

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS EMULSIONADOS
CONTENDO ÓLEO DE CASTANHA-DO-BRASIL
(*Bertholletia excelsa*)**

FABRÍCIO NONATO ARAÚJO ROLIM

**MANAUS
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS EMULSIONADOS
CONTENDO ÓLEO DE CASTANHA-DO-BRASIL
(*Bertholletia excelsa*)**

FABRÍCIO NONATO ARAÚJO ROLIM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, visando obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador (a): Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza

Co-orientador (a): Profa. Dra. Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos

MANAUS

2016

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R748d Rolim, Fabrício Nonato Araújo
Desenvolvimento de sistemas emulsionados contendo óleo de
Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) / Fabrício Nonato Araújo
Rolim. 2016
107 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Tatiane Pereira de Souza
Coorientador: Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Microemulsão. 2. Óleo de castanha-do-Brasil. 3. Nanoemulsão.
4. Ciências Farmacêuticas. I. Souza, Tatiane Pereira de II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS EMULSIONADOS
CONTENDO ÓLEO DE CASTANHA-DO-BRASIL
(*Bertholletia excelsa*)**

FABRÍCIO NONATO ARAÚJO ROLIM

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Bioanálises e desenvolvimento de produtos farmacêuticos; linha de pesquisa: Desenvolvimento, avaliação da qualidade e da utilização de insumos e produtos farmacêuticos e cosméticos. Aprovada em sua versão final pelo programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Prof. Dr. José Pereira de Moura Neto
Coordenador do PPGCF

Apresentada perante a banca examinadora composta pelos professores:

Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza – Presidente e Orientadora
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Igor Rafael dos Santos Magalhães – Membro interno
Universidade Federal do Amazonas

Dra. Maria Katherine Santos de Oliveira – Membro externo
Centro de Biotecnologia da Amazônia

Manaus, 12 de fevereiro de 2016

**Dedico a Deus, a minha família
e aos meus amigos.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom de minha vida, pela oportunidade de cursar o mestrado e por ter me dado saúde para exercer as disciplinas e executar os experimentos. À virgem Maria pela sua intercessão e a São José operário, meu santo de devoção e modelo de homem a ser seguido.

Aos meus pais, José Mário Romero Rolim e Maria Rita Araújo Rolim, por terem investido em minha educação.

À minha orientadora Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza, pela orientação durante a realização deste projeto, por abrir as portas do Laboratório de Inovação e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica (LIDETEF), possibilitando que eu conhecesse um pouco mais sobre o mundo da pesquisa, o que contribuiu para o aumento do meu interesse em seguir carreira acadêmica. Seus ensinamentos, conselhos e exemplo foram muito importantes para meu crescimento profissional e, principalmente, pessoal.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos pelo grande apoio na obtenção das microemulsões, por seu incentivo, ensinamentos, correções e compreensão no decorrer deste trabalho.

À minha namorada Edna Márcia Almeida Costa pelo carinho e apoio.

À minha amiga da turma de mestrado, Jackeline de Souza marinho, pelos conhecimentos partilhados no decorrer do curso.

Aos professores Dr. Emerson de Souza Lima e Dr. Igor Rafael dos Santos Magalhães pelas contribuições feitas para a qualificação do projeto.

À pesquisadora do Centro de Biotecnologia da Amazônia, Dra. Maria Katherine Santos de Oliveira, pelo apoio na extração do óleo de castanha-do-Brasil utilizado nos experimentos.

Ao professor Dr. Luis Alexandre Pedro de Freitas do laboratório de Física Industrial da USP-FCFRP pela oportunidade e abrir espaço no laboratório para que eu pudesse realizar os experimentos. Pela grande ajuda da doutoranda Cristina Mara Zamarioli na obtenção e caracterização das nanoemulsões.

Aos alunos de iniciação científica do laboratório de Inovação e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica, Nathasha Fernandes de Oliveira e Rodrigo da Silva e Silva, pela ajuda nos experimentos. Às demais alunas de iniciação científica Deizi Ferreira e Karla Açussena Abrantes Valente pelo apoio e amizade.

Ao professor Dr. Leandro Aparecido Pocrifka e a mestranda Jéssica Cristina da Silva Gualberto do laboratório de eletroquímica e energia (LEEN) - anexo de corrosão, do Instituto de Química da UFAM, pelo fornecimento do condutivímetro.

À Fundação de Apoio e Amparo de Pesquisas na Amazônia (FAPEAM), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPQ) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade

Minha eterna gratidão.

“O que agrada a Deus, em minha pequena alma é que eu
ame a minha pequenez e minha pobreza”.

Santa Teresinha do Menino Jesus

RESUMO

A castanheira, árvore que produz a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), está presente em toda a Amazônia. Sua semente contém um óleo constituído, majoritariamente, de ácidos graxos, destacando-se o linoléico, oléico e palmítico, que são capazes de atuar na barreira transepidérmica. Apresenta, também, outras substâncias tais como proteínas, vitaminas e minerais, as quais são moléculas funcionais que agem em processos que favorecem a hidratação da pele. Neste sentido, o presente trabalho tem como principal objetivo verificar a viabilidade de obtenção de três sistemas emulsionados (emulsão, nanoemulsão e microemulsão) utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa, os quais foram submetidos a ensaios físico-químicos para verificar qual o sistema que apresentará maior viabilidade de obtenção e estabilidade. Os resultados demonstraram que o óleo obtido através de prensagem a frio possui qualidade para os fins da pesquisa. Foi encontrado um valor de EHL crítico de 4,7; indicando que o tensoativo adequado para emulsionar o óleo de castanha-do-Brasil deve ter esse valor ou valores próximos. Foram obtidas emulsões estáveis utilizando o tensoativo span 60[®] (EHL=4,7) e verificou-se que a concentração deste tensoativo e óleo de castanha-do-Brasil interferem diretamente nas características físico-químicas das emulsões, exceção feita à condutividade elétrica no qual somente o span 60[®] exerceu influencia nessa propriedade. Foram obtidas nanoemulsões utilizando-se homogeneizador de alta pressão, ultra-turrax[®], nas velocidades de 10.000 e 15.000rpm, e par de tensoativos span80[®] e tween 80[®] em diferentes proporções. Verificou-se que tanto a velocidade de agitação e concentração de tensoativos interferiram nas características físico-químicas das nanoemulsões, exceção feita à condutividade elétrica no qual somente a velocidade de agitação exerceu influencia nessa propriedade. Foram obtidas microemulsões utilizando span 80[®] como tensoativo; e 1,2-octenediol e 1,2-hexanediol como cotensoativo. As microemulsões apresentaram-se estáveis após seu preparo com características macroscópicas de sistemas microemulsionados, suas características físico-químicas, como viscosidade, variaram de acordo com o cotensoativo utilizado. Assim, foram obtidas emulsões, nanoemulsões e microemulsões utilizando, exclusivamente, óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa, que podem servir como veículos para incorporação de fármacos e/ou outros princípios ativos, que contém em sua composição um óleo vegetal que agrega valores à floresta promovendo a sustentabilidade ecológica e econômica.

Palavras-chave: emulsão, microemulsão, nanoemulsão, óleo de castanha-do-Brasil

ABSTRACT

Bertholletia excelsa tree that produces the Brazil nuts is present throughout the Amazon. Its seeds contain oil composed, mostly, of fatty acids, especially linoleic, oleic and palmitic acids, which are able to act in transepidermal barrier. It also presents other substances such as proteins, vitamins and minerals, which are functional molecules that act in processes that promote skin hydration. In this sense, this study aims to verify the feasibility of obtaining three emulsion systems (emulsion, microemulsion and nanoemulsion) using Brazil nuts oil as oil phase, which were subjected to physical and chemical tests to find what the system will present greater feasibility of obtaining and stability. The results showed that the oil obtained by cold pressing has quality for research purposes. A critical HLB value of 4.7 was found; indicating that proper surfactant to emulsify the Brazil nuts oil should have this value or values close. Stable emulsions using the surfactant span were obtained 60[®] (HLB = 4,7) and it was found that the concentration of surfactant and Brazil nuts oil directly affect the physicochemical properties of the emulsions, except for the electrical conductivity which only the Span 60[®] exerted influence on that property. Nanoemulsions were obtained using high pressure homogenizer, ultra-turrax[®], at speeds of 10,000 and 15,000 rpm, and pair of Span80[®] and Tween 80[®] surfactants in different proportions, it was found that both the speed of agitation and concentration of surfactants They interfered in the physicochemical characteristics of nanoemulsions, except the electrical conductivity in which only the stirring speed exerted influence on that property. Microemulsions using Span80[®] as surfactant were obtained; and 1,2-octenediol and 1,2-hexanediol as a co-surfactant. Microemulsions were stable after its preparation with macroscopic characteristics of microemulsion systems, their physicochemical characteristics such as viscosity, differed according to the co-surfactant used. Thus, emulsions were obtained, microemulsions and nanoemulsions using exclusively Brazil nuts oil as the oil phase, which may serve as vehicles for the incorporation of drugs and/or other active ingredients which contains in its composition a vegetable oil that combines values the forest promoting ecological and economic sustainability.

Kew Words: emulsion, microemulsion, nanoemulsion, oil Brazil nuts

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - Esquema da primeira etapa do processo de oxidação de lipídios | 24 |
| FIGURA 2 - Esquema da segunda etapa do processo de oxidação de lipídios | 24 |
| FIGURA 3 - Esquema da terceira etapa do processo de oxidação de lipídios | 25 |
| FIGURA 4 - Comportamento dos índices químicos no processo de oxidação de lipídios. | 26 |
| FIGURA 5 - Diferentes tipos de emulsões | 32 |
| FIGURA 6 - Representação esquemática do modelo da dupla camada elétrica | 34 |
| FIGURA 7 - Processos que ocorrem na desestabilização de uma emulsão O/A. | 35 |
| FIGURA 8 - Classificação de fases de Winsor. | 40 |
| FIGURA 9 - Comportamento da variação de viscosidade <i>versus</i> velocidade de agitação do óleo de castanha-do-Brasil | 57 |
| FIGURA 10 - Comportamento reológico do óleo de castanha-do-Brasil. | 57 |
| FIGURA 11 - Comportamento reológico das formulações F1, F2 e F3 | 64 |
| FIGURA 12 - Comportamento reológico das formulações F4, F5 e F6. | 64 |
| FIGURA 13 - Comportamento reológico das formulações F7, F8 e F9. | 65 |
| FIGURA 14 - Valor de pH apresentado pela formulação F4 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias. | 71 |
| FIGURA 15 - Valor de pH apresentado pela formulação F5 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias. | 71 |
| FIGURA 16 - Valor de pH apresentado pela formulação F6 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias | 71 |
| FIGURA 17 - Valor de pH apresentado pela formulação F7 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias. | 72 |
| FIGURA 18 - Valor de pH apresentado pela formulação F8 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias. | 72 |
| FIGURA 19 - Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F4 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias | 73 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 20 - Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F5 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias | 74 |
| FIGURA 21 - Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F6 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias | 74 |
| FIGURA 22 - Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F7 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias | 74 |
| FIGURA 23 - Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F8 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias | 75 |
| FIGURA 24 - Coloração das emulsões após 90 dias de armazenagem na temperatura de 40°C | 76 |
| FIGURA 25 - Comportamento reológico das nanoemulsões F1, F2 e F3. | 79 |
| FIGURA 26 - Comportamento reológico das nanoemulsões F4, F5 e F6. | 79 |
| FIGURA 27 - Comportamento reológico das nanoemulsões F7, F8 e F9. | 79 |
| FIGURA 28 - Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80 [®] e 1,2-octanediol [®] . Razão C/T=2:1. | 87 |
| FIGURA 29 - Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80 [®] e 1,2-octanediol [®] . Razão C/T=1:1. | 87 |
| FIGURA 30 - Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80 [®] e 1,2-octanediol [®] . Razão C/T=1:2 | 88 |
| FIGURA 31 - Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80 [®] e 1,2-hexanediol [®] . Razão C/T=2:1. | 89 |
| FIGURA 32 - Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80 [®] e 1,2-hexanediol [®] . Razão C/T=1:1. | 89 |
| FIGURA 33 - Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80 [®] e 1,2-hexanediol [®] . Razão C/T=1:2. | 90 |
| FIGURA 34 - Formulações (pontos representados em branco na região de microemulsão) selecionadas para que se conduzissem os estudos de caracterização. | 91 |

FIGURA 35- Comportamento da variação de viscosidade *versus* velocidade de agitação da microemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. 94

FIGURA 36- Comportamento reológico das microemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. 94

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 - Composição de ácidos graxos (%) do óleo extraído da Castanha-do-Brasil | 30 |
| TABELA 2 - Composição de ácidos graxos do óleo extraído da castanha-do-Brasil | 41 |
| TABELA 3 - Concentração de tensoativos utilizados para determinação do valor de EHL do óleo de castanha-do-Brasil | 47 |
| TABELA 4 - Pares de tensoativos utilizados para determinação do valor de EHL do óleo de castanha-do-Brasil | 47 |
| TABELA 5 - Planejamento fatorial do tipo 3 ² utilizado para o desenvolvimento e emulsões com óleo de castanha-do-Brasil | 49 |
| TABELA 6 - Formulações contendo óleo de castanha-do-Brasil | 49 |
| TABELA 7 - Concentração das matérias primas utilizada e variação da velocidade de agitação utilizadas para o desenvolvimento das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil | 52 |
| TABELA 8 - Concentração das matérias primas utilizadas para o desenvolvimento de microemulsões utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa. | 54 |
| TABELA 9 - Pares de tensoativos e cotensoativos e suas razões utilizadas para o estudo da viabilidade de obtenção de microemulsões utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa. | 55 |
| TABELA 10 - Resultados da caracterização físico-química do óleo bruto da castanha-do-Brasil. | 57 |
| TABELA 11 - Resultados de solubilidade do óleo de castanha-do-Brasil em diferentes solventes. | 58 |
| TABELA 12 - Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 20 [®] e Tween 40 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 61 |
| TABELA 13 - Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 40 [®] e Tween 60 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 61 |
| TABELA 14 - Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 60 [®] e Tween 80 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 61 |
| TABELA 15 - Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 80 [®] e Span 20 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 62 |

| | |
|---|----|
| TABELA 16 - Concentrações dos componentes das emulsões com Span 20 [®] e Span 60 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 62 |
| TABELA 17 - Concentrações dos componentes das emulsões com Span 60 [®] e Span 80 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 62 |
| TABELA 18 - Concentrações dos componentes das emulsões com Span 80 [®] e Brij 93 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual | 63 |
| TABELA 19 - Concentrações dos componentes das emulsões com Brij 93 [®] e Span 83 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 63 |
| TABELA 20 - Concentrações dos componentes das emulsões com Arlacel 83 [®] e Span 65 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 63 |
| TABELA 21 - Concentrações dos componentes das emulsões com Span 65 [®] e Span 85 [®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual. | 64 |
| TABELA 22- Valores de pH, densidade relativa, viscosidade aparente e comportamento reológico das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. | 65 |
| TABELA 23- Análise estatística do comportamento do pH das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60 [®] . | 65 |
| TABELA 24- Análise estatística do comportamento da densidade das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60 [®] | 65 |
| TABELA 25- Análise estatística do comportamento da viscosidade das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60 [®] | 65 |
| TABELA 26- Análise visual das emulsões contendo óleo e castanha-do-Brasil após teste de centrifugação | 69 |
| TABELA 27- Análise macroscópica dos fenômenos de instabilidade ocorridos com as emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil durante o teste de estresse térmico | 70 |
| TABELA 28- Análise macroscópica das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil no início e após o teste de estresse térmico | 71 |
| TABELA 29- Valores de condutividade elétrica das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil | 71 |
| TABELA 30- Análise estatística do dos valores de condutividade elétrica das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60 [®] | 72 |

| | |
|--|----|
| TABELA 31- Análise macroscópica da cor das formulações contendo óleo de castanha-do-Brasil durante os 90 dias de estudo. | 77 |
| TABELA 32- Aspecto macroscópico e físico-químicos das emulsões obtidas contendo óleo de castanha-do-Brasil antes e após o ciclo gelo-degelo. | 78 |
| TABELA 33- Valores de pH, densidade relativa, viscosidade aparente e comportamento reológico das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. | 79 |
| TABELA 34- Análise estatística do dos valores de pH das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos. | 80 |
| TABELA 35- Análise estatística do dos valores de densidade das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos. | 80 |
| TABELA 36- Análise estatística do dos valores de viscosidade das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos. | 80 |
| TABELA 37- Valores de tamanho de gotícula, potencial zeta e índice de polidispersão das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. | 82 |
| TABELA 38- Análise estatística dos valores de tamanho de partícula das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos. | 83 |
| TABELA 39- Análise estatística dos valores de potencial zeta das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos. | 83 |
| TABELA 40- Aspecto macroscópico das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil após teste de centrifugação. | 83 |
| TABELA 41- Análise macroscópica dos fenômenos de instabilidade ocorridos com as nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil durante o teste de estresse térmico. | 85 |
| TABELA 42- Análise macroscópica das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil no início e após o teste de estresse térmico. | 85 |
| TABELA 43- Valores de condutividade elétrica das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. | 86 |
| TABELA 44- Análise estatística dos valores de condutividade elétrica das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos. | 86 |
| TABELA 45- Resultado da observação da presença ou não de região de microemulsão. | 88 |

TABELA 46- Composição das microemulsões selecionadas e aspecto macroscópico das microemulsões obtidas contendo Span 80[®] e óleo de castanha-do-Brasil. 94

TABELA 47- Resultados da caracterização das microemulsões obtidas utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa. 95

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

OCB - Óleo de castanha-do-Brasil

DFPT- Diagrama de fases pseudoternário

ME- Microemulsão

EHL- Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo

BHT - Butilhidroxitolueno

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

C/T- Razão Cotensoativo/Tensoativo

O/A – Emulsão do tipo óleo em água

A/O – Emulsão do tipo água em óleo

A/O/A– Emulsão do tipo água em óleo em água

HDL- Lipoproteína de alta densidade

LDL- Lipoproteína de baixa densidade

DCC- Doença cardíaca coronária

HSV- Vírus herpes simplex

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 20 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 21 |
| 2.1. A castanha-do-Brasil..... | 21 |
| 2.2. Óleos vegetais..... | 24 |
| 2.3. Óleo de castanha-do-Brasil..... | 29 |
| 2.4. Sistemas emulsionados..... | 32 |
| 2.4.1. Emulsões..... | 32 |
| 2.4.2. Nanoemulsões..... | 38 |
| 2.4.3. Microemulsões..... | 39 |
| 3. OBJETIVOS..... | 43 |
| 3.1. Objetivo geral..... | 43 |
| 3.2. Objetivos específicos..... | 43 |
| 4. METODOLOGIA..... | 44 |
| 4.1. Obtenção da matéria prima..... | 44 |
| 4.2. Extração do óleo de Castanha-do-Brasil por prensagem a frio | 44 |
| 4.3. Caracterização físico-química do óleo de castanha-do-Brasil..... | 44 |
| 4.3.1. Determinação dos índices químicos..... | 44 |
| 4.3.2. Determinação da densidade relativa..... | 46 |
| 4.3.3. Determinação da solubilidade..... | 46 |
| 4.4. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo do óleo de castanha-do-Brasil | 47 |
| 4.5. Desenvolvimento das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil..... | 48 |
| 4.5.1. Estudo de estabilidade preliminar das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil | 49 |
| 4.5.2. Estudo de estabilidade acelerada..... | 51 |
| 4.6. Desenvolvimento de nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil 52 | 52 |
| 4.6.1. Determinação do tamanho de gotícula, potencial zeta e índice de polidispersão das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil..... | 53 |
| 4.6.2. Avaliação da estabilidade preliminar das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil..... | 53 |
| 4.7. Avaliação da viabilidade de obtenção de microemulsão | 54 |
| 4.7.1. Determinação da região de microemulsão | 54 |
| 4.6.1. Determinação do pH das microemulsões | 55 |
| 4.6.2. Determinação da densidade relativa..... | 55 |
| 4.6.3. Determinação do comportamento reológico das microemulsões | 55 |
| 4.6.4. Determinação do tamanho de partícula | 56 |
| 4.7. Análise Estatística | 56 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 57 |
| 5.1. Caracterização físico-química do óleo de castanha-do-Brasil..... | 57 |
| 5.2. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) do óleo de castanha-do-Brasil..... | 60 |
| 5.3. Desenvolvimento das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil..... | 64 |
| 5.3.1. Estudo de estabilidade preliminar das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa | 64 |
| 5.3.3. Estudo de estabilidade acelerada das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil..... | 72 |

| | |
|--|-----------|
| 5.4. Desenvolvimento das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil... | 78 |
| 5.4.1. Estudo de estabilidade preliminar das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil..... | 78 |
| 5.5. Avaliação da viabilidade de obtenção de microemulsão | 87 |
| 5.5.1. Construção do diagrama de fases pseudoternário (DFPT) | 87 |
| 5.5.2. Caracterização da microemulsão..... | 94 |
| 6. CONCLUSÕES | 97 |
| REFERÊNCIAS..... | 98 |

1. INTRODUÇÃO

A castanheira, árvore que produz a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), apresenta porte majestoso, chegando a medir de 30-50 metros de altura e 5 metros de diâmetro na base do tronco (PACHECO, 2007). Pertence a família *Lecythidaceae* e está presente em toda a região Amazônica. As sementes de castanha-do-Brasil são ricas em lipídeos (65-70%) e contêm 15-17 % de proteína (JAYASINGHE; CARUSO, 2011).

O óleo bruto da amêndoa da castanha-do-Brasil apresenta uma constituição de 85% de ácidos graxos insaturados e 13% de ácidos graxos saturados, sendo que 34% dos ácidos insaturados são representados pelo ácido graxo poliinsaturado linoléico e 51% pelo ácido graxo monoinsaturado oléico (FERREIRA, 2006). Dessa forma, cerca de 60 % do peso total da semente de castanha-do-Brasil é de óleo, constituído por ácidos graxos que têm a capacidade de prevenir doenças cardíacas, como os ácidos oléico, linoléico e linolênico. Além disso, também é considerado uma excelente fonte alimentar de micronutrientes como tocoferóis, fitoesteróis e esqualeno (LA CRUZ *et al*, 2013).

Devido à sua composição de ácidos graxos de relevante interesse, supõe-se que o óleo de castanha-do-Brasil pode ser utilizado não somente na indústria de alimentos, mas também como um componente de formulações tópicas que podem contribuir para a melhor hidratação da pele (HSU *et al*, 2003). Além disso, estudos apontam que ácidos graxos, como oleico, linoleico e palmítico, vem apresentando efeitos terapêuticos no combate a microorganismos patógenos (NAKATISUJI *et al*, 2010; HUANG *et al*, 2011).

Dessa forma, o presente estudo visa contribuir para o uso racional dos resíduos provenientes da exploração da castanha-do-Brasil, agregando valores à floresta e promovendo a sustentabilidade ecológica e econômica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A castanha-do-Brasil

A castanheira é uma árvore nativa da América do Sul presente, principalmente, na Região Amazônica e o desenvolvimento dela dá-se em regiões de floresta tropical não inundadas (terra firme). Além do Brasil, também se desenvolve nas Guianas, Venezuela, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia (YANG, 2009). Sua denominação de “castanha-do-Brasil” foi estabelecida por meio do decreto 51.209 do ano de 1961, para efeito de comércio exterior.

Possui um grande porte, chegando a medir até 50 metros de altura com 1 a 5 metros de diâmetro, tornando-se uma das maiores árvores da floresta Amazônica (PEÑA-CLAROS *et al*, 2002; LUO *et al*, 2013). Possui a seguinte classificação botânica: Divisão – *Angiospermae*; Classe – Dicotiledônea; Ordem – *Myrtiflorae*; Família – *Lecythidaceae*; Gênero – *Bertholletia*; Espécie – *excelsa*.

É considerada uma das espécies economicamente mais importantes da floresta amazônica e, recentemente, tem sido utilizada como uma alternativa para o cultivo em áreas degradadas pela agricultura, pecuária, reflorestamento e geração de renda (MASSI *et al*, 2014). Devido à sua importância para a economia da Amazônia, a castanha-do-Brasil tem recebido considerável atenção dos pesquisadores com o objetivo de reunir as informações ecológicas necessárias para aumentar sua produção comercial, seus benefícios econômicos, e garantir o seu uso a um longo prazo (RIBEIRO *et al*, 2014).

Seu fruto, conhecido popularmente como ouriço, é uma cápsula quase esférica de mesocarpo lenhoso, extremamente rígido e difícil de ser quebrado. Permanece na árvore durante, aproximadamente, 15 meses. Após este período cai da árvore e, dessa forma, não é coletado diretamente da árvore, mas recolhido do chão, onde pode

permanecer por períodos de alguns dias a vários meses (MASSI *et al*, 2014). O ouriço possui cor castanha e seu diâmetro pode variar de 8 a 16 centímetros, além disso, pode pesar de 0,5 a 5 kg e conter de 10 a 25 sementes (BRASIL, 2002).

As sementes de algumas oleaginosas são popularmente conhecidas como nozes e, geralmente, são ricas em “gordura”, sendo que a palavra “gordura” em alimentos tornou-se sinônimo de obesidade e doenças cardíacas. Consequentemente, as nozes tendem a ser evitadas em uma tentativa de reduzir a lipoproteína de baixa densidade (LDL) sanguínea e o risco de doença cardíaca coronária (DCC). No entanto, estudos revelam que os ácidos graxos, como ácido oléico, linoléico, linolênico, presentes em algumas nozes são importantes contribuintes para os efeitos benéficos à saúde, pois previnem o desenvolvimento de doença coronariana (ROS; MATAIX, 2006). Nesse sentido, há cada vez mais evidências de que dietas que incluem nozes podem provocar efeitos cardioprotetores (RYAN *et al*, 2006). Os tipos predominantes de ácidos graxos em nozes que reduzem a LDL e, consequentemente, o risco de doença coronariana, são os monoinsaturados e poliinsaturados. No entanto, observa-se que a diminuição do risco de DCC associada com o consumo de nozes não é exclusivamente relacionada com o perfil de ácidos graxos, mas pode ser devido, em parte, à presença de outros componentes bioativos, como a arginina, fibras de cobre e magnésio (KRIS-ETHERTON *et al*, 2001). As nozes, também, contêm quantidades significativas de tocoferóis, esqualeno e fitosteróis, os quais são elementos importantes em uma boa dieta nutricional (MAGUIRE *et al*, 2004).

