescente preocupação da indústria alimentícia com a qualidade e segurança fez com que a mesma investisse em maneiras de controlar a proliferação de bactérias e fungos patogênicos em seus produtos. Com o crescente aumento do número de bactérias resistentes a

antibióticos existe um considerável interesse no estudo do efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de diferentes plantas, contra uma gama de bactérias, pois esses estudos visam utilizar o óleos essenciais como agentes antimicrobianos naturais na preservação dos alimentos e controle de infecções nos produtos gerados pela indústria (VICTÓRIA, 2010).

Embora os óleos essenciais sejam bastante estudados, o seu uso dentro da área alimentícia ainda é bastante limitado devido a avaliação de sabores dos produtos que devido a uma considerável quantidade de óleos essenciais para controle de microrganismos acaba por alterar o sabor e a sua conseqüentemente aceitabilidade como produto. Devido a esse fator, há uma demanda grande de estudos na área que busca conhecer as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) dos óleos essenciais, para que assim possa se atingir um equilíbrio entre eficácia no combate de microrganismos e aceitabilidade sensorial (KOUTSHOUMANIS et al., 1998 apud BUSATTA, 2006).

### 3.3.3 ÁREA COSMÉTICA

O primeiro uso de óleos essenciais para fins estéticos data da era dos egípcios, onde os óleos essenciais eram empregados em massagens de embelezamento, para proteger a pele do clima árido e também para evitar a decomposição de seus mortos, demonstrando assim que desde dessa época povos antigos já conheciam sua ação antisséptica. Tais informações se difundiram e é possível encontrar registros de óleos essenciais entre os povos antigos gregos e romanos (DE LA CRUZ, 1997).

O uso de medicamentos concomitantemente com soluções de plantas medicinais e/ou seus subprodutos pode atuar na área dermatológica causando fitodermatoses e muitas vezes colocando o paciente em risco, e isso pode ocorrer devido a uma irritação ou fotosensibilidade que o indivíduo apresenta ao medicamento fitoterápico (OLIVEIRA et al., 2006). Porém, seu uso ainda se demonstra benéfico para a indústria cosmética já que óleos essenciais são extensivamente utilizados na produção de protetores solares, loções antissépticas, desodorantes, produtos de higiene e perfumes (KORAC et al., 2011; SANTOS et al., 2009).

## 3.4 Aplicações das microemulsões

### 3.4.1 ÁREA FARMACÊUTICA

O emprego de MEs na área farmacêutica é relativamente recente e, devido às potenciais vantagens fornecidas, elas têm desenvolvido grande interesse como sistemas de liberação de drogas (JÚNIOR et al., 2003).

O interesse na aplicação das MEs como veículos de liberação de fármacos se deve à capacidade desses sistemas de solubilizar substâncias hidrofílicas e lipofílicas ao mesmo tempo, assim como, de melhorar a solubilidade e estabilidade dos fármacos. A presença de emulsionantes utilizados na preparação das MEs auxilia no aumento da permeabilidade da membrana celular, conseqüentemente facilitando a absorção do fármaco, possibilitando uma maior biodisponibilidade do mesmo (BAGWE et al., 2001). Devido à formação espontânea desses sistemas, fatores como intensidade e duração da agitação, temperatura, tempo de emulsificação, entre outros, podem ser evitados, sendo possível, também, a esterilização por filtração devido a baixa viscosidade por elas apresentada. Esses fatores tornam as MEs bastante atrativas do ponto de vista da produção farmacêutica (GASCO, 1997).

No entanto, as MEs apresentam como desvantagem à utilização de elevadas concentrações de emulsionantes e co-emulsionantes em relação às outras emulsões, o que pode levar a causar de irritação local aplicado. Dessa forma, esses surfactantes, além de apresentarem como objetivo principal permitir a formação dos sistemas devem ser atóxicos para utilização em produtos farmacêuticos. No entanto, esta barreira no uso de surfactantes varia dependendo do uso pretendido e da preparação em questão, havendo maior disponibilidade de substâncias para produtos que visam a administração cutânea, maiores restrições aos que se destinam à via oral e, principalmente, aos que devem ser preparados de forma estéril (parenterais e oftálmicos) (JÚNIOR, et al., 2003).

A administração de fármacos nas suas diversas formas como soluções, suspensões, géis e pomadas é o método mais comum de tratamento de doenças oculares. Entretanto, essa via apresenta alguns problemas como a baixa biodisponibilidade e além disso, pode ainda ocorrer a perda da droga pela circulação sistêmica e a baixa, ou praticamente inexistente, penetração da formulação no segmento posterior do olho. Geralmente, apenas 5% da dose administrada atinge os tecidos intraoculares através da penetração corneal, enquanto que a grande parte é absorvida sistemicamente pela conjuntiva e duto nasolacrimal podendo causar reações adversas em diversas partes do organismo. Para se atingir o nível adequado de fármaco penetrado, são necessárias elevadas concentrações e/ou frequentes administrações, o que pode aumentar o risco de efeitos adversos sistêmicos e interações medicamentosas (JÚNIOR, et al., 2003).

Devido a estas dificuldades, veículos como as MEs podem se tornar uma alternativa interessante por apresentarem transparência, estabilidade termodinâmica, baixa viscosidade e facilidade de produção e de esterilização, além do aumento da solubilidade e estabilidade de drogas, podendo proporcionar um aumento da biodisponibilidade, principalmente para drogas pouco solúveis (JARVIEN; URTTI, 1995).

### 3.4.2 ÁREA ALIMENTÍCIA

Certas comidas possuem naturalmente formação de MEs como é o caso do estado funcional de lipídeos que tem sido utilizado em alimentos. As MEs podem também ser formadas naturalmente no intestino humano durante a digestão no processo de absorção de gordura. Entretanto, a área de formação de MEs para utilização em alimentos é uma área negligenciada na tecnologia de alimentos. Potenciais como alta solubilização de componentes, eficiência de reações enriquecidas e técnicas de extração poderiam ser largamente utilizadas na área de tecnologia de alimentos (PAUL; MOULIK, 2001).

A maior diferença entre alimentos e MEs é a composição do óleo, onde em alimentos o óleo é formado por triglicerídeos e em MEs é um hidrocarboneto (comumente um óleo mineral). Ainda segundo Paul e Moulik (2001), a própria molécula de triglicerídeo tem uma superfície ativa que por sua vez causa uma incapacidade de formar um domínio de fase óleo separado (em um sistema anfifílico-água), os óleos minerais tem uma situação similar. Isso implica em dizer que a faixa de composição de um sistema que envolva óleo-água-surfactante, onde o óleo é um triglicerídeo, é muito menor do que a faixa que permite a formação de MEs quando o óleo utilizado na formulação é um hidrocarboneto.

Surfactantes que podem ser utilizados em alimentos como fosfotidocolina (lectina), AOT e monoestearato / monolaurato de sorbatina (Tweens) têm sido extensivamente estudados no que diz respeito a formação de MEs de ordem O/W e W/O (STAUFER, 1992). Trabalhos mais recentes buscam revisar informações atuais sobre MEs O/W e W/O formadas com materiais de grau alimentício, mistura alimentar complexa (cristal líquido, géis), além da possibilidade de incorporação de ingredientes alimentícios que tragam sabor, conservantes e vitaminas envolvidas em MEs, potencial das MEs para extração de componentes alimentícios de uma mistura complexa. Além dessas áreas de estudo, Larsson et al. (1991) estudaram sistemas lipídicos comestíveis que formaram MEs e suas possíveis aplicações. Pesquisas recentes mostraram ainda que MEs com cera de carnaúba formam melhores revestimentos protetores em frutas cítricas do que a goma-laca, e um estudo como esse é importante pois os

revestimentos de proteção minimizam o peso, a perda e a oxidação interna do produto ativo. Ou seja, no mercado alimentício uma fruta revestida com MEs de cera de carnaúba mantém uma melhor aparência após a lavagem e secagem o que é uma vantagem significativa para produtores e consumidores que perdem produtos alimentícios pela oxidação do mesmo durante o processo de armazenamento.

### 3.4.3 ÁREA COSMÉTICA

Produtos de *skin-care* têm se tornado de grande interesse para a indústria de cosméticos. A absorção percutânea de substâncias cosméticas, como por exemplo hidratantes, agentes branqueadores e agentes antioxidantes é baixa devido a uma barreira natural da pele humana chamada de camada córnea. Essa camada mais superficial é formada em sua essencialidade por células mortas. Ao longo dos anos, várias maneiras de penetrar essa barreira foram propostas, chegando-se a conclusão que as MEs têm uma formulação capaz de penetrar na pele e liberar substâncias e medicamentos melhor do que substâncias que se encontram em uma simples solução com doses tradicionais (BOONME, 2007).

Muitos trabalhos foram desenvolvidos ao longo dos anos para explicar os benefícios das ME para diversas indústrias. Um deles, descreve que o álcool cetílico e o ácido octil dimetil para-aminobezoico (PABA) formulado com MEs foram capazes de penetrar através da pele em doses maiores do que em cremes e loções (LINN et al., 1990).

Alguns mecanismos foram propostos para explicar como as MEs são superiores na propriedade de penetração e liberação de substâncias na pele:

- A grande quantidade de princípio ativo presente na formulação da MEs proporciona alto poder de solubilização;
- As MEs podem aumentar o fluxo transdermal, uma vez que as mesmas podem permitir a modificação da atividade termodinâmica dos princípios ativos para favorecer a distribuição na camada córnea (DELGADO, 1997);
- Os surfactantes da MEs podem reduzir a barreira difusiva da camada córnea da pele;
- MEs podem trabalhar reservando em seu interior e preservando ingredientes ativos importantes, liberando-os controladamente na pele;
- MEs podem ter suas partículas se rompendo dentro da camada córnea liberando substâncias diretamente no interior da pele (PELTOLA, 2003);

- Percutânea penetração na pele pode ocorrer devido a hidratação natural promovida na pele após as rupturas de partículas de MEs na camada interna córnea (PELTOLA, 2003);
- Nano partículas presentes dentro das MEs podem se locomover livremente dentro da pele pois estão dispersas em uma fase contínua de MEs que é compatível com a derme (SINTOV, 2006).

### 3.5 Teste De Estabilidade

No mercado brasileiro, a Lei Nº 8.078/1990 É a lei dos direitos do consumidor, regulamentando a necessidade dos consumidores serem informados de forma clara sobre o prazo de validade e sobre os riscos à saúde e segurança dos produtos. Já no mercado externo, mais especificamente no mercado europeu, o regulamento REACH (Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de substâncias químicas) determina que é necessário um estudo de estabilidade que possibilite o fornecimento de informações declaradas essenciais para o consumidor. Um teste de estabilidade tem como propósito fornecer evidências de como a qualidade de um produto varia com o tempo sob a influência de diversos fatores como a temperatura, a umidade e a luz. Nesse caso, o teste de estabilidade tem como função fornecer um prazo de validade além de recomendações sobre armazenamento do produto em questão. O prazo de validade do produto fica então definido como o tempo, desde sua fabricação, em que o produto consegue manter suas características de qualidade dentro de padrões estabelecidos por lei (ORIQUI; MORI; WONGTSCHOWSKI, 2013).

Como não há um Guia de Estudos de Estabilidade específico para todos os segmentos, geralmente as indústrias químicas se baseiam em guias nacionais e internacionais vigentes para o segmento farmacêutico e cosméticos como o ICH Q1A(R2) Stability testing of new drug substances and drug products e o Guia de estabilidade de produtos cosméticos da ANVISA.

