

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LEANDRO ROSANI

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DA ESTABILIDADE DE NANOEMULSÕES
DO TIPO ÓLEO EM ÁGUA COM ÓLEOS VEGETAIS**

SÃO CARLOS – SÃO PAULO

2011

LEANDRO ROSANI*

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DA ESTABILIDADE DE NANOEMULSÕES DO
TIPO ÓLEO EM ÁGUA COM ÓLEOS VEGETAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: FÍSICO-QUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. Luis Otavio de Sousa Bulhões

*bolsista CAPES

SÃO CARLOS – SÃO PAULO

2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

R788de Rosani, Leandro.
Desenvolvimento e estudo da estabilidade de
nanoemulsões do tipo óleo em água com óleos vegetais /
Leandro Rosani. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
84 f.

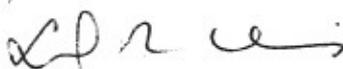
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2011.

1. Físico-química. 2. Nanoemulsões. 3. Emulsão. 4.
Nanopartículas. I. Título.

CDD: 541.3 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

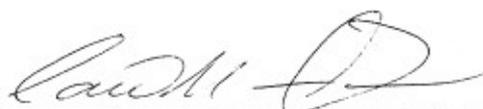
*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado acadêmico do candidato **Leandro Rosani**, realizada em 11 de outubro de 2011:*



Prof. Dr. Luis Otavio de Sousa Bulhões



Prof. Dr. Daniel Sivieri Cordeiro



Prof. Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar mais uma conquista apesar de todas as dificuldades encontradas ao longo desde caminho e etapa da minha vida.

À minha família, meus pais, irmãos, minha esposa e meu filho Felipe, por todo apoio, incentivo e compreensão.

Principalmente ao meu orientador Prof. Dr. Luis Otavio de Sousa Bulhões, pela orientação, estando sempre presente nos momentos em que precisei de sua ajuda e conhecimento, obtendo seu estímulo e dedicação durante a realização deste trabalho. Agradeço sua confiança, respeito, paciência, consideração e principalmente pela sua amizade. Meu muito obrigado por tudo.

Aos meus amigos Ivana, Sheila, Renato e Heinsten, pela colaboração e amizade.

À Prof. Dra Ione Iga, por sua ajuda, paciência e ensinamentos.

A todos os professores do mestrado que tive a oportunidade de assistir suas aulas e com isso adquirir mais conhecimentos e aprendizados.

Ao Prof. Dr. Edson Roberto Leite, que me disponibilizou seu laboratório para a realização de grande parte deste trabalho.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Química, pelo atendimento e paciência sempre que necessário.

À Coordenação de Apoio de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de mestrado, viabilizando minha dedicação total a esta pesquisa. Ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

O método de emulsificação a baixa energia foi utilizado para preparar emulsões do tipo o/a contendo óleo de amêndoas ou de castanhas estabilizadas com Tween 80 e Span 80. Foram obtidas nanoemulsões estáveis com tamanho médio de gotículas de 160 nm e 270 nm para os sistemas preparados com óleo de amêndoas e castanha, respectivamente, em condições específicas de equilíbrio hidrófilo lipófilo (EHL). A correlação entre as medidas de viscosidade e de tamanho de partículas permite uma determinação mais precisa do EHL dos óleos. O principal mecanismo de desestabilização observado para a emulsão preparada com óleo de amêndoas foi o *Ostwald ripening*, que mudou para coalescência para as emulsões com conteúdo de óleo maior que 10% m/m e EHL maior que 10.

Palavras-chave: Nanoemulsão, Óleo de amêndoas, EHL.

ABSTRACT

A low energy emulsification method was used to prepare o/w emulsions of sweet almond or Brazil nut oils stabilized by Tween 80 and Span 80. Stable nano emulsions with droplet size of 160 nm and 270 nm were obtained for almond and Brazil nut oils, respectively, under critical hydrophilic lipophilic balance (HLB). A correlation between emulsions viscosity and particle size allows a precise HLB determination for the oils. The main destabilization mechanism for the emulsions prepared with sweet almond oil was found to be Ostwald ripening that change to coalescence for the emulsion with oil content higher than 10% w/w and HLB higher than 10.

Keywords: Nanoemulsion, Sweet almond oil, HLB.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Esquema das diversas camadas da pele
- Figura 2 – Penetrabilidade de cosméticos na pele.
- Figura 3 – Representação esquemática mostrando os glóbulos das emulsões óleo/água (o/a) e água/óleo (a/o)
- Figura 4 – Fenômeno de cremação observado por microscopia óptica
- Figura 5 – Fenômeno de coalescência observado por microscopia óptica
- Figura 6 – Representação esquemática do processo de instabilidade das emulsões
- Figura 7 – Escala de granulometria das emulsões
- Figura 8 – Desenho esquemático representando o processo de emulsificação
- Figura 9 – Estrutura molecular do monoelato de sorbitano
- Figura 10 – Estrutura molecular do Tween80®
- Figura 11 – Estrutura molecular do metilparabeno
- Figura 12 – Estrutura molecular do propilparabeno
- Figura 13 – Diagrama de fases representando os pontos relativos a cada composição das emulsões de óleo de amêndoas em água
- Figura 14 – Diagrama de fases representando os pontos relativos a cada composição das emulsões de óleo de castanha em água
- Figura 15 – Microfotografia da emulsão de óleo de amêndoas
- Figura 16 – Densidades das emulsões de óleo de amêndoas doce em função do EHL
- Figura 17 – Densidades das emulsões de óleo de amêndoas doce em função do EHL, para duas composições diferentes de óleo
- Figura 18 – Valores de n em função do EHL
- Figura 19 – Viscosidade da emulsão de óleo de amêndoas
- Figura 20 – Viscosidade da emulsão de óleo de amêndoas
- Figura 21 – Viscosidade da emulsão de óleo de amêndoas
- Figura 22 – Valores da viscosidade em função da temperatura
- Figura 23 – Valores da viscosidade em função da temperatura
- Figura 24 – Valores da viscosidade em função da temperatura
- Figura 25 – Diâmetro médio das gotículas de óleo na emulsão
- Figura 26 – Diâmetro médio das gotículas de óleo na emulsão

Figura 27 – Diâmetro médio das gotículas de óleo na emulsão

Figura 28 – Valores do potencial zeta em função do EHL

Figura 32 – Valores do potencial zeta em função do EHL

Figura 33 – pH das emulsões de óleo de amêndoas recém-preparadas

Figura 34 – pH das emulsões de óleo de amêndoas recém preparadas

Figura 35 – pH das emulsões de óleo de amêndoas recém preparadas

Figura 36 – pH da emulsão contendo 1,5% m/m de óleo de amêndoas com diferentes EHL

Figura 37 – Representação de $1/r^2$ em função do tempo

Figura 38 – Representação de r^3 em função do tempo

Figura 39 – Representação de $1/r^2$ em função do tempo

Figura 42 – Representação de r^3 em função do tempo

Figura 41 – Representação de $1/r^2$ em função do tempo

Figura 39 - Representação de r^3 em função do tempo

Figura 40 – Viscosidade da emulsão o/a de óleo de castanha

Figura 41 – Variação do diâmetro médio das partículas da emulsão o/a contendo óleo de castanha

Figura 42 – Tamanho médio das gotículas de óleo

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Composição das emulsões do tipo o/a preparadas com o óleo de amêndoas doce
- Tabela 2 – Composição das emulsões do tipo o/a preparadas com o óleo de castanha do Brasil
- Tabela 3 – Densidades para as emulsões contendo o óleo de amêndoas com diferentes concentrações de óleo
- Tabela 4 – Índices de refração para as emulsões de óleo de amêndoas com diferentes concentrações de óleo
- Tabela 5 – Dados de diâmetro médio e índice de polidispersividade de gotículas em função do tempo
- Tabela 6 – Densidades e índices de refração para as emulsões contendo 3% m/m de óleo de castanha
- Tabela 7 – Viscosidade para as emulsões do tipo o/a
- Tabela 8 – Dados de diâmetro médio das partículas, potencial zeta e índice de polidispersividade
- Tabela 9 – Valores do pH para as emulsões de óleo de castanha 3% m/m recém-preparadas

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	INTRODUÇÃO GERAL	12
1.2	REVISÃO DA LITERATURA	13
1.2.1	A nanotecnologia aplicada a cosméticos	13
1.2.2	As camadas da pele	15
1.2.3	Emulsões	17
1.2.4	Nanoemulsões	21
1.2.5	Reologia em sistemas emulsionados	29
1.2.6	Estabilidade físico-química das nanoemulsões	31
1.2.7	Óleos vegetais	34
1.2.7.1	Óleo de amêndoas doce	34
1.2.7.2	Óleo de castanha do Brasil	35

CAPÍTULO II – OBJETIVOS

2	OBJETIVOS	37
2.1	OBJETIVOS GERAIS	37
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37

CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS

3	MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1	MATERIAIS UTILIZADOS PARA O PREPARO DAS EMULSÕES	38
3.1.1	Fase oleosa	38
3.1.2	Fase aquosa	38
3.1.3	Tensoativos	38
3.1.4	Aditivos utilizados nas emulsões	39
3.2	MÉTODOS	40
3.2.1	Preparo das emulsões do tipo óleo em água (o/a)	40
3.2.2	Caracterização físico-química das emulsões	44

3.2.2.1	Determinação do ph das emulsões	44
3.2.2.2	Determinação do potencial zeta e de tamanho de partículas	45
3.2.2.3	Determinação da densidade	45
3.2.2.4	Determinação do índice de refração das emulsões	46
3.2.2.5	Determinação da viscosidade das emulsões	46
3.2.3	Testes de estabilidade	46
3.2.3.1	Teste de prateleira	46
3.2.3.2	Teste de Estabilidade Acelerada	47
3.2.3.3	Testes de centrifugação	47
3.2.3.4	Observação microscópica	47
3.2.3.5	Índice de <i>Ostwald ripening</i>	47

CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE AMÊNDOAS EM ÁGUA	49
4.2	DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE CASTANHAS EM ÁGUA	72

CAPÍTULO V – CONCLUSÕES

5	CONCLUSÕES	78
---	------------	----

CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
---	----------------------------	----

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

Emulsões são definidas como a dispersão de gotículas (que podem ser de óleo ou água) em uma fase majoritária contínua, na qual pelo menos dois líquidos são imiscíveis. As emulsões se caracterizam como sistemas nanoestruturados utilizados como veículos na indústria cosmética, farmacêutica e de tintas. Para os produtos da indústria cosmética e farmacêutica, elas apresentam vantagens como a veiculação de ativos hidrofílicos e lipofílicos na mesma formulação, além de possibilitarem o controle de aspectos sensoriais adaptados às necessidades da via de administração para as quais se destinam. Para que as aplicações das emulsões nesses produtos sejam viáveis, estes devem apresentar um período definido com estabilidade físico-química, sendo esse período associado às aplicações pretendidas (ATTWOOD, 2005).

As nanoemulsões são promissoras na ciência cosmética devido à estabilidade, ao grande poder de hidratação, quando possuem ativos que são comprovadamente hidratantes e por proporcionar sensorial agradável (TADROS et al., 2004). Além disso, apresentam alta espalhabilidade, o que promove a formação de uma película mais uniforme sobre a pele quando comparadas às emulsões clássicas (BOUCHEMAL *et al.*, 2004).

As nanoemulsões podem ser obtidas por métodos de alta ou de baixa energia de emulsificação (FERNANDEZ et al., 2004). Os métodos que utilizam alta energia de emulsificação são baseados na geração de energia mecânica por meio de alta tensão de cisalhamento e permitem melhor controle da granulometria e ampla escolha dos componentes da formulação (FERNANDEZ et al., 2004). Os métodos de baixa energia de emulsificação se utilizam das propriedades físico-químicas do sistema para a obtenção de emulsões com glóbulos de tamanho reduzido (TADROS et al., 2004). Para que a produção de nanoemulsões por estes métodos se torne economicamente viável, fez-se necessário o estudo dos fenômenos físico-químicos envolvidos no processo de obtenção.

O desenvolvimento de emulsões utilizando óleos vegetais tem sido intensamente valorizado, devido às atividades benéficas que a complexa composição de ácidos graxos presentes nesses óleos pode exercer na pele e pelo conceito de que são seguros e biocompatíveis, fatores que reforçam a atual tendência de utilização de produtos naturais (BLOISE, 2003).

O interesse em formar nanoemulsões com óleos vegetais reside em potencializar sua utilização com menor quantidade do óleo. Outro aspecto importante é que esse sistema, contendo algum ativo disperso na fase oleosa, pode ser encapsulado com um polímero ou por uma camada lipídica de estado sólido. Neste trabalho, foram escolhidos os óleos de amêndoas doce e o óleo de castanha – o primeiro por ser uma fase oleosa modelo e o segundo por ser ainda pouco estudado e por se conhecer pouco sobre suas propriedades físico-químicas importantes para a formação de emulsões.

O óleo da castanha do Brasil apresenta, segundo a literatura, os ácidos graxos essenciais, dentre os quais se destacam os ômega 6 e 9, benéficos ao coração. Também possui uma considerável quantidade de proteínas e dois minerais de grande importância: o zinco, que afasta o risco de infecções oportunistas, além de atuar no crescimento e na cicatrização, e o selênio, que fortalece o sistema imunológico, equilibra a tireoide e previne tumores. Possui vitamina E, que é um poderoso antioxidante e possui compostos fenólicos solúveis com alta atividade antioxidante (JENNY & SHAHIDI, 2010). O uso de óleos vegetais como os de amêndoas e de castanha garante o desenvolvimento de produtos seguros e compatíveis com a pele.

1.2 REVISÃO DA LITERATURA

1.2.1 A nanotecnologia aplicada a cosméticos

A nanotecnologia aplicada à cosmetologia consiste em utilizar princípios ativos em partículas pequenas, capazes de penetrar nas camadas mais profundas da pele, potencializando os efeitos dos produtos. Com isso, os chamados “nanocosméticos” (que contêm ingredientes obtidos por nanotecnologia) conseguem agir na camada basal, local de origem das células da pele (BAUMANN, 2005).

Segundo a Nanobiotec, organização nacional voltada para a área de nanobiotecnologia, no período de 1990 a 2005 houve mais de 500 publicações sobre o uso de nanotecnologia para o desenvolvimento de produtos dermocosméticos. Foram também registradas 312 patentes no mundo relativas a produtos cosméticos ou dermatológicos entre 1996 e 2005 (GUTERRES; PASA & PIMENTA, 2006). Empresas internacionais renomadas como a L'Oreal, Lâncome, Anna Pegova, Pocter & Gamble, Christian Dior, entre outras, além de empresas brasileiras pioneiras no mercado como a Natura e O Boticário, lançaram produtos baseados em nanotecnologia. Esses produtos prometem maior hidratação, maior penetração de ativos que se destinam a agir na derme como, por exemplo, compostos que promovem aumento na síntese de colágeno e elastina, bem como melhora no aspecto sensorial de diversos produtos, incluindo os filtros solares (CAMARGO, 2008).

Apesar de já conhecidas, só recentemente as nanoemulsões atraíram a atenção dos fabricantes de cosméticos. Esse desinteresse pode ter ocorrido porque o preparo das nanoemulsões, em muitos casos, exige a aplicação de técnicas especiais, como homogeneizadores de alta pressão e ultrassônicos (FORTUNATO, 2007).

Além de os equipamentos para a fabricação de nanoemulsões serem caros, o pouco conhecimento do mecanismo de produção de gotículas de dimensões nanométricas e do papel dos tensoativos e co-tensoativos também colaborou para deter o avanço das mesmas, bem como a falta de demonstração dos benefícios do uso de nanoemulsões em comparação aos sistemas clássicos de macroemulsões. Em termos fundamentais, a dificuldade de conhecimento da química interfacial envolvida na produção das nanoemulsões retardou o progresso das mesmas. Finalmente, havia o receio de enveredar por novos sistemas sem plena avaliação de custo/benefício, o que inibiu o uso de nanoemulsões em aplicações de cuidado pessoal. Outro fator importante na área é a segurança à saúde do produto, o que foi também um dos principais motivos para inibir a fabricação de nanoemulsões. Apesar dessas dificuldades, várias empresas lançaram nanoemulsões no mercado e, nos próximos anos, os benefícios poderão ser avaliados. A utilização das nanoemulsões nos cosméticos depende da percepção e da aceitação do consumidor. Com a chegada de novos equipamentos homogeneizadores de alta pressão, a descoberta de técnicas para as quais não é necessário o uso desses equipamentos e a

concorrência entre os fabricantes, o custo de produção das nanoemulsões deverá cair, aproximando-se do custo das tradicionais macroemulsões (FORTUNATO, 2007).

1.2.2 As camadas da pele

As principais funções da pele são separar e proteger o interior do corpo do ambiente externo, receber estímulo sensorial, ajudar a regular a temperatura do corpo e excretar substâncias não desejadas. Além disso, a pele também previne a entrada de microrganismos, substâncias químicas e várias formas de radiação e protege os fluidos e tecidos corporais (BARRY, 2002). Estruturalmente, a pele possui uma série de camadas, que podem ser classificadas em três grandes grupos: epiderme, derme e hipoderme (Figura 1).

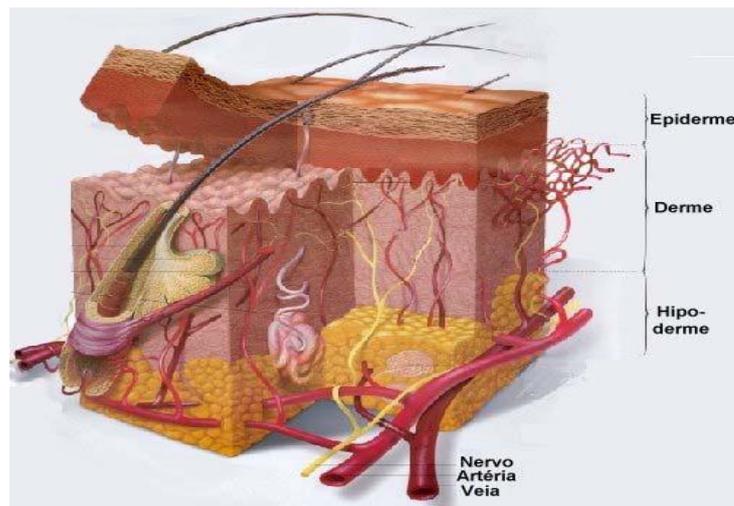


Figura 1 – Esquema das diversas camadas da pele (Figura extraída e modificada de SHAI *et al.*, 2001)

A epiderme é uma estrutura complexa constituída de diferentes camadas formadas pelos queratinócitos, células epiteliais estratificadas que sofrem diferenciação à medida que se deslocam da camada basal para a superfície da pele. Em um sistema dinâmico, essas camadas estão em constante renovação, desde sua junção com a derme até a superfície cutânea, onde ocorre descamação permanente de numerosas camadas de células queratinizadas, anucleadas e sem organelas, chamadas de corneócitos. O período necessário para que todo esse evento ocorra são cerca de 30 dias (LEONARDI, 2000; BARATA, 1995).

As camadas que formam a epiderme são denominadas (do topo da epiderme até a interface com a derme) como: córnea, granulosa, espinhosa e basal. Uma quinta camada, a lúcida, é encontrada entre as camadas córnea e granulosa na palma das mãos e sola dos pés, onde a pele é mais espessa que nas demais regiões do corpo.

A derme, ou córium, é um tecido resistente e elástico que nutre a epiderme e protege o corpo contra lesões mecânicas. Sua espessura é variável (1 a 4 mm) conforme a parte do corpo. É dividida em duas regiões: uma localizada em contato direto com a epiderme, a derme papilar, e outra logo abaixo, a derme reticular. Nessa camada da pele estão presentes os bulbos dos pêlos, glândulas, terminações nervosas, vasos sanguíneos e alguns tipos de células.

O principal componente da derme é o colágeno: proteína sintetizada pelos fibroblastos na forma de um precursor, o procolágeno. Este, uma vez no meio extracelular, sofre ação enzimática, dando origem a unidades de tropocolágenos (ricos em aminoácidos lisina e prolina), que se polimerizam formando as fibras de colágeno, ricas em hidroxilisina e hidroxiprolina.

A hipoderme, ou panículo adiposo, também apresenta espessura variável e é a camada mais profunda da pele. Constitui-se de células denominadas adipócitos, separadas entre si por um interstício seroso que contém ácidos polissacarídicos, os quais atuam como lubrificantes. A vascularização do tecido adiposo é grande, nutrindo todo o conjunto de adipócitos.

Funcionalmente, a hipoderme, além de depósito nutritivo de reserva, participa no isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo contra o pressionamento e traumatismo externos e facilita a motilidade da pele em relação às estruturas adjacentes (LEONARDI, 2004; BARATA, 1995). Na Figura 2 pode-se observar um esquema que representa a profundidade de penetração de alguns ativos cosmecêuticos e a região atingida por sistemas nanoestruturados.

