UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões óleo em
água dispersas em sistema alfa-gel lamelar contendo fécula de
mandioca**

Marina Pereira de Abreu Oliveira

**Ribeirão Preto
2020**

MARINA PEREIRA DE ABREU OLIVEIRA

**Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões óleo em
água dispersas em sistema alfa-gel lamelar contendo fécula de
mandioca**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão
Preto/USP para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração:
Medicamentos e Cosméticos

Orientador(a): Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha-Filho

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 26 / 06 /2020. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP

Ribeirão Preto

2020

LOMBADA

OLIVEIRA, M.P.A.	Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões óleo em água dispersas em sistema alfa-gel lamelar contendo fécula de mandioca	Espaço de 2,5 cm reservado para etiqueta de localização da biblioteca	DOUTORADO FCFRPUSP 2020
---------------------	--	---	---------------------------------------

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Marina Pereira de Abreu

Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões óleo em água dispersas em sistema alfa-gel lamelar contendo fécula de mandioca. Ribeirão Preto, 2020.p.: 105; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências

Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração:

Medicamentos e Cosméticos

Orientador: Rocha-Filho, Pedro Alves da

1. Fécula de mandioca. 2. Nanoemulsões. 3. Biopolímeros.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: OLIVEIRA, Marina Pereira de Abreu

Título: Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões óleo em água dispersas em sistema alfa-gel lamelar contendo fécula de mandioca.

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão
Preto/USP para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho a todas às mulheres na ciência que vieram e que virão:

Que nossas vozes reverberem e alcancem outras até que alcancemos
igualdade de direitos.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos aqueles que, de alguma forma – e muitas vezes sem a compreensão do tamanho de sua importância, me ajudaram a caminhar durante esses quatro anos.

Aos meus pais e irmãos que sempre foram segurança e certeza em meio às tempestades da vida.

À minha família que me apoiou de inúmeras formas, em especial à minha querida tia Marlúcia que sempre investiu e acreditou em mim.

Aos amigos que me deram apoio, mesmo em meio a tantas faltas.

À Caio César, meu amor e companheiro, que foi acolhimento e aconchego durante tantos momentos difíceis.

Aos queridos colegas de laboratório, pelas trocas de ideias e experiência, pelas tardes, pelos cafés, pela amizade e carinho. Em especial às queridas Luciana Agostinho e Mariane Vergílio, cientistas, mulheres e amigas que carrego no peito.

Aos alunos de iniciação científica, Mariana Ferrer, Antônio Domenico, Leticia Sakai e Mateus Attademo com quem pude continuar a experienciar, de um outro ângulo, a arte da docência.

Aos técnicos administrativos que tanto me auxiliaram durante todo esse processo, em especial a Eduardo Bortolin – que contribui mais diretamente conosco, por toda a troca de experiências e cuidado.

Aos professores com quem tive o prazer de estudar, que contribuíram de forma fundamental à minha compreensão dos temas, me auxiliaram com as dúvidas, cederam seus laboratórios e principalmente, me fizeram vislumbrar novas formas de ser professor e experienciar a docência e a pesquisa. Em especial à Professora Dra. Lia Queiroz do Amaral que não apenas me ajudou a compreender os fenômenos físicos relacionados ao trabalho em si, mas principalmente, me foi um exemplo de cientista e mulher que me inspira a ser melhor, a me dedicar e a acreditar que a luta vale a pena.

Ao professor Dr. Pedro Alves da Rocha-filho, meu orientador. Sem o qual nada disso teria sido possível. Serei sempre grata pela oportunidade de formação profissional, de crescimento intelectual, mas principalmente pessoal, que vivi nos últimos anos.

Por fim, gostaria de agradecer ao Programa de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo por me permitir desenvolver essa pesquisa e essa etapa de minha formação e ao CNPq e à Capes pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“não fosse isso e era menos, não fosse tanto e era quase”

Paulo Leminsky

*“I stand on the sacrifices of a million woman before me thinking
what can I do to make this mountain taller so the women after me
can see farther”*

Legacy – Rupi Kaur

RESUMO

OLIVEIRA, M. P. A. Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões óleo em água dispersas em sistema alfa-gel lamelar contendo fécula de mandioca. 2020. 105f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

O uso de matérias-primas vegetais, como os biopolímeros, em formulações emulsionadas é uma tendência no mercado cosmético. A fécula de mandioca é um biopolímero proveniente das raízes de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) que são naturalmente cultivadas no Brasil. Trata-se de uma matéria-prima biodegradável, não-tóxica, renovável e adequada para o uso cosmético e farmacêutico. Emulgéis são interessantes para formulações tópicas já que apresentam uma mistura das propriedades de emulsões e géis constituindo um sistema de liberação modificado que pode vir a promover um aumento de permeação de ativos através da pele além de um aumento de retenção hídrica. O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver nanoemulsões usando fécula de mandioca como biopolímero vegetal associado ao óleo de gergelim que apresenta atividade antioxidante e cicatrizante relatada em literatura. As nanoemulsões foram preparadas pelo sistema de inversão de fases (EPI) utilizando dois métodos distintos de geleificação da fécula. Diferentes pares tensoativos e valores de EHL foram estudados a fim de se avaliar qual o mais apropriado para o sistema. As formulações foram submetidas a análises de estabilidade, microscopia de luz polarizada, tamanho de partícula, difração de raios-x, calorimetria diferencial de varredura, avaliação de perfil reológico e sensorial. Foi escolhida uma formulação nanoemulsionada dispersa numa estrutura α -gel de fase lamelar, de comportamento tixotrópico com características sensoriais bem aceitas. Sua microestrutura é complexa e apresenta importante potencial de hidratação do estrato córneo e entrega de ativos na pele.

