



FACULDADE DE ENFERMAGEM NOVA ESPERANÇA
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

JEFFERSON VIANA DE OLIVEIRA

**DETERMINAÇÃO DO EQUILÍBRIO HIDROFÍLICO-LIPOFÍLICO (EHL) DO
ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA (*Melaleuca alternifolia*)**

JOÃO PESSOA

2022

JEFFERSON VIANA DE OLIVEIRA

**DETERMINAÇÃO DO EQUILÍBRIO HIDROFÍLICO-LIPOFÍLICO (EHL) DO
ÓLEO DE MELALEUCA (*Melaleuca alternifolia*)**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Faculdade de Enfermagem Nova Esperança como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Me. Mysrayn Yargo de Freitas Araújo Reis

JOÃO PESSOA

2022

O47d

Oliveira, Jefferson Viana de

Determinação do Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) do óleo essencial de melancia *Melaleuca Alternifolia* / Jefferson Viana de Oliveira. – João Pessoa, 2022.

57f.; il.

Orientador: Profª. Ms. Mysrayn Yargo de Freitas Araújo Reis.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade Nova Esperança - FACENE

1. Emulsões Farmacêuticas. 2. Tensoativos. 3. índice de Cremagem. 4. Tamanho de Gotículas. 5. Potencial Zeta. I. Título.

CDU: 613.2:591.133.1

JEFFERSON VIANA DE OLIVEIRA

**DETERMINAÇÃO DO EQUILÍBRIO HIDROFÍLICO-LIPOFÍLICO (EHL) DO
ÓLEO DE MELALEUCA (*Melaleuca alternifolia*)**

Trabalho de conclusão de curso defendido por Jefferson Viana de Oliveira, do curso de bacharelado em Farmácia, tendo obtido o conceito de _____, conforme a apreciação da Banca Examinadora constituída pelos professores:

Aprovado em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. Orientador Mysrayn Yargo de Freitas Araújo Reis – Faculdade Nova Esperança.

Prof^a Dra. Deysiane Oliveira Brandão – Faculdade Nova Esperança.

Prof. Dr. Fernando José de Lima Ramos Júnior – Faculdade Nova Esperança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me abençoar e proporcionar à realização desta conquista.

Agradeço a minha mãe, Lucileide, por me apoiar e pelos sacrifícios que ela teve que passar para que fosse possível a realização do meu sonho.

Agradeço ao meu amigo e orientador Prof. Me. Yargo, por todos os ensinamentos, paciência, prestatividade, apoio e oportunidades. Principalmente, por acreditar no desenvolvimento do meu trabalho.

Agradeço a Eymme Rayssa por me acompanhar durante todos os momentos dessa caminhada, seja nos momentos de descontrações, seja nos instantes de aperreios, principalmente no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço a Augusto de Souza, um grande amigo que tive a oportunidade de conhecer durante essa caminhada.

Agradeço aos meus amigos de infância que, mesmo distante sempre que possível estavam disponíveis a me ajudar em qualquer situação, principalmente, Evaldo Nogueira, Ana Paula e Adriana Ananias.

Agradeço ao meu primo Leandro Carlos e a minha avó Maria Andrade pelo apoio estrutural e por acreditar nos meus sonhos e no meu potencial.

Agradeço a todos os meus colegas da turma de Farmácia 2018.2, principalmente a Janaina Cristina, João Victor, João Paulo, Pedro pela convivência prazerosa. Também agradeço aos demais colegas, não menos importante, que tive a oportunidade de conhecer durante essa jornada.

Agradeço a todos os professores e professoras pelos ensinamentos, pela paciência, pela amizade, pela disponibilidade, por serem à base da minha formação.

Agradeço a todos os demais funcionários que fazem parte da instituição FACENE, sendo um elo importantíssimo no suporte necessário para o desenvolvimento da minha formação.

Agradeço a Thayse Medeiros que se disponibilizou e contribuiu na construção do meu projeto. Também agradeço aos demais, não menos importante, que me ajudaram nesse projeto tão importante.

RESUMO

O óleo essencial de Melaleuca (OEM) é um componente bioativo utilizado pela indústria farmacêutica no desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos e alopáticos, aromaterapia, cosmetologia, biocida natural, fungicida e conservante. A liberação do OEM baseada em sistema de emulsão é uma das alternativas aplicada pela indústria. No entanto, as emulsões são sistemas heterogênicos que apresentam o comportamento termodinamicamente instáveis, sendo necessário a utilização de agentes emulsificantes. A determinação do Equilíbrio Hidrófilo Lipofílico (EHL) da fase oleosa é um dos métodos que permite selecionar a combinação ideal de tensoativos necessário para obter uma formulação estável. O presente trabalho se propôs a determinar o valor de EHL do OEM a partir da análise da estabilidade de emulsões O/A. A definição do EHL do OEM iniciou-se com preparação de uma série de oito emulsões com valores fixos de fase aquosa (água destilada), fase oleosa (OEM) e misturas com diferentes proporções dos tensoativos (Span[®] 80 e Tween[®] 80) pelo método de inversão de fases. A partir das emulsões obtidas foram realizados testes físico-químicos em intervalos fixos de 24 horas, sete e quatorze dias (D0, D7 e D14) contemplando as análises macroscópicas, o índice de cremagem (IC), a determinação do tamanho das gotículas, a análise turbidimétrica, o índice de polidispersão (IPD) e o potencial zeta (PZ). No que concerne às características macroscópicas, as formulações demonstraram ser de baixa viscosidade (líquidas) e com coloração esbranquiçada nas emulsões 1 (EHL 4,5), 2 (EHL 6), 3 (EHL 7,5), 4 (EHL 9), 5 (EHL 10,5), 6 (EHL 12) e 7 (EHL 13,5), nas quais também pôde ser observada a formação do fenômeno da cremagem. Na emulsão 8 (EHL 15), não foi identificado a formação da cremagem, além disso apresentou aspectos ópticos translúcidos. A análise turbidimétrica constatou que a emulsão 8 apresentou o mais alto valor de transmitância (100%) e a emulsão 2, apresentou o mais baixo (13,93%). O tamanho de gotículas evidenciou o menor diâmetro para a emulsão 8 (43,40nm) e o maior diâmetro para a emulsão 5 (594,87nm). Para a análise do IPD, os melhores valores encontrados foram 0,20 (D0), 0,25 (D7) e 0,40 (D14), referente à emulsão 8. Por fim, para a análise de PZ, observou-se uma faixa compreendida entre -5,88 mV a -47,53 mV entre as emulsões estudadas. A determinação do EHL de óleos essenciais a partir da análise da estabilidade de emulsões se mostrou simples, de fácil preparação e com um tempo de análise relativamente curto. A partir dos dados obtidos, pode-se concluir que a emulsão mais estável possuía um valor de EHL de 15 (emulsão 8). Logo, esse mesmo valor de EHL pode ser atribuído ao valor de EHL do OEM. No entanto, pode-se fazer necessária a realização de estudos posteriores que ampliem a faixa de EHL do OEM encontrado para valores mais estreitos.

Palavras-chaves: Emulsões Farmacêuticas. Tensoativos. Índice de Cremagem. Tamanho de Gotículas. Potencial Zeta.

ABSTRACT

Melaleuca essential oil (OEM) is a bioactive component used by the pharmaceutical industry in the development of herbal and allopathic medicines, aromatherapy, cosmetology, natural biocide, fungicide and preservative. OEM release based on emulsion system is one of the alternatives applied by the industry. However, emulsions are heterogeneous systems that exhibit thermodynamically unstable behavior, requiring the use of emulsifying agents. The determination of the Hydrophilic Lipophilic Balance (HLB) of the oil phase is one of the methods that allows selecting the ideal combination of surfactants necessary to obtain a stable formulation. The present work aimed to determine the HLB value of the OEM from the analysis of the stability of O/W emulsions. The OEM HLB definition started with the preparation of a series of eight emulsions with fixed values of aqueous phase (distilled water), oil phase (OEM) and mixtures with different proportions of surfactants (Span® 80 and Tween® 80) by phase inversion method. From the obtained emulsions, physical-chemical tests were carried out at fixed intervals of 24 hours, seven and fourteen days (D0, D7 and D14) contemplating the macroscopic analyses, the cremation index (CI), the determination of the droplet size, the turbidimetric analysis, polydispersity index (IPD) and zeta potential (PZ). With regard to the macroscopic characteristics, the formulations proved to be of low viscosity (liquids) and with a whitish color in emulsions 1 (HLE 4.5), 2 (HLE 6), 3 (EHL 7.5), 4 (EHL 9) , 5 (EHL 10.5), 6 (EHL 12) and 7 (EHL 13.5), in which the formation of the cremation phenomenon could also be observed. In emulsion 8 (EHL 15), cremation formation was not identified, in addition, it presented translucent optical aspects. The turbidimetric analysis found that emulsion 8 had the highest transmittance value (100%) and emulsion 2 had the lowest (13.93%). The droplet size showed the smallest diameter for emulsion 8 (43.40nm) and the largest diameter for emulsion 5 (594.87nm). For the IPD analysis, the best values found were 0.20 (D0), 0.25 (D7) and 0.40 (D14), referring to emulsion 8. Finally, for the PZ analysis, a range comprised between -5.88 mV to -47.53 mV among the studied emulsions. The determination of HLB of essential oils from the analysis of emulsion stability proved to be simple, easy to prepare and with a relatively short analysis time. From the data obtained, it can be concluded that the most stable emulsion had an HLB value of 15 (emulsion 8). Therefore, this same EHL value can be assigned to the OEM's EHL value. However, it may be necessary to carry out further studies that expand the EHL range of the OEM found to narrower values.

Keywords: Pharmaceutical Emulsions. Surfactants. Cremation Index. Droplet Size. Zeta Potential.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do método de extração por destilação a vapor.....	14
Figura 2 - Representação esquemática do método de extração por hidrodestilação com o equipamento de Clevenger.....	15
Figura 3 - Diagrama esquemático da configuração de extração de CO ₂ supercrítico.....	16
Figura 4 - Planta <i>Melaleuca alternifolia</i>	17
Figura 5 - Diagrama esquemático da configuração de um sistema coloidal do tipo O/A e A/O.....	24
Figura 6 - Diagrama esquemático da configuração de uma emulsão múltipla do tipo A/O/A.....	25
Figura 7 - Representação esquemática dos mecanismos de instabilidade em sistemas emulsivos.....	26
Figura 8 - Representação de uma molécula tensoativa aniônica de lauril sulfato de sódio.....	28
Figura 9 - Representação esquemática do processo de formação de micelas em meio aquoso.....	29
Figura 10 - Representação esquemática dos tensoativos catiônicos, aniônicos, anfóteros e não iônicos. A cauda corresponde à porção apolar e a cabeça à porção polar.....	30
Figura 11 - Representação esquemática do arranjo de gotículas de tensoativos e Co-tensoativos em sistemas microemulsionados do tipo O/A e A/O.....	33
Figura 12 - Aspectos macroscópicos das emulsões O/A do OEM	43
Figura 13 - Transmitância incidente das emulsões 7 e 8 do OEM	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações relatadas na literatura para o óleo de Melaleuca.....	18
Tabela 2 - Principais estruturas e bioatividade dos constituintes químicos que compõem o OEM.....	19
Tabela 3 - Representação cromatográfica dos principais constituintes do OE obtido de <i>Melaleuca alternifolia</i> Chell. (ISO/FDIS 4730, 2017).....	20
Tabela 4 - Mecanismo de ação do OEM contra diferentes microrganismos.....	21
Tabela 5 - Funções dos valores de EHL com sua aparência de solução e tipo de emulsão	34
Tabela 6 - Composição das emulsões O/A para determinação do EHL do óleo essencial de melaleuca (<i>Melaleuca alternifolia</i>).....	42
Tabela 7 – Índice de cremagem identificado nas formulações do OEM nos intervalos D0, D7 e D14	44
Tabela 8 - Correlação entre o tamanho das gotículas e a análise turbidimétrica do OEM realizada nos dias D0, D7 e D14	45
Tabela 9 - Valores observados sobre a polidispersão das emulsões contendo OEM	46
Tabela 10 - Valores obtidos na análise do potencial zeta das formulações do OEM.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE	Óleo essencial
OEM	Óleo essencial de Melaleuca
OM	Óleo de melaleuca
O/A	Óleo em água
O/A/O	Óleo em Água em óleo
A/O	Água em óleo
A/O/A	Água em óleo em Água
O/O	Óleo em óleo
O/O/O	Óleo em óleo em óleo
EHL	Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo
CBAs	Componentes Bioativos
CO ₂	Dióxido de carbono
AChE	Acetilcolinesterases
ACh	Acetilcolina
nAChR	Nicotínicos da acetilcolina
Na ⁺	Sódio
K ⁺	Potássio
Ca ₂	Cálcio
SAD	Diferença de afinidade dos surfactantes
HLD	Desvio hidrofílico-lipofílico
EHL	Equilíbrio Hidrófilo Lipofílico
IC	Índice de cremagem
IPD	Índice de polidispersão
PZ	Potencial zeta
D0	24 horas
D7	7 dias
D14	14 dias
EHL	Equilíbrio Hidrófilo Lipofílico
IC	Índice de cremagem
IPD	Índice de polidispersão
PZ	Potencial zeta
D0	24 horas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	ÓLEOS ESSENCIAIS (OEs).....	13
2.1.1	Métodos de extração do OEs.....	13
2.2	Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> (OEM)	16
2.2.1	Componentes químicos	19
2.2.2	Aplicações e ações farmacológicas.....	21
2.3	Emulsão.....	23
2.3.1	Classificação das emulsões	24
2.3.2	Instabilidade das emulsões.....	26
2.4	Tensoativos	28
2.4.1	Tensoativos catiônicos	30
2.4.2	Tensoativos aniônicos	31
2.4.3	Tensoativos anfóteros.....	31
2.4.4	Tensoativos não iônicos.....	31
2.5	Equilíbrio Hidrófilo - Lipófilo (EHL).....	33
2.5.1	Métodos de determinação do EHL.....	34
3	OBJETIVO GERAL	37
3.1	OBJETIVO ESPECÍFICO	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	DESCRIÇÃO DO PROJETO	38
4.2	MATERIAL	38
4.2.1	Insumos farmacêuticos.....	38
4.2.2	Equipamentos e vidrarias	38
4.3	MÉTODOS	39
4.3.1	Determinações do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo do óleo essencial <i>Melaleuca alternifolia</i>	39
4.3.2	A preparação das emulsões	39
4.3.3	Caracterização das emulsões.....	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES PARA DETERMINAR O EHL DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Melaleuca alternifolia</i>	42
5.2	APARÊNCIA MACROSCÓPICA	42
5.3	DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE CREMAGEM.....	43
5.4	TAMANHO DE GOTÍCULAS E ANÁLISE TURBIDIMÉTRICA.....	45
5.5	ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO (IPD)	46
5.6	POTENCIAL ZETA (PZ).....	47
6	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são moléculas ativas naturais que podem ser considerados mais seguros e biocompatíveis, quando comparadas com moléculas sintéticas, devido as suas estruturas heterogênicas de ácidos graxos, terpenos, triterpenos, além de uma ampla diversidade de componentes lipofílicos. Promovendo assim, uma possível ação protetora de hidratação cutânea, insetífugo, antisséptica, antiviral, anti-inflamatória e/ou de proteção contra a radiação solar. Com todas estas propriedades, os OEs se tornam elementos terapêuticos alternativos para aplicações clínicas. No entanto, os OEs necessitam de pesquisas complementares para realizar formulações efetivas e estáveis (BARRADAS; SILVA, 2020).

Estima-se que existam milhares de plantas com potencial de extração de OEs. Contudo, apenas cerca de 300 OEs são utilizados em diferentes seguimentos de atuação das indústrias (JUGREET *et al.* 2020). Dentre esses, os OEs da família *Myrtaceae*, a se destacar o OE de melaleuca, se evidencia devido à abrangência das propriedades terapêuticas. Os OEs de melaleuca são de origem australina, e tem a capacidade de se adaptar bem a climas tropicais e subtropicais. Suas propriedades medicinais foram originalmente exploradas pelos aborígenes australianos e posteriormente utilizados pelos soldados no período da Segunda Guerra Mundial. Atualmente, os OEs da Melaleuca vêm ganhando destaque em diferentes setores por serem aplicados na aromaterapia, medicamentos fitoterápicos e alopáticos, cosmetologia, biocida natural, fungicida e conservante (YASIN *et al.*, 2021).