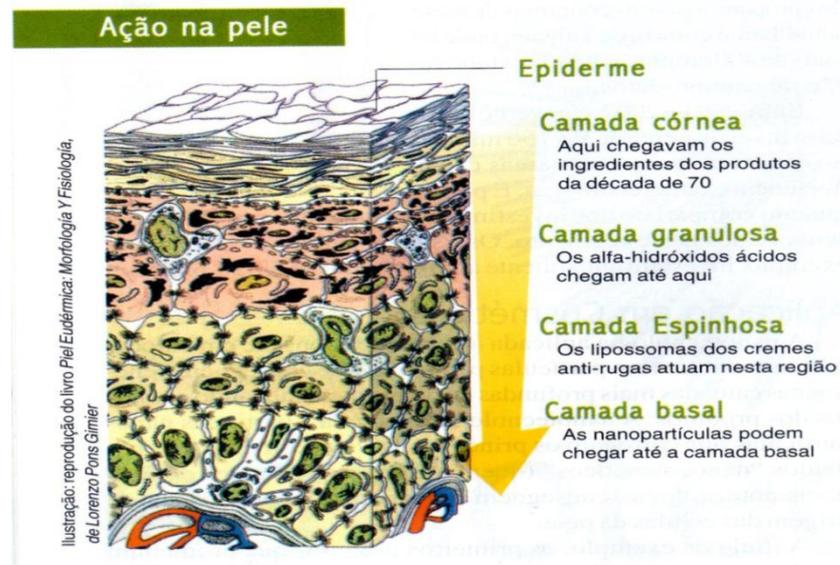


Figura 2 – Penetrabilidade de cosméticos na pele

1.2.3 Emulsões

Emulsões são sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis, definidos como a mistura de dois líquidos imiscíveis, um dos quais está disperso no outro na forma de glóbulos (BECHER & SCHICK, 1987).

De acordo com a hidrofília ou lipofília da fase dispersante, esses sistemas classificam-se em emulsões do tipo óleo em água (o/a) ou água em óleo (a/o). As emulsões, em geral, contêm três componentes: água, óleo e tensoativos (MORRISON & ROSS, 2002). As características físico-químicas desses componentes têm um papel determinante na estabilização da emulsão, no comportamento de fases, no tipo e na estabilidade do sistema em dispersão (SAJJADI, 2003). Esses sistemas são estabilizados cineticamente pela adição de agentes tensoativos, capazes de diminuir a tensão interfacial e de formar um filme interfacial esférico com propriedades eletrostáticas em torno dos glóbulos da fase interna (CAPEK, 2004). Os agentes tensoativos, ou emulsificantes, são moléculas com características anfífilas que se adsorvem na interface entre a fase dispersa e a dispersante durante o processo de emulsificação e podem prontamente prevenir fenômenos de instabilidade e, conseqüentemente, uma possível separação de fases (LOCHHEAD, 1994). A figura 3 a seguir mostra os dois tipos de emulsão em questão.

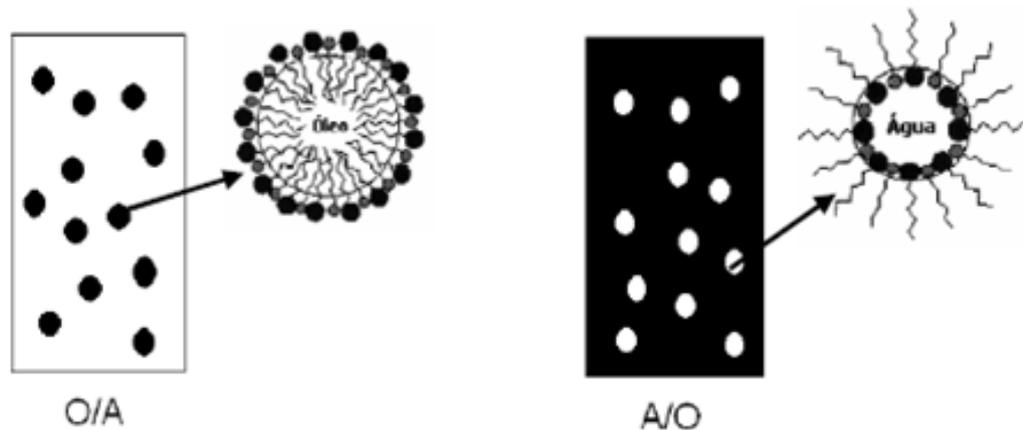


Figura 3 – Representação esquemática mostrando os glóbulos das emulsões óleo/água (o/a) e água/óleo (a/o) (OLIVEIRA, 2008)

As principais etapas e/ou mecanismos de processos de instabilidade observados em emulsões podem ser assim descritos: floculação, cremação, coalescência e *Ostwald ripening* (LAWRENCE; REES, 2000).

A floculação pode ser definida como a agregação reversível das gotículas da fase interna. Cronologicamente, é a primeira fase da alteração da estabilidade de uma emulsão, sendo seguida da cremação, que consiste na agregação dos flóculos previamente originados passando a constituir uma camada disposta à superfície ou no fundo da emulsão, conforme mostra a microfotografia da Figura 4. A coalescência, por sua vez, é um processo de aproximação de gotículas durante o qual estas se unem para formar gotículas maiores, sendo irreversível e culminando com a separação total de fases. As gotículas maiores devido à coalescência são mostradas na Figura 5. A floculação e coalescência diferem entre si pelo fato de que na floculação o filme interfacial das gotículas permanece intacto, ao passo que na coalescência esse filme é rompido (LACHMAN et al., 2001).

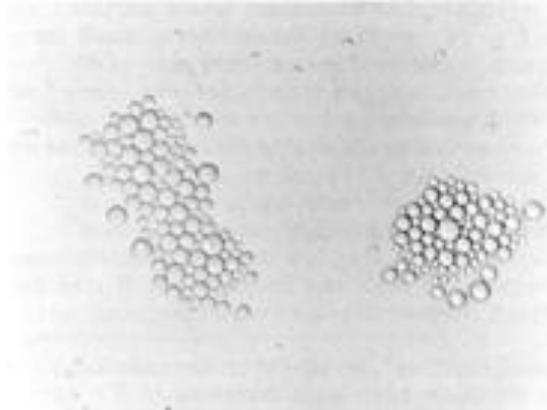


Figura 4 – Fenômeno de cremação observado por microscopia óptica (ANSEL et al., 1999)



Figura 5 – Fenômeno de coalescência observado por microscopia óptica. O sistema torna-se heterogêneo, mas sem agregados (ANSEL et al., 1999).

Um dos maiores problemas de instabilidade relacionados às nanoemulsões, entretanto, é o fenômeno *Ostwald ripening*, que ocorre com a difusão do conteúdo lipofílico de gotículas menores para as maiores através da fase externa hidrofílica da emulsão, o que causa o crescimento da gotícula, ou *Ostwald ripening*. Quanto maior a curvatura interfacial do glóbulo em dispersão, maior a área de superfície da fase dispersa e, conseqüentemente, maior a solubilidade do conteúdo da fase dispersa na fase dispersante. Esse fator pode causar a movimentação de moléculas de óleo por meio de difusão passiva ou transporte assistido por micelas. Essas moléculas são transferidas dos glóbulos pequenos para os maiores, provocando alteração da granulometria da fase dispersa (CAPEK, 2004).

A Figura 6 representa os principais mecanismos de separação das emulsões. Do ponto de vista do processo, ocorre a redução na energia livre do sistema devido

à destruição da área interfacial. O resultado final é o aumento no tamanho médio dos raios das gotículas da emulsão – com o tempo, as gotículas menores se rompem e o conteúdo é envolvido pelas gotículas maiores (TAYLOR, 1995).

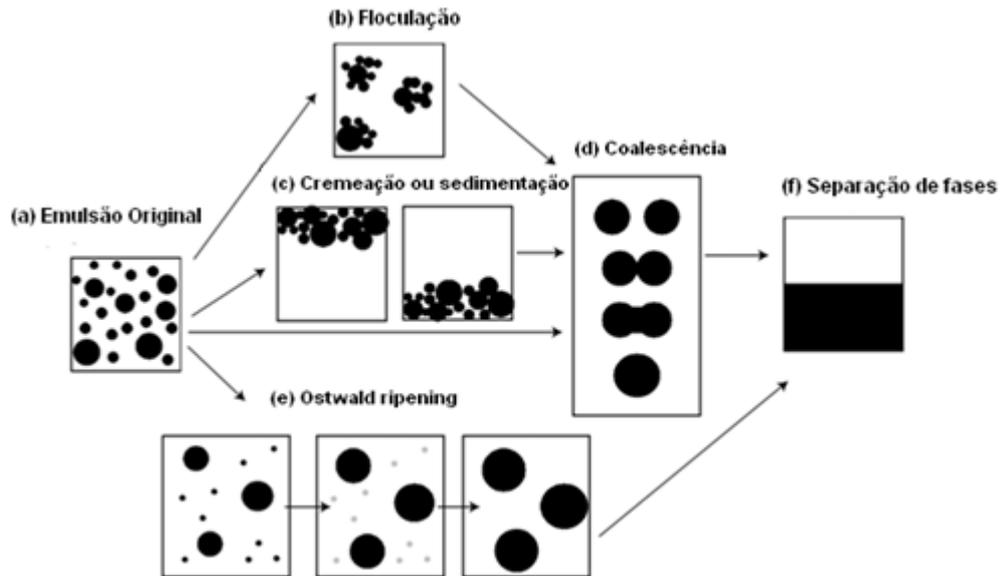


Figura 6 – Representação esquemática do processo de instabilidade das emulsões. (TADROS et al., 2004).

Existem dois mecanismos pelos quais as gotículas de óleo podem trocar ou transferir seus conteúdos (TAISNE et al., 1996):

- a. transporte das moléculas individuais do óleo através da fase aquosa;
- b. adesão de duas gotículas a posterior coalescência do conteúdo.

Esses processos, que provocam a instabilidade das emulsões, constituem alguns dos problemas para a produção, armazenamento e aplicação das emulsões. Por exemplo, durante a emulsificação, o fluxo, algumas vezes muito turbulento, pode causar múltiplas colisões com a coalescência das gotículas e, portanto, o processo pode impedir a formação de emulsões com gotículas muito pequenas. Finalmente, se a emulsão é uma mistura de gotículas contendo diferentes substâncias, o mesmo processo causaria a mistura dessas substâncias, podendo ocorrer a reação entre substâncias reativas presentes nas gotículas com a consequente perda da atividade o que reduz o tempo de armazenamento (TAISNE et al., 1996). Deve-se observar, ainda, que quanto mais polidisperso o sistema, mais pronunciado será esse mecanismo, pois maior será a diferença de solubilidade dos glóbulos em dispersão (CAPEK, 2004).

Os agentes tensoativos foram classificados numericamente, segundo suas características de hidrofília e lipofília, e de forma empírica, utilizando-se a metodologia conhecida por Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo (EHL). Foram-lhes atribuídos valores entre 0,0 e 20,0, sendo que, quanto mais elevado o valor, maior a sua hidrofílicidade. Esse sistema permite que se conheça a ideal composição de uma emulsão para que ela apresente a estabilidade requerida (GRIFFIN, 1949). A estabilidade das emulsões depende intrinsecamente da interação interfásica estabelecida pelos tensoativos entre as fases imiscíveis que as constituem. A escolha, proporção e característica do tensoativo ou de misturas de tensoativos a serem adotadas na preparação da emulsão almejada são previstas por meio da verificação dos valores de EHL das substâncias envolvidas, o que permite predizer o tipo de comportamento esperado do composto frente a substâncias polares ou apolares. A metodologia para determinação prática do EHL de uma substância consiste no preparo de emulsões seriadas, sendo a mais estável a que foi preparada com uma mistura de tensoativos com o EHL correspondente. Os tensoativos devem apresentar valor de EHL equivalente ao da fase dispersa para poder mantê-la estabilizada frente à fase dispersante. Para determinar o valor de EHL, pode-se recorrer aos dados da literatura ou a equações baseadas na fórmula molecular do composto. Entretanto, quando o EHL de uma substância específica é desconhecido ou a literatura o cita em ampla faixa de valor, torna-se necessário determinar o valor do EHL crítico (EHL_c) do óleo a ser utilizado, o que pode ser realizado por meio de ensaios com tensoativos cujos valores do EHL são conhecidos. Com a notificação do EHL do óleo, pode-se lançar mão dos tensoativos ideais cujo EHL final for o mesmo do núcleo oleoso (ANSEL et al., 1999).

1.2.4 Nanoemulsões

Nanoemulsões são constituídas por glóbulos entre 20 a 500 nm, ou seja, com distribuição granulométrica entre microemulsões e macroemulsões ou emulsões clássicas (FERNANDEZ et al., 2004).

Podem apresentar aparência translúcida quando o tamanho de glóbulo é inferior a 200 nm, ou leitosa quando o tamanho é de 200 a 500 nm (CAPEK, 2004).

Diferentemente das microemulsões, sistemas termodinamicamente estáveis, as nanoemulsões são cineticamente estáveis, isto é, estáveis por um longo período de tempo. Não requerem altas concentrações de tensoativos (de 3,0 a 10,0%) em comparação com as microemulsões, nas quais a concentração destes pode chegar a 20% (BOUCHEMAL et al., 2004).

A inerente estabilidade das nanoemulsões está relacionada ao emprego de tensoativos não-iônicos e/ou polímeros, que conferem estabilização estérica aos glóbulos, reduzindo a possibilidade de coalescência. São evitados processos de instabilidade por meio da superação da força da gravidade atuante nesses glóbulos, graças ao movimento browniano presente nesses sistemas (TADROS et al., 2004).

A granulometria do sistema também previne o fenômeno da coalescência, pois esses glóbulos não são facilmente deformáveis. A grande espessura do filme interfacial, relativo ao tamanho do glóbulo, impede que a diminuição natural desse filme seja suficiente para causar o rompimento do glóbulo (TADROS et al., 2004). A figura 7 abaixo indica a aparência, o nome e o aspecto de cada tipo de emulsão, dependendo do tamanho do glóbulo.

	Aparência	Denominação	Aspecto
2 - 20 μ m		Macroemulsão	Branca leitosa
0,1 - 0,3 μ m		Nanoemulsão	Branca azulada
< 0,1 μ m		Microemulsão	Translúcida
0,01 μ m		Soluções micelares	Transparentes
0,001 μ m		Soluções moleculares	Transparentes

Figura 7 – Escala de granulometria das emulsões (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 1999)

As nanoemulsões são sistemas metaestáveis, ou seja, são estáveis por um longo período de tempo. Sua estrutura micelar depende da metodologia de preparação e da estabilização estérica produzida pela presença dos tensoativos não-iônicos e/ou polímeros na sua preparação (TADROS et al., 2004; FERNANDEZ,

2004). De acordo com Tadros e colaboradores (2004), as nanoemulsões são sistemas adequados para o uso em produtos cosméticos devido a alguns fatores:

i. o tamanho reduzido das partículas reduz a ação da força gravitacional e, conseqüentemente, o movimento browniano. Ao se superar a influência da força gravitacional, não ocorre o processo de floculação e o sistema mantém-se disperso, não ocorrendo os processos de cremação ou sedimentação. O processo de coalescência é minimizado, porque a espessura da película evita a ruptura ou espessamento do filme;

ii. as nanoemulsões utilizam baixa concentração de tensoativos (de 5 a 10% m/m), comparadas com as microemulsões, que utilizam altas quantidades de tensoativos;

iii. a baixa tensão interfacial aumenta a molhabilidade, a espalhabilidade e a penetração cutânea.

As nanoemulsões não se formam espontaneamente, sendo necessário o fornecimento de energia ao sistema. De acordo com a literatura, elas podem ser preparadas por métodos de baixa ou alta energia de emulsificação (SOLÉ et al., 2010).

Os métodos denominados de baixa energia estão associados à mudança espontânea de curvatura das moléculas do tensoativo. Essa etapa a mais importante do processo de emulsificação, que pode ser obtido pela variação da temperatura com o método denominado temperatura de inversão de fase (Phase Inversion Temperature - PIT) (SHINODA & SAITO, 1969; FORGIARINI et al., 2001; MORALES et al., 2003) ou variando a fração em volume de água ou óleo com o método conhecido por ponto de inversão da emulsão (FERNANDEZ et al., 2004).

Outro método de preparação são os denominados métodos de alta energia, baseados na utilização de equipamentos de alta rotação, alta pressão ou ainda sistemas de ultrassom. A energia transferida durante o processo e a alta taxa de cisalhamento levam à estabilização, com o auxílio dos tensoativos, de gotículas manométricas.

O método da autoemulsificação é baseado na transferência de massa por difusão e na ocorrência de reações químicas entre podem causar a curvatura espontânea do filme de tensoativo entre o óleo e a água.

Outro método que é menos utilizado é o método da difusão de solvente onde ocorre a difusão rápida do solvente miscível com a água da fase orgânica para a água estabilizando as gotículas da fase orgânica (BOUCHEMAL et al., 2004).

Os métodos que utilizam alta energia de emulsificação são baseados na geração de energia mecânica por meio de alta tensão de cisalhamento, homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores ou pela utilização de ultrassom (FERNANDEZ et al., 2004). A alta energia mecânica imposta ao sistema gera forças capazes de deformar e quebrar as gotículas da fase interna em glóbulos menores pela superação da pressão de Laplace (FERNANDEZ et al., 2004). Estas técnicas permitem melhor controle da granulometria e ampla escolha dos constituintes da formulação (SONNEVILLE-AUBRUN et al., 2004).

Fatores como temperatura, viscosidade e concentração da fase interna influenciam as características físico-químicas do produto final. A otimização das condições operacionais deve ser realizada para cada sistema desenvolvido e tipo de equipamento utilizado (BENITA & LEVY, 1993). Contudo, esses equipamentos demandam alto investimento inicial, o que pode tornar a viabilidade comercial limitada.

Os métodos de emulsificação por baixa energia fazem uso de propriedades físico-químicas do sistema e utilizam a inversão espontânea na curvatura do tensoativo para a obtenção de glóbulos de tamanho reduzido (SAJJADI, 2006).

Existem dois métodos de inversão de baixa energia: transicional, conhecida também como método de inversão de fases pela temperatura (Phase Inversion Temperature = PIT), e emulsificação por inversão de fases pela alteração da fração volumétrica (Emulsion Phase Inversion = EPI) (FERNANDEZ et al., 2004).

Para os tensoativos não-iônicos polietoxilados, a inversão transicional pode ser atingida pela mudança na temperatura do sistema favorecendo uma transição da emulsão a/o em valores elevados de temperatura para uma emulsão o/a em baixas temperaturas (SHINODA & SAITO, 1968).

Durante o aquecimento, os grupos de óxido de etileno, responsáveis pela característica hidrofílica do tensoativo, se desidratam, modificando sua afinidade pelas fases aquosa e oleosa. Com o resfriamento, o tensoativo passa por um ponto de curvatura zero, o que acarreta uma tensão superficial mínima, predispondo a formação de nanoemulsões (FERNANDEZ et al., 2004). O ponto de inversão, no qual o tensoativo atinge a curvatura zero, está diretamente relacionado ao equilíbrio

da hidrofília e lipofília deste na interface. Para que esse processo ocorra, a concentração do tensoativo deve ser superior à concentração micelar crítica (CMC).

Pela técnica da temperatura de inversão de fases, são formadas emulsões com tamanho de partícula muito pequeno e que apresentam boa estabilidade (TADROS et al., 2004).

A transição espontânea da curvatura também pode ser obtida pelo método do EPI, alterando-se a fração volumétrica. Quando se deseja uma emulsão o/a, adiciona-se sucessivamente a fase aquosa na oleosa, sendo que os glóbulos de água são formados em uma fase oleosa contínua (microemulsão ou fase bicontínua a/o). Aumentando-se o volume da fração aquosa, há uma inversão espontânea na curvatura do tensoativo, ocorrendo a mudança da emulsão a/o para o/a (SALAGER et al., 2004).

Esse processo é descrito na literatura em sistemas no qual o tensoativo forma monocamadas flexíveis entre a interface água/óleo, formando uma microemulsão (fase bicontínua) ou fase cristalina no ponto da inversão (TADROS et al., 2004).

Não apenas a tensão interfacial mínima produzida durante a inversão da curvatura do tensoativo, mas também a formação da microemulsão ou da fase cristalina anterior ao lócus da inversão são estreitamente relacionadas à formação de nanoemulsões em ambos os métodos (TADROS et al., 2004).

Como descrito anteriormente, a preparação de emulsões com tamanho de gotículas na faixa manométrica pode ser feita mecanicamente utilizando sistemas que transferem alta energia às misturas de uma fase aquosa com a fase oleosa. Há inúmeros sistemas que desempenham satisfatoriamente esse papel, tais como os agitadores com alta velocidade de rotação, os homogeneizadores de alta pressão e os geradores de ultrassom. Os sistemas que transferem alta energia à mistura durante a formação das nanoemulsões contribuem com forças deformantes que quebram as gotículas em partículas de menor diâmetro desde que a pressão de Laplace seja superada. O aumento da concentração do tensoativo na interface é uma alternativa para reduzir a pressão de Laplace (ADAMSON, 1982). Entretanto, para obter menor tamanho de partículas, é necessário mais energia ou maior quantidade de tensoativo transformando o procedimento desfavorável para aplicações industriais, quando partículas com tamanho manométrico são necessárias.