Em comparação com outras nozes, a castanha-do-Brasil é altamente rica em ácidos graxos insaturados, que têm sido associados com a melhora do perfil lipídico e redução da pressão arterial, da resistência à insulina e dos níveis de marcadores inflamatórios sistêmicos (VADIVEL; KUNYANGA; BIELSALKI, 2012). Estudos

demonstram que a ingestão de ácidos graxos monoinsaturados através da dieta está associada à redução da mortalidade devido à doença cardiovascular. Além disso, recentemente, uma pesquisa revelou que a ingestão de castanha-do-Brasil além de não causar dano ao organismo, foi capaz de modular favoravelmente o perfil lipídico de voluntários saudáveis, aumentando seus níveis séricos de lipoproteína de alta densidade (HDL) e diminuindo a LDL (COLPO *et al*, 2014).

A semente da castanha-do-Brasil é internacionalmente conhecida e valorizada por seus atributos sensoriais, nutricionais e promotores de saúde. São ricas em lipídios e proteínas, contendo também quantidades apreciáveis de vitaminas e minerais (VENKATACHALAM; SATHE, 2006). É bastante valorizada por seu alto teor de óleo (60-70%), proteína (17%) e minerais (LUO *et al*, 2013). Os estudos apontam que esta semente é a melhor fonte de selênio entre os alimentos de origem vegetal, um mineral essencial envolvido em complexas reações enzimáticas e metabólicas, sendo também fonte de magnésio, fósforo, cálcio, ferro, potássio, zinco e cobre (YANG, 2009).

O interesse em alimentos contendo selênio aumentou devido às propriedades anticancerígenas que o mesmo apresenta, pois parece evitar vários tipos de tumores malignos e induz a apoptose (morte celular) em lesões pré-malignas. Esse elemento é necessário para a atividade da glutathione peroxidase, que protege contra o estresse oxidativo por eliminação de peróxidos (VONDERHEIDE *et al*, 2002). Há também estudos que mostram a relação direta entre os níveis de selênio e câncer de próstata (KLEIN *et al*, 2011). A semente da castanha-do-Brasil também contém quantidades significativas de antioxidantes fenólicos que podem controlar o estresse oxidativo no corpo (MASSI *et al*, 2014). Assim, a castanha-do-Brasil pode servir como um nutracêutico (JHON; SHAHIDI, 2010).

Apenas o Brasil, Bolívia e Peru exportam a semente de castanha-do-Brasil (FREITAS-SILVA; VENÂNCIO, 2011). Elas podem ser vendidas com casca, sem cascas (obtidas manualmente), semissecas ou desidratadas, sendo que seu armazenamento e conservação constituem um ponto fundamental para a sua comercialização (PACHECO; SCUSSEL, 2009). Este ponto é bastante relevante, pois a contaminação por fungos, tais como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*, é um problema recorrente em castanha-do-Brasil (BAQUIÃO *et al*, 2012). Esses fungos podem produzir aflatoxinas, que são metabólitos tóxicos potencialmente cancerígenos (REIS *et al*, 2012).

Os produtores brasileiros estão cada vez mais interessados em aceitar ajuda de programas de certificação orgânica para prevenir que a castanha-do-Brasil sofra contaminação por fungos, já que a demanda por alimentos orgânicos na América do Norte e União Européia, os dois principais mercados de alimentos orgânicos, quase que dobrou na última década. Assim, esta associação visa melhores ganhos econômicos, já que os consumidores desses mercados concordam em pagar mais por produtos certificados como sustentáveis (REIS *et al*, 2014).

2.2. Óleos vegetais

Óleos vegetais são produtos constituídos, principalmente, de triglicerídeos de ácidos graxos, seguidos de diglicerídeos, monoglicerídeos e ácidos graxos livres, podendo apresentar, também, em pequenas concentrações, outros tipos de substâncias tais como tocoferóis, esteróis e carotenóides (RODRIGUES *et al*, 2005). Apresentam-se, em geral, na forma líquida à temperatura de 25°C (BRASIL, 2005).

Os principais fatores que influenciam as características de óleos vegetais são o grau de insaturação e a distribuição dos ácidos graxos na molécula de glicerol. De um modo geral, apresentam densidade na faixa 0,91 a 0,95 g/cm³, baixo ponto de fusão, elevado ponto de ebulição, solubilidade muito boa em solventes apolares e as principais reações químicas que ocorrem naturalmente são hidrólise e oxidação (COSTA, 2012).

No caso do óleo oriundo da castanha-do-Brasil, vários estudos vêm sendo realizados no sentido de correlacionar a sua composição química com fatores edafoclimáticos e genéticos da planta, porém mesmo com o grande avanço nas pesquisas em relação aos métodos de extração, a obtenção de um óleo com qualidade ainda é um desafio, principalmente, devido aos fenômenos oxidativos que podem ocorrer durante os processos de extração e armazenamento (FUNASAKI *et al*, 2012).

2.2.1. Reações de Oxidação

O sítio ativo para a reação de uma molécula de ácido graxo presente nos óleos vegetais com o oxigênio do ar (oxidação) são suas insaturações. A oxidação dos óleos pode ocorrer por duas vias: enzimática e não enzimática. O processo enzimático ocorre devido à ação de enzimas presentes nas sementes oleaginosas ou de origem microbiana. A oxidação por processo não enzimático pode ser promovida principalmente pelo oxigênio atmosférico (autoxidação), calor (termoxidação) e luz (fotoxidação), sendo também denominada de rancidez oxidativa.

As reações de oxidação ocorrem em três etapas: iniciação, propagação e terminação (ARAÚJO, 2011).

Iniciação: Nesta etapa, ocorre a formação de um radical livre a partir de uma fonte energética (calor, luz, metais ou outros radicais livres). A fonte energética quebra a ligação química do carbono com o hidrogênio (C-H) adjacente à dupla ligação C = C.

Na Figura 1 está exemplificado o processo de formação do radical livre (Figura 1c) no ácido oléico (Figura 1a), neste caso a quebra da ligação (C-H) ocorre no carbono 8 (Figura 1b).

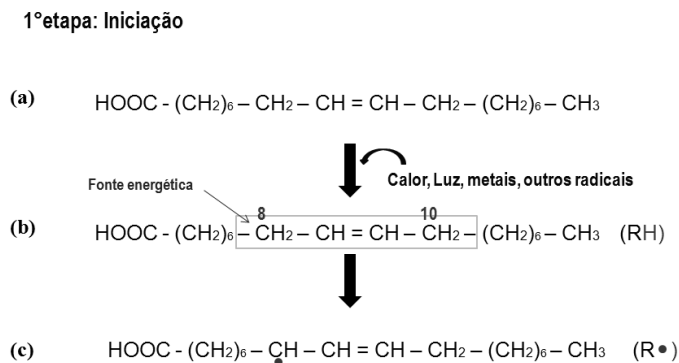


Figura 1. Esquema da primeira etapa do processo de oxidação. Adaptado de ARAÚJO (2011).

Propagação: o radical livre formado pela quebra da ligação C-H é muito reativo, pois possui uma deficiência de elétrons na camada de valência e procura fazer novas ligações químicas para se estabilizar. Este radical pode reagir com o oxigênio atmosférico (Figura 2d) formando novos radicais livres, principalmente o radical peroxil (Figura 2e). O radical peroxil tem a capacidade de roubar um hidrogênio de outras moléculas de ácido oléico e, assim, produzir o radical peróxido (Figura 2f).

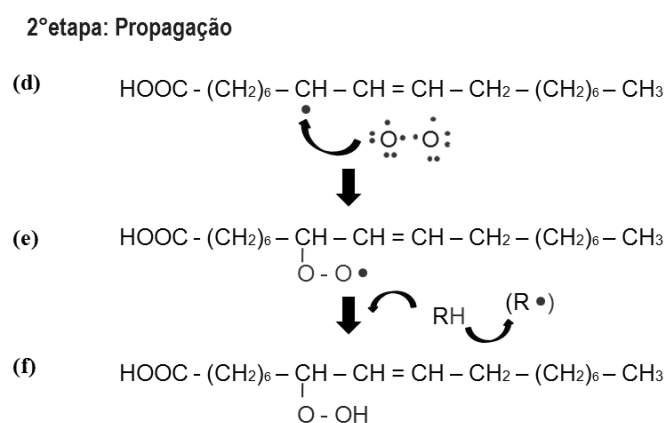


Figura 2. Esquema da segunda etapa do processo de oxidação. Adaptado de ARAÚJO (2011).

Terminação: os radicais formados podem se ligar entre si, formando os mais diversos produtos inativos para a reação em cadeia (Figura 3), como hidrocarbonetos, aldeídos, alcoóis, ésteres, etc. Estes são denominados produtos secundários da oxidação.

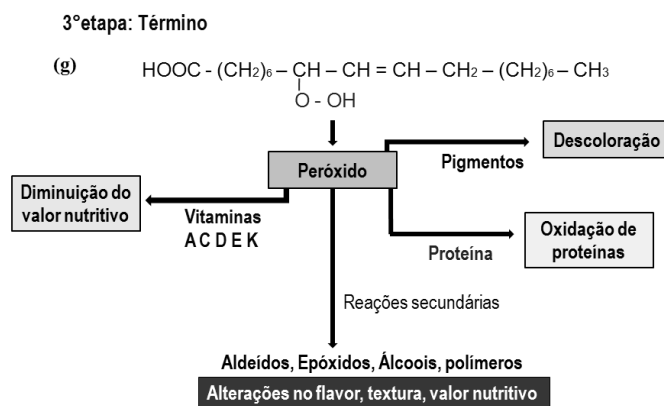


Figura 3. Esquema da terceira etapa do processo de oxidação. Adaptado de ARAÚJO (2011).

Para a verificação do processo de oxidação ou outras reações de degradação do óleo vegetal, são realizadas as determinações dos índices químicos, que são expressões de suas propriedades físicas ou químicas. Assim, são determinados os índices de acidez, peróxidos e refração. São estes índices que, juntamente, com outras análises físico-químicas, como a densidade relativa e viscosidade, servem para identificação e avaliação da maioria dos óleos vegetais, sendo que a análise dos resultados determinam a qualidade dos mesmos.

A elevação da acidez nos óleos vegetais é decorrente da hidrólise enzimática e não enzimática que ocorre na semente ou no fruto em condições de alta umidade. O índice de acidez revela o estado de conservação do óleo e a decomposição dos glicerídeos é acelerada pelo aquecimento e pela luz (MACHADO *et al*, 2006). Elevados índices de acidez são sugestivos de hidrólise acentuada dos ésteres constituintes da matéria graxa. As causas da degradação incluem tratamentos químicos integrantes dos processos industriais de extração e purificação, atividade bacteriana, ação catalítica (calor e luz), estocagem inadequada, presença de impurezas, umidade, entre outros

(BRASIL, 2010; ARAÚJO, 2011). O índice de peróxido determina todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio a iodo. Estas substâncias são consideradas como sendo peróxidos ou produtos similares provenientes da oxidação das gorduras. Os peróxidos são produtos primários da oxidação de lipídeos (MACHADO *et al*, 2006). É expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo contidos em um quilograma de óleo (KOBORI; JORGE, 2005). O índice de refração é característico para cada tipo de óleo, dentro de certos limites, e está relacionado com o grau de saturação das ligações químicas, sendo também afetado por outros fatores tais como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico. Portanto, é empregado tanto na caracterização quanto na avaliação da estabilidade dos óleos vegetais. Sendo, também, empregado para o monitoramento do processo de hidrogenação dos óleos (MACHADO *et al*, 2006).

A Figura 4 mostra como os índices químicos se alteram conforme as etapas de oxidação. Verifica-se que durante o processo de oxidação, os valores de peróxidos alcançam determinada concentração e, posteriormente, diminuem. Sua degradação é influenciada por diversos fatores, tornando imprevisível sua retenção no óleo ou sua conversão em voláteis. Com relação aos índices de acidez, viscosidade e refração os valores tendem a aumentar, sendo que no caso da viscosidade o aumento se dá devido à formação de polímeros (ARAÚJO, 2011).

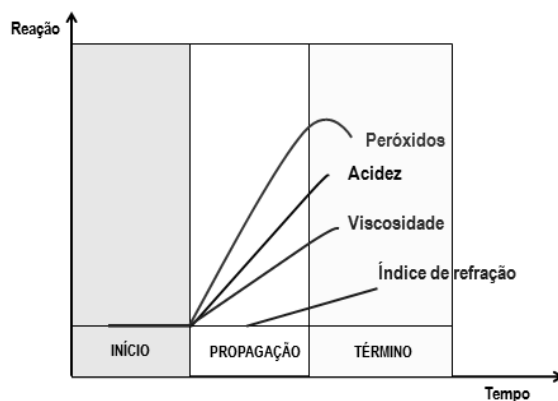


Figura 4. Comportamento dos índices químicos no processo de oxidação de lipídios. Adaptado de ARAÚJO (2011).

2.3. Óleo de castanha-do-Brasil

O óleo da castanha do Brasil é, principalmente, obtido a partir de sementes quebradas, as quais perdem 40% do seu valor comercial, assim, como forma de não desperdiçá-las, o óleo é extraído, em geral, de forma mecânica através de prensagem (RODRIGUES *et al*, 2005).

O óleo pode ser extraído de várias formas, dentre as quais cita-se: a extração a frio, geralmente realizada por prensas hidráulicas ou mecânicas, sendo este método o mais utilizado; extração sólido-líquido, no qual se utilizam solventes como o hexano, éter de petróleo, etanol, metanol e clorofórmio, entre outros solventes, combinados ou isolados; e recentemente tem sido realizados estudos para se extrair o óleo por fluido supercrítico. Esse aumento da variabilidade dos processos de extração do óleo de castanha-do-Brasil é justificado pela busca de processos extrativos que aumentem rendimentos, preservem a qualidade, reduzam custos e melhorem a produtividade (SANTOS *et al*, 2012).

A extração por fluido supercrítico tem se mostrado bastante vantajosa, assim óleos de diversas espécies da região amazônica obtidos através desse processo têm sido investigados desde a década de 1990 como o bacuri (*Platonia insignis*) (MONTEIRO *et al*, 1997), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) (DE AZEVEDO; KOPCACK; MOHAMED, 2003), dendê (*Elae guineensis*) (FRANÇA *et al*, 2000), buriti (*Mauritia flexuosa*) (FRANÇA *et al*, 1998) e semente de maracujá (*Passiflora edulis f.*) (CORREA *et al*, 1994).

Com relação ao óleo de castanha-do-Brasil, o processo de extração por fluido supercrítico possui grande potencial já que os índices químicos como o de acidez, peróxidos, saponificação e refração não se mostram alterados, ou seja, as características físico-químicas não se alteram e permanecem na faixa aceitável. Além disso, o

rendimento é maior (67,2%) quando comparado ao processo de extração mecânica (52%). Apesar de o rendimento ser um pouco maior quando se extrai óleo de castanha-do-Brasil utilizando solventes como hexano (67,73%) e éter de petróleo (67,32%), este tipo de extração possui algumas desvantagens como um elevado tempo de extração, presença de rejeitos na amostra final, e segurança laboratorial (SANTOS *et al.*, 2012).

Seu conteúdo lipídico é de cerca de 60 a 70% e seu perfil de ácidos graxos consiste principalmente de ácidos graxos insaturados interessantes do ponto de vista terapêutico, principalmente os ácidos oléico e linoléico (QUEIROGA *et al.*, 2009). (Tabela 1).

| Ácido Graxo | YANG, J (2009)* | SANTOS, O.V. (2012)* | SANTOS, O.V. (2013)** |
|---------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|
| Láurico (C 12:0) | ND | 0,00 | 0,767 |
| Mirístico (C 14:0) | 0,06 | 0,06 | 0,565 |
| Palmítico (C 16:0) | 13,50 | 14,24 | 14,04 |
| Palmitoleico (C 16:1) | 0,33 | 0,01 | 0.016 |
| Margárico (C 17:0) | 0,22 | - | - |
| Estearico (C 18:0) | 11,77 | 11,19 | 10.63 |
| Oleico (C 18:1) (ω 9) | 29,09 | 36,26 | 34.55 |
| Linoleico (C 18:2)(ω 6) | 42,80 | 37,53 | 40.15 |
| Linolênico (C 18:3) (ω 3) | 0,20 | 0,08 | 0.085 |
| Araquidônico (C 20:0) | 0,54 | - | - |
| Gadoleico (C 20:1) | 0,21 | - | - |
| Behênico (C 22:0) | 0,12 | - | - |
| Erucico (C 22:1) | 0,34 | 0,28 | 0.436 |
| Docosahexaenóico (C 22:6) | ND | 0,06 | 0.108 |

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (%) do óleo extraído da Castanha-do-Brasil

* Óleo extraído a frio, **Óleo extraído por CO₂ supercrítico, ND = Não identificado, (-) = Não fornecido pelo autor, (ω 9) = ômega 9, (ω 6) = ômega 6, (ω 3) =ômega 3.

Pela análise da Tabela 1 constata-se que os ácidos graxos prevalentes no óleo de castanha-do-Brasil são, em ordem decrescente: ácido linoleico (37,53 a 42,80%), ácido oleico (29,09 a 34,55 %), ácido palmítico (13,50 a 14,24 %) e ácido estearico (10,63 a 11,77 %).

Os ácidos graxos presentes no óleo de castanha-do-Brasil, além de suas propriedades nutritivas, podem apresentar efeitos terapêuticos no combate a microorganismos patógenos. Foi relatado que o ácido linoleico contido em uma formulação lipossomal pode inibir a resistência bacteriana do *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, diminuindo a frequência de transferência de DNA conjugal (SMITH; ROMESBERG, 2007). Portanto, este ácido graxo possui um grande potencial para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos contra *S. aureus* resistente a meticilina (HUANG *et al*, 2011).

O ácido oleico possui a capacidade de interagir com lipídios do estrato córneo e alterar suas estruturas, aumentando a sua fluidez e, conseqüentemente, aumentando o fluxo de compostos polares, assim, ele funciona como um agente que aumenta a permeabilidade da pele, sendo chamado de promotor de absorção (HSU *et al*, 2003). A literatura registra que o ácido oleico também exerce excelente atividade antimicrobiana contra várias cepas de *S. aureus*, incluindo as cepas de *S. aureus* resistente a meticilina.

O uso de ácido oleico como bactericida está em conformidade com a medicina evolutiva porque é endogenamente presente na pele humana (CHAO-HSUAN *et al*, 2011). Em um outro estudo foi demonstrado que a associação entre o ácido oleico, ácido palmítico e ceramida mostrou-se eficaz no combate às dermatites de contato irritativa, dermatite de contato alérgica e dermatite atópica (BERARDESCA *et al*, 2001).

O ácido palmítico e o ácido oleico aumentaram a expressão de β -defensina do tipo 2, que possui a função de diminuir a incidência, tamanho e multiplicação de lesões da pele, induzidas pela exposição a luz. Além disso, apresentaram atividade antimicrobiana contra *Propionibacterium acnes* na pele. Os resultados sugerem que estes ácidos graxos estão envolvidos na desinfecção da pele humana, devido as suas características

antimicrobianas que melhoram a capacidade de defesa imunológica inata (NAKATISUJI *et al*, 2010).

A composição de ácidos graxos presente no óleo de castanha-do-Brasil pode ser determinada por meio da técnica de cromatografia gasosa, sendo que os ácidos graxos são compostos instáveis termicamente, no entanto possuem baixa volatilidade e por isso precisam ser derivatizados. A derivatização é uma técnica em que a substância se torna volátil e termicamente estável, além de promover melhor separação e resolução dos componentes (ARAÚJO, 2011).

Análises do óleo da castanha-do-Brasil por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta também são relatados na literatura, principalmente, para a quantificação de tocoferóis (LIMA; GONÇALVES, 1997) e também para a caracterização e identificação de ácidos graxos, porém quando comparado à técnica de Cromatografia Gasosa aplicada a espectrômetro de massas (CG/MS) apresenta desvantagem com relação aos custos, já que necessita de padrão para a identificação e quantificação das substâncias (SOUZA DA SILVA, 2012).

2.4. Sistemas emulsionados

2.4.1. Emulsões

Emulsão é um sistema com uma fase dispersa composta por gotículas de um líquido, distribuídas num outro líquido, no qual são imiscíveis. Na terminologia das emulsões, a fase dispersa é conhecida como fase interna, e o meio dispersante como fase externa ou contínua (LEONARDI, 2004).

Esses sistemas dispersos são muito utilizados na área farmacêutica, pela sua capacidade de veiculação de princípios ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis,

podendo ser utilizados para elaboração de formas farmacêuticas medicamentosas e/ou cosméticas, tanto para uso oral como tópica. Esses tipos de sistemas apresentam algumas vantagens, com destaque para a capacidade de diminuição da irritabilidade dérmica de certos fármacos, pela boa aceitação por parte do consumidor, uma vez que é possível mascarar o odor dos princípios ativos, e também pela facilidade de utilização e remoção (CASTELI *et al*, 2008). Dependendo da composição, a emulsão pode oferecer muito mais do que “alívio sintomático” ou hidratação, como exemplo cita-se os casos de queimadura de primeiro grau ou outras patologias com distúrbio da barreira epidérmica. Para estes casos, quando a emulsão contém em sua composição os três componentes de lipídeos intercelulares da camada córnea (ácidos graxos livres, colesterol e ceramida) ocorre um aumento na regeneração da barreira epidérmica (CELA *et al*, 2014).

2.4.1.1. Tipos de emulsões.

As emulsões são classificadas em três tipos: água em óleo (A/O), óleo em água (O/A) e múltiplas ou complexas. As emulsões A/O apresentam gotas de água dispersas em uma fase contínua do óleo, e as emulsões O/A apresentam gotas de óleo dispersas em uma fase contínua de água. Já as emulsões conhecidas como múltiplas ou complexas são aquelas onde gotas de óleo dispersas em água são suficientemente grandes para abrigar gotículas de água em seu interior (A/O/A). O inverso gera emulsões O/A/O (FERRARI, 1998), conforme esquematizado na Figura 5.

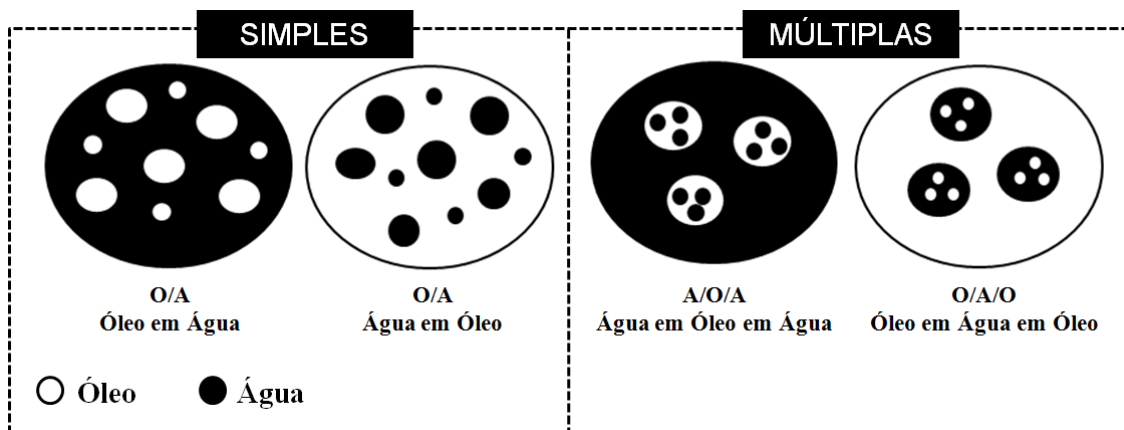


Figura 5. Diferentes tipos de emulsões - Adaptado de FERRARI (1998)

2.4.1.2. Estabilização das emulsões

A estabilidade das emulsões depende de vários fatores (BARATA, 1994):

- a) Tamanho das gotículas: compreende-se que, quanto menores forem as gotículas, menor será a tendência de aglutinarem-se em glóbulos. Essa tendência será diminuída se o tamanho das gotículas for uniforme (mesmo diâmetro).
- b) Viscosidade do meio dispersante: quanto mais viscosa for a fase dispersante, maior dificuldade terão as gotículas em se juntarem e darem origem à separação de fases.
- c) Diferença de densidade dos líquidos presentes: quanto menor for a diferença de densidade dos 2 líquidos, menor será a tendência para a separação de fases, fenômeno que é acelerado pela ação da gravidade.

A lei de Stokes relaciona esses parâmetros citados acima:

$$V = \frac{2r^2 (d_1 - d_2) g}{9 \eta}$$

Onde V é a velocidade de sedimentação das gotículas dispersas, r o seu raio, d_1 , a densidade da fase dispersa, d_2 a densidade da fase dispersante, g a aceleração da gravidade e η a viscosidade da fase dispersante. A força da gravidade não é de se considerar, em condições normais, na estabilidade das emulsões, uma vez que é

constante e impacta igualmente todos os sistemas (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1995).

Além dos fatores citados acima, outro ponto importante com relação à estabilidade das emulsões é o modelo de dupla camada elétrica (Figura 6) que se forma nesses sistemas, o qual explica que o equilíbrio dos sistemas dispersos ocorre através do balanço entre as forças de atração e repulsão entre as gotículas.

A dupla camada elétrica é composta por uma camada chamada de compacta e outra chamada de difusa. A camada compacta, se manifesta mais próxima da superfície da gotícula e a camada difusa se distribui em torno da primeira. A distribuição dos íons no sistema permite que haja uma repulsão das gotículas coloidais, favorecendo assim, a sua estabilização.

Quando a polaridade da superfície do colóide é baixa, as forças de Van der waals existentes entre as partículas podem vencer a força de repulsão eletrostática e favorecer processos de floculação e coalescência. Neste caso em que a polaridade da superfície da partícula coloidal é fraca, uma viscosidade elevada da camada difusa pode não permitir que fenômenos de desestabilização ocorram. Pode-se verificar que o processo de desenvolvimento de uma emulsão estável não é tão simples, uma vez que deve-se levar em consideração a função de cada componente da formulação de forma isolada e em conjunto (SCHONS, 2008).

