



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO COSMÉTICA,  
POR HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO CONTENDO ÓLEO DE  
MARACUJÁ (*Passiflora edulis*) ENRIQUECIDO COM VITAMINA E.**

**ERIKA DA SILVA MOURÃO**

**Belém – Pará**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO COSMÉTICA,  
POR HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO CONTENDO ÓLEO DE  
MARACUJÁ (*Passiflora edulis*) ENRIQUECIDO COM VITAMINA E.**

Autora: Erika da Silva Mourão

Orientador: Prof. Dr. José Otávio Carréra Silva Junior

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Belém – Pará**

**2019**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Erika da Silva Mourão**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO COSMÉTICA,  
POR HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO CONTENDO ÓLEO DE  
MARACUJÁ (*Passiflora edulis*) ENRIQUECIDO COM VITAMINA E.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. José Otávio Carréra Silva Júnior (Orientador)

Instituição: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

---

Prof. Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa (1º Examinador)

Universidade Federal do Pará

---

Profª. Dra. Russany da Silva Costa (2º Examinador)

Universidade Federal do Pará

## **DEDICATÓRIA**

A minha mamãe, por todo apoio e carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A Ele, pois, a gloria eternamente. Amém!

A minha mãe Priscila, que me ensinou valores, que sempre me incentivou na minha caminhada do meu crescimento profissional. Que sempre me deu suporte em todos os momentos e situações.

A minha irmã Erininha, pelo apoio e pela paciência.

Ao meu Orientador Prof<sup>o</sup>. Dr. José Otávio Carrera Junior pela oportunidade de desenvolver esse trabalho em seu laboratório e pela orientação concedida.

A professora Dra. Roseane Maria Ribeiro Costa pela disponibilização do laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica (Nanofarm) para realização de análises.

Ao professor Dr. Carlos Emmerson pela disponibilização do laboratório de óleos da Amazônia.

Ao professor Dr. Jose Guilherme Soares Maia pela disponibilização do laboratório de Engenharia de Produtos Naturais (LEPRON).

Ao professor Dr. Antônio Manoel da Cruz Rodrigues pela disponibilização do laboratório de Medições Físicas.

Aos colegas do Laboratório P&D Farmacêutico e Cosmético e Nanofarm, Amanda, Antônio, Diego, Elson, Fernanda, Isabela, Kamila, Lorena, Louze, Raimundo, Rayanne, Rodrigo, Russany, Saulo e Suellen que me ajudaram de alguma forma, direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste projeto. Pela convivência no laboratório e pelas contribuições. Em especial as minhas amigas Lindalva Ferreira e Ellen Caroline que ingressaram junto comigo no mestrado. Obrigada por toda amizade, pelas conversas e pela companhia sempre agradável.

As secretarias Cliciane e Dona Brasília e a coordenadora professora Dra. Marta Chagas Monteiro do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pelo apoio.

A Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade de ter realizado esse trabalho.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fomento da bolsa.

A todos que contribuíram para realização desse trabalho, meu muito obrigada.

## RESUMO

MOURÃO, E. da S. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO COSMÉTICA, POR HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO CONTENDO OLEO DE MARACUJA (*Passiflora edulis*) ENRIQUECIDO COM VITAMINA E. 77f. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

Nanoemulsões são emulsões cineticamente estáveis e são promissoras nas ciências cosméticas por aumentar o poder de hidratação e de permeação cutânea entre outros benefícios. O óleo de maracujá pode compor a fase oleosa de nanoemulsões, pois apresenta ácidos graxos em sua composição com ação emoliente. A adição de vitaminas em formulações cosméticas tem sido um fato bastante frequente, dentre está a vitamina E, que são encontradas em formulações antienvhecimento, pois além de ser umectante, é, também, um potente neutralizador de radicais livres. Desta, forma o objetivo deste trabalho foi obter e caracterizar nanoemulsão cosmética, contendo óleo de maracujá e vitamina E, pelo método de homogeneização a alta pressão (HAP). Os índices de acidez, densidade, índice de saponificação, índice de iodo e refração, como também testes mais precisos como análise do perfil lipídico por cromatografia gasosa acoplada a massa (CG-MS), estabilidade oxidativa-Rancimat, espectroscopia no infravermelho (FT-IR) e análise térmica (TG e DTA) serviram para caracterização do óleo vegetal. Foram formuladas diferentes nanoemulsões variando as proporções das fases oleosas e aquosas e com diferentes pares de tensoativos. Além da adição da vitamina E (2,0%). Na análise por CG-MS apresentou 47,76 % de ácido linoleico e 34,80 % de ácido oleico como os principais constituintes. O tempo de indução do óleo de maracujá foi de 10,5h. Na medição inicial os valores de potencial zeta foram (-46,0 mV), (-29,3mV) e (-38,6mV) para as nanoemulsões armazenadas na temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) em estufa ( $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e em geladeira ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) respectivamente. Os valores dos índices de polidispersão também não variaram, assim como o diâmetro médio das partículas. Quanto aos aspectos macroscópicos, não houve sinais de alteração, como de separação de fases. Em conclusão, os resultados conquistados demonstra que as nanoemulsões com óleo de maracujá é promissora para aplicação na área cosmética.

**Palavras-chave:** Nanoemulsão Cosmética, Caracterização Físico-Química, Homogeneizador a Alta Pressão, Estabilidade Preliminar.

## ABSTRACT

MOURÃO, E. da S. OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF COSMETIC NANOEMULSION BY HIGH PRESSURE HOMOGENIZATION CONTAINING MARACUJA OIL (*Passiflora edulis*) ENHANCED WITH VITAMIN E.77f. Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pará, Belém, 2019.

Nanoemulsions are kinetically stable emulsions and are promising in the cosmetic sciences because they increase the power of hydration and skin permeation, among other benefits. Passion fruit oil can make up the oily phase of nanoemulsions, as it has fatty acids in its composition with emollient action. The addition of vitamins in cosmetic formulations has been a very frequent fact, among which is vitamin E, which are found in anti-aging formulations, because in addition to being humectant, it is also a potent neutralizer of free radicals. Thus, the objective of this work was to obtain and characterize cosmetic nanoemulsion, containing passion fruit oil and vitamin E, using the high pressure homogenization method (PAH). The acidity, density, saponification index, iodine index and refraction indices, as well as more accurate tests such as analysis of the lipid profile by mass-gas chromatography (CG-MS), oxidative stability-Rancimat, infrared spectroscopy (FT- IR) and thermal analysis (TG and DTA) were used to characterize vegetable oil. Different nanoemulsions were formulated, varying the proportions of the oil and water phases and with different pairs of surfactants. In addition to the addition of vitamin E (2.0%). In the analysis by CG-MS it presented 47.76% of linoleic acid and 34.80% of oleic acid as the main constituents. The passion fruit oil induction time was 10.5 hours. In the initial measurement, the zeta potential values were (-46.0 mV), (-29.3mV) and (-38.6mV) for nanoemulsions stored at room temperature ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) in an oven ( $45 \pm 2^\circ\text{C}$ ) and in refrigerator ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) respectively. The values of the polydispersity indices also did not vary, as did the average diameter of the particles. As for macroscopic aspects, there were no signs of alteration, such as phase separation. In conclusion, the results achieved demonstrate that nanoemulsions with passion fruit oil are promising for application in the cosmetic area.

**Keywords:** Cosmetic Nanoemulsion, Physical-Chemical Characterization, High Pressure Homogenizer, Preliminary Stability.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01:</b>	Nanoemulsão O/A e A/O.	21
<b>Figura 02:</b>	Fruto e sementes de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> ).	26
<b>Figura 03:</b>	Representação esquemática da solução mãe e preparo das amostras.	38
<b>Figura 04:</b>	Perfil dos ácidos graxos do óleo de maracujá.	49
<b>Figura 05:</b>	Espectro na região do infravermelho do óleo de maracujá.	50
<b>Figura 06:</b>	Tempo de indução do óleo de maracujá.	52
<b>Figura 07:</b>	Curva TG/TDG do óleo de maracujá.	53
<b>Figura 08:</b>	Nanoemulsões com diferentes valores de EHL.	56
<b>Figura 09:</b>	Distribuição de tamanho da nanoemulsão contendo os tensoativos Procetyl e Span <sup>®</sup> 80.	58
<b>Figura 10:</b>	Distribuição de tamanho da nanoemulsão contendo os tensoativos Procetyl e Span <sup>®</sup> 60	58
<b>Figura 11:</b>	Distribuição de tamanho da nanoemulsão contendo os tensoativos Span <sup>®</sup> 60 Tween <sup>®</sup> 80.	58
<b>Figura 12:</b>	Nanoemulsões contendo óleo de maracujá e vitamina E.	61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01:</b>	Principais vantagens e desvantagens dos métodos de homogeneização a alta pressão, microfluidização, ultrasonificação e emulsificação espontânea.	24
<b>Tabela 02:</b>	Valores de EHL dos tensoativos lipofílicos e hidrofílicos.	40
<b>Tabela 03:</b>	Misturas dos tensoativos Span 80 <sup>®</sup> e Procetyl AWS <sup>®</sup> e seus respectivos EHL.	41
<b>Tabela 04:</b>	Misturas dos tensoativos Span 60 <sup>®</sup> e Twen 80 <sup>®</sup> e seus respectivos EHL.	41
<b>Tabela 05:</b>	Misturas dos tensoativos Span 60 <sup>®</sup> e Procetyl AWS <sup>®</sup> e seus respectivos EHL.	42
<b>Tabela 06:</b>	Previa composição das nanoemulsões.	42
<b>Tabela 07:</b>	Composição final da nanoemulsão.	43
<b>Tabela 08:</b>	Caracterização físico-química do óleo de maracujá.	46
<b>Tabela 09:</b>	Composição percentual dos ácidos graxos do óleo de maracujá e de outros óleos por cromatografia gasosa (CG).	48
<b>Tabela 10:</b>	Bandas de absorção na região do infravermelho de ligações moleculares do óleo de maracujá.	51
<b>Tabela 11:</b>	Etapas de perda de massa da curva TG/DTG do óleo de maracujá.	54
<b>Tabela 12:</b>	Atividade antioxidante do óleo de maracujá pelos métodos de ABTS e $\beta$ -caroteno/ ácido linoleico.	55
<b>Tabela 13:</b>	Tamanho de partículas e PDI das nanoemulsões com diferentes valores de EHL.	57
<b>Tabela 14:</b>	Relação entre numero de ciclos, baar, tamanho de partículas e PDI.	60
<b>Tabela 15:</b>	Análise da nanoemulsão submetida ao ciclo gela degela.	62
<b>Tabela 16:</b>	Valores de pH no intervalo de tempo de 24h, 7, 14, 21 e 28 dias, em diferentes temperaturas.	63
<b>Tabela 17:</b>	Resultado da caracterização físico química da nanoemulsão ao logo do tempo acondicionada em temperatura ambiente.	66

<b>Tabela 18:</b>	Resultado da caracterização físico química da nanoemulsão ao longo do tempo acondicionada em geladeira.	66
<b>Tabela 19:</b>	Resultado da caracterização físico química da nanoemulsão ao longo do tempo acondicionada em estufa.	67

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 01:</b>	Índice de acidez	34
<b>Equação 02:</b>	Índice de densidade	35
<b>Equação 03:</b>	Índice de iodo	35
<b>Equação 04:</b>	Índice de saponificação	35
<b>Equação 05:</b>	Atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS	38
<b>Equação 06:</b>	Resultado da atividade antioxidante pelo método $\beta$ -caroteno/acido linoleico	39
<b>Equação 07:</b>	Valor de EHL	40

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>ABIHPEC</b>	Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal Perfumaria e Cosméticos
<b>ABTS</b>	2,2- azinobis- (3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AOCS</b>	<i>American Oils Chemists Society.</i>
<b>A/O</b>	Água em óleo
<b>ATR</b>	Refletância Total Atenuada
<b>CG-MS</b>	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa
<b>DTG</b>	Termogravimetria Derivada
<b>EHL</b>	Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico
<b>EPI</b>	<i>Emulsion Phase Inversion</i>
<b>FA</b>	Fase Aquosa
<b>FDI</b>	Flame Ionization Detection
<b>FO</b>	Fase Oleosa
<b>FT-IR</b>	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
<b>HAP</b>	Homogeneização de Alta Pressão
<b>IFSCC</b>	International Federation of Societies of Cosmetic Chemists
<b>INCI</b>	Internacional Nomenclature of Cosmetic Ingredients
<b>O/A</b>	Óleo em água
<b>PDI</b>	Índice de Polidispersão
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>PIC</b>	<i>Phase Inversion Composition</i>
<b>PIT</b>	<i>Phase Inversion Temperature</i>
<b>PM</b>	Peso Molecular Médio dos Ácidos Graxos
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria Colegiada
<b>TG</b>	Termogravimetria
<b>TROLOX</b>	6-Hidroxi-2,5,7,8- tetrametilchromano-2-acido carboxilico
<b>UVB</b>	Ultravioleta

## LISTA DE SIMBOLOS E UNIDADES

<b>cm</b>	Centímetro
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>°C/min</b>	Graus Celsius por minuto
<b>g</b>	Gramas
<b>g/mol</b>	Gramas por mol
<b>g/mL</b>	Gramas por mililitro
<b>gI<sup>2</sup>/100g</b>	Gramas de iodo por 100 gramas
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>L/h</b>	Litro por hora
<b>min</b>	Minutos
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mL/min</b>	Mililitros por minutos
<b>mol/L</b>	Mol por litro
<b>mg</b>	Miligrama
<b>N</b>	Normal
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>p/p</b>	Peso por peso
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>μL</b>	Microlitros
<b>μM</b>	Micromols
<b>%</b>	Porcentagem

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b>	18
2.	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	20
2.1.	PELE	20
2.2.	NANOEMULSÕES	21
2.2.1.	NANOEMULSÕES COSMÉTICAS	22
2.2.2.	MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE NANOEMULSÕES	22
2.2.2.1.	MÉTODOS DE BAIXA ENERGIA	22
2.2.2.2.	MÉTODOS DE ALTA ENERGIA	23
2.2.2.2.1.	HOMOGENEIZAÇÃO DE ALTA PRESSÃO	23
2.3.	<b>Óleo de maracujá</b>	25
2.4.	<b>Vitamina E</b>	26
2.5	<b>Estabilidade de Produtos Cosméticos</b>	27
2.6	<b>Ensaio Físico-Químico para Caracterização de Óleos Vegetais</b>	28
2.6.1.	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG-MS)	28
2.6.2.	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)	28
2.6.3.	ESTABILIDADE OXIDATIVA-RANCIMAT	29
2.6.4.	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG)	30
2.7.	<b>Atividade Antioxidante do Óleo de Maracujá</b>	30
2.7.1.	Atividade Antioxidante pelo Método do ABTS	30
2.7.2.	Atividade Antioxidante no sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoléico	31
3.	<b>OBJETIVOS</b>	32
3.1.	OBJETIVO GERAL	32
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4.	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	33

4.1.	<b>Materiais</b>	33
4.1.1.	DESENVOLVIMENTO DA NANOEMULSÃO	33
4.1.1.1.	Fase oleosa	33
4.1.1.2.	Fase aquosa	33
4.1.1.3.	Tensoativos	33
4.1.1.4.	Aditivo	34
4.2.	<b>Métodos</b>	34
4.2.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO ÓLEO DE MARACUJÁ	34
4.2.1.1.	Índice de acidez	34
4.2.1.2.	Índice de densidade relativa	35
4.2.1.3.	Índice de iodo e saponificação	35
4.2.1.4.	Índice de refração	36
4.2.1.5.	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	36
4.2.1.6.	Perfil dos Ácidos Graxos por Cromatografia Gasosa Acoplada a Massa (CG-MS)	36
4.2.1.7.	Estabilidade Oxidativa – RANCIMAT	37
4.2.1.8.	Análise Térmica do óleo de maracujá	37
4.3.	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE MARACUJÁ	37
4.3.1.	Atividade Antioxidante pelo Método ABTS	37
4.3.2.	Atividade Antioxidante utilizando-se o sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico	38
4.4.	DETERMINAÇÃO DO EQUILÍBRIO HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO (EHL) REQUERIDO PARA O ÓLEO DE MARACUJÁ	39
4.5.	OBTENÇÃO DAS NANOEMULSÕES	43
4.5.1.	Incorporação da Vitamina E	43
4.6.	ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR	44
4.6.1.	Avaliação Macroscópica	44
4.6.2.	Teste de Centrifugação	44

4.6.3.	Ciclo Gela-Degela	44
4.7.	<b>CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA NANOEMULSÃO</b>	45
4.7.1.	Determinação do pH	45
4.7.2.	Determinação do tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão	45
5.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	46
5.1.	<b>Caracterização físico-química do óleo de maracujá</b>	46
5.1.2.	Determinação do perfil dos ácidos graxos por cromatografia gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS)	47
5.1.3.	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	49
5.1.4.	Estabilidade Oxidativa do óleo de maracujá – RANCIMAT	51
5.1.5.	Análise térmica do óleo de maracujá	53
5.2.	<b>Determinação da Atividade Antioxidante</b>	55
5.2.1.	Atividade Antioxidante do óleo de maracujá pelos Métodos de ABTS e $\beta$ -caroteno/ácido linoleico	55
5.3.	<b>Determinação do EHL requerido pelo óleo de maracujá</b>	56
5.4.	<b>Obtenção da nanoemulsão</b>	59
5.5.	<b>Testes de estabilidade preliminar</b>	60
5.5.1.	Avaliação Macroscópica	61
5.5.2.	Centrifugação	61
5.5.3.	Ciclo Gela-Degela	61
5.6.	<b>Caracterização físico-química da nanoemulsão</b>	62
5.6.1.	Determinação do pH	62
5.6.2.	Determinação do tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão	64
6.	<b>CONCLUSÕES</b>	68
	<b>REFERÊNCIAS</b>	69

## 1.INTRODUÇÃO

O setor de cosméticos tem mostrado grande expansão no mercado mundial e é considerado um bom foco para investimento. De acordo com dados da Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2018), o Brasil ocupa o quarto lugar no ranking do mercado mundial desses produtos, ultrapassando a França e estando atrás apenas dos Estados Unidos, China e Japão. O Brasil possui grande potencial de crescimento tendo como características: ser fonte de princípios ativos e insumos (principalmente os de origem natural) (ABDI). Novas tecnologias vêm sendo propostas para melhorar o desempenho dos produtos cosméticos e sua aceitação pelo consumidor.