Existe uma alternativa para a obtenção de emulsões com tamanho de partículas manométricas que utiliza as propriedades físico-químicas do sistema: é a chamada método de emulsificação à baixa energia. O método utiliza a variação espontânea da curvatura do tensoativo. Com tensoativos não-iônicos, essa condição é obtida variando-se a temperatura do sistema, forçando a transição de fase de uma emulsão óleo em água (o/a) a baixa temperatura para água em óleo (a/o) a altas temperaturas, o que é denominado como transição de inversão de fase. Durante o resfriamento, o sistema sob alta velocidade de rotação passa por um ponto crítico sem curvatura nas gotículas com tensão interfacial mínima, produzindo uma dispersão com gotículas de óleo de pequeno diâmetro. Esse método é denominado temperatura de inversão de fase (SAJJADI, 2006). Sabe-se também que, além de variar a temperatura outros parâmetros, tais como a concentração salina, o pH e a diferença da afinidade do tensoativo (SAD), a transição de fase também pode ocorrer variando continuamente a fração volumétrica da água, que promove a transformação de um sistema inicial dominado por gotículas de água em uma fase contínua de óleo para uma configuração invertida, isto é, um sistema o/a. O aumento da fração de água muda a curvatura espontânea do tensoativo de um sistema estabilizado do tipo a/o para uma emulsão do tipo o/a. Esse processo é conhecido como ponto de inversão da emulsão. O processo é facilitado quando tensoativos de cadeia curta (baixa massa molar) são utilizados, os quais formam monocamadas flexíveis na interface óleo/água, resultando em uma emulsão bicontínua no ponto de inversão. Durante a transição de fase, também chamada de inversão de fase catastrófica, a tensão interfacial atinge um valor mínimo, o que está associado à formação de gotículas menores. Na Figura 8 a seguir estão representadas as duas metodologias.

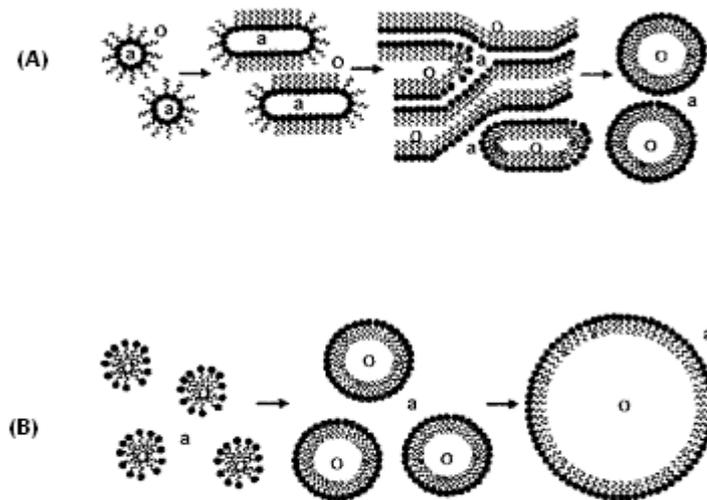


Figura 8- Desenho esquemático representando o processo de emulsificação, em que (a) representa a fase aquosa e (o) a fase oleosa. Método A: Inicialmente são produzidas gotículas do tipo água em óleo, que formam uma estrutura alongada e bicontínua ou lamelar e decompõem formando gotículas de óleo em água. Método B: Pequenas gotículas de óleo são formadas, que crescem devido à adição do tensoativo e óleo. O tamanho das gotículas é resultado do processo mecânico. (FERNANDEZ et al., 2004)

Na primeira metodologia, a água é adicionada ao óleo e o sistema inicia como uma emulsão do tipo a/o. Aumentando-se a fração em volume de água, as gotículas de água coalescem e uma estrutura bicontínua ou lamelar é formada (FORGIARINI et al., 2001), que, após o ponto de inversão da emulsão (PIE), decompõe em gotículas menores com o aumento do conteúdo de água. A diluição do sistema com água não varia o tamanho das gotas nesse estágio da formação da dispersão. A decomposição em pequenas gotículas é facilitada pelo mínimo da tensão interfacial no PIE. A alta concentração do tensoativo também favorece a completa solubilização do óleo próximo ao PIE (MORALES et al., 2003), produzindo uma distribuição monomodal com tamanho manométrico. Nessas condições, é conhecido que, com baixa ou média concentração do tensoativo, a solubilização do óleo não é completa, sendo produzidas gotículas maiores que as obtidas por emulsificação mecânica.

Com uma avaliação geométrica simples, considerando uma espessura da camada de tensoativo da ordem de 5 nm no entorno de uma gotícula de 300 nm, obtemos uma razão entre os volumes do tensoativo pelo óleo, que será

$$(4\pi R^2 L) / (4/3 \pi R^3) = 0,1$$

Isso implica que 10% da razão entre os volumes do tensoativo para o óleo são necessários para a estabilização das gotículas de óleo. A quantidade total teórica prevista de tensoativo necessária para a estabilização das gotículas deve ser de até 10%.

Se a fase oleosa for adicionada na fase aquosa (método B), não ocorre a transição de uma estrutura bicontínua ou lamelar, desde que a fração de volume crítico não seja atingida. Os dois processos estão descritos esquematicamente na Figura 8 acima.

O efeito dos parâmetros físico-químicos na estabilidade de uma emulsão pode também ser analisado considerando a afinidade do tensoativo com o meio, levando em conta o Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL), ou a diferença da afinidade do tensoativo (SAD) ou a razão de Winsor (SALAGER, 1996). Esses parâmetros estão associados à energia livre de transferência da molécula de tensoativo da fase oleosa para a fase aquosa. O parâmetro EHL pode ser calculado para sistemas de tensoativo não-iônico utilizando a equação abaixo, que compensa os efeitos das variáveis da formulação:

$$EHL = \alpha - EON + b S - K CAN + t \Delta T + a A \quad (1)$$

Onde α é o parâmetro característico do grupo lipofílico do tensoativo, EON o número médio de grupos de óxido de etileno por molécula de tensoativo, S a salinidade da fase aquosa em m:m% de NaCl (ou equivalente), ΔT a diferença de temperatura em relação à temperatura de referência, A a concentração (% v) de álcool, k e t constantes características do tipo de tensoativo, e a e b constantes características do álcool e eletrólito. O valor de EHL indica a afinidade relativa do tensoativo para a fase aquosa e oleosa.

O tamanho da gotícula na emulsão é o resultado de um equilíbrio dinâmico entre os efeitos que tendem a diminuir o tamanho da gota e os que promovem a coalescência entre as gotas.

1.2.5 Reologia em sistemas emulsionados

Reologia é o estudo das propriedades de fluxo e deformação da matéria (ANSEL et al, 1999). As análises reológicas fornecem informações quanto à estabilidade física de emulsões e podem expressar diretamente interações como floculação, cremeação, sedimentação, coalescência, inversão de fases e *Ostwald ripening*. É de grande importância para os formuladores de produtos cosméticos o desenvolvimento de metodologias que permitam a correlação entre o perfil reológico de uma determinada formulação com a avaliação sensorial dos consumidores e/ou pacientes.

Na reologia de fluxo, ou não-linear, as propriedades não-lineares são determinadas e dependem diretamente da tensão e da taxa de cisalhamento aplicado, avaliando variações na viscosidade do sistema. Essas propriedades podem ser determinadas a partir das seguintes equações 2 e 3:

$$F = \eta \cdot D \quad (2)$$

$$\eta = F/D \quad (3)$$

Onde: F é a tensão de cisalhamento (Pa), D a taxa de cisalhamento (1/s) e η a viscosidade (Pa/s).

A tensão de cisalhamento (F) é a força por unidade de área imposta a um líquido e a taxa de cisalhamento (D) é o gradiente de velocidade de fluxo produzido por F. Viscosidade é definida como a medida da fricção interna entre camadas adjacentes de fluido. Essa fricção está diretamente relacionada à resistência das camadas do fluido ao movimento imposto (HOLMBERG, 2010).

O reograma utilizado para se caracterizar o perfil reológico de uma amostra é representado pelo gráfico da tensão de cisalhamento versus a taxa de cisalhamento. O perfil reológico de uma amostra pode ser dividido em fluidos newtoniano e não-newtoniano.

Fluidos newtonianos exibem proporcionalidade direta entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento, de forma que, a uma determinada temperatura, a viscosidade é independente da taxa de cisalhamento. Assim, um único ponto do reograma é suficiente para se determinar a viscosidade do sistema. São exemplos os líquidos formados por moléculas de baixa massa molar e soluções poliméricas diluídas (TADROS, 1994).

Para fluidos não-newtonianos, tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento não são diretamente proporcionais. Assim, a viscosidade depende da taxa de cisalhamento aplicada, e diferentes valores de viscosidade podem ser obtidos para diferentes medidas de uma mesma amostra. Estes fluidos apresentam, então, viscosidade aparente ou não verdadeira. São exemplos desse perfil reológico cremes e loções cosméticas e/ou farmacêuticas em sua grande maioria (TADROS, 2004).

Nos últimos cinco anos, houve uma crescente motivação para a caracterização reológica de emulsões, principalmente pela importância das emulsões em diversos segmentos industriais. O avanço em modelos para caracterizar as emulsões está revisado (DERKACH, 2009). No artigo, o autor descreve a evolução dos modelos desde a equação de Einstein proposta em 1906, que estabelece a dependência da viscosidade com a concentração em dispersões diluídas (representada na equação 4), até modelos mais avançados, que consideram as múltiplas interações entre os componentes da emulsão.

$$\eta(\varphi) = \eta_0 (1 + 2,5 \varphi) \quad (4)$$

Onde a função φ contém as interações entre os componentes de uma esfera e o meio. No modelo de Einstein, a viscosidade é diretamente proporcional ao raio solvodinâmico da espécie que se move no fluido.

Medidas de viscosidade analisadas com um modelo de esferas rígidas, que simulam as partículas, foram utilizadas para o controle da estabilidade de nanoemulsões (HOWE & PITT, 2008). Os resultados permitiram avaliar o efeito de diferentes tensoativos e da presença de íons na agregação micelar.

1.2.6 Estabilidade físico-química das nanoemulsões

Para a formação de emulsões com gotículas de tamanho nanométricos (menor que 300 nm), necessita-se de alta quantidade de energia envolvida na formação de interfaces acentuadamente curvas devido à pressão de Laplace (FERNANDEZ et al., 2004). Em contraste com as nanoemulsões, as microemulsões apresentam um complexo sistema de equilíbrio, diferente do outro sistema coloidal. A confusão entre os sistemas é atribuída à faixa de tamanho das microemulsões, que é de 1 a 100 nm, coincidindo com as nanoemulsões. Os dois sistemas são muito diferentes já que as nanoemulsões são formadas por estresse mecânico e as microemulsões por auto-emulsificação. As microemulsões são termodinamicamente estáveis devido ao fato de a entropia de formação envolvida na formação das gotículas superar a energia livre interfacial positiva e as nanoemulsões serem apenas cineticamente estáveis (CAPEK, 2004).

Os mecanismos de estabilidade da emulsão podem ser descritos como: (a) eletrostático; (b) estérico; e (c) *eletroestérico* (HOLMBERG, 2010).

A estabilidade da emulsão é controlada pelas propriedades do filme interfacial formado entre a fase aquosa e oleosa e pelas características físico-químicas da camada de adsorção formada na superfície dos glóbulos dispersos. Essas propriedades incluem, além da diminuição do valor da tensão interfacial, as características da solução contínua próxima a interface, dependentes da composição e da concentração do agente tensoativo e/ou polímeros utilizados (HOLMBERG, 2010).

Esse filme pode induzir forças estéricas e eletrostáticas repulsivas entre glóbulos próximos. A adição de tensoativos permite a formação de uma monocamada adsorvida à interface, e uma dupla camada iônica pode ser formada ao redor dos glóbulos (CAPEK, 2004).

Essa dupla camada é formada por uma região interna denominada camada de Stern, onde os íons estão fortemente ligados – íons de carga oposta, ou “contra-íons” –, e por uma região denominada camada difusa, onde os íons estão fracamente ligados – íons de mesma carga, ou “co-íons”. O modelo da dupla camada permite visualizar a atmosfera/densidade iônica nas proximidades de um glóbulo carregado e explica como atuam as forças de repulsão eletrostática. Um glóbulo carregado negativamente, por exemplo, e sua atmosfera carregada

positivamente produzem um potencial elétrico relativo à solução. Este possui um valor máximo na superfície do glóbulo e diminui gradualmente com a diminuição da densidade iônica, aproximando-se de zero fora da camada difusa.

A teoria DLVO, assim denominada em homenagem aos seus autores Derjaguin, Landau, Verveij e Overbeek, descreve a estabilidade de sistemas dispersos por meio de dois potenciais independentes: o potencial da dupla camada elétrica, positivo (repulsivo), e o potencial de van der Waals, negativo (atrativo). Estes atuam quando dois glóbulos e/ou partículas dispersos em solução se aproximam.

O potencial de superfície não pode ser determinado diretamente e, assim, usualmente para o cálculo da interação eletrostática, este é substituído pelo potencial eletrocinético ou zeta. O potencial zeta é uma maneira efetiva de controlar o comportamento dos glóbulos, pois indica a relação entre o potencial de superfície e as forças de repulsão entre os glóbulos (ROLAND et al., 2003).

O potencial zeta é definido como a diferença de potencial entre a superfície de íons fortemente ligados à superfície da partícula e uma região neutra (não-carregada) da solução, onde há uma diferença relevante de viscoelasticidade quando comparada à solução adjacente aos glóbulos. Quando o potencial zeta é de 30 mV (em módulo) ou maior, a força repulsiva da dupla camada é maior do que a força atrativa de van der Waals, evitando, assim, uma possível floculação. Um valor elevado e negativo do potencial zeta é importante para a estabilidade físico-química da emulsão, pois as forças repulsivas entre as gotículas evitam a floculação (BENITA & LEVY, 1993).

O método mais utilizado para medir o potencial zeta é a utilização da mobilidade eletroforética das partículas em uma dispersão em um campo elétrico carregado (ROLAND et al., 2003).

Pode-se alterar a carga superficial do glóbulo, aumentando ou diminuindo a barreira energética. Essa barreira é formada pela dupla camada elétrica e por mecanismos de repulsão estérica. Alterações na atmosfera iônica, como a provocada pela adição de eletrólitos, tensoativos iônicos e alterações no valor do pH da solução, podem afetar diretamente a carga do glóbulo. Em cada caso, a determinação do potencial zeta indicará o efeito da alteração, principalmente em relação à sua estabilidade. O valor do potencial zeta por si só é um dado limitado. Entretanto, alterações nesse valor com relação a mudanças na constituição e

características da suspensão/emulsão são informações significativas sobre as condições da interface e, portanto, sobre a fase dispersa da emulsão.

Algumas variáveis do processo, como a velocidade de agitação das fases, a ordem de adição das fases e a temperatura, influenciam marcadamente as características físico-químicas finais da emulsão.

Assim, diferentes tamanhos de glóbulos podem ser obtidos dependendo do método de emulsificação escolhido, o que explica a influência do método de obtenção na estabilidade do sistema obtido.

A distribuição granulométrica de um sistema em dispersão depende da velocidade de agitação entre as fases dispersa e dispersante durante o processo de emulsificação e da velocidade de adição de uma das fases sobre a outra.

O tamanho dos glóbulos de uma emulsão determina a probabilidade da ocorrência de fenômenos como floculação e coalescência. Geralmente, quanto menor o tamanho dos glóbulos dispersos, maior a estabilidade do sistema. Várias metodologias têm sido empregadas com o propósito de avaliar o diâmetro de gotícula de emulsões, sendo que o valor esperado é o principal critério para a seleção do método a ser utilizado (ANSEL et al., 1999).

O valor do pH é um importante parâmetro de monitoramento da estabilidade das emulsões, pois alterações no seu valor indicam a ocorrência de reações químicas que podem comprometer a qualidade do produto final. No caso de emulsões formuladas com óleos vegetais, uma diminuição no valor do pH pode ser decorrente da hidrólise dos ésteres de ácidos graxos, que geram ácidos graxos livres. Os ácidos graxos livres reduzem o valor de pH das formulações, sendo utilizados como indicadores de estabilidade das nanoemulsões nas diferentes condições de armazenamento. Além disso, o valor de pH final das nanoemulsões pode exercer influência na extensão de ionização dos componentes da interface (MARTINI, 2005).

Se a composição das emulsões estiver adequada em relação à quantidade de tensoativos, e o valor do EHL estiver próximo ao EHL do óleo ou de misturas de óleos, os maiores problemas de instabilidade podem aparecer por coalescência ou *Ostwald ripening*. Nesse sentido, a análise dos dados do tamanho de partículas com o tempo pode indicar se os mecanismos principais para o aumento do tamanho de gotículas se devem a coalescência ou a *Ostwald ripening* (CAPEK, 2004; TAYLOR,

1995; TAYLOR, 1998; TADROS et al., 2004). Se a coalescência for a força motriz para a instabilidade, a variação do tamanho deverá obedecer a uma relação do tipo:

$$1/r^2 = 1/r_0^2 - (8\pi/3) f t \quad (5)$$

Onde r é o raio médio das gotículas após um tempo t , r_0 o raio em $t=0$ e f a frequência de ruptura por unidade de superfície do filme que envolve a gotícula.

O modelo de Lifshitz-Slezov e Wagner (LSW), adaptado por Taylor para emulsões (TAYLOR, 1998), fornece uma equação para a taxa do *Ostwald ripening* (w) e, quando essa condição ocorre, a dependência do raio da gotícula com o tempo obedece à relação:

$$w = dr^3/dt = (8 c(\infty) \gamma V_m D) / (\rho RT) \quad (6)$$

Onde r é o raio da gotícula em um dado instante, $c(\infty)$ a solubilidade das gotículas na fase volumétrica, γ a tensão interfacial, V_m o volume molar, D o coeficiente de difusão na fase contínua, ρ a densidade da fase contínua (água), R a constante universal dos gases e T a temperatura.

Com a metodologia apresentada, é possível avaliar a estabilidade temporal de emulsões pela evolução do tamanho de gotículas.

1.2.7 Óleos vegetais

1.2.7.1 Óleo de amêndoas doce

O óleo de amêndoas é um dos ingredientes mais utilizados em cosméticos, sendo o óleo originalmente utilizado na preparação do verdadeiro cold-cream e em algumas preparações cosmetológicas (BARATA, 2003). Ele é identificado pelo INCI NAME *sweet almond oil*.

O óleo de amêndoas é obtido por extração, por solvente ou prensagem a frio das sementes (amêndoas) do *Prunus amygdalus* (variedades amarga e doce). Deve ser límpido, amarelo claro, inodoro, de sabor suave e agradável. Pode turvar abaixo de 10°C. O óleo de amêndoas doce é solúvel em éster isopropílico e óleo mineral,

levemente solúvel em álcool e insolúvel em água. Trata-se do óleo vegetal mais suave. A composição do óleo é variável e depende da genética da planta e da região de origem.

O óleo apresenta uma fração variável de 16 a 34% em proteína e 25 a 60% em óleo. Os componentes principais dessas frações são o ácido oléico, componente majoritário (50 a 81%), ácido linoleico (6,2 a 37%), ácido palmítico (5 a 15,7%), ácido esteárico (0,8 a 3%) e ácido palmitoleico (0,2 a 2,5%) (ASKIN et al., 2007). Ainda há compostos fenólicos, com conteúdo de cerca de 50 mg/g, de alto poder antioxidante e composição entre 30 a 80% (SFAHLAN et al., 2009).

O óleo de amêndoas tem um conteúdo apreciável de cerca de 1% de três terpenoides, a saber, os ácidos betulínico, oleanolino e ursolino, além de ácido clorogênio, β -sisterol e estimaesterol, que são antioxidantes fenólicos (TAKEOKA & DAO, 2003).

O EHL do óleo de amêndoas doce foi determinado pela análise das fotografias de emulsões estáveis, preparadas com misturas de monoestearato de sorbitano (Span 60) e monoleato de polioxietilenosorbitano (Tween 80), em que o valor de EHL obtido foi da ordem de 6,76 (ZANIN et al., 2002).

1.2.7.2 Óleo de castanha do Brasil

O óleo de castanha do Brasil é identificado pelo INCI NAME *Bertholletia Excelsa Seed Oil* e tem o CAS nº 160965-04-8. A planta é nativa da região norte da América do Sul, implicando que as amostras de óleo têm uma composição média semelhante. O óleo é obtido da prensagem a frio das sementes da *Berthollia excelsa* da família das Legithidaces, e o óleo resultante tem um teor de 64% de ácidos graxos insaturados, a excelsina (proteína), selênio (antioxidante) e vitaminas A, B, C e E. O óleo é amarelado, com sabor e cheiro adocicados. Nos últimos anos, devido ao crescente interesse nesse óleo, vários trabalhos descreveram sua composição, correlacionando-a com as características de solo e genéticas da planta. A pele marrom que recobre a semente é rica em compostos fenólicos antioxidantes, apresentando uma concentração três vezes maior que a encontrada na semente. Uma quantidade extensa de proteínas contendo selênio ligado à sua estrutura foram descritas em um artigo recente (JAYASINGHE & CARUSO, 2011), em que foram

utilizadas várias técnicas de alta resolução. A distribuição de proteínas contendo Se em extratos aquosos é alta e o conteúdo total de Se ainda não está quantificado.

Como foi assinalado, as nanoemulsões apresentam características únicas que permitem o desenvolvimento de produtos cosméticos quase ideais. No aspecto físico-químico, são muito estáveis, pois, devido ao tamanho de suas gotículas, apresentam-se cineticamente menos vulneráveis à separação da dispersão.

As nanoemulsões são sistemas que, em relação à distribuição de tamanho de partículas, são translúcidas e, quando aplicadas à pele utilizando embalagens do tipo spray, apresentam alta espalhabilidade. Além disso, devido à evaporação rápida de voláteis, proporcionam uma sensação de frescor, constituindo um produto com grande viabilidade de mercado.