Segundo a Farmacopeia Americana (2007) a estabilidade é definida como a amplitude na qual um produto conserva suas mesmas características que possuía no momento da sua fabricação desde sua fabricação até armazenamento e eventual uso.

No desenvolvimento de produtos em geral, a realização do estudo de estabilidade é de suma importância, afinal é através do mesmo que é possível realizar a avaliação sobre as propriedades físicas, químicas, microbiológicas e toxicológicas, e se as mesmas se manterão ao longo da vida útil do produto. Dessa forma, nesse tipo de estudo, amostras das formulações são avaliadas após serem submetidas sob determinadas condições de temperatura, umidade e luminosidade, que podem acelerar a velocidade de degradação química de princípios ativos e

causar alterações físicas e alterar na qualidade microbiológica e toxicológica (MAIA, 2002; ANVISA, 2004).

Em emulsões o fator de instabilidade está localizado justamente nas reações de oxidação, que são capazes de provocar alterações do odor e aparência do produto. Esse tipo de oxidação pode ser causado diretamente pelo oxigênio atmosférico ou ainda pela ação de microrganismos, especialmente na fase oleosa (ZANON, 2010).

A adição de conservantes em formulações pode evitar a deterioração e aumentar o tempo de vida do produto garantido estabilidade ao mesmo (LACHMAN, 2001).

O estudo de estresse térmico é um exemplo de estabilidade e utiliza principalmente a temperatura e o tempo como mediadores da qualidade de um produto. Através desse teste é possível determinar se o envelhecimento do produto causa alteração na sua composição, viscosidade ou interfere na sua estabilidade (MORAIS, 2006).

A temperatura pode afetar a estabilidade de um produto industrial através do aumento da velocidade de uma reação, pois dessa forma a temperatura ocasiona uma alteração na: atividade de componentes presentes na mistura, viscosidade, aspecto, cor e odor do produto. Já em baixas temperaturas pode ocorrer alterações físicas como precipitação, cristalização e turvação. Essa alteração no produto pode ser reduzida através da correta seleção do armazenamento, seja à temperatura ambiente, sob refrigeração ou sob congelamento (BRASIL, 2004; THOMPSON, 2006).

### **3.6 Cromatografia**

Uma técnica muito utilizada para separação de diferentes componentes presentes em uma mistura complexa é a cromatografia.

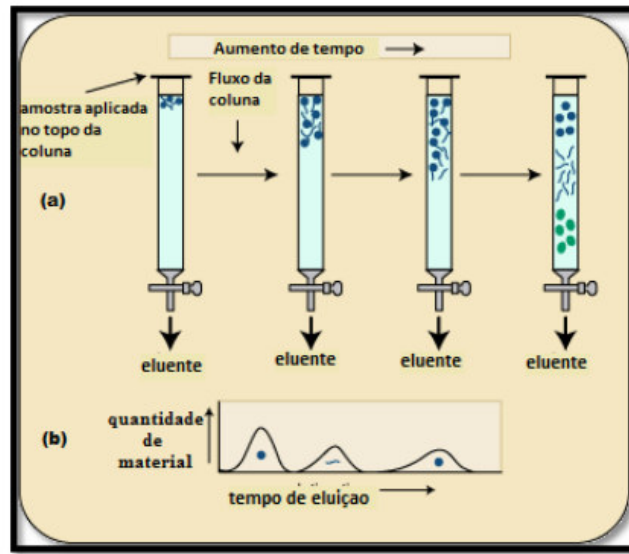
Nesse processo a separação se dá através da migração diferencial dos componentes dessa mistura analisada e vai ocorrer através das diferentes interações do analito e das duas fases móvel/estacionária, ou seja, quando uma fase móvel flui através de uma fase estacionária (RAMOS, 2014; SILVA, 2019).

A figura 4 mostra a separação de três componentes hipotéticos por meio de uma cromatografia líquida de coluna para exemplificação de como o processo realmente ocorre.

A fase estacionária é a correspondente a coluna de vidro através da qual a fase móvel irá escoar continuamente. É então, que as moléculas irão se separar diferencialmente através das fases apresentadas. Aqueles componentes que apresentarem maior interação com a fase estacionária irão consequentemente passar menos tempo na fase móvel e se deslocarão

lentamente através da coluna de vidro. Caso a fase estacionária apresentar interação seletiva com os componentes a serem separados é possível realizar a separação usando o processo de eluição como demonstrado na figura 4 (RAMOS, 2014).

Figura 4 – Diagrama esquemático ilustrando o processo de eluição cromatográfica e a correlação entre o processo de eluição e a formação do pico.



Fonte: Ramos (2014, p. 18)

A figura 4 representa o registro gráfico do processo de separação obtido através da plotagem da resposta de um detector ou pesagem das frações em função do tempo ou volume de eluição. Segundo Ramos (2014) esta figura representa que o componente verde permanece menos tempo retido na coluna por apresentar menos interação com a fase estacionária deixando a coluna em um tempo inferior ao componente azul.

Os principais tipos de cromatografia podem ser tidos como sendo a cromatografia em papel (CP), cromatografia de camada delgada (CCD), cromatografia gasosa (CG), cromatografia em fluido supercrítico, cromatografia líquida clássica (CLC) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC) (SILVA, 2019).

### 3.6.1 CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTROMETRO DE MASSAS (CG/EM)

A cromatografia gasosa moderna foi desenvolvida por Martins e James em 1952, onde ainda na década de 60 houve um rápido desenvolvimento e aceitação pelas áreas científicas. Nesse tipo de separação de componentes de uma amostra através da cromatografia, há uma separação de fato através da interação individual de cada componente da mistura com a fase

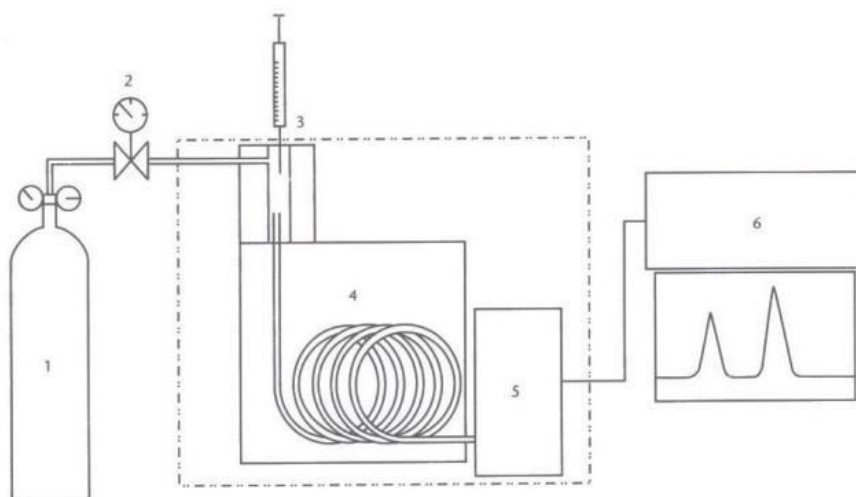


estacionária da coluna. A interação desses analitos pode ser através de características em comum com a fase estacionária além da temperatura de ebulição.

Na cromatografia gasosa, a fase móvel serve apenas para arrastar os analitos pela coluna cromatográfica, não havendo nenhuma interação entre os dois (BRITHWAITE; SMITH,1996).

O equipamento cromatográfico (figura 5) possui partes fundamentais, tais como: 1) Fonte de Gás de arraste que geralmente é o Hélio. Esse gás então leva a mistura pela coluna; 2) Um controlador de vazão e pressão; 3) Sistema de injeção da amostra, onde possui um aquecimento para volatilizar amostras líquidas e sólidas; 4) Coluna cromatográfica que é um tubo longo que pode ser de materiais como vidro, cobre, alumínio e aço inoxidável, e denominada de fase estacionária; 5) Sistema de detecção onde as amostras separadas serão detectadas; 6) Sistema de Registro e tratamento de dados que interpreta os sinais recebidos pelo detector, transformando esses sinais em gráficos onde é possível estabelecer a relação entre o tempo de retenção e a intensidade do sinal, permitindo assim os cálculos de concentração dos analitos presentes na amostra através da área de cada pico (BONATO, 2006).

Figura 5 – Partes de um equipamento de cromatografia: 1 – Fonte de gás de arraste; 2 - Controlador de vazão e pressão; 3 – Sistema de injeção da amostra; 4 - Coluna cromatográfica; 5 – Sistema de detecção; 6 – Sistema de registro e tratamento de dados.



Fonte: BONATO (2006).

Os detectores localizados ao fim do cromatógrafo têm como função detectar os constituintes da mistura após a separação na coluna que estão presentes no gás eluente. Esse

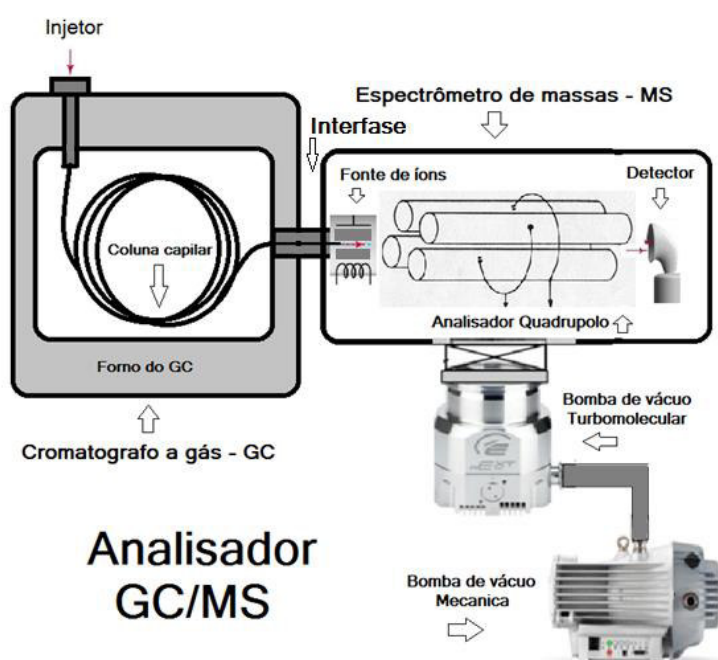
detector é responsável pela transdução dos sinais de moléculas que chegam até ele, em sinais elétricos que são transformados em gráficos no sistema de tratamento e registro de dados.

A utilização de um espectrofotômetro de massa acoplado a um cromatógrafo gasoso (figura 6) permite a separação e identificação dos mais diversos tipos de mistura. (RODRIGUES et al., 2006).

Como exemplo do emprego de tais equipamentos tem-se o controle na produção de medicamentos produzidos a partir de matéria-prima vegetal (RODRIGUES et al., 2006).

Nos cromatógrafos a gás a amostra em qualquer estado físico é injetada e a elevação da temperatura no sistema injetor favorece a vaporização da amostra. Quando a elevação da temperatura é alta o suficiente para transformar a amostra em estado gasoso, esse mesmo é arrastado pela coluna. Por vez, essa coluna é constituída de sílica fundida com diâmetro de 0.1 mm com fase estacionária interna polar ou apolar, onde a mesma irá ter ou não ter afinidade com a amostra. E dessa forma, a programação da temperatura da coluna vai influenciar na separação dos analitos presentes na amostra. Essa separação vai ocorrer devido as características, tais como, volatilidade, ponto de ebulição, estabilidade térmica do produto, além do peso molecular. Cada componente dentro da amostra apresentará diferente tempo de retenção na coluna, e ao chegar no fim da coluna, segue para o detector.