A nanotecnologia tem sido utilizada no desenvolvimento de formulações cosméticas mais estáveis, mais eficazes e com sensorial cosmético diferenciado (KULKAMP et al., 2012). 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). Devido ao tamanho pequeno e uniforme de gota, as nanoemulsões são transparentes, fluidas e agradáveis ao toque (SARKER&GUGLIELMINI, 2008). Em comparação com emulsões tradicionais, as nanoemulsões têm melhores propriedades de espalhabilidade na pele (WU&GUY, 2009).

A obtenção de nanoemulsões pode envolver alta ou baixa energia de emulsificação. As técnicas que fazem uso de alta energia recorrem à energia mecânica por meio de alta tensão de cisalhamento, geralmente por meio de homogeneização de alta pressão (HAP) ou geradores de ultrassom (FERNANDEZ *et al.*, 2004). A HAP apresenta diversas vantagens quando comparada as outras técnicas e por isso vem sendo utilizada com maior frequência. As vantagens referentes a essa técnica são: produção em larga escala, não há necessidade de utilizar solventes orgânicos, permite trabalhar em condições assépticas e o tempo de preparo é relativamente curto (MARCATO, 2009).

Cosméticos naturais formam uma tendência já bem consolidada no mercado europeu e que tem ganhado espaço em outros mercados de forma consistente. Consumidores demandam produtos naturais por diversos motivos, dentre eles, percepção de serem mais saudáveis e seguros ou por serem menos agressivos ao meio

ambiente. Tal demanda tem sido reforçada por novas tendências comportamentais como a do consumo ético, e de estilo de vida saudável e consciente (GELALETI, et al., 2019).

Os óleos vegetais vêm sendo constantemente empregados em formulações cosméticas por apresentarem em sua composição ácidos graxos semelhantes existentes na epiderme (TRADOS, 2004), além de apresentarem atividade antioxidante, auxiliando no processo antienvhecimento dos radicais livres. Neste, contexto o óleo de maracujá é rico em ácido linoleico, oleico e palmítico, além de ácido ascórbico, beta caroteno e flavonoides (LOPES, 2010). Além dos óleos vegetais, estudos indicam certas vitaminas e seus derivados para melhorar o desempenho de cosméticos, com ação preventiva, retardando ou evitando certas alterações degenerativas associadas ao processo de envelhecimento da pele (ALMEIDA, 2008). Dentre essas vitaminas se destaca a vitamina E que apresenta uma importante função de estabilizar a bicamada lipídica das membranas além de prevenir a peroxidação lipídica nas células de animais e pode ser utilizada tanto como suplementação oral, ou em formulações tópicas. É usada também para reduzir rugas e a formação de tumores cutâneos. Os ésteres da vitamina E são inativos, porém quando penetram na pele, transformam em sua forma ativa, ou seja, o alfa-tocoferol livre (RIBEIRO, 2010).

Neste sentido, este trabalho tem como objetivo obter e caracterizar uma nanoemulsão cosmética utilizando o óleo de maracujá, enriquecida com vitamina E. O trabalho está dividido em três etapas, primeira etapa consiste na caracterização física química e na atividade antioxidante do óleo de maracujá, a segunda etapa na obtenção da nanoemulsão por homogeneização a alta pressão (HAP) e a terceira etapa testes de estabilidade da nanoemulsão e caracterização físico-química da nanoemulsão.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Pele**

A pele é constituída por três camadas de tecido: epiderme, derme e hipoderme (DAL'BELO, 2008). É um órgão complexo que recobre toda a superfície do corpo humano, correspondendo 16% do seu peso total. A pele age como uma barreira física, sendo a epiderme a camada responsável pela proteção contra as ações do meio ambiente (VENUS; WATERMAN; MCNAB, 2010). É um órgão especializado que participa da resposta do sistema imunológico contra a penetração de agentes químicos e patógenos, graças a suas elaboradas estruturas, que associa tecidos de origem epitelial, conectivo, vascular, muscular e nervoso. Participa ainda da regulação corporal e da função sensorial de detecção de estímulos de toque, vibração, pressão, temperatura, dor e prurido (KHAVKIN&ELLIS, 2011).

A epiderme é uma estrutura estratificada e avascular, constituída por quatro estratos sendo a córnea a mais superficial (WONG, et al., 2016). O estrato córneo é relativamente impermeável, devido a dois fatores: o arranjo dos queratinócitos, que são interligados através da proteína fibrosa e dos espaços intercelulares preenchidos por uma matriz lipídica, que confere uma matriz robusta a prova d'água (VENUS; WATERMAN; MCNAB, 2010). É preciso pontuar, no entanto, que algumas substâncias, em diferentes proporções e dependendo da região do corpo poderão penetrar na pele (VENUS; WATERMAN; MCNAB, 2010).

A permeação de substâncias através da pele ocorre principalmente através de duas vias, sendo elas: a via transcelular, na qual o fármaco atravessa os corneócitos e a matriz lipídica; e a via intercelular, por meio da qual o fármaco difunde-se ao redor dos corneócitos pela matriz lipídica intercelular. Existe também, a anexial, onde os fármacos são absorvidos pelo folículo piloso, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas (WONG et al., 2016). A via anexial proporciona a penetração rápida de substâncias devido a superfície da epiderme ser permeável nestes locais (OLIVEIRA&SANTOS, 2011). A penetração de substâncias na pele se faz de maneira complicada, pois é dependente das propriedades do ativo e de seu comportamento quando incorporado a um veículo, considerando um desafio, pois deve permitir a entrada do ativo e não de outros agentes exógenos (CHORILLI et al., 2007).

## 2.2. Nanoemulsões

Nanoemulsões são sistemas cineticamente estáveis, caracterizados por apresentarem o tamanho dos glóbulos na escala monométrica. O tamanho dos glóbulos das nanoemulsões variam entre 50 e 500 nm, o produto final pode ser transparente (que permite a passagem de luz e é possível ver nitidamente através da nanoemulsão) ou translucido (permite a passagem de luz, mas não permite visualizar através da nanoemulsão) apresentando-se estável em relação à sedimentação e cremeação (ROCHA-FILHO et al., 2014). Dependendo do tensoativo utilizado e da proporção das duas fases, podem ser emulsões O/A ou A/O (NARAYANAN, et al., 2016).

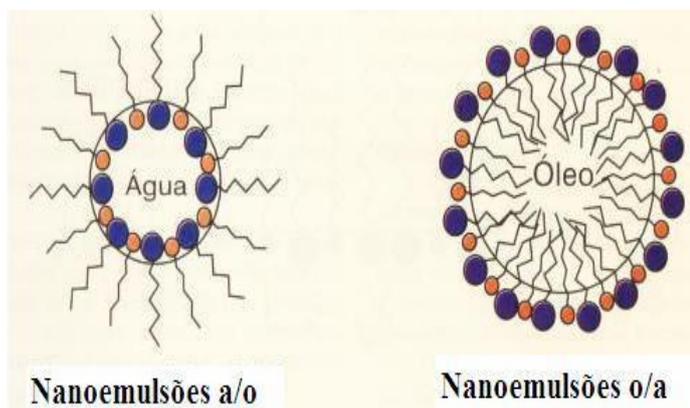


Figura01: Nanoemulsão O/A e A/O Fonte: FORMARIZ, 2005& BEDIN, 2011.

Nanoemulsões possuem vantagens quando comparado com as emulsões convencionais que proporcionam melhora na eficiência da penetração cutânea de ativos presentes na formulação, apresentam sensorial agradável e podem ser preparadas com uso de quantidades menores de tensoativos 3 a 10 %, diminuindo a possibilidade de ocorrência de irritação da pele (TADROS et al., 2016). A variedade de aplicações de nanoemulsão abrange diversos campos, incluindo a administração de medicamentos (ARAUJO, et al., 2007) as quais as nanoemulsões foram formuladas para melhorar a biodisponibilidade ocular e duração da ação do cloridrato de dorzolamida (AMMAR, et al., 2010) e na indústria cosmética, onde as nanoemulsões foram testadas quanto à hidratação da pele e facilidade de aplicação (AGOSTINHO, 2017).

### 2.2.1 Nanoemulsões Cosméticas

No campo da cosmética, as nanoemulsões vêm apresentando resultados promissores para o desenvolvimento de novos produtos com finalidade para pele (CERQUEIRA-COUTINHO et al., 2015). Também foram observados efeitos como o aumento da hidratação e da concentração de colágeno na pele, em produtos para combater o envelhecimento da pele (NGAN et al., 2015).

A utilização de nanoemulsões para aplicação em cosméticos deve se as seguintes vantagens:

- São eficientes para entrega de compostos de ativos na pele, devido ao tamanho reduzido de gotículas e grande área superficial (GUGLIELMINI, 2008);
- Aumentam a hidratação da pele e sua elasticidade, uma vez que o ativo tem maior possibilidade de atingir o extrato córneo (YILMAZ& BORCHER, 2006);
- Podem aumentar a permeabilidade de um ativo pouco solúvel (DAUDT, et al.,2013);
- Diminuem a força gravitacional e o movimento Browniano dos glóbulos e assim podem evitar a ocorrência de cremação ou sedimentação durante o armazenamento (TADROS et al., 2014, AGOSTINHO 2017 );
- Previnem a ocorrência de floculação e coalescência, das partículas mantendo o sistema disperso e estável (TADROS et al.,2014, AGOSTINHO 2017).

### 2.2.2 Métodos de Obtenção de Nanoemulsões

As nanoemulsões não se formam espontaneamente, sendo necessário fornecer energia ao sistema. De acordo com a literatura, as nanoemulsões podem ser preparadas por métodos que envolvem baixa e alta energia de emulsificação (OLIVEIRA, 2011).

#### 2.2.2.1. Métodos de Baixa Energia

Os métodos que utilizam baixa energia estão associados à transição de fases que ocorre durante o processo de emulsificação (ROCHA FILHO et al., 2014). Quando esse processo ocorre à temperatura constante e variando-se a concentração do óleo ou da água, é denominado emulsificação por inversão de fases (*Emulsion Phase Inversion* –

EPI), que por sua vez se divide em inversão de fase por alteração da composição (*Phase Inversion Composition* – PIC) e inversão de fase por variação da temperatura (*Phase Inversion Temperature*– PIT) (SOLANS; SOLÉ, 2012; YUKUYAMA et al., 2015).

#### **2.2.2.2 Métodos de Alta Energia**

Os métodos de alta energia utilizam equipamentos capazes de produzir uma força mecânica intensa que supere a força interfacial entre dois líquidos imiscíveis capazes de promover a formação de glóbulos em escala monométrica. Os métodos de alta energia produzem glóbulos menores, dada a maior energia utilizada para gera-los (SOLANS; SOLÉ, 2012).

Yukuyama et al., (2015) caracterizam os métodos de alta energia em:

- Alta tensão de cisalhamento, no qual a emulsão macrométrica é submetida a altas taxas de cisalhamento, permitindo a quebra dos glóbulos em tamanhos menores;
- Ultrasonificação, a diferença de pressão causada pelo movimento mecânico gera implosão de bolhas, cuja energia é suficiente para diminuir o tamanho dos glóbulos;
- Homogeneizador de alta pressão, método onde a emulsão é foçada a atravessar uma pequena abertura, causando diminuição do tamanho dos glóbulos por cisalhamento;
- Microfluidização, no qual os dois líquidos imiscíveis são bombeados sob alta pressão e forçados a atravessar um homogeneização.

##### **2.2.2.2.1 Homogeneização por alta pressão (HAP)**

O método de homogeneização por alta pressão (HAP) pode ser dividido em duas abordagens: técnica HAP quente ou técnica HAP fria. A técnica de HAP fria é usada para compostos extremamente sensíveis à temperatura (RYD & MASON, 2012). O composto ativo é solubilizado, dissolvido ou disperso na fase lipídica fundida em ambas as técnicas. Na técnica de HAP quente, esta mistura é dispersa em uma solução de surfactante quente acima do ponto de fusão por agitação de alta velocidade para obter a chamada pré-emulsão quente. Na técnica de HAP fria, a mistura de composto ativo e fase lipídica são resfriadas, moída e depois dispersa em uma solução surfactante fria

para obter uma pré-suspensão fria da fase micronizada. Em seguida, para ambos os métodos, a pré-emulsão ou pré-suspensão passa por um homogeneizador de alta pressão a altas temperaturas ou temperatura ambiente, respectivamente, para obter a emulsão em nanoescala (GUPTA, et al., 2016). Para obter a polidispersividade reduzida da nanoemulsão, um parâmetro adicional pode ser levado em consideração. Aumentar o número de ciclos da emulsão em um homogeneizador garante que todas as gotículas experimentem a taxa de cisalhamento de pico gerada por um dispositivo de produção de fluxo durante a emulsificação (GUPTA, et al., 2016).

Almeida, Texeira & Koester (2008). Apresentaram as principais vantagens e desvantagens encontradas nos principais métodos utilizados para obtenção de nanoemulsões.

**Tabela 01:** Principais vantagens e desvantagens dos métodos de homogeneização de alta pressão, microfluidização, ultra-sonificação e emulsificação espontânea.

<b>Métodos</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Homogeneização de alta pressão e Microfluidização	Métodos físicos capazes de conduzir a obtenção de emulsões monodispersas.  Grande disponibilidade de equipamentos com diferentes capacidades de produção	Em algumas condições experimentais, aquecimento da amostra.  Requer emprego de equipamentos específicos.
Ultra-sonificação	Facilidade na execução em escala laboratorial.	Aquecimento da amostra durante o processo  Contaminação do produto com componentes de sonda  Dificuldade na obtenção de emulsões monodispersas  Dificuldade na execução em escala industrial
Emulsificação espontânea	Facilidade na execução em escala laboratorial  Não requer equipamentos específicos  Não emprega temperatura elevada  Conduz a formação de sistemas monodispersos	Emprego de solventes orgânicos  Dificuldade na transposição para escala industrial.

### 2.3 ÓLEO DE MARACUJÁ

O nome maracujá é de origem tupi-guarani e significa "alimento que se toma sorvo" ou "alimento em forma de cuia". As estruturas das flores do maracujá deu origem ao nome do gênero *Passiflora*, vindo do latim *passio* (Paixão) e *floris* (flor) de forma que o maracujá também é conhecido como Flor da Paixão. Em inglês o maracujá é conhecido como passion fruit, ou fruto da paixão, e em espanhol, fruto de la passion. No Brasil as espécies com maior expressão comercial são *Passiflora edulis* (maracujá-azedo) e *Passiflora incarnata* (maracujá-doce). O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá. É produzido em quase todas as regiões do Brasil, é cultivado na cidade e no campo (FALEIRO&JUNQUEIRA, 2016).

Algumas espécies têm sido à base de muitos medicamentos tradicionais em todo o mundo por milhares de anos e continuam a fornecer novos medicamentos para humanidade. Com propriedades tradicionalmente conhecidas incluem ansiolíticos, anti-inflamatórios e sedativos (SANTOS et al., 2012). Muitas outras espécies são cultivadas por suas flores exóticas e ornamentais. Os frutos são os elementos de maior importância econômica desta planta (DHAWAN et al., 2004). O consumo da fruta recebe um destaque especial devido às características organolépticas exibe um aroma intenso e sabor doce-ácido. Essa fruta é considerada uma boa fonte de vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina, cálcio, fósforo e fonte de ácido ascórbico. A polpa é utilizada no preparo de sucos, refrigerantes e sorvetes (CORDEIRO, 2012).

O óleo de maracujá é extraído a partir de suas sementes, por prensagem mecânica e/ou processos de extração a base de solventes orgânicos (CARDOSO DE OLIVEIRA et al., 2013). O óleo de maracujá apresenta altas taxas de ácidos graxos insaturados com predominância do ácido linoleico, oleico, palmítico e esteárico. Compostos bioativos como: tocoferóis, carotenoides, compostos fenólicos são características desse óleo (CONCEIÇÃO, 2017).