Por outro lado, o estudo de sua estabilidade e o planejamento dos sistemas nanoemulsionados constituem um problema interessante na físico-química, tanto no aspecto acadêmico como tecnológico, com amplas possibilidades de aplicações em diferentes áreas. Esses sistemas podem ser aplicados nas áreas farmacêutica, alimentícia, cosmética e petroleira. Este estudo se justifica pela necessidade de criar novas metodologias para avaliar a estabilidade das emulsões e caracterizar as propriedades físico-químicas das emulsões.

CAPÍTULO II – OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Nesta dissertação de mestrado propomos desenvolver nanoemulsões com os óleos de amêndoas e de castanha do Brasil, correlacionando as propriedades físico-químicas desses sistemas nanoestruturados com a distribuição de tamanho de gotículas e sua estabilidade.

O objetivo geral da pesquisa foi investigar o processo de formação de emulsões do tipo óleo/água (o/a) pelo processo de inversão de fases utilizando o óleo da castanha do Brasil (*Bertholletia Excelsa* H.B.K.) e o óleo de amêndoas doce (*Prunus amygdalus*). A caracterização do sistema, composto pelo óleo, água e dois tensoativos, envolveu a determinação de suas características físico-químicas. Verificou-se a estabilidade das emulsões em relação ao tempo, fazendo medidas periódicas de: tamanho de partícula, índice de polidispersividade da distribuição de tamanho de partículas, potencial zeta, viscosidade e pH.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Desenvolvimento de nanoemulsões de óleo amendoas e de óleo de castanha do Brasil.

Estudo do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) necessário para estabilizar as emulsões com os óleos investigados

Estudos da estabilidade das nanoemulsões.

CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS UTILIZADOS PARA O PREPARO DAS EMULSÕES

3.1.1 Fase oleosa

O óleo da castanha do Brasil (*Bertholletia Excelsa H.B.K.*) e o óleo de amêndoas doce (*Prunus amygdalus*) foram utilizados com recebidos, tendo sido o óleo de mên-doas adquirido da Ferquima Indústria e Comércio Ltda. e o óleo de castanha da distribuidora Mapric.

3.1.2 Fase aquosa

O componente principal da emulsão, a água, que constitui a fase contínua, foi purificado por um sistema que inicia com sua passagem por um filtro de 5 µm, o qual retira as partículas de até 5 µm. A água microfiltrada passa por uma coluna contendo um bloco de carvão ativo, que garante a remoção do cloro e impurezas orgânicas. A seguir, o fluxo de água passa por uma coluna de troca iônica mista (catiônica e aniônica), que remove os eletrólitos. A água tratada conforme o processo descrito é injetada no sistema de osmose reversa da Springway modelo ROL 1 400P- SUP K e, finalmente, o fluxo de água passa por um tubo de aço inox 304, irradiado com uma dose de 30 mJ/cm² de radiação ultravioleta, com o objetivo de esterilizá-lo. A última etapa no processo é a passagem do fluxo de água por um filtro de 0,2 µm. A água apresenta uma condutividade de 0,9 µS/cm a 25°C. Em testes microbiológicos, a água mostrou-se estéril.

3.1.3 Tensoativos

Como tensoativo foi utilizado o monooleato de sorbitano (C₂₄H₄₄O₆), com massa molar de 428,61 g/mol, com valor de EHL de 4,3. É conhecido como Span 80[®] e foi adquirido da Oxiteno. Sua estrutura molecular está representada na Figura 9. O Span 80 foi adquirido da LabSynth e utilizado como recebido.

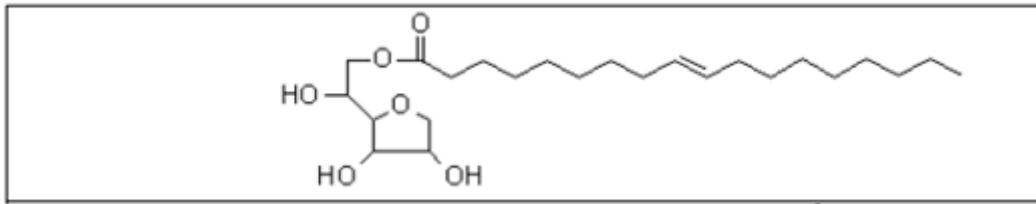


Figura 9 – Estrutura molecular do monooleato de sorbitano (Span80[®])

O outro tensoativo utilizado foi o polissorbato 80 (C₆₄H₁₂₄O₂₆), com massa molar de 1.310 g/mol, com o valor de EHL de 15,0. É conhecido como Tween80[®] (Figura 10). O Tween 80 foi adquirido da Oxiteno e utilizado sem qualquer purificação.

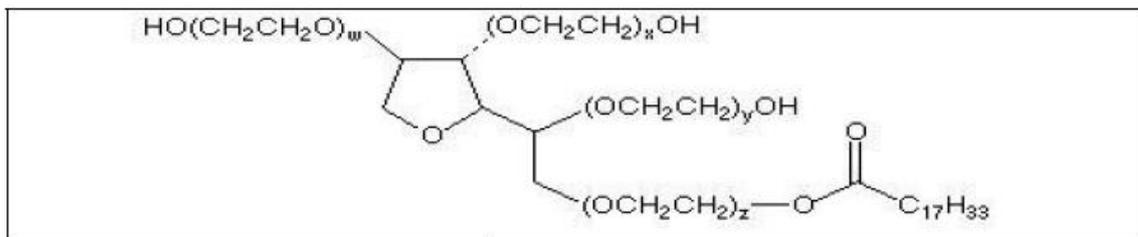


Figura 10 – Estrutura molecular do Tween80[®]

3.1.4 Aditivos utilizados nas emulsões

Com o objetivo de conservar as emulsões por um grande período necessário para a realização dos testes sem submetê-las a refrigeração, incluímos nas formulações dois conservantes. O primeiro é o metilparabeno, éster metílico do ácido 4-hidroxibenzóico, conhecido pelo nome comercial de Nipagin, com massa molar de 152,15 g/mol (Figura 11).

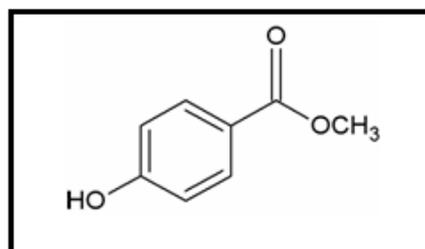


Figura 11 – Estrutura molecular do metilparabeno

O outro conservante, complementar ao primeiro, é o propilparabeno, éster propílico do ácido 4-hidroxibenzóico, conhecido pelo nome comercial de Nipazol, com massa molar de 180,2 g/mol (Figura 12).

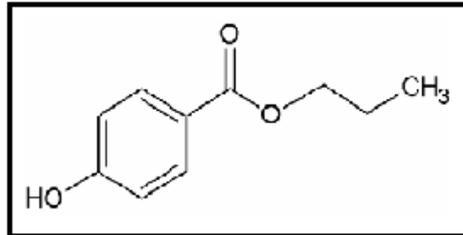


Figura 12 – Estrutura molecular do propilparabeno

Os dois conservantes são eficazes quanto à ação microbiana para efetivo contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos e leveduras, e são utilizados em baixas concentrações da ordem de 0,1%. Os conservantes foram adquiridos da PharmaSpecial.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Preparo das emulsões do tipo óleo em água (o/a)

As emulsões foram obtidas pelo método de emulsificação por inversão de fases (EIF). Foi empregada uma mistura de tensoativos (Span 80 e Tween 80 em diversas proporções). A quantidade total de tensoativos foi mantida em 5,0% m/m. A mistura de tensoativos foi solubilizada na fase oleosa e os ativos, metilparabeno e propilparabeno, foram solubilizados na solução aquosa. As fases aquosa e oleosa foram aquecidas separadamente à temperatura de $75 \pm 1^\circ\text{C}$, em um banho termostatizado Nova Ética. Em seguida, a fase aquosa foi vertida lentamente sobre a oleosa sob agitação variável de 2.000 a 10.000 rpm com o auxílio de um homogenizador Ultra Turrax T50 da IKA até que a emulsão resfriasse até a temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), conforme metodologia descrita por Fernandez et al. (2004). Durante o resfriamento, foi mantida por 5 minutos a agitação de 10.000 rpm.

As emulsões foram obtidas em triplicata, sendo produzidos 150 mL de cada solução, variando a concentração de óleo entre 1,5 e 30%. As emulsões foram preparadas mantendo a quantidade de tensoativos constante em 5,0%, variando,

porém, sua composição de forma a variar os valores de EHL de 5,5 até o valor 10,72.

A porcentagem total da mistura de tensoativos foi mantida em 5,0%, sendo a do óleo da castanha do Brasil de 1,5; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0; e 20,0% e do óleo de amêndoas doce de 1,5; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; e 30,0%.

Para o cálculo das quantidades de tensoativo hidrofílico, que em nosso caso é o polissorbato 80, e do tensoativo lipofílico, que é o monooleato de sorbitano, necessários para a obtenção de cada valor de equilíbrio hidrófilo lipófilo (EHL), foi utilizada a seguinte relação:

$$EHL_{final} = (EHL A \times 0,01 \times A + EHL B \times 0,01 \times B)$$

Onde EHL_{final} é o valor de EHL resultante das misturas de tensoativos, A é a porcentagem do tensoativo hidrofílico e B a porcentagem do tensoativo lipofílico. $A+B=100$.

O valor de EHL A corresponde ao valor de EHL do polissorbato 80 (15,0) e EHL B corresponde ao EHL do monooleato de sorbitano (4,3).

As emulsões preparadas neste trabalho são mostradas nas Tabelas 1 e 2 para os óleos de amêndoas e de castanha respectivamente.

Uma emulsão típica que foi utilizada para determinar o EHL necessário para cada óleo tem a seguinte composição (%m/m):

Óleo	x%
Monooleato de sorbitano 80	A%
Polissorbato 80	B%
Água	y%
Onde $A+B= 5\%$	

Na Tabela 1 estão descritas as composições das emulsões preparadas com óleo de amêndoas.

Tabela 1 – Composição das emulsões do tipo o/a preparadas com o óleo de amêndoas doce

Emulsões AMOSTRAS	óleo % m/m	Span80 % m/m	Tween 80 % m/m	EHL	água % m/m
1	1,5	4,0	1,0	6,44	93,5
2	1,5	3,5	1,5	7,51	93,5
3	1,5	3,0	2,0	8,58	93,5
4	1,5	2,5	2,5	9,65	93,5
5	1,5	2,0	3,0	10,72	93,5
6	3	4,0	1,0	6,44	92,0
7	3	3,5	1,5	7,51	92,0
8	3	3,0	2,0	8,58	92,0
9	3	2,5	2,5	9,65	92,0
10	3	2,0	3,0	10,72	92,0
11	5	4,0	1,0	6,44	90,0
12	5	3,5	1,5	7,51	90,0
13	5	3,0	2,0	8,58	90,0
14	5	2,5	2,5	9,65	90,0
15	5	2,0	3,0	10,72	90,0
16	10	4,0	1,0	6,44	85,0
17	10	3,5	1,5	7,51	85,0
18	10	3,0	2,0	8,58	85,0
19	10	2,5	2,5	9,65	85,0
20	10	2,0	3,0	10,72	85,0
21	15	4,0	1,0	6,44	80,0
22	15	3,5	1,5	7,51	80,0
23	15	3,0	2,0	8,58	80,0
24	15	2,5	2,5	9,65	80,0
25	15	2,0	3,0	10,72	80,0
26	20	4,0	1,0	6,44	75,0
27	20	3,5	1,5	7,51	75,0
28	20	3,0	2,0	8,58	75,0
29	20	2,5	2,5	9,65	75,0
30	20	2,0	3,0	10,72	75,0
31	25	4,0	1,0	6,44	70,0
32	25	3,5	1,5	7,51	70,0
33	25	3,0	2,0	8,58	70,0
34	25	2,5	2,5	9,65	70,0

Emulsões AMOSTRAS	óleo % m/m	Span80 % m/m	Tween 80 % m/m	HLB	água % m/m
35	25	2,0	3,0	10,72	70,0
36	30	4,0	1,0	6,44	65,0
37	30	3,5	1,5	7,51	65,0
38	30	3,0	2,0	8,58	65,0
39	30	2,5	2,5	9,65	65,0
40	30	2,0	3,0	10,72	65,0

Continuação da Tabela 1.

Para as medidas de viscosidade, tamanho de partículas e potencial zeta, foram incluídas soluções com a mistura de tensoativos com EHL igual a 6,2 e 5,0. Essas condições foram utilizadas para as emulsões com 1,5, 3 e 5% m/m de óleo de amêndoas.

O diagrama de fases ternário para as emulsões contendo óleo de amêndoas é mostrado abaixo na Figura 13. A região do diagrama de fases onde se localizam os pontos com as composições corresponde à região do sistema de estabilidade de emulsões. Essa condição ocorre devido à maior quantidade de água e menor concentração de óleo e tensoativo.

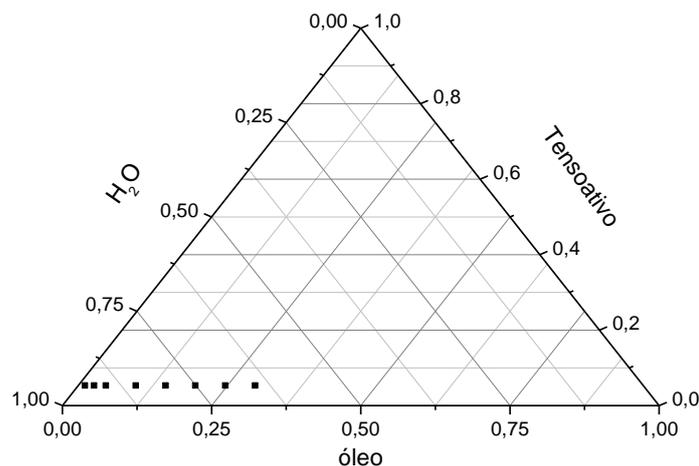


Figura 13 – Diagrama de fases representando os pontos relativos a cada composição das emulsões de óleo de amêndoas em água

Com o óleo de castanhas foram preparadas emulsões com 3%, 5%, 10%, 15% e 20% m/m de óleo, mantendo a composição de tensoativos constante em 5%

m/m. Na Tabela 2 estão descritas as composições de cada emulsão, e o diagrama de fases ternário para essas emulsões é mostrado na Figura 14.

Tabela 2 – Composição das emulsões do tipo o/a preparadas com o óleo de castanha do Brasil

Emulsões AMOSTRAS	Óleo % m/m	Span80 % m/m	Tween80 % m/m	HLB	Água % m/m
1C	3,0	4,0	1,0	6,44	92,0
2C	3,0	3,5	1,5	7,51	92,0
3C	3,0	3,0	2,0	8,58	92,0
4C	3,0	2,5	2,5	9,65	92,0
5C	3,0	2,0	3,0	10,72	92,0

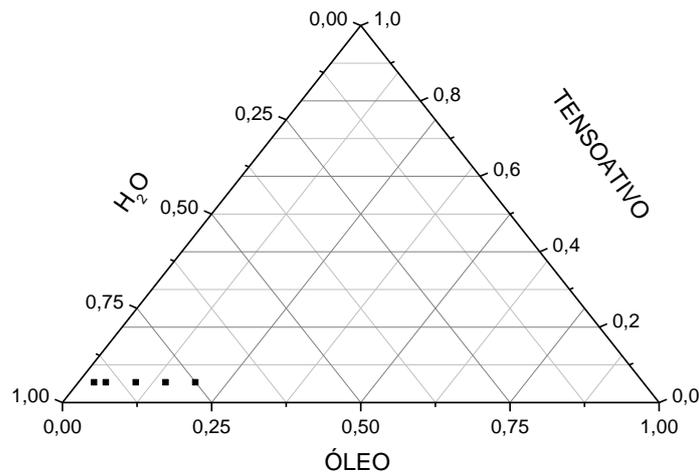


Figura 14 – Diagrama de fases representando os pontos relativos a cada composição das emulsões de óleo de castanha em água

3.2.2. Caracterização físico-química das emulsões

3.2.2.1 Determinação do pH das emulsões

Para as medidas de pH foi utilizado um pHmetro digital de bancada Hanna modelo HI 223, equipado com um eletrodo de vidro combinado. O sistema era

previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. As amostras foram analisadas à temperatura de $25,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$, com imersão direta do eletrodo na amostra que foi diluída em água na proporção de 1:10 (emulsão:água).

3.2.2.2 Determinação do potencial zeta e de tamanho de partículas

Os valores de potencial zeta foram obtidos a partir da derivação da mobilidade eletroforética determinada utilizando o *Zeta Potential Analyzer* da *Brookhaven Instruments Corporation*. Esse sistema analisa a mobilidade das partículas e coloides (0,02 a 3,0 μm de diâmetro) em dispersões líquidas, utilizando medições independentes e simultâneas com laser Doppler com ângulo de incidência de 90° . A distribuição de tamanho das partículas é baseada em espectroscopia de correlação de fótons. Esta caracteriza o tamanho das partículas (granulometria) iluminando-as com laser. As amostras das emulsões foram inicialmente diluídas em água destilada na proporção de 1:500 para as medidas de tamanho e diluídas em solução aquosa $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl para as medidas de potencial zeta. Também foi obtido o índice de polidispersividade (IPD), que indica se a dispersão é estreita ou se o sistema é polidisperso. As medidas de tamanho de partículas e de potencial zeta são a média de 5 ciclos de medidas com 15 amostragens em cada ciclo.

3.2.2.3 Determinação da densidade

A densidade foi determinada utilizando-se um picnômetro limpo e seco, cuja massa foi determinada previamente. A massa do volume de água purificada, com a temperatura ajustada para 25°C , utilizada no preenchimento total do picnômetro também foi determinada. Essa operação permitiu calibrar com exatidão o volume do picnômetro.

Para as medidas de densidades das emulsões, o picnômetro foi preenchido com a emulsão a ser caracterizada, sendo a temperatura ajustada para 25°C e o excesso de solução, eliminado. Foi medida a massa do picnômetro a partir da massa da emulsão, subtraindo-se da massa total o valor da tara do picnômetro. A densidade da emulsão foi obtida pelo cálculo da razão entre a massa e o volume do picnômetro.

3.2.2.4 Determinação do índice de refração das emulsões

As emulsões tiveram seus índices de refração determinados em um refratômetro, sendo utilizadas aproximadamente de três a quatro gotas de cada amostra. O índice de refração é uma característica ótica de uma dispersão com composição específica, e as medidas foram realizadas no Refratômetro Metter-Toledo RE 50. Esse sistema pode medir o índice de refração a diferentes temperaturas, com sensibilidade de $\pm 0,5$ °C. O equipamento foi calibrado com água ($n = 1,330$ a 25°C) para verificar o grau de confiabilidade das medidas e sua precisão.

3.2.2.5 Determinação da viscosidade das emulsões

Para a medida das viscosidades utilizou-se um micro-viscosímetro AMVn da Anton Paar. Foram realizadas medidas nas temperaturas de 25°C, 30°C, 40°C e 50°C, respectivamente. O viscosímetro mede a viscosidade pelo tempo de deslocamento de uma microesfera em um tubo capilar contendo a emulsão, utilizando uma relação do tipo:

$$\eta = K d t$$

Onde η é a viscosidade em cP, K a constante do viscosímetro, d a densidade da emulsão e t o tempo de escoamento em s. Os valores apresentados são a média de três medidas independentes.

3.2.3 Testes de estabilidade

3.2.3.1 Teste de prateleira

No teste de prateleira, ou *Shelf Life*, as amostras são armazenadas à temperatura ambiente, simulando as condições normais de envelhecimento, com realização de ensaios periódicos, medindo o pH e determinando a distribuição de tamanho das gotículas, além da avaliação visual das amostras.

Depois de embaladas e codificadas, as amostras foram armazenadas à temperatura ambiente e analisadas após 15, 30, 45 e 60 dias. A primeira medida

após o preparo das emulsões foi considerada como tempo 0 (zero), sendo a referência para as análises.

3.2.3.2 Teste de Estabilidade Acelerada

No Teste de Estabilidade Acelerada, as amostras são armazenadas sob condições de temperatura diferentes das condições normais de envelhecimento, a $40,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, com realização de ensaios periódicos para avaliação dos parâmetros de estabilidade. O objetivo do teste foi o de acelerar o aparecimento de sinais de instabilidade no produto, bem como produzir uma estimativa para a estabilidade da emulsão. As amostras foram introduzidas em uma estufa com circulação de ar da Nova Ética modelo 420 D. As amostras foram ensaiadas durante 15, 30, 45 e 60 dias. O tempo $t = 0$ foi considerado como referência para as análises aceleradas.

3.2.3.3 Testes de centrifugação

A avaliação da estabilidade das amostras foi realizada com o auxílio de uma centrífuga refrigerada da Nova Técnica modelo 815. As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm, equivalente a 863 g durante 30 min a 25°C . Após a centrifugação, as amostras foram deixadas em repouso durante 30 min e foi feita a avaliação.

3.2.3.4 Observação microscópica

Com o objetivo de avaliar a homogeneidade das emulsões, estas foram observadas em um microscópio ótico invertido Opton modelo TNM-07T-PL, coletando as imagens com aumento de 200x e 1000x. A emulsão foi gotejada em uma lâmina de vidro e as imagens observadas foram capturadas em uma câmera digital.