O método de encapsulamento dos OEs é uma técnica viável e eficaz. Sendo este um dos principais métodos aplicado pelas indústrias farmacêuticas para determinar a taxa de liberação das drogas, preservação dos compostos ativos da interação com o ambiente, limitar suas volatilidades, além de ampliar as atividades biológicas (NI *et al.* 2021). Os métodos de encapsulamentos baseados em sistemas de emulsão demonstram excepcional performance na proteção, liberação controlada e disponibilidade relacionada com o local específico dos componentes bioativos (CBAs) (ZHANG *et al.* 2020).

As emulsões têm como principais características serem formadas por um sistema heterogênicamente, termodinamicamente instável e que normalmente são compostas por duas fases líquidas imiscíveis, em que uma fase é dispersa e a outra fase é contínua (CONTRERAS-RAMÍREZ *et al.*, 2021). As emulsões podem ser classificadas em conformidade com o desenvolvimento do sistema em dois grupos principais: emulsões simples ou emulsões múltiplas (GURUNATH *et al.* 2021). Devido à instabilidade nas emulsões é necessária a

utilização de tensoativos também conhecidos como agentes emulsificantes (KUMAR; THAKUR; PANESAR, 2019).

Os tensoativos são moléculas anfífilas em que é formada por duas regiões antagônicas, uma região da estrutura é hidrofílica e a outra é lipofílica (CHENG *et al.*, 2020). Os tensoativos devido a sua eficácia é uma das principais técnicas utilizadas para estabilização de emulsões. Sendo responsáveis por reduzir diversos fatores de instabilidade na formulação das emulsões tais como: coalescência, a cremosidade ou sedimentação, amadurecimento de Ostwald, floculação e a inversão de fase (YANG *et al.*, 2020).

Um dos principais métodos utilizados para determinação dos tensoativos adequado para formular as emulsões está relacionado com os valores do equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) (KUMAR; THAKUR; PANESAR, 2019). A determinação do EHL é definida por meio de uma escala numérica, em que relaciona as regiões hidrofílicas e lipofílicas. Diversas análises empíricas e teóricas foram elaboradas para definir os valores de EHL. Griffin em 1949, propôs um dos métodos mais utilizados para calcular o valor de EHL nos emulsificantes não-iônicos por meio de uma equação simples através da razão do peso molecular das regiões hidrofílicas dos tensoativos. Além deste, em 1957, Davies propôs outro método que estabelecia os valores de EHL com base nos grupos químicos das moléculas (CHENG *et al.*, 2020; EL-DIN; HMEIDAN, 2021). Portanto, este trabalho teve por finalidade, determinar o valor de EHL do OEM por meio da análise da estabilidade físico-química de uma série de 8 emulsões, correlacionando o valor de EHL da emulsão mais estável, como sendo valor de EHL requerido para o OEM.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS (OEs)

Os óleos essenciais (OEs), também conhecidos como óleos voláteis ou óleos estéreos, são compostos com características sensoriais fortes, normalmente agradáveis à quais são aplicadas por diversos seguimentos industriais. Na área das ciências da saúde, existe uma ampla diversidade de estudos sobre os OEs em razão dos constituintes biologicamente ativos. No entanto, apesar do interesse crescente das indústrias farmacêuticas pelos os OES, existem diversos fatores que interferem tanto na aplicação quanto na atividade biológica: os OEs são compostos com características hidrofóbicas e possuem elevado coeficiente de partição óleo em água (COSSETIN *et al.*, 2021).

Os OEs são formados por misturas heterogênicas de componentes de baixo peso molecular. Os principais metabólicos secundários presentes nos OEs são: terpenos, terpenóides, fenilpronóides, aldeídos, ésteres, álcoois, cetonas, flavonoides e hidrocarbonetos, os quais podem apresentar variações da bioatividade de acordo com as configurações estruturais da molécula. Sendo estes metabólicos responsáveis não apenas pelas atividades biológicas do vegetal, mas atuando como mecanismo de proteção contra os agentes patogênicos (AATI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2021).

A composição química e o rendimento dos OEs têm seu resultado por consequência de uma síntese de reações bioquímicas nas quais variam por múltiplos fatores extrínsecos e intrínsecos. Desde a espécie do vegetal, bem como as condições que interagem com seus constituintes, tais como a método de extração, variações climáticas, sazonalidade, localização geográfica, idade do vegetal entre outros fatores, que podem assim ocasionar alterações nos índices de concentrações bioquímicas. Desta forma, todos os fatores citados podem interferir nas diversas atividades biológicas e farmacológicas dos OEs, tais como as atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, antidepressiva, dentre outras (SILVA; MEJIA, 2011; DOS SANTOS, 2021).

2.1.1 Métodos de extração do OEs

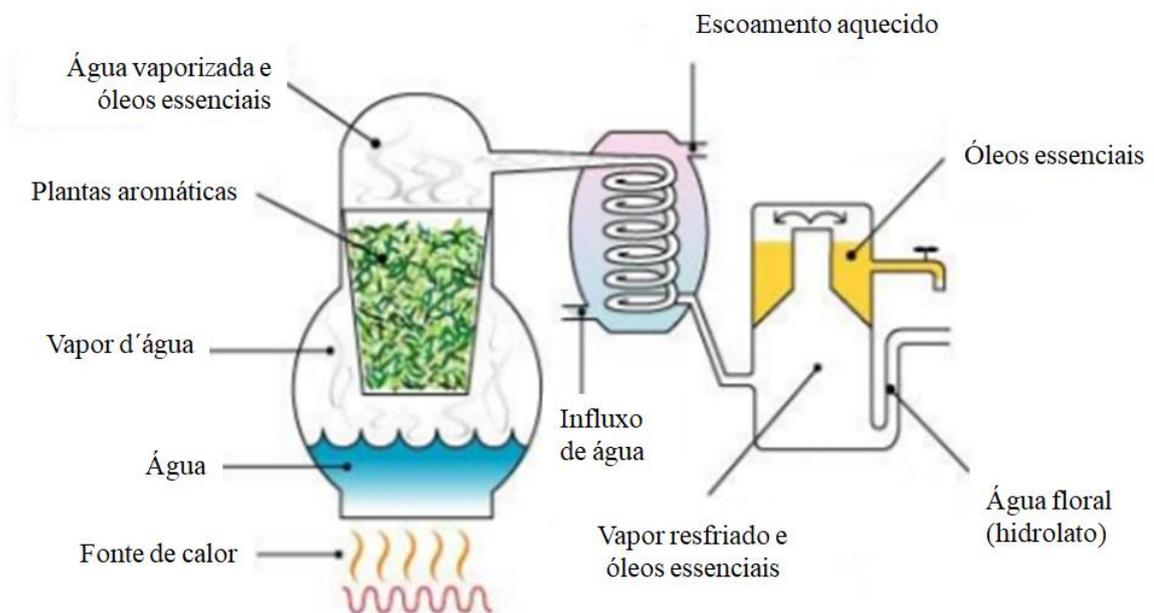
Os OEs são misturas de compostos voláteis de origem natural, normalmente são obtidos por destilação a vapor com o aroma da matriz vegetal a qual provêm. É necessária a utilização de técnicas de alto desempenho para alcançar aumento nos rendimentos na medida em que os OEs estão disponíveis em baixas concentrações. Desta forma, as extrações do OEs

podem ocorrer por diferentes métodos, os quais incluem: extração por solvente, extração por fluido supercrítico, hidro destilação e destilação a vapor. Além destes, a utilização do processo assistidos por ultrassom e micro-ondas tornaram-se uma alternativa viável para a extração de OEs (BOŽOVIĆ *et al.*, 2017).

2.1.1.1 Extração por destilação a vapor

A destilação a vapor é um processo em que as características mais importantes são a temperatura, a pressão e a duração da extração. O processo ocorre quando a água é fervida e a matriz do vegetal é exposta ao vapor da água. Neste processo, os componentes aromáticos voláteis são liberados e transportados pelo vapor em um tubo no qual será resfriado por meio de água destilada formado assim uma mistura. Posteriormente, os elementos da mistura são separados, o meio aquoso do oleoso devido à diferença da massa molecular em uma gravidade específica (PATEIRO *et al.*, 2018). O processo de destilação a vapor pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 - Representação esquemática do método de extração por destilação a vapor.



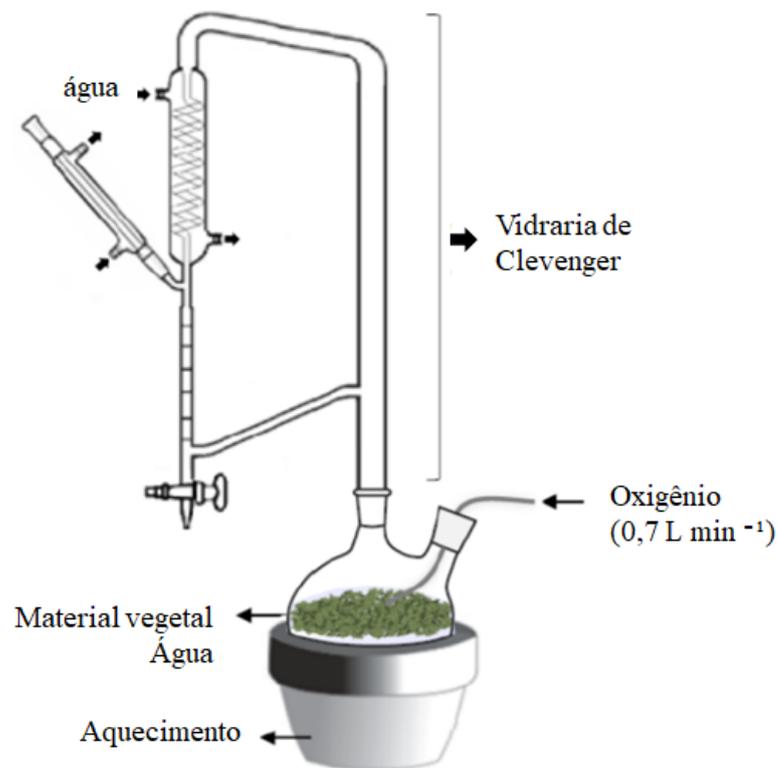
Fonte - Amaral e Pereira (2019).

2.1.1.2 Extração por hidrodestilação

A hidrodestilação é um dos processos mais antigos utilizado para a extração dos OEs. Ele permite a extração do OEs de partes de vegetais que são sensíveis, por meio da extração sólido-líquido entre a matriz vegetal e a água que são colocadas em um recipiente equipado ao

aparelho Clevenger. Posteriormente, esta mistura será fervida até obter uma fase de vapor na sessão do condensador para que assim possa ser isolado o OEs no frasco do receptor. Contudo, este método de extração apresenta algumas desvantagens tais como o tempo de duração, o que pode promover a hidrólise de alguns compostos termosensíveis resultando assim na produção de compostos indesejáveis (ELYEMNI *et al.*, 2019). O método de hidrodestilação pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática do método de extração por hidrodestilação com o equipamento de Clevenger



Fonte - Adaptado de Ferreira *et al.* (2017).

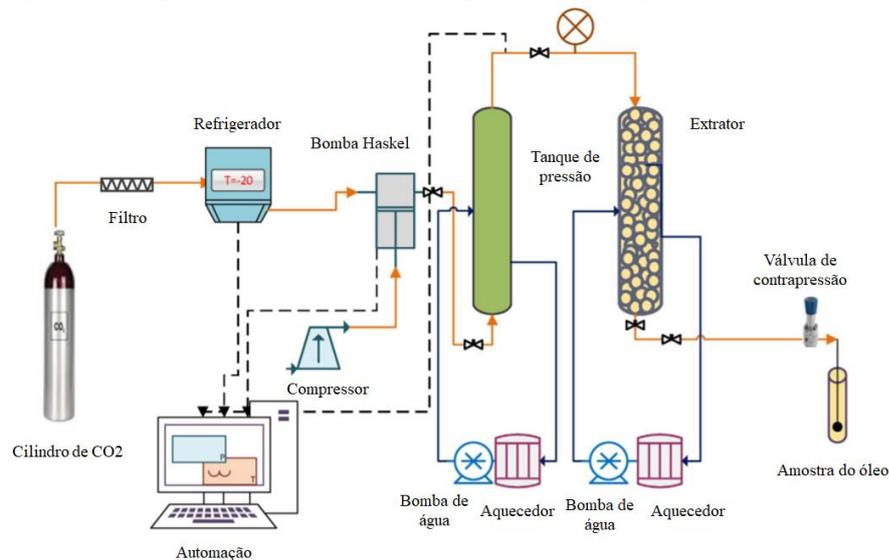
2.1.1.3 Extração por solvente

As extrações por solvente são normalmente aplicadas em matrizes de vegetais delicadas ou que não seja apropriada a utilização de outra técnica. A extração através deste método consiste na utilização de solventes de qualidade alimentar como metano, etanol ou hexano os quais são utilizados na extração dos materiais lipofílicos odoríferos da matriz do vegetal. Desta forma, devem-se observar as características do solvente utilizado para que não haja interferência ou reação com o extrato, o resultado deste método é a produção de absolutos, que podem ter frações aromáticas ou não aromáticas (PATEIRO *et al.*, 2018).

2.1.1.4 Extração por fluido supercrítico

O método de extração por meio de fluido supercrítico é realizado através da utilização de fluidos supercríticos, a exemplo do dióxido de carbono (CO₂), no qual reage como um solvente inerte possibilitando assim a dissociação dos componentes voláteis dos vegetais. O CO₂ quando em baixa pressão e temperatura alcança um estado supercrítico que viabiliza se tornar um líquido, sendo assim capaz de envolver toda a matriz do vegetal e extraindo os componentes aromáticos. Em decorrência da temperatura aplicada neste método ser em torno de 35 °C, esse método representa uma alternativa para extrair componentes sensíveis à elevação da temperatura, mantendo assim a qualidade final do produto (RADIVOJAC *et al.*, 2021). O método de extração por fluido supercrítico pode ser observado a seguir na (figura 3).

Figura 3 - Diagrama esquemático da configuração de extração de CO₂ supercrítico



Fonte - Adaptação de Sodeifian *et al.* (2018).

2.2 Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (OEM)

Dentre os principais gêneros que fazem parte da família *Myrtaceae*, se destacam o gênero *Melaleuca*, os quais são originários da Austrália, e que compreende aproximadamente 230 espécies. Na Austrália, são popularmente conhecidas como árvore do chá (em inglês: *Tea Tree*) ou árvore da casca de papel. O nome árvore do chá surgiu através dos marinheiros que utilizaram estas ervas para substituir o chá, sendo atualmente atribuída esta denominação aos gêneros: *Leptospermaum*, *Melaleuca* e *Kunzea*, enquanto o nome árvore de casca de papel é

devido à casca da espécie da *M. leucadendron* desprendesse do caule como se fossem tiras de papéis (BAR, 2021).

A *Melaleuca alternifolia* é um arbusto pequeno com uma altura média de 7 metros, tendo uma copa espessa e cascas com tonalidades brancas. As principais características macroscópicas das folhagens são: lisas, macias e com forma linear, além disto, tem glândulas proeminentes que podem ser abundantes em óleo. As flores são sazonares, apresentam tonalidades com cores brancas ou creme, em formato de massa de espigas com tamanho de 3-5 cm. As *Melaleuca alternifolia* crescem em riachos ou em áreas pantanosas, normalmente são as espécies dominante neste ecossistema. Além do mais, os componentes do óleo podem apresentar variações de acordo com condições geográficas, ambientais e ecológicas (PUVAČA *et al.*, 2019). O arbusto de *Melaleuca alternifolia* pode ser observado na Figura 4.

Figura 4 - Planta *Melaleuca alternifolia*



Fonte - Gafner e Dowell (2018)

As principais espécies do gênero de *Melaleuca* que são possíveis alternativas para realizar a extração do óleo essencial (OE) de acordo com a análise de Brophy e Doran (1996) foram: *M. acacioides* F. Muell., *M. alsophila* A. Cunn. ex Benth., *M. bracteata* F. Muell., *M. citrolens* Barlow, *M. dissitiflora* F. Muell., *M. ericifolia* Sm., *M. leucadendra* (L.) L., *M. linophylla* F. Muell., *M. squamophloia* (Byrnes) Craven, *M. stenostachya* S.T. Blake, *M. stipitata* Craven, *M. trichostachya* Lindl., *M. uncinata* R. Br.eM. *viridiflora* Sol. ex Gaertn. Em razão das características taxonômicas, propriedades qualitativas inerentes e quantidade final de OE no qual deve ser igual ou maior que 1%. No entanto, as espécies com maior

relevância comercial atualmente para extração do OEM são *M. cajuputi*, *M. alternifolia*, *M. quinquenervia* e *M. bracteata* (MONTEIRO *et al.*, 2013; YASIN *et al.*, 2021).