O óleo de maracujá tem um valor promissor e uma ampla gama de usos e aplicações, farmacêuticas, cosméticas, comestíveis e não comestíveis (ZUIN&RAMIN, 2018). De acordo com análises, possui características semelhantes aos óleos comestíveis convencionais, como óleo de soja, e pode ser uma nova fonte para consumo humano (CASIERRA-POSADA&JARMA-OROZCO 2016). Como fonte de baixo teor calórico

para indústria de alimentos como suplemento dietéticos (CHAU&HUANG 2004). O ácido linoleico é encontrado na barreira lipídica e a sua remoção por sabonetes pode causar a desidratação da pele. Acredita-se que a utilização de óleos vegetais rico em ácidos linoleicos em produtos para pele pode promover a reposição, influenciando positivamente na restauração da camada lipídica da pele (GONÇALVES, 2000). O encapsulamento do óleo de maracujá em nanoemulsões é considerado uma estratégia promissora nas ciências farmacêuticas para facilitar a aplicabilidade desse produto vegetal e potencializar suas ações (NARAYANAN, at al., 2016).



Fruto e sementes de maracujá  
(*Passiflora edulis*)

Figura 02: Fruto e sementes de maracujá (*Passiflora edulis*). Fonte: PEREIRA, 2011.

## 2.4 VITAMINA E

A vitamina E é um potente antioxidante natural, sendo largamente usado pela indústria cosmética em produtos antienvhecimento (TESTON et al., 2017). É uma vitamina lipossolúvel com ação antioxidante (GIANETI, et al.,2012). Na forma tópica, tem o poder de reduzir a ação dos radicais livres, protegendo a membrana e prevenindo a formação de rugas (TESTON et al., 2017 ). Além disso, também é conhecido como um dos mais importantes inibidores da peroxidação lipídica nas células (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007). Em cosméticos usamse normalmente, os ésteres de alfa tocoferol (acetato, succinato ou linoleato de alfa tocoferol). As concentrações usuais variam de 0,1 a 2 % (ALMEIDA, et al., 2010).

A vitamina E tem sido considerado um dos mais potentes antioxidantes, uma vez que apresenta a capacidade de manter a integridade de membranas e outros componentes biológicos, além de ser muito importante em tecidos com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados, responsáveis por constituir membranas celulares

altamente suscetíveis ao ataque de radicais livres (STRUTZEL et al., 2007) . Entende-se, então, que a vitamina E age como um bloqueador das reações do processo de oxidação lipídica (TESTON; NARDINO; PIVATO, 2010; SANTOS, OLIVEIRA, 2013).

## **2.5 ESTABILIDADE DE PRODUTOS COSMÉTICOS**

Segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA), a avaliação se faz necessária para assegurar a qualidade da formulação, desde a fabricação até a expiração do prazo de validade (BRASIL, 2007). Os cosméticos possuem um mercado em grande crescimento, tendo em vista a necessidade de utilização dos mesmos pela população em geral. Agregado a esse crescimento se faz necessário assegurar aos consumidores a qualidade e estabilidade do produto ao longo de seu tempo de consumo, tendo em vista que os produtos serão utilizados no corpo humano o que requer inúmeros cuidados. A aparência dos cosméticos é de grande relevância para sua comercialização, juntamente com esse fator a eficácia e segurança em sua utilização também possuem um grande peso para o consumidor (MEIRA, 2010).

Uma grande preocupação a respeito de nanoemulsões e formulações cosméticas em geral é a estabilidade do produto final, caracterizada por uma baixa coalescência da fase interna, ausência de separação de fases e manutenção das características físicas e organolépticas, como aparência, cor, odor, sensação ao tato, entre outras. Além disso, deve haver uniformidade de tamanho e distribuição entre as gotículas (YILMAZ & BORCHERT, 2006). O teste de estabilidade é considerado um procedimento preditivo, baseado em dados obtidos de produtos armazenados em condições que visam a acelerar alterações passíveis de ocorrer nas condições de mercado. Como em todo procedimento preditivo os resultados não são absolutos, mas têm probabilidade de sucesso (SOUZA&FERREIRA, 2010).

## 2.6 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

As propriedades físico-químicas dos óleos vegetais são dependentes de sua constituição graxa. Existem várias técnicas de análise dos óleos vegetais, algumas mais simples, como as titulações ácido-base que resultam nos valores dos índices de acidez, densidade, iodo e saponificação. E algumas técnicas que dependem de equipamentos sofisticados para sua realização, exemplos a ser citados são a cromatografia gasosa, as análises térmicas, o índice de estabilidade oxidativa, entre outras (GUNGSTONE, 2004).

### 2.6.1. Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS)

A cromatografia gasosa é a técnica mais utilizada na determinação do perfil de ácidos graxos em óleos vegetais. Essa é a principal técnica de análise de produtos voláteis ou volatilizáveis. Os ácidos graxos possuem baixa volatilidade o que torna possível sua análise por cromatografia gasosa somente depois da etapa de derivatização, onde os grupos carboxílicos são constituídos em grupos mais voláteis, os metil-ésteres (WALIA et al., 2014).

Nesta técnica, a concentração de ésteres de ácidos graxos, assim como a quantidade de insaturações e tamanho da cadeia são fatores que influenciam diretamente nas reações que ocorrem no detector de ionização em chama (FID- do inglês *flame ionization detector*) (VISENTAINER, 2012). O FID é sensível ao fluxo de massa e durante a reação, primeiro ocorre entre o íon  $\text{CHO}^+$  e água na chama, formando o hidrogênio (RAMPAZZO, 2015).

### 2.6.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido a interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular (COSTA et al., 2013). A FT-IR possui alta velocidade de detecção, capacidade de detectar vários tipos de componentes e robustez, porém

apresenta como desvantagem a não identificação direta de grupamentos orgânicos, sendo isso realizado por meio de comparações de dados na literatura (ZHANG et al., 2015).

As ligações covalentes que constituem as moléculas orgânicas estão em constante movimento seja axia e /ou angular. A radiação no infravermelho faz com que os átomos e os grupos de átomos de compostos orgânicos vibrem com a amplitude aumentada ao redor das ligações covalentes que os ligam. O processo é quantizado, porém o espectro vibracional costuma aparecer como uma serie de bandas, porque a cada mudança de nível de energia rotacional, desta forma, as linhas se sobrepõem dando origem as bandas observadas nos espectro (COSTA et al., 2013).

Os espectros de FT-IR descrevem um sinal químico da amostra contendo informações complexas onde as alterações na posição e intensidade das bandas no espectro estariam associadas às alterações na composição química de uma amostra (ROHAETI et al., 2015). Utilizando a técnica de FT-IR, não se pode afirmar qual a composição exata de uma amostra, entretanto esta ferramenta é muito útil quando se deseja identificar alterações na composição, por meio da comparação entre grupos funcionais, como também discriminar espécies estreitamente relacionadas, assim essa técnica tem sido amplamente utilizada no estudo de óleos vegetais (GONÇALVES et al., 2014; POPESCU et al., 2015).

### **2.6.3. Estabilidade Oxidativa- RANCIMAT**

Nas condições de processamento e armazenamento a exposição a luz, a altas temperaturas, ao ar atmosférico e a microorganismos, pode promover a deterioração dos óleos vegetais. A própria constituição dos óleos, como a composição de ácidos graxos, o grau de instauração, a presença de substancias pró antioxidantes, também afetam a estabilidade oxidativa (OSTROWSKA-LIGEZA et al., 2013).

Entre os métodos que avaliam a suscetibilidade do óleo a oxidação, o RANCIMAT é um dos mais utilizados. Ele fornece o índice de estabilidade oxidativa de óleos vegetais baseando-se no aumento da condutividade. A análise é realizada da seguinte maneira: um fluxo de ar atravessa o óleo, que está numa temperatura entre 100 a 140 °C, e depois borbulha em agua deionizada; esse ar é capaz de arrastar dois ácidos

graxos de cadeia curta, produto da oxidação lipídica, como o ácido fórmico, que aumenta a condutividade da água (GUNGTON, 2004). O RANCIMAT apresenta os resultados em tempo de indução, que é o período necessário para que a amostra atinja grau de oxidação detectável pelo aparelho. Quanto maior for o tempo, em horas, mais estável é amostra (ANTONIASSI, 2001).

#### **2.6.4. Análise Termogravimétrica (TG)**

Os métodos analíticos que avaliam o comportamento de amostras com a mudança da temperatura têm sido utilizados como ferramentas importantes no controle de qualidade de óleos vegetais, pois fornecem, com rapidez, dados sobre a estabilidade dos óleos, perante seu comportamento térmico (RAMPAZZO, 2015). A TG fornece informações com relação às variações de massa em função do tempo e/ou temperatura sob determinadas condições atmosféricas. A DTG é derivada primeira da curva TG. Nesta, a perda de massa é observada através de picos, essa representação torna o resultado mais fácil de ser compreendido (OLIVEIRA et al., 2011).

### **2.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE MARACUJA**

#### **2.7.1 Atividade Antioxidante pelo Método do ABTS<sup>•+</sup>**

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de formas a permitir rápida seleção de substâncias e/ou misturas promissoras. Nota-se o aumento no uso da avaliação da capacidade antioxidante em produtos naturais, fármacos e cosméticos. Este interesse começou a expandir a partir da década de 90, quando começou a ser constatada a influência benéfica de muitos produtos naturais na saúde humana (SALVADOR, 2007). Da mesma forma, tornou-se também crescente a busca e validação de metodologias para a avaliação da atividade antioxidante. Dentre os métodos utilizados para estimar a capacidade antioxidante está o ABTS<sup>•+</sup> (2,2-azinobis- (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), que consiste em se monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS produzido pela oxidação do ABTS<sup>•+</sup>, quando a amostra que contendo antioxidante é adicionada (KUBAN, 2006).

Segundo Re et al., (1999), o método ABTS<sup>•+</sup> ou trolox equivalent antioxidant activity (TEAC) a 734 nm, baseia-se na cor azul-esverdeada, do produto obtido da reação do ABTS<sup>•+</sup> com persulfato de potássio, que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante ocorre a redução do ABTS<sup>•+</sup>. Com a extensão da perda de cor, a porcentagem de inibição do ABTS<sup>•+</sup> é determinada em função do Trolox, que é um antioxidante sintético análogo à vitamina E, submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. O método ABTS<sup>•+</sup> pode ser usado para soluções com diferentes valores de pH, bem como para o estudo da influência do pH nos mecanismos antioxidantes. É solúvel em solventes aquosos e orgânicos e não é afetado por força iônica, assim pode ser usado também para determinar a capacidade antioxidante de extratos e fluídos corpóreos, hidrofílicos e lipofílicos (AWIKA et al., 2003).

Uma das vantagens do método é a sua relativa simplicidade, o que permite sua aplicação em análises rotineiras de laboratório. Além disso, oferece vários máximos de absorção e uma boa solubilidade (ROGINSKI&LISSE, 2005; KUSKOSKI et al., 2005).

### **2.7.2 Atividade Antioxidante no sistema $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico**

Dentre as técnicas utilizadas para a determinação da atividade antioxidante in vitro, a que utiliza o sistema  $\beta$ -caroteno/ ácido linoléico está presente em diversos estudos. Tal método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico e está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do  $\beta$ -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico. Este método determina a atividade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Obter e caracterizar uma nanoemulsão cosmética, contendo óleo de maracujá (*Passiflora edulis*) enriquecida com vitamina E para aplicação tópica.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar o óleo de maracujá, quanto aos parâmetros físicos químicos, perfil de ácidos graxos e estabilidade térmica.
- Obter uma nanoemulsão por homogeneização de alta pressão contendo óleo de maracujá.
- Caracterizar a nanoemulsão quanto ao tamanho das gotículas, índice de polidispersidade e potencial zeta.
- Avaliar a estabilidade preliminar física química das nanoemulsões armazenadas em diferentes temperaturas

## 4. MATÉRIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

#### 4.1.1 Desenvolvimento da nanoemulsão

##### 4.1.1.1 Fase oleosa

Óleo de maracujá (*Passiflora edulis*)

- INCI Name: *passion fruit oil refined*
- Lote: 04173510BR
- Fornecedor: Beraca Sabará (Santa Barbara do Oeste-SP, Brasil).

##### 4.1.1.2 Fase aquosa

Água recém-destilada.

##### 4.1.1.3 Tensoativos

Álcool cetílico etoxilado

- INCI Name: PPG-5-Ceteth-20
- Lote: AUTO153124
- Nome comercial: Procetyl AWS®
- Fornecedor: Croda, Mapric Produtos Farmacêuticos (São Paulo-SP, Brasil).

Monooleato de Sorbitano

- INCI Name: Polysorbate 80
- Lote: MKCG4832
- Nome comercial: Span<sup>TM</sup> 80
- Fornecedor: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. (Cotia-SP, Brasil).

Monoestearate de Sorbitano

- INCI Name: Sorbitan stearate
- Lote: SLBV9866
- Nome comercial: Span<sup>TM</sup> 60
- Fornecedor: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. (Cotia-SP, Brasil).

#### 4.1.1.4 Aditivo

##### Vitamina E

- INCI Name: Tocopherol
- Lote: MKBS2473V
- Nome comercial: Vitamina E
- Fornecedor: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. (Cotia-SP, Brasil).

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Caracterização física química do óleo de maracujá

#### 4.2.1.1 Índice de acidez

O índice de acidez do óleo de maracujá foi determinado segundo o protocolo da *American Oil Chemists's Society* AOCS Cd3d-63 (2009). O procedimento consistiu em pesar 0,2g da amostra em um frasco erlenmeyer de 125mL e 50mL de uma solução éter etílico: etanol etílico (1:1), previamente neutralizada com KOH 0,1N. Em seguida foram adicionadas 2 gotas de fenolftaleína e a solução foi titulada com KOH 0,1N, até coloração rósea, que permaneceu por aproximadamente 30 segundos.

O cálculo do índice de acidez foi determinado segundo a equação 1:

#### Equação 1:

$$IA = 5,61n/m$$

Onde:

IA = índice de acidez,

n = volume de hidróxido de potássio 0,1N gasto na titulação

m = massa da amostra.

#### 4.2.1.2 Índice de densidade relativa

A densidade foi determinada com auxílio de um picnômetro de metal a temperatura ambiente de 25,6°C seguindo o protocolo AOCS (2009) Cc 10a-25. O valor da densidade foi calculado segundo a equação 2.

##### Equação 2:

$$\text{Densidade a } 25^{\circ}\text{C} = \frac{A - B}{25\text{cm}^3}$$

Onde:

A: Massa do picnômetro com o óleo;

B: Massa do picnômetro vazio e 25cm<sup>3</sup> é o volume do picnômetro.

#### 4.2.1.3 Índices de iodo e saponificação

Os índices de saponificação e de iodo foram determinados pelo método indireto, de acordo com os protocolos AOCS (2009) Cd 1c- 85 e AOCS Cd 3a- 94, respectivamente. Seguindo o método AOCS Cd 1c- 85, o índice de iodo foi calculado da seguinte maneira pela equação 3.

##### Equação 3:

$$\text{Índice de iodo} = (\% \text{ ácido palmitoleico} \times 0,950) + (\% \text{ ácido oleico} \times 0,860) + (\% \text{ ácido linoleico} \times 1,732) + (\% \text{ ácido linolênico} \times 2,616)$$

Seguindo a AOCS (2009) Cd 3a- 94 o índice de saponificação foi calculado através da equação 4.

##### Equação 4:

$$\text{I.S}_{\text{mistura}} = \frac{3 \times 56,1 \times 100}{\text{PM} \times 3 + 92,09 - (3 \times 18)}$$

Onde:

I.S: Índice de Saponificação da mistura de ácidos graxos;

PM: Peso molécula (ou massa molar) médio dos ácidos graxos (g/mol);

3: Número de ácidos graxos por triacilglicerol;

56,1: Peso molecular do KOH (g/mol);

1000: Conversão de g para mg; 92,09= peso molecular do glicerol (g/mol);

18: Peso molecular da água.

#### **4.2.1.4. Índice de refração**

O ensaio do índice de refração foram realizado em triplicata, empregando um refratômetro de Abbé (marca Jena) em temperatura ambiente, conforme o protocolo AOCS (2009) Cc7-25.

#### **4.2.1.5. Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)**

As análises de FT-IR do óleo de maracujá, foram realizados utilizando o espectrômetro Shimadzu® IRPrestige-21, com detector de refletância total atenuada (ATR). As leituras foram realizadas em temperatura ambiente a 25°C, na faixa de absorção de onda de 4000 a 600cm<sup>-1</sup> e 32 varreduras. O modo de mediação foi à transmitância (RUSCHEL et al., 2014).

#### **4.2.1.6 Perfil dos ácidos graxos por Cromatografia Gasosa Acoplada a Massas (CG-MS)**

A composição química foi analisada por Cromatografia a gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS) com a injeção de 1 µL (Auto injetor AOC-20i) em sistema Shimadzu QP 2010 ultra equipado com coluna capilar de sílica Rtx-5MS (Restek, EUA) de 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno revestido com 5%-difetil/95%-dimetil-polisiloxano (0,25 µm de espessura do filme).

A temperatura do forno do CG foi programa de 100°C a 100°C (5 min) a 5°C/min, as temperaturas do injetor (split 1:80), linha de transferência e câmara de ionização foram de 250, 250 e 200°C, respectivamente. Hélio foi usado como gás de arraste a com fluxo de 1mL/min. Os espectros de massas foram obtidos por impacto

eletrônico a 70 eV com scans automáticos (varredura) na faixa de 35 a 400 daltons a 0,30 scans/s. A identificação dos componentes foi baseada no tempo e índice de retenção linear.