3.2.3.5 Índice de *Ostwald Ripening*

A velocidade de *Ostwald ripening* das emulsões estabilizadas pelos tensoativos aniônicos foi investigada utilizando o modelo de Lifshitz-Slesov-Wagner

(LSW), em que o índice é obtido a partir de uma relação linear entre o cubo do raio e o tempo. A relação é representada pela equação proposta por Taylor e Capek (TAYLOR, 1998; CAPEK 2004):

$$w = dr^3 / dt$$

Onde w é a velocidade de *Ostwald ripening*, r o raio da gotícula e t o tempo. O índice w foi obtido a partir da derivada dos gráficos do raio médio ao cubo em função do tempo.

CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE AMÊNDOAS EM ÁGUA

Foram preparadas as emulsões de óleo de amêndoas descritas na Tabela 1 (página 43), sendo avaliada a estabilidade visual das emulsões após a preparação. Os frascos contendo as emulsões foram mantidos a 25°C durante 48 h enquanto eram feitas as medidas físico-químicas com o objetivo de caracterizar as emulsões.

Não foi observada a separação de fase nas emulsões com até 10% m/m de óleo de amêndoas, quando introduzidas na centrífuga a 3500 rpm por 30 min a 25°C e, posteriormente, em repouso por 30 min. Para as emulsões com 20 e 30% m/m de óleo de amêndoas, foi observado um anel de óleo, indicando que para essas composições o sistema é instável. Nas emulsões em equilíbrio, não foi observada a separação de fases em nenhuma emulsão armazenada por mais de seis meses.

Um teste inicial de homogeneidade foi o visual e, como não havia separação de fases em nenhuma das emulsões preparadas, uma alternativa foi o uso de um microscópio ótico. Para as emulsões de óleo de amêndoas, recém-preparadas com teor de óleo entre 1,5% e 30% m/m, em nenhuma das composições de tensoativos foi possível observar gotículas de óleo com tamanho maior ou igual a 0,9 μm , valor correspondente à sensibilidade do microscópio ótico que foi utilizado.

A análise microscópica demonstrou que as emulsões eram estáveis e homogêneas, não sendo possível observar as gotículas, pois estas provavelmente apresentavam diâmetros menores que 1000 nm. As gotículas com diâmetros maiores que 2 μm foram observadas no caso da emulsão com óleo de amêndoas preparada com a mistura de tensoativos, com EHL igual a 10,72, após seis meses de preparação. A Figura 15 mostra uma microfotografia de uma emulsão em que a quantidade de gotículas com diâmetro maior que 2 μm é muito pequena.

Não foi possível visualizar as gotículas para as emulsões, com o mesmo tempo após a preparação, que apresentam uma mistura de tensoativos com EHL entre 6,44 e 9,65, o que indica que não há gotículas nesses sistemas com tamanho

médio maior que 1 μm . O caso mostrado na Figura 15 representa o sistema com EHL acima do previsto para a emulsão com óleo de amêndoas, que, após um ano de preparação, já apresentava uma distribuição bimodal de gotículas.

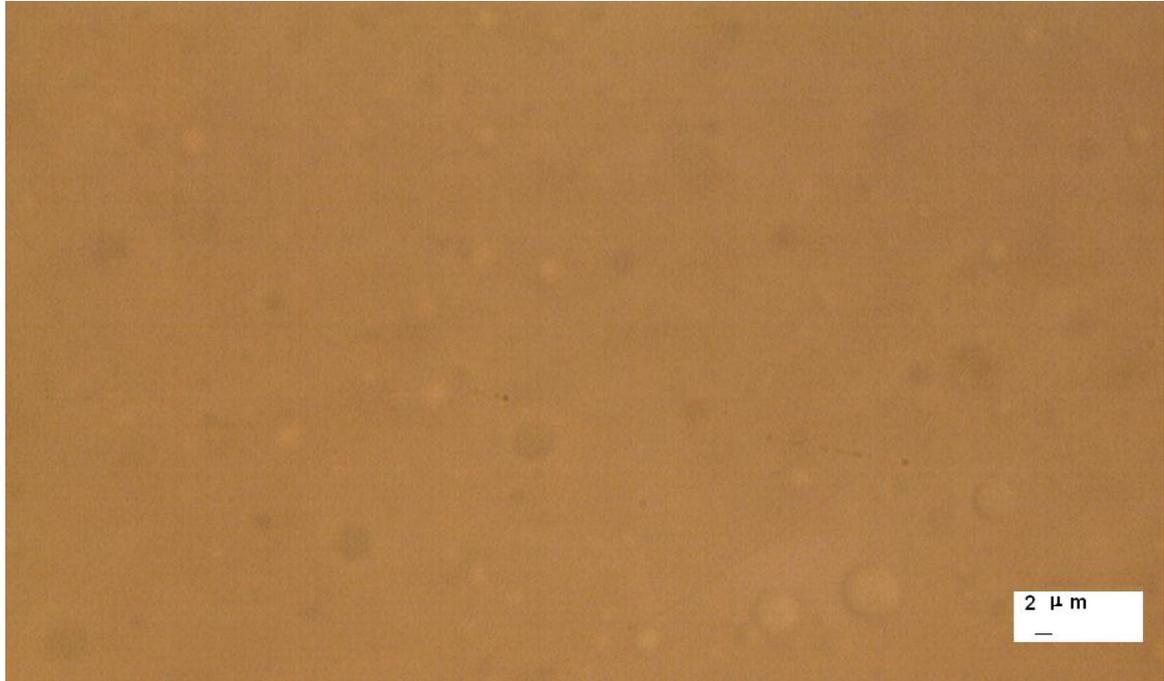


Figura 15 – Microfotografia da emulsão de óleo de amêndoas, preparada com uma mistura de tensoativos com EHL = 10,72, 3% m/m de óleo de amêndoas (emulsão nº10) após seis meses de preparação. Aumento 1000x.

As densidades das emulsões de óleo de amêndoas foram obtidas a diferentes temperaturas para o cálculo das viscosidades. Os valores obtidos são maiores que a densidade do óleo de amêndoas puro (0,8918 g/mL), e os resultados estão apresentados na Figura 16, em função do EHL da mistura de tensoativos. Há uma tendência a um valor constante embora, para um mesmo valor de EHL, a densidade decresça com o aumento da quantidade de óleo de amêndoas. Para as emulsões preparadas com a mesma quantidade de óleo, o aumento do valor do parâmetro EHL demonstra uma tendência de aumento na densidade, como pode ser observado na Figura 17 para a emulsão com 1,5 e 5% m/m de óleo de amêndoas. Esse aumento é de cerca de 1% e, assim, considerando o erro experimental nas medidas, podemos considerar que a densidade é constante.

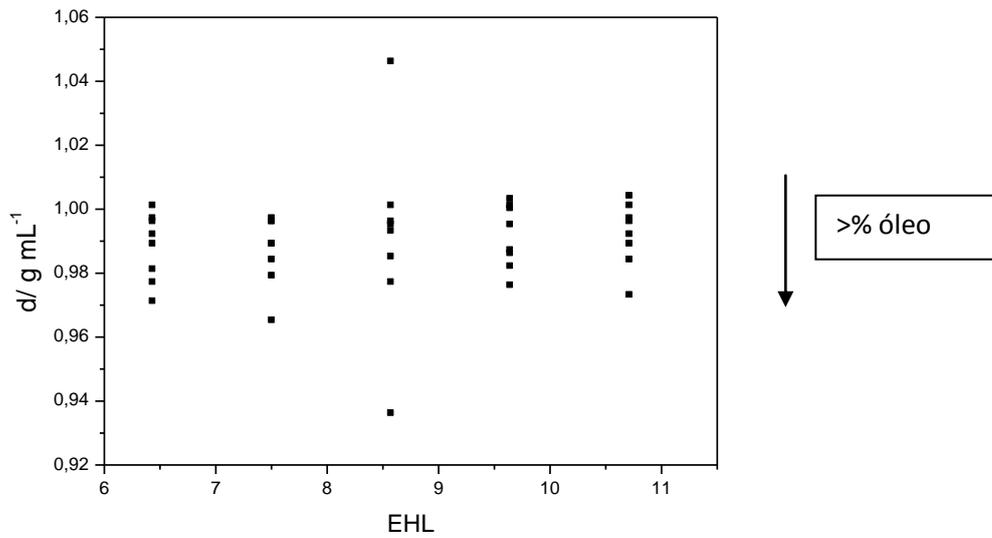


Figura 16 – Densidades das emulsões de óleo de amêndoas doce em função do EHL. Medidas realizadas a 25°C.

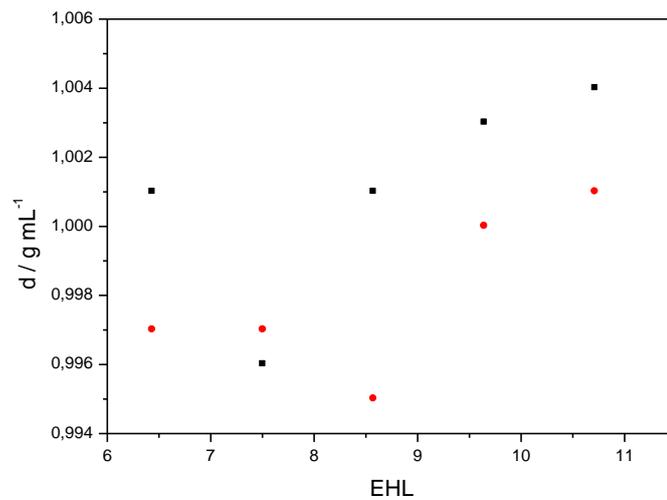


Figura 17 – Densidades das emulsões de óleo de amêndoas doce em função do EHL, para duas composições diferentes de óleo (▪) 1,5% m/m e (●) 5,0% m/m. Medidas realizadas a 25°C.

A Tabela 3 contém todos os dados de densidade para o óleo de amêndoas.

Tabela 3 – Densidades para as emulsões contendo o óleo de amêndoas com diferentes concentrações de óleo e diferentes EHL obtidas a 25°C.

Amostras	óleo % m/m	Densidade g/mL	Amostras	óleo % m/m	Densidade g/mL
1	1,5	1,001	21	15	0,989
2	1,5	0,996	22	15	0,989
3	1,5	1,001	23	15	1,046
4	1,5	1,003	24	15	0,987
5	1,5	1,004	25	15	0,992
6	3	0,996	26	20	0,981
7	3	0,996	27	20	0,984
8	3	0,996	28	20	0,985
9	3	1,001	29	20	0,986
10	3	0,996	30	20	0,989
11	5	0,997	31	25	0,977
12	5	0,997	32	25	0,979
13	5	0,995	33	25	0,977
14	5	1,000	34	25	0,982
15	5	1,001	35	25	0,984
16	10	0,992	36	30	0,971
17	10	0,989	37	30	0,965
18	10	0,993	38	30	0,936
19	10	0,995	39	30	0,976
20	10	0,997	40	30	0,973

As medidas de índice de refração (n) das emulsões indicaram que a dispersão apresenta um decréscimo no valor do índice de refração em relação ao valor obtido a 25°C para o óleo puro, que é $n = 1,461$. Para as diferentes emulsões preparadas, os valores do índice de refração estão representados na Tabela 4. Os valores de n em função do EHL são constantes com uma tendência a aumentar, como pode ser observado na Figura 18. Para o mesmo valor de EHL, há um aumento no índice de refração com o aumento da quantidade de óleo na emulsão. Esse resultado é coerente com o aumento da densidade das emulsões uma vez que sistemas mais densos apresentam maior índice de refração.

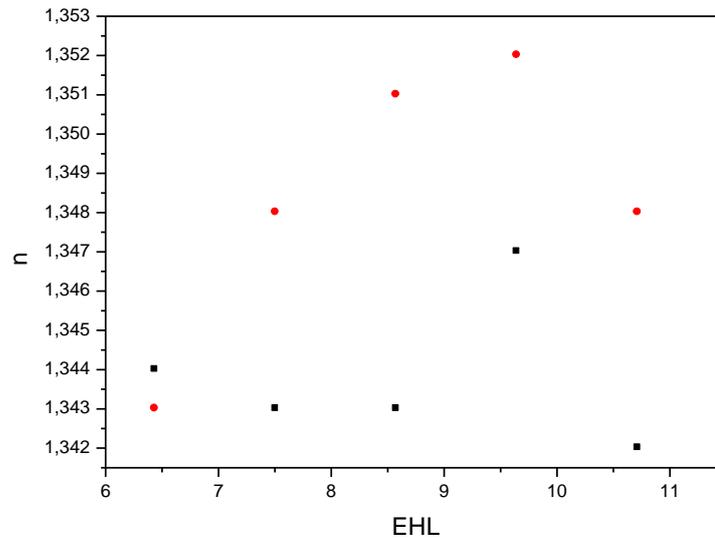


Figura 18 – Valores de n em função do EHL medidos a 25°C para as emulsões (▪) 1,5% m/m e (●) 5,0% m/m.

Tabela 4 – Índices de refração para as emulsões de óleo de amêndoas com diferentes concentrações de óleo e valores de EHL obtidos a 25°C.

Amostras	Índice de refração	Amostras	Índice de refração
1	1,344	21	1,347
2	1,343	22	1,352
3	1,343	23	1,347
4	1,347	24	1,348
5	1,342	25	1,35
6	1,342	26	1,348
7	1,343	27	1,349
8	1,343	28	1,352
9	1,343	29	1,355
10	1,344	30	1,347
11	1,343	31	1,348
12	1,348	32	1,344
13	1,351	33	1,345
14	1,352	34	1,346
15	1,348	35	1,347
16	1,34	36	1,344
17	1,342	37	1,35

Amostras	Índice de refração	Amostras	Índice de refração
18	1,361	38	1,349
19	1,345	39	1,361
20	1,346	40	1,391

Continuação da Tabela 4

As medidas da viscosidade em todas as emulsões recém-preparadas em função da temperatura e EHL são mostradas a seguir. Para as emulsões contendo 1,5% m/m de óleo de amêndoas para um mesmo valor de EHL, observa-se um decréscimo da viscosidade com o aumento da temperatura, o que é esperado para o escoamento de um líquido. Esses resultados são mostrados na Figura 19.

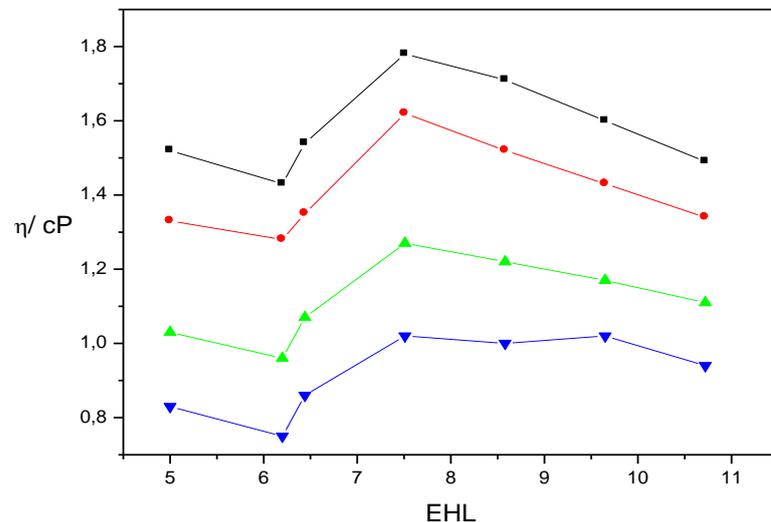


Figura 19 – Viscosidade da emulsão de óleo de amêndoas doce a 1,5% m/m em função do EHL da mistura de tensoativos para diferentes temperaturas: (■) 25°C, (●) 30°C, (▲) 40°C e (▼) 50°C.

A tendência dos resultados da viscosidade é a mesma para as demais emulsões, como pode ser observado na Figura 20 para a emulsão com 10% m/m de óleo de amêndoas. Nas duas figuras, independentemente da quantidade de óleo, há uma tendência a um valor mínimo em EHL igual a 6,2, e esse mínimo de viscosidade poderá ser considerado o modelo de Einstein associado com as gotículas de menor tamanho. Na Figura 21, para a emulsão com 30% m/m de óleo de amêndoas, embora não tenham sido preparadas as emulsões com EHL 6,2 e 5,0, há também uma tendência ao mínimo de viscosidade para essa emulsão.

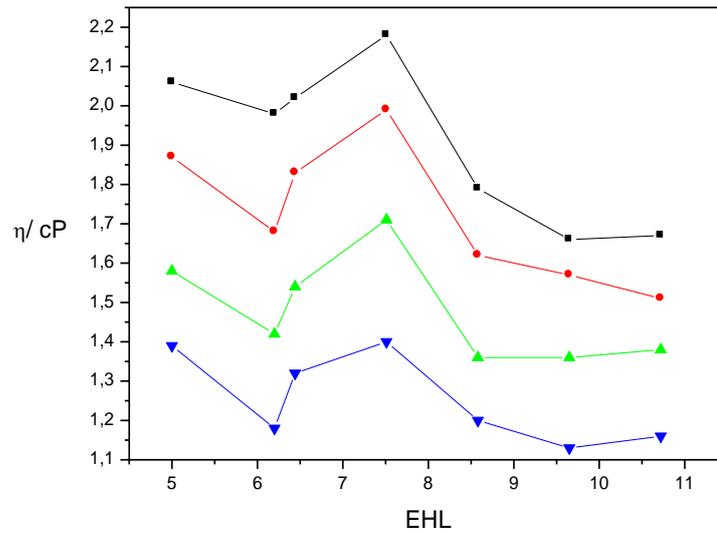


Figura 20 – Viscosidade da emulsão de óleo de amêndoas doce a 10% m/m em função do EHL da mistura de tensoativos para diferentes temperaturas: (■) 25°C, (●) 30°C, (▲) 40°C e (▼) 50°C.

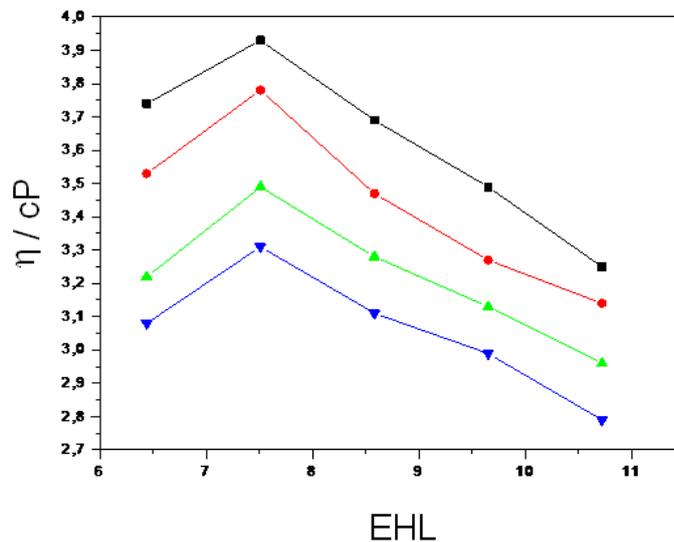


Figura 21 – Viscosidade da emulsão de óleo de amêndoas doce a 30% m/m em função do EHL da mistura de tensoativos para diferentes temperaturas: (■) 25°C, (●) 30°C, (▲) 40°C e (▼) 50°C.

Foi realizada uma avaliação da história térmica das emulsões aquecendo-as até 50°C e posteriormente resfriando-as até 25°C, com uma taxa de 2°C/min. Para a

emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas preparada com a mistura de tensoativos com EHL = 6,44, os resultados estão mostrados na Figura 22. Neste gráfico, os valores da viscosidade obtidos durante o aumento da temperatura coincidem com os valores obtidos durante o decréscimo de temperatura.

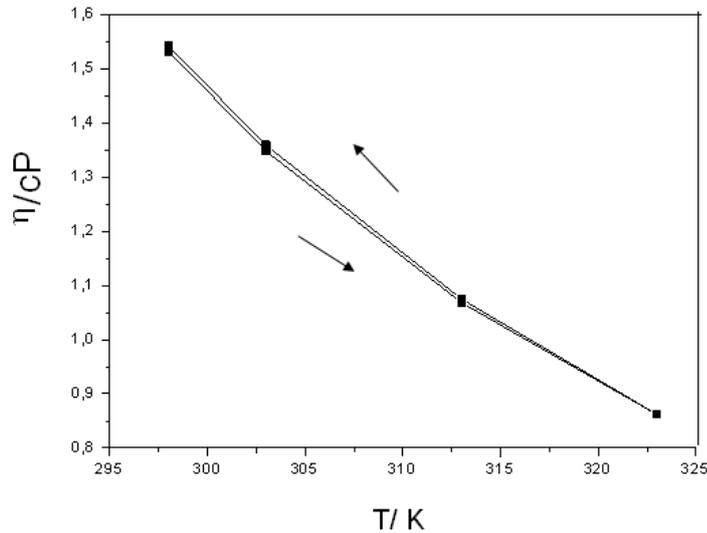


Figura 22 – Valores da viscosidade em função da temperatura para a emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas, EHL = 6,44. Dados obtidos durante um ciclo de aquecimento seguido de um ciclo de resfriamento a $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Com o aumento do EHL para as emulsões com 1,5% m/m de óleo de amêndoas, conforme mostrado nas Figuras 23 e 24 para EHL iguais a 7,51 e 10,72, respectivamente, observa-se uma histerese na curva, em que a viscosidade durante o resfriamento é maior que a observada no aquecimento. Esse efeito é melhor observado em EHL igual a 10,72. Na Figura 24, o afastamento dos dados obtidos durante o ciclo de resfriamento, em comparação com os dados obtidos no ciclo de aquecimento, é mais acentuado do que se observa na Figura 23 para EHL = 7,51.