A comercialização do OEM se iniciou na Austrália no ano de 1920, em decorrência do cientista Penfold e Grant. Os estudos conduzidos por estes cientistas comprovaram as atividades antimicrobianas e posteriormente descobriram que o OEM também tinha ação cicatrizante, antisséptico, no tratamento de empiema, doenças ginecológicas e da região da orofaringe. Desde a década de 30, foram registrados por diversos médicos australianos a utilização OEM como alternativa terapêutica (NEPOMOCENO; PIETROBON, 2020).

Atualmente são relatadas na literatura diversas pesquisas sobre as propriedades terapêuticas do OEM com a função antimicrobiana de amplo espectro, isto é, atividade antifúngica, antibacteriana, antiviral e antiprotozoária. Por essa razão, o OEM é amplamente utilizado em diversos países, uma vez que os componentes bioativos são aplicados nas formulações farmacêuticas e/ou cosméticas na confecção de produtos para higienização das mãos, xampus, preparações tópicas no tratamento de infecções cutâneas e outras patologias. Além do mais, foram realizados estudos sobre eficácia, segurança e aplicação do OEM, os quais constataram que o quimiotipo Terpinen-4-ol é o principal componente antimicrobiano deste OE (BRUN *et al.*, 2018).

Embora exista uma pluralidade de pesquisas acerca das possibilidades de formulações do OEM encontrado na literatura (tabela 1), é notável que ainda assim sejam encontradas limitações para serem superadas quanto às adversidades na distribuição destas formulações, em razão da volatilidade, solubilidade e estabilidade deste óleo. Sendo estes obstáculos responsáveis por comprometer a eficácia e a segurança deste fármaco (YADAV *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Formulações relatadas na literatura para o óleo de Melaleuca

Formulação	Técnica	Aplicação
Emulsão	Não especificada	Estabilidade aprimorada
Microemulsões	Técnica de deposição de spray camada por camada	Curativos de feridas
Nanoemulsões	Técnica de inversão de fase	Propriedades físico-químicas aprimoradas
Nanoemulsões e nanocápsulas	Emulsificação espontânea e interfacial deposição	Atividade antifúngica
Nanopartículas lipídicas	Método de sonicação de filme	Atividade antibiofilme
Quais Nanopartículas	Preparação anti-solvente	Irritação cutânea reduzida
Filme a base de quitosana	Método de fundição de solução	Cicatrização de ferimentos
Complexos de ciclodextrina	Métodos de liofilização	Atividade antimicrobiana
Lipossomas de microcápsulas	Técnica de coacervação complexa Método de hidratação por membrana fina	Atividade antimicrobiana, estabilidade aprimorada e biodisponibilidade.
Nanogel	Método de emulsificação de alta energia	Atividade antimicrobiana

Fonte - Adaptado de Yadav *et al.* (2016).

2.2.1 Componentes químicos

Há uma estimativa que existam cerca de 100 componentes fitoterápicos no OEM. Dentre estes, se destacam 15 componentes por serem os principais responsáveis pela ampla atividade terapêutica. Os OEM possuem uma diversidade monoterpene e sesquiterpene, assim como compostos aromáticos. Os principais monoterpene são: Terpinen-4-ol, α -Terpinene, 1,8-Cineol, p-Cymene, α -Terpineol, α -Pinene, Terpinolene, Limonene e Sabinene, sendo estes responsáveis por representar cerca de 80-90% do OEM (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017). A seguir as principais estruturas e bioatividade dos componentes químicos do OEM (tabela 2).

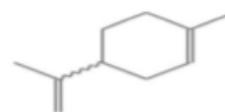
Tabela 2 - Principais estruturas e bioatividade dos constituintes químicos que compõem o OEM.

Nome	Classe	Bioatividade	Estrutura
Terpinen-4-ol	Álcool Monoterpene	Anti-inflamatória.	
γ -Terpinene	Monoterpene	Antioxidante e Antimicrobiano	
1,8-Cineol	Óxido Monoterpene	Antivascular e Anti-inflamatória.	
α -Terpinene	Monoterpene	Antioxidante; Antibacteriano e Antifúngico.	
α -Terpineol	Álcool Monoterpene	Antifúngico e Antibacteriano.	
p-Cymene	Monoterpene	Efeito lipolítico.	
α -Pinene	Monoterpene	Antimicrobiano.	
Terpinolene	Monoterpene	Antioxidante e Anticancerígeno.	
Sabinene	Monoterpene	Antifúngico.	
δ -Cadinene	Sesquiterpene		

Limonene

Monoterpeno

Anti-inflamatório;
 Antioxidante;
 Anticancerígeno;
 Antidiabético e
 Antimicrobiano



Fonte - Adaptado de Yu, Zhang e Wang (2020)

São poucos os relatos na literatura sobre a fitotoxicidade dos constituintes de forma individualizada ou da composição total do OEM. No entanto, mesmo sem haver confirmação, é sugerido que não haja a ingestão em altas proporções em decorrência da sua toxicidade, apesar de não haver relatos na literatura médica sobre casos letais. As principais reações observadas por intoxicação em decorrência do OEM são tremores musculares, fraqueza, dificuldade para caminhar, redução da temperatura corporal e pelo excesso de saliva (KASUJJA, 2021).

Os OEM apresentam características semelhantes tanto na estrutura base quanto na fitoquímica com OEs análogos das espécies do gênero *Leptospermum*, bem como outras espécies de *Melaleuca*. Além do mais, também para evitar o uso inapropriado de outras espécies vegetais como *Cordyline* na confecção do OEs, foi estabelecida pela International Organization Standardization (ISO) a norma regulamentadora, a ISO/FDIS 4730: 2017. A qual define os parâmetros físico-químicos das variações aceitáveis da concentração e especificação dos 15 principais componentes do OEM (MONTEIRO *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2020). Os parâmetros físico-químicos do OEM de acordo com a ISO/FDIS 4730: 2017 podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3 - Representação cromatográfica dos principais constituintes do OE obtido de *Melaleuca alternifolia* Chell. (ISO/FDIS 4730, 2017).

Constituintes	Min.%	Max.%
Terpinen-4-ol	35,0	48,0
γ-Terpinene	14,0	28,0
1,8-Cineol	Traço	10,0
α-Terpinene	6,0	12,0
α-Terpineol	2,0	5,0
p-Cymene	0,5	8,0
α-Pinene	1,0	4,0
Terpinolene	1,5	5,0
Sabinene	Traço	3,5
Aromadendrene	0,2	3,0
δ-Cadinene	0,2	3,0
Viridiflorene	Traço	1,0
Limonene	0,5	1,5
Globulol	Traço	1,0
Viridiflorol	Traço	1,0

Fonte - Adaptação do autor Lam *et al.* (2020)

Atualmente existe o padrão um australiano (AS 2782-1985) que estipula o nível de dois constituintes químicos fundamentais. O terpinen-4-ol que deve ter um teor não inferior a aproximadamente de 30% do OEM, sendo este o suposto componente com bioatividade antimicrobiana, e o 1,8 – cineol que não deve ultrapassar 15% em produtos da árvore do chá, devido este componente ter a possibilidade de causar irritação na pele. Uma vez que estes componentes apresentam bioatividades imprescindíveis para as ações antimicrobianas e mecanismos antifúngicos (KASUJJA, 2021).

2.2.2 Aplicações e ações farmacológicas

O gênero *Melaleuca* se destaca pelas propriedades terapêuticas produzidas através do OEs que são extraídos a partir de folhas e ramos terminais deste vegetal. Tendo suas atividades farmacológicas reconhecidas e vinculadas aos componentes com maiores concentrações como o terpinen-4-ol. Na literatura, podem ser encontrados diversos estudos sobre os mecanismos ação dos OEM atuarem como: bactericida, expectorante, fungicida, anti-infeccioso, balsâmico, anti-inflamatório, antisséptico, antiviral, inseticida, imune-estimulante e diaforético. Além disso, também são relatadas as atividades terapêuticas nas infecções de pele como herpes simplex, verrugas, feridas, queimaduras e como parasiticida, ação antiacne, onicomicoses, dermatites, eczema, dor de dente e contra halitose (MONTEIRO *et al.*, 2013; DA SILVA *et al.*, 2019; BACHINSKI; DE MORAIS; COLOMÉ, 2020). Resumo dos principais mecanismos de ação relatados na literatura sobre OEM contra vários microrganismos (tabela 4).

Tabela 4 - Mecanismo de ação do OEM contra diferentes microrganismos

Microrganismo	Mecanismo de ação
Ação antibacteriana <i>Streptococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i>	Vazamento de íons K ⁺ e inibição da respiração. Maior sensibilização para NaCl e mudança na morfologia. Efeitos destrutivos na homeostase do K ⁺ , respiração dependente da glicose e morfologia. A lise interfere na integridade estrutural e funcional da membrana bacteriana.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tolerante a alta concentração de OEM e seus componentes, Tolerância associada à integridade da membrana externa.
Ação antifúngica <i>Candida Albicans</i> <i>Cândida glabrata</i> <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	Alteração na permeação e fluidez da membrana. Inibição reversível na morfogênese do micróbio. Permeabilidade da membrana alterada; Acidificação do meio induzido por glicose inibida devido à modificação emplasma e membranas mitocondriais.
Ação antiviral do vírus influenza A/PR/ 8 subtipo H1N1	Inibição de remoção viral devido à acidificação intralisossomal.

Fonte - Adaptado de Yadav *et al.* (2016).

De acordo com Silva, Santos e Siqueira, (2020), OEMs, que são extraídos pelo processo de destilação a vapor das folhas e ramos terminais, desempenham ação antibacteriana por romper a parede celular das bacterianas Gram-positivas e/ou Gram-negativas resultando assim na permeabilidade destas células, por consequência promovem a inibição da respiração celular, além de impelir no desequilíbrio dos íons de potássio. Desta forma, os OEM vêm sendo utilizado em preparações tópicas no tratamento de infecções cutâneas.

Segundo Lam *et al.* (2020), o extrato de monoterpênico 1,8-cineol tem potencial para bloquear de maneira competitiva as acetilcolinesterases (AChE) dos parasitas, desta forma havendo a contribuição nas atividades antiparasitárias. Em alguns parasitas nematoides foram demonstrados que através da inibição das atividades de acetilcolinesterases pode ocorrer a elevação dos índices de acetilcolina (ACh) promovendo o estímulo excessivo dos receptores nicotínicos da acetilcolina (nAChR). Portanto, por meio da elevação no nível de ACh ocorre a contração muscular e paralisia espástica em decorrência de um influxo de Na⁺, K⁺, ou Ca²⁺ além da despolarização da membrana de alguns parasitas nematoides.

Para Gonelli, Pilon e Chiari-Andréo (2018), os OEMs é uma alternativa para o tratamento da acne, tendo sua ação farmacêutica evidência na literatura por apresentar funções antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, entre outras, em razão das biofunções apresentadas pelos principais componentes do OE: terpinen-4-ol, oc-terpineol e α -pinene. Além disto, apresenta efeito similar a substância que é usualmente utilizada como peróxido de benzoíla, porém que causa efeitos adversos. Sendo assim, é uma alternativa antiacnéica de custo reduzido com eficácia e segurança.

Steffen e colaboradores (2019), declaram que, os óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* demonstrou ação antifúngica eficientes contra as espécies *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium sp*, os quais são fitopatógenos responsáveis por causar as doenças conhecida como mofo branco, podridão branca ou podridão da haste de sclerotinia em diversos tipos de agriculturas. Estes patógenos são dificilmente controlados no solo e predominantemente encontrados em regiões com climas temperado e subtropical. Entretanto, 0,25 do OM tiveram 100% de eficiência no controle sobre *S. sclerotiorum* e cerca de 70% de eficácia nos isolados do gênero *Fusarium* em condições *in vitro*. Além do mais, 0,5% OEM inibiu o crescimento destes patógenos, demonstrando assim um potencial a ser explorado para a produção de biofungicidas para a agricultura.

2.3 Emulsão

A etiologia emulsão tem origem no latim *emulsiōne*, sendo que na área da química, uma emulsão é a representação da dispersão de dois fluidos heterogênicos. Tendo como característica fundamental ser formada por um sistema polifásico, em que ocorre a mistura da fase fragmentada (fase dispersante) em meio de outra fase (fase contínua). As emulsões são termodinamicamente instáveis (metaestáveis), ocasionada pela tensão interfacial que há entre as duas fases. Havendo assim, a necessidade de um agente emulsivo para favorecer a estabilização da emulsão (FRANZOL; REZENDE, 2015; PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015; BASTO *et al.*, 2016).

Para Coutinho *et al.* (2018), a formação das emulsões é obtida a partir da utilização de energia mecânica para que haja homogeneização e redução das gotículas. Para isso, são utilizadas técnicas de baixa energia através dos métodos da Inversão de Fases e o método da temperatura de Inversão de Fases. Sendo estes métodos condicionados pelas características físico-químicas dos tensoativos e co-tensoativos.

A técnica de alta energia utiliza homogeneizadores de alta pressão ou ultrassom. Estes equipamentos têm capacidade de fornecer uma força extrema, ocasionando assim a formação de gotículas. Estes métodos são condicionados pelos parâmetros do processo, pela energia cinética aplicada, pelo tempo de resistência, bem como as características físico-químicas. (COUTINHO *et al.*, 2018).

Além disto, são utilizados os agentes emulsificantes: substâncias anfipática ou não iônica para alcançar a estabilidade cinética. Uma vez que as emulsões são consideradas estáveis a partir do momento em que o quantitativo e o diâmetro das gotas da fase dispersante, por unidade de volume da fase contínua, estiverem constantes. Desta maneira, o índice energético do sistema na superfície interfacial está estável (COUTINHO *et al.*, 2018).

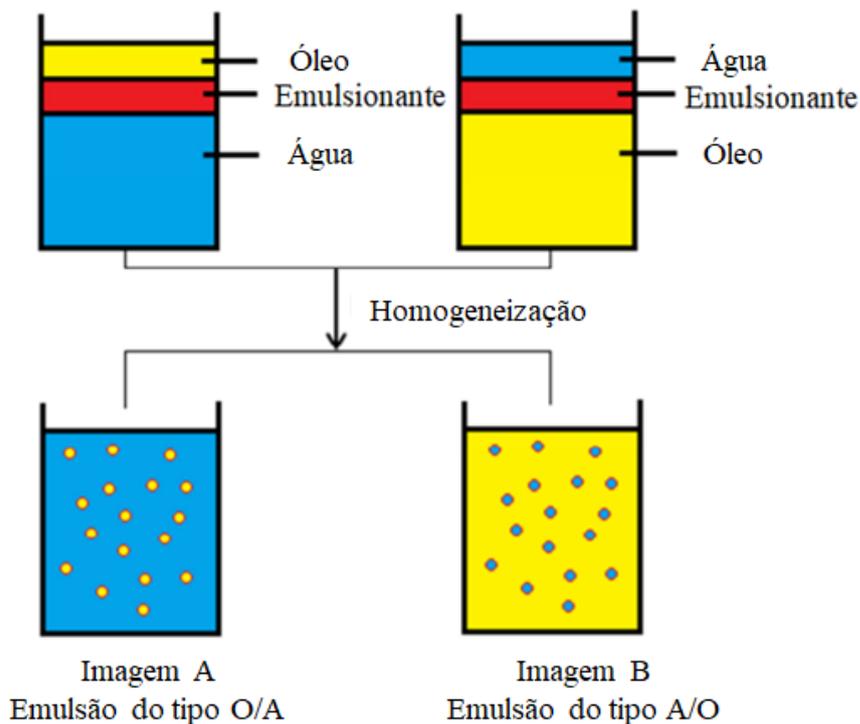
Kiihl e Braham (2021) declaram que, por muitos anos cientistas observaram a relevância do tamanho das partículas utilizada nas emulsões asfálticas. Por meio do conhecimento sobre o volume das partículas nas emulsões era possível proporcionar uma previsão sobre a estabilidade das emulsões. Regulamente, utilizam-se gotículas com diâmetro menor para produção de emulsões estáveis. Além do mais, o tamanho da gotícula também pode induzir não apenas na estabilidade, mas alterar as características reológicas nos sistemas de dispersão coloidal. Portanto, a escala do tamanho, normalmente, em partículas de emulsões asfálticas sendo em entorno de 0,1-20 μm .