Figura 6 – Diagrama esquemático de um CG/EM.



Fonte: Redígolo (2020).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

O óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* utilizado nesse estudo em questão foi obtido na região de Morros – Maranhão. As plantas das quais foram retiradas as folhas para a preparação do óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* se encontravam localizadas na coordenada geográfica de S 2°43'56,8" e W 44°51'27,8" em Morros.

As folhas foram retiradas das plantas durante as quatro estações do ano, 3 vezes ao dia (manhã, tarde e noite) e realizado uma homogeneização das mesmas, e então armazenadas em papelões para secagem à sombra.

O óleo babaçu, da marca Babaçu Boa Vista, 100% puro, extraído da amêndoa crua e adquirido de um produtor maranhense, foi armazenado em ambiente com pouca incidência de luz e livre de umidade.

Outros reagentes utilizados foram: álcool etílico absoluto (pureza de 99,5%, marca Quimex®, lote A00227), Span 80 (marca Sigma – Aldrich®, MKCC4031) e Tween 80 (marca Vetec®). Todos esses reagentes também foram armazenados ao abrigo da luz e longe de umidade e calor.

### 4.2 Local da pesquisa

Segundo Martins (2016, p. 4, apud UEMA NUGEO, 2016):

O município de Morros está localizado na mesorregião norte maranhense e na microrregião de Rosário e faz parte da Bacia Hidrográfica do Rio Munim à margem direita a 2°37' 45, 16" de latitude sul; 44° 06' 46, 75" de longitude a oeste de Greenwich; distante 60 km em linha reta da cidade de São Luís, assim como a 90,7 km por via rodoviária com coordenadas de 2°43'02.2" S 44°51'01.5" W .

O clima na região de Morros é descrito como sub-úmido com uma temperatura média anual de aproximadamente 26 °C. Além disso, a região apresenta uma umidade relativa do ar de 78% e as precipitações pluviométricas médias variam entre 1900mm a 2300mm por ano. Logo, a região apresenta um clima com períodos de chuva e estiagem bem definidos durante o ano. Já o solo apresenta características de ARGISSOLO Vermelho Amarelo Pétrico, NEOSSOLO Quartzarênico e LATOSSOLO Amarelo (REIS et al., 2017).

Após a coleta da planta no município de Morros, todas foram encaminhadas para o Laboratório de Química da Universidade Federal do Maranhão (UFMA Campus São Luís) para

a obtenção do óleo essencial. Em seguida, no Laboratório de Petróleo e Sistemas Complexos, foram preparadas as microemulsões e algumas análises de estabilidade foram feitas no laboratório do Núcleo de Combustíveis, Catálise e Ambiental -NCCA também situado na UFMA Campus São Luís.

### 4.3 Instrumentos/equipamentos/software utilizados

O equipamento CG/EM (Figura 6) em si é constituído basicamente de um injetor, uma coluna e um detector, que no caso é o Espectrômetro de Massa.

As especificações do CG/MS do laboratório de Núcleo de Combustíveis, Catálise, e Ambiental - NCCA do departamento de Química da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, utilizado para as análises de microemulsão com OE, estão contidas na tabela 1.

Tabela 1 – Especificações do CG/EM empregado nas análises

|                 |                                                                                                        |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Modelo CG       | CG-2010                                                                                                |
| Marca           | Shimadzu                                                                                               |
| Detector (MS)   | CG-EM QP2010 Plus                                                                                      |
| Coluna          | Coluna capilar DB-5MS com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, com partículas de 0.25 µm. |
| Modo de Injeção | SPLIT                                                                                                  |

Fonte: Próprio Autor (2021).

### 4.4 Análises, métodos e procedimentos experimentais

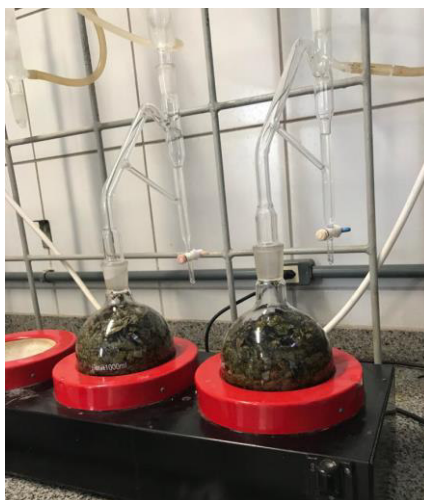
#### 4.4.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Duguetia Stelechantha*

Entre os diferentes métodos de extração capazes de isolar óleos essenciais de plantas aromáticas, um dos mais utilizados é o da hidrodestilação, que foi aqui utilizado a extração do óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* .

As folhas secas de *Duguetia Stelechantha* apresentaram uma umidade média de 12,80%. Para o processo de hidrodestilação, dois balões volumétricos foram preenchidos com 150g de folhas secas de *Duguetia Stelechantha* cada, e em seguida, receberam a adição de 500

ml de água destilada. O processo, empregando o aparelho de Clevenger (figura 7), foi conduzido à 100 °C por aproximadamente 2,5h a 3h. O óleo obtido foi armazenado em pequenos frascos vedados, protegidos da luz e refrigerados, tal método experimental possui arranjo semelhante a extração do óleo essencial de menta por hidrodestilação apresentado por Oliveira (2012).

Figura 7– Hidrodestilação das folhas de *Duguetia Stelechantha* no aparelho de Cleveger.



Fonte: Próprio Autor (2021).

#### 4.4.2 FORMULAÇÃO DA MICROEMULSÃO

Foi selecionada uma formulação com proporção óleo:surfactante:água de 5:5:1, em fase O/W, com concentração de 20% do óleo essencial de *Duguetia Stelechantha*, previamente testada e avaliada como positiva para a formação da microemulsão. A tabela 2 apresenta as de reagentes empregados para a formulação da microemulsão.

Tabela 2 – Quantidade de cada reagente utilizado na formulação de ME com OE

| Span 80 (g) | Tween (g) | Óleo babaçu<br>(g) | Óleo<br>essencial (g) | Água<br>deionizada(g) | Etanol(g) |
|-------------|-----------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
| 1,749       | 0,748     | 2,0008             | 0,5002                | 0,263                 | 0,263     |

Fonte: Próprio Autor (2021).

Cada reagente foi adicionado em um tubo de ensaio na ordem e quantidades apresentadas na tabela 2. O tubo de ensaio foi então agitado manualmente até que os reagentes fossem misturados. A microemulsão foi então armazenada em um local com pouca incidência

de luz, calor e umidade até que sua utilização nos testes. A formulação foi desenvolvida em duplicata para as temperaturas de 60° C e 30 °C na qual serão expostas (figura 8).

Figura 8 – Duplicada dos tubos de ensaio com a microemulsão com proporção 5:5:1 e o branco com óleo essencial puro.



Fonte: Próprio Autor (2021).

#### 4.4.3 ANÁLISE NO CROMATÓGRAFO A GÁS (CG)

A análise das microemulsões foram realizadas em um cromatográfico a gás (CG-2010) acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM QP2010 Plus). Tal análise é realizada inserindo uma quantidade da amostra de 500  $\mu$ L, com uma seringa de 2,5 mL e em uma temperatura de incubação de 85°C. O arraste dessa amostra através da coluna é realizado utilizando o gás Hélio, a uma velocidade linear de 47,5 cm/seg com um fluxo de coluna de 1,0 mL/min. A programação do forno de aquecimento obedeceu a uma temperatura de 35°C por 6 min com uma rampa de aquecimento de 10°C/min até a temperatura de 240°C permanecendo por 10 min. Além disso, a temperatura do injetor e da fonte de íons foram de 250°C e 200°C respectivamente. E o modo de injeção adotado foi o Split com razão de 1/30 e um tempo de corrida de 36,50 min. Essas condições de análise são uma versão modificada nas condições sugeridas por Alves (2014). Os resultados obtidos pelo Espectrômetro de massas para a quantificação foram realizados

por normalização das áreas dos picos, e a identificação através da Biblioteca do Equipamento NIST08 (*National Institute of Standards and Technology*).

#### 4.4.4 TESTE DE ESTABILIDADE PARA FORMULAÇÃO DE MICROEMULSÃO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Duguetia Stelechantha*

O estudo da estabilidade é considerado um importante parâmetro para avaliar a segurança, eficácia e qualidade de compostos presentes na formulação de um fármaco (MIRCO; ROCHA, 2015).

Construiu-se duas caixas pretas (figura 9), onde as microemulsões ficam isoladas do ambiente externo. Essas caixas juntamente com os tubos de ensaio com as microemulsões foram então dispostas no interior de duas incubadoras, sendo uma operando a temperatura de 60°C e a outra, a 30°C.

No primeiro dia da formulação das microemulsões, as mesmas foram testadas no CG/EM para registrarem a medição no dia zero. Em seguida, as amostras nos tubos de ensaio foram transferidas para as caixas e respectivas incubadoras onde as mesmas permaneceram por 36 dias até a última medição.

Figura 9 – Caixa preta para teste de degradação.



Fonte: Próprio Autor (2021).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

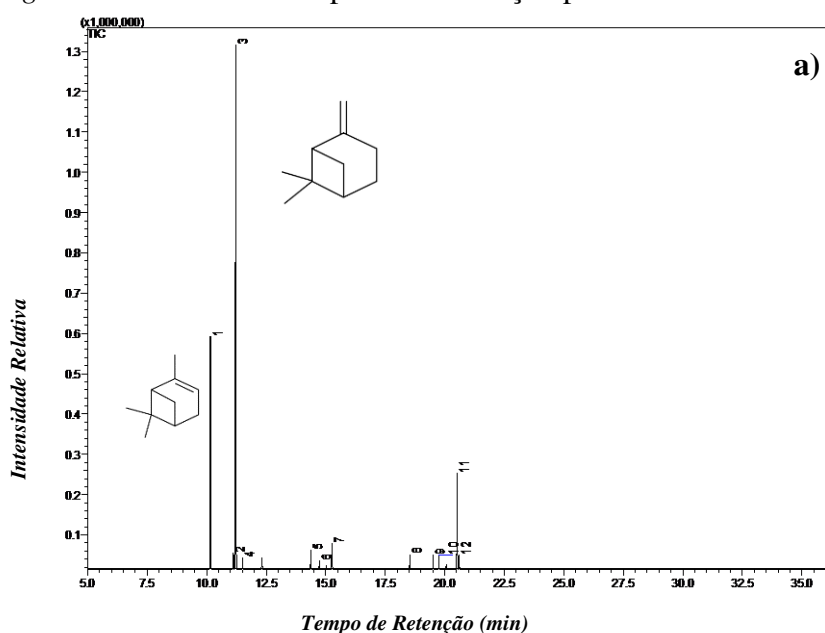
### 5.1 TESTE TÉRMICO DA ESTABILIDADE DA DEGRADAÇÃO

Para a análise de estabilidade, o teste de estresse térmico foi empregado como uma ferramenta útil para a determinação da susceptibilidade de uma microemulsão contendo um óleo essencial degradar a uma determinada temperatura, pois através do mesmo é possível estimar a ocorrência de possíveis processos de instabilidade em produtos durante a sua preparação ou armazenamento (CAMARGO, 2008).