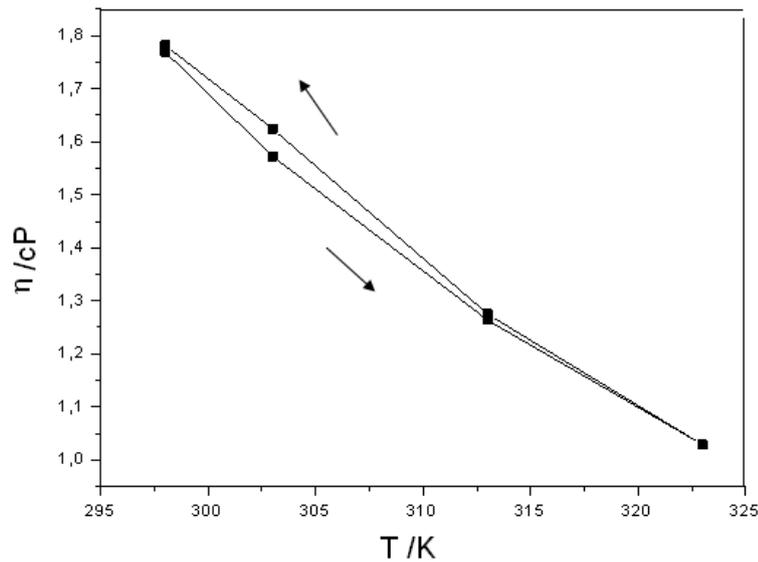


Figura 23 – Valores da viscosidade em função da temperatura para a emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas, EHL = 7,51. Dados obtidos durante um ciclo de aquecimento seguido de um ciclo de resfriamento a $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Esses resultados indicam que a energia térmica transferida durante o aquecimento pode induzir um processo de aumento do diâmetro da gotícula por coalescência ou pelo processo denominado *Ostwald ripening*. O aumento da temperatura para algumas emulsões promove a quebra do filme interfacial das gotículas, permitindo a transferência de massa entre elas. Com esse resultado, podemos, em uma primeira aproximação, estabelecer que o filme interfacial apresenta maior interação entre as moléculas de tensoativo, óleo e água para EHL da ordem de 6. Para maiores valores de EHL, essa interação torna-se mais fraca e a energia térmica (KT) é suficiente para sobrepor essa interação, desestabilizando as gotículas. A viscosidade da emulsão de 1,5% de óleo de amêndoas, preparada com uma mistura de tensoativos com EHL igual a 10,72, varia de 1,48 cP antes do ciclo de aquecimento para 1,63 cP 24 horas após o resfriamento. Essa variação de cerca de 10% não ocorreu para uma amostra semelhante mantida a 25°C no mesmo período. A amostra para a qual a resposta de viscosidade em função da temperatura durante o ciclo térmico está representada na Figura 22, em que o valor do EHL para a mistura de tensoativos é 6,44, representa um sistema mais estável. Esse resultado

indica que a proporção dos tensoativos, que resulta nesse valor de EHL, está próxima do valor adequado para esse sistema.

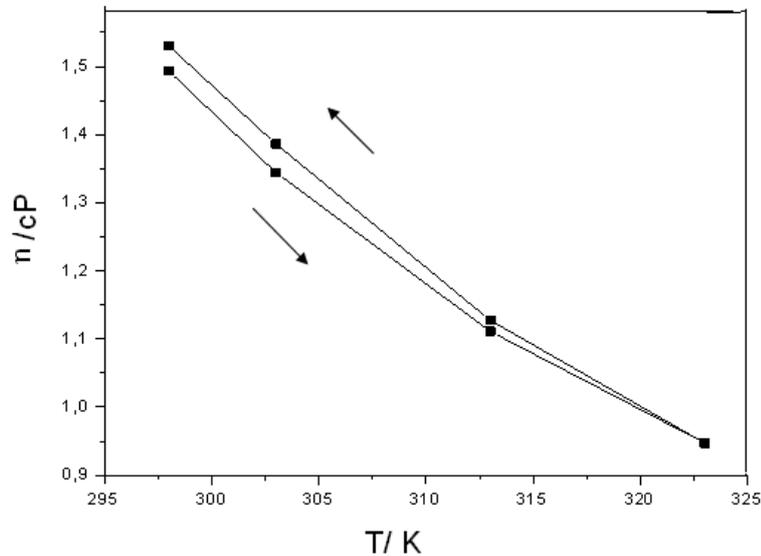


Figura 24 – Valores da viscosidade em função da temperatura para emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas, EHL = 10,72. Dados obtidos durante um ciclo de aquecimento seguido de um ciclo de resfriamento a $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

As medidas de tamanho de partículas das emulsões com 1,5% m/m de óleo de amêndoas recém-preparadas estão apresentadas na Figura 25. É importante assinalar que os dados de tamanho têm um valor mínimo para a emulsão preparada com a mistura de tensoativos com o valor de EHL igual a 6,2. Esse mínimo em tamanho coincide com os resultados do valor mínimo de viscosidade. Essa assinatura do sistema se repete para as demais emulsões com diferentes concentrações de óleo de amêndoas. Na Figura 26, apresentamos os resultados obtidos para as diferentes emulsões com diferentes concentrações de óleo de amêndoas. Com o aumento da quantidade de óleo, o mínimo se torna menos acentuado, mas a tendência observada é que há um mínimo no tamanho de gotículas para EHL = 6,2.

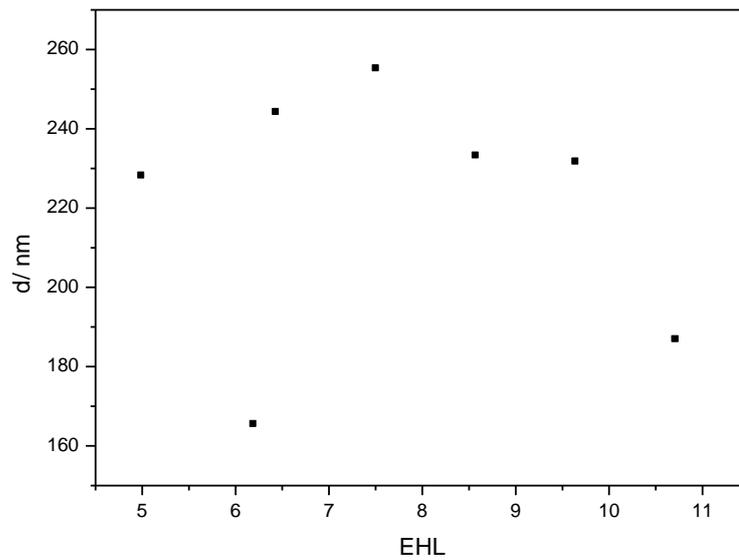


Figura 25 – Diâmetro médio das gotículas de óleo na emulsão contendo 1,5% m/m de óleo de amêndoas em função do EHL de uma mistura de tensoativos a 5% m/m na emulsão

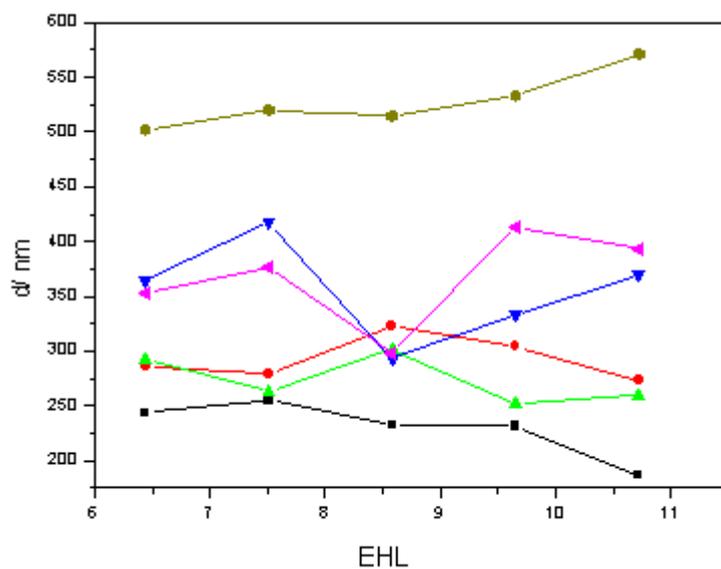


Figura 26 – Diâmetro médio das gotículas de óleo na emulsão contendo óleo de amêndoas em função do EHL de uma mistura de tensoativos a 5% m/m na emulsão. Composição de óleo de amêndoas: (▪) 1,5, (●) 3, (▲) 5, (▼) 10, (◄) 20 e (◐) 30% m/m.

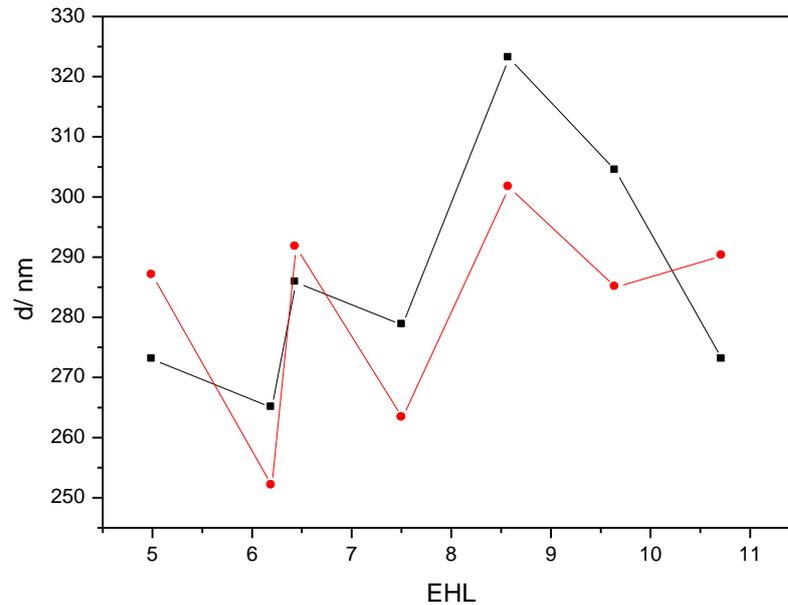


Figura 27 – Diâmetro médio das gotículas de óleo na emulsão contendo óleo de amêndoas em função do EHL de uma mistura de tensoativos a 5% m/m na emulsão. Composição de óleo de amêndoas: (▪) 3 e (●) 5% m/m.

Os valores do potencial zeta (ξ) obtidos para as emulsões recém-preparadas são da ordem de -10 mV. Para as emulsões do tipo óleo em água, onde as gotículas de óleo têm ácidos orgânicos em sua composição e estas são estabilizadas com uma mistura de dois tensoativos não-iônicos, esse é o resultado esperado. A região interfacial entre a gotícula (fase dispersa) e a água (fase contínua) pode ser descrita como uma região interfacial com excesso de dipolos com alguma orientação, o que resulta em uma pequena queda de potencial. A densidade de carga total líquida na região é pequena, o que explica os baixos valores de ξ . Esse resultado implica que a intensidade da repulsão entre as gotículas é pequena, facilitando os processos de instabilidade caracterizados por coalescência ou por *Ostwald ripening*, dependentes do contato interfacial das gotículas (CAPEK, 2004). Nas Figuras 28 e 29, é mostrado o comportamento do potencial zeta em função do EHL para os diferentes sistemas.

O valor do potencial zeta aumenta para valores mais positivos com o aumento da concentração de óleo e com o aumento do EHL da mistura de tensoativos. Esse resultado indica um decréscimo da estabilidade da gotícula, o que é esperado pelas condições do sistema. Aumenta-se a quantidade de óleo, mantendo-se constante a

quantidade de tensoativos e preparando-se uma dispersão com o EHL acima de 8, o que é muito maior que o EHL proposto para o óleo de amêndoas (ZANIN et al., 2002).

Para a emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas, o potencial zeta em função do EHL é mostrado na Figura 28. Os dados de potencial zeta também apresentam um ponto de máximo onde, para EHL 6,2, $\xi = -8,75$ mV.

Os dados de potencial zeta (ξ) para as emulsões com diferentes concentrações de óleos de amêndoas e diferentes EHL estão apresentadas na Figura 29.

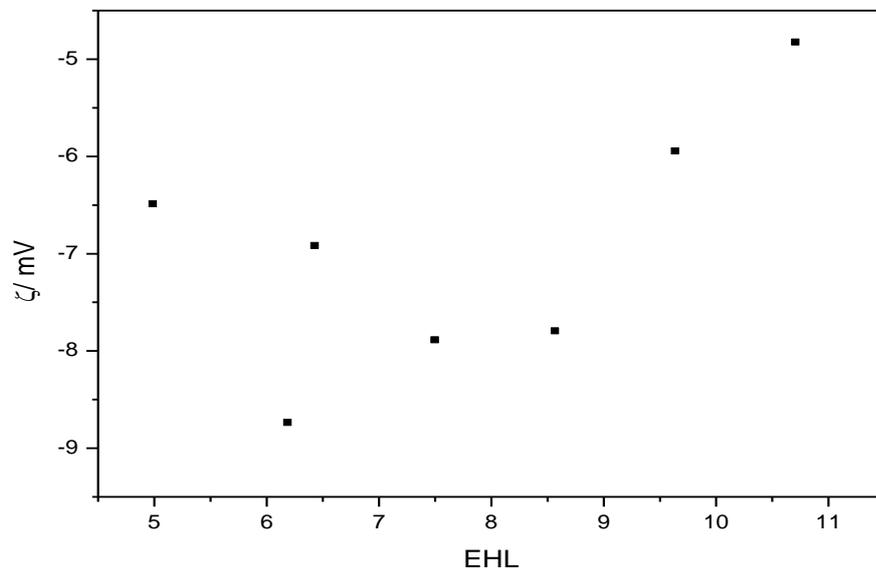


Figura 28 – Valores do potencial zeta (ξ) em função do EHL para a emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas

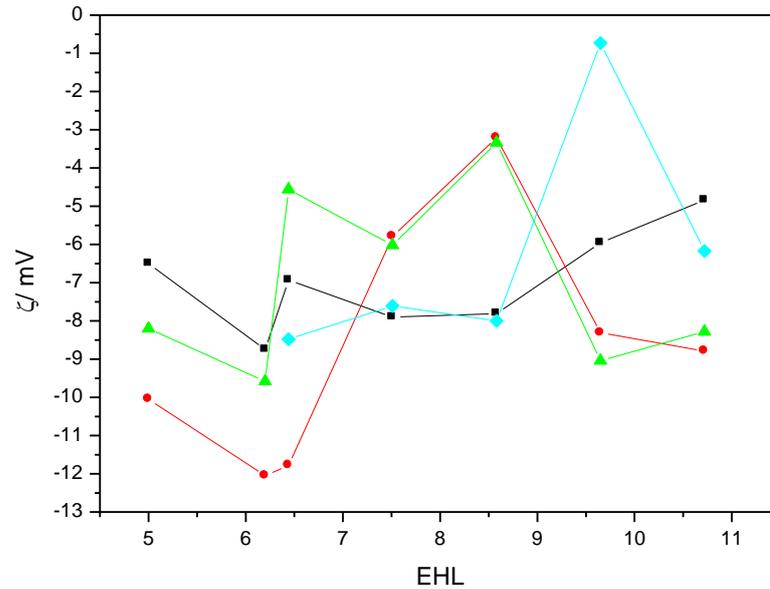


Figura 29 – Valores do potencial zeta (ξ) em função do EHL para as emulsões com (□) 1,5, (●) 5, (▲) 3 e (◆) 10% m/m de óleo de amêndoas

O pH das emulsões de óleo de amêndoas recém-preparadas em função da concentração de óleo estão representados na Figura 30. Na Figura 30, apresentamos as emulsões com EHL = 6,44, 7,51 e 8,58 e, na Figura 31, as emulsões com EHL = 9,65 e 10,72.

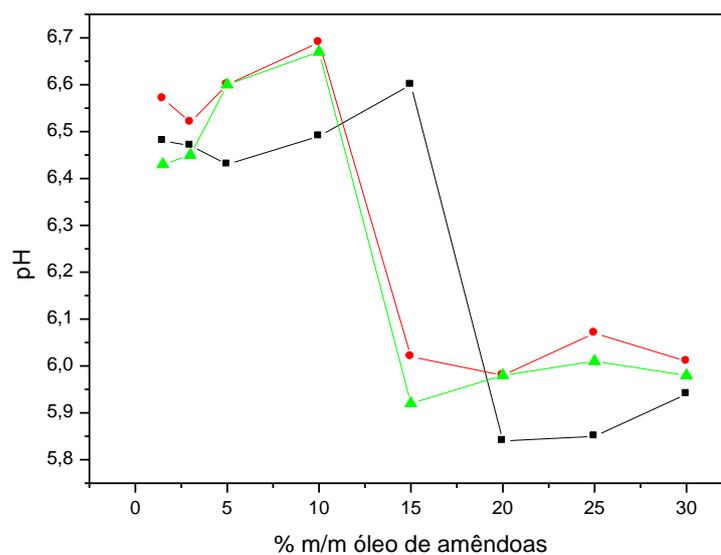


Figura 30 – pH das emulsões de óleo de amêndoas recém-preparadas em função da quantidade de óleo para EHL = (□) 6,44, (●) 7,51 e (▲) 8,58.

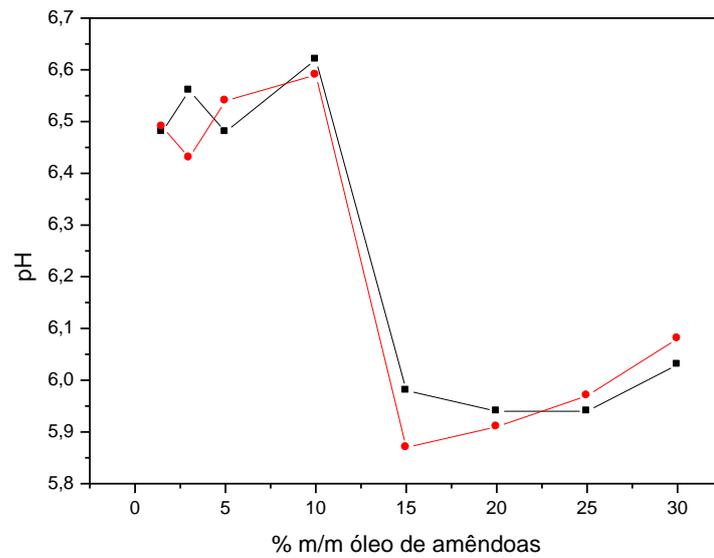


Figura 31 – pH das emulsões de óleo de amêndoas recém-preparadas em função da quantidade de óleo para EHL = (▪) 9,67 e (●) 10,72.

Os dados de pH para as emulsões recém-preparadas indicam que, independentemente do valor de EHL, há uma tendência à diminuição do pH com o aumento da quantidade de óleo.

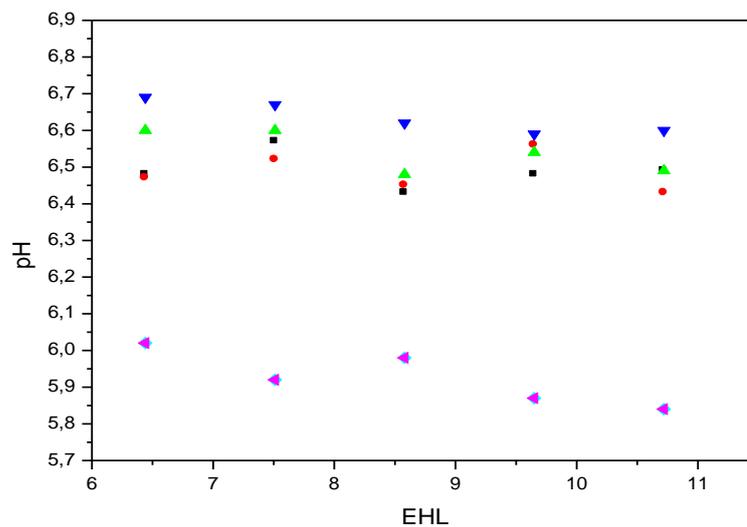


Figura 32 – pH das emulsões de óleo de amêndoas recém-preparadas em função do EHL da mistura de tensoativos. Emulsões com diferentes concentrações de óleo de amêndoas: (▪) 1,5, (●) 3, (▲) 5 (▼) 10, (●) 15 e (◄) 20% m/m de óleo de amêndoas.

A queda no valor do pH, observada para as emulsões com a concentração de óleo maior que 10% m/m, pode ser devida à condição experimental, na qual fixamos a quantidade de tensoativo em 5%, valor muito baixo quando a quantidade de óleo é maior que 10%, conforme foi discutido na Introdução ao analisarmos as propostas para a formação de emulsões e o papel do tensoativo em sua estabilidade (MORALES et al., 2003). Os menores valores de pH indicam que há maior transporte de grupos ácidos para a solução com a redução do pH.