Palavras-chave: Biopolímeros; Fécula de mandioca; gel lamelar.

ABSTRACT

OLIVEIRA, M. P. A. **O/w nanoemulsions dispersed in alpha gel based on tapioca starch: development and characterization**. 2020. 105f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

The use of vegetal products, as biopolymers, in emulsion formulations are a new trend in cosmetic market. Tapioca starch is a biopolymer provided by manioc roots (*Manihot esculenta Crantz*) that are naturally founded in Brazil. It is a biodegradable, non-toxic, renewable product very interesting for cosmetic and pharmaceutical fields. Emulgels are interesting for topic formulations because they present a mix of both emulsion and gel properties that can constitute a release-controlled system, enhancing the permeation of actives through the skin and increasing water retention. The aim of this work was to develop nanoemulsion systems using tapioca starch as a vegetal biopolymer associated with sesame oil, which presents antioxidant and healing properties. The nanoemulsions were prepared by the Emulsion Phase Inversion methodology and Tapioca starch gel was added to the emulsion in two different ways. Also, different pairs of emulsifiers were tested in order to verify the best pair and the suitable HLB values. They were submitted to stability assays, light polarized microscopy, particle size measurement, x-ray diffraction, differential scanning calorimetry, rheological and sensory evaluation. It was found one of them that presents a stable nanoemulsion system dispersed in a lamellar α -gel. The found rheological behavior is thixotropic with well evaluated sensory aspects.

Keywords: Biopolymers; Tapioca starch; lamellar phase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Método A - Emulsificação por inversão de fases.....	40
Figura 2. Método B – Emulsificação por inversão de fases.....	40
Figura 3. Hélices. Da esquerda para a direita: hélice centrífuga dissolutora, hélice de quatro palas, hélice tipo turbina e hélice de três palas.....	41
Figura 4. Imagens de microscopia sem e com luz polarizada sob o aumento de 200x do gel de fécula de mandioca: a) com água; b) com Oleato de sorbitana (span 80®); c) PEG-15 castor oil (Ultramona 150®); d) PEG-30 castor oil (Ultramona 300®); e) PEG-40 castor oil (Ultramona 400®); f) PEG-54 castor oil (Ultramona 540®).....	50
Figura 5. a) F2A EHL 8; b) F3A EHL 8 e c) F4A EHL 8 após submetidas ao teste de centrífuga.....	52
Figura 6. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice dispersora.....	57
Figura 7. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice de 3 palas.....	57
Figura 8. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice 4 palas.....	58
Figura 9. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice turbina.....	58
Figura 10. a) F2A EHL 8; b) F3A EHL 8 e c) F4A EHL 8 após submetidas ao teste de estresse térmico.....	60
Figura 11. pH das formulações a 5°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05).....	64
Figura 12. Condutividade elétrica das formulações a 5°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05).....	64
Figura 13. pH das formulações a 25°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05).....	65

Figura 14. Condutividade elétrica das formulações a 25°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05).....	65
Figura 15. pH das formulações a 45°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05).....	66
Figura 16. Condutividade elétrica das formulações a 45°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05).....	66
Figura 17. a) F2A; b) F2B; c) F4A; d) F4B em aumento de 200x sob microscopia de luz polarizada.....	67
Figura 18. Perfil reológico das formulações desenvolvidas.....	69
Figura 19. Tamanho de partícula por DLS da formulação F2nano.....	71
Figura 20. Tamanho de partícula por DLS da formulação F4nano.....	71
Figura 21(continua). Termogramas das formulações a) F2A, b) F2B, c) F4A e d) F4B desenvolvidas.....	74
Figura 21 (continuação). Termogramas das formulações a) F2A, b) F2B, c) F4A e d) F4B desenvolvidas.....	75
Figura 22. Difrátogramas das formulações a) F2A, b) F2B, c) F4A, d) F4B e e) overlay, desenvolvidas.....	77
Figura 23. Análise de retroespalhamento de 24 horas da formulação F2B.....	80
Figura 24. Gráfico aranha de teste sensorial descritivo quantitativo realizado com painel treinado (n=12).....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Composição das formulações desenvolvidas pelo método A.....	53
Tabela 1.2 Composição das formulações desenvolvidas pelo método B.....	55
Tabela 2. Tamanho de partícula das amostras produzidas com diferentes hélices.....	57
Tabela 3. Valores de pH e condutividade elétrica das formulações feitas em triplicata.....	61
Tabela 4. Dados de pH e condutividade elétrica das formulações durante o ciclo gela-degela.....	62
Tabela 5. Resultados da análise turbidimétrica e de densidade das formulações desenvolvidas antes da adição de fécula.....	68
Tabela 6. Tamanho de partícula e índice de polidispersividade das emulsões produzidas pelo método B anteriormente à adição de fécula de mandioca.....	71
Tabela 7. Valores de temperatura de <i>onset</i> , temperatura de pico e variação de energia para o teste de calorimetria diferencial de varredura.....	73
Tabela 8. Valores de distância e 2 θ encontrados nos difratogramas das formulações estudadas.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
EHL	Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico
EPI	Emulsificação por Inversão de Fases
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Agropecuária
PDI	Índice de Polidispersividade
S-MLS	Espalhamento Múltiplo de Luz
SAXD	Difração de raios-x de Baixo Ângulo
WAXD	Difração de raios-x de Alto Ângulo
XRD	Difração de raios-x