No campo farmacêutico, além das emulsões, outros sistemas dispersos, tais como microemulsões, podem ser utilizados no transporte de substâncias de baixa permeabilidade tais como as lipofílicas (hidrofóbicas) e as hidrofílicas podendo ser administrada por meio da via oral, tópica e parenteral. As microemulsões, em decorrência do grande potencial para superar as dificuldades associadas à disponibilidade dos fármacos com pouca água e fármacos com solubilidade em lipídios, tornaram-se uma alternativa promissora. Entretanto, mesmo através dos avanços técnicos e científicos ainda assim prevalece a instabilidade em sistemas bifásicos, sendo desta maneira uma das deficiências a ser contornada para a utilização de sistemas de dispersos pelas indústrias farmacêuticas (KOLLURU; ATRE; RIZVI, 2021).

2.3.1 Classificação das emulsões

As emulsões são classificadas de acordo com características de hidrofília ou lipofilia da fase dispersante. Nos sistemas em que a fase dispersante é formada por óleo e a fase contínua é a água, a emulsão é classificada como óleo em água (O/A). Entretanto, quando o sistema disperso é formado por água e a fase contínua é composta por óleo, a emulsão classificada como água em óleo (A/O) (PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015). Diagrama esquemático sobre sistemas de emulsões do tipo A/O e O/A (figura 5).

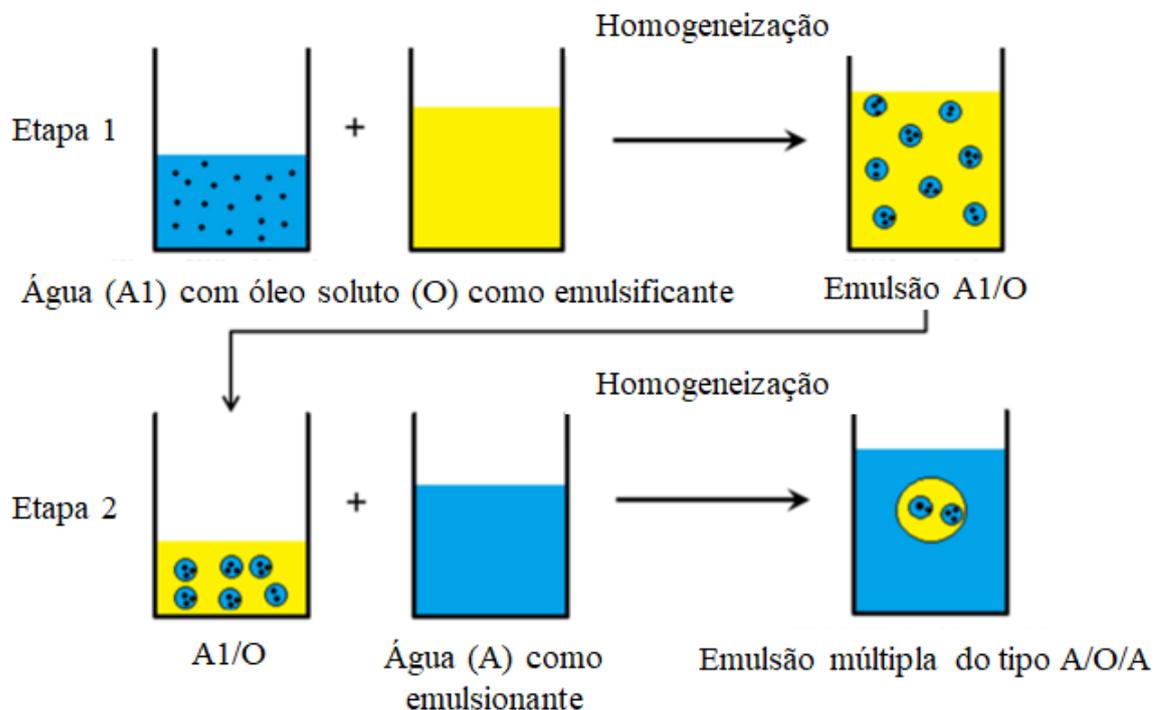
Figura 5 - Diagrama esquemático da configuração de um sistema coloidal do tipo O/A e A/O



Fonte: adaptação de Lu, Kelly e Miao (2016)

É possível elaborar sistemas multicompartimentalizados, também conhecidos como emulsões múltiplas ou emulsões de emulsões, os quais são constituídos por três fases. Neste sistema se apresenta diferentes características físico-químicas, uma vez que as emulsões O/A e A/O coexistem simultaneamente. Desta maneira, quando há gotas de água estão suspensas em gotículas maiores de óleo, e estas estão suspensas numa fase aquosa se formam emulsões do tipo (A/O/A), diagrama esquemático (figura 6). Por fim, pode haver gotículas de água dispersas em óleo, tendo esta gota de óleo em seu interior formando assim emulsões do tipo (O/A/O) (BASTO *et al* 2016).

Figura 6 - Diagrama esquemático da configuração de uma emulsão múltipla do tipo A/O/A.



Fonte: adaptação de Lu, Kelly e Miao (2016).

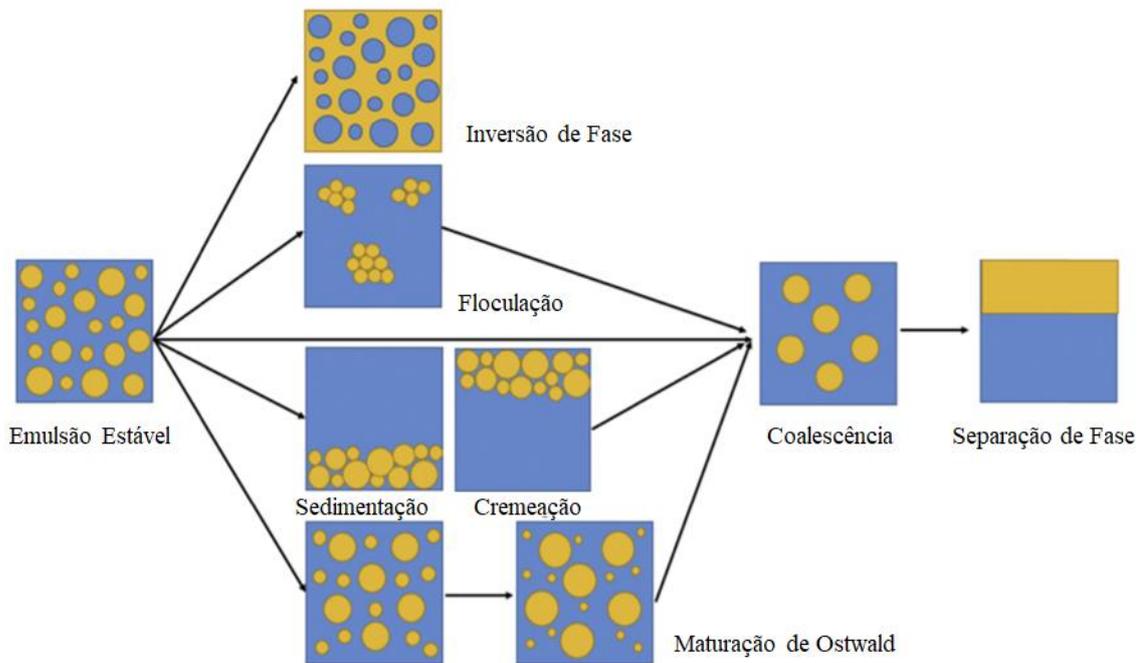
As emulsões não estão limitadas apenas aos sistemas tradicionais. Apesar de existir poucos relatos na literatura relacionados sobre as formulações de emulsões em que o meio aquoso pode não ser utilizado, existe a possibilidade de se desenvolver emulsões não aquosas ou anidras, podendo estas ser formadas por sistemas simples óleo em óleo (O/O) ou sistemas múltiplos de óleo em óleo em óleo (O/O/O). As principais vantagens deste sistema estão nas possibilidades de manipular constantemente ambas as fases, resultando desta maneira em variações no peso molecular de líquidos oligoméricos ou poliméricos em uma das fases do sistema (SUITTHIMEATHEGORN; JAITLEY; FLORENCE, 2005; FLORENCE; ATTWOOD, 2011).

2.3.2 Instabilidade das emulsões

As emulsões têm disposição natural para que os sistemas diminuam sua área de contato interfacial uma vez que os meios são imiscíveis. Tal propriedade é justificada pelo princípio da termodinâmica, no qual estabelece que todos os sistemas tendem a voltar para energia mínima inicial. Fundamentando assim a disposição das fases que formam as emulsões para que as mesmas se dissociem (PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015).

De acordo com Tadros (2016), existem diversos mecanismos e/ou fenômenos que interferem na instabilidade das emulsões tais como: floculação, coalescência, cremação, sedimentação e maturação de Ostwald, com são demonstrados na Figura 7.

Figura 7 - Representação esquemática dos mecanismos de instabilidade em sistemas emulsivos.



Fonte: adaptado de Hu *et al.* (2017).

2.3.2.1 Floculação

A floculação é uma agregação das gotículas na qual não haja alterações no diâmetro das gotículas primárias. Este processo ocorre por meio das forças atrativas: Van der Waals, a hidrofóbica e de depleção, no momento que a força de atração se torna maior entre as gotículas que a força de repulsão espacial, ocorre à diminuição no distanciamento entre as gotas havendo assim um processo de agregação ou floculação, embora que haja a permanência da integridade estrutural individual entre gotas envolvida no sistema. Entretanto, a floculação

pode ter características “forte” ou “fraca”, estando assim condicionada a extensão da energia envolvida o que pode influenciar na estabilidade e atributos sensoriais do sistema coloidal (HONG *et al.*, 2021).

2.3.2.2 Cremeação e Sedimentação

Este processo ocorre sem haver modificação no diâmetro das gotículas, sendo resultado de forças extrínsecas normalmente gravitacionais ou centrífugas. No momento em que tais forças ultrapassam o movimento térmico das gotas (movimento browniano), ocorre à formação do gradiente na concentração do sistema, dessa maneira as gotículas maiores são direcionadas mais rapidamente para o topo processo este denominado de cremeação, caso sua densidade seja menor que a fase contínua, por outro lado, caso a densidade seja maior ocorrerá o processo de sedimentação, no qual estas vão para o fundo do recipiente (TADROS, 2016).

2.3.2.3 Coalescência

Para Hong e colaboradores (2021), a coalescência ocorre quando há uma aproximação e posteriormente ocorre um afinamento ou ruptura da película interfacial. Resultando na união irreversível das gotículas que formam o sistema. Está junção de duas ou mais gotas promove a formação de gotas maiores, as quais interferem significativa na mudança, na distribuição e no volume das gotas dos sistemas emulsivos em decorrência da alteração no volume destas gotículas. O fator limitante para que haja a coalescência é a fragmentação completa em duas fases líquidas diferentes.

2.3.2.4 Inversão de fase

Segundo Tadros (2016), o processo de inversão de fase ocorre quando existe uma troca entre as fases contínua e dispersante. Desta maneira, uma emulsão do tipo O/A pode, com o decorrer do tempo ou com alteração nas condições alternar para uma emulsão do tipo A/O. Em algumas situações, a inversão de fase passa por um estado de transição no momento que várias emulsões são realizadas. Numa emulsão do tipo O/A, quando a fase contínua é aquosa pode haver a emulsificação nas gotículas de óleo e assim formando uma emulsão múltipla do tipo A/O/A. Na qual pode este processo permanecer até que toda fase contínua seja emulsificada na fase oleosa, ocasionando assim uma emulsão A/O.

2.3.2.5 Maturação de Ostwald

A maturação de Ostwald é resultante da solubilidade finita das fases dispersantes. Os líquidos nos quais eram tratados como imiscíveis, entretanto apresentam solubilidade mútua podendo ter sido negligenciada na formação do sistema. Desta maneira, nas emulsões polidispersas, as gotículas menores apresentaram maior dissolução em gotículas análogas maiores. Tendo como resultado a difusão molecular das gotículas menores no meio dispersante promovendo assim a formação de gotas maiores. Logo, com o tempo haverá a mudança na distribuição do tamanho das gotas para volumes maiores (HONG *et al.*, 2021).

Para Porto, Almeida e Vicentini (2020), as emulsões por serem constituídas por fases com características distintas, as quais em sua maioria são formadas por uma fase aquosa e outra uma oleosa. É necessário que sejam utilizados agentes emulsionantes a fim de promover uma melhora na estabilidade da formulação. No entanto, para que sejam evitados os processos de instabilidade por meio da utilização adequada da combinação de tensoativos, é normalmente aplicada à determinação do Equilíbrio-hidrófilo-lipófilo (EHL).

2.4 Tensoativos

Os agentes tensoativos, também conhecidos como tensoativos, são compostos que têm características de se fixar na interface ou superfícies de um sistema, modificando de modo considerável a energia livre presente nestas superfícies, reduzindo assim a tensão que existe entre fluidos que são imiscíveis. Deste modo, estas moléculas são compostas por duas porções específicas uma região hidrofílica (cabeça polar), enquanto na outra região é hidrofóbica (cauda apolar), tendo esta junção a formação de uma molécula anfifílica a qual possibilita a interrelação entre os meios nos quais são formados por polaridades opostas, por exemplo, água e óleo (RODRIGUES; MACIEL; LIMA, 2013). Representação esquemática de uma molécula tensoativa Figura 8.

Figura 8 - Representação de uma molécula tensoativa aniônica de lauril sulfato de sódio

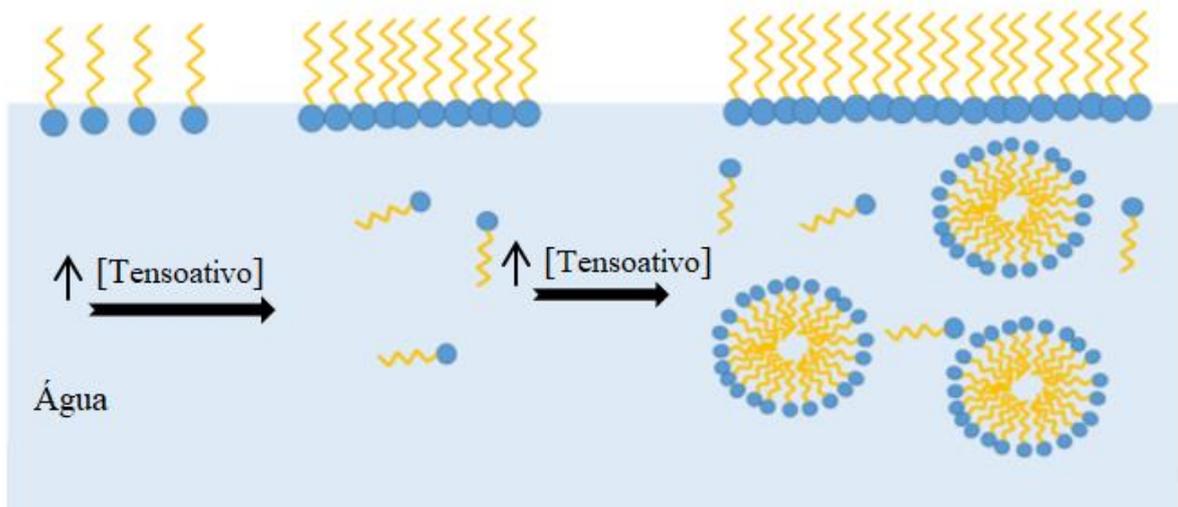


Fonte - adaptação de Reis *et al.* (2021)

Os agentes tensoativos têm como principal função serem responsáveis pela formação de sistemas ordenados. Esta função está relacionada ao fato de que os agentes tensoativos são formados por uma molécula anfifílica, com a capacidade de se dispersar nas interfaces em sistemas com fases com níveis opostos de polaridade (O/A ou A/O), havendo assim a criação de um filme molecular o qual reduz a tensão interfacial e superficial. Entretanto, nem todas as moléculas anfifílicas são agentes tensoativos, havendo desta maneira a necessidade que haja um equilíbrio entre a hidrofobicidade e a hifrofilicidade da molécula, este equilíbrio é tecnicamente denominado como Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) (SILVA *et al.*, 2015).

A determinação do meio influencia no comportamento dos tensoativos. Em meio aquoso os tensoativos formam um agregado (micelas), na qual sua região hidrofílica é orientada para o meio aquoso, enquanto sua região da cauda é direcionada para o centro da micela por apresentar características hidrofóbicas, como apresentado na Figura 9. Através deste mecanismo é possível influenciar no aumento da solubilidade de compostos hidrofóbicos por meio da partição favorável do soluto nas micelas em paralelo com água. Em decorrência de promover a solubilização em sistemas micelares é possível atribuir diversas aplicações. Na área farmacêutica, os tensoativos usualmente são adicionados na produção de medicamentos para favorecer a dispersão no organismo, além de servir como agente de liberação dos medicamentos. Na cosmetologia, os tensoativos são aplicados para dissolver compostos insolúveis em meio aquoso através do mecanismo das micelas (YORDANOVA *et al.*, 2017).