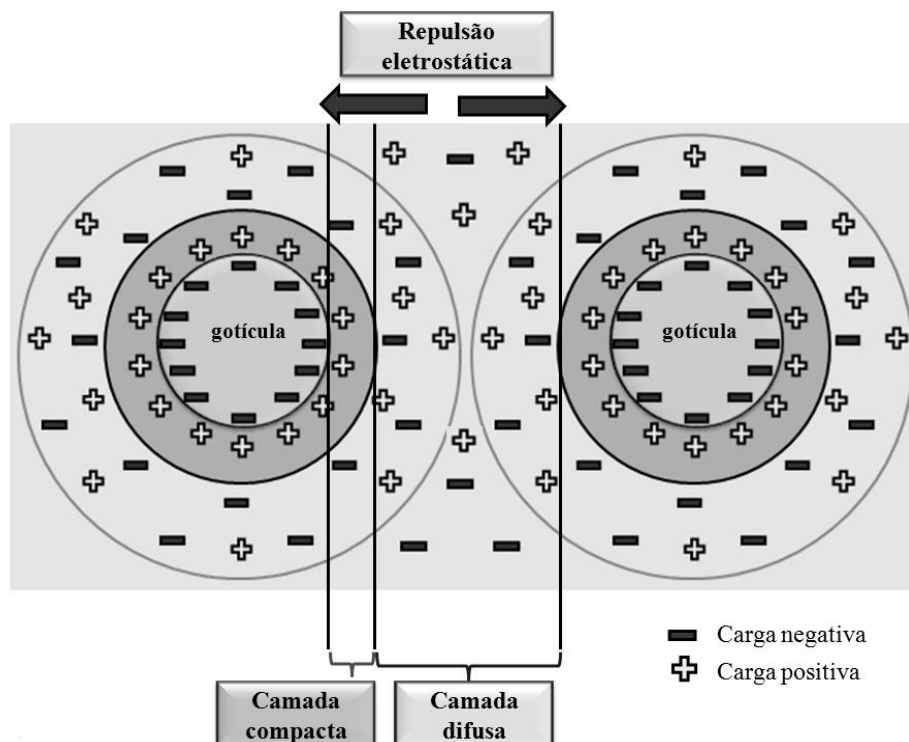


Figura 6. Representação esquemática do modelo da dupla camada elétrica (Adaptado de SCHONS, 2008)

2.4.1.3. Desestabilização das emulsões

Os principais processos que ocorrem no processo de desestabilização das emulsões estão descritos abaixo (Figura 7):

a) **Floculação:** na floculação ocorre apenas a agregação das gotas, sendo que elas mantêm suas características iniciais. A floculação ocorre devido à diminuição das forças de repulsão e também da diminuição da espessura da camada difusa (SCHONS, 2008). O processo de floculação é reversível, mas é a etapa inicial para a formação do processo da coalescência.

b) **Coalescência:** o fenômeno da coalescência ocorre quando as partículas se agregam. Essa agregação forma partículas mais grossas, produzindo assim uma maior probabilidade de separação de fases (ALVES DOS SANTOS, 2011). O processo de coalescência é irreversível.

c) *Creaming* ou cremagem: também é conhecido como processo de sedimentação (ALVES DOS SANTOS, 2011). Neste processo ocorre um deslocamento das gotas de óleo para a superfície ou profundidade do sistema, baseado na diferença de densidade entre as duas fases (SCHONS, 2008). A sedimentação, geralmente, ocorre após o processo de coalescência, sendo também um processo irreversível.

O principal recurso utilizado para impedir os processos de desestabilização é o acréscimo de agentes tensoativos e/ou utilização de agentes cotensoativos, o qual se interpõe entre as duas fases, oleosa e aquosa, retardando assim, a sua separação (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1995).

Um tensoativo apresenta uma parte apolar e outra polar sendo muitas vezes denominadas como substâncias anfifílicas. Na preparação de uma emulsão deve-se considerar o tipo de estrutura química do tensoativo e analisar o número de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos. Assim, usa-se o equilíbrio hidrófilo-lipófilo como um parâmetro para se saber o grau de hidrofobicidade de cada tensoativo (ARCANJO, 2009).

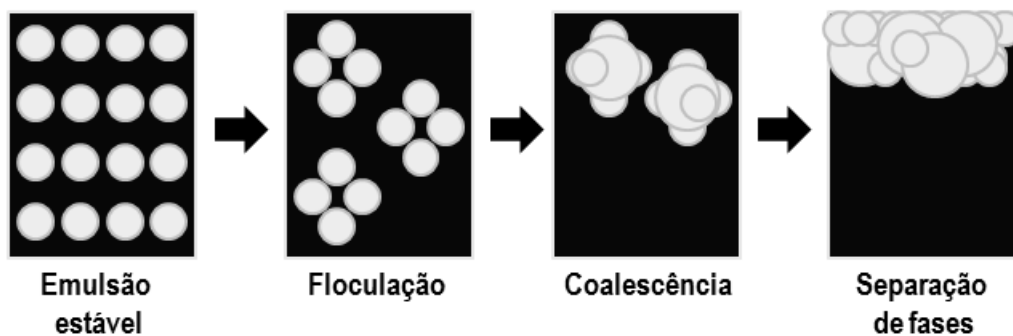


Figura 7. Processos que ocorrem na desestabilização de uma emulsão O/A.

2.4.2. Nanoemulsões

Nanoemulsões são dispersões com tamanho de gotícula na faixa de 20 a 500 nm. São constituídas por uma fase hidrofílica, uma fase lipofílica e tensoativos, sem a presença de um polímero (SCHAFFAZICK *et al*, 2003). Têm sido bastante investigadas devido a sua obtenção simples, elevada estabilidade física e por proporcionar um aumento na biodisponibilidade de fármacos veiculados na sua estrutura (WALKER *et al*, 2015). Considerando que a maioria dos fármacos possuem propriedades físico-químicas inadequadas para penetrar efetivamente na pele, foram desenvolvidos ao longo dos anos diferentes estratégias para aumentar a permeação de substâncias através da mesma, entre outras, pode-se citar as nanoemulsões (ALVES, 2006).

Diferente das microemulsões (ME), nanoemulsões são sistemas cineticamente estáveis, ou seja, estáveis por um longo período de tempo. Devido à estabilidade estérica proporcionada pelos tensoativos e ao pequeno tamanho dos glóbulos são estáveis frente à floculação, sedimentação e à cremagem, uma vez que o movimento browniano ou taxa de difusão supera estes fenômenos induzidos pela força da gravidade (SOLANS *et al*, 2005). Podem apresentar-se transparentes ou translúcidas quando apresentam tamanho de gotícula menor que 200nm e de aparência leitosa acima de 200 nm (TADROS, 2004; CAPEK, 2004).

As nanoemulsões não se formam espontaneamente, sendo necessário o fornecimento de energia para o sistema. De acordo com a literatura elas podem ser preparadas por métodos de baixa energia ou alta energia de emulsificação (SOLÉ *et al*, 2010). Os métodos que utilizam alta energia de emulsificação são baseados na geração de energia mecânica por meio da alta pressão de cisalhamento, homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores ou pela utilização de ultrassom. A alta energia empregada neste processo é capaz de deformar e quebrar as gotículas da fase interna,

formando glóbulos menores (FERNANDEZ *et al*, 2004). Uma das vantagens de se utilizar os métodos que utilizam alta energia de emulsificação é o melhor controle da granulometria e a maior possibilidade de escolha dos constituintes da formulação (SONNEVILLE-ABRUN; SIMONNET; L'ALLORET, 2004).

Nanoemulsões são sistemas adequados para a distribuição eficiente de ingredientes ativos para a pele. Devido ao seu tamanho reduzido são capazes de penetrar nas rugosidades da pele áspera, aumentando a penetração de ativos. Além disso, proporciona um depósito uniforme na pele devido ao tamanho de gotículas. A umectação, difusão e penetração também são reforçadas devido à baixa tensão superficial do sistema e baixa tensão interfacial entre as gotículas. Para a sua obtenção é utilizado uma concentração menor de tensoativos (5 a 10%) quando comparado as microemulsões (MEZADRI, 2010; ROSANI, 2011).

2.4.3. **Microemulsões**

Microemulsões do ponto de vista químico, podem ser definidas como sistemas termodinamicamente estáveis, isotrópicos, transparentes ou translúcidos, de dois líquidos imiscíveis, composto por uma fase aquosa e outra oleosa, estabilizadas por um tensoativo e um cotensoativo (geralmente álcool), localizados na interface óleo/água; o cotensoativo permite que ocorra a maior estabilização das gotículas dispersas no meio dispersante (FORMARIZ *et al*, 2005). Esses sistemas têm sido utilizados em várias áreas, tais como na indústria farmacêutica, indústria cosmética e na engenharia química, devido à sua baixa tensão interfacial, tamanho de gotícula, e boa capacidade de solubilização (BERA *et al*, 2013). Tais sistemas em geral formam-se espontaneamente, e assim como as emulsões podem ser classificadas como O/A, A/O e A/O/A (DANTAS *et al*, 2010).

As MEs têm sido uma ferramenta na obtenção de produtos farmacêuticos, devido ao fato de viabilizarem o aumento na eficácia terapêutica de fármacos, pois através delas pode-se reduzir a dose administrada e minimizar os efeitos colaterais. Além disso, esses sistemas melhoram a solubilização de fármacos lipofílicos em água e os protegem contra hidrólise enzimática, além de aumentar o potencial de absorção devido à presença de tensoativo (CRUZ; UCKUN, 2001).

Como exemplo de utilização na área farmacêutica, cita-se a veiculação de piroxicam, um fármaco anti-inflamatório altamente apolar, o qual demonstrou boas características de solubilização em ME do tipo O/A. Além disso, apresentou maior permeação cutânea em comparação as formas farmacêuticas tradicionais como as emulsões (NAZAR; KHAN; SHAH, 2009). Outros fármacos como os antifúngicos miconazol, itraconazol e cetoconazol, que também possuem a característica de ser altamente apolares, quando presentes em sistemas microemulsionados apresentam boa solubilidade e, conseqüentemente maior absorção (PURANAJOTI *et al*, 2002). O penciclovir, fármaco que tem atividade inibitória contra os vírus herpes simplex tipos 1 (HSV-1), 2 (HSV-2) e vírus varicela zoster, quando veiculado em ME apresentou permeação cutânea 3,5 vezes maior que a formulação comercial em creme (ZHU *et al*, 2008). Verificou-se, também, que o aciclovir obtém maior permeação *in vitro* quando comparada à sua veiculação em pomada e creme (SHISHU; RAJAN; RAMALPREET, 2009). Além da utilização de MEs na área farmacêutica, tem-se estudado o desenvolvimento de MEs contendo óleos vegetais para viabilizar suas potencialidades para a geração de energia e/ou uso como combustível, uma vez que suas propriedades físico-químicas de baixa volatilidade e alta viscosidade restringem seu uso como um substituto ao diesel (BALCAN *et al.*, 2014; APORNPONG *et al.*, 2014).

O diâmetro das gotículas da fase interna das emulsões, nanoemulsões e MEs, assim como a viscosidade do sistema, estão diretamente relacionados à difusão, permeabilidade e absorção, facilitando ou dificultando a fração disponível de fármaco por unidade de tempo (CORREA *et al*, 2005). Dessa forma, a caracterização físico-química dos sistemas emulsionados, principalmente, por estudos de viscosidade e determinação do tamanho das gotículas podem auxiliar na interpretação dos experimentos de liberação *in vitro* e *in vivo*.

As principais diferenças entre emulsão, nanoemulsão e ME estão arroladas na Tabela 2.

| Parâmetro | Microemulsão | Nanoemulsão | Emulsão |
|--|---|---|---|
| Tipo de dispersão | Coloidal | Coloidal | Grosseira |
| Tamanho de gotícula (μm)* | Até 0.15 | Até 0.25 | Acima de 0.50 |
| Estabilidade termodinâmica | Estável | Não estável | Não estável |
| Formação | Espontânea | Requer energia | Requer energia |
| Composição | Requer grandes quantidades de tensoativo combinado com um co-tensoativo | Requer baixas quantidades de tensoativo | Requer baixas quantidades de tensoativo |
| Consistência | Fluido | Fluido | Fluido/Semissólido |
| Turbidez | Transparente/Translúcido | Leitoso | Pode variar |

Tabela 2. Principais diferenças entre microemulsão, nanoemulsão e emulsão.

* Não há nenhum valor específico de tamanho de partícula que representa um ponto de corte definitivo para diferenciar estas formulações. Os valores citados aqui servem apenas como diretrizes com base em trabalhos publicados sobre este tema (LOPES, 2014).

De acordo com Winsor (1948), as MEs podem ser classificadas em quatro tipos

(Figura 8):

- a) Winsor I: ocorre quando apenas uma pequena porção da fase oleosa está em equilíbrio com o sistema microemulsionado, apresentando um excesso de óleo na porção superior do sistema, formando um sistema bifásico.
- b) Winsor II: também bifásico, uma pequena porção da fase aquosa está em equilíbrio com o sistema microemulsionado, apresentando um excesso de água na porção inferior do sistema.
- c) Winsor III: o sistema homogêneo está em equilíbrio com excesso tanto de óleo quanto de água, formando um sistema trifásico.
- d) Winsor IV: ocorre quando não há excesso de fase aquosa ou oleosa, formando um sistema homogêneo e monofásico. É a ME propriamente dita.



Figura 8. Classificação de fases de Winsor. I= winsor I; II=winsor II; III=winsor III; IV=winsorIV.

No desenvolvimento de MEs, a construção de diagrama de fases é etapa fundamental para caracterizar o domínio das regiões de ME, cuja interpretação descreve as estruturas presentes contidas neles, podendo-se escolher a região cuja viscosidade é mais apropriada para o fármaco a ser incorporado (SILVA *et al.*, 2009). Os diagramas de fases ternários e pseudoternários são geralmente construídos em duas dimensões a partir de dados obtidos por titulação ou pela preparação de um amplo número de amostras de diferentes composições.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver sistemas emulsionados contendo óleo de castanha-do-Brasil.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a viabilidade de obtenção de emulsões, nanoemulsões e microemulsões utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa;
- Caracterizar os sistemas emulsionados através de ensaios físico-químicos;
- Verificar a estabilidade preliminar dos sistemas emulsionados obtidos.

4. METODOLOGIA

4.1. Obtenção da matéria prima

As amêndoas de castanha-do-Brasil foram obtidas a partir de sua semente sem casca fornecida pela indústria Jutica® - Produtos da Amazônia, localizada no município de Tefé, interior do estado do Amazonas.

4.2. Extração do óleo de Castanha-do-Brasil por prensagem a frio

A extração do óleo de castanha-do-Brasil, a partir de sua amêndoa inteira, foi realizada por prensagem a frio, onde as amêndoas foram previamente submetidas ao aquecimento a 105°C, prensadas em prensa mecânica e, em seguida, filtro prensa.

4.3. Caracterização físico-química do óleo de castanha-do-Brasil

4.3.1. Determinação dos índices químicos

A determinação dos índices químicos do óleo de castanha-do-Brasil foi realizada de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz 4ª edição, que descreve os seguintes ensaios: determinação do índice de acidez (método volumétrico), determinação do índice de peróxidos (método volumétrico) e determinação do índice de refração. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.3.1.1. Índice de acidez

Pesou-se 2 g da amostra, bem homogênea e completamente líquida, em erlenmeyer de 125 mL. Adicionou-se 25 mL de solução de éter-álcool (2:1) neutra.

Adicionou-se duas gotas da solução indicadora fenolftaleína e titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 M padronizada até o aparecimento da coloração

rósea, a qual persistiu por 30 segundos. Os resultados foram expressos em mgKOH/g. O índice de acidez foi calculado pela equação abaixo:

$$\text{Índice de acidez} = V \times f \times 5,610 / P$$

Onde:

V = nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

P = nº de g da amostra.

4.3.1.2. Índice de peróxidos

Pesou-se 5 g de óleo de castanha-do-Brasil em um erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 30 mL da solução ácido acético-clorofórmio (3:2) e agitou-se até a dissolução da amostra. Adicionou-se 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e deixou-se em repouso, ao abrigo da luz, por exatamente um minuto. Acrescentou-se 30 mL de água e titulou-se com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N padronizada até que a coloração amarela tivesse quase desaparecido. Adicionou-se 0,5 mL de solução de amido indicadora e continuou-se a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul. Titulou-se uma prova em branco nas mesmas condições. Os resultados foram expressos em meq/Kg. O índice de peróxidos foi calculado pela equação abaixo:

$$\text{Índice de peróxidos} = (A-B) \times N \times f \times 1000 / P$$

Onde:

A = nº de mL da solução de tiosulfato de sódio 0,1 (ou 0,01 N) gasto na titulação da amostra;

B = nº de mL da solução de tiosulfato de sódio 0,1 (ou 0,01 N) gasto na titulação do branco;

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio.

f = fator da solução de tiosulfato de sódio.

P = nº de g da amostra

4.3.1.3. Índice de refração

Para a determinação do índice de refração foi utilizado um refratrômetro tipo Abbé previamente calibrado com água destilada.

4.3.2. Determinação da densidade relativa

Para a determinação da densidade relativa foi utilizado picnômetro de vidro limpo e seco. Primeiramente, foi pesado o picnômetro vazio, em seguida pesou-se com água destilada e por fim com óleo de castanha-do-Brasil. O valor da densidade da amostra foi obtido através da equação abaixo:

$$\text{Densidade Relativa} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Onde:

M_0 = peso do picnômetro vazio;

M_1 = peso do picnômetro com água;

M_2 = peso do picnômetro com óleo.

4.3.3. Determinação da solubilidade

Pesou-se 5g de óleo em tubo de ensaio a temperatura ambiente e misturou-se com os seguintes solventes: éter etílico, éter de petróleo, álcool isopropílico, acetona, clorofórmio, metanol, etanol e ácido acético. Foi verificado visualmente se ocorria dissolução, separação de constituintes ou turvação da mistura.

4.4. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo do óleo de castanha-do-Brasil

A metodologia consistiu na preparação de emulsões seriadas do óleo de castanha-do-Brasil obtidas à custa de um par de tensoativos (A e B), listados na Tabela 4, que possuem valor de EHL conhecido, misturados em proporções variáveis, de modo a originarem valores definidos e escalonados de EHL (Tabela 3).

| Ponto | Tensoativo A | | Tensoativo B | | Óleo | Água | Total |
|-------|--------------|-------|--------------|-------|------|------|-------|
| | % | g | % | g | | | |
| 1 | 100% | 0,5g | 0% | 0g | 1g | 8,5g | 10g |
| 2 | 90% | 0,45g | 10% | 0,05g | 1g | 8,5g | 10g |
| 3 | 80% | 0,40g | 20% | 0,1g | 1g | 8,5g | 10g |
| 4 | 70% | 0,35g | 30% | 0,15g | 1g | 8,5g | 10g |
| 5 | 60% | 0,30g | 40% | 0,20g | 1g | 8,5g | 10g |
| 6 | 50% | 0,25g | 50% | 0,25g | 1g | 8,5g | 10g |
| 7 | 40% | 0,20g | 60% | 0,30g | 1g | 8,5g | 10g |
| 8 | 30% | 0,15g | 70% | 0,35g | 1g | 8,5g | 10g |
| 9 | 20% | 0,10g | 80% | 0,40g | 1g | 8,5g | 10g |
| 10 | 10% | 0,05g | 90% | 0,45g | 1g | 8,5g | 10g |
| 11 | 0% | 0g | 100% | 0,5g | 1g | 8,5g | 10g |

Tabela 3. Concentração de tensoativos utilizados para determinação do valor de EHL do óleo de castanha-do-Brasil.

Os pares de tensoativos utilizados estão descritos na Tabela 4:

| | Par de tensoativo | | Variação do valor de EHL |
|----|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Tensoativo A | Tensoativo B | |
| 1 | Tween 20 [®] | Tween 40 [®] | (16,7 – 15,6) |
| 2 | Tween 40 [®] | Tween 60 [®] | (15,6 – 14,9) |
| 3 | Tween 60 [®] | Tween 80 [®] | (14,9 – 14,0) |
| 4 | Tween 80 [®] | Span 20 [®] | (14,0 – 8,6) |
| 5 | Span 20 [®] | Span 60 [®] | (8,6 – 4,7) |
| 6 | Span 60 [®] | Span 80 [®] | (4,7 – 4,3) |
| 7 | Span 80 [®] | Brij 93 [®] | (4,3 – 4,0) |
| 8 | Brij 93 [®] | Arlacel 83 [®] | (4,0 – 3,7) |
| 9 | Arlacel83 [®] | Span 65 [®] | (3,7 – 2,1) |
| 10 | Span 65 [®] | Span 85 [®] | (2,1 – 1,8) |

Tabela 4. Pares de tensoativos utilizados para determinação do valor de EHL do óleo de castanha-do-Brasil.

As emulsões foram preparadas por aquecimento das fases aquosa (água destilada) e oleosa (par de tensoativos e óleo de castanha-do-Brasil) separadamente em banho-maria elétrico a 70-75°C. Uma vez alcançada a temperatura desejada, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa e o sistema foi mantido sob agitação magnética a 15 rpm por 20 minutos. Em seguida, as emulsões foram transferidas para tubos de ensaios e mantidas em repouso por 7 dias em temperatura ambiente. A cada 24h procedeu-se a observação das mesmas durante 7 dias. Após esse período, as emulsões foram submetidas a centrifugação a 30rpm durante 30 minutos. Para a determinação do EHL do óleo, tomou-se como ponto de referência a emulsão que apresentou maior estabilidade, ou seja, não apresentou cremação nem separação de fases. Para o cálculo do EHL do par de tensoativos que gerou a emulsão estável utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{EHL} = \frac{(\text{EHL tensoativo A} \times \% \text{ tensoativo A}) + (\text{EHL Tensoativo B} \times \% \text{ tensoativo B})}{(\% \text{ Tensoativo A} + \% \text{ Tensoativo B})}$$

4.5. Desenvolvimento das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

As emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil foram preparadas pelo método de inversão de fases, onde aqueceu-se a fase oleosa e aquosa separadamente em banho-maria (70-75°C) e verteu-se a fase aquosa sobre a oleosa. Foi utilizado um planejamento fatorial do tipo 3², onde foram avaliados a concentração de tensoativo e concentração de óleo de castanha-do-Brasil (Tabela 5).

| Fatores | Níveis | |
|---|--------|------|
| | | (-1) |
| A) Concentração de óleo de castanha-do-Brasil | (0) | 10% |
| | (+1) | 15% |
| | (-1) | 2,5% |
| B) Concentração do tensoativo | (0) | 5,0% |
| | (+1) | 7,5% |

Tabela 5. Planejamento fatorial do tipo 3^2 utilizado para o desenvolvimento e emulsões com óleo de castanha-do-Brasil.

Foram preparadas 9 formulações diferentes, utilizando os componentes e concentrações descritos na Tabela 6.

| | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| OCB* | 5g | 10g | 15g | 5g | 10g | 15g | 5g | 10g | 15g |
| Span 60[®] | 2,5g | 2,5g | 2,5g | 5,0g | 5,0g | 5,0g | 7,5g | 7,5g | 7,5g |
| Propilparabeno | 0,2g | 0,2g | 0,2g | 0,2g | 0,2g | 0,2g | 0,2g | 0,2g | 0,2g |
| Metilparabeno | 0,1g | 0,1g | 0,1g | 0,1g | 0,1g | 0,1g | 0,1g | 0,1g | 0,1g |
| BHT** | 0,05g | 0,05g | 0,05g | 0,05g | 0,05g | 0,05g | 0,05g | 0,05g | 0,05g |
| Água (q.s.p) | 100g | 100g | 100g | 100g | 100g | 100g | 100g | 100g | 100g |

Tabela 6. Formulações contendo óleo de castanha-do-Brasil. *OCB= óleo de castanha-do-Brasil; **BHT=butilhiroxitolueno

4.5.1. Estudo de estabilidade preliminar das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

4.5.1.1. Determinação do pH

A medida do pH foi realizada em potenciômetro digital utilizando-se amostras diluídas a 10% em água destilada, por tratar-se de formulação semissólida (BRASIL, 2008). O potenciômetro foi previamente calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0.

4.5.1.2. Determinação da densidade relativa

Para a determinação da densidade relativa foi utilizado picnômetro de metal limpo, seco e com capacidade para 25mL. Primeiramente pesou-se o picnômetro vazio (M_0), em seguida com água destilada (M_1) e por fim com a emulsão (M_2). Obteve-se o peso da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio da amostra e vazio. Utilizou-se a densidade relativa para calcular a densidade relativa através da equação abaixo:

$$\text{Densidade relativa} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

4.5.1.3. Determinação da viscosidade aparente e comportamento reológico

A determinação da viscosidade aparente e comportamento reológico das emulsões foi realizada em Viscosímetro Brookfield Digital DV-II + pró. As análises reológicas foram obtidas com variação de velocidade de 0 a 120 rpm (curva ascendente) e de 120 a 0 rpm (curva descendente), com um tempo de 10 segundos de leitura e 20 pontos. O *spindle* utilizado foi do tipo o LV-4. O equipamento forneceu os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação através do *software* Brookfield Rheocalc versão 3.2. Os gráficos de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento foram construídos no *software* Excell versão 2007.

4.5.1.4. Teste de centrifugação

Neste teste de controle de qualidade, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 30 minutos em uma centrífuga digital da marca Nova Ética (BRASIL, 2004).

4.5.1.5. Estresse térmico

Cinco gramas de amostra foram pesadas e transferidas para tubo de ensaio de vidro e submetidas ao aquecimento em banho maria, na faixa de temperatura de 40-80°C. O aumento de temperatura foi programado de 5 em 5°C, mantendo-se por 30 minutos em cada temperatura (MARUNO, 2009). Estas foram avaliadas macroscopicamente a cada aumento de temperatura e ao término de 80°C.

Para os testes de centrifugação e estresse térmico, empregou-se a seguinte nomenclatura para qualificá-las: E= estável; CR=cremação e SF= Separação de fases.