#### **4.2.1.7 Estabilidade oxidativa – RANCIMAT**

O índice de estabilidade oxidativa (OSI) foi avaliado pelo equipamento RANCIMAT 743 Metrohm (Herissau/Suíça) a 110°C, sob fluxo de gás 10L/h, utilizando 5g do óleo de maracujá, seguindo o método de AOCS (2009) Cd 12b-92.

#### **4.2.1.8 Análise térmica do óleo de maracujá**

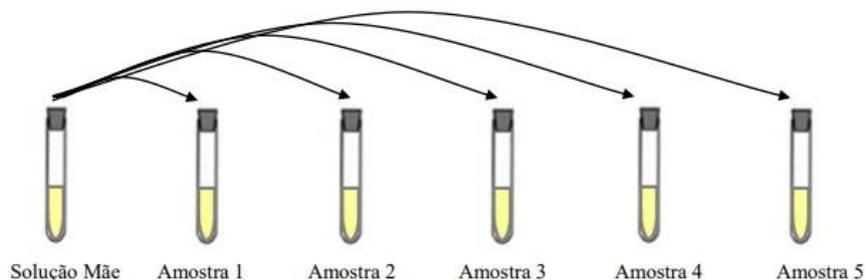
O óleo de maracujá foi submetido às análises termoanalíticas TG (termogravimetria) e DTA (análise térmica diferencial). TG e a DTA foram realizadas simultaneamente em um analisador térmico Shimadzu® (modelo TGA: 50). A análise foi realizada nas seguintes condições: foram pesados de 5 a 10 mg da amostra em um cadinho de alumínio, hermeticamente fechados. As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio (50mL/ min) e razão de aquecimento de 10°C/ min numa faixa de temperatura de 25 a 550°C. Os cálculos de perda de massa e variação de entalpia foram realizados com auxílio do programa TA 60w Shimadzu® (NUNES et al., 2009; COSTA et al., 2013).

### **4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO OLEO DE MARACUJA**

#### **4.3.1. Atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)).**

Sendo realizada conforme a metodologia de RE et al., 1999 adaptado por Rufino et al., 2007. O radical ABTS foi preparado pela reação de 5mL da solução estoque de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio µg.Ml<sup>-1</sup>. A mistura foi deixada em temperatura ambiente, no lugar escuro, por 16 horas. Após a formação do radical a

mistura foi diluída em álcool etílico (1:30) até se obter uma absorvância de 0,7 a 734 nm em espectrômetro Shimadzu UV 1800.



**Figura: 03:** representação esquemática da solução mãe e preparo das amostras. Fonte: Bernardi, 2011.

A partir das soluções-mãe na concentração de  $2000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  do óleo de maracujá, preparou-se diluições seriadas obtendo-se concentrações de ( $2,5 \mu\text{M}$ ,  $5 \mu\text{M}$ ,  $10 \mu\text{M}$ ,  $1500 \mu\text{M}$  e  $2.000 \mu\text{M}$ ), com essas soluções, preparou a mistura reacional com o cátion radical ABTS. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de  $3,0 \text{ mL}$  da mistura. Em seguida, foi homogeneizado em vórtex e após seis minutos realizou a leitura em comprimento de  $734 \text{ nm}$ . As análises foram realizadas em triplicata. O poder antirradical foi calculado utilizando uma curva padrão de trolox com equação 05.

#### **Equação 05:**

$$y = 0,0003x + 0,6947 \quad (R^2 0,9966).$$

#### **4.3.2 Determinação da atividade antioxidante utilizando-se o sistema $\beta$ caroteno/ácido linoleico**

Pela metodologia utilizada, descrita por Matthäus (2002), inicialmente são preparadas duas emulsões, uma com adição de  $\beta$ -caroteno e outra sem (branco). Para a emulsão de  $\beta$ -caroteno, em um balão de  $100 \text{ mL}$ , foram medidos  $40 \text{ mg}$  de ácido linoleico,  $400 \text{ mg}$  de Tween-20 e  $3,34 \text{ mg}$  de  $\beta$ -caroteno. A este balão adicionou-se  $1 \text{ mL}$  de clorofórmio e agitou-se bem até a completa solubilização das partículas de  $\beta$ -caroteno. O clorofórmio foi então removido em evaporador rotativo (Fisatom, Mod. 550

e 802, São Paulo/SP, Brasil) com arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC, Brasil) e controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica Piracicaba/SP, Brasil) a 40 °C. Logo após foram adicionados 100 mL de água destilada na mistura, agitando vigorosamente para formar uma solução estável. A emulsão de branco foi preparada com 40 mg de ácido linoleico, 400 mg de Tween-20 e 100 mL de água destilada, e também agitada vigorosamente. As duas emulsões foram mantidas refrigeradas e ao abrigo da luz até a realização das análises. Um alíquota de 5 mL da solução de  $\beta$ -caroteno foi adicionada à 200  $\mu$ L do óleo, sendo que o óleo foi diluído em etanol P.A. na concentração final de 1667 mg/L. Imediatamente, a absorvância foi medida em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo/SP) em comprimento de onda de 470 nm com respectivas soluções de branco, constituídas de 5 mL de emulsão de branco e 200  $\mu$ L do óleo. Os tubos foram imediatamente imersos em banho termostaticado (Biomatic Aparelhos Científicos Ltda., Porto Alegre/RS, Brasil) a 50 °C durante 2 horas de reação. Em paralelo, foi realizado também o controle do teste, em que a amostra foi substituída por etanol. A taxa de descoloração da solução de  $\beta$ -caroteno foi determinada pela medida entre a diferença da leitura espectrofotométrica inicial a 470 nm e após 120 minutos, e os resultados de atividade antioxidante (% AA) calculados pela Equação 6 e expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

#### **Equação 6:**

$$AA\% = [(A_0 - A_{120}) - (B_0 - B_{120})] / [A_0 - A_{120}] \times 100.$$

Onde: 0 e 120 correspondem a absorvância no tempo 0 e 120 minutos de reação, respectivamente.

#### **4.4. DETERMINAÇÃO DO EQUILÍBRIO HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO (EHL) REQUERIDO PARA O ÓLEO DE MARACUJÁ.**

Para a determinação do EHL requerido pelo óleo de maracujá, foram preparadas vinte e sete, formulações com pares de tensoativos (lipofílicos e hidrofílicos), que

possuem valor de EHL conhecido, misturando em proporções variadas e água destilada. Para o cálculo da obtenção de cada valor de EHL, foi utilizada a Equação 07.

**Equação 07:**

$$\text{EHL} = (\% \text{Tens}_A \times \text{EHL}_A) + (\% \text{Tens}_B \times \text{EHL}_B) / 100$$

Onde:

%Tens<sub>A</sub>: Quantidade de tensoativos lipofílicos em %. EHL;

%Tens<sub>B</sub>: Quantidade de tensoativos hidrofílicos em %.

**Tabela 02:** Valores de EHL dos tensoativos lipofílicos e hidrofílicos.

<b>TENSOATIVO LIPOFILICOS</b>	<b>TENSOATIVO HIDROFILICOS</b>	Varição do valor de EHL
Span80 <sup>®</sup>	Procetyl AWS <sup>®</sup>	(4,3-16,0)
Span60 <sup>®</sup>	Twen80 <sup>®</sup>	(4,7-15,0)
Span60 <sup>®</sup>	Procetyl AWS <sup>®</sup>	(4,7-16,0)

A fase aquosa (água destilada) e oleosa (óleo e tensoativos) foram aquecidas a 85°C separadamente. Em seguida, a fase aquosa foi lentamente vertida na fase oleosa sob agitação constante em agitador magnético de 600rpm. A emulsão foi tirada do aquecimento e mantida em agitação até alcançar temperatura ambiente.

Após 24 horas observou-se a aparência das formulações obtidas a olho nu com o objetivo de verificar sinais de instabilidade evidenciadas por ocorrência de separação de fases, cremagem ou floculação.

**Tabela 03:** Misturas dos tensoativos Span 80<sup>®</sup> e Procetyl AWS<sup>®</sup> e seus respectivos EHL.

<b>Pré-emulsão</b>	<b>Span 80<sup>®</sup> %</b>	<b>Procetyl AWS<sup>®</sup> %</b>	<b>EHL</b>
1	90	10	5,47
2	80	20	6,64
3	70	30	7,81
4	60	40	8,98
5	50	50	10,1
6	40	60	11,32
7	30	70	12,49
8	20	80	13,66
9	10	90	14,83

**Tabela 04:** Misturas dos tensoativos Span 60<sup>®</sup> e Twen 80<sup>®</sup> e seus respectivos EHL.

<b>Pré-emulsão</b>	<b>Span60<sup>®</sup></b>	<b>Twen80<sup>®</sup></b>	<b>EHL</b>
1	90	10	5,73
2	80	20	6,76
3	70	30	7,79
4	60	40	8,82
5	50	50	9,85
6	40	60	10,88
7	30	70	11,91
8	20	80	12,94
9	10	90	13,97

**Tabela 05:** Misturas dos tensoativos Span 60<sup>®</sup> e Procetyl AWS<sup>®</sup> e seus respectivos EHL.

Pré-emulsão	Span 60 <sup>®</sup> %	Procetyl AWS <sup>®</sup> %	EHL
1	90	10	5,83
2	80	20	6,96
3	70	30	8,09
4	60	40	9,92
5	50	50	10,35
6	40	60	11,48
7	30	70	12,61
8	20	80	13,74
9	10	90	14,87

**Tabela 06:** Prévia composição das pré-formulações.

	Tensoativo Lipofílico		Tensoativo Hidrofílico		Óleo	Água	Total
	%	g	%	g			
1	90%	0,45g	10%	0,05g	0,5g	9,0g	10g
2	80%	0,4g	20%	0,1g	0,5g	9,0g	10g
3	70%	0,35g	30%	0,15g	0,5g	9,0g	10g
4	60%	0,30g	40%	0,20g	0,5g	9,0g	10g
5	50%	0,25g	50%	0,25g	0,5g	9,0g	10g
6	40%	0,20g	60%	0,30g	0,5g	9,0g	10g
7	30%	0,15g	70%	0,35g	0,5g	9,0g	10g
8	20%	0,10g	80%	0,4g	0,5g	9,0g	10g
9	10%	0,05g	90%	0,45g	0,5g	9,0g	10g

## 4.5 OBTENÇÃO DAS NANOEMULSÕES

Foram preparadas pelo método que envolve alta energia de emulsificação: Homogeneização de alta pressão (HAP). A fase aquosa (FA) e a fase oleosa (FO) com os tensoativos foram aquecidos separadamente a 85°C. Em seguida a (FA) foi vertida lentamente na (FO) sob agitação de variável de 3.000 a 10.000 rpm com auxílio de um ultra turrax (UltraTurrax, IKA T25 digital, Germany) por 12min. Formando assim uma pré-emulsão. Esta foi levada ao homogeneizador de alta pressão (Microfluidizer LM20,) por 2 ciclos a 1000 bar para formulação da nanoemulsão (Adapatado de Pacheco, 2017). Todas as formulações foram preparadas e avaliadas em três lotes diferentes.

### 4.5.1 INCORPORAÇÃO DA VITAMINA E

A nanoemulsão selecionada após o estudo do EHL foi testada quanto a adição da vitamina e na concentração de 2%. O preparo foi realizado pelo método de alta energia com o homogeneizador de alta pressão, conforme o item 4.5, com adição da vitamina e, na fase oleosa.

**Tabela 07:** Composição final das nanoemulsões.

<b>Matéria prima</b>	<b>Porcentagem utilizada %</b>
Óleo de maracujá	5,0
Span 80 <sup>®</sup>	0,3
Procety AWS <sup>®</sup>	0,2
Vitamina E	2,0
Agua destilada	90

## **4.6 ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR**

### **4.6.1 Avaliação Macroscópica**

As formulações foram avaliadas macroscopicamente após 24 horas de preparo a temperatura de 25°C, a fim de se determinar a formulação mais estável. As que apresentarem alguma instabilidade como: separação de fases, sedimentação e cremação foram descartadas do estudo.

### **4.6.2 Teste de Centrifugação**

Em tubo de ensaio cônico graduado para centrífuga (Fanem Ltda–Mod. 206 R, Excelsa BABY II–440 watts) foram adicionados 5g de cada amostra, pesados em balança semi-analítica (Gehaka, Mod. BG 2000) e submetidas ao ciclo de 3000 rpm durante trinta minutos à temperatura ambiente (ANISA, 2004).

### **4.6.3 Ciclo Gela-Degela**

As amostras foram submetidas à temperatura de 4 °C/24 horas (Geladeira Consul, Mod. CFC 28A) e 45 °C/24 horas (Estufa Fabbe Primar Ltda, Mod. 171/6000W), completando assim um ciclo. As leituras foram realizadas antes do início do teste e no final do 6° ciclo (12 dias) (ANVISA, 2007).

A fim de avaliar a estabilidade das nanoemulsões a frente de mudanças bruscas de temperatura. Este estudo consiste em submeter às amostras a temperaturas de 45±2°C, por 24 horas, e depois a 4±2°C, por 24 horas, completando um ciclo. O ciclo gelo-degelo deveria ter duração de 12 dias. Serão realizadas antes do início do teste (após o preparo), no 6° dia e no final do 6° ciclo (12° dia). Os seguintes testes: determinação do pH das formulações, observação macroscópica das formulações e leituras de tamanho das gotículas.

## **4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

### **4.7.1 Determinação do pH**

Os valores de pH foram determinados com auxílio de um potenciômetro HANNA Instruments (modelo H1221) calibrado com pH 4,0 e 7,0. Inserindo-se o eletrodo diretamente na diluição aquosa 1:10 (p/p) das amostras. Este teste será realizado em triplicata.

As amostras que não separaram de fase serão submetidas a condições de estresse em diferentes temperaturas. Em refrigerador ( $5^{\circ}\text{C}\pm 2$ ), a temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C}\pm 2$ ) e acondicionada em estufa ( $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ ). As formulações serão submetidas às temperaturas citadas por um período de vinte e oito dias.

### **4.7.2 Determinação do tamanho de gotícula, potencial zeta e índice de polidispersão.**

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

## 5. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização físico-química do óleo de maracujá

A qualidade do óleo é determinada por seus principais componentes, como compostos voláteis. A caracterização físico-química dos óleos vegetais é de extrema importância. Vários testes foram realizados para se obter dados da natureza do óleo de maracujá, assim como, para o controle de qualidade, uma vez que estes são necessários para que se possa conferir na detecção de contaminantes e adulterantes.

**Tabela 08:** Caracterização físico-química do óleo de maracujá.

Parâmetros	Resultados
Índice de acidez	0,45 ± 0,01 (mgKOH/g)
Índice de iodo	121,76 (gI <sup>2</sup> /100)
Índice de refração	1,464 ± 0,004 (nd 40°C)
Índice de saponificação	181,26 (mgKOH/Kg)
Densidade relativa	0,914 (25°C)

O índice de acidez permite uma avaliação a respeito da conservação do óleo, que esta intimamente relacionado com o grau de pureza da matéria prima, com o processamento e principalmente, com as condições de conservação. Um elevado índice de acidez pode ser influenciado pelo tempo de estocagem, uma vez que, com o tempo, pode ocorrer o fenômeno da hidrólise, e com isso o aparecimento de ácidos graxos livres (WALIA et al., 2014). Segundo a RDC 270, de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que aprova o Regulamento Técnico para óleos vegetais, gordura vegetais e creme vegetal, o índice de acidez recomendado é no máximo de 4 mg KOH/g para óleos vegetais. O óleo de maracujá apresentou índice de acidez igual a 0,45 ± 0,01 mg de KOH/g (Tabela 08). Percebe-se, então, que o índice de acidez do óleo de maracujá esta de acordo com a legislação brasileira vigente. O índice reduzido de acidez também evidencia a potencialidade do óleo na indústria cosmética (DOS SANTOS et al., 2017).

O índice de iodo, de refração e a densidade dos óleos vegetais são parâmetros físicos influenciados pelo grau de insaturação dos ácidos graxos (COIMBRA&JORGE, 2011). O índice de iodo é um importante indicador de degradação da matéria vegetal (PERREIRA et al., 2019). O óleo de maracujá apresentou um elevado índice de iodo tabela 07, devido à quantidade de insaturação presentes nos ácidos graxos, como serão mostrados pela análise de cromatografia gasosa. Valores aproximados foram encontrados no óleo de maracujá por Ferrari, Colussi e Ayub (2004) e Koborie Jorge (2005), (136,50 g I<sup>2</sup>/100g) e (124,36 g I<sup>2</sup>/100g) respectivamente.

O índice de refração eleva-se com o aumento do comprimento da cadeia de ácido graxo e diminui com o grau de insaturação, constitui um parâmetro de qualidade que permite identificar alterações oxidativas, impurezas e ainda a autenticidade do óleo. A tabela 08 mostra que o índice de refração  $1,464 \pm 0,004$  (nd 40°C). A densidade dos óleos também é influenciada pelo comprimento da cadeia e grau de insaturação dos ácidos graxos que fazem parte de sua composição (PERREIRA et al., 2019). Comprimentos maiores da cadeia levam a valores de densidade mais baixos, enquanto altos graus de insaturação levam a um aumento no valor da densidade (PEREIRA et al., 2017). O valor encontrado foi de 0,914g/m.