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1. Emulsões.....	23
2.2. Emulgéis.....	25
2.3. Polímeros.....	25
2.4. Fécula de mandioca.....	26
2.5. Fase lamelar: Cristais líquidos e Géis.....	28
2.6. Óleo de gergelim.....	30
3. OBJETIVOS.....	32
3.1. Gerais.....	32
3.2. Específicos.....	32
4. MATERIAIS, MÉTODOS E CASUÍSTICA.....	34
4.1. MATERIAL.....	34
4.2. MÉTODOS.....	38
4.2.1. Estudo da geleificação da fécula de mandioca.....	38
4.2.2. Estudo do EHL requerido para a formulação.....	38
4.2.3. Influência da ordem de adição das matérias-primas no preparo das emulsões desenvolvidas.....	38
4.2.4. Estudo da influência das hélices na produção das emulsões desenvolvidas.....	40
4.2.5. Avaliação da estabilidade das formulações.....	40
4.2.5.1. Avaliação macroscópica.....	40
4.2.5.2. Centrifugação.....	40
4.2.5.3. Estresse térmico.....	41
4.2.5.4. Estabilidade Preliminar (Ciclo gela e degela).....	41
4.2.5.5. Estabilidade acelerada.....	41
4.2.6. Caracterização físico-química das formulações.....	41
4.2.6.1. Análise microscópica das formulações.....	41

4.2.6.2.	Determinação do valor de pH.....	42
4.2.6.3.	Determinação da condutividade elétrica.....	42
4.2.6.4.	Avaliação da turbidez das nanoemulsões formadas.....	42
4.2.6.5.	Avaliação da densidade das nanoemulsões formadas.....	42
4.2.6.6.	Determinação da viscosidade e comportamento reológico.....	42
4.2.6.7.	Determinação do tamanho de partícula por Espalhamento de Luz Dinâmico – DLS (Dynamic Light Scattering).....	43
4.2.6.8.	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC - <i>Differential Scanning Calorimetry</i>).....	43
4.2.6.9.	Difração de raios-X (DRX).....	43
4.2.6.10.	Análise da estabilidade por espalhamento múltiplo de Luz – S-MLS (Static Multiple Light Scattering).....	44
4.2.7.	Análise estatística.....	44
4.3.	CASUÍSTICA.....	45
4.3.1.	Avaliação do perfil sensorial das formulações desenvolvidas.....	45
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5.1.	Estudo da geleificação da fécula de mandioca.....	47
5.2.	Estudo do EHL requerido para a formulação.....	48
5.3.	Influência da ordem de adição das matérias-primas no preparo das emulsões desenvolvidas.....	53
5.4.	Estudo da influência das hélices na produção das emulsões desenvolvidas.....	54
5.5.	Avaliação da estabilidade das formulações.....	58
5.5.1.	Avaliação macroscópica, centrifugação e estresse térmico.....	58

5.5.2. Determinação de pH e condutividade elétrica.....	59
5.5.3. Estabilidade Preliminar (Ciclo gela e degela).....	60
5.5.4. Estabilidade Acelerada.....	61
5.6. Caracterização físico-química das formulações.....	65
5.6.1. Análise microscópica das formulações.....	65
5.6.2. Avaliação da turbidez e densidade das nanoemulsões formadas.....	67
5.6.3. Avaliação do comportamento reológico.....	67
5.7. Determinação do tamanho de partícula por Espalhamento de Luz Dinâmico – DLS (Dynamic Light Scattering).....	69
5.8. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC - <i>Differential Scanning Calorimetry</i>).....	71
5.9. Difração de raios-X.....	74
5.10. Análise da estabilidade por espalhamento múltiplo de Luz – S-MLS (Static Multiple Light Scattering).....	78
5.11. Avaliação do perfil sensorial das formulações desenvolvidas.....	79
6. CONCLUSÕES.....	82
BIBLIOGRAFIA.....	85
ANEXOS.....	100
ANEXO I - FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL (11 PONTOS).....	101
ANEXO II – PROTOCOLO CEP SENSORIAL.....	103
ANEXO III – PROTOCOLO CEP TAPIOCA.....	104

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O uso de matérias-primas vegetais em formulações emulsionadas ainda é uma tendência no mercado cosmético, segundo o relatório para a próxima década sobre o mercado global de produtos de cuidados pessoais orgânicos e naturais da Ecovia Intelligence, 2011. O consumidor de produtos cosméticos vem demonstrando uma crescente preocupação com a segurança daquilo que utiliza, bem como com questões ambientais e sociais envolvidas na cadeia de produção apontando para uma nova relação de consumo (TAMASHIRO et al., 2014).

Devido a essa nova demanda, formular cosméticos com ingredientes alternativos se tornou desafiador gerando uma preocupação com performance das matérias-primas, estabilidade das formulações e aspecto estético dos novos produtos desenvolvidos (BOM et al., 2019).

O Brasil é um país que apresenta uma biodiversidade capaz de oferecer múltiplas matérias-primas naturais com variadas atividades biológicas, apresentando excelente potencial para o uso nas indústrias farmacêutica e cosmética (SANTOS et al, 2011). Nesse contexto, pode ser observada a utilização de polímeros naturais obtidos a partir da extração de polissacarídeos provenientes de tubérculos e raízes, como a tapioca, por exemplo, além de óleos vegetais ricos em vitaminas, polifenóis e ácidos graxos capazes de exercer atividades biológicas interessantes aos mercados citados (SANTOS et al, 2011; RIVERA-CORONA et al, 2014).

Diversos produtos cosméticos, alimentícios e farmacêuticos apresentam uma fase lipídica dispersa em água na forma de emulsões óleo em água, sendo essa fase oleosa por vezes constituída de óleos vegetais (EL-GUENDOUZ et al., 2018). O óleo de gergelim, por exemplo, é um óleo vegetal rico em tocoferóis e polifenóis com atividade cicatrizante descrita em literatura que tem um potencial uso em cosméticos de aplicação tópica (MUJTABA et al., 2020).

Emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis onde dois líquidos imiscíveis são dispersos um no outro e estabilizados por tensoativos que são substâncias anfífilas. Os sistemas emulsionados representam importante papel

dentro das formulações cosméticas disponíveis no mercado, especialmente aquelas que apresentam sistemas nanoestruturados, cristais líquidos ou emulsões múltiplas (MCCLEMENTS, 2007; ANDRADE, 2008; MCCLEMENTS; LI, 2010).

Emulgéis são sistemas nos quais uma emulsão ou nanoemulsão previamente formulada é geleificada por polímeros gerando uma matriz tridimensional na qual estarão dispersos os glóbulos da fase oleosa da emulsão. Este sistema apresenta características de ambas formas e pode ser uma alternativa para estabilização de sistemas emulsionados, além de ter o potencial de melhorar características sensoriais e funcionar como um sistema de entrega de ativos (FARJAMI; MADADLOU, 2019; TORRES; MURRAY; SARKAR, 2016).

Tendo em vista a crescente utilização de produtos naturais em formulações farmacêuticas e cosméticas, a biodiversidade brasileira representa uma importante fonte de ativos a serem utilizados no desenvolvimento de produtos. Desta forma, o uso da fécula de mandioca como biopolímero na produção de emulgéis se caracteriza como alternativa sustentável, biocompatível e segura para o desenvolvimento de formulações para aplicação tópica. No entanto, se faz necessário avaliar criteriosamente a estrutura e demais características físico-químicas dos produtos formados para ser capaz de determinar quais as melhores metodologias de obtenção e quais formulações seriam mais adequadas a desempenhar a entrega de ativos através da pele.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Emulsões

Grande parte dos produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentícios se apresentam sob a forma de coloides, sendo as emulsões as formas mais frequentemente utilizadas (AGAMA-ACEVEDO & BELLO-PEREZ, 2017). Emulsões são sistemas heterogêneos onde um líquido é disperso em outro no qual é imiscível. Esses dois líquidos imiscíveis são estabilizados por um agente emulsificante que reduz a tensão interfacial entre as fases dispersa e dispersante mantendo o sistema temporariamente estabilizado (MCCLEMENTS, 2007). São termodinamicamente instáveis, muito embora sejam estáveis cineticamente. A natureza de uma emulsão depende da natureza das fases dispersa/descontínua e dispersante/contínua, além do agente emulsificante (DRELICH et al, 2010; ANSEL, POPOVICH & ALLEN JR., 2013). Sendo as emulsões óleo em água particularmente utilizadas nas indústrias farmacêuticas e cosméticas (MCCLEMENTS; LI, 2010). São formas farmacêuticas amplamente utilizadas para a veiculação de ativos em medicamentos e produtos cosméticos, sobretudo para o cuidado da pele onde destacam-se as emulsões contendo cristais líquidos, emulsões múltiplas e nanoemulsões (ANDRADE, 2008).

Emulsões se constituem como importante forma farmacêutica para a veiculação de substâncias ativas devido às diferenças de polaridade entre suas fases dispersante e dispersa. Geralmente tem tamanho de partícula compreendido entre 500 nm e 100 μ m, sendo também chamadas macroemulsões, e devido a esse tamanho são usualmente opticamente turvas ou opacas, pois seus glóbulos dispersam a luz em comprimento de onda semelhante à luz visível. Por outro lado, as nanoemulsões são emulsões que apresentam glóbulos cujo tamanho é compreendido em escala nanométrica. A faixa de tamanho na qual as nanoemulsões estão compreendidas é objeto de discussão, entretanto, embora não haja consenso, os autores geralmente as situam entre 50 e 200 nm. Mesmo estando em escala nanométrica, as nanoemulsões são apenas cineticamente estáveis diferentemente das

microemulsões que são termodinamicamente estáveis e transparentes ou translúcidas (MCCLEMENTS, 2010; TADROS et al., 2004).

Muito embora haja uma ampla utilização de emulsões nas indústrias farmacêutica e cosmética, outros sistemas coloidais também podem ser utilizados como micelas, dispersões de nanopartículas lipídicas e de cristais líquidos, que podem atuar como sistemas de liberação de fármacos, por exemplo. Estes colóides apresentam, geralmente, partículas em escala nanométrica e seus tamanhos reduzidos podem torná-las capazes de otimizar o carregamento de drogas, aumentar estabilidade em prateleira e obter um produto de baixa toxicidade ao uso. Dentro deste contexto, a utilização de nanoemulsões se constitui como alternativa interessante por apresentar vantagens como sua capacidade de encapsulação de substâncias ativas que geralmente se mostra superior quando comparadas aquelas de partículas sólidas lipídicas em concentrações semelhantes, por exemplo (MULLER-GOYMANN, 2004).

Apesar de emulsões serem um sistema instável, quando nos referimos à sua estabilidade, estamos nos referindo à sua capacidade de conservar suas propriedades físico-químicas durante certo período de tempo sob condições de armazenamento específicas (MCCLEMENTS, 2007). São vários os mecanismos pelos quais uma emulsão pode se tornar instável, como a separação gravitacional (cremeação e sedimentação), coalescência, floculação, inversão de fases e Ostwald ripening, principalmente em se tratando de nanoemulsões (MCCLEMENTS, 2007; MCCLEMENTS; LI, 2010).