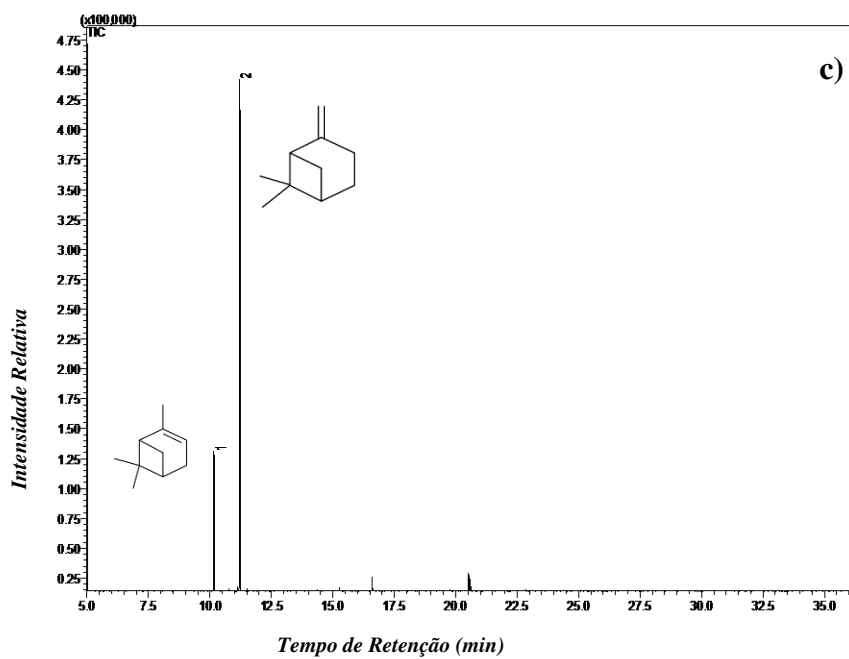
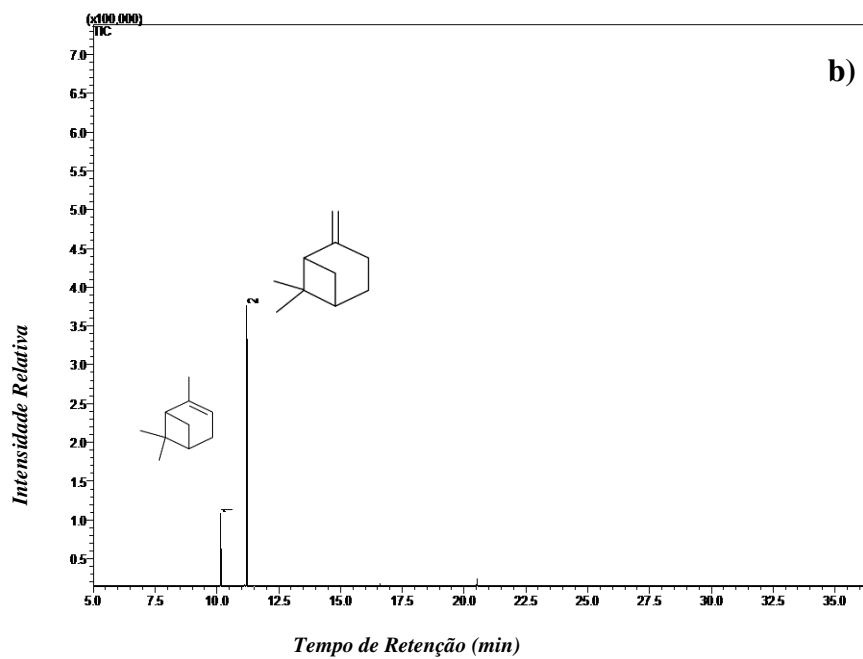
Através das análises realizadas no CG/EM percebe-se na figura 10 e 11 (a), (b) e (c) que os picos majoritários se tratam dos marcadores  $\alpha$ -Pineno e  $\beta$ -Pineno. Essas espécies são um grupo de monopertenos muito conhecidos e presentes em muitos óleos essenciais. Além disso, esses monopertenos possuem uma ampla gama de atividades farmacológicas, incluindo modulação da resistência a antibióticos, anticoagulante, antitumoral, antimicrobiano, antimalárico, antioxidante, anti-inflamatório, anti-leishmania e efeitos analgésicos (SALEHI et al., 2019).

Ao comparar as amostras A e B com o branco nota-se inicialmente que os compostos mais significativos é o 1R- $\alpha$ -Pineno e  $\beta$ -Pineno. A presença desses componentes como majoritários estão de acordo com os resultados encontramos por Campos et al. (2014), que afirma a presença do  $\alpha$  e  $\beta$ -Pineno como marcadores majoritários do óleo essencial de *Duguetia Stelechantha*.

Figura 10 – Cromatogramas para temperatura de 30°C. a) Cromatograma da análise do CG/EM do com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na primeira medição, – b) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na primeira medição para tubo A, – c) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na primeira medição para tubo B.

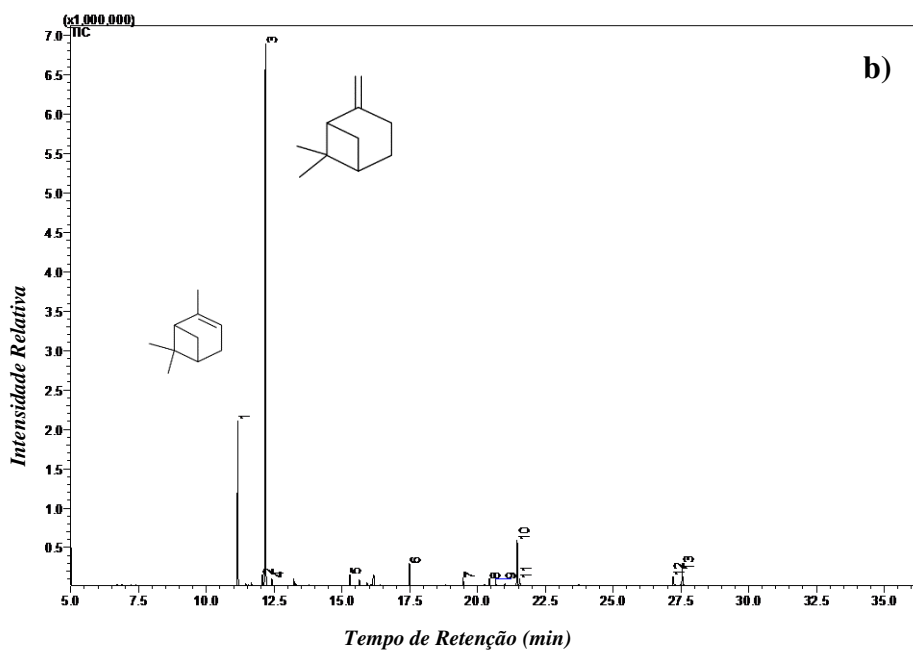
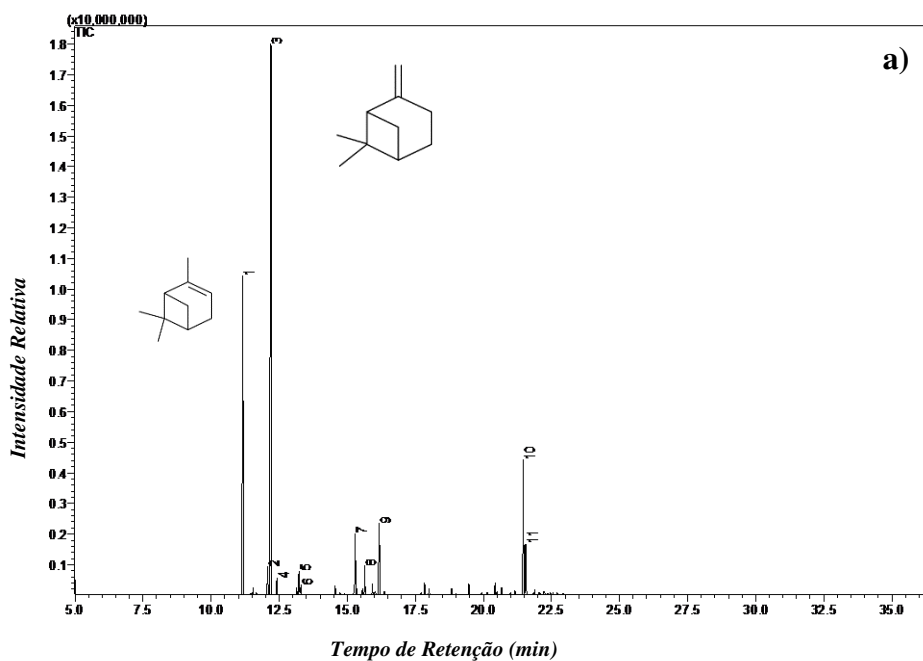


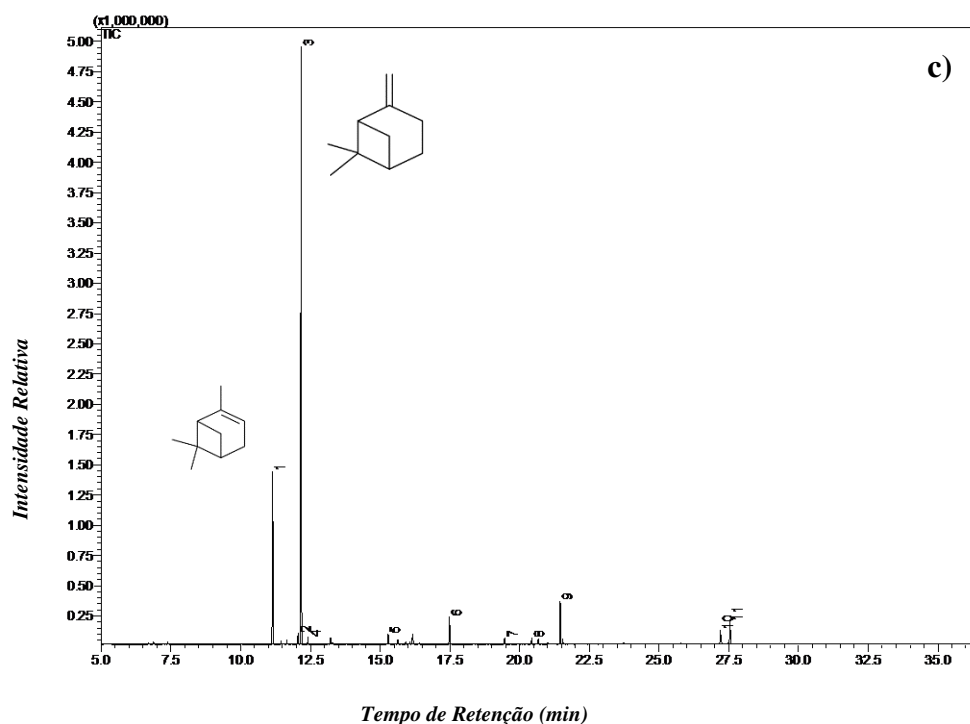




Fonte: Próprio Autor (2021).

Figura 11 – Cromatogramas para temperatura de 30°C. a) Cromatograma da análise do CG/EM do com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na segunda medição, – b) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na segunda medição para tubo A, – c) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na segunda medição para tubo B.





Fonte: PróprioAutor (2021).