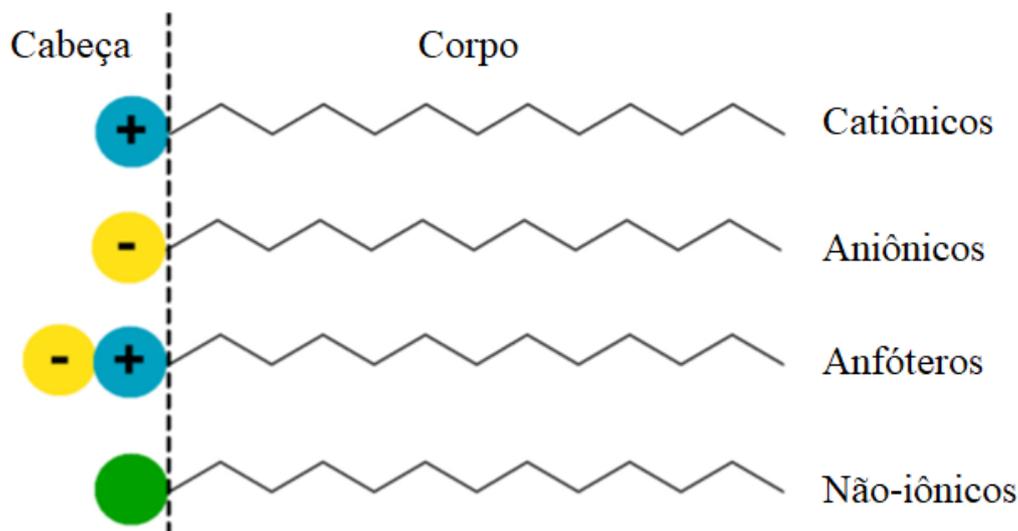
Figura 9 - Representação esquemática do processo de formação de micelas em meio aquoso



Fonte - adaptação de Dantas *et al.* (2019)

Os tensoativos são moléculas que apresentam estruturas, que de maneira geral, podem ser expresso como R-X, na qual R representa um aglomerado de hidrocarbonetos (corpo) na qual variam de 8–18 átomos, enquanto X é a representação de uma região polar ou iônica (cabeça). Desta maneira, conforme a polaridade que X apresentar, sendo está região a porção hidrofílica, algumas literaturas podem classificar os tensoativos como: não iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros, mostrado na Figura 10. Sendo assim, classificado através do tipo de carga que é obtido pela região polar no momento que é dissociado em um sistema aquoso (SILVA *et al.*, 2015;).

Figura 10 - Representação esquemática dos tensoativos catiônicos, aniônicos, anfóteros e não iônicos. A cauda corresponde à porção apolar e a cabeça à porção polar



Fonte - adaptação de Oliveira e Cássia (2017)

2.4.1 Tensoativos catiônicos

Em consequência da capacidade dos tensoativos catiônicos terem para se ioniza em meio aquoso estes adquirem carga positiva, os quais podem ser de forma ampla agrupado em aminas de cadeia longa e sais de amônias quaternárias. Os tensoativos catiônicos normalmente são solúveis em meio aquoso mesmo que haja apenas um hidrófobo de cadeia longa, entretanto, quando há dois ou mais hidrófobos longos, o produto torna-se consequentemente disperso em meio aquoso e solúvel em solventes orgânicos. Os tensoativos catiônicos apresentam excelente estabilidade e notável capacidade espumante, porém devido ao custo elevado dificulta a aplicabilidade na indústria (SAHU; GANDHI; KHWAIRAKPAM, 2018).

2.4.2 Tensoativos aniônicos

Reis e colaboradores (2021) declaram que, por serem antagônicos aos tensoativos catiônicos os tensoativos aniônicos têm a capacidade de adquirir carga negativa quando ionizado em meio aquoso. As utilizações combinadas em formulações entre os tensoativos catiônicos e aniônicos não é apropriado devido à neutralização das cargas por serem antagônicos, resultando assim na diminuição a solubilidade em meio aquoso, bem como causando a precipitação. Por outro lado, os cientistas demonstraram uma elevada capacidade entre os tensoativos catiônicos e aniônicos em meio oleoso na atração eletrostática, o que provoca um aperfeiçoamento na atividade interfacial do sistema através da diminuição das camadas de adsorção na interface A/O. Os tensoativos aniônicos são utilizados largamente na confecção de produtos de limpeza em consequência do baixo custo, facilidade na produção e pelas propriedades detergentes. Entretanto, são substâncias preponderantes na contaminação ambiental em consequência do desposo inapropriado ocasionando assim contaminação principalmente dos mananciais.

2.4.3 Tensoativos anfóteros

Para Sahu, Gandhi e Khwairakpam (2018), os tensoativos anfóteros são caracterizados pela presença na região polar das cargas positivas e negativas. Contudo, em condições regulares, as cargas por serem antagônicas tendem a neutraliza-se. Esta propriedade concede aos tensoativos anfóteros a compatibilidade de interagir em sistemas mistos, onde houver a necessidade de utilização de um tensoativo catiônico ou aniônico. É notavelmente utilizado nas formulações cosméticas e em produto de higiene por causa da alta estabilidade espumante e pelo baixo potencial em prover irritação na pele. Além do mais, apresentar uma considerável biodegradabilidade, uma notável solubilidade em meio aquoso e uma excelente estabilidade de temperatura em oposição ao tensoativos convencionais.

2.4.4 Tensoativos não iônicos.

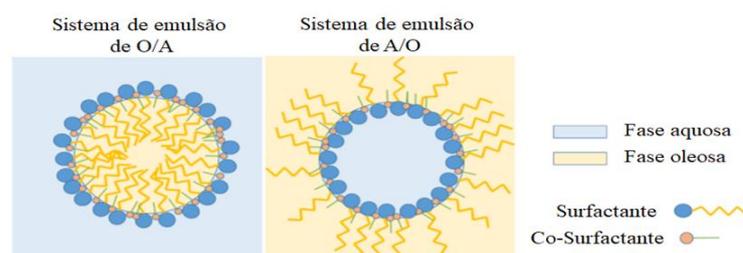
Os tensoativos não-iônicos são identificados por não disporem de cargas reais em decorrência de sua estrutura. Este grupo de surfactante por apresentar características físicas com EHL, os quais podem facilmente ser ajustados para modificar o comprimento da cadeia hidrofílica, além de terem excelente nível de limpeza e solubilidade. Deste modo, são relatados na literatura como a classe de tensoativo mais amplamente utilizada na formulação

de vesículas, além de ser compatível com as demais classes de tensoativos e pela baixa toxicidade. Além do mais, os tensoativos não-iônicos possuem notável atividade antimicrobiana e baixo nível de irritabilidade nas superfícies das células. Na classe de tensoativos não-iônicos existe a ocorrência de um fenômeno descrito como ponto de nuvem, na qual possibilita a compreensão sobre a relação entre solubilidade e temperatura neste grupo de tensoativo. Portanto, quando é aquecida uma solução aquosa na qual foi elaborada a partir de tensoativos não-iônicos, é observado que quando a temperatura ultrapassa o ponto de turvação, a solução dissocia-se, desta maneira compreende-se que há uma relação direta entre o ponto de nuvem e o estado de hidratação da cadeia (REIS *et al.*, 2021).

Além dos agentes tensoativos, há também os Co-tensoativos os quais desempenham a função adicional de reduzir à tensão interfacial, quando houver a necessidade para que haja estabilidade termodinâmica, além disto, promovem a fluidificação do filme interfacial criada pelos agentes tensoativos, tendo como finalidade evitar o aumento significativo da viscosidade no sistema. Desta forma, quando existe a adição de um Co-Tensoativo no sistema é possível diminuir ou até mesmo quase que zera a tensão superficial, consequentemente aumentando a estabilidade da camada interfacial nas microemulsões (PORTO; ALMEIDA; VICENTINI, 2020).

De acordo com Silva *et al.* (2015), uma vez que a tensão superficial não está reduzida suficientemente, ocorre a repulsão das cargas nas regiões polares dos tensoativos iônicos, consequentemente, interferindo na formação de empacotamentos eficientes. Por meio da adição de um Co-Tensoativo é possível aumentar a redução da tensão superficial no sistema, promovendo assim estabilidade em sistemas microemulsionados, além da criação de uma camada interfacial mais estável. Os principais Co-Tensoativo aplicados na preparação de microemulsões são álcoois e glicóis, desde que apresentem uma estrutura molecular contendo entre dois e dez carbonos, consequentemente, o teor molecular é de pequeno a médio.

Figura 11 - Representação esquemática do arranjo de gotículas de tensoativos e Co-tensoativos em sistemas microemulsionados do tipo O/A e A/O.



Fonte - adaptação de Dantas *et al.* (2019).

2.5 Equilíbrio Hidrófilo - Lipófilo (EHL)

A escala empírica do EHL, proposta por Griffin em 1949, foi uma das primeiras tentativas na elaboração de uma relação entre estruturas e propriedades para os tensoativos que são utilizados tanto na indústria quanto no desenvolvimento de pesquisas. Este método apresentava como uma das principais vantagens, a possibilidade de estimar de maneira fácil em uma escala numérica por meio de uma equação simples e linear, contudo, ele está condicionado nas frações em peso dos grupos hidrofílicos das moléculas nos emulsionantes, posteriormente atribuía-se um valor quantitativo numa escala com intervalo de 1 a 18. No início de sua utilização, este método foi restrito a um grupo de tensoativos não-iônicos em temperatura ambiente. Além do mais, uma vez que o EHL apresentava uma escala numérica baixa, esta característica estava condicionada ao tensoativos com afinidade lipofílicas, entretanto, na possibilidade do tensoativos apresentar uma escala EHL elevada, estes apresentavam características e afinidade hidrofílicas. Além disto, o EHL estabelecido pode ser idêntico para dois tensoativos, em razão se comportar de modo distinto dado às diferenças entre suas características químicas (RODRÍGUEZ-ABREU, 2019).

Desde então, diversas outras teorias foram elaboradas para explicar os diferentes mecanismos químicos, físico-químicos e as interações relacionadas nas formações das emulsões, ainda assim, não há um método de emulsificação universal. Uma vez que, existe uma ampla diversidade de agentes emulsificantes que podem ser aplicados para melhorar a estabilidade conforme os princípios físico-químicos (EGITO *et al.*, 2018).

Por meio do conhecimento sobre as relações entre a organização das gotículas dos óleos e tensoativos envolvidos no sistema de emulsificação, além da compreensão sobre os mecanismos que diminuem a tensão interfacial. Foram elaboradas várias teorias sobre a emulsificação, em decorrência disto ocorreu o prejuízo na criação de acordo científica com relação aos fenômenos gerais envolvidos na emulsão. Porém, o método EHL de Griffin, ainda prevalece como parâmetro fundamental na formulação de emulsões, uma vez que possibilita a escolha de um tensoativo apropriado ou na combinação de tensoativos tornando-lhe essencial para a elaboração de um sistema de emulsão estável (EGITO *et al.*, 2018).

Para suprir as necessidades do método de Griffin, outros métodos foram propostos para estimar o quantitativo do EHL de maneira que a escala abrangesse os tensoativos iônicos e posteriormente as fórmulas mais sistêmicas de modo que fossem incorporados os parâmetros das misturas como óleo, água e tensoativos, sendo assim foram elaborados: a diferença de afinidade dos tensoativos (SAD) e os conceitos de desvio hidrofílico-lipofílico

(HLD) além de outros métodos, os quais ampliaram a observação dos aspectos não considerados na escala de EHL tais como: temperatura, salinidade, tipo de óleo e co-tensoativos. Contudo, a escala do EHL prevalece ainda assim sendo aplicada em produtos comerciais como um guia de seleção por conta da sua praticidade (RODRÍGUEZ-ABREU, 2019).

2.5.1 Métodos de determinação do EHL.

Os agentes emulsificantes interferem significativamente no tipo e na estrutura da dispersão que serão elaboradas a partir de fases heterogênicas, de maneira que os tensoativos são responsáveis pela eficácia na redução da tensão interfacial, deste modo possibilitam o manejo e uniformidade das biomoléculas. De acordo com o método de Griffin, a classificação dos emulsificantes é fundamentada pelos valores do EHL as quais indicam a função destes tensoativos (Tabela 5), sendo assim é possível determinar o equilíbrio de tamanho e força das regiões hidrofóbicas e lipofóbicas de uma molécula (KOPLÁNYI *et al.*, 2021).

Tabela 5 - Funções dos valores de EHL com sua aparência de solução e tipo de emulsão

Descrição	EHL	Emulsão
Sem emulsão	1-4	Nenhuma
Emulsão pobre	3-6	Emulsão do tipo água em óleo
Emulsão leitosa após agitação vigorosa	6-8	Emulsão do tipo água em óleo
Emulsão leitosa estável	8-10	Emulsão do tipo óleo em água
Emulsão translúcida para transparente	10-13	Emulsão do tipo óleo em água
Emulsão clara	13+	Emulsão do tipo óleo em água

Fonte - Adaptado de Cheng *et al.* (2020)

Para elaboração de uma emulsão estável é imprescindível a seleção de um agente emulsionante conveniente, desta maneira, é fundamental o cálculo dos valores do EHL da formulação que será realizada. Os valores de EHL de um tensoativo são definidos através de cálculos das contribuições de vários componentes do arranjo molecular que determinaram o nível que o agente surfactante tem para ser hidrofóbico ou lipofóbico, conforme proposto pela escala de Griffin. Consequentemente é um método eficiente para selecionar o tensoativo apropriado. Além deste, também há o método de Davies que foi sugerido em 1957, o qual se baseia nos constituintes químicos das moléculas, entretanto, necessita de maiores

informações, como por exemplo, o quantitativo de grupo hidrofílico e lipofílico na molécula e valores dos grupos hidrofílicos e lipofílicos (MOHAMED *et al.*, 2017).

Para Wu *et al.* (2021), o valor de EHL determinado pelo método de Griffin em razão da hidrofiliabilidade de um tensoativos não-iônico por sua hidrofobicidade é um dos indicativos mais usado para quantificar as formulações físico-químicas, através da equação proposta por Griffin descrita a seguir. Onde (Mh) é a teor da massa molecular da região hidrofílica e o (Mw) é o teor da massa molecular de toda a molécula, mostrada na Equação (1).

$$\text{EHL} = \frac{(20 * Mh)}{Mw} \quad (1)$$

Com base em métodos empíricos em 1949 Griffin, determinou uma equação para calcular os valores dos tensoativos não-iônicos os quais eram derivados em particular dos alquilfenóis etoxilados. Deste modo, Griffin definiu que o valor de EHL das porções hidrofílicas (E), no caso de oxido de etileno, o EHL das moléculas nos tensoativos eram calculadas pela porcentagem em massa ou peso, dividido por 5 (BRUDNIK; LATYPOV, 2021), como apresentado na Equação (2).

$$\text{EHL} = \frac{E}{5} \quad (2)$$

Segundo Yao, Selmi e Esmaili (2021), Griffin também propôs outra relação para estipular o quantitativo de EHL para quando houver constituintes que sejam ésteres de ácidos graxos de álcoois poli-hídricos, no qual a partir do índice de saponificação (S) e do índice de acidez do éster (A), é possível determinar o EHL por meio da Equação (3).

$$\text{EHL} = 20 \left(1 - \frac{S}{A}\right) \quad (3)$$

Os índices de saponificações são amplamente aplicados para determinar os valores de EHL em diversos tensoativos não-iônicos. Contudo, havendo a perspectiva de não ser possível obter os índices de saponificação, Griffin sugeriu a alternativa para determinar o valor de EHL através da expressão matemática, onde (E) é representado pelo percentual do teor da massa do oxietileno e o (P) é a porcentagem do teor da massa do álcool poli-hídrico (NOGUER *et al.*, 2017), como apresentado na Equação (4).

$$\text{EHL} = E + \frac{P}{5} \quad (4)$$

Para os tensoativos não-iônicos que contenham óxido de propileno, óxido de butileno, nitrogênio ou até mesmo enxofre, Griffin recomendou que fosse usado o método experimental

para determinar o EHL, uma vez que estes tensoativos apresentarem comportamento os quais não estão relacionado a sua composição, sendo assim, Griffin propôs a seguinte expressão matemática. No qual, (fi) é a fração em teor de peso ou massa do tensoativo (i) (PASQUALI; TAUROZZI; BREGNI, 2008), como apresentado na Equação (5).

$$EHL = \sum EHL_i * f_i \quad (5)$$

Pasquali, Taurozzi e Bregni (2008), declaram que, Griffin em 1949, propôs o EHL requerido para quando houver emulsificação de óleos misturados como é demonstrado na equação a seguir. Na qual (fi) é a fração em teor de peso ou massa do óleo (i), como apresentado na Equação (6).

$$\sum EHL_{Requerido} * f_i \quad (6)$$

De acordo com Royer *et al.* (2018), Davis sugeriu um método para determinar o EHL de tensoativos iônicos, onde este método diferencia as contribuições dos efeitos através da força exercida nas regiões hidrofílicas e lipofílicas. Contudo, este método não é apropriado para porções polares de tensoativos de fosfolipídios, ésteres fluorados ou de sacarose, para os quais não há contribuições dos grupos para pode ser determinada. Sendo assim, aplicado a equação a seguir onde Hi e Hl são os números dos grupos das hidrofílicas e lipofílicas, respectivamente, como apresentado na Equação (7).

$$EHL = 7 + \sum(H_i) - \sum(H_l) \quad (7)$$

O método proposto por Davis em 1957, baseia-se na correlação entre os índices de EHL e na solubilidade dos agentes emulsificantes nas fases oleosas ou posterior. Desta maneira, Davis sugeriu que era possível calcular através de uma expressão química o EHL dos agentes tensoativos usando o número de grupos. Desta forma, ao atribuir números EHL a grupos distinto tais como: grupos lipofílicos, grupos hidrofílicos e grupos derivados. Sendo assim, foi possível a correlação entre o número de EHL e os números destes grupos como foi demonstrada na equação anterior (CORIN; O'CONNOR, 2014).