4.5.2. Estudo de estabilidade acelerada

As formulações que mantiveram-se estáveis no estudo de estabilidade preliminar foram divididas em quatro partes. A primeira foi acondicionada em refrigerador ($5^{\circ}\text{C}\pm 2$), a segunda permaneceu a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C}\pm 2$), a terceira foi acondicionada em estufa ($40^{\circ}\text{C}\pm 2$), e a quarta foi submetida ao ciclo gelo-degelo (BRASIL, 2004).

O estudo de estabilidade acelerada durou 90 dias, exceção feita ao ciclo gelo-degelo que teve duração de 4 semanas (item 4.5.2.1). Durante os 90 dias foram feitos os seguintes testes: determinação do pH das formulações, viscosidade cinemática e comportamento reológico, além da observação macroscópica das formulações nos tempos T0, T1, T7, T15, T30, T60 e T90.

4.5.2.1. Ciclo gelo-degelo

Neste teste as amostras foram armazenadas a temperaturas alternadas durante quatro semanas. Elas ficaram alternando entre a temperatura de 40°C durante 24 horas e 4°C também por 24 horas (BRASIL, 2004). Foram realizados testes de determinação do

pH, viscosidade, comportamento reológico e densidade relativa após 24 horas do preparo da formulação e após as 4 semanas.

4.6. Desenvolvimento de nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

Foram preparadas 9 formulações de nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil (Tabela 7) pelo método de inversão de fases, onde aqueceu-se a fase oleosa e aquosa, separadamente, em banho maria (70-75°C) e verteu-se a fase aquosa sobre a oleosa. A porcentagem de óleo de castanha-do-Brasil foi mantida constante em 3%, e a concentração total de tensotativos também foi mantida constante em 6%. A homogeneização das fases foi realizada Homogeneizador Digital Ultra-Turrax[®], onde foi avaliada a influência da velocidade de agitação sobre o tamanho das gotículas, variando-se a 5.000, 10.000 e 15.000 rpm e também a porcentagem de tensoativos utilizados no preparo das nanoemulsões.

| Formulação | OCB* | Span 80[®] | Tween 80[®] | H₂O | Velocidade de agitação |
|-------------------|-------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| F1 | 3% | 4% | 2% | 92% | 5.000 rpm |
| F2 | 3% | 4% | 2% | 92% | 10.000 rpm |
| F3 | 3% | 4% | 2% | 92% | 15.000 rpm |
| F4 | 3% | 3% | 3% | 92% | 5.000 rpm |
| F5 | 3% | 3% | 3% | 92% | 10.000 rpm |
| F6 | 3% | 3% | 3% | 92% | 15.000 rpm |
| F7 | 3% | 2% | 4% | 92% | 5.000 rpm |
| F8 | 3% | 2% | 4% | 92% | 10.000 rpm |
| F9 | 3% | 2% | 4% | 92% | 15.000 rpm |

Tabela 7. Concentração das matérias primas utilizada e variação da velocidade de agitação utilizadas para o desenvolvimento das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

4.6.1. Determinação do tamanho de gotícula, potencial zeta e índice de polidispersão das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

O valor do potencial zeta, tamanho de partícula e índice de polidispersão foi obtido em equipamento Zeta sizer Malvern®. Foi utilizado como índice de refração o valor de 1,33 (valor do índice de refração da água), meio dispersante água, e as amostras foram diluída na razão de 1:10.

4.6.2. Avaliação da estabilidade preliminar das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

No estudo de estabilidade preliminar foram realizadas as seguintes análises: determinação do pH, viscosidade aparente, comportamento reológico e densidade relativa, além da observação macroscópica.

Para a determinação da densidade relativa foi utilizado picnômetro de vidro limpo, seco e com capacidade de 25 mL.

A determinação do pH das nanoemulsões foi realizada diretamente nas formulações, através da utilização de um potenciômetro calibrado com pH 4,0 e 7,0. Os resultados foram expressos como média de três determinações.

A determinação do comportamento reológico das nanoemulsões foi realizada em Viscosímetro Brookfield Digital DV-II + pró. As análises reológicas foram obtidas com variação de velocidade de 0 a 120 rpm (curva ascendente) e de 120 a 0 rpm (curva descendente), com um tempo de 10 segundos de leitura e 20 pontos. O *spindle* utilizado foi do tipo SC4-18. O equipamento forneceu os dados de tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento através do *software* Brookfield Rheocalc versão 3.2. Os gráficos de

tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento foram construídos no *software* Excell versão 2007.

4.7. Avaliação da viabilidade de obtenção de microemulsão

4.7.1. Determinação da região de microemulsão

Para determinar a região de microemulsão foram construídos diagramas pseudoternários, no qual foram traçados a quantidade de água, óleo e a razão cotensoativo/tensoativo (C/T) em diferentes proporções (2:1, 1:1 e 1:2) destes constituintes (DANTAS *et al.*, 2010).

Primeiramente, um tubo de ensaio contendo o tensoativo, o cotensoativo e o óleo foi submetido a agitação magnética ($P_{o1} = P_1$) (Tabela 8). Após a agitação, foram acrescentadas gotas de água até que o sistema se tornasse turvo ($P_{o2} = P_2$), indicando que não havia mais região de microemulsão. A massa de água gotejada no sistema foi determinada pela diferença entre o peso do tubo de ensaio com aspecto turvo e a massa inicial do tubo de ensaio contendo a razão C/T e óleo de Castanha-do-Brasil ($M_{\text{água}} = P_2 - P_1$).

| Ponto | C/T | Razão C/T | | | | | | Fase oleosa OCB* | Total |
|-------|-----|-----------|------|-------|----|-------|------|---------------------|-------|
| | | (2:1) | | (1:1) | | (1:2) | | | |
| | % | % | % | % | % | % | % | | |
| 1 | 100 | 66,7 | 33,3 | 50 | 50 | 33,3 | 66,7 | 0 | 1 g |
| 2 | 90 | 60,0 | 30,0 | 45 | 45 | 30,0 | 60,0 | 10 | 1 g |
| 3 | 80 | 53,3 | 26,7 | 40 | 40 | 26,7 | 53,3 | 20 | 1 g |
| 4 | 70 | 46,7 | 23,3 | 35 | 35 | 23,3 | 46,7 | 30 | 1 g |
| 5 | 60 | 40,0 | 20,0 | 30 | 30 | 20,0 | 40,0 | 40 | 1 g |
| 6 | 50 | 33,3 | 16,7 | 25 | 25 | 16,7 | 33,3 | 50 | 1 g |
| 7 | 40 | 26,7 | 13,3 | 20 | 20 | 13,3 | 26,7 | 60 | 1 g |
| 8 | 30 | 20,0 | 10,0 | 15 | 15 | 10,0 | 20,0 | 70 | 1 g |
| 9 | 20 | 13,3 | 6,67 | 10 | 10 | 6,67 | 13,3 | 80 | 1 g |
| 10 | 10 | 6,67 | 3,33 | 5 | 5 | 3,33 | 6,67 | 90 | 1 g |

Tabela 8. Concentração das matérias primas utilizadas para o desenvolvimento de MEs utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa. OCB*=óleo de castanha-do-Brasil.

Os pares de tensoativos e cotensoativos utilizados para a formulação das MEs em 5 diagramas pseudoternários estão descritos na Tabela 9.

| | Tensoativo | Cotensoativo | Razão C/T |
|---|-----------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | Span 60 [®] | Etanol | (2:1) (1:1) (1:2) |
| 2 | Tween 80 [®] | Etanol | (2:1) (1:1) (1:2) |
| 3 | Span 80 [®] | Etanol | (2:1) (1:1) (1:2) |
| 4 | Span 80 [®] | 1,2-octanediol | (2:1) (1:1) (1:2) |
| 5 | Span 80 [®] | 1,2- hexanediol | (2:1) (1:1) (1:2) |

Tabela 9. Pares de tensoativos e cotensoativos e suas razões C/T utilizadas para o estudo da viabilidade de obtenção de MEs utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa.

4.6.1. Determinação do pH das microemulsões

A determinação do pH das microemulsões foi realizada diretamente nas formulações através da utilização de um potenciômetro calibrado com pH 4,0 e 7,0. Os resultados foram expressos como média de três determinações.

4.6.2. Determinação da densidade relativa

Para a determinação da densidade relativa foi utilizado picnômetro de vidro limpo, seco e com capacidade de 5mL.

4.6.3. Determinação do comportamento reológico das microemulsões

A determinação do comportamento reológico das MEs foi realizada em Viscosímetro Brookfield Digital DV-II + pró. As análises reológicas foram obtidas com variação de velocidade de 0 a 120 rpm (curva ascendente) e de 120 a 0 rpm (curva descendente), com um tempo de 10 segundos de leitura e 20 pontos. O *spindle* utilizado foi do tipo SC4-34. O equipamento forneceu os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação através do *software* Brookfield Rheocalc versão 3.2. Os gráficos de

tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento foram construídos no *software* Excell versão 2007.

4.6.4. Determinação do tamanho de gotícula

O tamanho de gotícula foi obtido em equipamento Zeta Sizer Malvern[®]. Foi utilizado como índice de refração o valor de cada amostra em estudo (determinada em Refratômetro de abbé), meio dispersante água, e a amostra foi analisada sem diluição.

4.7. Análise Estatística

Os resultados foram expressos através de média e desvio padrão e analisados por Análise de Variância (ANOVA) e Teste “t” de *Student* quando aplicados. As análises foram realizadas com auxílio do *Software* Excel[®] e programa estatístico R[®].

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização físico-química do óleo de castanha-do-Brasil

Os valores experimentais encontrados (Tabela 10) para os índices de acidez e peróxido (parâmetros referenciais para determinar a qualidade e conservação de óleos vegetais) do óleo indicam um bom estado de conservação do mesmo, demonstrando que a armazenagem (-20°C) das amêndoas foi eficiente na manutenção das mesmas para fins da pesquisa. Além disso, os valores também revelam que os procedimentos realizados no processo de extração do óleo não provocaram a degradação dos seus componentes. O teor de ácidos graxos livres, que podem comprometer a conservação do óleo (2,9633 mgKOH/g) está de acordo com a resolução da ANVISA RDC n° 270, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), a qual especifica um valor máximo de 4,0 mg KOH/g. Quanto ao índice de peróxido encontrado, a legislação supracitada estabelece um valor máximo de 15 meq/Kg. Não foi encontrado peróxidos no óleo analisado, o que atesta um bom estado de conservação do material.

| Parâmetros | Valores obtidos (DP) | Valores aceitáveis |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Índice de acidez (mgKOH/g) | 2,9633 (0,0) | Máximo 4,0 |
| Índice de peróxidos (meq/Kg) | 00,00 (0,0) | Máximo 15,0 |
| Índice de refração | 1,4695(0,0) | -* |
| Densidade relativa | 0,9116 (0,0) | -* |
| Viscosidade aparente (cP) | 52(0,0) | -* |

Tabela 10. Resultados da caracterização físico-química do óleo bruto da castanha-do-Brasil. DP=desvio padrão.

O comportamento do óleo de castanha-do-Brasil com relação a sua solubilidade está descrita na Tabela 11. O óleo de castanha-do-Brasil foi solúvel em acetona, clorofórmio e éter etílico, porém insolúvel em metanol, etanol e álcool isopropílico. De maneira geral, os óleos vegetais são formados por moléculas de tamanho relativamente elevado que tendem a ser apolares ou fracamente polares. A constante dielétrica dos

constituintes dos óleos vegetais se encontra na faixa entre 2 e 4, de forma que estas moléculas tenham maior afinidade por moléculas também de baixa ou nenhuma polaridade. O metanol, etanol e isopropanol possuem constante dielétrica respectivamente de 32,7, 24,5 e 18,3 de forma que o componente de maior polaridade tem menor afinidade pelo óleo e o componente de menor polaridade tem maior afinidade pelo óleo (GALVÃO *et al.* 2013).

| Solvente | Solúvel | Comportamento visualizado |
|----------------------------|----------------|--|
| Acetona | Sim | Mistura translúcida |
| Metanol | Não | Leve turvação inicial e separação de fases |
| Etanol | Não | Leve turvação inicial e separação de fases |
| Álcool isopropílico | Não | Leve turvação inicial e separação de fases |
| Clorofórmio | Sim | Mistura translúcida |
| Éter etílico | Sim | Mistura translúcida |

Tabela 11. Resultados de solubilidade do óleo de castanha-do-Brasil em diferentes solventes.

Para a avaliação do comportamento reológico do óleo vegetal em estudo foi analisado o diagrama de viscosidade em função da velocidade de agitação e o diagrama de tensão de cisalhamento (N/m^2) em função da taxa de cisalhamento (s^{-1}), os quais foram obtidos a partir das medidas realizadas no viscosímetro digital Brookfield, e representados na Figuras 9 e 10, respectivamente. Nesta análise foi observado a presença de um modelo linear (linha contínua) e não foi observada ocorrência de histerese, demonstrando comportamento tipicamente Newtoniano.

A reologia descreve a deformação de diferentes materiais sólidos, líquidos ou gases, quando estes são submetidos a uma força ou tensão deformante. A análise do comportamento reológico de óleos vegetais e de seus derivados identifica importantes propriedades como a viscosidade e o comportamento de fluxo desses materiais. O

conhecimento e controle das propriedades reológicas na formulação de produtos geram dados auxiliares que podem ser utilizados nos processos de estocagem e aplicação da grande variedade de óleos vegetais e seus derivados, como por exemplo, para fins lubrificantes, alimentícios, carburantes, entre outros. A maioria destas aplicações implica em fluxo e deformação, sendo muito importante que as propriedades reológicas estejam ajustadas para cada finalidade (BROCK *et al*, 2008).

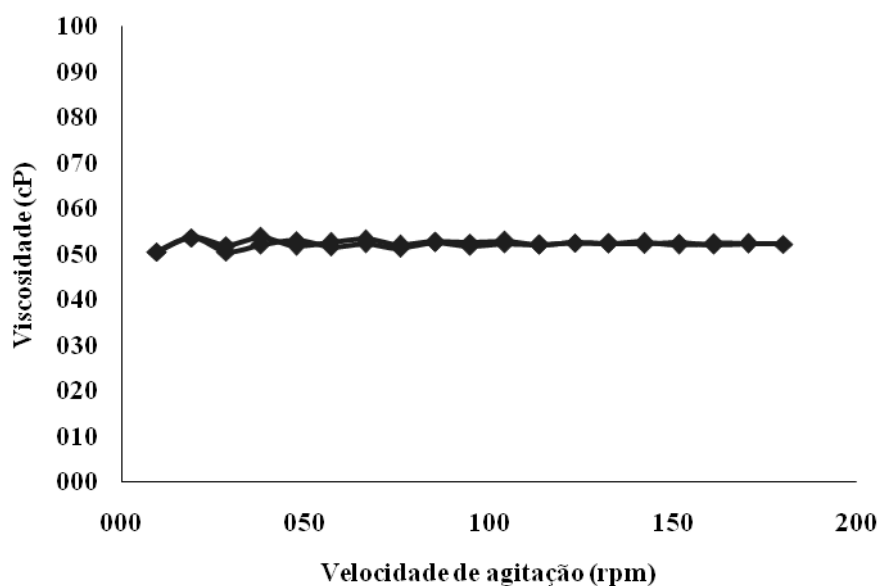


Figura 9. Comportamento da variação de viscosidade *versus* velocidade de agitação do óleo de castanha-do-Brasil

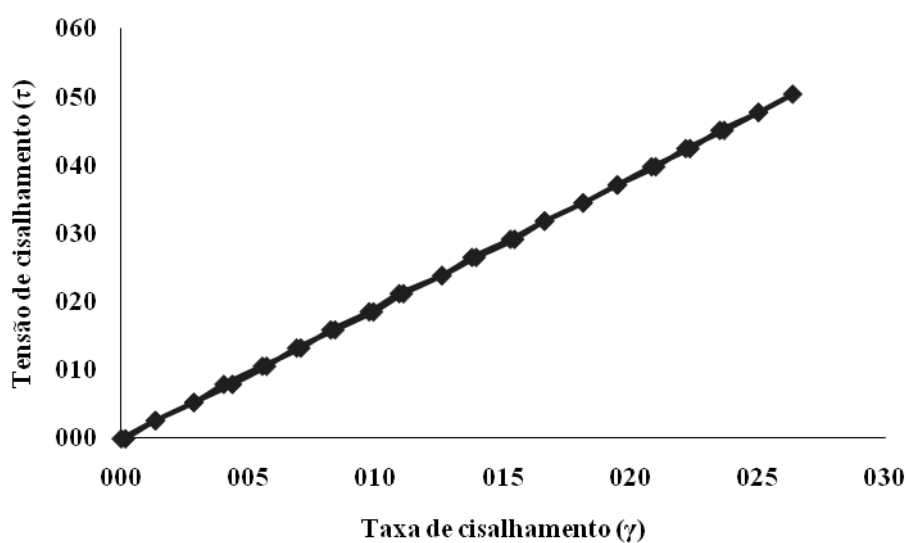


Figura 10. Comportamento reológico do óleo de castanha-do-Brasil.

5.2. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) do óleo de castanha-do-Brasil

Para a preparação de uma emulsão estável, deve-se considerar o valor de EHL, bem como a solubilidade da cadeia lipídica do emulgente na fase oleosa. O valor de EHL necessário para emulsificar um determinado óleo pode ser determinado empiricamente, isto é, pela preparação de emulsões com tensoativos de diferentes valores de EHL, e assim determinar em qual destes valores se obtém a emulsão mais estável (MORAIS *et al*, 2006). Para atingir um maior grau de estabilidade dos glóbulos, a combinação de tensoativos hidrofílicos e lipofílicos é frequentemente usada, resultando em maior rigidez e força na interface da emulsão (LI *et al*, 2010). No entanto, é possível obter emulsões estáveis utilizando um único tensoativo, o que foi observado neste estudo. Um valor baixo de EHL indica afinidade pela fase oleosa, enquanto um valor alto indica afinidade pela fase aquosa da emulsão (BERNADI, 2011).

As emulsões desenvolvidas com o óleo de castanha-do-Brasil apresentaram comportamentos diferenciados representados nas Tabelas de 12 a 21. Dentre as 111 emulsões, apenas duas emulsões permaneceram estáveis após os sete dias de observação e teste de centrifugação. Estas emulsões apresentaram proporção de 100% de Span 60[®] e 0% de Span 80[®]; e, 87,94% de Span 60[®] e 12,06% de Span 80[®]. Este resultado pode ser explicado pelo fato de o span 60[®] ser um derivado do ácido esteárico, um ácido saturado com cabeça polar curta e sem ramificações, sugerindo que suas cadeias carbônicas podem estar mais organizadas em volta do glóbulo de óleo, o que pode conferir maior estabilidade a estas emulsões. A partir dos resultados, conclui-se que foram obtidas emulsões O/A. O valor crítico de EHL do óleo de *B. excelsa* foi de 4,7.












| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tween 20 [®] (%) | 100 | 90,42 | 77,93 | 70,67 | 60,98 | 48,71 | 40,63 | 29,25 | 23,12 | 10,63 | 0 |
| Tween 40 [®] (%) | 0 | 9,58 | 22,07 | 29,33 | 39,02 | 51,29 | 59,37 | 70,75 | 76,88 | 89,37 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 16,7 | 16,6 | 16,4 | 16,4 | 16,3 | 16,1 | 16,0 | 15,9 | 15,8 | 15,7 | 15,6 |

Tabela 12. Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 20[®] e Tween 40[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases).












| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tween 40 [®] (%) | 100 | 87,32 | 78,01 | 68,65 | 60,45 | 49,69 | 38,27 | 28,50 | 22,82 | 12,67 | 0 |
| Tween 60 [®] (%) | 0 | 12,68 | 21,99 | 31,35 | 39,55 | 50,31 | 61,73 | 71,50 | 77,18 | 87,33 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 15,6 | 15,5 | 15,4 | 15,4 | 15,3 | 15,2 | 15,2 | 15,1 | 15,0 | 14,9 | 14,9 |

Tabela 13. Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 40[®] e Tween 60[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases).












| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tween 60 [®] (%) | 100 | 85,46 | 78,88 | 70,63 | 59,94 | 50,58 | 40,70 | 30,17 | 23,35 | 12,15 | 0 |
| Tween 80 [®] (%) | 0 | 14,54 | 21,12 | 29,37 | 40,06 | 49,42 | 59,30 | 69,83 | 76,65 | 87,85 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 14,9 | 14,8 | 14,7 | 14,6 | 14,5 | 14,5 | 14,4 | 14,3 | 14,2 | 14,1 | 14,0 |

Tabela 14. Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 60[®] e Tween 80[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases).

| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | | |
| Tween 80 [®] (%) | 100 | 89,37 | 75,91 | 67,32 | 55,51 | 48,16 | 39,96 | 32,42 | 22,43 | 10,85 | 0 |
| Span 20 [®] (%) | 0 | 10,63 | 24,09 | 32,68 | 44,49 | 51,84 | 60,04 | 67,58 | 77,57 | 89,15 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 14,0 | 13,4 | 12,3 | 12,2 | 11,6 | 11,2 | 10,7 | 10,4 | 9,8 | 9,2 | 8,6 |

Tabela 15. Concentrações dos componentes das emulsões com Tween 80[®] e Span 20[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases).

| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | | |
| Span 20 [®] (%) | 100 | 90,29 | 80,22 | 68,82 | 60,5 | 51,69 | 39,69 | 31,78 | 20,66 | 12,78 | 0 |
| Span 60 [®] (%) | 0 | 9,71 | 19,78 | 30,18 | 39,50 | 48,31 | 60,31 | 68,22 | 79,34 | 87,22 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | E |
| Valor de EHL | 8,6 | 8,2 | 7,8 | 7,3 | 7,1 | 6,7 | 6,3 | 5,9 | 5,5 | 5,2 | 4,7 |

Tabela 16. Concentrações dos componentes das emulsões com Span 20[®] e Span 60[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases; E=estável).

| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | | |
| Span 60 [®] (%) | 100 | 87,94 | 79,32 | 69,81 | 57,15 | 49,48 | 39,8 | 31,39 | 22,46 | 10,43 | 0 |
| Span 80 [®] (%) | 0 | 12,06 | 20,68 | 30,19 | 42,85 | 50,52 | 60,20 | 68,61 | 77,54 | 89,57 | 100 |
| Análise visual | E | E | CR | CR | CR | CR | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 4,7 | 4,7 | 4,6 | 4,6 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,4 | 4,4 | 4,3 | 4,3 |

Tabela 17. Concentrações dos componentes das emulsões com Span 60[®] e Span 80[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases; E=estável; CR=cremação).












| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------|---|---|---|---|---|---|--|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Span 80® (%) | 100 | 87,15 | 79,42 | 69,35 | 59,22 | 50,94 | 39,58 | 30,92 | 21,59 | 13,75 | 0 |
| Brij 93® (%) | 0 | 12,86 | 20,58 | 30,65 | 40,78 | 49,06 | 60,42 | 69,08 | 78,41 | 86,25 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 4,3 | 4,3 | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,1 | 4,1 | 4,1 | 4,1 | 4,0 | 4,0 |

Tabela 18. Concentrações dos componentes das emulsões com Span 80® e Brij 93® desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases).












| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------|--|--|--|--|--|--|---|--|--|--|--|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Brij 93® (%) | 100 | 88,07 | 78,48 | 69,15 | 56,99 | 48,38 | 40,68 | 29,75 | 21,76 | 11,86 | 0 |
| Span 83® (%) | 0 | 11,93 | 21,52 | 30,85 | 43,01 | 51,62 | 59,32 | 70,25 | 78,24 | 88,14 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 4,0 | 3,9 | 3,9 | 3,9 | 3,9 | 3,9 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,7 | 3,7 |

Tabela 19. Concentrações dos componentes das emulsões com Brij 93® e Span 83® desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases).












| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------------|---|---|---|---|---|---|--|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Arlacel 83® (%) | 100 | 90,07 | 80,14 | 70,30 | 61,35 | 49,96 | 40,60 | 30,76 | 21,18 | 10,97 | 0 |
| Span 65® (%) | 0 | 9,93 | 19,86 | 29,7 | 38,65 | 50,04 | 59,40 | 69,24 | 78,82 | 89,03 | 100 |
| Análise visual | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | SF | CR |
| Valor de EHL | 3,7 | 3,5 | 3,4 | 3,2 | 3,1 | 2,9 | 2,7 | 2,6 | 2,4 | 2,2 | 2,1 |

Tabela 20. Concentrações dos componentes das emulsões com Arlacel 83® e Span 65® desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases; CR=cremação).

| Ponto | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | | | | | | | | |
| Span 65 [®] (%) | 100 | 87,53 | 78,05 | 68,97 | 58,69 | 48,63 | 39,29 | 30,06 | 20,01 | 9,60 | 0 |
| Span 85 [®] (%) | 0 | 12,47 | 21,95 | 31,03 | 41,31 | 51,37 | 60,71 | 69,94 | 79,99 | 90,40 | 100 |
| Análise visual | CR | CR | CR | CR | CR | SF | SF | SF | SF | SF | SF |
| Valor de EHL | 2,1 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 1,9 | 1,9 | 1,9 | 1,9 | 1,9 | 1,8 | 1,8 |

Tabela 21. Concentrações dos componentes das emulsões com Span 65[®] e Span 85[®] desenvolvidas, seus respectivos valores de EHL e análise visual (SF = separação de fases; CR=cremação).

5.3. Desenvolvimento das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

5.3.1. Estudo de estabilidade preliminar das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa

As emulsões desenvolvidas (Tabela 6) apresentaram valores de pH na faixa compatível com a pele humana, que varia de 5,5 a 8,0 (SILVA *et al.*, 2009), indicando que não é necessário o acréscimo de soluções alcalinizantes ou acidulantes para a correção do valor de pH (Tabela 22). Observa-se, ainda, que quanto maior é a concentração de óleo de castanha-do-Brasil nas formulações, maior é a densidade relativa das mesmas. Com relação à viscosidade aparente das formulações, constatou-se que a viscosidade aumenta de acordo com o aumento de óleo de castanha-do-Brasil e do tensoativo Span 60[®].