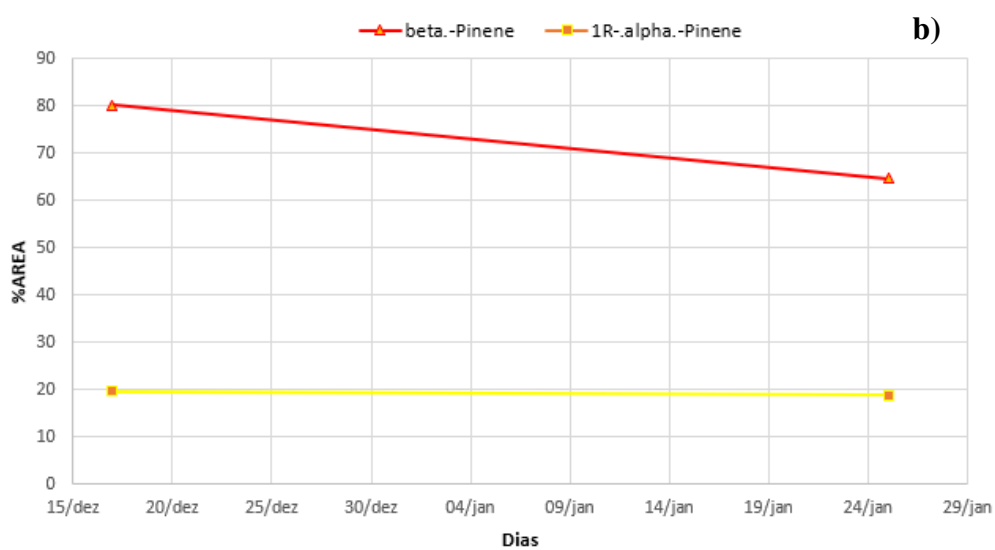
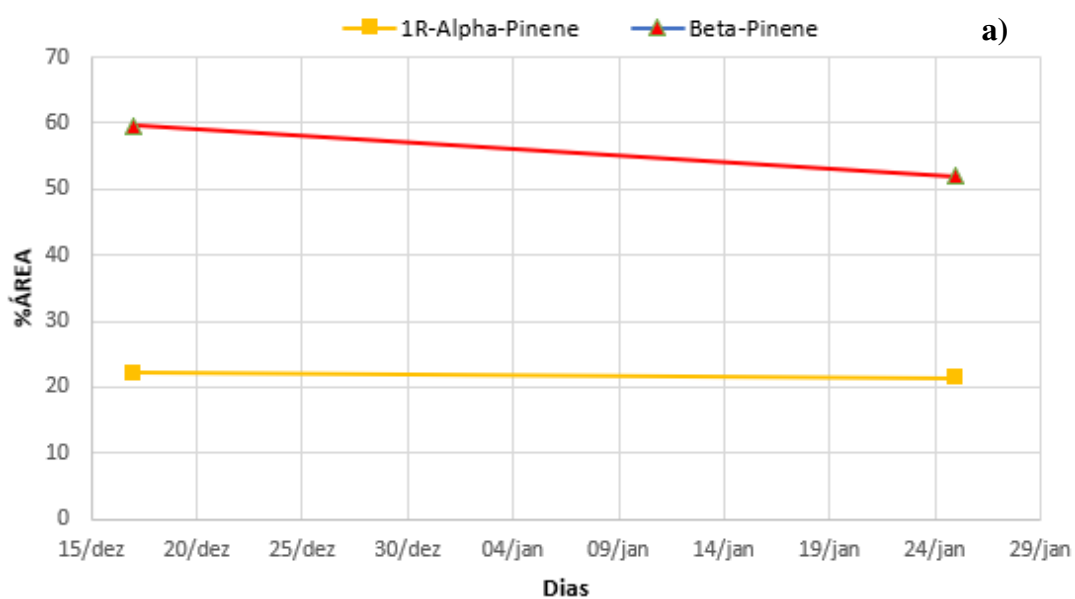
No teste de estabilidade a inserção do óleo essencial puro, e a amostra A e B no CG/EM na temperatura de 30°C respectivamente geraram os perfis gráficos apresentados na figura 12 (a), (b) e (c) que mostram as espécies moleculares mais significativas dentro da amostra, ou seja, aquelas que obtiveram maior %área no CG/EM.

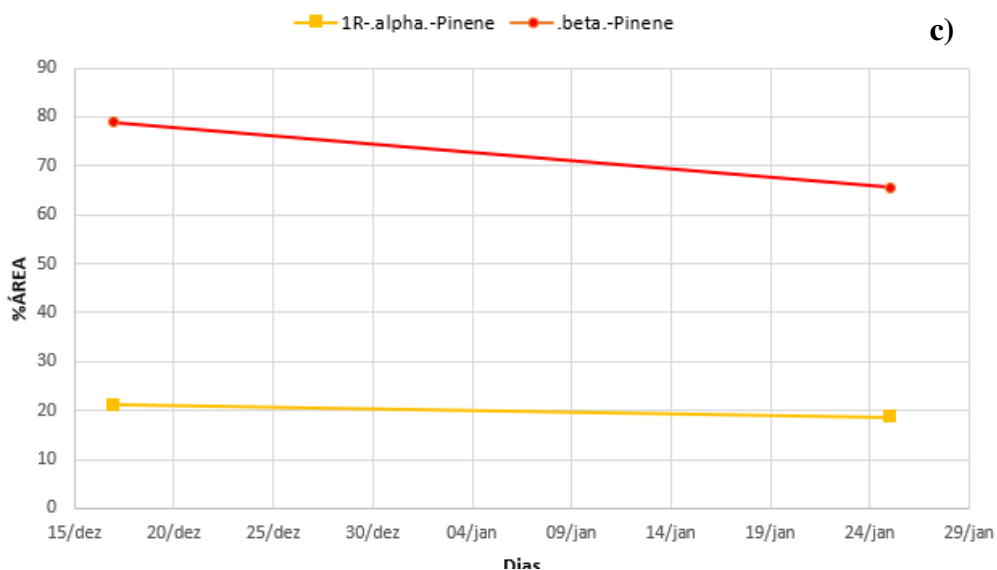
Essas espécies no decorrer dos dias apresentam nos cromatogramas uma degradação clara, decrescente e linear, sendo a espécie  $\beta$ -Pinoeno a mais afetada pela degradação com o maior declínio nos gráficos. Já a  $\alpha$ -Pinoeno se mantém relativamente estável nessa temperatura de 30°C.

Pelos resultados obtidos ao analisar a estabilidade da microemulsão com o óleo essencial de *Duguetia Stelechantha*, verificou-se que houve um efeito significativo do fator de aquecimento da temperatura para 30°C, influenciando diretamente na porcentagem de  $\alpha$ -Pinoeno (22,11% BRANCO, 19,57% A, 20,06% B) no tempo de 0 dia. E variando essa porcentagem de  $\alpha$ -Pinoeno no tempo de 36 dias do experimento para (21,41% BRANCO, 18,82% A, 18,59% B). Uma variação de cerca de 0,65% entre os valores iniciais e finais.

Já o  $\beta$ -Pinoeno apresenta um efeito da degradação ainda mais agressivo na temperatura de 30°C, onde as concentrações de  $\beta$ -Pinoeno iniciais no dia 0 são (59,68% BRANCO, 80,26% A, 78,94% B) e no dia 36 do experimento apresenta concentrações (52,01% BRANCO, 64,66% A, 65,64% B). Variação de cerca de 12,19% entre os valores iniciais e finais.

Figura 12 – Relação da %área versus dias das amostras para temperatura de 30°C. a) Amostra com óleo essencial puro para os marcadores  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno. b) Amostra A de microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* para os marcadores  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno. c) Amostra B de microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* para os marcadores  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno.