3 OBJETIVO GERAL

Determinar o Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) do Óleo Essencial de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*).

3.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Preparar uma série de oito emulsões do OEM pelo método de inversão de fases.
- Avaliar a estabilidade das emulsões quanto aos seus aspectos macroscópicos (análise da mudança de coloração, presença da separação de fases, fluidez do líquido).
- Determinar o índice de cremagem (IC).
- Analisar a turbidez das emulsões a partir da técnica de espectrofotometria UV-VIS.
- Determinar o tamanho de gotículas das emulsões, o índice de polidispersão (IPD) e o potencial zeta (PZ) por meio da técnica de *Dynamic Light Scattering* (DLS).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DO PROJETO

O presente trabalho trata-se de uma pesquisa experimental quantitativa do tipo descritiva que foi realizada em sua maioria no Laboratório Multidisciplinar VII das Faculdades Nova Esperança e no laboratório parceiro, o Laboratório de Tecnologia e Biotecnologia Farmacêutica – TECBIOFAR – UFRN. Para esse fim, foram utilizados métodos gerais farmacopeicos e complementares disponíveis na literatura aplicados nas emulsões, relevantes para garantir a determinação do EHL de óleos essenciais.

4.2 MATERIAL

4.2.1 Insumos farmacêuticos

- Óleo essencial *Melaleuca alternifolia* (Ferquímica, São Paulo, Brasil)
- Tensoativo Span 80[®] (Sigma-Aldrich, Missouri, Estados Unidos da América).
- Tensoativo Tween 80[®] (Dinamica Quimica Contemporanea LTDA, Indaiatuba, Brasil).
- Propilenoglicol (Dinamica Quimica Contemporanea LTDA, Indaiatuba, Brasil).
- Fase aquosa: Água destilada

4.2.2 Equipamentos e vidrarias

- Agitador Mecânico (Fisatom, modelo: 713D).
- Espectrofotometro (PHOX UV12, modelo: UV12(190-1020)).
- Analisador de partículas (Zetasizer, modelo Nano-ZS90, Malvern, Malvern, Reino Unido).
- Agitador Vortex (GTgroup).
- Proveta
- Bastão de vidro
- Béquer

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Determinações do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo do óleo essencial *Melaleuca alternifolia*.

A determinação do valor de EHL requerido para o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* foi realizada conforme a metodologia proposta por Orafidiya e Oladimeji (2002), e Ferreira e colaboradores (2010), ambas com modificações.

4.3.2 A preparação das emulsões

Uma série de 8 emulsões foi desenvolvida através do método de inversão de fases com valores fixos para a fase aquosa (água destilada), fase oleosa (óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*) e mistura de tensoativos (Span 80[®] e Tween 80[®]). De modo que, foram calculadas as diferentes proporções para a mistura de tensoativos com o intuito de abranger uma faixa de EHL que variasse de 4,5 – 15,0 com base na equação de Griffin (1949) Equação (X) (REIS, 2021).

$$\%A = \frac{100 (X - EHL_B)}{EHL_A - EHL_B} \quad (X)$$

$$\%B = 100\% - \%A$$

Onde, A = tensoativo “A”, X= EHL da fase oleosa e B= tensoativo “B”.

No preparo das emulsões, inicialmente os componentes da fase aquosa (água destilada e Tween 80[®]) e os da fase oleosa (óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e Span 80[®]) foram pesados e misturados nas suas respectivas fases. Posteriormente, as fases foram submetidas separadamente ao aquecimento em banho-maria até atingirem a temperatura de 70±0,5°C. Em seguida a fase aquosa foi vertida na fase oleosa e a mistura foi levada a agitação no agitador mecânico a 5000 rpm até alcançar a temperatura ambiente.

4.3.3 Caracterização das emulsões

Após o preparo das emulsões foram realizadas análises em triplicatas, as quais ocorreram em intervalos fixos de 7 dias (D0, D7 e D14). As características avaliadas abrangeram os aspectos macroscópicos tais como mudança de coloração, cremagem e a separação de fases. Além do mais, também foram analisados os aspectos microscópicos tais como a determinação do tamanho das gotículas, análise turbidimétrica, o índice de polidispersão, o potencial zeta, o índice do potencial de hidrogênio e a condutividade.

4.3.3.1 Aparência macroscópica

As características visuais das emulsões foram observadas após o preparo das emulsões para se constatar possíveis fatores de instabilidade (mudança de coloração, cremagem, separação de fases e fluidez do líquido).

4.3.3.2 Determinação do índice de cremagem (IC)

A mensuração do índice de cremagem (IC) foi realizada mediante a leitura e consequente cálculo da razão entre a altura total da camada de cremagem (CC) e a altura total da camada de emulsão (CE), conforme observada na Equação Y.

$$\%IC = \frac{CC}{CE} \times 100 \quad (Y)$$

Onde, CC = altura total da camada de cremagem e CE = altura total da camada de emulsão.

4.3.3.3 Análise turbidimétrica

Para isso, 5 ml das amostras das formulações foram diluídas em 50 ml de água destilada para que fossem lidas no espectrofotômetro UV-VIS utilizando feixe de luz com comprimento de onda de 600nm, as análises foram realizadas em triplicata, o branco da amostra foi obtido com a água deionizada. Uma vez identificado os valores da porcentagem de transmitância, a turbidez da amostra foi calculada conforme Equação Z.

$$Turbidez = 100 - \%T \quad (Z)$$

Onde, T = transmitância

4.3.3.4 Determinação do tamanho de gotículas e do índice de polidispersão (IPD)

A análise do tamanho das gotículas e o índice de polidispersão foram realizados pelo método do Espalhamento Dinâmico da Luz (*Dynamic Light Scattering – DLS*) por meio do equipamento Zetasizer, modelo Nana-ZS90. O preparo das amostras consistiu na diluição prévia das emulsões na proporção de 1:50 com solução aquosa de propilenoglicol (1:1). Em seguida, as amostras foram submetidas em análise de triplicatas a feixes de luz com comprimento 659,0 nm em temperatura constante de 25±0,5°C.

4.3.3.5 Potencial Zeta

As medidas do potencial zeta (ζ mV) foram realizadas em triplicatas, utilizando o equipamento Zetatrac SL-OS-07. O potencial foi alcançado submetendo a formulação a uma voltagem fixa e utilizando os valores fornecidos pelo aparelho para calcular o ζ mV.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES PARA DETERMINAR O EHL DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia*.

A obtenção do valor de EHL do OEM ocorreu mediante a preparação de 8 emulsões com diferentes valores de EHL, na qual a faixa abrangeu uma variação de EHL entre 4,5 e 15. A variação do EHL tornou-se possível a partir da seleção e mistura com diferentes proporções de dois tensoativos com valores de EHL distintos, ou seja, um altamente hidrofílico: Tween[®] 80 (EHL = 15); e outro lipofílico: Span[®] 80 (EHL = 4,3). Na tabela 6 podem ser observadas as diferentes proporções dos componentes necessários para obtenção das emulsões.

Tabela 6 - Composição das emulsões O/A para determinação do EHL do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*)

Emulsão	EHL da mistura	Tween 80 [®] (g)	Span 80 [®] (g)	Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> (g)	Água destilada (ml)
1	4,5	0,01683	0,88317	0,3	28,8
2	6	0,14301	0,75699	0,3	28,8
3	7,5	0,2691	0,6309	0,3	28,8
4	9	0,39537	0,50463	0,3	28,8
5	10,5	0,52146	0,37854	0,3	28,8
6	12	0,64764	0,25236	0,3	28,8
7	13,5	0,77382	0,12618	0,3	28,8
8	15	0,9	0	0,3	28,8

Fonte: Dados do autor.

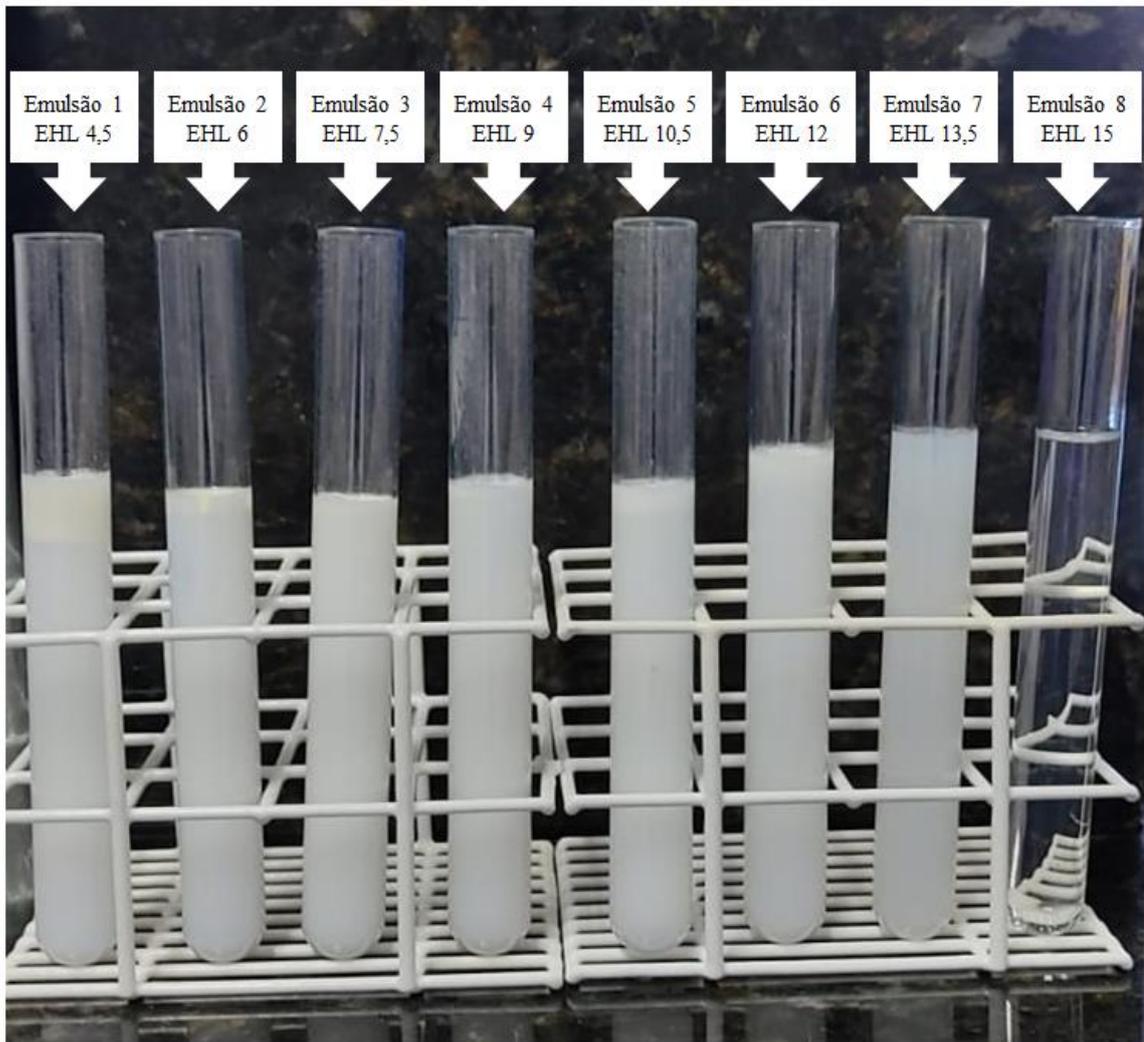
A escolha da classe de tensoativos não iônicos suaves Span e Tweens se sucedeu através destes possibilitarem vantagens de formulação nas indústrias cosméticas, alimentícia e farmacêuticas, uma vez que são estáveis em álcalis suaves, ácidos e eletrólitos, além de não reagirem com componentes iônicos ou ativos. Por meio da mistura desses dois representantes de tensoativos é possível preparar uma ampla variedade de sistemas de emulsão O/A e A/O (HONG; KIM; LEE, 2018).

5.2 APARÊNCIA MACROSCÓPICA

No que concerne à fluidez do líquido das formulações, todas demonstraram ser de baixa viscosidade (líquidas) e com coloração esbranquiçada nas emulsões 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, nas quais também pôde ser identificada a formação do fenômeno da cremagem. No entanto, a emulsão 8 apresentou aspectos ópticos translúcidos, com baixa viscosidade, além de não ser identificada a formação da cremagem, o qual pressupõe-se mediante análise macroscópica, que esse aspecto transparente ou translúcido é devido ao tamanho significativamente pequeno

em comparação com o comprimento de onda da luz incidente, uma vez que elas espalham fracamente as ondas de luz (JINTAPATTANAKIT, 2018). Na figura 12, é possível observar as características organolépticas das emulsões do OEM após transcorrer 24 horas do preparo das emulsões.

Figura 12 - Aspectos macroscópicos das emulsões O/A do OEM



Fonte: Dados da pesquisa.

5.3 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE CREMAGEM

De acordo com Nor *et al.* (2021), a cremagem (ou sedimentação) é um dos fenômenos de desestabilidade, na qual ocorre a formação da separação das fases do sistema, mediante a atuação da força gravitacional em razão da diferença de densidade entre fases.

Os ICs das diferentes formulações em estudo, nos intervalos fixos de setes dias (D0, D7 e D14), podem ser observados na Tabela 7. A ausência do fenômeno da cremagem e

aspectos ópticos da emulsão 8 era um resultado esperado uma vez que o diâmetro das gotículas foram inferiores a 200nm, como será discutido adiante.

Tabela 7 – Índice de cremagem identificado nas formulações do OEM nos intervalos D0, D7 e D14

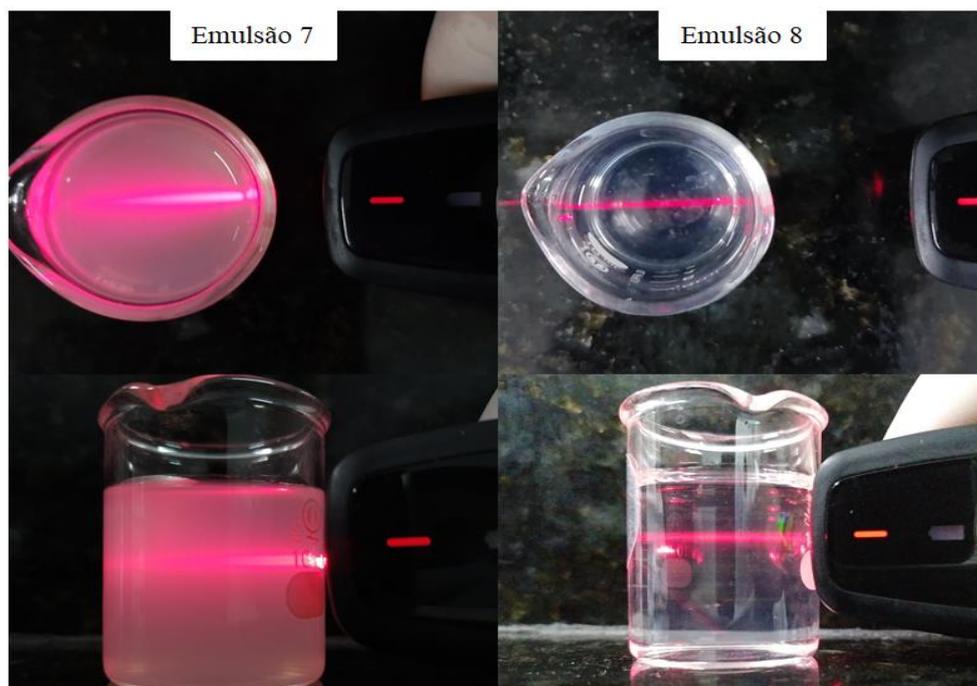
Emulsão	EHL	D0 (%)	Intervalo	
			D7 (%)	D14 (%)
1	4,5	13,33	10,59	13,25
2	6	5,75	5,33	6,12
3	7,5	2,35	2,70	5,63
4	9	2,30	2,38	3,70
5	10,5	5,88	2,47	3,85
6	12	5,43	2,33	2,44
7	13,5	1,05	1,11	1,18
8	15	0	0	0

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: D0 (24 h após a preparação); D7 (7 dias após a preparação); D14 (14 dias após a preparação).