A cremeação e a sedimentação são processos de instabilidade baseados na separação gravitacional onde a diferença de densidade fará com que fases do sistema de menor densidade cremeiem, ou seja, subam para a superfície ou sedimentem caso a sua densidade seja superior à do restante da formulação. A floculação é um processo em que há uma atração entre os glóbulos que passam a formar agregados, porém mantendo sua forma original. Já na coalescência essa atração também existe, no entanto, os glóbulos se fundem para formar glóbulos maiores. Ostwald ripening é um processo no qual glóbulos de uma nanoemulsão, geralmente, cresce às expensas de outros menores gerando populações heterogêneas (MCCLEMENTS, 2007).

Apesar de serem sistemas instáveis, a estabilidade de emulsões pode ser melhorada se a fase dispersa for confinada num sistema tridimensional reticulado. A estrutura de um hidrogel, por exemplo, pode prevenir processos de instabilidade como floculação e coalescência (FARJAMI; MADADLOU, 2019).

2.2. Emulgéis

Emulgéis são emulsões estabilizadas por agentes geleificantes e por isso possuem propriedades de ambas as formas farmacêuticas – emulsões e géis. Nesse sistema, glóbulos de emulsões previamente formadas são distribuídos pela matriz que é então geleificada (TORRES; MURRAY; SARKAR, 2016). Eles podem ser usados como sistemas de liberação modificada, aumentando a permeação de ativos através da pele e aumentando a retenção hídrica. São extremamente interessantes para aplicações farmacêuticas e cosméticas já que as partículas dispersas na emulsão e a rede polimérica do gel irão promover uma liberação modificada de ativos através da pele, além de promover características sensoriais interessantes, o que pode vir a aumentar a aceitação do produto por parte do consumidor e/ou paciente (LUPI, F.R, et al, 2015; AJAZUDDIN, et al, 2013; SARISOZEN, C. et al, 2012; JAIN, A. et al, 2011; PANWAR, A.S. et al, 2011).

Diversos tipos de polímeros, sintéticos e naturais, podem ser utilizados para estabilizar as matrizes de emulsões e nanoemulsões (SRIVASTAVA et al., 2018) Carbopol, gelatinas, quitosana e amidos são exemplos de polímeros comumente utilizados na produção de emulgéis (LEI et al., 2015; SHAKEEL et al., 2019; WANG et al., 2017).

2.3. Polímeros

Polímeros são amplamente utilizados em produtos cosméticos como modificadores de reologia e espessantes, mas também como estabilizantes de emulsão. Eles podem ser naturais, semissintéticos ou sintéticos. Os polímeros sintéticos são mais amplamente utilizados, como os carbômeros e os silicones, devido às características organolépticas e de aumento de estabilidade que eles conferem às formulações. No entanto, como derivados de petróleo, novas alternativas mais sustentáveis têm sido investigadas. Apesar de muitas vezes

não apresentarem desempenho equivalente aos polímeros sintéticos, os polímeros naturais, ou biopolímeros, são alternativas mais sustentáveis, não tóxicas e muitas vezes, menos onerosas em comparação aos sintéticos (PATTANASHETTI; HEGGANNAVAR; KARIDURAGANAVAR, 2017).

Em relação à sustentabilidade, o setor cosmético tem se visto forçado a procurar alternativas para substituir matérias-primas não apenas por conta de uma maior demanda dos consumidores, mas também em busca de materiais que tem tido sua produção diminuída, como os derivados de petróleo. Neste sentido, novos materiais têm surgido principalmente a partir do avanço da química verde e do cultivo agrícola (BOM, S. et al, 2019).

A estrutura química e composição dos biopolímeros são similares às das macromoléculas presentes na matriz extracelular, devido a essa razão, a utilização dos mesmos pode apresentar um maior potencial de biocompatibilidade que os polímeros sintéticos. Celulose, amidos e quitosana são exemplos que tem sido bastante utilizados pelas indústrias farmacêutica, cosmética e de embalagens. Dentre eles o amido em potencial configura uma importante alternativa devido a sua capacidade formadora de filme, biocompatibilidade, ampla disponibilidade e baixo custo (JIANG et al., 2016; PATTANASHETTI; HEGGANNAVAR; KARIDURAGANAVAR, 2017; SADEGH-HASSANI; MOHAMMADI NAFCHI, 2014; THEN; IBRAHIM; YUNUS, 2011)

2.4. Fécula de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta originária do Brasil, na região amazônica, pertencente à família *Euphorbiaceae*, que possui raízes com alto teor de fécula. Também conhecida como macaxeira ou aipim, é uma espécie vegetal cultivada na América Tropical há muitos anos e constitui importante fonte alimentícia em todo o território nacional. Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) o Brasil em 2018 produziu 17.644.733 toneladas de mandioca tendo como principal produtor o estado do Pará com 22% da produção. Segundo a mesma organização, a Nigéria é o maior produtor mundial da raiz enquanto o Brasil oscila entre o segundo e o quarto lugar juntamente com a Tailândia e a Indonésia (IBGE, 2013; IBGE, 2015; IBGE,

2016). Na África, praticamente toda a produção de mandioca é voltada para o consumo humano, enquanto nos países asiáticos, que possuem um extenso parque industrial, a produção é voltada em grande parte para a fabricação e exportação de fécula, tendo como maiores consumidores países da União Europeia e a China. No Brasil, as regiões Norte e Nordeste são as principais responsáveis pela produção de mandioca muito embora haja cultivo em todos os estados brasileiros, fator que a diferencia de outras culturas como a do café, algodão e trigo que são restritas a determinadas regiões. No entanto, a região sudeste é a principal responsável pelo processamento industrial e pelas pesquisas relacionadas à essa raiz (SEAB, 2015).