A análise das Tabelas 23, 24 e 25 mostra que houve significado estatístico em todos os fatores analisados para as respostas estudadas (pH, densidade e viscosidade aparente) com relação a variação da concentração de óleo e span 60[®], onde o valor-*p* foi menor que 0,05.

| | [Óleo] | [Span 60 [®]] | pH | Densidade relativa | Viscosidade aparente a 120 rpm (cP) | Comportamento reológico |
|-----------|--------|-------------------------|------|--------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| F1 | 5% | 2,5% | 6,72 | 0,80 | 530 | Pseudoplástico |
| F2 | 10% | 2,5% | 6,59 | 0,81 | 540 | Pseudoplástico |
| F3 | 15% | 2,5% | 6,38 | 0,81 | 810 | Pseudoplástico |
| F4 | 5% | 5% | 6,57 | 0,84 | 1.785 | Pseudoplástico |
| F5 | 10% | 5% | 6,31 | 0,84 | 2.649 | Pseudoplástico |
| F6 | 15% | 5% | 6,38 | 0,85 | 2.869 | Pseudoplástico |
| F7 | 5% | 7,5% | 6,55 | 0,89 | 3.404 | Pseudoplástico |
| F8 | 10% | 7,5% | 6,55 | 0,91 | 4.039 | Pseudoplástico |
| F9 | 15% | 7,5% | 6,52 | 0,91 | 4.079 | Pseudoplástico |

Tabela 22. Valores de pH, densidade relativa, viscosidade aparente e comportamento reológico das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil. [[Óleo]=concentração de óleo de castanha-do-Brasil. [Span 60[®]]=concentração de span 60[®].

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-p</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Fator A: Concentração de óleo de Castanha-do-Brasil | 0,110252 | 2 | 0,055126 | 875,5294 | <0,05 |
| Fator B: Concentração de span 60[®] | 0,163919 | 2 | 0,081959 | 1301,706 | <0,05 |
| Fator A x B | 0,124415 | 4 | 0,031104 | 494 | <0,05 |
| Erro | 0,001133 | 18 | 6,3E-05 | | |

Tabela 23. Análise estatística do comportamento do pH das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60[®].

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-p</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Fator A: Concentração de óleo de Castanha-do-Brasil | 0,043763 | 2 | 0,021881 | 1477 | <0,05 |
| Fator B: Concentração de span 60[®] | 0,003119 | 2 | 0,001559 | 105,25 | <0,05 |
| Fator A x B | 0,001081 | 4 | 0,00027 | 18,25 | <0,05 |
| Erro | 0,000267 | 18 | 1,48E-05 | | |

Tabela 24. Análise estatística do comportamento da densidade das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60[®].

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-p</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Fator A: Concentração de óleo de Castanha-do-Brasil | 15575228 | 2 | 7787614 | 125,7247 | <0,05 |
| Fator B: Concentração de span 60[®] | 746166,9 | 2 | 373083,4 | 6,023131 | <0,05 |
| Erro | 247767,1 | 4 | 61941,78 | | |

Tabela 25. Análise estatística do comportamento da viscosidade das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60[®].

O estudo do comportamento reológico das formulações objeto de estudo pode ser avaliado por meio dos reogramas (Figuras 11, 12 e 13).

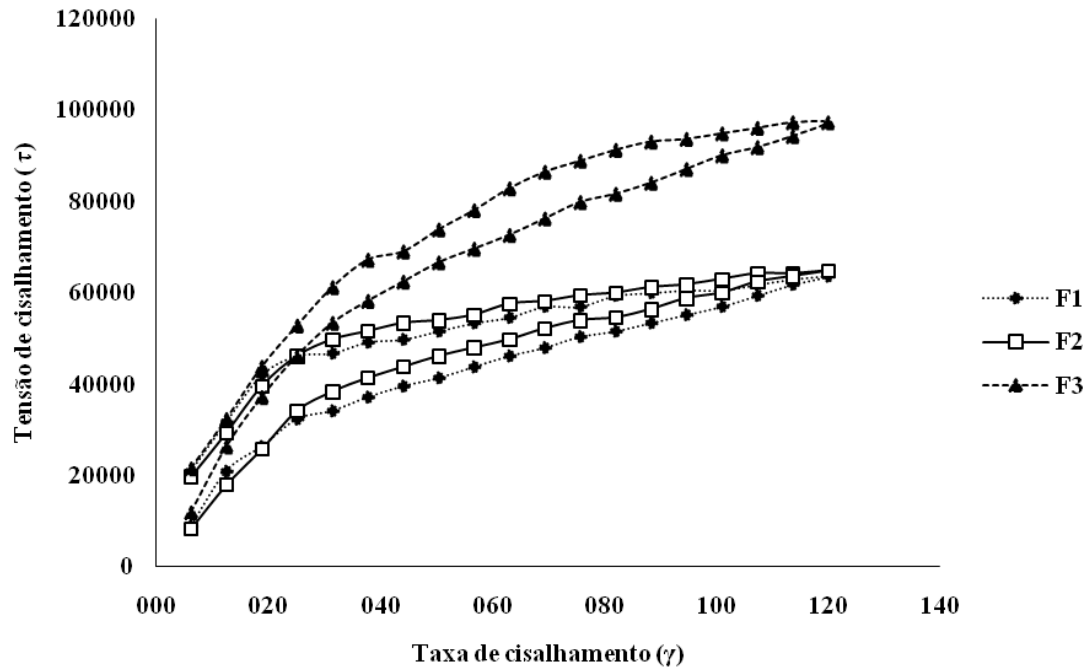


Figura 11. Comportamento reológico das formulações F1, F2 e F3.

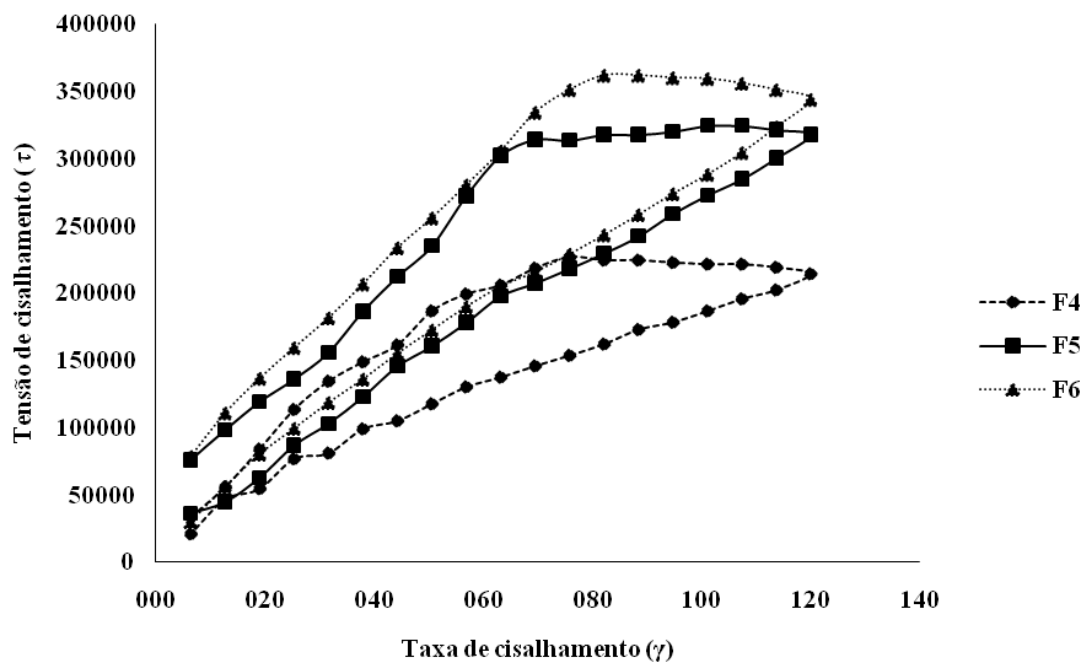


Figura 12. Comportamento reológico das formulações F4, F5 e F6.

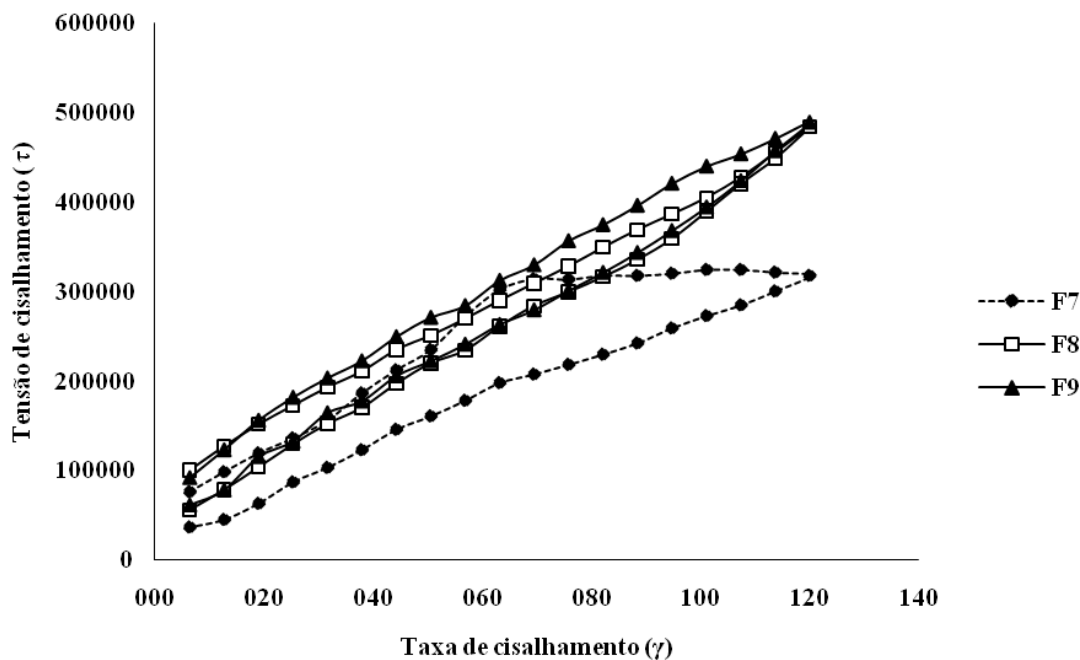


Figura 13. Comportamento reológico das formulações F7, F8e F9.

A análise do comportamento da variação da tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento revelou que as formulações apresentaram curvas côncavas, sendo esse perfil de curva característico de fluidos não-newtonianos e representam o comportamento chamado de pseudoplástico ou *shear thinning*.

Nos sistemas não newtonianos a extensão das interações entre as partículas é a principal responsável pelo comportamento reológico das formulações. No comportamento pseudoplástico ocorre uma diminuição da resistência do material ao escoamento (tensão de cisalhamento) com o aumento da velocidade de deformação (taxa de cisalhamento). Nenhuma parte da curva é linear, não podendo ser a viscosidade ser expressa por um simples valor, o que leva a uma viscosidade aparente para cada valor da taxa de cisalhamento. A pseudoplastia é reversível em certo grau, ou seja, o repouso por um tempo suficiente, o fluido recupera a sua maior parte da sua forma original. A magnitude do efeito pseudoplástico é variável com identidade do produto, não sendo rara a queda de 25% na viscosidade. Este tipo de comportamento é desejado

em formulações farmacêuticas. É necessário ter uma viscosidade aparente elevada a baixas tensões de cisalhamento para impedir a mobilidade da fase dispersa, sendo importante que apresentem fluxo livre quando agitados, apresentando baixa viscosidade frente a altas tensões de cisalhamento, sendo essas alterações reversíveis após certo tempo de repouso, retardando a coalescência ou a cremação (AULTON, 2005).

Os estudos reológicos podem influenciar não só uma etapa de desenvolvimento e produção, bem como na garantia da qualidade, assegurando que as características do produto sejam reproduzidas e mantidas em todos os lotes, seguindo um padrão pré-determinado. Desta forma, as características reológicas de um produto definem várias situações práticas, que vão desde a facilidade com o qual um material pode ser retirado de um frasco, ser pressionado em um tubo, espalhado sobre a pele, ou bombeado através de equipamentos, onde a mistura e o processo de envase são realizados. Cabe ressaltar que do ponto de vista farmacêutico, torna-se de fundamental importância o conhecimento do comportamento reológico, visto que um adequado fluxo dos sistemas é exigido para que a atividade terapêutica, ou funções cosméticas do produto, sejam asseguradas (ALVES, 2006).

O ensaio de centrifugação das formulações tem por objetivo verificar possíveis instabilidade, como: separação de fases, coalescência, entre outras, pelo aumento da mobilidade das partículas em consequência do aumento da força da gravidade. As formulações F4, F5, F6, F7 e F8 mostraram-se estáveis enquanto que as formulações F1, F2, F3 e F9 apresentaram-se instáveis. Verifica-se que as formulações F1, F2 e F3 apresentaram viscosidade aparente menor (530, 540 e 810cp, respectivamente), comparada a viscosidade cinemática das formulações F4 a F8, que variou de 1.785 a 4.039 cP. A separação de fases e cremação observada nas emulsões F1, F2 e F3 pode ser explicada pela lei de Stokes que descreve que a velocidade de sedimentação das

gotículas dispersas em um dispersante qualquer tende a ser menor quanto maior for à força resisitiva (viscosidade) do meio dispersante, ou seja, emulsões obtidas com Span 60[®] na concentração de 2,5% não são satisfatórias para obtenção de emulsões com viscosidade que mantenha as gotículas com baixa velocidade de sedimentação. Já a tênue camada de óleo na superfície observada na formulação F9, observada após a centrifugação, pode ser explicada pelo fato de que o processo de agitação não foi eficiente para obtenção de gotículas menores, devido a alta densidade que foi obtida na fase oleosa, que possuía uma concentração maior de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60[®]. Sendo assim para a formulação F9 devem ser realizados outros testes que determinem o tamanho da gotícula para confirmar a hipótese e modificações no processo de obtenção da formulação utilizando-se velocidades maiores que 2.000 rpm.

O aspecto macroscópico das formulações após o ensaio de centrifugação de 30 minutos a 3.000 rpm estão demonstrados na Tabela 26.










| Form. | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|----------------|---|---|---|---|---|--|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise visual | CR | CR/SF | CR/SF | E | E | E | E | E | SF |

Tabela 26. Análise visual das emulsões contendo óleo e castanha-do-Brasil após teste de centrifugação. CR=cremação, E=estável, SF=separação de fases.

No teste de estresse térmico (Tabelas 27 e 28), todas as formulações apresentaram separação de fases quando atingiram a temperatura de 80°C. A formulação F3 foi a primeira que apresentou separação de fases, a 70°C, e as formulações F1 e F2 apresentaram separação de fases logo em seguida, a 75°C. Deve-se ressaltar que este

resultado já era esperado, já que estas temperaturas são utilizadas na fusão das matérias primas para o preparo da formulação, ou seja, a temperatura de homogeneização. Apesar da cremação, as formulações F1, F2 e F3 já começaram a apresentar esse fenômeno de instabilidade quando submetidas a temperatura de 50°C, ao passo que as demais formulações só demonstraram essa instabilidade a 55°C, indicando que temperaturas superiores a 50-55°C não são recomendadas para o armazenamento das formulações.

O estresse térmico é uma ferramenta útil na análise da susceptibilidade de emulsões contendo óleo vegetal, pois estima a ocorrência de possíveis processos de instabilidade em produtos que o contêm quando expostos ao calor durante seu preparo ou armazenamento. A desestabilização das formulações F1, F2 e F3 a 50°C e das demais formulações a 55°C não indica, porém, que as formulações não sejam estáveis por um longo período de tempo em temperatura ambiente ou temperaturas menores.

| Temperatura | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 40°C | E | E | E | E | E | E | E | E | E |
| 45°C | E | E | E | E | E | E | E | E | E |
| 50°C | CR | CR | CR | E | E | E | E | E | E |
| 55°C | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR |
| 60°C | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR |
| 65°C | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR | CR |
| 70°C | CR | CR | CR/SF | CR | CR | CR | CR | CR | CR |
| 75°C | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR | CR | CR | CR | CR | CR |
| 80°C | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF |

Tabela 27. Análise macroscópica dos fenômenos de instabilidade ocorridos com as emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil durante o teste de estresse térmico. CR=cremação, E=estável, SF=separação de fases.



















| | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|--------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Início (40°C) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise visual | E | E | E | E | E | E | E | E | E |
| Fim (80°C) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise visual | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF | CR/SF |

Tabela 28. Análise macroscópica das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil no início e após o teste de estresse térmico. CR=cremação, E=estável, SF=separação de fases.

Com relação à condutividade elétrica, verificou-se que, de acordo com a diminuição da concentração de óleo de castanha-do-Brasil o valor de condutividade diminuía e que com o aumento da concentração Span 60[®], o valor da condutividade elétrica aumentou (Tabela 29). Este fato pode ser explicado devido ao Span 60[®] influenciar diretamente na superfície da gotícula. Como pode ser visto na Tabela 30 o fator que exerce influência na variação da condutividade elétrica é a concentração de span 60[®] ($p < 0,05$).

| Formulações | [Óleo] | [Span 60[®]] | Condutividade elétrica (μS/cm) |
|--------------------|---------------|------------------------------|---------------------------------------|
| | | | Média (desvio padrão) |
| F1 | 5% | 2,5% | 31,3 (0,0) |
| F2 | 10% | 2,5% | 31,7 (0,23) |
| F3 | 15% | 2,5% | 29,9 (0,1) |
| F4 | 5% | 5% | 38,5 (0,95) |
| F5 | 10% | 5% | 37,0 (3,87) |
| F6 | 15% | 5% | 37,7 (0,06) |
| F7 | 5% | 7,5% | 53,7 (0,23) |
| F8 | 10% | 7,5% | 54,7 (0,40) |
| F9 | 15% | 7,5% | 53,9 (0,0) |

Tabela 29. Valores de condutividade elétrica das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| Fator A: Concentração de óleo de Castanha-do-Brasil | 0,6 | 1 | 0,6 | 0,062 | 0,81 |
| Fator B: Concentração de span 60[®] | 802,7 | 1 | 802,7 | 82,234 | <0,05 |
| Fator A x B | 0,6 | 1 | 0,6 | 0,066 | 0,80 |
| Erro | 9,8 | 5 | 9,8 | | |

Tabela 30. Análise estatística dos valores de condutividade elétrica das emulsões perante a variação da concentração de óleo de castanha-do-Brasil e Span 60[®].

5.3.3. Estudo de estabilidade acelerada das emulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

O valor de pH é um parâmetro de monitoramento da estabilidade em emulsões, pois alterações no seu valor indicam a ocorrência de reações químicas, que podem comprometer a qualidade do produto final. No caso das emulsões formuladas com óleo de castanha-do-Brasil, a diminuição do valor de pH pode ser decorrente da hidrólise dos ésteres de ácidos graxos, que geram ácidos graxos livres. Os ácidos graxos livres reduzem o pH das formulações, sendo empregados como indicadores de estabilidade frente às diferentes condições de armazenamento. Apesar da possibilidade de ocorrência de oxidação devido à composição rica em compostos insaturados, acredita-se que a alteração nos valores de pH tenha sido causada por hidrólise, já que foi utilizado o antioxidante BHT.

A variação dos valores de pH, no decorrer dos 90 dias de análise, das formulações que mostraram estabilidade (F4 a F8) estão dispostas nas Figuras de 14 a 18. Verifica-se que as formulações que permaneceram na temperatura de 40°C tiveram maior diminuição do pH medido em comparação as formulações que permaneceram em temperaturas mais baixas, de 25°C e 5°C. Este fato indica que a temperatura de 40°C pode ter provocado a hidrólise de ácidos graxos contidos no óleo de castanha-do-Brasil, o que ocasionou a diminuição do pH.

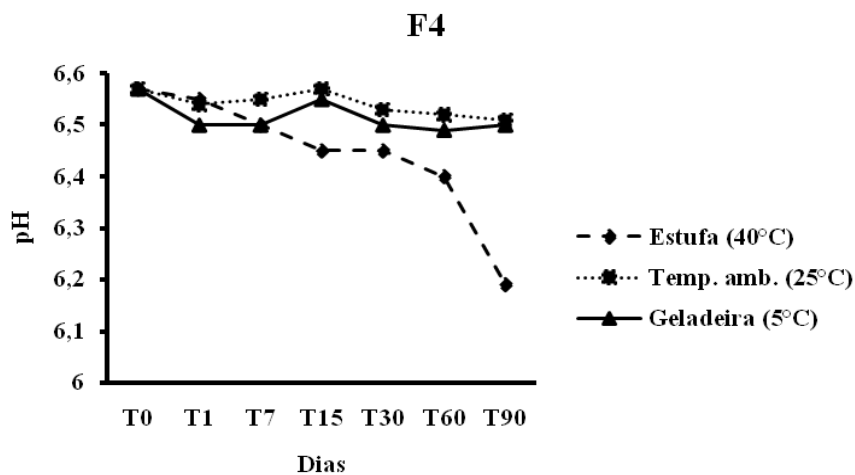


Figura 14. Valor de pH apresentado pela formulação F4 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

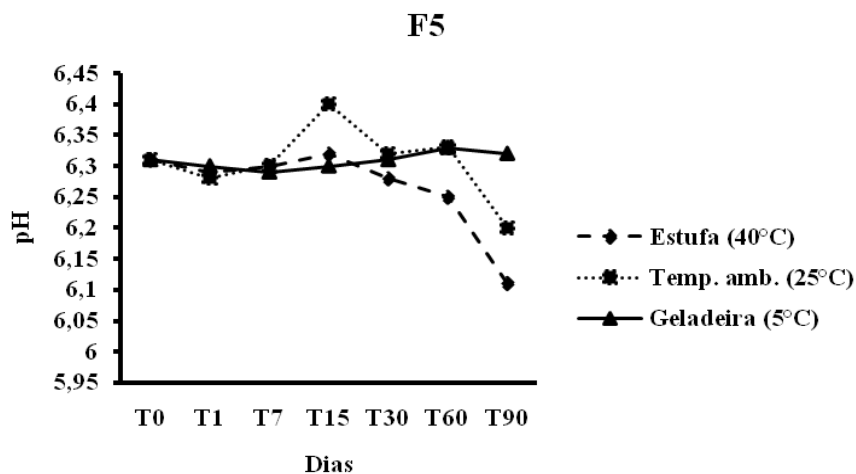


Figura 15. Valor de pH apresentado pela formulação F5 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

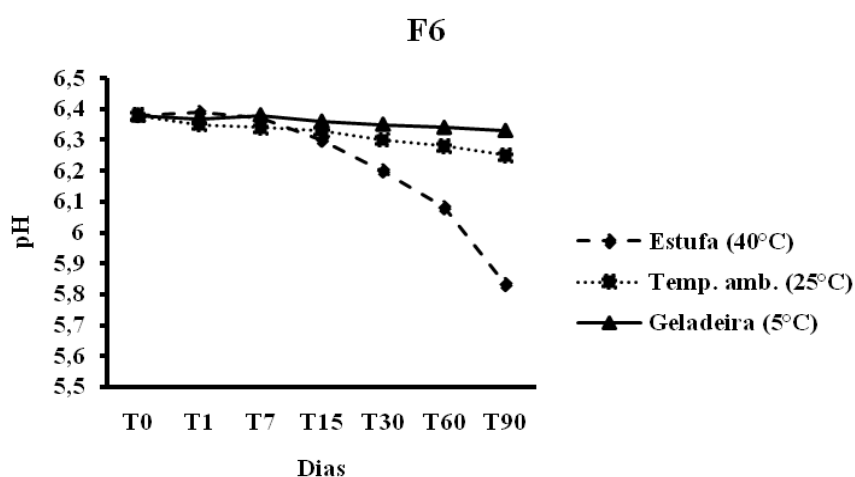


Figura 16. Valor de pH apresentado pela formulação F6 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

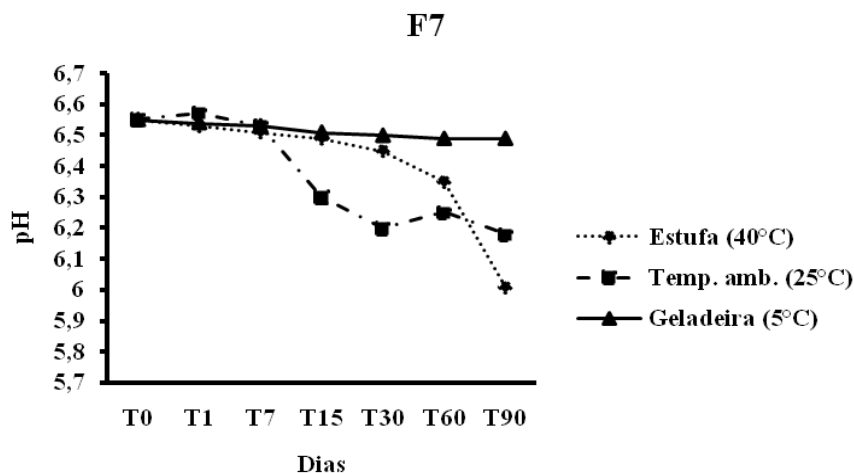


Figura 17. Valor de pH apresentado pela formulação F7 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

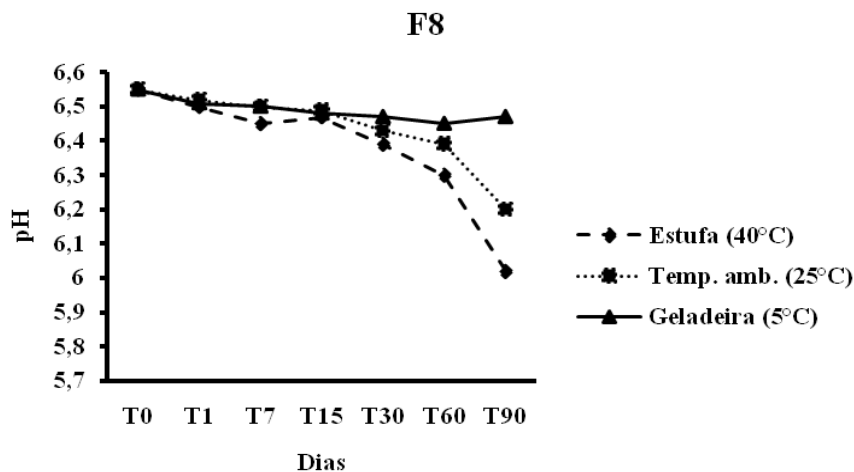


Figura 18. Valor de pH apresentado pela formulação F8 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

O comportamento dos valores de viscosidade das formulações F4 a F8, no decorrer dos 90 dias de análise, estão graficamente representados nas Figuras 19 a 23. Verifica-se que as formulações que permaneceram na temperatura de 40°C tiveram uma diminuição de viscosidade maior em comparação as formulações que permaneceram na temperatura de 25°C e 5°C. Este fato indica que a temperatura de 40°C influencia na viscosidade das formulações, não sendo recomendado o armazenamento das mesmas em temperaturas iguais ou superiores a 40°C, pois a diminuição da viscosidade pode ocasionar a separação de fases do sistema disperso. Observou-se também que as

emulsões que permaneceram a 5°C foram as que tiveram menores alterações em seus valores de viscosidade.