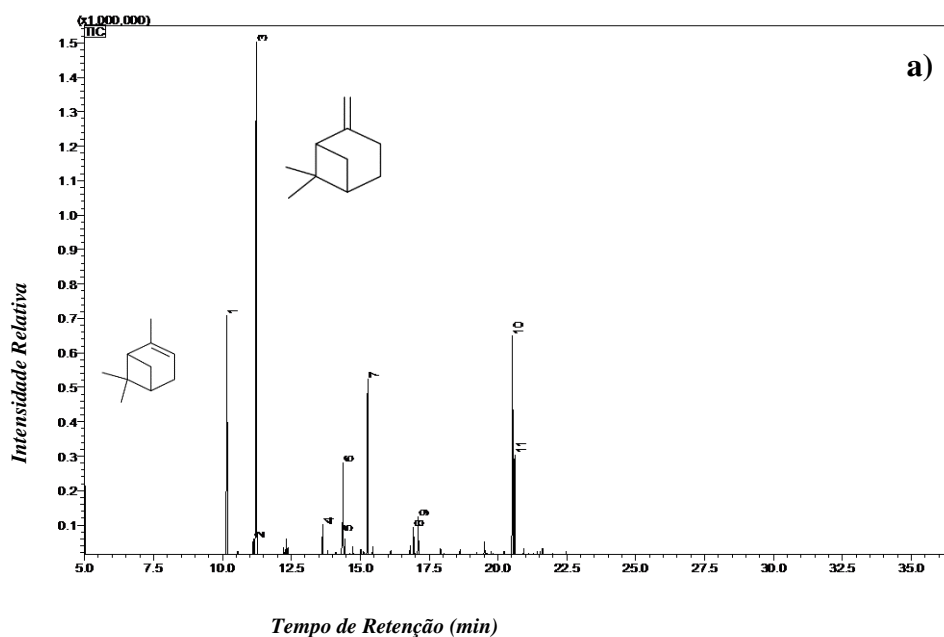


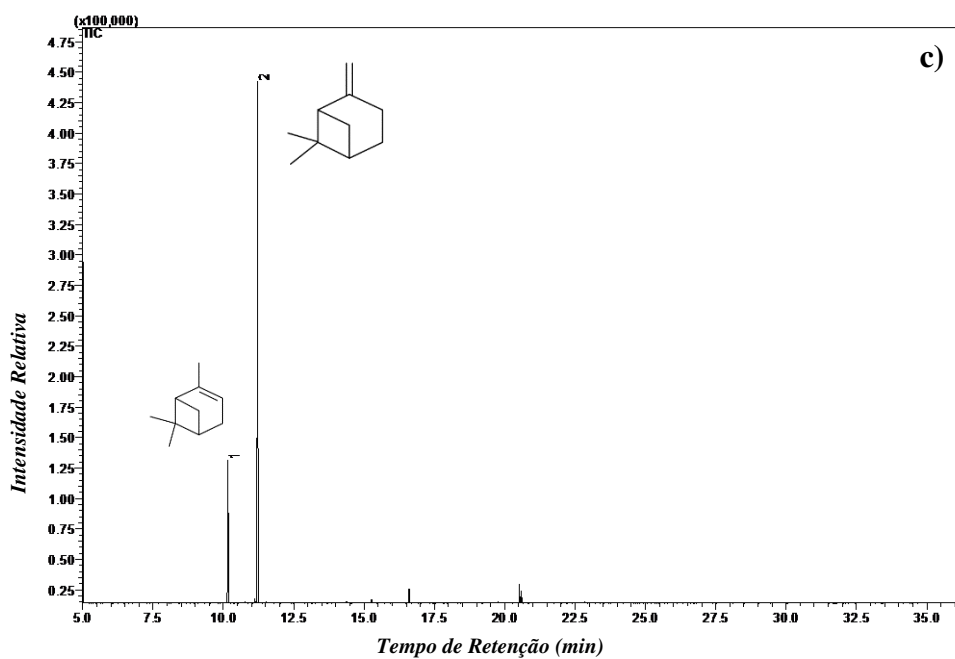
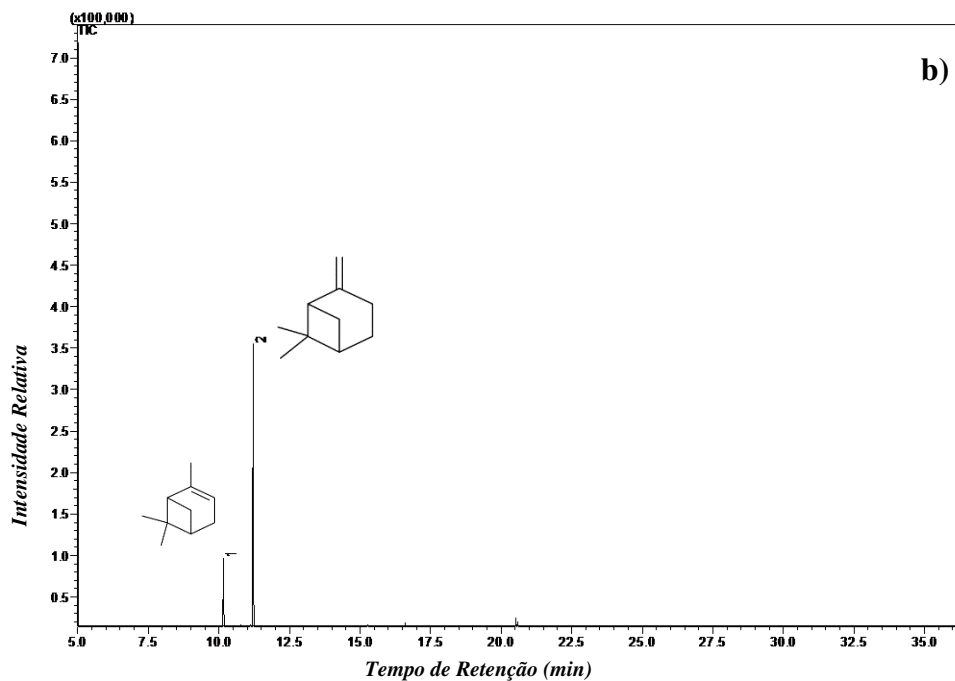


Fonte: Próprio Autor (2021).

Através das análises realizadas no CG/EM percebe-se na figura 13 e 14 (a), (b) e (c) que os picos majoritários se tratam das espécies  $\alpha$ -Pineno e  $\beta$ -Pineno para a temperatura de 60°C.

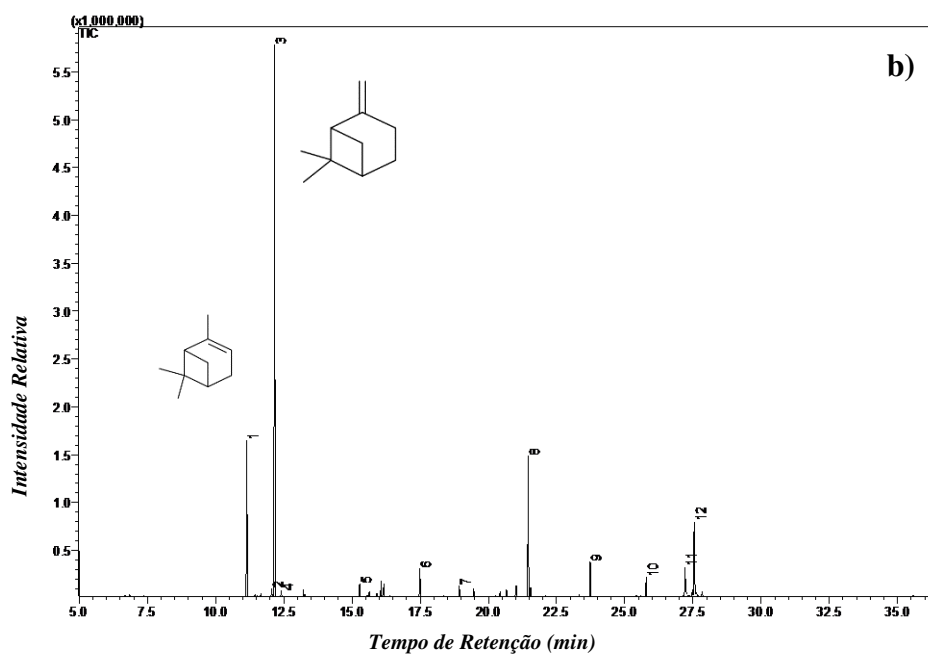
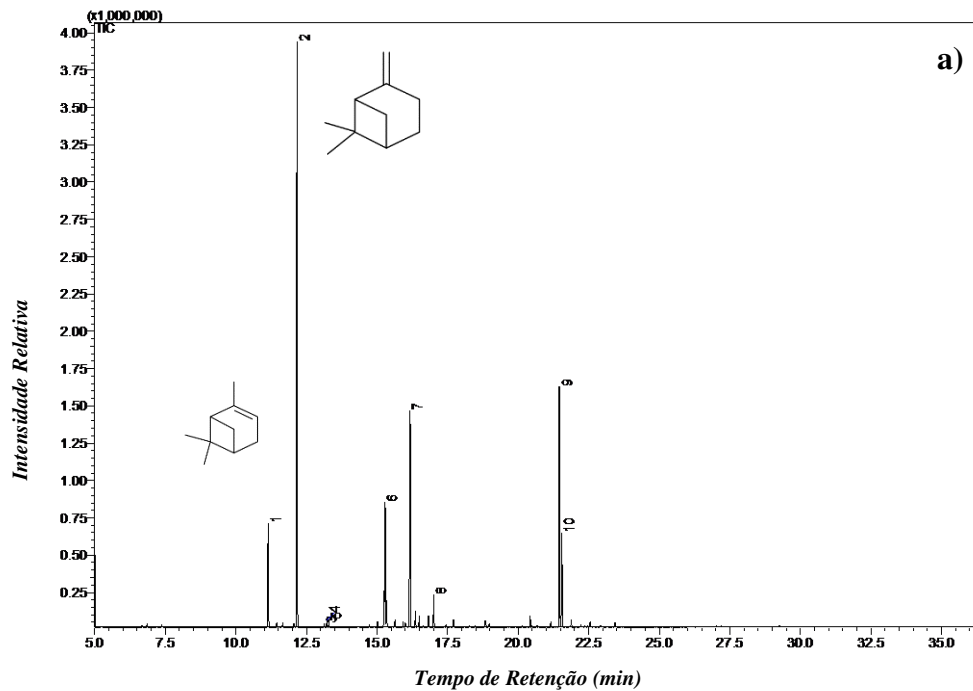
Figura 13 – Cromatogramas para temperatura de 60°C. a) Cromatograma da análise do CG/EM do com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na primeira medição, – b) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na primeira medição para tubo A, – c) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na primeira medição para tubo B.

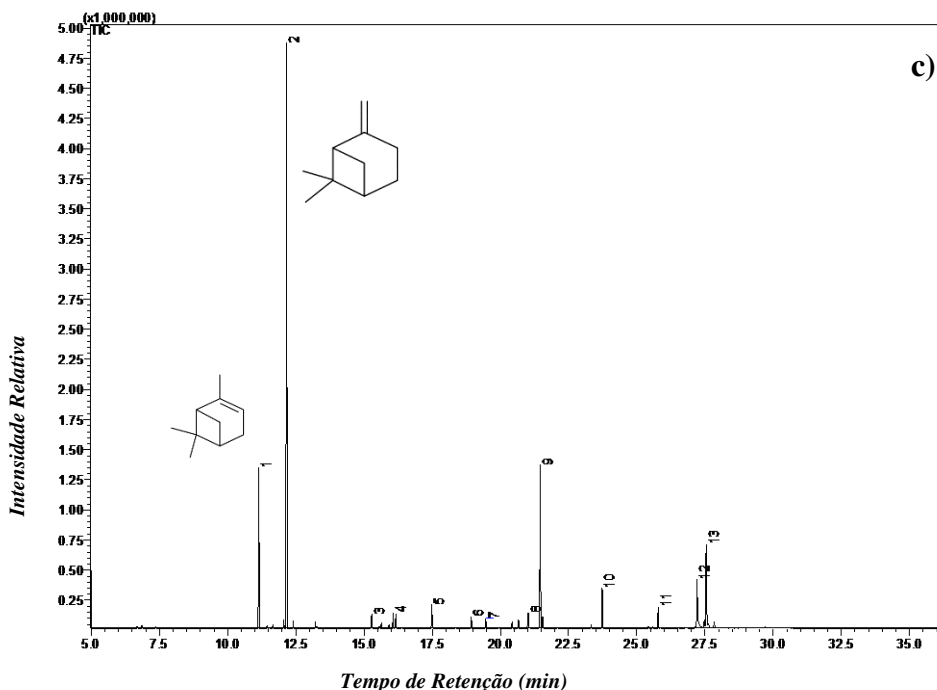




Fonte: Próprio Autor (2021).

Figura 14 – Cromatogramas para temperatura de 60°C. a) Cromatograma da análise do CG/EM do com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na segunda medição, – b) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na segunda medição para tubo A, – c) Cromatograma da análise do CG/EM da microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* na segunda medição para tubo B.





Fonte: Próprio Autor (2021).

Para a temperatura de 60 °C, a amostra pura e as amostras A e B no CG/EM geraram os perfis gráficos apresentados na figura 15 (a), (b) e (c) que mostram as espécies moleculares mais significativas dentro da amostra, ou seja, aquelas que obtiveram maior %área no CG/EM.