Um teste acelerado de estabilidade foi realizado deixando-se por 28 dias as emulsões em uma estufa a 40°C. Na Figura 33, é apresentado o resultado da variação do pH da amostra de emulsão com 1,5% m/m de óleo de castanha com diferentes misturas de tensoativos, mantida por 28 dias a 40°C e comparada com o pH das mesmas emulsões recém-preparadas. Ainda na Figura 32, observa-se uma diminuição do pH mesmo quando o EHL dos tensoativos está próximo ao EHL do óleo. Para EHL igual a 10,72, a concentração de H⁺ no meio varia de uma década ($\Delta \text{pH}=1$). Esse decréscimo do pH sugere a degradação dos componentes da fase oleosa, provavelmente com liberação de ácidos carboxílicos, pois esta contém ácidos graxos. A diminuição do pH, maior para as emulsões com maior conteúdo de óleo, sugere uma diminuição da estabilidade das emulsões em estufa a 40°C.

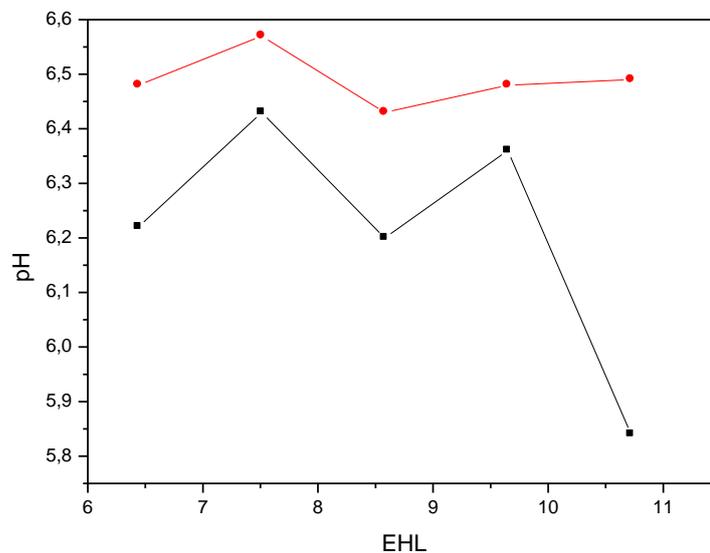


Figura 33 – pH da emulsão contendo 1,5% m/m de óleo de amêndoas com diferentes EHL. (●) recém-preparada; (▪) após 28 dias em estufa a 40 °C.

Para analisar a estabilidade das emulsões, foram realizadas medidas de tamanho durante 90 dias. Esses dados estão apresentados na Tabela 5, juntamente com os dados de índice de polidispersividade. As emulsões foram mantidas armazenadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e para as análises foram retiradas as alíquotas e diluídas para a análise de tamanho.

Os valores do índice de polidispersividade estão relacionados à distribuição de tamanho de gotículas, e todas as distribuições resultaram em um processo monomodal. Um alargamento na distribuição foi observado para emulsões com maior conteúdo de óleo e maior EHL, e essa variação foi observada somente após 60 dias de armazenamento das emulsões a 25°C .

A origem do aumento do tamanho observado em todas as emulsões foi avaliada por meio de gráficos de r^2 e r^3 em função do tempo. Para as emulsões com EHL superiores a 8, algumas medidas adicionais foram feitas. Para a emulsão preparada com 1,5% de óleo de amêndoas com EHL igual a 6,44, o gráfico de r^2 em função do tempo é apresentado na Figura 34, e a representação de r^3 em função do tempo está presente na Figura 35.

Tabela 5 – Dados de diâmetro médio (d) e índice de polidispersividade (IPD) de gotículas em função do tempo para as emulsões de óleo de amêndoas descritas na Tabela 1.

Emulsão	d (nm) t=0	d (nm) t=30 dias	d (nm) t= 60 dias	IPD t= 60 dias
1	244	246	251,7	0,12
2	255	269	278	0,18
3	233	227,8	227,6	0,2
4	231,5	211,3	218,3	0,24
5	186,7	204,6	217,6	0,2
6	285,8	304,5	440	0,2
7	278,7	300,1	415,7	0,18
8	323,1	326,9	454,7	0,19
9	304,4	298,9	403,7	0,25
10	273	290,3	749,3	0,26
11	291,7	260,1	274,1	0,25
12	263,3	321,5	328,2	0,2
13	301,6	301,3	347	0,21
14	251,6	248,4	276,5	0,19

Emulsão	d (nm) t=0	d (nm) t=30 dias	d (nm) t= 60 dias	IPD t= 60 dias
15	260,2	2081	260,7	0,26
16	363,9	446,6	549,1	0,25
17	417,3	461,7	489,5	0,22
18	293,4	346,9	469,6	0,23
19	333,3	520,7	586	0,25
20	369,5	412,6	576	0,2
21	450,1	407,2	565	0,19
22	337,8	474,5	654,8	0,17
23	312,6	356,8	480,6	0,15
24	241,7	379,7	492	0,2
25	409	480,5	624	0,28
26	353,1	364,3	473,2	0,3
27	376,8	385,8	501,8	0,25
28	298,7	363,5	465,2	0,24
29	412,7	530,3	528,7	0,26
30	393,3	596,4	769,4	0,28
31	469,9	498,3	657,5	0,26
32	410,4	673,2	841,5	0,29
33	398,5	445	569,6	0,26
34	373,5	549,5	714,35	0,28
35	465,9	468,9	581,4	0,3
36	430	459,6	551,5	0,32
37	420,5	442,2	574,8	0,34
38	414,5	449,1	513,8	0,38
39	432,5	480,7	576	0,35
40	471,2	495	551,6	0,39

Continuação da Tabela 5.

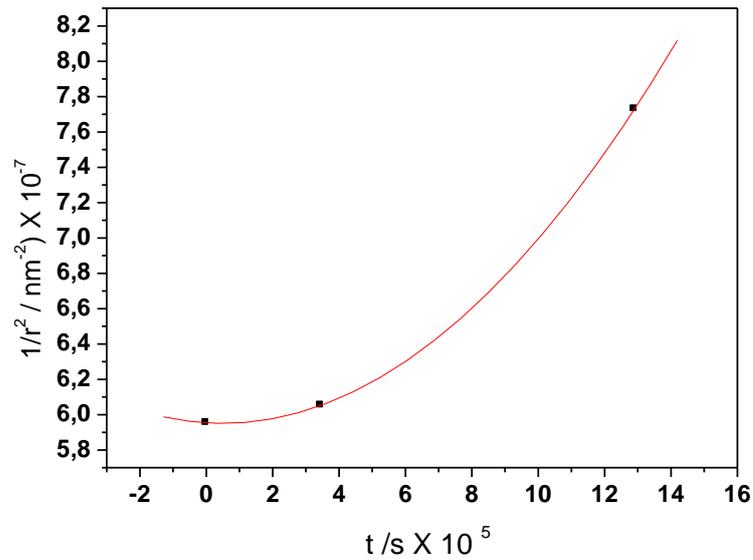


Figura 34 – Representação de $1/r^2$ em função do tempo para a emulsão preparada com 1,5% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 6,44

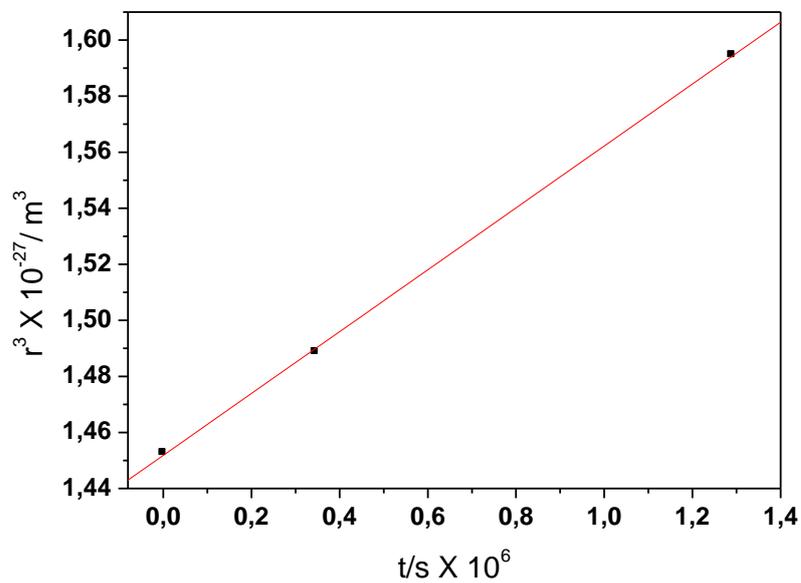


Figura 35 – Representação de r^3 em função do tempo para a emulsão preparada com 1,5% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 6,44

Da análise das Figuras 34 e 35 é possível concluir que o mecanismo responsável pela degradação das emulsões na fase inicial é o *Ostwald ripening*, em que o coeficiente angular para os dados da Figura 33 é $2,85 \times 10^{-22} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ com o

coeficiente de correlação (r^2) sendo 1,0. A representação obtida na Figura 34 é proporcional a t^2 . Esse resultado, com a dependência linear entre r^3 e o tempo, é observado para as demais emulsões com até 10% m/m de óleo de amêndoas, nas quais o valor médio do coeficiente angular da reta de r^3 em função do tempo é $w = 2,92 \times 10^{-22} \text{ m}^3\text{s}^{-1}$. Dessa forma, para as emulsões com até 10% de óleo, o mecanismo para crescimento das gotículas é lento, podendo-se considerar que, para as emulsões com até 3% m/m de óleo, há um crescimento de cerca de 5% no diâmetro das gotículas em um ano.

Para as emulsões com concentração de óleo maior que 10% m/m, o mecanismo de instabilidade se altera, como pode ser observado na Figura 36, onde há uma correlação entre $1/r^2$ e o tempo, em comparação com a correlação de r^3 em função do tempo. Para a representação $1/r^2$ versus t , o coeficiente de correlação é da ordem de 0,986, enquanto que para a representação de r^3 versus t , o coeficiente de correlação é da ordem de 0,965. Esse resultado sugere, provavelmente, um mecanismo misto, que nunca foi observado na literatura (CAPEK, 2004; TADROS et al., 2004; TAYLOR, 2003). Nesse sentido, realizamos medidas após 120 dias com a emulsão contendo 30% m/m de óleo de amêndoas e com a mistura de tensoativos com um EHL de 10,72. A análise dos dados indicou que, após esse tempo, o processo de instabilidade foi devido à coalescência, como mostra a Figura 38. Na figura, para a representação $1/r^2$ versus t , o coeficiente de correlação é 0,986, enquanto que para a representação de r^3 versus t , o coeficiente de correlação é 0,87. Se considerarmos o resultado da Figura 38, o coeficiente angular da representação linear é $1,72 \times 10^{-19} \text{ m}^3\text{s}^{-1}$, que é 10^3 vezes maior que o valor obtido para a emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas com a mistura de tensoativos com EHL= 6,44, um sistema estável (Figura 35). O coeficiente angular da representação de $1/r^2$ versus t , que está relacionado à frequência de ruptura do filme durante as colisões entre as gotículas, é $2,76 \times 10^{11} \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

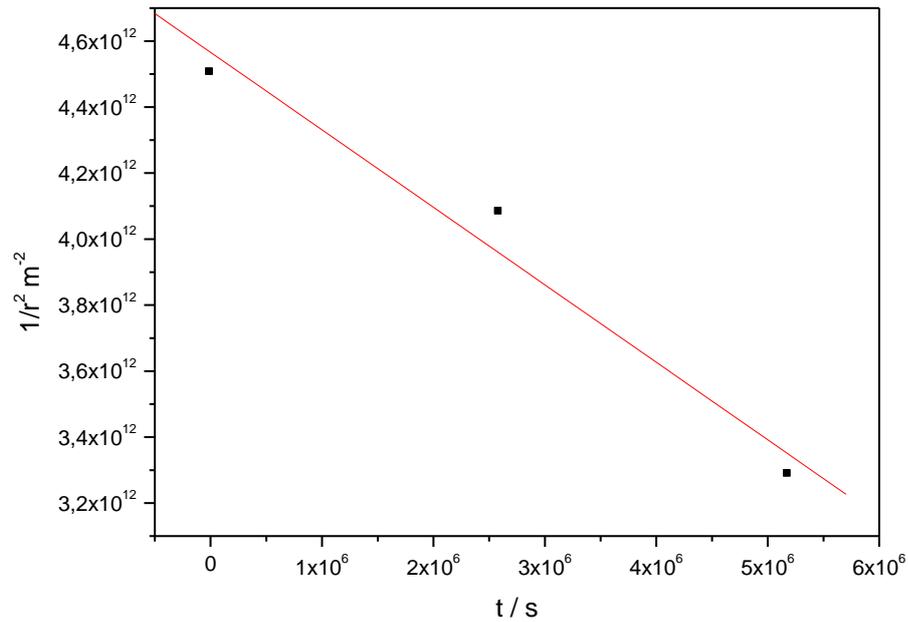


Figura 36 – Representação de $1/r^2$ em função do tempo para a emulsão preparada com 30% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 10,72

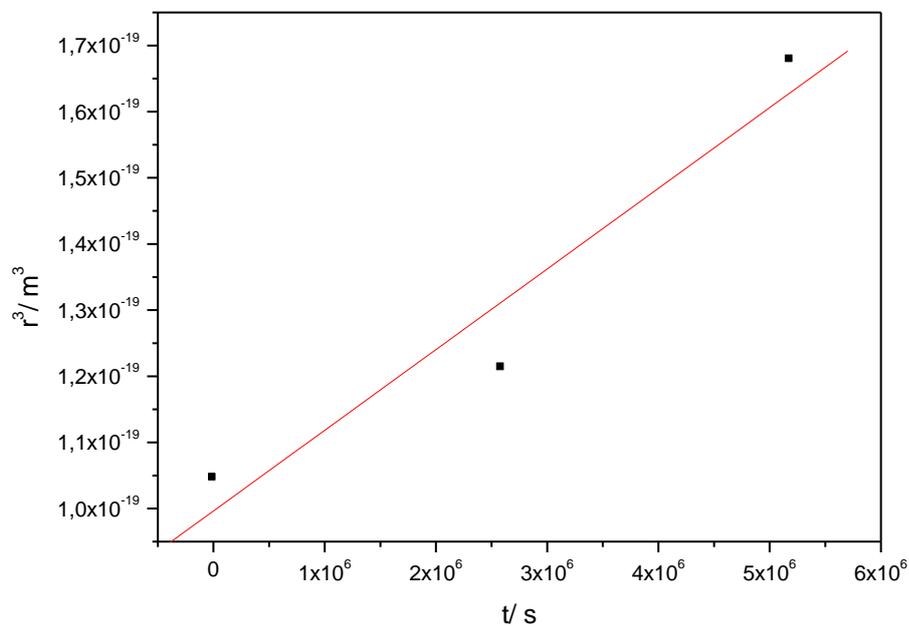


Figura 37 – Representação de r^3 em função do tempo para a emulsão preparada com 30% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 10,72

Em sistemas coloidais que não estão em equilíbrio, como no caso das emulsões com concentração de óleo maior que 10%, há uma tendência para a redução da área de superfície e para a diminuição da energia livre por processos tais como a floculação, cremação e sedimentação, coalescência e *Ostwald ripening* (TAYLOR, 2003; TADROS et al., 2004). As nanoemulsões com diâmetros de até 300 nm possuem alta estabilidade contra os processos de floculação, cremação e sedimentação e coalescência, como é bem conhecido na literatura para emulsões de hidrocarbonetos em água. Esse efeito é atribuído ao pequeno diâmetro dessas emulsões (CAPEK, 2004; TADROS et al., 2004; TAYLOR, 2003). Dessa forma, o principal mecanismo para a instabilidade das nanoemulsões é o *Ostwald ripening* (CAPEK, 2004; TADROS et al., 2004). Esse efeito aumenta com a diferença de solubilidade entre as gotículas de diferentes tamanhos, e nesse processo as o diâmetro das gotículas maiores aumenta pela difusão do conteúdo das gotículas menores através da fase contínua (CAPEK, 200; LIU et al., 2006). É importante assinalar que um índice de polidispersividade estreito é a condição necessária para que a emulsão apresente alta estabilidade. Dessa forma, as nanoemulsões com até 5% de óleo de amêndoas apresentam alta estabilidade por até 12 meses.

As emulsões com conteúdo de óleo acima de 10% que apresentam um alto valor para o coeficiente angular da representação de r^3 em função do tempo são aquelas em que a polidispersividade é da ordem de 0,3 para as emulsões recém-preparadas. Com o crescimento das gotículas, essas emulsões atingem o que podemos considerar uma condição limite, observada quando o diâmetro médio das gotículas atinge um valor maior que 700 nm. O processo pode, então, passar a ser controlado pela coalescência.

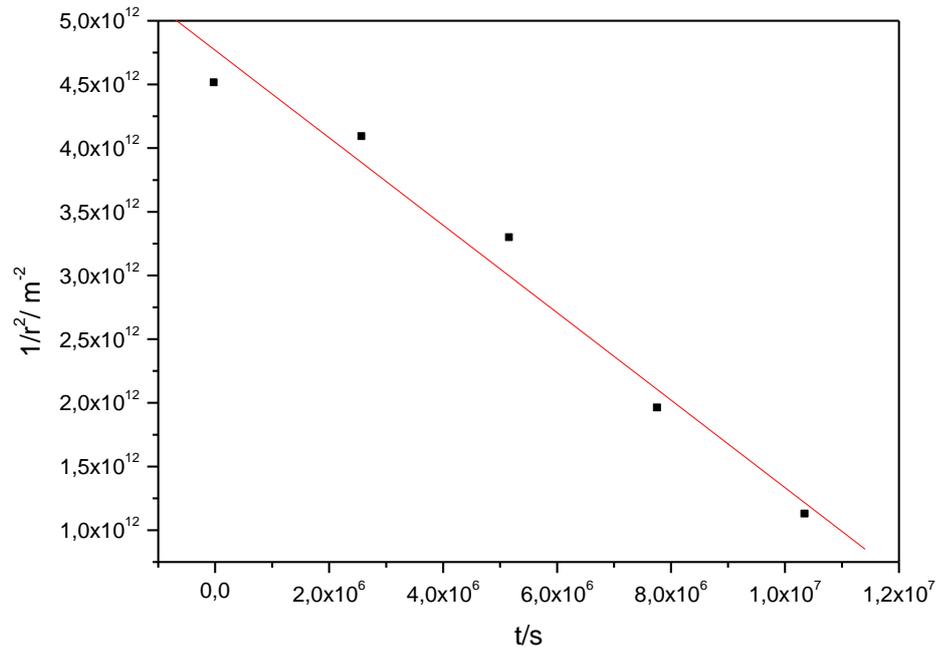


Figura 38 – Representação de $1/r^2$ em função do tempo para a emulsão preparada com 30% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 10,72

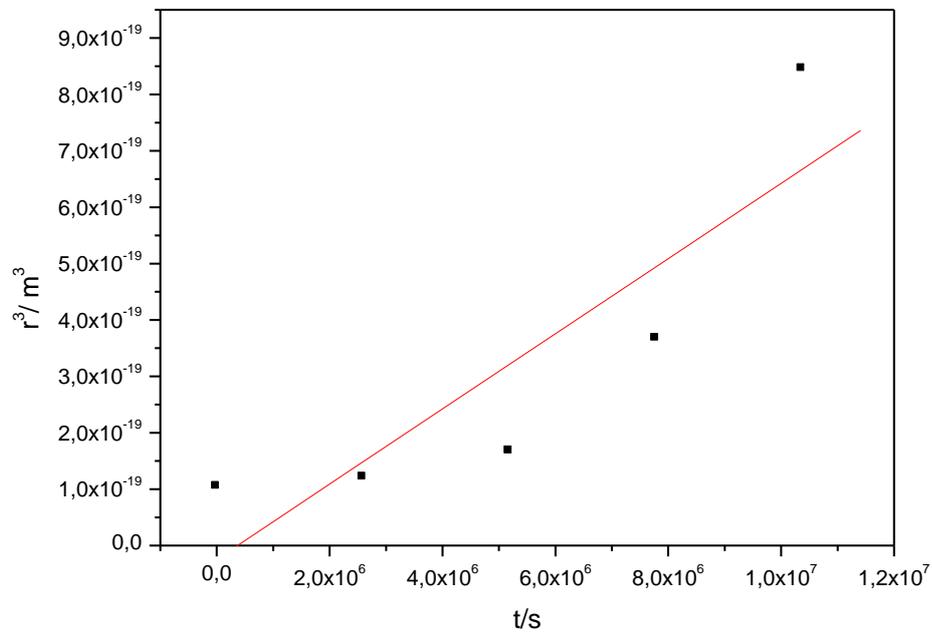


Figura 39 – Representação de r^3 em função do tempo para a emulsão preparada com 30% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 10,72

Pela análise dos resultados, podemos considerar que as emulsões com até 5% m/m de óleo de amêndoas e EHL na faixa entre 6 e 7 são as mais estáveis, com uma distribuição homogênea de tamanho de gotículas. O valor mínimo obtido para a viscosidade e para o diâmetro em EHL igual a 6,2 é um forte indicativo de que esse é o valor mais adequado para o EHL do óleo de amêndoas utilizado neste trabalho, sendo ligeiramente inferior ao valor de 6,76 proposto na literatura (ZANIN et al., 2002). Esses resultados indicam que, nesta condição de EHL, o diâmetro das gotículas é menor, e os testes de estabilidade confirmaram que as emulsões com EHL entre 6,2 e 6,44 são as mais estáveis.

Portanto, o EHL mais adequado para as emulsões de óleo de amêndoas em água é 6,2.