O índice de saponificação fornece informações a respeito da autenticidade dos óleos vegetais, quando estes são misturados com matéria insaponificável, como óleo mineral (WALIA et al., 2014). O peso molecular dos glicerídeos é inversamente proporcional ao índice de saponificação, ou seja, o índice tende a ser mais alto em óleos que apresentam teor mais elevado de triglicerídeos de cadeia curta (JABLONSKI, et al., 2017). O valor de saponificação do óleo de maracujá foi de 181,26 mg KOH/g (Tabela 08).

### **5.1.2. Determinação do perfil dos ácidos graxos do óleo de maracujá por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS)**

A análise por Cromatografia Gasosa associada a espectroscopia de massa (CG-MS) constitui um mecanismo importante para avaliar a autenticidade dos óleos. Conforme a espécie oleaginosa, variações na composição química dos óleos são expressas por variações na relação molar entre os diferentes ácidos graxos presentes na estrutura do triacilglicerol (COSTA et al., 2013).

Os resultados apresentados na tabela 09 apontam a composição química dos diferentes ácidos graxos encontrados no óleo de maracujá, destacando-se os ácidos linoleico e oleico com (47,76%), (34,80%) respectivamente. E em menores quantidades os ácidos palmítico, esteárico e linolênico (9,21%), (3,65%) e (0,14%) respectivamente. Essa composição de ácidos graxos está de acordo com a obtida Takan et al., (2019) e Malacrida & Jorge (2012). O perfil de ácidos graxos encontrado no óleo de maracujá é considerado ideal para consumo, visto que tem efeitos benéficos em humanos e animais.

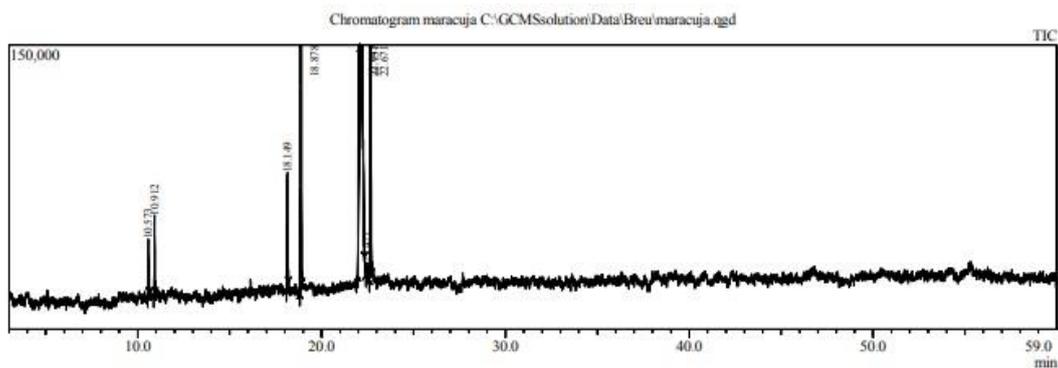
**Tabela 09:** Composição percentual dos ácidos graxos do óleo de maracujá e de outros óleos por cromatografia gasosa (CG).

Ac. graxos	Carbono	Óleo de maracujá	Óleo de maracujá *	Óleo de maracujá **
Linoleico	C18:2	47, 76%	68,39%	1%
Oleico	C18:1	34, 80%	14,31%	50,2%
Palmítico	C16:0	9, 21 %	11,72%	42,3%
Esteárico	C18:0	3, 65%	2,84%	1,5%
Linolênico	C18:3	0, 14%	0,54%	0,5%

\*Takan et al., (2019)

\*\*Malacrida & Jorge (2012)

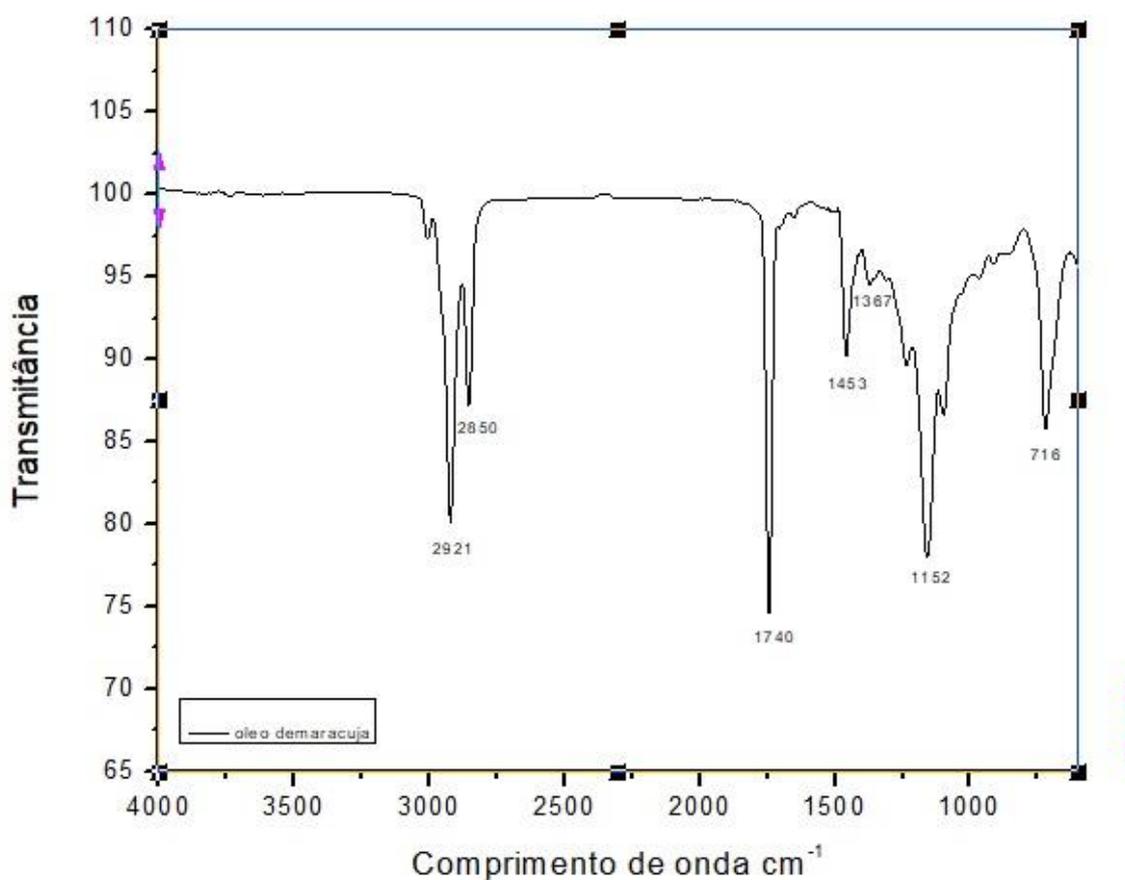
O ácido linoleico e linolênico são ácidos graxos essenciais na nutrição de mamíferos, estando o ácido linolênico relacionado com a instabilidade do óleo. A peroxidação natural do ácido linolênico resulta em hidroperóxidos que são tóxicos aos mamíferos e causam alteração no sabor e aroma do óleo (VIEIRA, 2006). Além de serem utilizados na indústria alimentícia, óleos com alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, como o óleo de semente de maracujá, são comumente usados como agentes condicionantes da pele e dos cabelos e em composições de produtos de maquiagem (MALACRIDA & JORGE, 2012).



**Figura 04:** perfil dos ácidos graxos do óleo de maracujá.

### 5.1.3. Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia na região do infravermelho tem o objetivo de identificar ou mesmo determinar os grupos funcionais característicos dos compostos orgânicos, propiciando um conhecimento preliminar da sua estrutura química. A constituição química dos óleos vegetais, em geral, é muito parecida. Estes são compostos, principalmente por triacilgliceróis, tri-ésteres formados pela ligação do glicerol com três moléculas de ácido graxo (JADVANIA et al., 2013).



**Figura 05:** Espectro da Região do Infravermelho do óleo de Maracujá.

O espectro do óleo de maracujá apresentado na figura 05 mostra os estiramentos 2921 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  que correspondem a ligação CH, dando diagnóstico de cadeias carbônicas alifáticas saturadas. Observa-se uma proeminente banda de estiramento de carbonila (C=O) em 1740  $\text{cm}^{-1}$ , presentes em ácidos carboxílicos e ésteres, e vibrações da ligação C-O em 1152  $\text{cm}^{-1}$ , que são diagnósticos para a ligação éster no triacilglicerol, o maior constituinte de um óleo com ácidos graxos de cadeia longa (COSTA et al., 2013). Por fim a banda na região de 716  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a deformações angular (rocking) dentro do plano de grupamentos C-H<sub>2</sub>.

**Tabela 10:** Bandas de absorção na região do infravermelho de ligações moleculares do óleo de maracujá.

Faixa de absorção (cm <sup>-1</sup> )	Tipo de ligação
2921	C-H
2850	C-H
1740	C=O
1453	CH <sub>2</sub>
1367	CH <sub>3</sub>
1152	C-O
716	- (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>

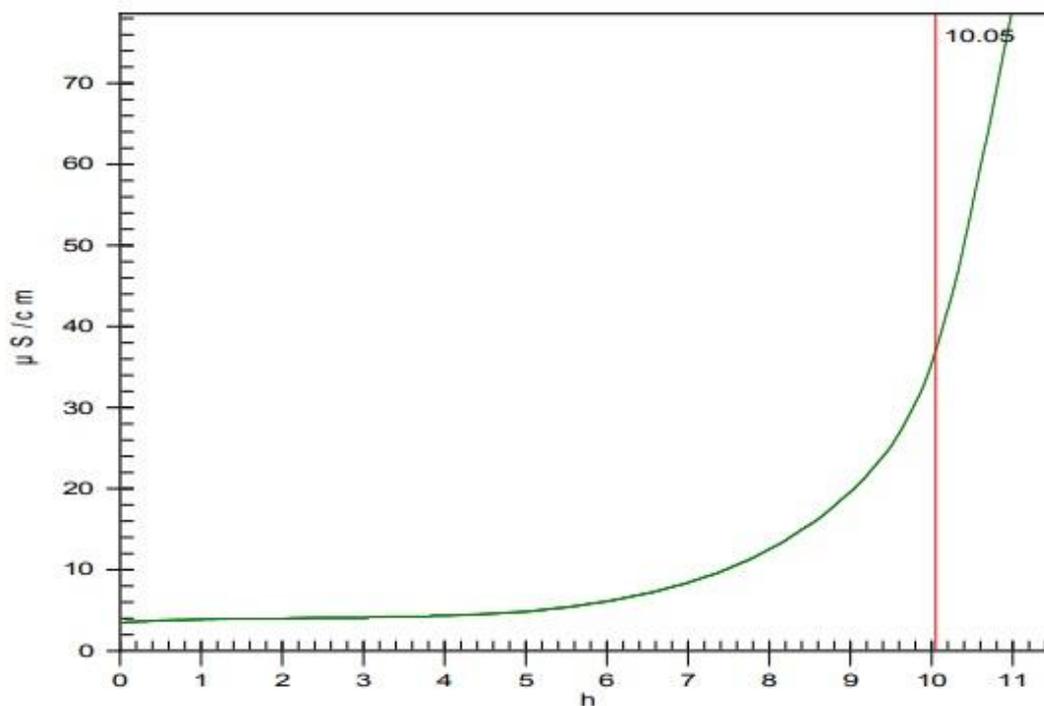
#### 5.1.4. Estabilidade oxidativa do óleo de maracujá - RANCIMAT

Para verificar a estabilidade dos óleos e sua suscetibilidade a oxidação, o óleo de maracujá foi submetido ao teste de oxidação acelerada por alta temperatura. Este é um parâmetro utilizado para avaliar a qualidade de óleos e gorduras e não depende apenas da composição química, mas também reflete as condições de manuseio, processamento e estocagem do produto (CONCEIÇÃO, 2017).

As razões para a auto oxidação estão relacionadas à presença de ligações duplas nas cadeias carbônicas de óleos e gorduras. A rapidez do processo auto oxidativo depende principalmente do número e da posição das ligações duplas, cadeias carbônicas poli-insaturadas como as que constituem alguns ácidos graxos de ocorrência natural tais como o linoléico (ligações duplas em C-9 e em C-12) e o linolênico (ligações duplas em C-9, C-12 e em C-15) são mais susceptíveis a oxidação (OSTROWSKA-LIGEZA et al, 2013).

A partir da curva de condutividade ( $\mu$ s) vs tempo obtém-se um ponto que corresponde ao índice de estabilidade oxidativa ou o período de indução, esse período foi de 10,05 h para o óleo de maracujá (Figura 06). Comparando os resultados do óleo de *Passiflora edulis* com outros óleos descritos na literatura, como óleo de Babaçu (28,64h), Inajá (20,96 h). Os resultados demonstraram que a análise de cada óleo

extraído de diferentes oleaginosas comprova que a composição química do óleo vegetal influencia na estabilidade oxidativa do óleo, logo, a mesma influência na estabilidade do produto a ser elaborado a partir desse óleo (CONCEIÇÃO, 2017).



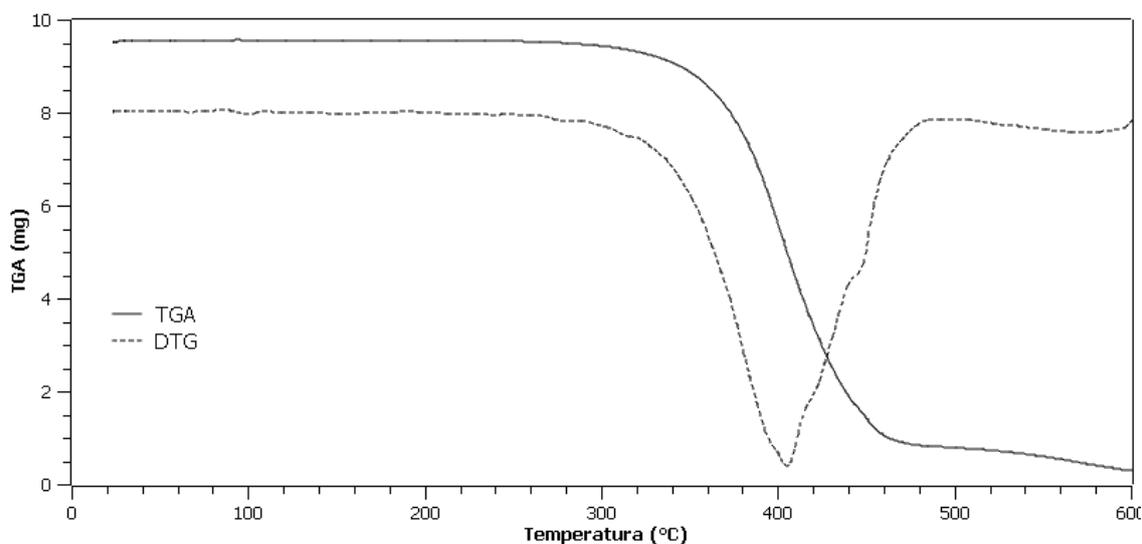
**Figura 06:** Tempo de indução do óleo de maracujá.

Compostos insaturados são significativamente mais susceptíveis à oxidação que compostos saturados (PARDAUIL et al., 2011). O óleo de maracujá possui em sua composição alto teor de compostos insaturados, com predominância do ácido linoleico (como observado na análise de cromatografia gasosa), o que justificaria a baixa estabilidade à oxidação.

### 5.1.5. Análise Termogravimétrica (TG)

A termogravimetria (TG) é uma técnica termoanalítica rápida que determina o ponto de ebulição de compostos orgânicos, através das alterações na massa da amostra em função da temperatura e/ou tempo (FARIA, 2002). A estabilidade térmica dos óleos depende de sua estrutura química, ou seja, óleos com ácidos graxos saturados são mais estáveis do que os insaturados (COSTA et al., 2013).

A figura 07 apresenta as curvas TG/DTG do óleo de maracujá onde é possível observar três etapas de perda de massa, a primeira com perda de 63,443 % com temperatura “on set” de 370,38 °C, a segunda com perda de 20,846 % com temperatura “on set” de 418,86 °C e a terceira com perda de 11,594 % com temperatura “on set” de 446,49 °C. Esses estágios devem-se, provavelmente, a degradação dos ácidos graxos (RÌO et al., 2016).



**Figura 07:** curva TG e DTG do óleo de maracujá.

Santos et al. (2002), que analisou o comportamento de alguns óleos vegetais, verificaram a ocorrência de três eventos térmicos, onde, segundo os autores, estes correspondem às perdas de massa de ácidos graxos polinsaturados que ocorreu a uma faixa de 200-380 °C, monoinsaturados a uma faixa de 380-480 °C e saturados entre

480- 600 °C, devido as respectivas estruturas serem mais ou menos resistentes a altas temperaturas

Além da composição de ácidos graxos de cada óleo vegetal, outro fator que influencia na resistência a degradação é a presença de antioxidantes que podem ser naturais como os tocoferóis e ácido ferúlico, como também artificiais, como ácido cítrico e TBHQ (tercbutilhidroquinona), que podem ser acrescentados no processamento em quantidades limitadas (MASUCHI et al., 2008). A presença de antioxidantes pode retardar o início da degradação. Nik et al. (2005) estudaram o comportamento térmico do óleo de palma por meio da termogravimetria quando adicionado as amostras diferentes antioxidantes e concentrações, os autores constataram que a presença de antioxidantes retarda o início do processo de degradação, no entanto a concentração e tipo de antioxidante também influenciaram nos resultados.