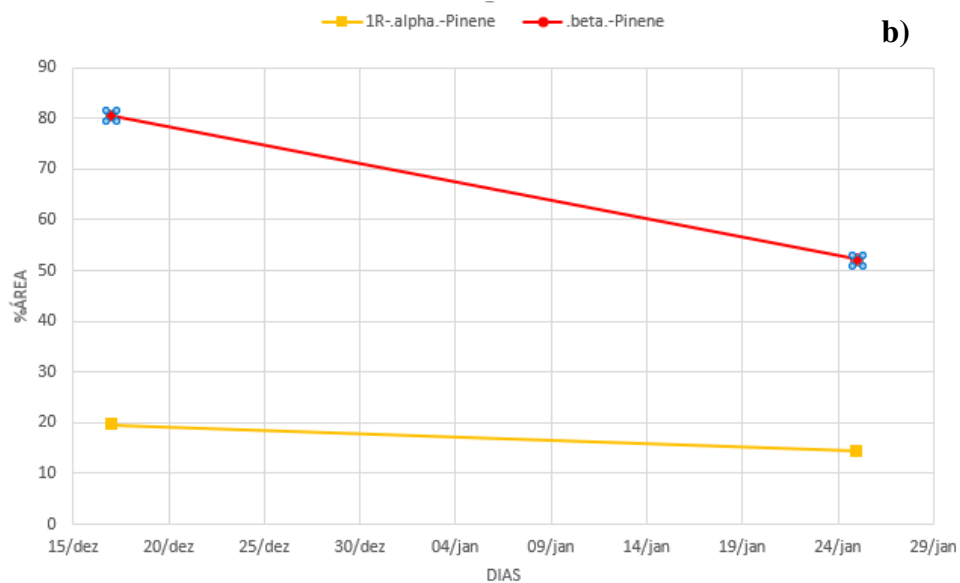
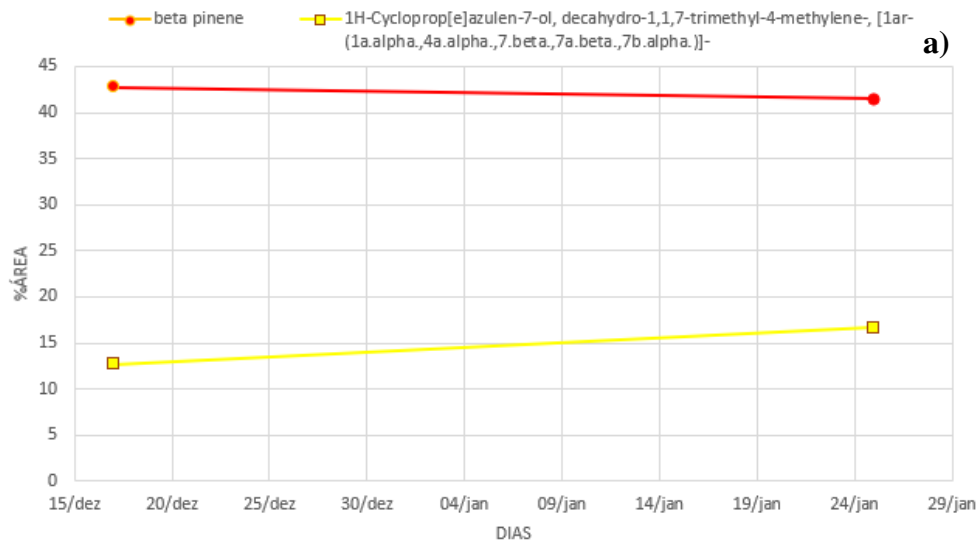
Para a temperatura de 60°C, ao comparar as amostras A e B com o branco nota-se inicialmente que as espécies  $\alpha$ -Pineno e  $\beta$ -Pineno continuam presentes na amostra em quantidades significativas. O componente  $\alpha$ -Pineno no dia 0 apresenta porcentagens iniciais (15,90% BRANCO, 19,57% A, 20,86% B) e no dia 36 passa a ter porcentagens de (7,12% BRANCO, 14,39% A, 13,25 B). Uma variação de cerca de 7,19% entre os valores finais e iniciais.

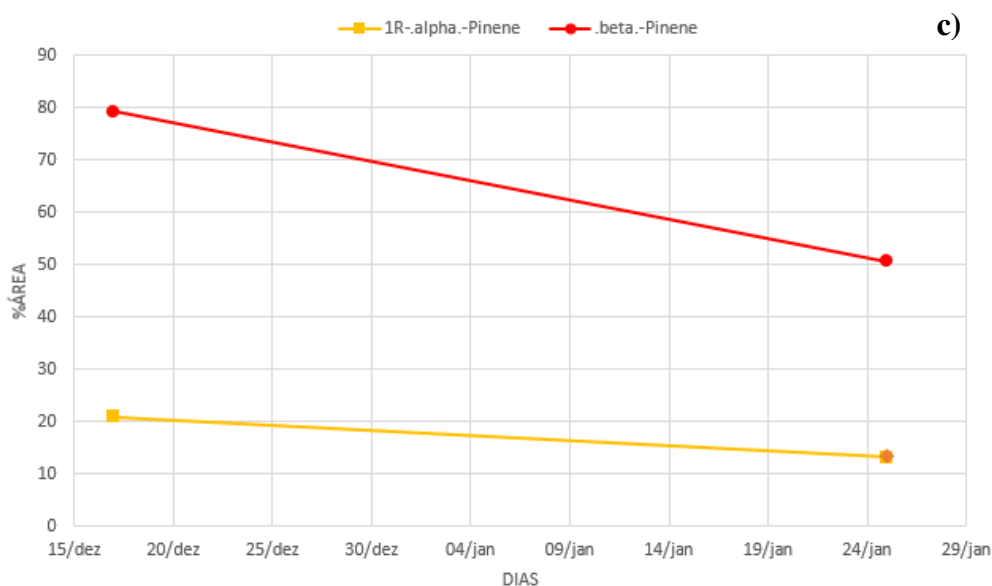
Já para o componente  $\beta$ -Pineno no dia 0 do experimento as porcentagens são de (42,75% BRANCO, 80,43% A, 79,14 B). E no dia 36 do experimento houve um decaimento das porcentagens para (41,47% BRANCO, 52,23% A, 50,54% B). Uma variação de cerca de 19,36% entre nos valores finais e iniciais.

Essas espécies no decorrer dos dias apresentam uma degradação clara, decrescente e linear, sendo novamente a espécie  $\beta$ -Pineno a mais afetada pela degradação com o maior declínio nos gráficos o que pode ser explicado pela formação de intermediários menos estáveis. Ao comparar com os gráficos na temperatura de 30°C percebe-se que na temperatura de 60°C o decaimento linear é mais agressivo. O que indica uma degradação da microemulsão com o óleo essencial é mais intensa.



Figura 15 – Relação da %área versus dias das amostras para temperatura de 60°C. a) Amostra com óleo essencial puro para os marcadores  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno. b) Amostra A de microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* para os marcadores  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno. c) Amostra B de microemulsão com óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* para os marcadores  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno.





Fonte: Próprio Autor (2021).

Analisando os cromatogramas gerados pelo CG/EM percebe-se que as espécies envolvidas em microemulsão apresentam picos parecidos com a amostra em branco, mantendo como os picos principais os dois componentes mais abundantes, o  $\alpha$ -Pineno e o  $\beta$ -Pineno. Além disso, ao expor as amostras a uma temperatura ambiente de 30°C e de 60°C percebe-se que a microemulsão foi capaz de manter a estrutura química do óleo essencial preservada.

Além disso, considerando os resultados apresentados, pode-se afirmar que os compostos  $\alpha$ -Pineno e  $\beta$ -Pineno sofreram degradação em relação ao tempo. Visto que no dia 36 do experimento todos os componentes apresentavam porcentagens menores. Sendo o  $\beta$ -Pineno o componente que teve uma variação mais intensa no decorrer dos dias. Em relação a temperatura, a influência da mesma sobre a degradação dos componentes  $\alpha$  e  $\beta$ -Pineno são constatados através da variação superior na temperatura de 60°C em comparação com a temperatura de 30°C.

Tal comportamento corresponde ao encontrado na literatura em relação ao comportamento de outro óleo essencial, como o apresentado por Guimarães et al. (2008) no estudo da degradação por luz e temperatura no óleo essencial de capim limão.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos podem indicar as microemulsões como um bom mecanismo de encapsulamento das propriedades de um óleo essencial ao entrar em contato com determinadas temperaturas. Tendo em vista que os óleos essenciais puros são extremamente sensíveis a luz e a temperaturas elevadas, causando assim degradação severa nas suas propriedades principais. Com o auxílio das microemulsões, tais propriedades dos óleos essenciais podem ser posteriormente utilizadas na área farmacêutica ou até mesmo na área alimentícia. O sistema utilizado nesse estudo, com composição 5:5:1 juntamente com o óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* apresenta-se sem turvações e sem bolhas, inferindo assim que a composição entre a microemulsão e o óleo essencial se estabilizaram entre si.

Sabendo que o teste de estresse térmico é importante para determinar a qualidade de um produto ao longo do tempo quando exposto a diversas temperaturas durante o transporte e armazenamento. A formulação das microemulsões com o óleo essencial de *Duguetia Stelechantha* apresentou certa estabilidade durante o teste de estresse térmico, apresentando áreas gráficas estáveis com comportamento decrescente. Apesar de um decréscimo nos valores de %área versus dias dos compostos  $\alpha$  e  $\beta$ -Pino, as mesmas ainda compõem grande parte do volume da microemulsão sendo assim aproveitável para posteriores aplicações farmacológicas, pois ambas têm grandes propriedades anti inflamatórias e podem até mesmo ser empregadas como mecanismo de combate a tumores.

Os cromatogramas gerados pelo equipamento demonstram que  $\alpha$  e  $\beta$ -Pino são os mais abundantes em todas as amostras ao longo do tempo, mesmo após serem submetidas as temperaturas de 30 e 60°C onde notavelmente os valores de degradação caem rapidamente, mas não zeram. Sabe-se que a temperatura pode afetar a estabilidade de um produto industrial ao interferir diretamente na velocidade da reação, e causando assim alterações na estrutura do produto final. Dessa forma, a apresentação de uma variação pequena entre os valores iniciais no dia zero e os valores finais no dia 36 para ambas as temperaturas é um importante resultado, tendo em vista que uma das funções das microemulsões é se tornar uma alternativa interessante para promover a estabilidade de fármacos e também de gerar um aumento na biodisponibilidade dos fármacos pouco solúveis.

## REFERÊNCIAS

ABOOFAZELI, R.; PATEL, N.; THOMAS, M.; LAWRENCE, M.J.; **Investigations Into The Formation And Characterization Of Phospholipid Microemulsions. Iv. Pseudo-Ternary Phase Diagrams Of Systems Containing Water-Lecithin-Alcohol And Oil; The influence of oil**, International Journal of Pharmaceutics, Volume 125, Issue 1, Pages 107-116, 1995.

ALVES, S.I.C.; **Validações De Um Método Analítico Para A Identificação De Ácidos Gordos Voláteis Em Águas Intersticiais De Sedimentos Marinhos Por SPME-GC-MS**. Dissertação mestrado em química, 2014.

BAGWE, R. P.; KANICKY, J. R.; PALLA, B. J.; PATANJALI, P. K.; SHAH, D. O.; **Improved drug delivery using microemulsions: rationale, recent progress, and new horizons**. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 2001.

BAKKALI, F. et al. **Biological effects of essential oils – A review**. Food and Chemical Toxicology, Oxford, v.46, p.446-475, 2008.

BANDEIRA, J.M. et al. **Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero Plectranthus**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.13, n.2, p.157-164, 2011.

BRAITHWAITE, A; SMITH, F. J. No Title. In: **Chromatography Methods**. London: Blackie Academic & Professional, p.163-258, 1996.

BRITO, R. G.; GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS, J. S. S.; SANTOS, M. R. V.; SOUSA, D. P.; BADAUEPASSOS JR, D.; LUCCA JR, W.; BRITO, F. A.; BARRETO, E. O.; OLIVEIRA, A. P.; QUINTANS JR, L. J. **Citronellol, a monoterpene alcohol, reduces nociceptive and inflammatory activities in rodents**. Journal of Natural Medicines, v. 66, n. 4, p. 637-44, 2012.

BONATO, P. S. **Cromatografia Gasosa**. Fundamentos da cromatografia. Campinas. Editora Unicamp, p. 203-272, 2006.

BOONME, P.; **Applications of microemulsions in cosmetics**. Journal of Cosmetic Dermatology, 2007.

BOURRET, J. C. **Les Nouveaux Sices de La medicina par lês plantes**. Hachette, 1981.

BUSATTA, C.; **Caracterização Química e Atividade Antimicrobiana In Vitro e em Alimentos dos Extratos de Orégano e Manjerona**. Departamento de Ciências Agrárias, Erechim. 2006.

CAMARGO, M.F.P.; **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá (Passiflora edulis) e óleo essencial de lavanda (Lavandula officinalis) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica**, 2008.

CAMPOS, F.G. et al. **Characterization of the chemical composition of the essential oils from Annona emarginata (Schltdl.) H. Rainer ‘terra-fria’ and Annona squamosa L**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.36, Ed. esp., p.202-208, 2014.