Aswathanarayan e Vittal (2019) declaram que as nanoemulsão podem ser formadas por gotículas com diâmetro $<200\text{nm}$ e em algumas ocasiões $<100\text{nm}$, no que se refere à estabilidade são metaestáveis em razão da separação das fases ocorrerem ao longo do tempo. No entanto, este sistema é conferido com estabilidade cinética, uma vez que não há separação gravitacional e agregação das partículas em razão da força atrativa entre as gotículas serem reduzida. Além do mais, este sistema é termodinamicamente estável, não sendo alterado por variações físico-químicas, além disso, são opticamente transparentes, uma vez que o diâmetro das gotículas é inferior ao comprimento de onda e dispersa fracamente a luz, essa confirmação pode ser observada na Figura 13.

Figura 13 - Transmitância incidente das emulsões 7 e 8 do OEM



Fonte: Dados da pesquisa.

5.4 TAMANHO DE GOTÍCULAS E ANÁLISE TURBIDIMÉTRICA

Os métodos turbidimétricos e a análise granulométrica são técnicas alternativas para determinar os valores de EHL em óleos essenciais, os quais a estabilidade em temperaturas relativamente baixas inviabilize a utilização do método PIT (ORAFIDIYA; OLADIMEJI, 2002). Os dados obtidos sobre o tamanho das gotículas e da análise turbidimétrica realizada na avaliação do EHL do OEM em diferentes intervalos fixos de setes dias (D0, D7 e D14) pode ser observado na Tabela 8.

Nas emulsões 7 e 8 foram identificados os menores tamanhos das gotículas e os maiores percentuais de turbidez quando comparadas com as demais formulações. Esse resultado já era esperado uma vez que, de acordo com Yamamoto, Takahashi e Toyoda (2021), a transmitância é definida como a razão entre a luz transmitida e a luz incidente. Deste modo, o aumento da transmitância está diretamente relacionado com a redução do tamanho das gotículas, uma vez que as gotículas que apresentam maior diâmetro, conseqüentemente tem o aumento da capacidade de absorver luz.

Tabela 8 - Correlação entre o tamanho das gotículas e a análise turbidimétrica do OEM realizada nos dias D0, D7 e D14

Emulsão	EHL	Tamanho das gotículas (d.nm)			Índice turbidimétrico (%)		
		D0	D7	D14	D0	D7	D14
1	4,5	222,10	540,90	313,47	36,03	32,60	23,30
2	6	268,13	356,90	436,73	20,83	18,93	13,93
3	7,5	243,73	305,97	269,90	20,60	21,60	22,40
4	9	255,63	463,17	281,57	46,43	47,67	51,20
5	10,5	254,20	594,87	262,40	56,50	56,77	58,27
6	12	248,87	445,30	239,77	70,10	70,83	83,03
7	13,5	174,20	193,40	152,00	97,27	98,77	100
8	15	43,40	76,00	121,94	99,71	100	100

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: D0 (24 h após a preparação); D7 (7 dias após a preparação); D14 (14 dias após a preparação).

De acordo com Akbari e Nour (2018), a estabilidade e viscosidade das emulsões estão correlacionadas com o tamanho e distribuição das gotículas no sistema. Além do mais, no que concerne à cinética, as emulsões que são mais estáveis apresentam a distribuição, o quantitativo e a ordem das gotículas sem sofrer alterações significativas ao decorrer do prazo de armazenamento. Conforme Dai, Hinrichs e Weiss (2020), a Lei de Stoke declara que o *creaming* (sedimentação ou ascensão) pode ser reduzido através da diminuição de a) diferenças de densidade entre as fases continua e dispersa; b) a viscosidade da fase continua e c) o tamanho das gotículas. Desta maneira, torna-se o diâmetro das gotículas um importante fator no processo de instabilidade, em virtude do diâmetro das gotículas na emulsão 8 ser significativamente pequeno, é possível justificar a ausência da cremagem na emulsão 8.

Assim, considerando os resultados do tamanho de gotículas e, confrontando-os com a análise turbidimétrica, a faixa de EHL do OEM encontra-se na emulsão 8, EHL 15, uma vez que nessa emulsão é identificado os melhores coeficientes de estabilidade.

5.5 ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO (IPD)

O índice de polidispersão (IPD) é um dos coeficientes responsáveis pelo fenômeno conhecido como Maturação de Ostwald, sendo este um dos principais fatores que contribuem para a desestabilização em sistemas dispersos, tais como as emulsões. O fenômeno de Maturação de Ostwald é um processo irreversível, no qual está condicionada a solubilidade dos componentes da fase dispersa em relação aos da fase contínua. Além disso, os sistemas dispersos do tipo O/A que são realizadas com óleos apolares, com cadeias longas de triacilgliceróis, é incomum que ocorra. No entanto, este fenômeno pode decorrer de maneira acelerada, uma vez que o sistema disperso utilize óleos polares, nos quais apresentem triacilgliceróis de cadeia curta, a serem destacados os óleos essenciais e aromáticos (PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015).

A polidispersão das emulsões contendo OEM foi analisada em intervalos fixo (D0, D7 e D14), os dados obtidos permitem destacar a emulsão 8 das demais formulações. Os menores valores de IPD foram referentes à Emulsão 8, sendo encontrados os valores de 0,20, 0,25 e 0,40, para os intervalos de D0, D7 e D14, respectivamente. Os valores observados nas duas primeiras análises em razão de serem $>0,25$ sugere que o sistema nanodisperso apresenta uma boa estabilidade. Além do mais, a progressão do IPD conforme aumenta o intervalo do armazenamento é um resultado esperado, visto que também ocorreu o aumento do diâmetro das gotículas, conforme foi apresentado anteriormente na Tabela 7. Os dados obtidos sobre o IPD podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 - valores observados sobre a polidispersão das emulsões contendo OEM

Emulsão	EHL	Intervalo			Desvio Padrão
		D0	D7	D14	
1	4,5	0,39	0,55	0,62	0,12
2	6	0,50	0,68	0,67	0,10
3	7,5	0,45	0,48	0,58	0,07
4	9	0,52	0,54	0,44	0,05
5	10,5	0,72	0,78	0,62	0,08
6	12	0,79	0,71	0,61	0,09
7	13,5	0,43	0,49	0,36	0,07
8	15	0,20	0,25	0,40	0,10

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: D0 (24 h após a preparação); D7 (7 dias após a preparação); D14 (14 dias após a preparação).

Adicionalmente, Al-Assiuty, Nenaah e Ageba (2019) define IPD como sendo uma representação da medida entre a uniformidade e a estabilidade do tamanho das gotículas na

formulação. Ainda conforme os autores, são descritos que valores de IPD inferiores a 0,25, sugerem uma distribuição granulométrica estreita, corroborando com a boa estabilidade física em sistemas de nanoemulsões, em razão da redução do amadurecimento de Ostwald. Além do mais, valores de IPD inferiores a 0,2 refletem a relativa homogeneidade em emulsão, enquanto IPD superiores a 0,3 indica a heterogeneidade do sistema.

5.6 POTENCIAL ZETA (PZ)

O Potencial Zeta (PZ) também denominado como potencial eletrocinético é a capacidade do plano de deslizamento/cisalhamento que uma partícula colóide se desloca sob um campo elétrico. Desta maneira o PZ representa a diferença de potencial entre a dupla camada elétrica (EDL) de partículas eletroforéticamente móveis e a camada dispersante que estão em torno delas no plano de deslizamento (BHATTACHARJEE, 2016).

Os PZs identificados na formulação 8 nos intervalos D0, D7 e D14 encontra-se em discordância com a literatura, uma vez que a faixa entre -5,88mV a -17,57mV obtido no PZ desta formulação não se situa nos parâmetros preconizados na literatura que confere indicativos de estabilidade das gotículas. A determinação do PZ é realizada mediante modelos teóricos, através das técnicas de microeletroforese ou espalhamento de luz eletroforético, em virtude de não ser possível quantificar o valor diretamente. Os métodos aplicados baseiam-se no deslocamento das gotículas para os eletrodos de carga oposta com aceleração equivalente ao tamanho do PZ. No que concerne ao valor ideal do PZ, alguns autores sugerem que valores superiores a +25mV ou inferiores a -25mV são considerados indicativos que favorece a formação de uma barreira que impede a coalescência das gotículas (HONARY & ZAHIR, 2013; MA *et al*, 2013; DAI *et al*, 2014). Os valores obtidos na análise do potencial zeta podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores obtidos na análise do potencial zeta das formulações do OEM

Emulsão	EHL	Intervalo			Desvio Padrão
		D0	D7	D14	
1	4,5	-46,67	-47,53	-46,90	0,45
2	6	-41,50	-43,93	-45,47	2,00
3	7,5	-34,63	-41,07	-40,60	3,59
4	9	-24,90	-35,03	-37,10	6,53
5	10,5	-25,53	-33,73	-34,73	5,05
6	12	-16,97	-25,70	-10,73	7,52
7	13,5	-13,07	-19,80	-29,27	8,14
8	15	-5,88	-11,49	-17,57	5,85

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: D0 (24 h após a preparação); D7 (7 dias após a preparação); D14 (14 dias após a preparação).

Kumar *et al.* (2015) declaram que a determinação do PZ em um sistema disperso pode ser utilizada como indicativo da estabilidade das gotículas. O aumento da força repulsiva entre as gotículas em sistema disperso pode reduzir a ocorrência do amadurecimento e coalescência de Ostwald. Além disso, uma redução dessas forças pode contribuir para a instabilidade e separação de fases das gotículas na emulsão.

De acordo com Marzuki, Wahab e Hamid (2019), os valores negativos do PZ são observados em razão da utilização dos tensoativos não-iônicos nas formulações. Essa característica está relacionado às propriedades químicas desejáveis da cadeia de polioxietileno dos tensoativos utilizados. A coalescência e a maturação de Ostwald são os dois principais mecanismos responsáveis por degradar sistemas de nanoemulsão. Estes fenômenos podem provocar o crescimento irreversível das partículas do sistema, justificando o crescimento das gotículas observado na Tabela 8. A coalescência intercorrer por meio do contato de duas gotículas, uma vez que as superfícies formam uma fase de contato, conseqüentemente, funde-se formando uma gotícula maior (GRAPENTIN; BARNERT; SCHUBERT, 2015).

De acordo com Jiang *et al.* (2020), no que concerne à cinética, em sistemas que apresentem a mesma taxa de coalescência, as emulsões com gotículas menores apresentam maior tempo para ocorrer a delaminação, dessa maneira torna-se mais estável. No entanto, as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis. Este fator colabora para que ocorra a coalescência entre as gotículas ocasionando assim na redução da tensão interfacial, uma vez que a área de interface da fase O/A para as gotículas serem menores.

6 CONCLUSÃO

O método de determinação do EHL de óleos essenciais a partir da análise da estabilidade em formulações do tipo O/A por meio da técnica de inversão de fase se mostrou simples, de fácil elaboração e com um tempo de estudo relativamente curto.

Os dados obtidos permitiram destacar a emulsão 8 das demais formulações, em virtude das características organolépticas tais como a ausência da cremagem, ausência da separação de fase, aspecto óptico translúcido e baixa viscosidade.

No que se refere às propriedades microscópicas, também demonstrou boa estabilidade, visto que o tamanho das gotículas da formulação 8 permaneceu significativamente pequenas no período do estudo, inferior $>200\text{nm}$, esta característica pode justificar o aspecto óptico translúcido, bem como o alto percentual da transmitância desta emulsão. Além do mais, o valor denotado no IPD da formulação 8 apresentou uma faixa $>0,25$ sendo este um dos parâmetros que sugere boa estabilidade, no entanto, os valores do PZ da formulação 8 encontra-se em discordância com a faixa preconizada na literatura, a qual pode sugerir um indicativo da redução da formação de coalescência das gotículas.

Diante disso, pode-se atribuir o mesmo valor do EHL da emulsão 8 (EHL 15) ao valor de EHL do OEM. Contudo, é substancial que seja realizada análise subsequente que permita ampliar o valor de EHL do OEM de modo que delimite intervalos mais precisos.

REFERÊNCIAS

- AATI, H. Y. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia absinthium*, *Artemisia scoparia*, and *Artemisia sieberi* grown in Saudi Arabia. **Arabian Journal Of Chemistry**, v. 13, n. 11, p. 8209-8217, nov. 2020.
- ABELAN, U. S. *et al.* Potential use of essential oils in cosmetic and dermatological hair products: a review. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], p. 1-12, 23 jun. 2021.
- AKBARI, S.; NOUR, A. H.; Emulsion types, stability mechanisms and rheology: A review. **International Journal Of Innovative Research And Scientific Studies**, [S/L], v. 1, n. 1, p. 14-21, jan. 2018.
- AMARAL, B. C. S.O. R.; PEREIRA, M. C. OS ÓLEOS ESSENCIAIS NO COMÉRCIOEXTERIOR: INDICADORES DO ANO DE 2015. **Fatec Itapetininga**, v. 8, n. 15, p. 1-8, jan. 2019.
- ASWATHANARAYAN, J. B.; VITTAL, R. R.. Nanoemulsions and Their Potential Applications in Food Industry. **Frontiers In Sustainable Food Systems**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-21, 13 nov. 2019.
- BACHINSKI, B.; DE MORAIS, R. M.; COLOMÉ, L. M. DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO CONTENDO ÓLEO DE MELALEUCA. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 12, n. 2, 2020.
- BAR, F. M. A.. Genus *Melaleuca* - A Review on the Phytochemistry and Pharmacological Activities of the Non-Volatile Components. **Records Of Natural Products**, v. 15, n. 4, p. 219-242, 17 abr. 2021.
- BARRADAS, T. N.; SILVA, K. G. H.. Nanoemulsions of essential oils to improve solubility, stability and permeability: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 1153-1171, 23 nov. 2020.
- BASTO, S. R. L. *et al.* Emulsão e microemulsão: novos sistemas de liberação controlada de fármacos no tratamento veterinário. **Medicina Veterinária (Ufrpe)**, Recife, v. 1-4, p. 25-33, 2016.
- BHATTACHARJEE, S.. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 235, p. 337-351, ago. 2016.
- BOŽOVIĆ, M. *et al.* Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. **Natural Product Research**, v. 31, n. 20, p. 2387-2396, 31 mar. 2017.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). GUIA DE ESTABILIDADE DE PRODUTOS COSMÉTICOS, 1ªed., Brasília, 2004.
- BRUDNIK, I. M.; LATYPOV, A. G.. EVALUATION OF NONIONIC SURFACTANTS AS POTENTIAL EMULSIFIERS. **Bashkir Chemical Journal**, v. 28, n. 1, p. 51-55, 2021.

BRUN, P. *et al.* In Vitro Antimicrobial Activities of Commercially Available Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) Essential Oils. **Current Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 108-116, 12 nov. 2018.

CHAIB, S. *et al.* Preparation of Thymus vulgaris Essential Oil Microcapsules by Complex Coacervation and Direct Emulsion: synthesis, characterization and controlled release properties. **Arabian Journal For Science And Engineering**, v. 46, n. 6, p. 5429-5446, 2 fev. 2021.

CHENG, K. C. *et al.* Design and performance optimisation of detergent product containing binary mixture of anionic-nonionic surfactants. **Heliyon**, v. 6, n. 5, p. 1-13, maio 2020.

CHENG, Kai Cong *et al.* Design and performance optimisation of detergent product containing binary mixture of anionic-nonionic surfactants. **Heliyon**, v. 6, n. 5, p. 1-13, maio 2020.