A temperatura é um parâmetro relacionado com a energia interna de uma substância. Vários estudos têm demonstrado que a viscosidade de um líquido é altamente influenciada por mudanças na temperatura (OLIVEIRA; BARROS; ROSSI, 2009).

A viscosidade é diretamente proporcional à força de atração entre as moléculas. Com o aumento da temperatura, essa força de atração diminui, diminuindo também a viscosidade. Dessa maneira, observa-se nos líquidos que a viscosidade diminui com o aumento da temperatura. A redução da viscosidade dos líquidos com o aumento da temperatura é atribuída ao aumento das distâncias intermoleculares provocadas durante o aquecimento (LIMA, 2013). O aumento das distâncias intermoleculares reduz as forças atrativas entre as moléculas, diminuindo a viscosidade (GRANJEIRO *et al*, 2007).

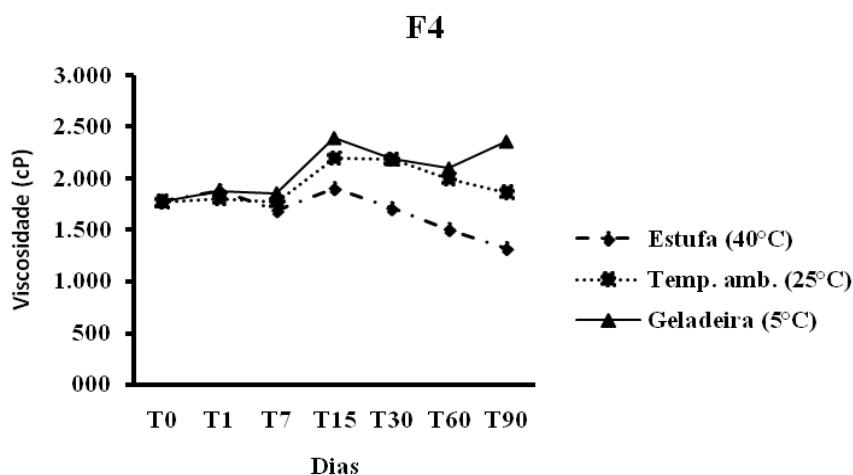


Figura 19. Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F4 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

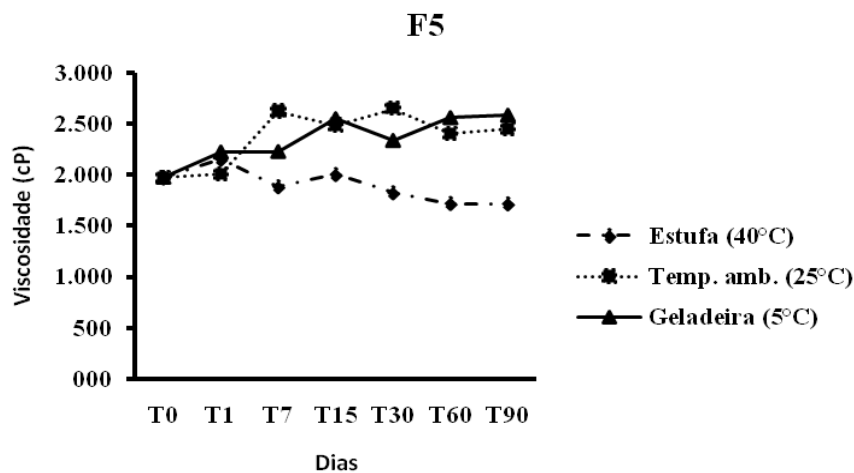


Figura 20. Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F5 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias

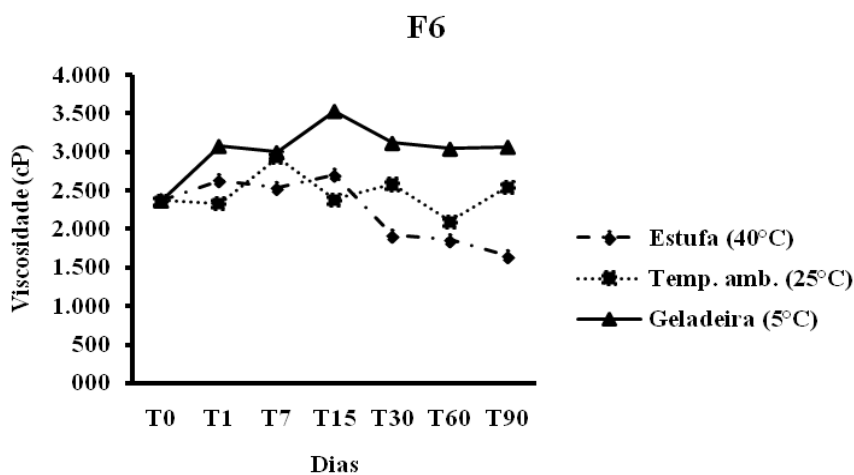


Figura 21. Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F6 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias.

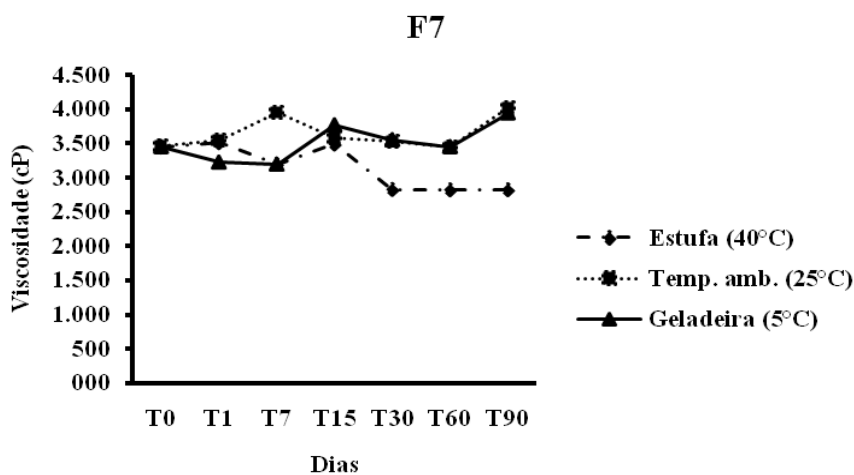


Figura 22. Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F7 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias

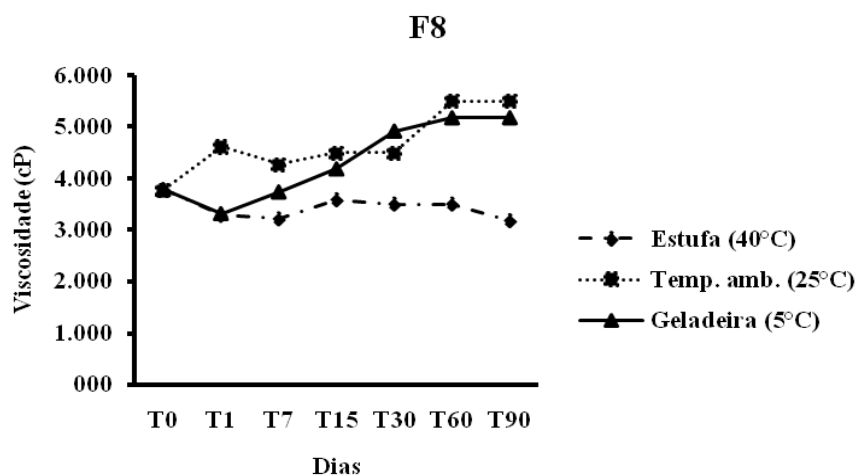


Figura 23. Valor de viscosidade aparente apresentado pela formulação F8 quando armazenada a 40°C, 25°C e 5°C no período de 90 dias

Com relação às características macroscópicas das formulações (Tabela 31) observou-se que as formulações F6 e F8, que permaneceram na temperatura de 40°C, mudaram de coloração (da cor branco para amarelo) após os 90 dias de armazenagem (Figura 24), podendo indicar o início da inversão de fases das formulações, já que a condutividade elétrica destas formulações (F6, e F8) diminuiu após os 90 dias de análise (33,67 mS.cm²; 40,2 mS.cm², respectivamente). Devido à este fato não se recomenda a armazenagem destas formulações acima de 40°C.

| Dias | T0 | | | T1 | | | T7 | | | T15 | | | T30 | | | T60 | | | T90 | | | |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|---|
| | 5 | 25 | 40 | 5 | 25 | 40 | 5 | 25 | 40 | 5 | 25 | 40 | 5 | 25 | 40 | 5 | 25 | 40 | 5 | 25 | 40 | |
| F4 | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B |
| F5 | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B |
| F6 | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | A | B | B | A | A |
| F7 | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B |
| F8 | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | A | B | B | A | A |

Tabela 31. Análise macroscópica da cor das formulações contendo óleo de castanha-do-Brasil durante os 90 dias de estudo. **B**- Cor branca. **LA**- levemente amarelado. **A**- Cor Amarela.

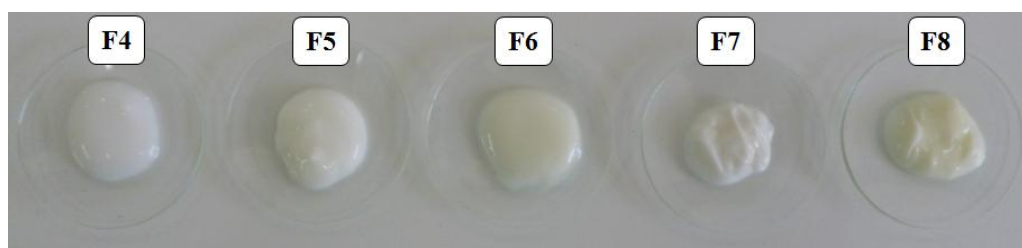


Figura 24. Coloração das emulsões após 90 dias de armazenagem na temperatura de 40°C.

Com relação ao ciclo gelo-degelo, as formulações F4 a F8 apresentaram algumas variações no valor de pH, densidade e viscosidade aparente (Tabela 32) e o comportamento reológico permaneceu do tipo pseudoplástico. As características macroscópicas das formulações permaneceram as mesmas, coloração branca e odor característico. Portanto, pode-se dizer que as formulações mativeram-se estáveis após o teste do ciclo gelo-degelo, ou seja, não apresentaram nenhum tipo de instabilidade do tipo cremação e/ou separação de fases.

| Formulação | Cor | | pH | | Densidade | | Viscosidade | |
|------------|-------|------|-------|------|-----------|------|-------------|-------|
| | Antes | Após | Antes | Após | Antes | Após | Antes | Após |
| F4 | B | B | 6,57 | 6,3 | 0,84 | 0,83 | 1.780 | 1.510 |
| F5 | B | B | 6,31 | 6,22 | 0,84 | 0,84 | 1.975 | 3.419 |
| F6 | B | B | 6,38 | 6,31 | 0,85 | 0,84 | 2.369 | 1.875 |
| F7 | B | B | 6,55 | 6,48 | 0,89 | 0,88 | 3.454 | 2.969 |
| F8 | B | B | 6,55 | 6,35 | 0,91 | 0,91 | 3.779 | 5.499 |

Tabela 32. Aspecto macroscópico e físico-químicos das emulsões obtidas contendo óleo de castanha-do-Brasil antes e após o ciclo gelo-degelo.

Após a análise dos resultados sugere-se que a formulação F6 que continha 5% de span 60[®] e 15% de óleo de castanha-do-Brasil seja a mais satisfatória, pois contém uma concentração intermediária de span 60[®] e maior concentração de óleo de castanha-do-Brasil, o que poderia proporcionar ao produto obtido a característica de maior hidratação da pele com menor irritabilidade.

5.4. Desenvolvimento das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

5.4.1. Estudo de estabilidade preliminar das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil

Os valores de pH, densidade relativa, viscosidade aparente e tipo de comportamento reológico das 9 nanoemulsões formuladas estão apresentados na Tabela

| | pH | Densidade relativa | Viscosidade aparente a 120 rpm (cP) | Comportamento reológico |
|-----------|-----------|---------------------------|--|--------------------------------|
| F1 | 6,02 | 0,99 | 4,40 | Newtoniano |
| F2 | 6,23 | 0,99 | 2,37 | Newtoniano |
| F3 | 6,18 | 0,99 | 1,90 | Newtoniano |
| F4 | 6,17 | 1,00 | 2,17 | Newtoniano |
| F5 | 6,08 | 1,00 | 1,80 | Newtoniano |
| F6 | 6,33 | 0,99 | 1,70 | Newtoniano |
| F7 | 6,01 | 1,00 | 1,72 | Newtoniano |
| F8 | 5,13 | 1,00 | 1,60 | Newtoniano |
| F9 | 5,59 | 1,00 | 1,57 | Newtoniano |

Tabela 33. Valores de pH, densidade relativa, viscosidade aparente e comportamento reológico das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

Observa-se que os valores de pH dos sistemas dispersos obtidos estão na faixa entre 5,13 a 6,18, sendo um resultado satisfatório, pois são valores compatíveis com o pH da pele humana (4,0-7,0), a fim de evitar alterações fisiológicas que possam comprometer sua integridade.

Com relação à viscosidade aparente observam-se valores baixos que variam de 1,57 a 4,40 cP, esse resultado ocorre, principalmente, pela baixa concentração de óleo de castanha-do-Brasil e tensoativos utilizados no preparo das formulações, ou seja, como há uma grande concentração da fase aquosa nas formulações, as mesmas apresentaram viscosidade próximas ao valor de viscosidade da água que é igual a 1cP. Observa-se também que os valores de viscosidade aparente diminuíram de acordo com o aumento de velocidade de agitação, indicando que as gotículas de óleo das formulações preparadas a 5.000 rpm sejam maiores, ou seja, quanto maior é a gotícula de óleo formada nos sistemas dispersos maior é a viscosidade aparente.

A análise das tabelas 34, 35 e 36 mostra que houve significado estatístico em todos os fatores analisados para as respostas estudadas (pH, densidade e viscosidade aparente).

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| Fator A: Velocidade de agitação | 2,116119 | 2 | 1,058059 | 57135,2 | <0,05 |
| Fator B: concentração de tensoativo | 0,337919 | 2 | 0,168959 | 9123,8 | <0,05 |
| Interação entre Fator A e B | 0,983526 | 4 | 0,245881 | 13277,6 | <0,05 |
| Erro | 0,000333 | 18 | 1,85E-05 | | |

Tabela 34. Análise estatística dos valores de pH das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos.

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| Fator A: Velocidade de agitação | 0,000563 | 2 | 0,000281 | 38 | <0,05 |
| Fator B: concentração de tensoativo | 0,000185 | 2 | 9,26E-05 | 12,5 | 0,000395 |
| Interação entre Fator A e B | 0,000193 | 4 | 4,81E-05 | 6,5 | 0,002028 |
| Erro | 0,000133 | 18 | 7,41E-06 | | |

Tabela 35. Análise estatística dos valores de densidade das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos.

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| Fator A: Velocidade de agitação | 7,9656 | 2 | 3,9828 | 2,42E+32 | <0,05 |
| Fator B: concentração de tensoativo | 5,4816 | 2 | 2,7408 | 1,67E+32 | <0,05 |
| Interação entre Fator A e B | 5,5158 | 4 | 1,37895 | 8,39E+31 | <0,05 |
| Erro | 2,96E-31 | 18 | 1,64E-32 | | |

Tabela 36. Análise estatística dos valores de viscosidade das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos.

O comportamento reológico das nanoemulsões (Figuras 25 a 27) obtidas foi do tipo newtoniano. Esse tipo de fluxo caracteriza-se por apresentar viscosidade constante, independente da taxa de cisalhamento, ou seja, a tensão de cisalhamento é diretamente proporcional a taxa de cisalhamento.

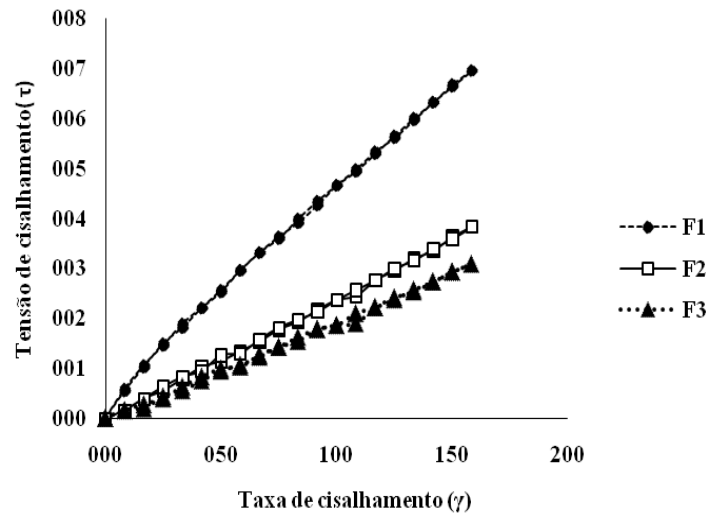


Figura 25. Comportamento reológico das nanoemulsões F1, F2 e F3.

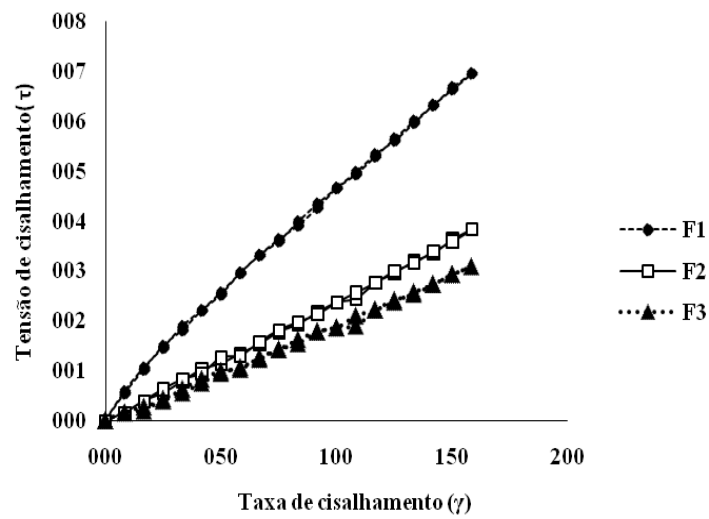


Figura 26. Comportamento reológico das nanoemulsões F4, F5 e F6.

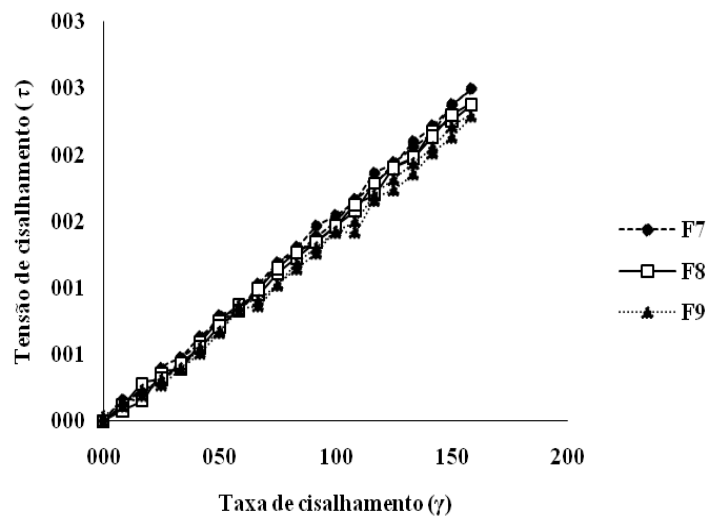


Figura 27. Comportamento reológico das nanoemulsões F7, F8 e F9.

As nanoemulsões foram manipuladas em diferentes velocidades de agitação, 5.000, 10.000 e 15.000 rpm, com o intuito de verificar a influência desse parâmetro, tanto nos glóbulos quanto na variação do índice de polidispersividade das formulações, tendo em vista que estes parâmetros são de extrema importância na avaliação da estabilidade das nanoemulsões.

Pode-se observar na Tabela 37 que a velocidade de agitação teve considerável influência nos glóbulos formados pelo método descrito, sendo que as formulações que empregaram maior velocidade de rotação apresentaram menor tamanho de gotículas, devido à maior energia empregada no processo. Sendo assim, recomenda-se preparar nanoemulsões com óleo de castanha-do-Brasil em velocidade de agitação igual ou ainda superior a 15.000 rpm.

| | % OCB | Velocidade de agitação | Tamanho de gotícula (nm) | Potencial zeta (mV) | Índice de polidispersão |
|-----------|--------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| F1 | 3% | 5.000 | 1.155 | -39,1 | 0,506 |
| F2 | 3% | 10.000 | 390,2 | -41,8 | 0,271 |
| F3 | 3% | 15.000 | 223,4 | -37,7 | 0,243 |
| F4 | 3% | 5.000 | 1.486 | -36,6 | 0,078 |
| F5 | 3% | 10.000 | 335,5 | -39,1 | 0,274 |
| F6 | 3% | 15.000 | 185,9 | -0,189 | 0,262 |
| F7 | 3% | 5.000 | 1.732 | -64,2 | 0,366 |
| F8 | 3% | 10.000 | 321,0 | -33,6 | 0,281 |
| F9 | 3% | 15.000 | 167,1 | -30,9 | 0,226 |

Tabela 37. Valores de tamanho de gotícula, potencial zeta e índice de polidispersão das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

A determinação do tamanho de gotícula é um parâmetro importante na avaliação de sistemas nanoemulsionados, devido ao fato do tamanho das gotículas ser o principal fator responsável pelo efeito promotor da permeação de componentes ativos nas

camadas da pele. Além do tamanho das gotículas, é fundamental conhecermos o índice de polidispersividade, uma vez que estes fatores somados exercem influência na estabilidade desses sistemas.

A análise das Tabelas 38 e 39 mostra que houve significado estatístico em todos os fatores analisados para as respostas estudadas (tamanho de partícula e potencial zeta).

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Fator A: Velocidade de agitação | 381337,2 | 2 | 190668,6 | 5,014023 | 0,018583 |
| Fator B: concentração de tensoativo | 11003542 | 2 | 5501771 | 144,6804 | <0,05 |
| Interação entre Fator A e B | 1139448 | 4 | 284861,9 | 7,49103 | 0,000978 |
| Erro | 684487,3 | 18 | 38027,07 | | |

Tabela 38. Análise estatística do dos valores de tamanho de partícula das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos.

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Fator A: Velocidade de agitação | 1557,228 | 2 | 778,6139 | 698,7104 | <0,05 |
| Fator B: concentração de tensoativo | 2596,399 | 2 | 1298,199 | 1164,975 | <0,05 |
| Interação entre Fator A e B | 2103,713 | 4 | 525,9282 | 471,9561 | <0,05 |
| Erro | 20,05845 | 18 | 1,114358 | | |

Tabela 39. Análise estatística do dos valores de potencial zeta das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos.

Após o teste de centrifugação as formulações F1, F4 e F7 apresentaram sinais de instabilidade (cremação e/ou separação de fases), e as demais formulações permaneceram estáveis após o processo (Tabela 40).










| Form | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise visual | CR | E | E | CR/SF | E | E | CR/SF | E | E |

Tabela 40. Aspecto macroscópico das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil após teste de centrifugação. CR=cremação, E=estável, SF=separação de fases.

O teste de centrifugação aumenta a força gravitacional atuante sobre os glóbulos e ocasiona o aumento do número de colisões entre estes, o que pode acarretar em cremação ou separação de fases, permitindo a previsão da estabilidade do sistema disperso. Em nanoemulsões, o movimento browniano supera a ação da força da gravidade sobre os glóbulos, dificilmente provocando relevante alteração na estabilidade. No entanto, em caso de relevante polidispersividade, a centrifugação pode acelerar processos de cremação ou separação de fases, pois os glóbulos maiores tendem a migrar para a superfície. A baixa fluidez das nanoemulsões em estudo é um fator que provoca pouca resistência à colisão dos glóbulos durante a centrifugação.

Verificou-se que as formulações que continham um tamanho maior de gotícula apresentaram sinais de instabilidade evidente. Isso se deve, principalmente, à baixa velocidade de agitação utilizada no preparo da formulação. O teste de centrifugação confirma a hipótese de que a melhor velocidade de agitação no preparo de nanoemulsões foi a de 15.000 rpm, no qual não se verificou nenhum tipo de instabilidade. Observa-se que na formulação F1, o processo de instabilidade foi menos evidente que nas formulações F4 e F7. Este fato pode ser explicado devido à viscosidade da formulação F1 (4,40 cP) ser mais alta que a viscosidade das formulações F4 e F7 (2,17 e 1,72 cP, respectivamente), sendo que este aumento de viscosidade ocorreu devido a maior concentração do tensoativo Span 80[®] presente na formulação F1 que é mais viscoso que o tensoativo Tween 80[®]. Além disso, o tensoativo Span 80[®] possui um valor de EHL (4,3) mais próximo do valor de EHL (4,7) do óleo de castanha-do-Brasil em estudo.