**Tabela 11:** Etapas de perda de massa da curva TG/DTG do óleo de maracujá.

Amostra	Tonset	Tendset	% de perda de massa
	370,38°C	410,31°C	63,443
Óleo de maracujá	418, 86°C	431,73°C	20,846
	446,49°C	452,33°C	11.594

Conceição, Couceiro e Chaaar (2015) também avaliaram a estabilidade térmica, através da curva TG/DTG do óleo de maracujá (*Passiflora edulis*) em atmosfera de ar de nitrogênio. Onde os valores foram bem similares ao encontrado nesse estudo. A primeira com perda de 64,78 % com temperatura “on set” de 377,25 °C, a segunda com perda de 31,81 % com temperatura “on set” de 413,09 °C e a terceira com perda de 3,40 % com temperatura “on set” de 527,66 °C, sendo atribuídas à volatilização e/ou combustão dos triglicerídeos constituintes da amostra.

## 5.2. Determinação da atividade antioxidante

### 5.2.1 Atividade Antioxidante do óleo de maracujá pelos Métodos de ABTS e $\beta$ caroteno/ ácido linoleico

A capacidade antioxidante total de óleos vegetais resulta da ação integrada da mistura complexa de antioxidantes presentes em óleos contra reações de oxidação. Portanto, a capacidade antioxidante de um óleo pode ser um índice abrangente devido a sua potencial correlação com os índices de qualidade do óleo, em especial com a estabilidade oxidativa. A estabilidade química, que é associada com a resistência à oxidação, depende da composição química do óleo, especialmente antioxidantes, compostos oxidáveis e interfaces químicas, no meio ambiente, onde os reagentes podem interagir (CASTELO-BRANCO et al., 2015).

A quantidade de moléculas de radicais ABTS+ consumida devido à reação com compostos antioxidantes é expressa em capacidade antioxidante em Trolox equivalentes (TEAC), ou seja, quanto maior concentração TEAC, mais antioxidante é a amostra analisada (BORGES et al., 2011). No método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, o  $\beta$ -caroteno sofre descoloração na ausência de um composto antioxidante, o que resulta na redução da leitura espectrométrica da absorbância da solução, num dado tempo de reação. Isso ocorre devido a formação de radicais livres a partir da oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico. A Tabela 12 apresenta os valores obtidos para o método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, expressos em percentual de atividade antioxidante (% AA) após 120 minutos de reação e pelo método ABTS.

**Tabela 12:** Atividade antioxidante do óleo de maracujá pelos métodos de ABTS e  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Métodos	ABTS	$\beta$ caroteno/ ácido linoleico
	57 $\pm$ 2,48 $\mu$ M	78,0 $\pm$ 3,2%

Vale ressaltar que, na avaliação da atividade antioxidante dos óleos vegetais, é difícil uma comparação com outras literaturas, já que a atividade antioxidante pode ser expressa de diversas formas. Outro fator que pode contribuir para essa dificuldade são as modificações introduzidas nas metodologias, tais como os volumes adicionados nas soluções de radicais livres (SILVEIRA, 2012; VANZ, 2013).

### 5.3 Determinação do EHL requerido pelo óleo de maracujá

Para determinação do EHL requerido, foram preparadas emulsões, conforme procedimento do item 4.4. Variando a concentração de tensoativos, com objetivo de obter emulsões com valores variáveis de EHL. O valor do EHL requerido pela fase oleosa é um dos mais importantes parâmetros que deve ser considerado durante o desenvolvimento de uma nanoemulsão (PACHECO, 2017). De acordo com as propriedades físico-químicas de um óleo, um sistema de tensoativos adequados pode estabilizar de forma eficiente o tamanho de gotículas de um sistema (AMARAL MACHADO et al., 2016). Tensoativos com elevados EHL tendem a formar emulsões do tipo óleo/água e baixo EHL formam emulsões do tipo água/óleo, isto ocorre porque o tensoativo é solúvel na fase contínua da emulsão sendo assim, tensoativos com valores baixos de EHL são solúveis em óleo e tensoativos com elevados valores de EHL são solúveis em água (GRIFFIN, 1949).



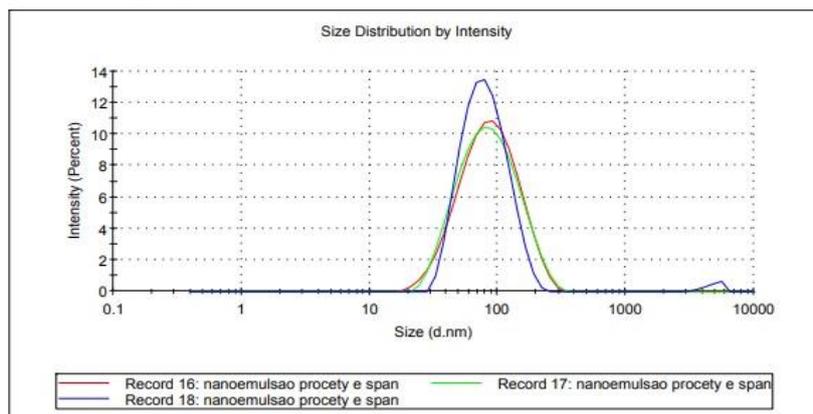
**Figura 08:** Nanoemulsões com diferentes valores de EHL. A direita uma nanoemulsão que sofreu separação de fases e a esquerda uma nanoemulsão estável após 24 horas.

Para o estudo do valor de EHL requerido pelo óleo de maracujá, foram testados três pares de tensoativos. As formulações foram preparadas seguindo as concentrações apresentada por Silva e colaboradores (2016): 5% de fase oleosa, 5 % de tensoativos e 90 % de fase aquosa. A constituição da fase oleosa permaneceu fixa variando apenas as proporções de tensoativos lipofílicos e hidrofílicos, de forma que conseguisse alcançar o valor de EHL requerido (tabela 06). Entre as nanoemulsões desenvolvidas com a mistura dos tensoativos Tween 80<sup>®</sup> e Span 60<sup>®</sup> a mais estável a olho nu após 24 horas depois foi a que apresentaram EHL em torno de 10,88 que correspondem a 20% de Span 60<sup>®</sup> e 30% Tween 80<sup>®</sup>. Entre a mistura de Span 60<sup>®</sup> e Procetyl AWS<sup>®</sup> a mais estável foi a que apresentou EHL 10,35 que correspondem a 25 % dos respectivos tensoativos. Entre os tensoativos Span 80<sup>®</sup> e Procetyl AWS<sup>®</sup> a mais estável foi a que apresentou EHL 8,98 que correspondem a 30 % de Span 80<sup>®</sup> e 20% de Procetyl AWS<sup>®</sup> (tabela 13).

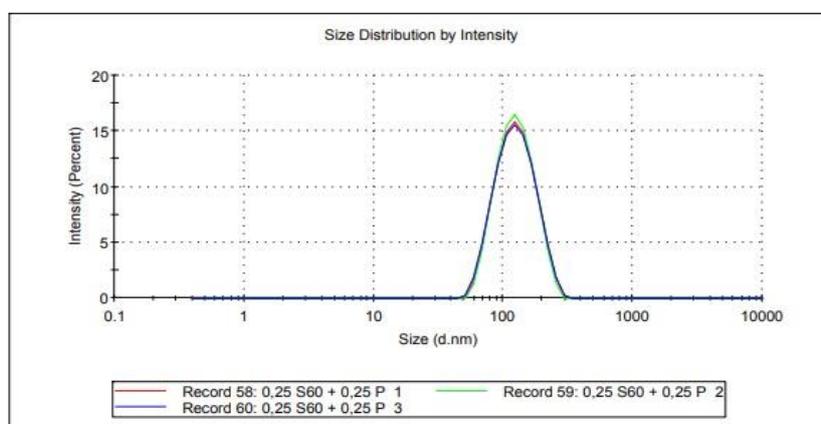
**Tabela 13:** Tamanho de partículas e PDI das nanoemulsões com diferentes valores de EHL.

<b>Tensoativos</b>	<b>Valor de EHL</b>	<b>Tamanho (nm)</b>	<b>Índice de polidispersão (PDI)</b>
Span 60 <sup>®</sup> e Tween 80 <sup>®</sup>	10,88	301,1	0,609
Span 60 <sup>®</sup> e Procetyl AWS	10,35	114,1	0,114
Tween 80 <sup>®</sup> Procetyl AWS	8.98	75,09	0.210

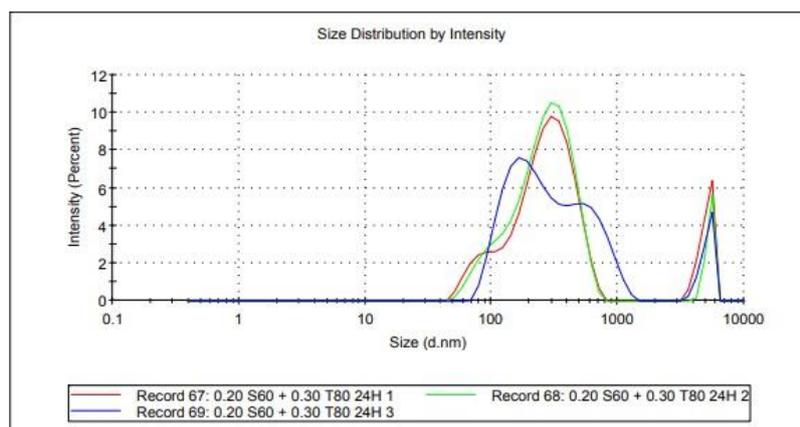
A análise de tamanho de partícula auxilia na triagem da melhor mistura de tensoativos. Observou-se menor tamanho de partícula na nanoemulsão constituída pelo tensoativos procetyl e span 80. Figura 09. Considerando tanto o tamanho de partícula quanto o PDI a nanoemulsão preparada com os tensoativos Procetyl AWS<sup>®</sup> e Span 80<sup>®</sup> foi a escolhida para dar continuidade no estudo e acrescentar a vitamina E (alfa tocoferol) e sua composição esta apresentada na tabela 07.



**Figura 09:** Distribuição de tamanho da nanoemulsão contendo os tensoativos Procetyl e Span<sup>®</sup> 80.



**Figura 10:** Distribuição de tamanho da nanoemulsão contendo os tensoativos Procetyl e Span<sup>®</sup> 60



**Figura 11:** Distribuição de tamanho da nanoemulsão contendo os tensoativos Span<sup>®</sup> 60 Tween<sup>®</sup> 80.

Para a obtenção das nanoemulsões, foi utilizado somente tensoativos não iônicos. Muitos produtos faciais, para peles sensíveis e de bebês fazem uso de surfactantes não iônicos, por apresentarem boa compatibilidade com a pele. Eles também reduzem a irritação provocada pelos tensoativos aniônicos. Um sistema de composto por Span 60 e 80, Tween 80 e procetyl, considerados seguros e comumente empregados em formulações cosméticas (RIBEIRO, 2015).

Nanoemulsões são comumente obtidas utilizando misturas de tensoativos de forma separada, onde os tensoativos são dispersos conforme suas características intrínsecas, ou seja, tensoativos com características hidrofílicas são dispersos em meio aquoso, enquanto os tensoativos com características lipofílicas são dispersos em meio lipofílico (RIBEIRO, et al., 2015). No entanto, alguns estudos demonstram que a mistura de agentes tensoativos, em uma única fase, apresentam melhor desempenho do que isolados em fases distintas, dispersando e solubilizando mais na fase contínua da emulsão, sendo possível utilizar menor concentração de ativos e produzir emulsões estáveis em longo prazo (ROCHA-FILHO, et al., 2014).

#### **5.4 OBTENÇÃO DA NANOEMULSÃO.**

A metodologia de preparo utilizada neste trabalho foi de homogeneização de alta pressão a quente e foi selecionada porque possui diversas vantagens como, por exemplo, fácil adaptação para utilização em larga escala e não utilização de solventes orgânicos na formulação.

A partir das nanoemulsões obtidas no Ultra Turrax, foi estudada a influência da pressão de 500 e 1000 baars e do número de ciclos 1 e 2. Em homogeneizador de alta pressão sobre o tamanho de partículas e PDI. O aumento do número de ciclos leva uma redução do tamanho de gotícula, sendo que após o segundo ciclo de passagem, ocorre uma queda significativa neste. Passagens subsequentes podem ocasionar reduções progressivas, porém não tão acentuadas (KOURNIATIS, 2010). O que foi possível observar nesse estudo (tabela 14). Não houve uma diminuição relevante.

**Tabela 14:** Relação entre numero de ciclos, baar, tamanho de partículas e PDI.

<b>Ciclo</b>	<b>Baar</b>	<b>Tamanho (nm)</b>	<b>PDI</b>
2 ciclos	500 bar	157,3	0,215
1 ciclo	1000 bar	129,9	0,201
2 ciclos	1000 bar	122,2	0,169

O tamanho da pressão, assim como da temperatura, também leva a diminuição do tamanho de gotícula formada (BRUCHEL et al., 2012). Entretanto, uma alta pressão conduz a um gasto grande de energia, sendo mais vantajosa a realização de mais ciclos de homogeneização a uma pressão moderada.

## 5.5 TESTES DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

A avaliação da estabilidade preliminar contribui para o desenvolvimento das formulações e seu aperfeiçoamento, além de auxiliar na produção de informações sobre a confiabilidade e segurança dos produtos (ANVISA, 2007). O chamado teste de estabilidade preliminar tem como objetivo auxiliar e orientar na escolha das formulações, utilizando-se diferentes formulações de laboratório e com duração reduzida (RODIGUES et al., 2014). Emprega condições extremas de temperatura com o objetivo de acelerar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de sinais que devem ser observados e analisados conforme as características específicas de cada tipo de produto (MEIRA, 2010). Devido às condições em que é conduzido, este tipo de teste não tem a finalidade de estimar a vida útil do produto, mas sim de auxiliar na triagem das formulações ao longo da produção, antes de atingir o produto final (ANVISA, 2004). A estabilidade preliminar das formulações foi analisada por meio das características organolépticas (aspecto, odor, opacidade/translucidez), valor de pH, teste de centrifugação e ciclo geladegela. As formulações selecionadas para a continuidade do trabalho foram avaliadas quanto ao tamanho dos glóbulos, índice de polidispersidade e potencial zeta.

### 5.5.1 Avaliação macroscópica

Na análise macroscópica realizada após o preparo das nanoemulsões, verificou-se que a formulação apresentou aspecto leitoso, com reflexo azulado e odor característico de óleo de maracujá. Figura 12. Além disso, não houve sinais macroscópicos de alteração como separação de fases. O estudo de estabilidade preliminar da nanoemulsão foi realizado durante 28 dias, em diferentes temperaturas. Durante esse período, as formulações também não apresentaram sinais visuais de separação de fases.



**Figura 12:** Nanoemulsões contendo óleo de maracujá e vitamina E.

### 5.5.2 Centrifugação

Antes de iniciar qualquer estudo de estabilidade, recomenda-se a submeter o produto ao teste de centrifugação. Se aprovado nesse teste, o produto pode dar sequência aos testes de estabilidade. O produto deve-se manter estável e qualquer sinal de instabilidade indica a necessidade de reformulação. A centrifugação produz estresse na amostra simulando um aumento da força gravitacional acelerado assim as possíveis instabilidades (ANVISA, 2007). Em formulações que apresentam alto PDI a centrifugação acelera o processo de cremagem (MEZADRI, 2010). No teste de centrifugação todas as amostras permaneceram sem alterações evidentes, indicando uma possível estabilidade.

### 5.5.3 Ciclo gela degela

As formulações aprovadas no teste de centrifugação, então foram submetidas à outra condição de tensão, como o ciclo gela-degela. A instabilidade foi avaliada por

meio dos parâmetros de: Tamanho, Índice de polidispersão, Potencial Zeta e pH. Não houve alteração na aparência da nanoemulsão durante o ciclo, mantendo a coloração leitosa e o odor característico. O valor de pH teve variação de 0,74. Não houve aumento significativo no tamanho das partículas de 117,9 nm para 119,8 nm. (Tabela 15).

**Tabela 15:** Análise da nanoemulsão submetida ao ciclo gela degela.

<b>Parâmetros</b>	<b>(Tempo inicial 24h)</b>	<b>Após o ciclo</b>
Tamanho (nm)	117,9	119,8
PDI	0,162	0,174
Potencial Zeta (Mv)	-46,0	-34,7
pH	6,37	7,11

## 5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

### 5.6.1 Determinação do pH

Segundo a (ANVISA), a determinação da faixa do valor de pH de uma formulação deve contemplar os aspectos de estabilidade dos ingredientes, segurança e eficácia do produto. A análise do valor de pH foi outro teste de estabilidade preliminar. Este teste foi realizado nas primeiras vinte e quatro horas e nos dias 7,14,21 e 28. A tabela 16 mostram os resultados em diferentes temperaturas.