COELHO, M. O. *et al.* Estudo da ação emulsificante da polpa de abacate associada às proteínas do soro de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 3, p. 122-135, 12 mar. 2018.

CONTRERAS-RAMÍREZ, J. I. *et al.* Relationship of rheological and thermal properties in organogel emulsions (W/O): influence of temperature, time, and surfactant concentration on thermomechanical behavior. **Journal Of Molecular Liquids**, v. 337, p. 116403, set. 2021.

CORIN, K.C.; O'CONNOR, C.T.. A proposal to use excess Gibbs energy rather than EHL number as an indicator of the hydrophilic-lipophilic behavior of surfactants. **Minerals Engineering**, v. 58, p. 17-21, abr. 2014.

COSSETIN, L. F. *et al.* Development of nanoemulsions containing Lavandula dentata or Myristica fragrans essential oils: influence of temperature and storage period on physical-chemical properties and chemical stability. **Industrial Crops And Products**, v. 160, p. 113115, fev. 2021.

COUTINHO, V. P. *et al.* EFEITO DA VELOCIDADE DO PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO NAS PROPRIEDADES DE EMULSÕES COSMÉTICAS. **The Journal Of Engineering And Exact Sciences**, v. 4, n. 2, p. 0240-0245, 4 jul. 2018.

DAI, J.; KIM, S.M.; SHIN, I-S.; KIM, J.D.; LEE, H.Y.; SHIN, W.C.; KIM, J-C. Preparation and stability of fucoxanthin-loaded microemulsions. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.20, p.2103-2110, 2014.

DAI, L.; HINRICHS, J.; WEISS, J. Emulsifying properties of acid-hydrolyzed insoluble protein fraction from Chlorella protothecoides: formation and storage stability of emulsions. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 108, p. 105954, nov. 2020.

DANTAS, T. N. C. *et al.* MICROEMULSIONS AND NANOEMULSIONS APPLIED TO WELL STIMULATION AND ENHANCED OIL RECOVERY (EOR). **Brazilian Journal Of Petroleum And Gas**, v. 12, n. 4, p. 251-265, 10 jan. 2019.

EGITO, E S. T. *et al.* EHL Concept: a way to never forget it. **Biomedical Journal Of Scientific & Technical Research**, v. 10, n. 4, p. 7958-7959, 31 out. 2018.

EL-DIN, M. R. N.; HMEIDAN, S. M.M.. New Modified Equations to Estimate the Percentage of Over Three Emulsifiers in Emulsifier Mixture to Form a Stable Emulsion. **Journal Of Surfactants And Detergents**, [S.L.], p. 1-10, 13 maio 2021.

ELYEMNI, M. *et al.* Extraction of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L. by Two Different Methods: hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation. **The Scientific World Journal**, v. 2019, p. 1-6, 1 abr. 2019.

FERREIRA, D. F. *et al.* Oxygen introduction during extraction and the improvement of antioxidant activity of essential oils of basil, lemon and lemongrass. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, p. 1-7, 2017.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 329 p, 2011.

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

GAFNER, S.; DOWELL, A.. Tea Tree Oil Laboratory Guidance Document. **Abc-Ahp-Ncnpr Botanical Adulterants Prevention Program**, 2018.

GONELLI, T.; PILON, T. P. F.; CHIARI-ANDRÉO, B. G. Óleo de melaleuca para o tratamento da acne: as evidências da literatura. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 21, n. 3, p. 113-119, 1 set. 2018.

GRAPENTIN, C.; BARNERT, S.; SCHUBERT, R.. Monitoring the Stability of Perfluorocarbon Nanoemulsions by Cryo-TEM Image Analysis and Dynamic Light Scattering. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 1-12, 22 jun. 2015.

GURUNATH, D. *et al.* An Overview on Multiple Emulsions. **Asian Journal Of Pharmacy And Technology**, v. 11, n. 2, p. 1-7, fev. 2021.

HONARY, S.; ZAHIR, F. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 1). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.12, n.2, p.255-264, 2013.

HONG, I. K.; KIM, S. I.; LEE, S. B.. Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. **Journal Of Industrial And Engineering Chemistry**, [S.L.], v. 67, p. 123-131, nov. 2018.

HONG, X. *et al.* Recent advances on food-grade water-in-oil emulsions: instability mechanism, fabrication, characterization, application, and research trends. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, p. 1-31, 13 ago. 2021.

HU, Yin-Ting *et al.* Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. **Journal of food and drug analysis**, v. 25, ed. 1, p. 16-26, 2017.

JIANG, Q. *et al.* Real-Time Analysis of the Stability of Oil-In-Water Pickering Emulsion by Electrochemical Impedance Spectroscopy. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 12, p. 2904, 24 jun. 2020.

JINTAPATTANAKIT, A.. Preparation of nanoemulsions by phase inversion temperature (PIT). **Pharmaceutical Sciences Asia**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 1-12, 2018.

JUGREET, B. S. *et al.* Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. **Trends In Food Science & Technology**, v. 101, p. 89-105, jul. 2020.

KASUJJA, I. Critical Evaluation of *Melaleuca alternifolia*: a review of the phytochemical profile, pharmacological attributes and medicinal properties in the botanical, human and global perspectives. **Open Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 11, n. 01, p. 1-15, 2021.

KIIHNL, L.; BRAHAM, A. F.. Developing a particle size specification for asphalt emulsion. **Construction And Building Materials**, v. 293, p. 123414, jul. 2021.

KOLLURU, L.; ATRE, P.; RIZVI, S. Characterization and Applications of Colloidal Systems as Versatile Drug Delivery Carriers for Parenteral Formulations. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 2, p. 108, 29 jan. 2021.

KOPLÁNYI, G. *et al.* Entrapment of Phenylalanine Ammonia-Lyase in Nanofibrous Poly(lactic Acid) Matrices by Emulsion Electrospinning. **Catalysts**, v. 11, n. 10, p. 1149, 25 set. 2021.

KRABOUN, K. *et al.* Antioxidant properties and encapsulation methods of astaxanthin: A review. **Food And Applied Bioscience Journal**, v. 9, n. 2, p. 22-39, 25 ago. 2021.

KUMAR, A.; THAKUR, A.; PANESAR, P. S.. A review on emulsion liquid membrane (ELM) for the treatment of various industrial effluent streams. **Reviews In Environmental Science And Bio/Technology**, v. 18, n. 1, p. 153-182, 1 fev. 2019.

KUMAR, R. *et al.* Potent Functional Immunogenicity of Plasmodium falciparum Transmission-Blocking Antigen (Pfs25) Delivered with Nanoemulsion and Porous Polymeric Nanoparticles. **Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 32, n. 12, p. 3827-3836, 26 jun. 2015.

LAM, N. S. *et al.* *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its monoterpene constituents in treating protozoan and helminthic infections. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110624, out. 2020.

LIAO, M. *et al.* Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on the *Helicoverpa armigera*. **Journal Of Applied Entomology**, v. 141, n. 9, p. 721-728, 19 abr. 2017.

LU, W.; KELLY, A. L.; MIAO, S.. Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols. **Trends In Food Science & Technology**, v. 47, p. 1-9, jan. 2016.

MA, S.; CHEN, F.; YE, X.; DONG, Y.; XUE, Y.; XU, H.; ZHANG, W.; SONG, S.; AI, L.; ZHANG, N.; PAN, W. Intravenous microemulsion of docetaxel containing an anti-tumor synergistic ingredient (*Brucea javanica* oil): formulation and pharmacokinetics. **International Journal of Nanomedicine**, v.8, p.4045-4052, 2013.

MARQUES, T.M.; SOUZA, F.M.; ESPINHEIRO, M.J.C.L. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE OS DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL. **Atena Editora**, 2019.

MARZUKI, N. H. C.; WAHAB, R. A.; HAMID, M. Abdul. An overview of nanoemulsion: concepts of development and cosmeceutical applications. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 779-797, 1 jan. 2019.

MOHAMED, A. I. A. *et al.* Influence of Surfactant Structure on the Stability of Water-in-Oil Emulsions under High-Temperature High-Salinity Conditions. **Journal Of Chemistry**, v. 2017, p. 1-11, 2017.

MONTEIRO, M. H. D. A. *et al.* Óleos essenciais terapêuticos obtidos de espécies de *Melaleuca L. (Myrtaceae Juss.)*, **Revista Fitos**, v.8, n.1, 2013.

NEPOMOCENO, T. A. R.; PIETROBON, A. J. *Melaleuca alternifolia*: uma revisão sistemática da literatura brasileira. **REVISTA UNINGÁ REVIEW**, v. 35, 2020.

NI, Z. J. *et al.* Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. **Trends In Food Science & Technology**, v. 110, p. 78-89, abr. 2021.

NOGUER, A. Camós *et al.* Diffusion of surface-active amphiphiles in silicone-based fouling-release coatings. **Progress In Organic Coatings**, v. 106, p. 77-86, maio 2017.

NOR, N. F. A. *et al.* EVOLUTIONS IN VIRGIN COCONUT OIL: liquid to powder. **Jurnal Teknologi**, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 119-132, 11 abr. 2021.

OLIVEIRA, F. L.; CÁSSIA, D. S.. tensoativos sintéticos e biostensoativos: vantagens e desvantagens. **Química Nova na Escola**, [S.L.], v. 39, n. 3, p. 228-236, 2017.

OLIVEIRA, M.I. *et al.* EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA E DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO SEMI-SÓLIDA DE USO TÓPICO. **Revista Jovens Pesquisadores**, v.5, n.1, 2015.

ORAFIDIYA, L. O.; OLADIMEJI, F.A.. Determination of the required HLB values of some essential oils. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 237, n. 1-2, p. 241-249, abr. 2002.

PASQUALI, R. C.; TAUROZZI, M. P.; BREGNI, C. Some considerations about the hydrophilic–lipophilic balance system. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 356, n. 1-2, p. 44-51, maio 2008.

PATEIRO, M. *et al.* Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: a review. **Food Research International**, v. 113, p. 156-166, nov. 2018.
PEREIRA, L. J. B.; GARCIA-ROJAS, E. E. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p. 155-162, jan. 2015.

PEREIRA, L. J.B.; GARCIA-ROJAS, E. E.. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 155-162, jan. 2015.

PORTO, A. S.; ALMEIDA, I. V.; VICENTINI, V. E. P. Nanoemulsões formuladas para uso tópico: estudo de síntese e toxicidade. **Revista Fitos**, v. 14, n. 4, p. 513-527, 18 dez. 2020.

POZZA, B. M. F. *et al.* Avaliação da Estabilidade de Emulsões Cosméticas Elaboradas com Saponinas de Juá (*Ziziphus joazeiro*) e Sisal (*Agave sisalana*). **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, 2017.

PUVAČA, N. *et al.* Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. **World'S Poultry Science Journal**, v. 75, n. 2, p. 235-246, 1 jun. 2019.

RADIVOJAC, A. *et al.* Extraction of Peppermint Essential Oils and Lipophilic Compounds: assessment of process kinetics and environmental impacts with multiple techniques. **Molecules**, v. 26, n. 10, p. 2879, 13 maio 2021.

REIS, M. Y. F. A. *et al.* A general approach on the surfactants use and their properties in drug delivery systems. **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, p. 1-15, 26 maio 2021.

RODRIGUES, C. J. F.; MACIEL, M. A. M.; LIMA, K. M. G. de. Sorbitans as Corrosion Inhibitors. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 5, p. 912-920, 2013.

RODRÍGUEZ-ABREU, C. On the Relationships between the Hydrophilic-Lipophilic Balance and the Nanoarchitecture of Nonionic Surfactant Systems. **Journal Of Surfactants And Detergents**, v. 22, n. 5, p. 1001-1010, 28 jan. 2019.

ROYER, Maxime *et al.* Towards a new universal way to describe the required hydrophilic lipophilic balance of oils using the phase inversion temperature of C 10 E 4 /n-octane/water emulsions. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 536, p. 165-171, jan. 2018.

SAHU, S. S.; GANDHI, I. S. R.; KHWAIRAKPAM, S.. State-of-the-Art Review on the Characteristics of Surfactants and Foam from Foam Concrete Perspective. **Journal Of The Institution Of Engineers (India): Series A**, v. 99, n. 2, p. 391-405, 19 fev. 2018.

SAWANT, A. *et al.* Solid-in-Oil-in-Water Emulsion: an innovative paradigm to improve drug stability and biological activity. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 1-14, jul. 2021.

SHARIFI-RAD, J. *et al.* Plants of the Melaleuca Genus as Antimicrobial Agents: from farm to pharmacy. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 10, p. 1475-1494, 7 ago. 2017.

SILVA, B. D. *et al.* Chemical composition, extraction sources and action mechanisms of essential oils: natural preservative and limitations of use in meat products. **Meat Science**, v. 176, p. 108463, jun. 2021.

SILVA, J. D. F. da *et al.* MICROEMULSIONS: components, characteristics, potentialities in food chemistry and other applications. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1169-1206, 2015.

SILVA, L. L. *et al.* Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 6011-6021, 2019.

SILVA, N. P. *et al.* Improved anti-Cutibacterium acnes activity of tea tree oil-loaded chitosan-poly(ϵ -caprolactone) core-shell nanocapsules. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, p. 111371, dez. 2020.

SILVA, P. A. A.; MEJIA, D. P. M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Melaleuca alternifolia (tea tree) para uso como coadjuvante em antissépticos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

SILVA, S. B.; SANTOS, A. N.; SIQUEIRA, L. P. Ação antimicrobiana e toxicidade do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e da alicina, sua utilização em formas farmacêuticas e possível associação para o tratamento de infecções dérmicas. **Brazilian Journal Of Development**, v. 6, n. 6, p. 34555-34565, 2020.

SODEIFIAN, G. *et al.* Properties of Portulaca oleracea seed oil via supercritical fluid extraction: experimental and optimization. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 34-44, maio 2018.

STEFFEN, G. P. K. *et al.* CONTROLE DE Sclerotinia sclerotiorum E Fusarium sp. COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 30, p. 682, 15 dez. 2019.

SUITTHIMEATHEGORN, O.; JAITELY, V.; FLORENCE, A. T. Novel anhydrous emulsions: formulation as controlled release vehicles. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 298, n. 2, p. 367-371, jul. 2005.

SUN, Y. *et al.* Effect of EHL value on the properties of chitosan/zein/lemon essential oil film-forming emulsion and composite film. **International Journal Of Food Science & Technology**, p. 1-9, 9 jul. 2021.

TADROS, Tharwat F.. **Emulsions Formation, Stability, Industrial Applications**. Berlin: De Gruyter Graduate, 2016.

WU, J. *et al.* QSPR for predicting the hydrophile-lipophile balance (EHL) of non-ionic surfactants. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 611, p. 125812, fev. 2021.

YADAV, E. *et al.* Tea tree oil: a promising essential oil. **Journal Of Essential Oil Research**, v. 29, n. 3, p. 201-213, 22 set. 2016.

YAMAMOTO, T.; TAKAHASHI, Y.; TOYODA, N. Dispersion of Nano-materials in Polymer Composite Materials. **Matec Web Of Conferences**, [S.L.], v. 333, p. 11003, 2021.

YANG, Y. *et al.* Feasibility study of water as thinner for polyvinyl chloride plastisol. **Journal Of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 3, p. 49684, 17 ago. 2020.

YAO, L.; SELMI, A.; ESMAEILI, H. A review study on new aspects of biodemulsifiers: production, features and their application in wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 284, p. 131364, dez. 2021.

YASIN, M. *et al.* Extraction of Essential Oil from River Tea Tree (*Melaleuca bracteata* F. Muell.): antioxidant and antimicrobial properties. **Sustainability**, [S.L.], v. 13, n. 9, p. 4827, 25 abr. 2021.

YASIN, M. *et al.* River Tea Tree Oil: composition, antimicrobial and antioxidant activities, and potential applications in agriculture. **Plants**, v. 10, n. 10, p. 2105, 4 out. 2021.

YORDANOVA, D. *et al.* Solute Partitioning in Micelles: combining molecular dynamics simulations, cosmomic, and experiments. **The Journal Of Physical Chemistry B**, v. 121, n. 23, p. 5794-5809, 6 jun. 2017.

YU, C.; ZHANG, J.; WANG, T.. Star anise essential oil : chemical compounds, antifungal and antioxidant activities: a review. **Journal Of Essential Oil Research**, v. 33, n. 1, p. 1-22, 18 nov. 2020.

ZHANG, R. *et al.* Recent advances in polysaccharides stabilized emulsions for encapsulation and delivery of bioactive food ingredients: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 242, p. 116388, ago. 2020.