Pelos resultados obtidos no estresse térmico (Tabela 41 e 42), as formulações F3, F6 e F9 foram as que apresentaram maior resistência ao aumento da temperatura, não apresentando nenhum sinal de instabilidade, mesmo a 80°C. Já as formulações F1,

F4 e F7 apresentaram cremação logo após 40°C, e as formulações F2, F5 e F8 apresentaram cremação a 60°C. Este resultado demonstra que as formulações preparadas sob a velocidade de agitação (15.000 rpm) apresentaram o mesmo comportamento.

| Temperatura | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|-------------|-------|----|----|-------|----|----|-------|----|----|
| 40°C | CR | E | E | CR | E | E | CR | E | E |
| 45°C | E | E | E | E | E | E | CR | E | E |
| 50°C | CR | E | E | E | E | E | CR | E | E |
| 55°C | CR | E | E | CR | E | E | CR | E | E |
| 60°C | CR | CR | E | CR | CR | E | CR | CR | E |
| 65°C | CR | CR | E | CR | CR | E | CR | CR | E |
| 70°C | CR/SF | CR | E | CR/SF | CR | E | CR | CR | E |
| 75°C | CR/SF | CR | E | CR/SF | CR | E | CR | CR | E |
| 80°C | CR/SF | CR | E | CR/SF | CR | E | CR/SF | CR | E |

Tabela 41. Análise macroscópica dos fenômenos de instabilidade ocorridos com as nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil durante o teste de estresse térmico. CR=cremação, E=estável, SF=separação de fases.



















| | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 |
|-----------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Início (40°C) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise visual | E | E | E | E | E | E | E | E | E |
| Fim (80°C) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise visual | CR/SF | CR | E | CR/SF | CR | E | CR/SF | CR | E |

Tabela 42. Análise macroscópica das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil no início e após o teste de estresse térmico. CR=cremação, E=estável, SF=separação de fases.

Com relação à condutividade elétrica das nanoemulsões (Tabela 43) verificou-se que quanto menor é o tamanho da gotícula, maior é a condutividade elétrica. Este fato pode ser explicado devido à maior área de superfície que a água possui nestas formulações. Além disso, partículas menores tendem a possuir maior carga elétrica em sua superfície para melhor estabilizá-las. Como pode ser visto na Tabela 44 o fator que exerce maior influência é variação da velocidade de agitação ($p < 0,05$). A concentração de tensoativo e a interação entre o fator A e fator B não foram estatisticamente significantes.

| Condutividade elétrica ($\mu\text{S/cm}$) | | |
|---|------------------------|-----------------------|
| Formulações | Velocidade de agitação | Média (desvio padrão) |
| F1 | 5.000 rpm | 46,8 (0,0) |
| F2 | 10.000 rpm | 57,2 (0,98) |
| F3 | 15.000 rpm | 73,4 (0,75) |
| F4 | 5.000 rpm | 47,3 (0,46) |
| F5 | 10.000 rpm | 66,1 (0,23) |
| F6 | 15.000 rpm | 94,8 (0,26) |
| F7 | 5.000 rpm | 65,3 (0,23) |
| F8 | 10.000 rpm | 70,8 (0,1) |
| F9 | 15.000 rpm | 72,8 (0,1) |

Tabela 43. Valores de condutividade elétrica das nanoemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

| Fatores | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Fator A: Velocidade de agitação | 1109,8 | 1 | 1109,8 | 14,473 | 0,0126 |
| Fator B: concentração de tensoativo | 165,4 | 1 | 165,4 | 2,154 | 0,2019 |
| Interação entre Fator A e B | 91,2 | 1 | 91,2 | 1,189 | 0,3252 |
| Erro | 383,4 | 5 | 76,7 | | |

Tabela 44. Análise estatística do dos valores de condutividade elétrica das nanoemulsões perante a velocidade de agitação Brasil e concentração de tensoativos.

5.5. Avaliação da viabilidade de obtenção de microemulsão

5.5.1. Construção do diagrama de fases pseudoternário (DFPT)

No estudo inicial para construção do DFPT foram utilizados os tensoativos Span 60[®] e Tween 80[®] para verificação da formação ou não da região de microemulsão com óleo de castanha-do-Brasil. O Span 60[®] foi utilizado devido seu valor de EHL idêntico ao EHL do óleo de castanha-do-Brasil. O Tween 80[®] foi utilizado devido aos registros na literatura que indicavam que este tensoativo é utilizado com muita frequência para a formação de microemulsão com óleo vegetais com a composição de ácidos graxos semelhante à composição do óleo de castanha-do-Brasil. Como cotensoativo foi utilizado etanol devido ao seu baixo. No entanto, o cotensoativo etanol não foi satisfatório para obtenção de microemulsão com nenhum dos tensoativos utilizados. Este fato pode ser explicado pela curta cadeia carbônica que ele possui, não sendo suficiente para estabilizar os espaços deixados pelos tensoativos na interface das gotículas formadas. Com relação aos tensoativos, apesar do Span 60[®] possuir o mesmo valor de EHL do óleo em estudo (4,7), não foi observada região de microemulsão com a utilização deste tensoativo. Isso pode ter ocorrido porque, para a formação espontânea de microemulsão, os componentes não são aquecidos, e o Span 60[®] não se solubilizou em água em temperatura ambiente. A não visualização da região de microemulsão utilizando o tensoativo Tween 80[®] pode ser explicada pelo valor de EHL muito superior do tensoativo (15,0) comparado ao valor de EHL do óleo de castanha-do-Brasil (4,7). Esta grande diferença impede a estabilização das gotículas formadas. Nesta etapa de estudo foram utilizadas três razões C/T de 2:1, 1:1 e 1:2.

Na segunda etapa do estudo foi utilizado o tensoativo Span 80[®], que possui o EHL (4,3) próximo ao EHL do óleo de castanha-do-Brasil (4,7), e como cotensoativo foram

utilizados o etanol, 1,2-octanediol e 1,2-hexanediol que também são bastante utilizados em outros estudos na obtenção de microemulsão.

Foram observadas seis regiões de microemulsão (Figuras 28 a 33) utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa. Os pares de cotensoativo e tensoativo utilizados foram o 1,2-octanediol/Span 80[®] e 1,2-hexanediol/Span80[®] nas razões C/T de 2:1, 1:1 e 1:2. Os resultados estão genericamente descritos na Tabela 45.

| | Tensoativo | Cotensoativo | Razão C/T | Observação de região de microemulsão |
|----------|-----------------------|---------------------|----------------------|---|
| 1 | Span 60 [®] | Etanol | (2:1); (1:1) e (1:2) | Não |
| 2 | Tween 80 [®] | Etanol | (2:1); (1:1) e (1:2) | Não |
| 3 | Span 80 [®] | Etanol | (2:1); (1:1) e (1:2) | Não |
| 4 | Span 80 [®] | 1,2-octanediol | (2:1); (1:1) e (1:2) | Sim |
| 5 | Span 80 [®] | 1,2-hexanediol | (2:1); (1:1) e (1:2) | Sim |

Tabela 45. Resultado da observação da presença ou não de região de microemulsão.

Nos DFPT em que 1,2-hexanediol foi empregado como cotensoativo (Figuras 28 a 30), houve a delimitação de duas regiões: uma de ME (Winsor IV) e outra onde se visualizava a separação de todos os constituintes do sistema, não sendo correto classificá-lo como Winsor I, II ou III, uma vez que não houve formação ME nessa região. Quando a razão C/T foi de 1:1 (Figura 28), as ME se formam nas regiões onde há maior concentração de C/T, como era esperado. Em concentrações abaixo de 70% de C/T, já começa a ocorrer a separação dos constituintes. Quando a razão C/T foi alterada para 2:1 (Figura 29), a região de ME diminuiu drasticamente e a separação de fases pode ocorrer em concentrações de C/T abaixo de 85%. Em contrapartida, com o aumento do teor de tensoativo na razão C/T 1:2 (Figura 30), visualizou-se a maior região de ME, podendo-se preparar MEs ricas em óleo e com 50% da sua composição em C/T.

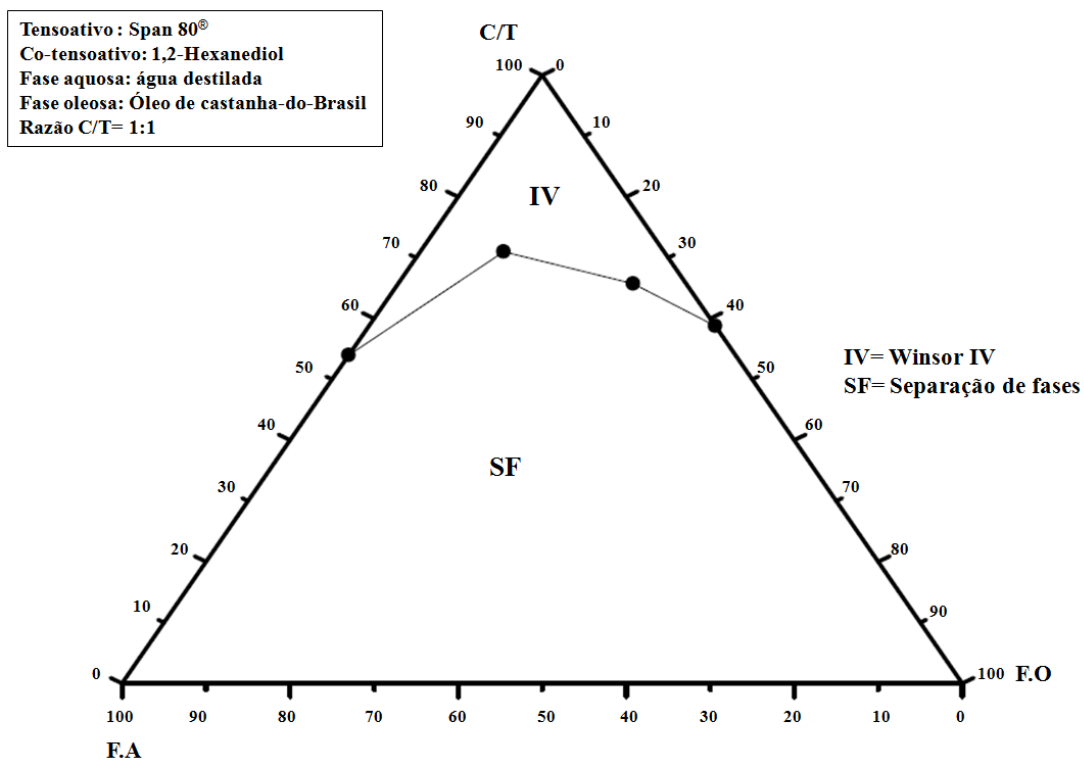


Figura 28. Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80[®] e 1,2-hexanediol. Razão C/T=1:1.

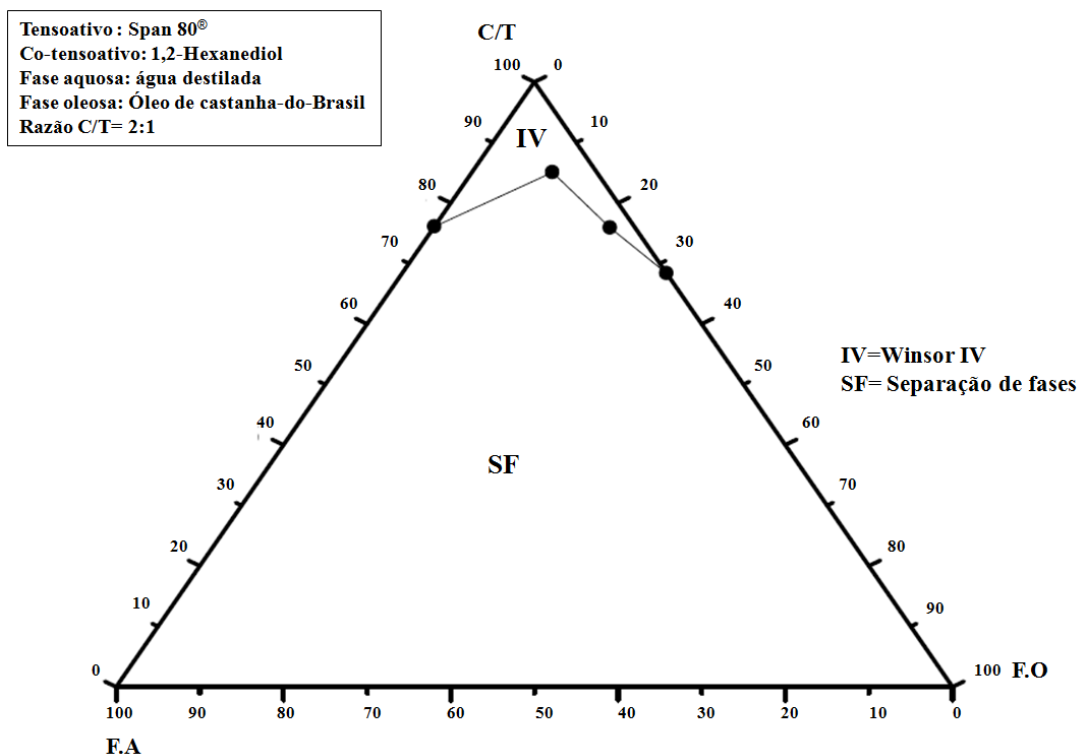


Figura 29. Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80[®] e 1,2-hexanediol. Razão C/T=2:1.

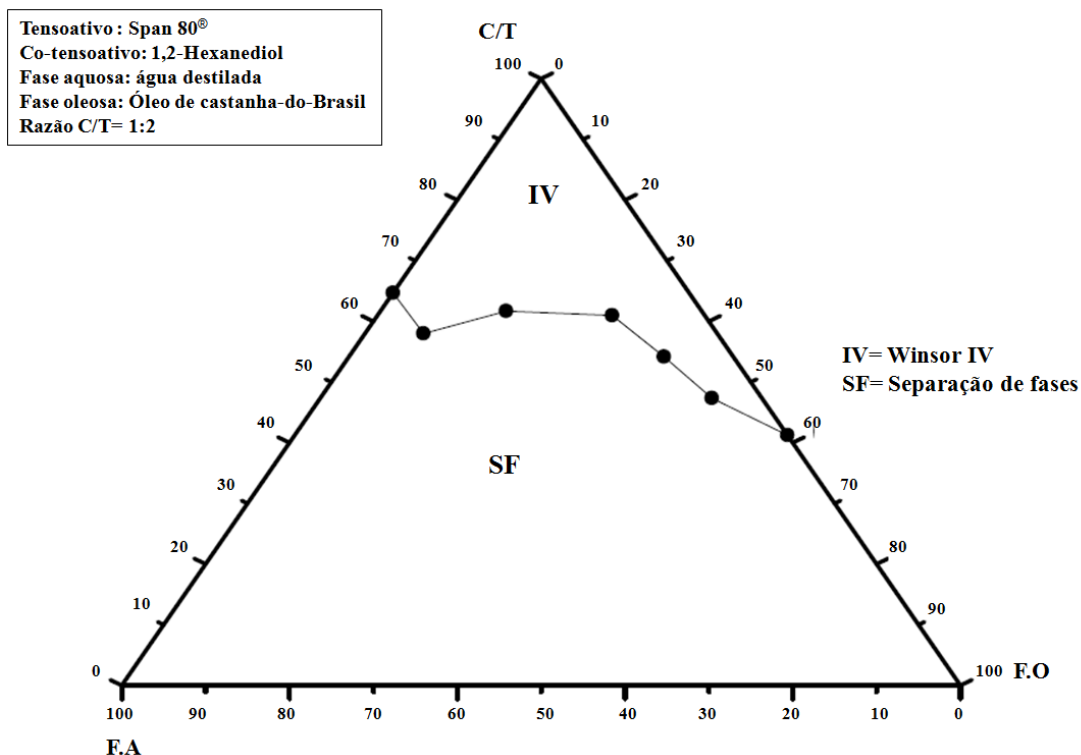


Figura 30. Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80[®] e 1,2-hexanediol. Razão C/T=1:2.

Nos DFPT em que 1,2-octanediol foi empregado como cotensoativo (Figuras 31 a 33), houve situações em que todos os tipos de Winsor foram visualizados. Quando a razão C/T foi de 1:1 (Figura 31), houve a formação de uma grande região de ME, o que possibilita a produção de ME com 50% de C/T. Entretanto, qualquer composição fora da região de Winsor IV forma ME com excesso de água (Winsor II). Na Figura 32, a alteração da razão C/T para 2:1 não alterou a área de ME, mas, sim, a sua distribuição no DFPT, sendo possível a preparação de ME com 30% de C/T, embora a faixa de segurança de estabilidade seja muito estreita, uma vez que qualquer variação na composição por evaporação de constituintes pode levar o sistema ao Winsor I. Outra observação foi a ocorrência dos 4 tipos de Winsor distribuídos no DFPT. Ao contrário do que aconteceu para o 1,2-hexanediol (Figura 30), o aumento do teor de tensoativo na razão C/T 1:2 (Figura 33) diminuiu a área de ME, demonstrando que o cotensoativo 1,2-octanediol é fundamental para a estabilização das gotículas da ME.

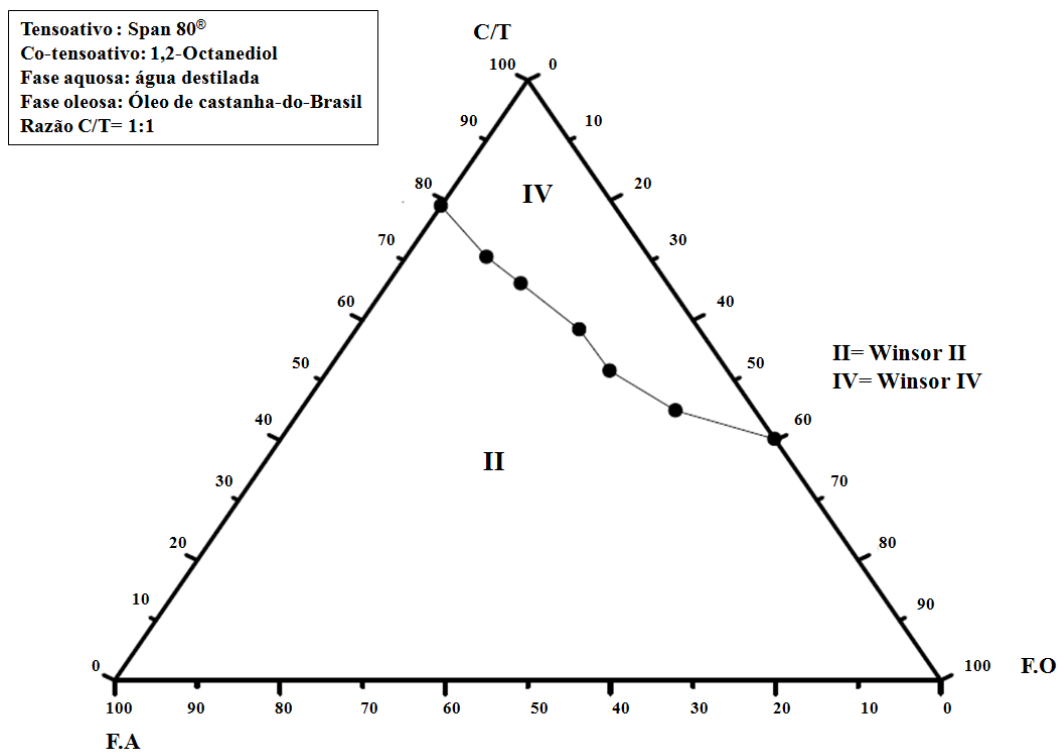


Figura 31. Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80[®] e 1,2-octanediol. Razão C/T=1:1.

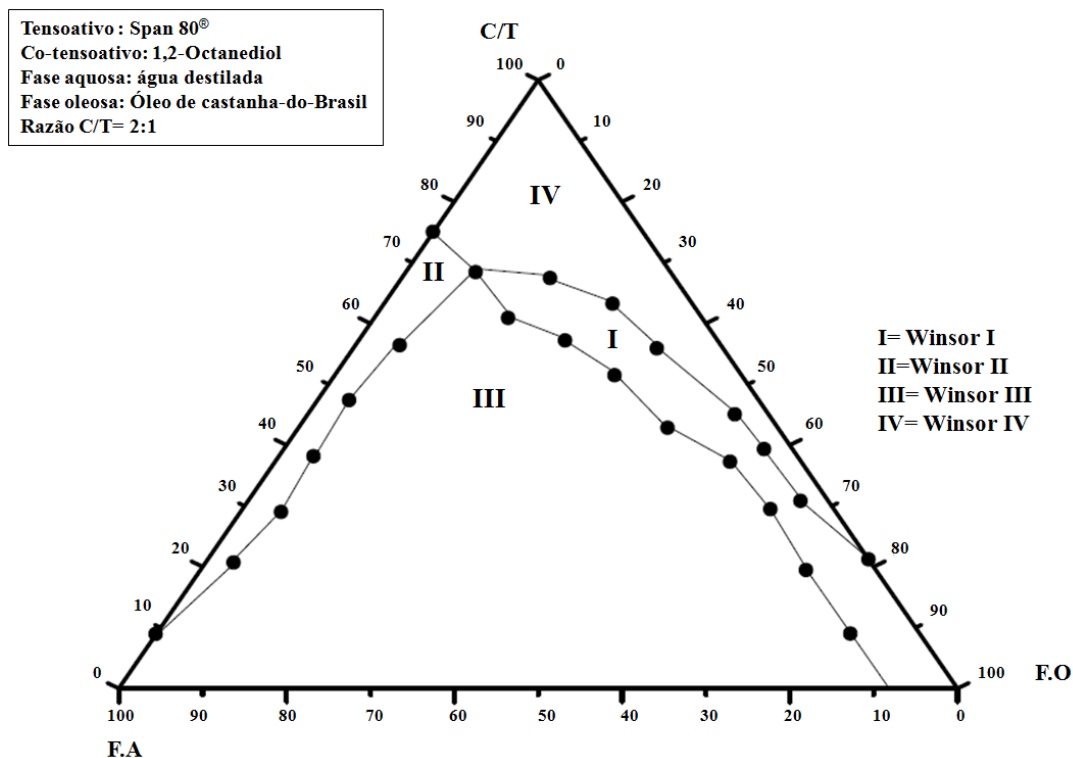


Figura 32. Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80[®] e 1,2-octanediol. Razão C/T=2:1.

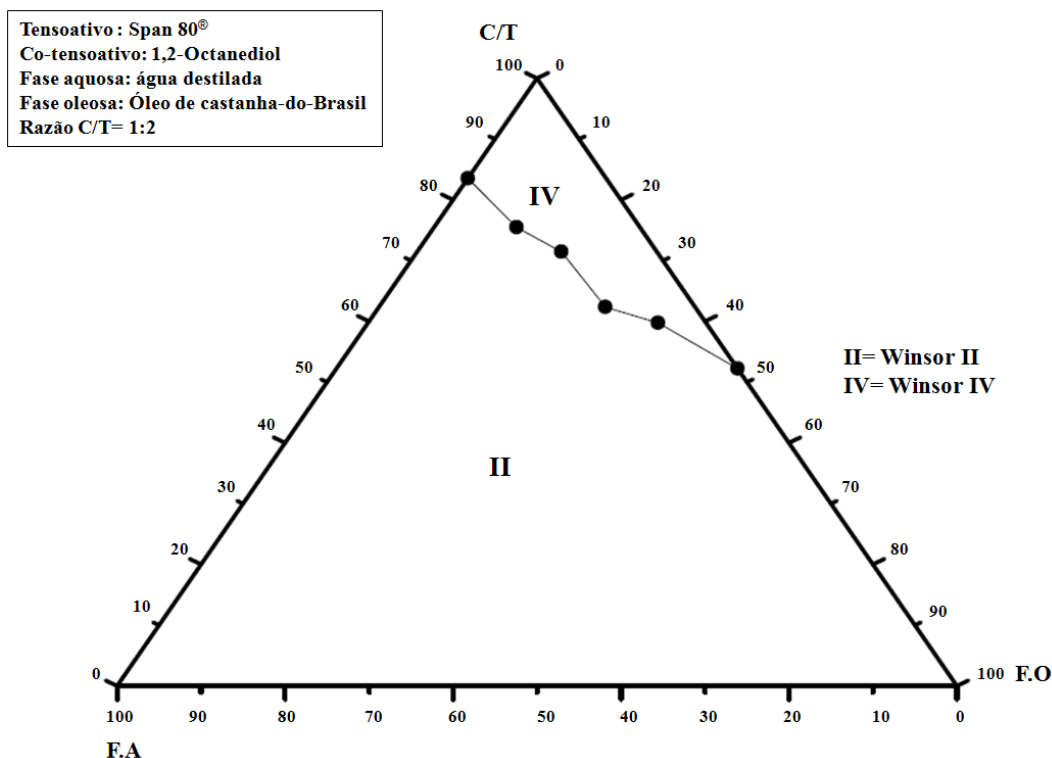


Figura 33. Diagrama de fases mostrando existência de região de microemulsão utilizando-se água destilada, óleo de castanha-do-Brasil, span 80[®] e 1,2-octanediol. Razão C/T=1:2.

5.3.1. Seleção das formulações de ME para caracterização

Através das regiões de ME encontradas nos DFPT, foram selecionadas duas formulações para que se conduzissem os estudos de caracterização. Foram escolhidos pontos dos DFPT com razão C/T=2:1 e com cada um dos cotensoativos (1,2-octanediol e 1,2-hexanediol). Os pontos escolhidos estão destacados em preto, dentro da região de ME (Winsor IV), conforme mostra a Figura 34.

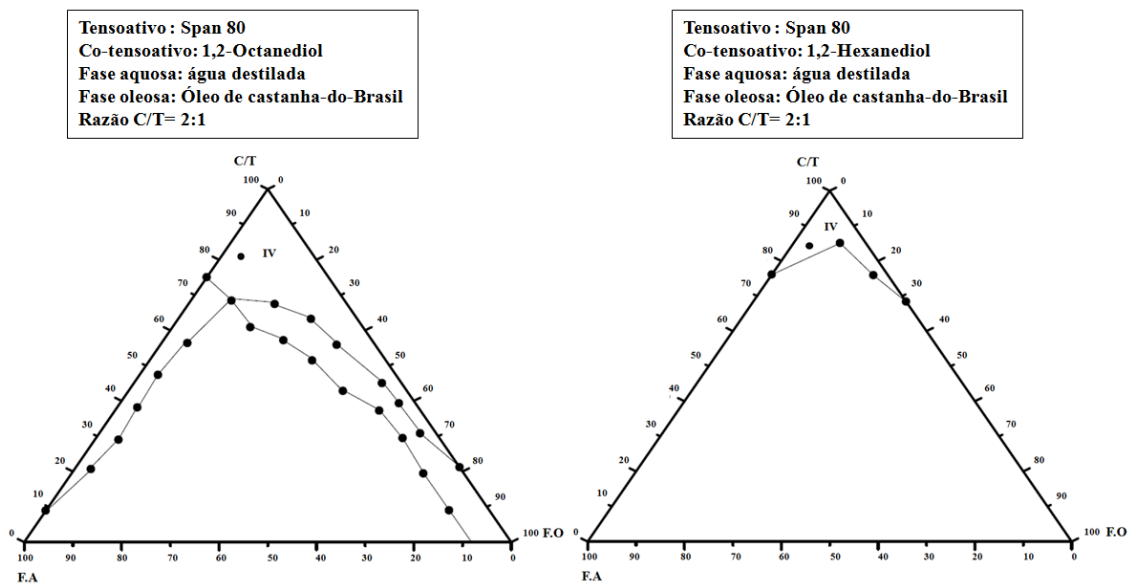


Figura 34. Formulações (pontos representados em preto na região de Winsor IV) selecionadas para que se conduzissem os estudos de caracterização. IV=Região de Winsor IV. C/T= Razão cotensoativo/tensoativo.