CAVALEIRO, C.; **Plantas Aromáticas e óleos essenciais em farmácia e medicina. Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais**, 2007.

CHAMIEH, J.; DAVANIER, F.; JANNIN, V.; DEMARNE, F.; COTTET, H. **Size characterization of commercial micelles and microemulsions by Taylor dispersion analysis**. International Journal of Pharmaceutics, v. 492, n. 1, p. 46-54, 2015.

CHAVAN, M. J. et al., **Major volatile constituents of Annona squamosa L. bark**. Natural Product Research, Abingdon, v. 20, n. 8, p. 754–757, 2006.

DAMASCENO, BOLÍVAR & SILVA, JOSÉ & OLIVEIRA, ELQUIO & SILVEIRA, WALTEÇÁ & ARAUJO, IVONETE & OLIVEIRA, ANSELMO & EGITO, SOCRATES; **Microemulsão: Um Promissor Carreador Para Moléculas Insolúveis**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 2011.

DAS, N. C.; CAO, H.; KAISER, H.; WARREN, G. T.; GLADDEN, J. R.; SOKOL, P. E. **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.

DAVID, E. F. S. **Rendimento e composição do óleo essencial de Mentha piperita L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2006.

DE LA CRUZ, M.G.F. **Plantas medicinais utilizadas por raizeiros uma abordagem etnobotânica no contexto da saúde e doença [dissertação]**. Cuiaba (MG): Universidade Geral do Mato Grosso, 1997.

DELGADO, M. B. C.; IGLESIAS, G. V.; BLANCO, J. M.; LÓPEZ, M. A. Q.; MARTY, J.; GUY, R. H.; **Delivery of a hydrophilic solute through the skin from novel microemulsion systems**. Eur J Pharm Biopharm, 1997.

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.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; JÚNIOR, A. A. S.; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G.; **Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos**, 2005.

GARLET, T. M. B. Santos, O. S. S.; Medeiros, S. L. P.; Manfron, P. A.; Garcia, D. C.; Borcioni, Vinicius Fleig, V. **Produção e qualidade do óleo essencial de mentha em hidropônica com doses de potássio**, Ciência Rural, 2007.

GASCO, M. R.; **Microemulsions in the pharmaceutical field: perspectives and applications**. In: Solans C, Kunieda H. Industrial applications of microemulsions. New York: Marcel Dekker; v.66. cap.5. p.97-122, 1997.

GUIMARÃES, L.G.L.; CARDOSO, M.G.; ZACARONI, L.M.; LIMA, R.K.; **Influência Da Luz E Da Temperatura Sobre A Oxidação Do Óleo Essencial De Capim Limão**. Química Nova, Vol. 31, n° 6, 2008.

GOGTAY, N.J.; BHATT, H.A.; DALVI, S.S.; KSHIRSAGAR, N.A.; **The use and safety of nonallopathic Indian medicines.** Drug Safety, 2002.

GULLÓN, J. S.; MONTIEL, V. R.; CLAVILIER, A.; **J. Electroanal. Chem,** 2003.

HOAR, T., SCHULMAN, J. **Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle.** Nature vol. 152, p. 102–103, 1943.

HOROWITZ, S.; **Aromatherapy: current and emerging applications. Alternative and complementary alternatives,** 2011.

JÄRVINEN K., JÄRVINEN T., URTTI A.; **Ocular absorption following topical delivery.** 26 Adv Drug Deliv Rev, 1995.

JÚNIOR, A. S. C.; FIALHO, S.L.; CARNEIRO, L.B.; ORÉFICE, F. **Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica.** Arquivo Brasileiro de Oftalmologia, 2003.

KHAN, A.; CURR. O.; **Colloid Interface Sci,** 1996.

KONG, M.; CHEN, X. G.; KWEON, D. K.; PARK, H. J. **Investigations on skin permeation of hyaluronic acid based nanoemulsion as transdermal carrier.** Carbohydrate Polymers, 2011.

KORAĆ R. R. et al.; **Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation.** Pharmacogn Ver, 2011.

KOURNIATIS, L. R.; SPINELLI, L. S.; MANSUR, C. R. E.; GONZÁLEZ, G. **Nanoemulsões óleo de laranja/água preparadas em homogeneizador de alta pressão.** Química Nova, 2010.

LARSSON, K.; OSBORNE, D. W.; PESHECK, C. V.; CHIPMAN, R. J.; **Microemulsions and Emulsions in Foods (eds ElNokaly, M. and Cornell, D.),** Am. Chem. Soc. Washington DC, 1991.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D.; **Microemulsion-based medias novel drug delivery systems,** 2000.

LINN, E. E.; POHLAND, R. C.; BYRD, T. K.; **Microemulsion for intradermal delivery of cetyl alcohol and octyl dimethyl PABA.** Drug Dev Ind Pharm 1990.

MARTINS, R. F. D; **Alterações Socioambientais na Microbacia do Rio Una em Morros, MA,** 2016.

MIRCO, J.; ROCHA, M. S.; **Estudo de estabilidade de medicamentos. Revista Acadêmica Oswaldo Cruz,** 2015.

MO, C.; ZHONG, M.; ZHONG, Q.; **Invertigation of structure and structurl transition in microemulsion systems of sodium dodecyl sulfonate + n-heptane + n-butanol + water by cyclic voltametric and electrical conductivity measuments.** Jornal of Electronalytical Chemistry, Amsterdam, v. 493, n. 1-2, p. 100-107, 2000.

NAIR, R.; AGRAWAL, V. **A Review on the Nutritional Quality and Medicinal Value of Custard Apple-An Under Utilised Crop of Madhya Pradesh, India.** International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, v. 6, n. 9, p. 1126-1132, 2017.

NAOUI, W.; BOLZINGER, M.-A.; FENET, B.; PELLETIER, J.; VALOUR, J.-P.; KALFAT, R.; CHEVALIER, Y. **Microemulsion Microstructure Influences the Skin Delivery of an Hydrophilic Drug.** Pharmaceutical Research, v. 28, n. 7, p. 1683-1695, 2011.

NASCIMENTO, F.C. et al.; **Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de Rollinia laurifolia.** Química Nova, São Paulo, v.26, n.3, p.319-322, 2003.

NUGEO, UEMA, 2016.

OLIVEIRA, A. G.; et al. **Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos.** Quím. Nova, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 131-138, Feb. 2004.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N.; **Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica.** Revista Brasileira de Farmabogia, 2006.

OLIVEIRA, A.R.M.F. et al.; **Determinação Do Tempo De Hidrodestilação E Do Horário De Colheita No Óleo Essencial De Menta,** 2012.

ORAFIDIYA, L.; OLADIMEJI, F. **Determination of the required HLB values of some essential oils.** International journal of pharmaceutics, v. 237, p. 241-9, 2002.

PELTOLA, S.; SAARINEN-SAVOLAINEN, P.; KIESVAARA, J.; SUHONEN, T. M.; URTTI, A.; **Microemulsions for topical delivery of estradiol.** Int J Pharm, 254: 99–107, 2003.

PRICE, J.; **Praktische aromatherapie. Neuhausen Suíça: Urania,** 1994.

RAMOS, R.R.; **Desenvolvimento de uma metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para análise SARA de petróleo,** 2014.

REDÍGOLO, M.M., COSTA, I.; VEJA, O.; **Cadernos De Ciência Da Conservação. Vol 1. Tintas Brasileiras. Ed. Scortecci, 1º Ed,** 2020.

REIS, R. M.; CARVALHO, M. J. N.; SILVA, L. P. V.; ROCHA, A. E.; **Caracterização florística e fitossociológica do estrato adulto da vegetação de mangaba, Morros – MA,** 2017.

RESENDE, Q. G. M.; **Estudo da formação de microemulsões contendo óleo essencial de Citrus Sinensis (L.) osbeck: efeito dos co-tensoativos e avaliação da interação das microemulsões com modelo de estrato córneo,** 2013.

RIVOAL, A. et al. **Environmental control of terpene emissions from Cistus monspeliensis L. in natural Mediterranean shrublands.** Chemosphere, Oxford, v.78, p.942–949, 2010.

RODRIGUES, M. V. N. et al. **O emprego de técnicas hifenadas no estudo de plantas medicinais.** Revista Multiciências, v.7, n. Construindo a História dos Produtos Naturais, 2006.

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

Salehi, B., Upadhyay, S., Erdogan Orhan, I., Kumar Jugran, A., L D Jayaweera, S., A Dias, D., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W. C., & Sharifi-Rad, J. (2019). **Therapeutic Potential of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Pinene: A Miracle Gift of Nature.** *Biomolecules*, 9(11), 738.

SANTOS, A. et al. **Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009; 19(2A): 436-441.

SEFFRIN, R. C. et al. **Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse.** *Crop Protection*, Guildford, v. 29, p. 20–24, 2010.

SILVA, T. M. L.; **Desenvolvimento e validação de metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para pesquisa de enrofloxacin e ciprofloxacina em dejetos de poedeiras**, 2019.

SILVA, J. D. F. et al.; **Microemulsões: Componentes, Características, Potencialidades Em Química De Alimentos E Outras Aplicações.** *Quím. Nova*, São Paulo, v. 38, n. 9, p. 1196-1206, 2015.

SINTOV, A. C.; BOTNER S.; **Transdermal drug delivery using microemulsion and aqueous systems: influence of skin storage conditions on the in vitro permeability of diclofenac from aqueous vehicle systems.** *Int J Pharm*, 2006.

SIMÕES, C.M.O.; MARIOT, A. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5.ed. Porto Alegre: Ed. Universidade, p. 1102, 2003.

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

SHINODA, K.; LINDMAN, B.; **Organized surfactant systems: microemulsions**, 1987.

SHIRWAIKAR, A. & K., CHELLAPPAN, R. & K.; **In vitro antioxidant studies of *Annona squamosa* Linn. Leaves.** *Indian journal of experimental biology*. Dinesh, 2004.

SPERRY, J. S. **Hydraulic constraints on plants gas Exchange.** *Agricultural and Forest Meteorology*, Amsterdam, v. 104, n. 1, p. 13-23, 2000.

STAUFER. C. E., **Food Technol.**, 1992.

THANG, T.D et al. **Study on the volatile oil contents of *Annona glabra* L., *Annona squamosa* L., *Annona muricata* L. and *Annona reticulata* L., from Vietnam.** *Natural Product Research*, Abingdon, v.27, n.18, p.1232-1236, 2012.

TRAJANO, V. N.; SANTOS, B. H. C. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. **Essential oils in Inhibiting the Growth of Bacterial Strains Isolated from the Patients with Conjunctivitis.** *Brazilian archives of biology and technology*, Curitiba, v. 52, n. 1, p. 45-50, 2009b.



VICTORIA, F. N.; **Novos Compostos Organosselênio Bioativos: Estudo da Ação Antimicrobiana Frente à Patógenos de Importância em Alimentos.** Universidade Federal de Pelotas, 2010.

XAVIER, M. N et al.; **Chemical composition of the volatile oil of *Cardiopetalum calophyllum* collected in the Cerrado area.** Cienc. Rural, Santa Maria, v. 46, n. 5, p. 937-942, 2016 .

ZEMB TN, Klossek M, Lopian T, Marcus J, Schöettl S, Horinek D, et al.; **How to explain microemulsions formed by solvent mixtures without conventional surfactants.** PNAS n. 113, p. 4260–5, 2016.