A produção de fécula no país ocorre principalmente no estado do Paraná, seguido pelo Mato Grosso do Sul e São Paulo. O mercado nacional consome praticamente toda a produção de fécula do país, exportando somente cerca de menos de 2% do volume produzido. Dentro do mercado internacional da fécula de mandioca a Tailândia é o principal exportador atingindo cerca de 85% das transações mundiais (SEAB, 2015).

A fécula extraída da raiz de mandioca apresenta fácil extração, cor clara, sem odor, exige baixas temperaturas de gelatinização características estas que tornam este produto potencialmente interessante para diversas indústrias como a alimentícia, farmacêutica e cosmética. É uma matéria-prima biodegradável, renovável e atóxica que possui importante papel industrial como agente espessante, geleificante, estabilizador de colóide, entre outros (VAN DER BURGT et al, 2000; SINGH et al, 2003). A fécula de mandioca possui pequenas quantidades de lipídeos e proteínas, devido a isto, não apresenta odor e sabor característicos de cereais o que o torna ainda mais interessante para uso industrial (DEMIATE et al, 2005). Além de, poder contribuir para a formação de cristais líquidos em sistemas emulsionados. Os grânulos de fécula, por exemplo, apresentam birrefringência quando observados ao microscópio de luz polarizada. Esta característica pode ser observada devido às estruturas helicoidais duplas da amilopectina que formam a parte cristalina do grânulo. Em água fria, a fécula é insolúvel, no entanto, com aumento de temperatura e quando adicionado à um sistema com excesso de água, há um intumescimento

decorrente das interações entre a água e os grupamentos hidroxila da amilose e amilopectina presentes na estrutura da fécula, conferindo ao sistema um aspecto gelatinoso e de viscosidade elevada (HOOVER, 2001). Durante este processo, devido às significativas mudanças na estrutura original do grânulo, parte da birrefringência do sistema pode ser perdida. A temperatura durante o processo de geleificação varia de acordo com a espécie botânica do qual é proveniente, contudo, geralmente temperaturas acima de 60°C com variações de 1 a 1,5°C são capazes de promover a perda da birrefringência (RIBEIRO, 2011).

2.5. Fase lamelar: Cristais líquidos e Géis

O estado líquido-cristalino da matéria reúne, como o próprio nome sugere, propriedades de sistemas líquidos, como as propriedades de fluxo, e de sólidos apresentando uma estrutura cristalina ordenada, ao mesmo tempo. Por serem um estado intermediário são também chamados de mesofases. Tais estruturas são caracterizadas por domínios de nanoestruturas hidrofílicas e hidrofóbicas separadas por uma bicamada lipídica. Elas podem apresentar diferentes arranjos como lamelar, hexagonal, cúbica bicontínua, entre outras. Para serem considerados cristais líquidos, as estruturas devem apresentar fases líquido cristalinas num formato molecular anisométrico e geralmente apresentam anisotropia quando observados através de luz polarizada. Arranjos cúbicos são uma exceção a essa observação. Tais moléculas que podem formar mesofases são chamadas mesógenos (MULLER-GOYMANN, 2004; ZABARA & MEZZENGA, 2014).

Em sua porção cristalina a mesofase pode ser alcançada por variação de temperatura, fases termotrópicas, ou por concentração do solvente, fases liotrópicas. Cristais líquidos liotrópicos surgem a partir de mesógenos que não são propriamente as moléculas finais, mas seus hidratos ou solvatos que irão por sua vez influenciar no formato final que pode ter diversas formas como cônicas, cilíndricas, etc. Cilindros geralmente se arranjam em camadas, resultando numa fase lamelar com regiões polares e apolares alternadas. Dessa forma, moléculas presentes na formulação se depositam de acordo com sua afinidade. A deposição de moléculas nas fases polar e apolar, a depender de seu tamanho, podem levar a alterações no formato da estrutura de cilíndrica para

cônica, por exemplo. Resultando, por sua vez, numa mudança de fase dos cristais líquidos que passaria de lamelar para hexagonal, nesse caso (MULLER-GOYMANN, 2004).

Alguns fármacos são capazes de formar mesofases seja a partir da adição de solventes ou através de mudança de temperatura. Fases líquido-cristalinas termotrópicas ou liotrópicas são capazes de interagir tanto com veículos mesomórficos como com estruturas líquido-cristalinas presentes no organismo humano (MULLER-GOYMANN, 2004). São exemplos de fármacos capazes de se arranjar em fases líquido-cristalinas o ibuprofeno (lamelar) (WESTESEN et al, 2001), a arsfenamina (nemática) e o cloridrato de nafoxidina (hexagonal) (MLODOZENIEC, 1978).

Assim como fármacos anfifílicos são capazes de formar mesofases liotrópicas, também o são os excipientes anfifílicos utilizados no desenvolvimento de medicamentos e cosméticos, como os tensoativos utilizados na formação de sistemas emulsionados, por exemplo, conferindo a estes uma microestrutura líquido-cristalina (MULLER-GOYMANN, 2004).

Sistemas emulsionados líquido-cristalinos são facilmente deformados pela tensão de cisalhamento e apresentam, geralmente, comportamento reológico plástico ou tixotrópico. É preferível a formação de estruturas lamelares que serão capazes de solubilizar uma grande gama de outros excipientes e compostos que se distribuirão de forma uniforme pela formulação formando uma matriz reticulada. Apesar de a fase α dos ácidos graxos ser inicialmente deformada a partir do aquecimento durante o processo de manufatura das emulsões, ela geralmente se transforma em fase cristalina à medida que é resfriada a temperatura ambiente. Entretanto, a cristalização da matriz do gel pode ser evitada se a fase α for mantida estável durante o processo de resfriamento. Isso pode ser obtido através da interação entre certos emulsionantes e ácidos graxos, formando uma estrutura lamelar à temperatura ambiente (MULLER-GOYMANN, 2004).