Teoricamente, os pontos escolhidos seriam MEs do tipo O/A já que a concentração de água em ambas é maior que a concentração de óleo. A preferência pela ME do tipo O/A foi feita vislumbrando algumas vantagens, como a promoção da hidratação da pele e facilidade de remoção, já que uma emulsão do tipo O/A pode ser facilmente removida com água ou outras substâncias hidrofílicas (LOPES, 2014).

As formulações selecionadas foram, então, reproduzidas e apresentaram uma coloração amarela (Tabela 46), baixa viscosidade e com características macroscópicas de microemulsão (lípidas e translúcidas).



| Componentes | F1 | F2 |
|-----------------------------|---|--|
| Óleo de castanha-do-Brasil | 3,34% | 3,30% |
| Água destilada | 12,72% | 12,34% |
| 1,2-octanediol | 55,13% | 0,0% |
| 1,2-hexanediol | 0,0% | 55,40% |
| Span 80 [®] | 28,80% | 28,96% |
| | Límpida, translúcida e de cor amarelo | Límpida, translúcida e de cor amarelo |
| Aspecto macroscópico |  |  |

Tabela 46. Composição das microemulsões selecionadas e aspecto macroscópico das microemulsões obtidas contendo span 80[®] e óleo de castanha-do-Brasil.

5.5.2. Caracterização da microemulsão

Um dos parâmetros avaliados foi o pH, que é um indicativo de estabilidade do sistema. Um baixo valor de pH indica uma grande quantidade de ácidos graxos na formulação, proveniente da hidrólise do sistema tensoativo ou da fase oleosa, que pode ocorrer devido às condições de armazenamento e processamento inadequados da amostra (BRUXEL *et al.*, 2012). Além disso, o pH da formulação deve ser favorável à sua aplicação na pele, tendo em vista que os valores de tolerância biológica para aplicação de produtos cutâneos estão entre 5,5 e 8,0 (SILVA *et al.*, 2009). Desse modo, os valores de 5,97 e 6,21 (Tabela 47) encontrados, para as formulações F1 e F2, respectivamente, encontram-se dentro dessa faixa, podendo ser capaz de não provocar irritação cutânea.

No entanto, estudos de irritabilidade cutânea devem ser realizados para garantir uma aplicação tópica segura.

| Parâmetro | ME- Óleo de castanha-do-Brasil | |
|--|--|--|
| | (F1) 1,2- octanediol (Razão C/T=2:1) | (F2) 1,2- Hexanediol (Razão C/T=2:1) |
| Aspecto macroscópico | Límpida e amarelada | Límpida e amarelada |
| pH | 5,97 | 6,21 |
| Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) | 16,36 | 20,7 |
| Índice de refração | 1, 431 | 1, 445 |
| Viscosidade (cP) | 42,49 | 29,99 |
| Densidade | 0, 9555 | 0, 9689 |
| Comportamento reológico | Newtoniano | Newtoniano |
| Tamanho de gotícula(nm) | 45,30 | 128 |

Tabela 47. Resultados da caracterização das microemulsões obtidas utilizando óleo de castanha-do-Brasil como fase oleosa.

Os valores do índice de refração das formulações F1 e F2 foram de 1,431 e 1,445, respectivamente. Estes valores indicam que o sistema é classificado como isotrópico, ou seja, não apresentam fenômenos de birrefringência e não são capazes de desviar a o plano de luz incidente.

Com relação à viscosidade, observou-se que a formulação que continha 1,2-octanediol apresentou uma viscosidade aparente maior que a formulação contendo 1,2-hexanediol. A determinação da viscosidade em microemulsões é fundamental para a verificação do melhor sistema cuja viscosidade é mais apropriada para a incorporação de um fármaco (DANTAS, 2010). O comportamento reológico dos sistemas foi do tipo newtoniano, no qual a viscosidade não se alterou significativamente de acordo com a mudança da velocidade de agitação (Figura 36).

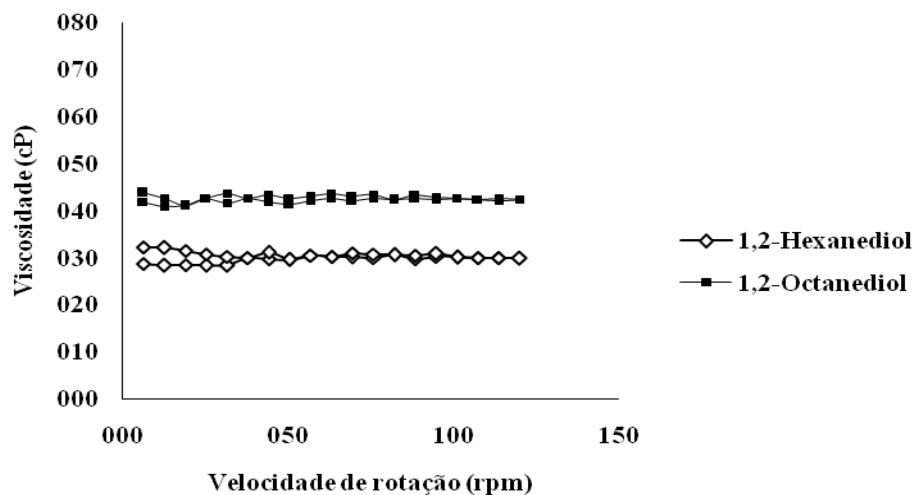


Figura 35. Comportamento da variação de viscosidade *versus* velocidade de agitação da microemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

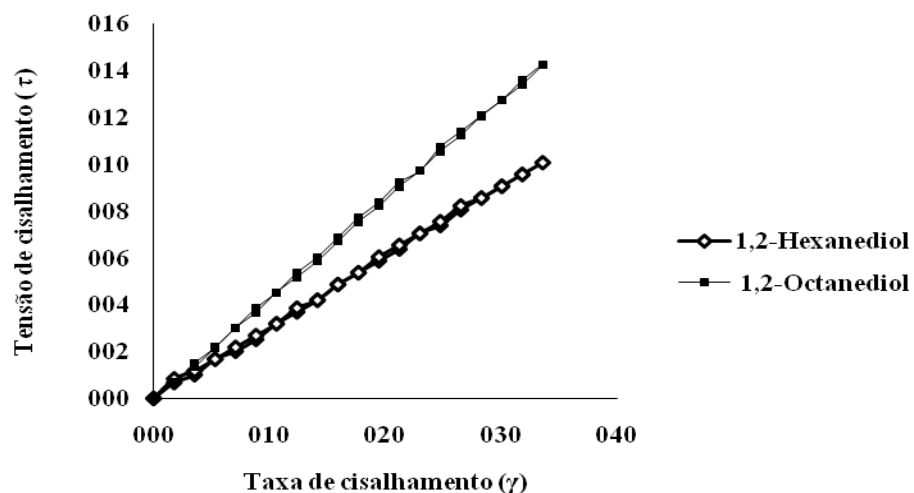


Figura 36. Comportamento reológico das microemulsões contendo óleo de castanha-do-Brasil.

A análise de distribuição do tamanho de gotículas (Tabela 47) mostrou que as formulações F1 e F2 apresentaram tamanho de gotícula de 45,30 nm e 128,0 nm; respectivamente. A formulação F1 apresentou tamanho de gotícula menor que a formulação F2. Este fato pode ser explicado devido à cadeia hidrocarbonada do 1,2-octanediol ser um pouco maior que a do 1,2-hexanediol, indicando que para sistemas microemulsionados contendo óleo de castanha-do-Brasil, quanto maior for a cadeia do cotensoativo utilizado, melhor a sua interposição nos espaços deixados pelo tensoativo na interface óleo-água e, conseqüentemente, menor é o tamanho de gotícula do sistema.

6. CONCLUSÕES

Os valores dos índices químicos encontrados na análise do óleo de castanha-do-Brasil foram satisfatórios, indicando que os protocolos seguidos na armazenagem das amêndoas foram eficientes na manutenção das mesmas para fins da pesquisa.

A metodologia para determinação do EHL do óleo de castanha-do-Brasil foi eficiente no sentido de diminuir o tempo para a escolha dos tensoativos ideais, evidenciando-se como uma ferramenta muito útil para obtenção de emulsões clássicas.

O tensoativo span 60[®] é capaz de emulsionar de forma eficaz o óleo de castanha-do-Brasil visto que foram obtidas emulsões estáveis mesmo após 90 dias de estudo.

A emulsão obtida com óleo de castanha-do-Brasil pode servir como uma nova base farmacêutica, com alta capacidade hidratante, para incorporação de fármacos e/ou outros princípios ativos.

É possível obter nanoemulsões estáveis com óleo de castanha-do-Brasil utilizando-se os tensoativos Span 80[®] e Tween 80[®].

A velocidade de agitação é um parâmetro crítico na obtenção de nanoemulsões com óleo de castanha-do-Brasil sendo a velocidade de 15.000 rpm a mais eficaz.

É possível obter MEs com óleo de castanha-do-Brasil utilizando Span 80[®] como tensoativo. O cotensoativo 1,2-octanediol gerou ME com menor tamanho de gotículas e com os menores teores de C/T, se comparados ao cotensoativo 1,2-hexanediol.

A análise da condutividade elétrica indicou que os sistemas emulsionados (emulsões, nanoemulsões e microemulsões) obtidos foram do tipo O/A.

REFERÊNCIAS

ALVES DOS SANTOS, F.R. **Emulsões múltiplas: formulação, caracterização, estabilidade e aplicações.** 2011. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade Fernando Pessoa, Porto.

ALVES, M.P. **Formas farmacêuticas plásticas contendo nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões de nimesulida: desenvolvimento, caracterização e avaliação da permeação cutânea *in vitro*.** 2006. 183p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

APORNONG, N. *et al.* Ethanol-in-palmoil/diesel microemulsion-based bio fuel: Phase behavior, viscosity, and droplet size. **Fuel**, vol. 132, p. 101-106, maio, 2014.

ARAÚJO, J.M. **Química de alimentos: teoria e prática.** 5ª edição. Editora UFV, Viçosa-MG, 2011.

ARCANJO, S.A. **Preparação de emulsões complexas a partir de dispositivos de microfluídica.** 2009. 96p. Dissertação (Magister scientiae) - Programa de pós-graduação em Física Aplicada - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2ª edição. Porto Alegre: Editora Artmed, Porto Alegre-RS, 2005.

BALCAN, M. *et al.* Microemulsion systems containing diesel and colza oil as alternative fuels: Phase studies, interfacial tension and solubilization. **Fuel**, vol. 117, p.251-258, outubro, 2013.

BAQUIÃO, A.C. *et al.* Mycoflora and mycotoxins in field samples of Brazil nuts. **Food Control**, vol. 28, p. 224-229, maio, 2012.

BARATA, E.A. **Cosmetologia: princípios básicos.** 1ª edição. Tecnopress e publicidade Ltda. São Paulo – SP, 1994.

BERARDESCA, E. *et al.* Evaluation of efficacy of a skin lipid mixture in patients with irritant contact dermatitis, allergic contact dermatitis or atopic dermatitis: a multicenter study. **Contact dermatitis**, vol.45, p.280-285, julho, 2001.

BERA, A. *et al.* Screening of microemulsion properties for application in enhanced oil recovery. **Fuel**, vol. 121, p. 198-207, dezembro, 2013.

BERNADI, D.S. Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento da dermatite atópica e psoríase. 2011. 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5º edição, vol. 1, 2010. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm>.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. 2ª edição. Vol. 1, 2008. <Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/material/guia_cosmetico.pdf>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. 1ª edição. Vol. 1, 2004. Disponível em: <<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cosmeticos.pdf>>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 270, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o "regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal". Diário Oficial de Brasília, de 23 de setembro de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeto de Monitoramento da Castanha do Brasil. Relatório de Atividades**. 2002. Brasília/DF: p.110.

BRASIL. **Decreto nº 51.209 de 18 agosto de 1961**. Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização da exportação da Castanha-do-Brasil. Brasília/DF: Diário Oficial de Brasília, p.853-855. 1961.

BROCK, J. *et al.* Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.38, n.3, p.564-570, julho/setembro, 2008.

BRUXEL, F. *et al.* Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química nova**, v.35, n.9, p.1827-1840, 2012.

CAPEK, I. degradation of Kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in colloid interfacial science**. Amsterdam, v.107, p-125-55, 2004.

CASTELI, V.C. *et al.* Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%. **Acta Scientiarum Health Science**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 121-128, 2008.

CELA, E.V.S.S. *et al.* Tratamento da queimadura de primeiro grau com emulsão de óleo de andiroba: estudo prospectivo, comparativo e duplo cego. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, vol. 6, n.1,p. 44-49, 2014.

CHAO-HSUAN, C. *et al.* An Innate Bactericidal Oleic Acid Effective Against Skin Infection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: A Therapy Concordant with Evolutionary Medicine. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, vol.21, n.4, p.391-399, janeiro, 2011.

COLPO, E. *et al.* Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**, v. 30, p. 459-465, outubro, 2014.

CORREA, M.A. *et al.* On the incorporation of the nonsteroidal anti-inflammatory naproxen in to cationic O/W microemulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v.43, p.106-112, 2005.

CORRÊA, N.C.F. *et al.* Extração do óleo da semente de maracujá (*Passiflora edulis*) com CO₂ supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.14, p. 29-37, dezembro, 1994.

COSTA, D.S. **Uso de óleos amazônicos na flotação de minérios fosfáticos**. 2012. 191p. Tese (Doutorado em engenharia metalúrgica, materiais e de minas) - Faculdade de engenharia - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte

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

DANTAS, T.N.C. *et al.* Development of a new propolis microemulsion system for topical applications. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 20, n.3, p. 368-375, junho/julho, 2010.

DE AZEVEDO, A.B.A.; KOPACK, U.; MOHAMED, R. S. Extraction of fat from fermented Cupuacu seeds with supercritical solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, vol. 27, p. 223-237, janeiro, 2003.

FERRARI, M. **Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba.** 1998. 147p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto.

FERREIRA, E.S. *et al.* Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K). **Alimentos e nutrição**, v.17, n.2, p.203-208, 2006.

FERNANDEZ, P. *et al.* Nanoemulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and surface A: Physicochemical and Engineering Aspects**, vol.251, p.53-58, 2004.

FORMARIZ, T.P. *et al.* Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 41, n.03, p. 301-313, julho/setembro, 2005.

FRANÇA, L.F. *et al.* Supercritical extraction of carotenoides and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. **Journal of Supercritical Fluids**, vol. 14, p. 247-256, agosto, 1998.

FRANÇA, L.F.; MEIRELES, M.A.M. Modeling the extraction of carotene and lipids from pressed palm oil (*elaeisguineensis*) fiber using supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, vol. 18, p. 35-47, janeiro, 2000.

FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Brazil nuts: Benefits and risks associated with contamination by fungi and mycotoxins. **Food Research International**, v.44, p.1434–1440, fevereiro, 2011.

FUNASAKI, M. *et al.* Brazil Nut Oil: Quality Control via Triacylglycerol Profiles Provided by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, vol.60, p. 11263–11267, novembro, 2012.

GALVÃO, A.C. *et al.* Solubilidade do metanol, etanol e isopropanol em óleos vegetais a diferentes temperaturas e pressão atmosférica. **Revista Ciência e Natura**, vol.35, n.2, p.311-317, dezembro, 2013.

GRANJEIRO, A. A. *et al.* Viscosidades de polpas concentradas de figo-da-Índia. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.2, p.219-224, 2007.

HSU, O.K.; *et al.* Pharmacologic Enhancement of Rat Skin Flap Survival with Topical Oleic Acid. **Plastic and reconstructive surgery**, vol. 113, n.13, p.2048-2054, junho.

HUANG, CHUN-MING, *et al.* Eradication of drug resistant Staphylococcus aureus by liposomal oleic acids. **Biomaterials**, vol.32, p.214-221, setembro, 2011.

JAYASINGHE, S.B.; CARUSO, J.A. Investigation of Se-containing proteins in *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Brazil nuts) by ICPMS, MALDI-MS and LC-ESI-MS methods. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 307, p. 16-27, 2011.

JHON, A.J.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of functional foods**, v. 2, p. 196-209, maio, 2010.

KLEIN, E.A. *et al.* Vitamin E and the Risk of Prostate Cancer. **Jama**, vol. 306, n.14, outubro, 2011.

KOBORI, C.N.; JORGE, N. Caracterização do óleo de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, set./out., 2005.

KRIS-ETHERTON, P.M. *et al.* The effects of nuts on coronary heart disease risk. **Nutrition Reviews**, vol. 59, n.4, p. 103-111, 2001.

LA CRUZ, S. *et al.* TaqMan real-time PCR assay for detection of traces of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) in food products. **Food Control**. v. 33, p. 105-113, 2013.

LEONARDI, G.R. *et al.* **Cosmetologia aplicada**. Med. farma livraria e editora, São Paulo – SP, 2004.

LI, C. *et al.* Formation and properties of paraffin wax submicron emulsions prepared by the emulsion inversion point method. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.356, n.5, p. 71-77, 2010.

LIMA, J.R.; GONÇALVES, L.A.G. Quantificação de tocoferóis em óleos de milho, soja, castanha-do-Pará, e castanha de caju por cromatografia líquida em fase reversa. **Alimentos e nutrição**, vol. 8, p. 65-73, 1997.

LIMA, A.S.J. **Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial da água de coco anão verde comercializadas pelas indústrias do sertão da Paraíba e do Ceará.**

2013.127p. Dissertação (Mestrado em Sistemas agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal-Paraíba.

LOPES, B.L. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. **Pharmaceutics**, vol.6, n.1, p.52-77, março, 2014.

LUO, J. *et al.* Application of loop-mediated isothermal amplification assays for direct identification of pure cultures of *Aspergillus flavus*, *A. nomius*, and *A. caelatus* and for their rapid detection in shelled Brazil nuts. **International Journal of Food Microbiology**, v.172, p. 5–12, dezembro, 2013.

MACHADO, G.C. *et al.* Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Revista Ceres**, vol. 53, n.308, p. 463-470, agosto, 2006.

MAGUIRE, L. S. *et al.* Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of wal nuts, almonds, pea nuts, hazel nuts and the macadamia nut. **International Journal of food sciences and nutrition**, vol. 55, p.171-178, maio/junho, 2004.

MARUNO, M. Desenvolvimento de nanoemulsões a base de óleo de gergilim aditivadas de óleo de framboesa para queimaduras de pele. 2009. 158p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MASSI, F. P. *et al.* Brazil nuts are subject to infection with B and G aflatoxin-producing fungus, *Aspergillus pseudonomius*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 186, p. 14-21, junho, 2014.

MEZADRI, H. **Desenvolvimento de nanoemulsões contendo extratos de frutos de *Syagrus romanzoffiana* (cham.) Glassman e estudo fitoquímico destes extratos.** 2010. 94p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.

MONTEIRO, A.R. *et al.* Extraction of the soluble material from the shells of the bacuri fruit (*Platoniainsignis* Mart) with pressurized CO₂ and other solvents. **Journal of Super critical Fluids**, vol. 11, p. 91-102, maio, 1997.

MORAIS, J.M. *et al.* Physicochemical Characterization of Canola Oil/Water Nano-emulsions Obtained by Determination of Required HLB Number and Emulsion

Phase Inversion Methods. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.21, n.1, p.109-115, 2006.

NAKATISUJI, T. *et al.* Sebum Free Fatty Acids Enhance the Innate Immune of Human Sebocytes by Upregulating b-Defensin-2 Expression. **Journal of Investigative Dermatology**, vol.130, p. 985-994, dezembro, 2010.

NAZAR, M.F.; KHAN, A.M.; SHAH, S.S. Microemulsion system with improved loading of piroxicam: a study of microstructure. **AAPS PharmSciTech**, v.10, n. 4, p. 1286-1294, dezembro, 2009.

OLIVEIRA, R. C.; BARROS, S. T. D.; ROSSI, R. M. Aplicação da metodologia Bayesiana para o estudo reológico da polpa de uva. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, n.1, -73-80, Campina grande, 2009.

PACHECO, A.; SCUSSEL, V. Aflatoxins evaluation on in-shell and shelled dry Brazil nuts for export analysed by LC-MS/MS - 2006 and 2007 harvests. **World Mycotoxin Journal**, vol. 3, n.2, p. 295-304, agosto, 2009.

PACHECO, A.M. **Selênio e aflatoxinas em Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) e qualidade de produtos derivados**. 2007. 144p. Tese (Doutorado em Ciências e alimentos) - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PEÑA-CARLOS, M. *et al.* Enrichment planting of *Bertholletia excelsa* in secondary forest in the Bolivian Amazon: effect of cutting line width on survival, growth and crown traits. **Forest ecology na management**, v.161, p.159-168, 2002.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 5^o edição, vol. 1, Fundação Calouste Gulbenkais, Porto-1995.

PURANAJOTI P.R.; PATIL, T.; SHETH, P.D.; BOMMAREDDY, G.P.; EGBARIA, D.K. Design and development of topical microemulsion for poorly watersoluble antifungal agents. **The Journal of Applied Research**, v. 2, n. 1, p. 27-28, 2002.

QUEIROGA, V. *et al.* Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K) seed kernel oil: characterization and thermal stability. **Revista de biologia e farmácia**, vol.3, n.1, p.33-42, 2009.

REIS, T.A. *et al.* Characterization of *Aspergillus* section Flavi isolated from organic Brazil nuts using a polyphasic approach. **Food Microbiology**, v.42 , p. 34-39, fevereiro, 2014.

REIS, T.A. *et al.* Mycobiota and mycotoxins in Brazil nut samples from different states of the Brazilian Amazon region. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 159, p. 61-68, agosto, 2012.

RIBEIRO, M. B. N. *et al.* Brazil nut stock and harvesting at different patial scales in south e a stern Amazonia. **Forest Ecologyand Management**, v.319, p. 67-74, março, 2014.

RODRIGUES, J.E. *et al.* Phase equilibrium measurements of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) oil in supercritical carbon dioxide. **The journal of super critical fluids**, v. 34, p. 223–229, novembro, 2005.

ROSANI, L. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade de nanoemulsões do tipo óleo em água com óleos vegetais**. 2011. 85p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - São Paulo.

ROS, E.; MATAIX, J. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, vol. 96, p.29-35, 2006.

RYAN, E. *et al.* Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 57, p. 219-228, maio/junho, 2006.

SANTOS, O.V. *et al.* Chemical evaluation and thermal behavior of Brazil nut oil obtained by different extraction processes. **Food Research International**, v.47, p. 253–258, maio, 2012.

SANTOS, O.V. *et al.* Yield, nutritional quality, and thermal-oxidative stability of Brazil nut oil (*Bertolletia excelsa* H.B.K) obtained by supercritical extraction. **Journal of Food Engineering**, v.117, p. 499–504, janeiro, 2013.

SCHAFFAZICK, S.R. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química nova**, v.26, p.726-737, fevereiro, 2003.

SCHONS, E.M. **Desestabilização de emulsões visando à redução do teor de óleo em água**. 2008. 168p. Dissertação (Mestrado em engenharia mineral) – Escola de Minas - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.

SILVA J.A. *et al.* Estudo de liberação e permeação in vitro do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. **Química Nova**, vol.32, n.6, p.1389-1393, 2009.

SHISHU; RAJAN,S.; KAMALPREET. Development of Novel Microemulsion-Based Topical Formulations of Acyclovir for the Treatment of Cutaneous Herpetic Infections. **AAPS PharmSciTech**, v.10, n.2, junho, 2009.

SMITH, P.A.; ROMESBERG, F.E. Combating bacteria and drug resistance by inhibiting mechanisms of persistence and adaptation. **Natural Chemical biology**, vol.3, p.549-556, novembro, 2007.

SOLANS, C. *et al.* Nanoemulsions. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**. vol.10, p. 102-110, 2005.

SOLÉ, I. *et al.* Nanoemulsions prepared by the phase inversion composition method: preparation variables and scale up. **Journal of Colloid and Interface Science**, vol. 344, p. 417-423, 2010.

SONNEVILLE-ABRUN, O.; SIMONNET, J.T.; L'ALLORET, F. Nanoemulsion: a new vehicle for skincare products. **Advances and Colloid and Interface Science**, v.108-109, p.145-1149, 2004.

SOUZA DA SILVA, A.E. **Identificação e quantificação via técnicas cromatográficas de ácidos graxos com potencias farmacológicos em frutos amazônicos**. 2012. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear- Materiais) - Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, São Paulo.

TADROS, T.F. *et al.* Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in colloids and interface sciences**. v.108-109, p.303-308, 2004.

VADIVEL, V; KUNYANGA, C.N; BIELSALKI, H.K. Health benefits of nut consumption with special reference to body weight control. **Nutrition**, vol 28, p.1089-1097, janeiro, 2012.

VENKATACHALAM, M.; SHATE, S. K.; Chemical Composition of Selected Edible Nut Seeds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.54, p. 4705-4714, maio, 2006.

VONDERHEIDE, A. P. *et al.* Characterization of Selenium Species in Brazil Nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS. **Journal of agricultural and food chemistry**, vol.50, p. 5722-5728, agosto, 2002.

WALKER, R.M. *et al.* Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size. **Journal of Food Engineering**, vol.164, p.10-20, abril, 2015

WINSOR, P.A. Hidrotody, solubilization, and related emulsification processes. **J. Chem. Trans. Faraday Soc.**, v.44, n.1, p.376-398, junho, 1948.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1573-1580, maio, 2009.

ZHU, W. *et al.* Formulation design of microemulsion for dermal delivery of penciclovir. **International Journal of Pharmaceutics**, v.360, p. 184–190, agosto, 2008.