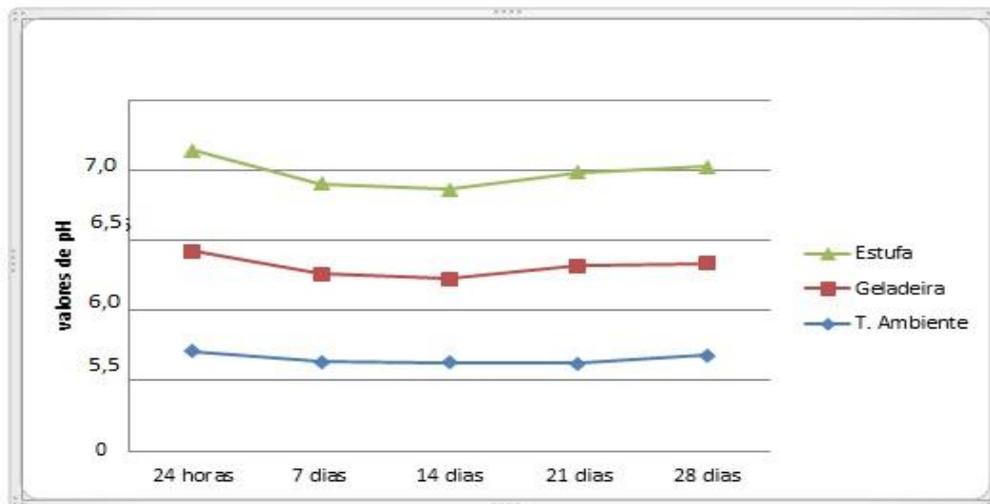
A determinação do valor de pH é de grande importância em formulações tópicas, uma vez que essas devem apresentar valores de pH compatíveis com a pele 4,5 a 6,0 (RIBEIRO, 2015). Alterações no valor de pH em formulações cosméticas são preocupantes, pois podem alterar toda a formulação deste o aspecto até a eficácia do princípio ativo utilizado, podendo dessa forma, não fornecer o resultado esperado, uma vez que alguns ativos não apresentam estabilidade em determinado pH e podem irritar a pele se não tiverem compatíveis com esta (AMMAR et al., 2010). Variações de pH em estudo de estabilidade podem ocorrer devido a degradação dos componentes presentes nas formulações. Em relação ao pH das nanoemulsões, observou-se que variaram de

6,92 a 6,84 em temperatura ambiente, de 7,11 a 6,54 em geladeira e 7,17 a 6,86 na estufa.

**Tabela 16:** Valores de pH no intervalo de tempo de 24 hora, 7, 14, 21 e 28 dias, em diferentes temperaturas.

<b>Tempo de Análise</b>	<b>Temp. Ambiente (25±2°C)</b>	<b>Geladeira (4±2°C)</b>	<b>Estufa (45±2°C)</b>
24h	6,92 ± 0,07	7,11 ± 0,248	7,17 ± 0,153
7 dias	6,35 ± 0,012	6,28 ± 0,014	6,41 ± 0,026
14 dias	6,28 ± 0,050	6,00 ± 0,098	6,36 ± 0,014
21 dias	6,23 ± 0,036	6,93 ± 0,020	6,69 ± 0,101
28 dias	6,84 ± 0,114	6,54 ± 0,080	6,86 ± 0,05

Segundo Rebello (2011) a alcalinidade aumenta a permeabilidade cutânea e para produtos de curta permanência sobre a pele, o pH pode ser ligeiramente alcalino (até 8,0), pois as matérias-primas utilizadas atuam bem dentro desse pH. Já os extremos de pH (abaixo de 3,0 ou acima de 8,0) podem causar ressecamento da pele devido à desestruturação da queratina ou remoção excessiva do sebo. De acordo com os dados encontrados na literatura, as nanoemulsões não iônicas os valores de pH foram observados abaixo de 7,0 o que indica que há a necessidade de correção de pH do presente trabalho, pois de acordo com Firmino e colaboradores (2011) o pH é fundamental para estabilidade de ativos.



**Figura 13:** Valores de pH no intervalo de tempo e em diferentes temperaturas.

### 5.6.2 Determinação do tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão

Sabe-se que em nanoemulsões, quanto menor o tamanho de partículas maior a estabilidade, isto porque o movimento browniano se torna mais significativo (KONG; PARK, 2011). A determinação do tamanho de partícula é um dos principais parâmetros para a avaliação da estabilidade de nanoemulsões, pois o tamanho interfere diretamente nos fenômenos de floculação e coalescência (GIANETE et al., 2012). Ao avaliar numericamente o tamanho das partículas não se observou aumento macroscópico e as partículas permaneceram aceitáveis para considerá-las como nanoemulsões (RABELO, 2011).

O PDI é um parâmetro adimensional da amplitude do tamanho de partícula, que é expresso em valores de 0 a 1. Um valor baixo de PDI indica uma população de partículas monodispersas enquanto que valores de PDI elevado indicam uma ampla distribuição em torno de 0,1, indicando a homogeneidade em ambas as formulações. Maruno e Rocha-Filho (2017) encontraram significantes potenciais zeta negativos usando surfactantes não iônicos e associaram esse fenômeno a algumas propriedades químicas das cadeias de polioxietileno nos surfactantes utilizados (GIANETE et al., 2012). O potencial zeta é influenciado pelos tensoativos utilizados. Ele reflete o potencial da superfície das partículas, o que é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante. As cargas negativas geram repulsão entre as gotículas, sendo o potencial zeta um indicador

parcial de estabilidade física das nanoemulsões (MARUNO&ROCHA-FILHO, 2017). Observou-se que o potencial zeta de todas as amostras estudadas foi negativo antes e após os testes de estabilidade preliminar.

Os valores de potencial zeta foram (-46,0 mV), (-29,3 mV) e (-38,6) para as nanoemulsões armazenadas na temperatura ambiente, geladeira e estufa respectivamente, na medição inicial. Durante o armazenamento, observou que os valores do potencial zeta diminuíram em todas as temperaturas, o que indica que valores baixos é sinal de instabilidade física do sistema disperso. Em nanoemulsões aniônicas e catiônicas cineticamente estáveis e atribuídas estabilidade a esses altos valores de potencial zeta, porque esse parâmetro é responsável pela estabilidade das dispersões coloidais e indica o grau de repulsão entre cargas com carga semelhante partículas na dispersão. Reduções nos valores zeta estão relacionadas a uma maior tendência à floculação, o que não foi o caso das nanoemulsões neste estudo.

Os valores dos índices de polidispersividade também não variaram, assim como o diâmetro médio das partículas. Tais estudos são bastante relevantes, pois através deles podemos inferir que as nanoemulsões permaneceram estáveis ao longo do tempo. Os tensoativos utilizados, provavelmente, permitiram a formação de um filme interfacial coeso ao redor das partículas, constituindo uma camada estabilizante altamente resistente, permitindo que as formulações permaneçam estáveis ao longo do tempo. Interfere nos fenômenos de floculação e coalescência (GIANETE et al., 2012).

**Tabela 17:** Resultado da caracterização físico química da nanoemulsão ao logo do tempo acondicionada em temperatura ambiente ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ).

Tempo de análise	Tamanho (nm)	Índice de polidispersão	Potencial Zeta (mV)
24h	$119,8 \pm 2,902$	$0,162 \pm 0,009$	$-46,0 \pm 0,889$
7 dias	$119,9 \pm 0,5508$	$0,156 \pm 0,002$	$-22,9 \pm 1,18$
14 dias	$117,4 \pm 0,8021$	$0,161 \pm 0,003$	$-33,0 \pm 1,68$
21 dias	$122,1 \pm 1,159$	$0,195 \pm 0,008$	$-34,1 \pm 2,24$
28 dias	$119,4 \pm 1,212$	$0,179 \pm 0,009$	$-28,6 \pm 0,057$

**Tabela 18:** Resultado da caracterização físico química da nanoemulsão ao logo do tempo acondicionada em geladeira ( $4\pm 2^\circ\text{C}$ ).

Tempo de análise	Tamanho (nm)	Índice de Polidispersão	Potencial zeta (mV)
24h	$118,2 \pm 1,436$	$0,156 \pm 0,021$	$-29,3 \pm 1,11$
7 dias	$120,9 \pm 0,692$	$0,172 \pm 0,013$	$-34,2 \pm 1,85$
14 dias	$119,6 \pm 1,767$	$0,164 \pm 0,009$	$-32,8 \pm 1,44$
21 dias	$122,1 \pm 0,808$	$0,171 \pm 0,018$	$-28,7 \pm 0,66$
28 dias	$123,2 \pm 0,862$	$0,178 \pm 0,016$	$-33,4 \pm 1,22$

A relação entre temperatura de armazenamento e estabilidade da emulsão é bem conhecida. Amostras armazenadas em temperatura ambiente ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ) manteve o mesmo tamanho de partícula até o final dos 28 dias, Tabela 17. Amostras armazenadas a ( $45\pm 2^\circ\text{C}$ ) ocorreram mudanças mínimas no tamanho de partículas, comparado com amostras armazenadas em temperaturas mais baixas ( $4\pm 2^\circ\text{C}$ ) mostraram mudanças. Apesar destas mudanças, as nanoemulsões não apresentaram processos de instabilidade macroscópica e seu tamanho de partícula permaneceu na faixa de nanoescala, levando em consideração que a faixa de tamanho de gota das nanoemulsões é 50–500 nm.

**Tabela 19:** Resultado da caracterização físico química da nanoemulsão ao longo do tempo acondicionada em estufa ( $45\pm 2^\circ\text{C}$ ).

Tempo de análise	Tamanho (nm)	Índice de Polidispersão	Potencial zeta (mV)
24h	$123,2 \pm 1,127$	$0,171 \pm 0,016$	$-38,6 \pm 1,27$
7 dias	$119,7 \pm 1,419$	$0,182 \pm 0,021$	$-32,5 \pm 0,40$
14 dias	$117,9 \pm 1,155$	$0,153 \pm 0,005$	$-38,0 \pm 1,92$
21 dias	$118,8 \pm 0,723$	$0,167 \pm 0,012$	$-27,6 \pm 0,36$
28 dias	$120,7 \pm 0,305$	$0,183 \pm 0,003$	$-31,5 \pm 0,10$

## CONCLUSÕES

- Na caracterização físico-química do óleo de maracujá, observaram-se valores dentro dos padrões aceitáveis pela legislação brasileira;
- É uma formulação que utiliza um óleo vegetal, proveniente do maracujazeiro, árvore comum em nosso país, valorizando o mercado desse óleo;
- A avaliação da capacidade antioxidante através dos métodos de ABTS e  $\beta$  caroteno/ácido linoleico sugere que o óleo de maracujá possui um alto potencial antioxidante e deve ser alvo de pesquisa para aplicação em produtos cosméticos;
- Após o estudo do equilíbrio hidrófoco-lipofico (EHL), entre os três pares de tensoativos. A associação entre Tween 80<sup>®</sup> e Procetyl AWS apresentou a nanoemulsão com menor tamanho de partícula 8,98 nm;
- A concentração de 5% (m/m) óleo de maracujá, 5% (m/m) de uma mistura de tensoativos e 2% de vitamina e 90% de água, foi possível obter uma nanoemulsão estável, pelo método de alta energia;
- As nanoemulsões se mantiveram estáveis armazenadas em temperaturas diferentes durante a avaliação da estabilidade preliminar por 28 dias.
- Em relação ao pH das nanoemulsões, não apresentaram valores compatíveis com a pele (4,5 a 6,0). O que indica que há uma necessidade de correção nesse estudo;
- Desta forma, vale ressaltar a relevância deste trabalho para a área da nanotecnologia farmacêutica, uma nanoemulsão contendo óleo de maracujá e a vitamina E com potencial para sistemas drug delivery;
- Destaca-se a necessidade de outros estudos, bem como de toxicidade, ensaios de caracterização da nanoemulsão, assim como estudo *em vitro* e *em vivo*, entre outros.

## REFERÊNCIAS

- Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos Abihpec, Sebrae, II **Caderno de Tendências. Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos**, Vol. 2. Disponível em: <https://abihpec.org.br>.
- ALMEIDA, M. de M. **Determinação e quantificação das vitaminas C e E associadas em produtos cosméticos**. 83f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. São Paulo, 2008.
- ALMEIDA, K. M.; MEDEIROS, E. P.; GOMES, J. P.; DE SOUSA, E. P.; DOS SANTOS, J. W. **Caracterização físico-química de misturas de óleos vegetais para fins alimentares**. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável v. 8, n. 1, p. 218 – 222, 2013, <http://revista.gvaa.com.br>
- ALLEMANN, I. B.; BAUMANN, L. S. **Antioxidantes e as formulações para cuidados com a pele**. Revista RBM Especiais, v. 18, p. 18-14, 2012.
- ALMEIDA, M. M.; LIMA, C. R. R. De C.; QUENCA-GUILLEN, J. S.; MOSCARDINI-FILHO, E.; MERCURI, L. P.; SANTORO, M. I. R. M. **Stability evaluation of tocopheryl acetate and ascorbyl tetraisopalmitate in isolation and incorporated in cosmetic formulations using thermal analysi**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 46, n. 1, p. 129-134, 2010.
- ALMEIDA, M. E.; TEIXEIRA, H. F.; KOESTER, L. S. **Preparação de Emulsões Submicrométricas: Aspectos Teóricos sobre os Métodos Empregados na Atualidade**. Latin American Journal of Pharmacy, v.27, n.5, p. 780-788, 2008.
- ANTONIASSI, R. **Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras**. B. CEPPA, Curitiba, v. 14, n. 9, p 353-380. 2001.
- AOAC **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17th ed.; Horwitz, W., Ed.; AOAC: Arlington, VA, Vol. II (1-3). 2000.
- AWIKA, J. M., ROONEY, L. W., XIANLI W., PRIOR, R. L., ZEVALLOS, L. C. **Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (Sorghum bicolor) and sorghum products**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, p. 6657-6662, 2003.
- BEDIN, A. C. **Nanoemulsões contendo Benzoilmetronidazol: Desenvolvimento, Caracterização e Estudo de Liberação in vitro**. 110f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Santa Catarina, 2011.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de produtos cosméticos**, Uma Abordagem sobre os Ensaio Físicos e Químicos, Brasília, 2007.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento Técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 set. 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>.

BRESOLIN, T. M. B., MAS, J. D., ZERMIANI, T., THIESEN, L. C., SILVEIRA, J. L., DA SILVA, K. A., DE SOUZA, M. M., MALHEIROS, A., SILVA, R. M.L. **Nanoemulsion as a Carrier to Improve the Topical Anti-Inflammatory Activity of Stem Bark Extract of Rapanea Ferruginea**. *International Journal of Nanomedicine*, v.11, p. 4495-4507, set., 2016.

BRUXEL, F.; LAUX, M.; WILD, L. B.; FRAGA, M.; KOESTER, L. R.; TEIXEIRA, H. F. **Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos**. *Quim. Nova*, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.

CAMPOS, M.G., WEBBY, R. F., MARKHAM, K. R., MITCHELL, K.A., DA CUNHA, A. P. **Age- induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, p. 742-745, 2003.

CARDOSO DE OLIVEIRA, R., DAVANTEL DE BARROS, S. T., & GIMENES, M. **The extraction of passion fruit oil with green solvents**. *Journal of Food Engineering*, 117, 458–463, 2013.

CASTELO-BRANCO, V. N., SANTANA, I., SARLI, V. O., FREITAS, S. P., TORRES, A. G. **Antioxidant capacity is a surrogate measure of the quality and stability of vegetable oils**. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v.17, n.22, p.8-16, 2015.

CASIERRA-POSADA, F., JARMA-OROZCO, A. **Nutritional composition of Passiflora species**. In M. S. J. Simmonds & V.R. Preedy (Eds.), *Nutritional composition of fruit cultivars* (1st ed., pp. 517–534). London: Academic. 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00022-2>

CERQUEIRA-COUTINHO, C., OLIVEIRA, R. S., DOS SANTOS, E., MANSUR, C. R., **Development of a Photoprotective and Antioxidant Nanoemulsion Containing Chitosan as na Agent for Improving Skin Retention**. *Engineering in Life Sciences*, v.15, n.6, p.593-604, set. 2015.

CHAU, C. F., HUANG, Y. L. **Characterization of passion fruit seed fibres-a potential fibre source**. *Food Chemistry*, v.85, p189–194, 2004.

CHORILLI, M. **Desenvolvimento e caracterização físico-química de sistema nanoestruturados contendo palmitato de retinol: controle microbiológico, avaliação da segurança e eficácia no tratamento do envelhecimento cutâneo**. 203f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2007.

CRUZ, I. R.; BITTENCOURT, M. S.; Da SILVA.; M. A.; GODOY, A. Dos S. **Estudo de Estabilidade e Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos: Revisão de Literatura**. Disponível em: <http://co.unicaen.com.br:89/periodicos/index.php/UNICA/article/view/121/114>.

COIMBRA, M.C.; JORGE, N. **Characterization of the Pulp and Kernel Oils from Syagrus oleracea, Syagrus romanzoffiana and Acrocomia aculeata**. *Journal of Food Science*. V.76, n.8, p. 1156-1161, 2011.

CONCEIÇÃO, R. C.; **Estudo da Avaliação Térmica e Oxidativa do Óleo, Biodiesel e de Misturas de Biodiesel/Diesel de Espécies Amazônicas**. 97f. Doutorado (Tese). Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

CONCEIÇÃO, R.C; CONCEIRO, P.G da C; CHARR, J. da S. **Estudo da Avaliação Térmica do óleo, biodiesel e de misturas biodiesel/diesel de maracujá (*Passiflora edulis*)**. Scientia Amazônia, v.4, n.3, 93-100, 2015.