A fase lamelar líquido cristalina é, provavelmente, a fase mais bem investigada e compreendida. Elas podem ser formadas por diversos tipos de tensoativos em que os mais comumente encontrados são a combinação de

tensoativos aniônicos e não iônicos como a combinação entre cetyl/stearyl sulfate (*Lanette E*) e cetyl/stearyl alcohol (*Lanette O*). No entanto, estruturas análogas podem também ser formadas por tensoativos não iônicos como o uso de álcoois de ácidos graxos etoxilados. Novas possibilidades para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos a partir de formulações arranjadas em sistemas líquido-cristalinos liotrópicos são interessantes devido à sua estabilidade e especialmente à sua estrutura similar à de membranas biológicas (MULLER-GOYMANN, 2004; LI et al, 2013; ZABARA & MEZZENGA, 2014).

2.6. Óleo de Gergelim

O óleo de gergelim é um óleo vegetal comestível extraído de sementes de gergelim (*Sesamum indicum L.*) que apresenta constituintes como ácidos graxos, lignanas e tocoferóis, com atividade biológica. As lignanas (sesamolina, sesamol e sesamina) são compostos polifenólicos, normalmente presentes no óleo, que possuem inúmeras atividades biológicas descritas na literatura, como antitumoral (HIROSE, et al., 1992), atividades estrogênica ou antiestrogênica, antibacteriana (SHITTU, et al., 2006), antioxidante (KUMAR, SINGH, 2015) e cicatrizante (SHENOY et al, 2011).

A composição dos óleos de gergelim varia de acordo com a região em que as sementes foram cultivadas, mas de forma geral, são constituídos de cerca de 80% de óleos insaturados (oleico e linoleico) e 20% de óleos saturados (esteárico e palmítico). Apresentam também alta resistência à oxidação lipídica devido à presença de tocoferóis e polifenóis (MUJTABA et al., 2020).

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- ❖ Desenvolver e avaliar nanoemulsões utilizando fécula de mandioca como biopolímero e óleo de gergelim (*Sesamum indicum* L.) como fase oleosa para aplicação tópica.

3.2. Específicos

- ❖ Desenvolver formulações nanoemulsionadas usando gel de fécula de mandioca, como biopolímero e óleo de gergelim como fase oleosa;
- ❖ Avaliação da estabilidade das formulações desenvolvidas;
- ❖ Caracterização das formulações desenvolvidas;
- ❖ Avaliação sensorial das formulações desenvolvidas.

MATERIAIS, MÉTODOS E CASUÍSTICA

4. MATERIAIS, MÉTODOS E CASUÍSTICA

4.1. MATERIAIS

Espessante Hidrofílico: Fécula de Mandioca

Fonte: Da terrinha comércio de alimentos Ltda. São Paulo, Brasil.

INCI: *Tapioca starch*

Características: Pó claro, insípido, insolúvel em água fria.

Óleo de Gergelim

INCI: *Sesamum Indicum (Sesame) Seed Oil*

Características: Líquido levemente amarelado, odor suave característico, solúvel em éster isopropílico e óleo mineral, levemente solúvel em álcool e insolúvel em água.

Fonte: Mapric produtos farmocosméticos Ltda.

Fonte: La Tourangelle Inc.

Tensoativos

Tensoativo lipofílico

Monooleato de Sorbitano.

INCI: *Sorbitan monooleate*

Nome Comercial: Span® 80

Marca: CRODA

Monoéster do ácido oleico e hexitol anidro derivado de sorbitol.

Massa molar (g/mol) = 428,61

Valor de EHL= 4,3

Tensoativos hidrofílicos

Óleo de Rícino Etoxilado 15 OE

INCI: *PEG-15 castor oil*

Nome Comercial: Ultramona® 150

Marca: Oxiteno

Valor de EHL = 8,3

Óleo de Rícino Etoxilado 30 OE

INCI: *PEG-30 castor oil*

Nome Comercial: Ultramona® 300

Marca: Oxiteno

Valor de EHL = 11,7

Óleo de Rícino Etoxilado 40 OE

INCI: *PEG-40 castor oil*

Nome Comercial: Ultramona® 400

Marca: Oxiteno

Valor de EHL = 13

Óleo de Rícino Etoxilado 54 OE

INCI: *PEG-54 castor oil*

Nome Comercial: Ultramona® 540

Marca: Oxiteno

Valor de EHL = 14,4

Sistema Conservante

Nome Comercial: Phenova®

INCI: *Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben*

Características: Agente conservante de amplo espectro de ação, líquido, apresenta baixo potencial de irritação. Indicado para produtos com aplicação tópica. Sua concentração usual varia entre 0,25% a 1,00%.

Água

Água purificada pelo processo de osmose reversa, recém obtida (Equipamento de osmose reversa- OS 10LX, GEHAKA).