4.2 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES DE ÓLEO DE CASTANHA EM ÁGUA

Com o óleo de castanha, trabalhamos com a concentração de óleo fixa em 3% m/m e com a mistura de tensoativos fixa em 5% m/m, variando o EHL da mistura entre 6,4 e 10,72. A composição das emulsões de óleo de castanha está descrita na Tabela 2.

As emulsões recém-preparadas apresentaram-se estáveis e, após serem deixadas em repouso por duas horas, não foi observada separação de fases em nenhum dos sistemas, permanecendo visualmente homogêneas por mais de seis meses.

As densidades das emulsões de óleo de castanhas recém-preparadas foram obtidas e os valores estão apresentados na Tabela 6. Os valores das densidades são maiores que a densidade do óleo de castanhas puro (0,9120 g/mL), e há uma tendência a um valor constante da densidade nas condições do experimento.

Tabela 6 – Densidades e índice de refração para as emulsões contendo 3% m/m de óleo de castanha a 25°C.

Amostras	EHL	Densidade g/mL	Índice de refração
1C	6,4	1,001	1,343
2C	7,5	0,997	1,345
3C	8,58	0,991	1,345
4C	9,65	0,985	1,343
5C	10,72	1,001	1,343

As medidas de índice de refração (n) das emulsões indicaram que a dispersão apresenta um decréscimo no valor do índice de refração em relação ao valor obtido a 25°C para o óleo puro, que é $n = 1,471$. Para as diferentes emulsões preparadas, os valores do índice de refração estão representados na Tabela 6, onde pode ser observado que os valores de n em função do EHL são constantes.

As medidas da viscosidade em todas as emulsões recém-preparadas em função da temperatura e EHL são mostradas e analisadas a seguir. Para as emulsões contendo 3% m/m de óleo de castanha para um mesmo valor de EHL, observa-se um decréscimo da viscosidade com o aumento da temperatura, o que é esperado para o escoamento de um líquido. Esses resultados são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Viscosidade para as emulsões do tipo o/a contendo 3% m/m de óleo de castanha com diferentes EHL em função da temperatura.

Amostras	η / cP 25°C	η / cP 30°C	η / cP 40°C	η / cP 50°C
1C	1,71	1,53	1,23	1,01
2C	1,63	1,47	1,2	1
3C	1,42	1,27	1,04	0,89
4C	1,53	1,37	1,12	0,95
5C	1,64	1,48	1,21	1,02

A tendência dos resultados da viscosidade é a mesma para todas as emulsões, como pode ser observado na Figura 40 para a emulsão com 3% m/m de

óleo de castanha. Na Figura 38, observa-se um mínimo em EHL igual a 8,52, e esse mínimo de viscosidade poderá ser associado com as gotículas de menor tamanho.

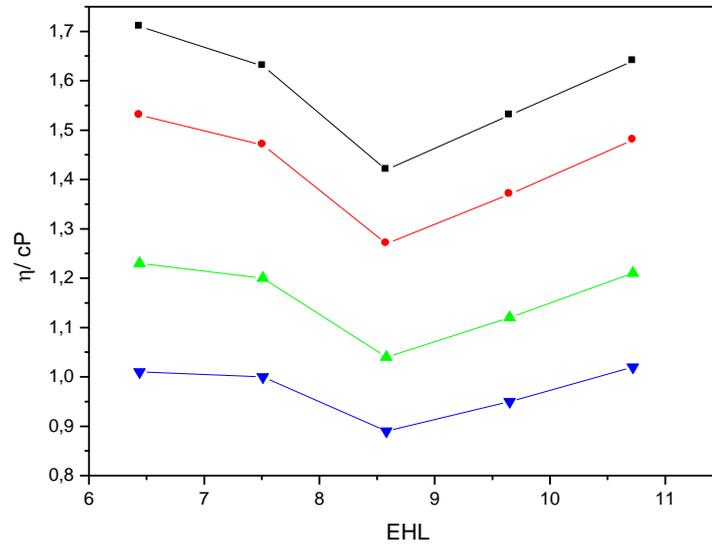


Figura 40 – Viscosidade da emulsão o/a de óleo de castanha a 3% m/m em função do EHL da mistura de tensoativos, para diferentes temperaturas: (■) 25°C, (●) 30°C, (▲) 40°C e (▼) 50°C.

As medidas de tamanho de partículas das emulsões com 3% m/m de óleo de castanha recém-preparadas estão apresentadas na Figura 41. É importante assinalar que os dados de tamanho têm um valor mínimo para a emulsão preparada com a mistura de tensoativos com o valor de EHL igual a 8,58. Esse mínimo em tamanho coincide com os resultados do valor mínimo de viscosidade.

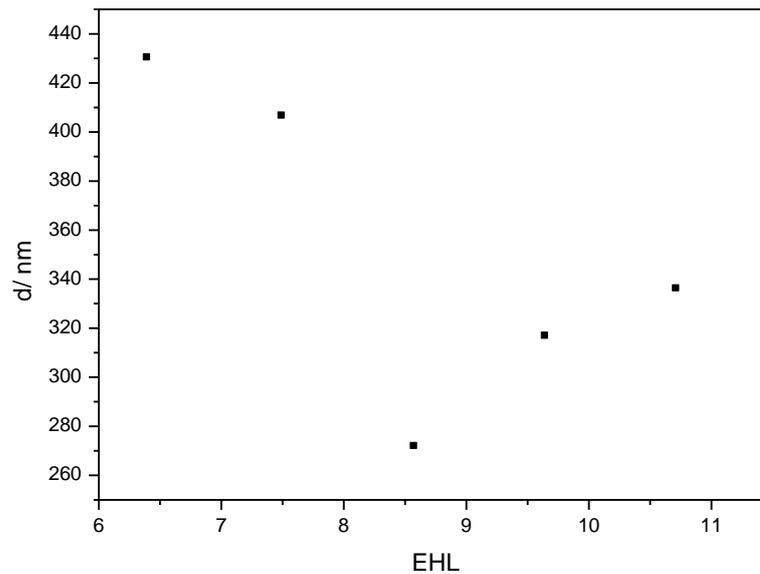


Figura 41 – Variação do diâmetro médio das partículas da emulsão o/a contendo óleo de castanha 3 5 m/m com diferentes valores de EHL

Os dados de tamanho de gotículas para as emulsões o/a de óleo de castanha a 3% m/m e com o EHL da mistura de tensoativos variando entre 6,4 e 10,72 é representado por uma distribuição monomodal com índices de polidispersividade apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Dados de diâmetro médio das partículas (d), potencial zeta (ξ) e índice de polidispersividade (IPD) para a emulsão de óleo de castanhas 3% m/m com 5% de tensoativos com diferentes valores de EHL.

Amostra	EHL	d (nm)	IPD	- ξ (mV)
1C	6,4	430	0,32	4,96
2C	7,5	406,3	0,28	9,93
3C	8,58	271,5	0,21	7,15
4C	9,65	316,5	0,3	7,5
5C	10,72	335,8	0,45	10,63

Os valores do potencial zeta (ξ) obtidos para as emulsões recém-preparadas são menores que -10 mV. Para as emulsões do tipo óleo em água, onde as gotículas de óleo têm ácidos orgânicos em sua composição e estas são estabilizadas com uma mistura de dois tensoativos não-iônicos, esse é o resultado

esperado. A região interfacial entre a gotícula (fase dispersa) e a água (fase contínua) pode ser descrita como uma região interfacial com excesso de dipolos com alguma orientação, o que resulta em uma pequena queda de potencial. A densidade de carga total líquida na região é pequena, e essa condição pode explicar os baixos valores de ξ . Esse resultado implica que a intensidade da força de repulsão entre as gotículas é pequena, facilitando os processos de instabilidade caracterizados por coalescência ou por *Ostwald ripening*, que dependem do contato interfacial das gotículas (CAPEK, 2004). Há uma tendência a um aumento para valores mais negativos do potencial zeta com o aumento do EHL, o que pode indicar maior estabilidade nas emulsões.

Com relação ao teste da centrífuga, as emulsões de óleo de castanha permaneceram estáveis.

Os dados de pH para as diferentes emulsões estão apresentados na Tabela 9. Independentemente do valor de EHL, o pH das emulsões recém-preparadas é igual. Não se observa uma variação significativa do pH com o tempo e, após o teste acelerado em estufa a 40°C por 40 dias, essa resposta pode ser atribuída à maior quantidade de tensoativos nas emulsões (5%), proporcionando maior estabilidade ao sistema.

Os valores de tamanho das gotículas das emulsões mantidas à temperatura ambiente por seis meses são invariantes para a emulsão preparada com EHL 8,58, indicando que esse valor é o adequado para a maior estabilidade do sistema. Os valores do diâmetro médio em função do tempo para as emulsões de óleo de castanha estão apresentados na Figura 42. Na figura, pode ser observada a alta estabilidade das emulsões de óleo de castanha.

Como não há nenhum resultado na literatura apresentando o valor de EHL para o óleo de castanha, assumimos que o valor seja próximo de 8,5.

Tabela 9 – Valores do pH para as emulsões de óleo de castanha 3% m/m recém-preparadas, após 40 dias de repouso a 25°C e em estufa a 40°C.

Amostras	pH recém-preparada	pH T= 25 °C 40 dias	pH T= 40 °C 40 dias
1C	7,36	6,49	6,93
2C	7,28	6,53	6,89
3C	7,18	6,39	6,72
4C	7,15	6,42	6,64
5C	7,28	6,45	6,79

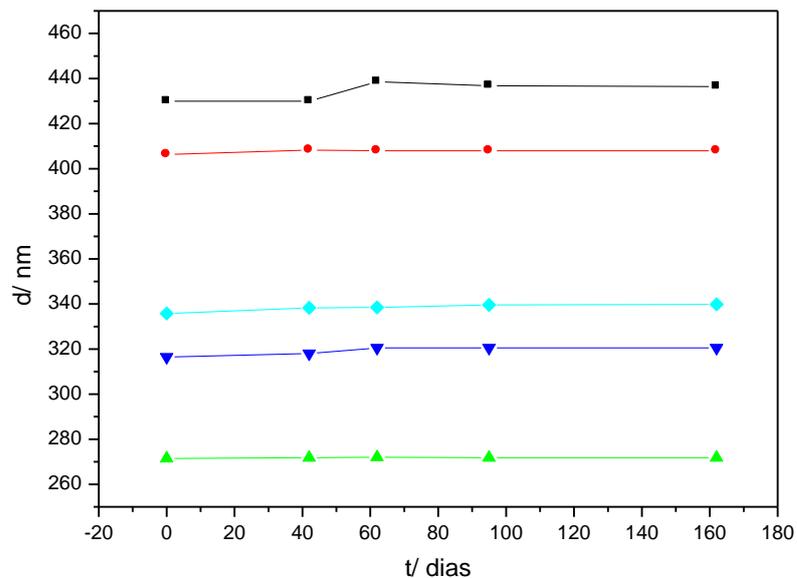


Figura 42 – Tamanho médio das gotículas de óleo nas emulsões de óleo de castanha 3% m/m em água em função do tempo para diferentes valores de EHL: (▪) 6,4, (●) 7,5, (▲) 8,58, (◆) 10,72 e (▼) 9,65.

CAPÍTULO V – CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Foi possível preparar sistemas nanoestruturados na forma de nanoemulsões com os óleos de amêndoas e de castanha. Obteve-se uma nanoemulsão estável com o óleo de castanha, e a estabilidade da emulsão de óleo de amêndoas depende da quantidade de tensoativo.

No caso do óleo de amêndoas, o tamanho mínimo obtido para as gotículas de óleo foi de 160 nm para a emulsão com 1,5% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m da mistura de tensoativos com EHL igual a 6,22. Para o óleo de castanha, a condição de tamanho mínimo das gotículas de 270 nm foi obtida para a emulsão com 3% m/m de óleo de castanha e 5% m/m da mistura de tensoativos com EHL igual a 8,58.

Os valores de EHL com os quais obtivemos o menor tamanho e a maior estabilidade podem ser associados aos valores de EHL para os óleos iguais a 6,22 e 8,58, para os óleos de amêndoas e castanha, respectivamente. Esse valor de EHL para o óleo de castanha (*Bertholletia excelsa*) é o primeiro resultado a ser reportado na literatura.

A associação das medidas de tamanho de gotículas e de viscosidade para determinar o EHL dos óleos mostrou constituir uma ferramenta mais precisa para determinar o EHL dos óleos.

O índice de *Ostwald ripening* pode ser utilizado para avaliar a estabilidade de nanoemulsões. Um resultado importante observado neste trabalho para o óleo de amêndoas foi a mudança de mecanismo para a instabilidade de aumento das gotículas de *Ostwald ripening* para coalescência. Esse resultado foi obtido para a emulsão preparada com 30% m/m de óleo de amêndoas e 5% m/m de tensoativos com EHL = 10,72. Esse resultado indica a existência de um diâmetro crítico a partir do qual a coalescência começa a ocorrer.

CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSON, A. W., Physical Chemistry of Surfaces, New York: John Wiley and Sons, 4 Ed., 1982, 664p.

ANSEL, M. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V J. Farmacotécnica: Formas farmacêuticas & Sistemas de liberação de fármacos. 6ª ed., São Paulo: Premier (Ed.), 281-316, 1999.

ASKIN, M.A.; BALTA, M.F.; TEKINTAS, F.E.; KAZANKAYA, A.; BALTA, F.; Fatty acid composition affected by kernel weight in almond [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb.] genetic resources, *Journal of Food Composition and Analysis* **20** , 7–12, 2007.

ATTWOOD, D. Sistemas Dispersos. In: AULTON M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed (Ed.), 2005. p. 85-112.

BARATA, E. A. F., A Cosmetologia – Princípios Básicos, São Paulo, Tecnopress Editora e Publicidade Ltda., 1995.

BARRY, B. Transdermal drug delivery. In: ALTON, M. E. Pharmaceutics the science of dosage form design. London: Churchill Livingstone, 499-533, 2002.

BAUMANN, L. Dermatologia Cosmética: Princípios Básicos, Revinter, Rio de Janeiro, 2005.

BECHER, S. E. & SCHICK, M. J. Macroemulsions. In: SCHICK, M. J. Surfactant Science Series, Nonionic Surfactants – Physical Chemistry. New York: Marcel Dekker Inc. (Ed.), **23**, p.435-491, 1987.

BENITA, S. & LEVY, M.Y., Submicron emulsions as colloidal drug for intravenous administration: Comprehensive physicochemical characterization, *J. of Pharmaceutical Science*, **82**, 1069-1070, 1993.

BLOISE, M. I. Óleos vegetais e especialidades da floresta amazônica, *Cosmetics & Toiletries (Ed. Port.)*, **15** (5) 46-49, 2003.

BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. *International Journal of Pharmaceutics*, **280**, 241-251, 2004.

CAMARGO, M. F. P. Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá e óleo essencial de lavanda e avaliação da atividade antiinflamatória tópica. Ribeirão Preto. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2008.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, **107**, 125-155, 2004.

DERKACH, S. R., Rheology of Emulsions, *Adv. In Colloid and Interface Sci.*, **151**, 1-23 (2009).

FERNANDEZ, P.; ANDRÉ, V.; RIEGER, J.; KÜHMLE, A. Nano-emulsions formation by emulsion phase inversion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **251**, p. 53-58, 2004.

FORGIARINI, A., ESQUENA, J. GONZALEZ, C., SOLANS, C., Formation of Nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature, *Langmuir*, **17**, 2076 - 2083, 2001.

FORTUNATO, E. As metas da nanotecnologia: Aplicações e implicações. Universidade do Porto, Portugal, 2007.

GRIFFIN, W.C.. Classification of Surface-Active Agents by “HLB”. Journal of The Society of Cosmetic Chemists **1**, 311-326, 1949.

GUTERRES, S. S.; PASA, A. A.; PIMENTA, M. A. Raios-X da nanociência brasileira. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC. 58. 2006. Florianópolis. pag. 9-13. Anais eletrônicos, disponível em: http://www.sbpcnet.org.br/arquivos/arquivos_181, consultado em 10 abril de 2008.

HOLMBERG, K., Surfactant-templated nanomaterials synthesis, Journal of Colloid and Interface Science, **274** (2), 355-364, 2010.

HOWE, A. M. & PITT, A. R., Rheology and stability of oil-in-water nanoemulsions satabilised by anionic surfactant and gelatin 1) addition of nonionic, cationic and ethoxylated – cationic co-surfactants, Adv. In Colloid and Interface Sci., **144**, 24-29 (2008).

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, Int. J. Mass Spectrom. (2011), *in press* doi:10.1016/j.ijms.2010.12.005.

JENNY, J. A. & SHAHIDI, F., Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) Journal of Functional Foods, **2** (3), 196-209, 2010.

LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A., KANIG, J.L. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Fundação Galouste Goubenkian, Lisboa, 2001.

LAWRENCE, M. J. & RESS, G. D., Microemulsion based medias as novel drug delivery systems, Adv. Drug Delivery Reviews, **45**, 89-12, 2000.

LEONARDI, G. R. Cosmetologia aplicada. Medfarma, pag. 56-57, 2000.

LEVY, M.Y. & BENITA S., Drug release from submicronized o/w emulsion: a new in vitro kinetic evaluation model, International Journal of Pharmaceutics, **66** (1-3), 29-37, 1990.

LOCHHEAD, R. Y. Emulsions. *Cosmetics & Toiletries*, **109** (5), 93-103, 1994.

MARTINI, E.; Nanoemulsões catiônicas como sistemas de liberação de oligonucleotídeos: Formulação e caracterização físico-química. 2005. Dissertação (Mestrado em Produção e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005, 106p.

MORALES, D. GUTIÉRREZ, J. M., GARCIA-CELMA, M. J., SOLANS, C., A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nanoemulsion formation, *Langmuir*, **19**, 7196 - 7200, 2003.

MORRISON, I. D.; ROSS, S. Emulsions. Colloidal dispersions -Suspensions, Emulsions and Foams. New York: John Wiley & Sons Ltd. (Ed.), 2002. p. 420-455.

OLIVEIRA, B. R. Desenvolvimento e avaliação de nanoemulsões com óleos de *Carapa guianensis* e *Copaífera sp.* e estudo da ação repelente frente a *Aedes aegypti*. Dissertação (Mestrado), Ribeirão Preto – USP, 2008.

SAJJADI, S.; ZERFA, M.; BROOKS, B. W. Phase inversion in p-xylene-water emulsions with the non-ionic surfactant pair sorbitan monolaurate/polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Span20/Tween20). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **218**, 241-254, 2003.

SAJJADI, S., Nanoemulsion Formation by Phase Inversion Emulsification: On the Nature of Inversion, *Journal of Colloid and Interface Science*, **26** (1), 70-74, 1968.

SAJJADI, S. ,Nanoemulsion Formation by Phase Inversion Emulsification: On the Nature of Inversion, *Langmuir*, **22**, 5597-5603, 2006.

SALAGER, J. L., Quantifying the concept of physic-chemical formulation in surfactant-oil-water systems- State of the art, *Progr. Colloid Polym Sci*, **100**, 137-142, 1996.

SALAGER, J. L., FORGIARINI, A., MÁRQUEZ, L., PEÑA, A., PIZZINO, A. M., RODRIGUEZ, P., RONDÓN-GONZÁLEZ, M., Using emulsion inversion in industrial processes, *Advances in Colloid and Interface Science*, **108-109**, 259-272, 2004.

SFAHLAN, A. J., MAHMOODZADEH, A., HASANZADEH, A., HEIDARI, R., JAMEI, R., Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype, *Food Chemistry*, **115**, 529–533, 2009.

SHAI, A., MAIBACH, H. I., BARAN, R., *Handbook of Cosmetic Skin Care*, Reino Unido, Martin Dunitz Ltd, 2001.

SHINODA, K. & SAITO H., The effect of temperature on the phase equilibria and the types of dispersions of the ternary system composed of water, cyclohexane, and nonionic surfactant, *Journal of Colloid and Interface Science*, **26** (1), 70-74, 1968.

SOLÈ, I., PEY C. M., MAESTRO, A., GONZÁLEZ, C., PORRAS, M., SOLANS, C. & GUTIÉRREZ, J. M., Nano-emulsions prepared by the phase inversion composition method: Preparation variables and scale up, *Journal of Colloid and Interface Science*, **344** (2), 417-423, 2010.

SONNEVILLE-AUBRUN, O.; SIMONNET, J. T. & L'ALLORET, F.; Nanoemulsions: A new vehicle for skincare products, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **108-109**, 145-149, 2004.

TADROS, T. F.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J. & SOLANS, C., Formation and Stability of nano-emulsions, *Advances in Colloid and Interface Science*, **108- 109**, 303-318, 2004.

TAISNE, L., WALSTRA, P., CABANE, B., Transfer of Oil between Emulsion Droplets, *J. of Colloid and Interface Science*, 184, Issue 2, 378-390, 1996.

TAKEOKA, G. R. & DAO, L. T., Antioxidant constituents of Almond [*Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb] Hulls, *J. Agric. Food Chem*, **51**, 496-501, 2003.

TAYLOR, P., Ostwald Ripening in emulsions, Adv. In Colloids and Interface Science, **75**, 107-163, 1998.

TAYLOR, P., Ostwald Ripening in emulsions, Coll and Surfaces A: Physicochem and Engineering Aspects, **99**, 175-185, 1995.

ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; CHIMELLI, M. C.; OLIVEIRA, A. B., Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (ehl) de óleos de origem vegetal, *Visão Acadêmica*, Curitiba, **3** (1), 13-18, 2002.