CONTENTE, D. M. L. **Obtenção e Caracterização de nanoemulsão óleo em água a partir do óleo de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.)** 91f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Para. Belém, 2016.

CORDEIRO, M. S. F.; COSTA, J. K. B.; LIMA, C. G.; CAMPELO, J. D. C.; MELO, A. F. M. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação de estabilidade de gel dermatológico a partir do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*)**. Revista Brasileira de Farmácia, v.94, n.2, p.148-153, 2013.

COSTA, M. N. F. dos S., NEGRÃO, C. A. B., MUNIZ, M. A. P., DA COSTA, C. E. F. LAMARÃO, M. L. N. MORAIS, L., SILVA JUNIOR, J. O. C., COSTA, R. M. R., **Characterization of Pentaclethra maculosa oil**. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. v.115, p. 2269-2275, 2013.

COSTA, R. S., NEGRÃO, C. A. B., CAMELO, S. R. P., COSTA, R. M. R., BARBOSA, W. L. R., DA COSTA, C. E. F., SILVA JUNIOR, J. O. C., **Investigation of thermal behavior of Heliotropium indicum L. lyophilized extract by TG and DSC**. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 111, p. 1959-1964, 2013.

CUTRIM, E. M. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante dos óleos essenciais de *Zingiber officinale Roscoe* (gengibre) e *Rosmarinus officinalis L.* (alecrim) frente as bactérias patogênicas**. Monografia (Graduação), Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

DALBELO, S. E.; **Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e *Ginkgo biloba***. 176f. (Tese) Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos. Ribeirão Preto, 2008.

DAUDT, R. M., EMANUELI, J., KULKAMP-GUERREIRO, I. C., POHLMANN, R. A., GUTERRES, S. S. **A Nanotecnologia como Estratégia para o Desenvolvimento de Cosméticos**. Ciência&Cultura, v.65, n.3, 2011.

DEUS, T. N.; **Extração e Caracterização de óleo de pequi (*Caroyocar brasiliensis Camb.*) para o uso sustentável em formulações cosméticas óleo/água (O/A)**. 75f. Dissertação (Mestrado) Universidade Católica de Goiás, Goiana, 2008.

DEUSCHLE, V. C. K. N., DEUSCHLE, R. A. N.; BORTOLUZZI, M. R.; ATHAYDE, M. L. **Physical chemistry evaluation of stability, spreadability, in vitro antioxidant, and photo-protective capacities of topical formulations containing *Calendula officinalis L.* leaf extract**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 51, n. 1, p. 63-75, 2015.

DHAWAN, K., DHAWAN, S., SHARMA, A. **Passiflora: A review update**. Journal of Ethnopharmacology, 94, 1–23, 2004.

DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; BOUBEKEUR, N.; STOCKER, P. **Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds**. Food Chemistry, v.97, n.4, p.654-60, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; DOS SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F.M. **Avaliação da Atividade Antioxidante Utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/acido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH.** Food Science and Technology. v.26, n. 2, p.446-452, 2006.

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde.** Brasília, DF: Embrapa (Coleção 500 perguntas, 500 respostas) ISBN 978-85-7035-617-8, 2016.

FARIA, E. A.; LELES, M. I. G. **Estudo da Estabilidade Térmica de Óleos e Gorduras Vegetais por TG/DTG e DTA.** Eclét. Quím. v.27, São Paulo, 2002.

FERNANDES, P.; ANDRE, V.; RIEGER, J.; KUHNLE, A. **A Nano-Emulsion Formation by Emulsion Phase Inversion.** Colloids and Surfaces. Physicochemical and Engineering Aspects. v.251, n.3, p.53-58, dez. 2004.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. **Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes.** Rev. Bras. Frutic. v. 26, n.1, p. 101-102, 2004.

GELALETI, D.; GALVÃO, I. S.; BATISTA, M. M. L.; FELIX, M.; DOS SANTOS, V. F.; JARDIM, M.; OLIVEIRA, C. R.; ANTUNES, V. M. **Estabilidade de Formulação dermatocósmica contendo Extrato de *Pelargonium graveolens*.** Brazilian Journal of Natural Sciences, v.1, n.2, p. 16-25, 2019. <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i1.31>

GIANETI, M. D.; GASPAR, L. R.; CAMARGO, F.B.; MAIA-CAMPOS, D. H. B. G. **Benefits of combinations of vitamin A, C and E derivatives in the stability of cosmetic formulations.** Molecules, v.17, n.2, p.2219-2230, 2012.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G. e COLEPICCOLO, P. **Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia.** Química Nova, v.30, n.1, p.206213, 2007.

GUNSTONE, F. D. **The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties and Uses.** USA: CRC Press, 2004.

GONÇALVES, R. P.; VALDERRAMA, P.; Thermal edible oil evaluation by UV-Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v.163, p.83-86, 2014.

GRIFFIN, W. C. **Classification of surface active agents by HLB.** J. Soc. Cosmet. Chem., v. 1, p. 311–326, 1949.

HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. **Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo.** Acta Farmaceutica Bonaerense, v.23, n.3, p. 418-24, 2004.

IJEOMA, K. H.; PRISCA, U. I. **Characterization of the Chemical Properties of Some Selected Refined Vegetable Oils Commonly Sold in Nigeria.** British Journal of Applied Science & Technology, v.5, n.6, p.538-546, 2015.

JABLONSKI, S. J.; KULAZYNSKI, M.; Sikora, I.; ŁUKASZEWICZ, M. **The influence of different pretreatment methods on biogas production from *Jatropha curcas* oil cake.** Journal of Environmental Management, v. 203, p.714, 2017.

JAVIDNIA, K.; PARISH, H.; KARIMI, S.; HEMMATEENEJAD, B. **Discrimination of edible oils and fats by combination of multivariate pattern recognition and FT-IR spectroscopy: A comparative study between different modeling methods.** *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v.104, p.175–181, 2013.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. **Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais.** *Ciência Agrotécnica, Lavras*, v.29, n.5, p. 1008-1014, 2005.

KOURNIATIS, L. R. **Nanoemulsões óleo de laranja/água preparadas em homogeneizadores de alta pressão.** *Química Nova*, n.33, n.2, p.295-300, 2010.

KULKAMP, I.C.; RABELO, B. D.; BERLITZ, S. J.; ISOPPO, M.; BIANCHIN, M. D.; SCHAFFAZICK, S. R.; POLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. **Nanoencapsulation improves the in vitro antioxidant activity of lipoic acid.** *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 7, nº598. 2012.

KUSKOSKI, M. E.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. **Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutos.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

MALACRIDA, C. R., JORGE, N. **Óleo de semente de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. Flavicarpa*): características físicas e químicas.** *Braz. arco. biol. technol.* v.55, n.1 Curitiba jan./fev. 2012.

MARCATO, P. D. **Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas solidas.** *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. VI (2), p. 01-37, 2009.

MARIOTTI, D.; FRASSON, A. P. Z. **Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de formulações cosméticas contendo extrato etanólico dos frutos de *Fragaria vesca L.* (morango).** *Infarma*. v.23, n.3, 2011.

MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, R. M. S.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R. **Quantificação de TBHQ (Terbutilhidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais.** *Química nova*, v.31, p.1053-1057, 2008.

MAYER, S.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. **Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: Factors influencing droplet size and stability.** *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 402, p. 122-130, 2013.

NARAYANAN, N., DURAI, R., PUJARI, K., DUARAH, S. **Nanotechnology based Cosmeceuticals.** *International Journal of Applied Pharmaceuticals*. V. 8, p. 8–12, 2016.

NGAN, C. L.; BASRI, M.; TRIPATHY, M.; ABEDI, K. R.; ABDUL, M. E. **Skin Intervention of Fullerenes-Integrated Nanoemulsion in Structural na Collagen Regeneration against Skin Aging.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.70, p.22-28, abr. 2015.

NIK, W. B. W.; ANI, F. N.; MASJUKI, H. H. **Thermal stability evaluation of palm oil as energy transport media.** Energy Conversion and Management, v.46, p.2198-2215, 2005.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, L. **Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica.** Química nova, v. 34, N. 7, p. 1224-1230, 2011.

OLIVEIRA, R., SANTOS, D. **Sistemas Transdermicos: Novas Formas Farmacêuticas para Administração de Fármacos.** Universidade Fernando Pessoa, Porto, p.151-165, 2011.

OSTROWSKA-LIGEZA, E.; KOWALSKA, D.; WRONIAK, M., BEKAS, W.; LOBACZ, M.; KOWALSKI, B. **Kinetics of commercial olive oil oxidation: Dynamic differential scanning calorimetry and Rancimat studies.** Journal of Thermol Analysis and Calorimetry, v. 112, p. 481-487, 2013.

PACHECO, M. T. **Desenvolvimento e Caracterização de Nanoemulsão a base de óleo de sucupira (*Pterodon spp.*) Avaliação de sua toxicidade e bioatividade *in vitro*.** 96f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás, 2017.

PARDAUIL, J.; MOLFETTA, F.; DA ROCHA FILHO, G.N.; SOUZA, L. K.; ZAMIAN, J.R. **Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area,** Bioresource Technology, v.10, v.2 p.5873–5877, 2011.

PEREIRA, R. R. **Obtenção e Caracterização de sistemas líquidos cristalinos contendo óleo de açaí (*Euterpe oleraceae Mart.*).** 102f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Para. Belém, 2015.

PEREIRA, T. A.; **Obtenção e Caracterização de nanoemulsões O/A a base do óleo de framboesa, maracujá e pêsego: Avaliação de propriedades cosméticas da formulação.** 120f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto /USP. Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos, Ribeirão Preto, 2011.

PEREIRA, E.; FERREIRA, M. C.; SAMPAIO, K. A.; GRIMALDI, R.; MEIRELLES, A. J. de A.; Maximo, G. J. **Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends.** Food Chemistry, n. 278, p. 208-215, 2019.

PEREIRA LIMA, R.; SOUZA DA LUZ, P. T.; BRAGA, M.; DOS SANTOS BATISTA, P. R.; FERREIRA DA COSTA, C. E., ZAMIAN, J. R.; DA ROCHA FILHO, G. N. **Murumuru (*Astrocaryum murumuru Mart.*) butter and oils of buriti (*Mauritia flexuosa Mart.*) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba (Willd.) Kuntze*) can be used for biodiesel production: Physico-chemical properties and thermal and kinetic studies.** *Industrial Crops and Products*, v. 97, p.536–544. 2017.

POPESCU, R.; COSTINEL, D.; DINCA, O. R.; MARINESCU, A.; STEFANESCU, I.; ROXANA, E. I. **Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics.** Food Control, v.48, p. 84-90, 2015.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, U. PANNALA, A.; YANG, M.; RICE, E. C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay**. Free Radical Biology and Medicine, v.26, p.1231–1237, 1999.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a dermoestética**. 2. Ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

ROCHA-FILHO, P. A.; MARUNO, M.; OLIVEIRA, B.; BERNARDI, D. S.; GUMIERO, V. C.; PEREIRA, T. A. **Nanoemulsões como veículo para medicamentos e cosméticos**. Nanosci Technol, v.1, n.1, 2014.

RIBEIRO, R. C. de A.; BARRETO, M. A. G.; OSTROSKY, E. A.; ROCHA-FILHO, P. A.; VERÍSSIMO, L. M., FERRARI, M. **Produção e caracterização de nanoemulsões cosméticas contendo extrato de *Opuntia ficus-indica* (L.) como agente hidratante**. PubMed, v.20, p. 492-509, 2015.

RODRIGUES, J. D. O., MURAWSKI, A., BECKLER, B., LOPES, R. V. V., PATERNO, L. G., QUIRINO, R. L., SALES, M. J. A. **Bio-based polyurethanes and composites from passion fruit oil methyl esters and coconut husk fibers**. In A. Shahzad (Ed.), Biocomposites: Properties, performance and applications (p.125–144). New York: Nova Science Publishers, 2017.

ROHAETI, E.; RAFI, H.; SYAFITRI, U. D.; HERYANTO, R.; Fourier transform infrared spectroscopy combined with chemometrics for discrimination of *Curcuma longa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.137, p.1244-1249, 2015.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de.; MORAIS, S. M. de.; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 4p. (Comunicado técnico, 128), 2007.

RUSCHEL, C.F.C., HUANG, C.T., SAMIOS, D., FERRÃO, H. F. **Análise Exploratória Aplicada a Espectros de Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) de Blendas de Biodiesel/Diesel**. QUIMICA NOVA, v.37, n.05, p. 810-815, 2014.

SANTOS, J. C. O.; Dos SANTOS, I. M. G.; De SOUZA, A. G.; Dos SANTOS, A. V. **Thermal stability and kinetic study on thermal decomposition of commercial edible oils by thermogravimetry**. Journal of Food Science, v.67, p.1393-1398, 2002.

SANTOS, E. A., SOUZA, M. M., ABREU, P. P., DA CONCEICAO, L. D. H. C. S., ARAUJO, I. S., VIANA, A. P., DE ALMEIDA, A. A. F., FREITAS, J. C. O. **Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for ornamental use**. Euphytica, v.184, n.3, p.389–399, 2012.

SARKER, D. K.; GUGLIELMINI, G. **Engineering of nanoemulsions for drug delivery**. Cosmetics & Toiletries. v. 2, n. 297, 2008.

SILVA, L. C.; CARVALHEDO, L. F.; VIEIRA, J. P. C.; SILVA, L. A. MONTEIRO, O. S.; DO CARMO, L. H. A. **Delineamento de formulações cosméticas com óleo**

**essencial de *Lippia gracilis* (Alecrim-de Tabuleiro) de origem amazônica.** Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada, v.36, n.2, p.319-326, 2015.

SILVA, H. D.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. **Influence of surfactant and processing conditions in the stability of oil-in-water nanoemulsions.** Journal of Food Engineering, v. 167, p. 89-98, 2015.

SILVEIRA, S. M. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante de Extratos Vegetais e Óleos Essências e Aplicação do óleo de louro (*L. nobilis*) como Agente Conservador Natural em Embutido Carne Frescal.** 205f. Tese (Doutorado) Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

SOLANS, C.; SOLÉ, I. **Nano-emulsions: Formation by low-energy methods.** Current Opinion in Colloid & Interface Science, v.17, n.5, p.246-254, outubro, 2012.

SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R. C.; PACKER, J. F. **Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra L.* – Acerola.** Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada, v. 34, n.1, p. 69-77, 2013.

SOUZA, V. B.; FERREIRA, J. R. N.; **Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca L.*),** Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada, v.31, n.3, p. 217-222, 2010.

TADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C.; **Formation and stability of nano-emulsions.** Advances in Colloid and Interface Science, Emulsions, From Fundamentals to Proctical Applications. v.10, p. 227-258, maio 2004.

TAKAM, P. N., DJIKENG, F. T., KUATE, D., KENGNE, A. P. N., TSAFACK, H. D, MAKAMWE, I., OBEN, J. E. **Óleo de semente de *Passiflora edulis* do oeste dos Camarões:** caracterização química e avaliação de seu efeito hipolipemiante em ratos induzidos por dieta rica em gordura. Food Sci Nutr. v.7, n.11, p.3751-3758, 2019.

VENUS, M.; WATERMAN, J.; MCNAB, I. **Basic physiology of the skin.** Surgery (Orford), Orthopaedic surgery: lower limb. v.28, n.10, p.469-472, 2010.

WALIA, M.; RAWAT, K.; BRUSHAN, S.; PADWAD, Y. S.; SINGH, B. **Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace.** Journal Science Food Agriculture, v. 94, p. 929-934, 2014.

WANDERLEY, A. L., **Atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis L.*, cultivado em sistemas orgânicos sob diferentes condições, frente a bactérias causadoras de mastite bovina.** 155f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Agronomia. Universidade de Brasília, 2015.

WONG, R.; GEYER, S.; WENINGER, W.; GUIMBERTEAU, J. C.; WONG, J. K. **The Dynamic Anatomy and Patterning of skin.** Experimental Dermatology, v.25, n.2, p.92-98, fev., 2016.

WU, X.; GUY, R. H. **Applications of nanoparticles in topical drug delivery and in cosmetics.** Journal of Drug Delivery. Science and Technology, v.19, n.371, 2009.

YILMAZ, E.; BORCHERT, H.-H. **Effect of lipid-containing, positively charged nanoemulsions on skin hydration, elasticity and erythema: an in vivo study.** International Journal of Pharmaceutics, v. 307, n.232, 2006.

YUKUYAMA, M. N.; GHISLENI, D. D.; PINTO, T. J.; BOU-CHACRA, N. A **Nanoemulsion: Process Selection and Application in Cosmetics,** Review: International Journal of Cosmetic Science, p.1-12, jul., 2015.

ZERAIK, M. L., PEREIRA, C. A. M., ZUIN, V. G., YARIWAKE, J. H. **Maracujá: um alimento funcional?** Revista Brasileira de Farmacognosia, 20, 459–471, 2010.

ZUIN, V. G., RAMIN, L. Z. **Green and sustainable separation of natural products from agro-industrial waste:** Challenges, potentialities, and perspectives on emerging approach. Topics in Current Chemistry, 376, 3, 2018.