Equipamentos

Preparo das emulsões

Agitador mecânico	IKA RW 20
Hélices	Dissolutora, turbina, 3 palas, 4 palas
Purificador de água	Osmose reversa- OS 10LX, GEHAKA

Caracterização físico química / estabilidade

Centrifuga	Fanem Excelsa Baby II, modelo 206-R
Reagômetro	GEHAKA PG1800
Condutivímetro	Digimed DM-32
Densímetro	Anton Paar - DM 4500
Banho termostatzado	NOVA TÉCNICA®, modelo 281 NT
Estufas	Fanem Ltda, modelo 002-CB

Refrigerador	Electrolux, modelo RDE-37
Microscópio de luz polarizada	Olympus BX50, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan
DLS	Nanosizer (Malvern Nano-S90, Malvern Instruments, Worcestershire, UK)
DSC	Perkin Elmer, modelo Jade DSC, fluxo N2: 3 kgf/cm ² , software Pyris
Difratômetro de raios-x	Bruker - AXS®, modelo D2 PHASER
Reômetro	Brookfield R/S Plus
Turbidímetro de bancada	TB – 2000 da MS TecnoPON Instrumentação, Piracicaba/SP, Brasil
S-MLS	Turbiscan®

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Estudo da geleificação da fécula de mandioca

A geleificação da fécula de mandioca foi realizada em fase aquosa acrescida do componente a ser testado, respeitando as mesmas proporções e condições a serem empregadas na formulação. Foram avaliadas a temperatura em que esta solução adquiriu aspecto gelatinoso bem como a presença de áreas de anisotropia através do emprego de microscopia de luz polarizada (Olympus BX50, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan).

4.2.2. Estudo do EHL requerido para a formulação

Foi realizado um estudo inicial utilizando quatro diferentes pares tensoativos com diferentes proporções que foram posteriormente submetidas à avaliação macroscópica e centrifugação a 3.000 rpm durante 30 minutos, após 24 horas de preparo.

4.2.3. Influência da ordem de adição das matérias-primas no preparo das emulsões desenvolvidas

Método A: Fase aquosa e fase oleosa foram pesadas separadamente e levadas ao aquecimento até a temperatura de $65\pm 2^{\circ}\text{C}$. Durante o processo de aquecimento a fase aquosa foi agitada continuamente até a geleificação da fécula. Após ambas as fases atingirem a temperatura desejada, a fase aquosa foi então vertida lentamente sobre a fase oleosa sob agitação a 600 rpm. O sistema então permaneceu sob agitação até que a temperatura ambiente tenha sido atingida ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Figura 1. Método A - Emulsificação por inversão de fases

Fonte: Imagem desenvolvida pela autora

Método B: Fase aquosa e fase oleosa foram pesadas separadamente, no entanto, a fécula de mandioca foi pesada à parte. As fases aquosa e oleosa foram levadas ao aquecimento até a temperatura de $75\pm 2^{\circ}\text{C}$. Após ambas atingirem a temperatura desejada, a fase aquosa foi então vertida lentamente sobre a fase oleosa sob agitação a 600 rpm. A fécula de mandioca foi adicionada à emulsão previamente formada sob aquecimento e mesma agitação quando a temperatura atingiu cerca de $65\pm 2^{\circ}\text{C}$ até que o ponto de geleificação tenha sido atingido. O sistema então permaneceu sob agitação até que a temperatura ambiente tenha sido atingida ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Figura 2. Método B – Emulsificação por inversão de fases

Fonte: Imagem desenvolvida pela autora

4.2.4. Estudo da influência das hélices na produção das emulsões desenvolvidas

As emulsões foram preparadas pelo método avaliado como mais adequado pelo passo anterior (Metodologia B), utilizando quatro hélices de formatos diferentes (Turbina, 4 palas, 3 palas e denteada). A agitação das amostras foi mantida a 600 rpm até que a temperatura ambiente foi atingida ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$). As amostras foram avaliadas macroscopicamente e em relação ao seu tamanho de partícula e comportamento reológico após 24 horas de preparo. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Figura 3. Da esquerda para a direita: hélice centrífuga dissolutora, hélice de quatro palas, hélice tipo turbina e hélice de três palas.

Fonte: Fotografia produzida pela autora

4.2.5. Avaliação da estabilidade das formulações

As formulações desenvolvidas foram submetidas à avaliação macroscópica e centrifugação. Posteriormente, as formulações selecionadas por tais testes foram submetidas, após 24 horas de preparo, aos testes de estresse térmico, determinação do valor de pH, condutividade elétrica e reologia. Todos os testes foram realizados em triplicata.

4.2.5.1. Avaliação macroscópica

Sinais de instabilidade macroscópica, como separação de fases, nas formulações foram avaliados, selecionando para os testes de estabilidade subsequentes apenas aquelas amostras que não os apresentaram.

4.2.5.2. Centrifugação

Foram pesados 5 gramas de cada formulação em tubos de vidro graduados com fundo cônico, próprios para a utilização em centrífuga. As formulações foram submetidas à velocidade de 3.000 rpm durante 30 minutos, como preconizado pelo Guia de estabilidade de produtos cosméticos (BRASIL, 2004). As formulações que não apresentaram separação de fases foram selecionadas para seguir com os demais testes de estabilidade.

4.2.5.3. Estresse térmico

As formulações selecionadas pelo teste de centrífuga foram submetidas ao aquecimento, em banho termostático, com temperaturas que variaram entre 40 ± 2 a 80 ± 2 °C, com elevação de 5 em 5°C, permanecendo durante 30 minutos em cada valor de temperatura (BRACONI et al., 1995). Durante a realização do teste e ao final dele, as amostras foram avaliadas, em triplicata, quanto ao aspecto macroscópico para a verificação de instabilidade.

4.2.5.4. Estabilidade Preliminar (Ciclo gela e degela)

O teste consistiu em submeter amostras das formulações às seguintes condições: 24 horas em aquecimento em estufa a 45 ± 2 °C, seguidos por 24 horas em geladeira a 5 ± 2 °C, completando, desta forma, um ciclo. A duração do teste foi de 6 ciclos (12 dias), avaliando-se pH e condutividade elétrica das amostras no primeiro dia do teste (24 horas após o preparo da formulação) e ao final do último ciclo (12° dia do teste). As análises de pH e condutividade elétrica foram realizadas em triplicata (BRASIL, 2004).

4.2.5.5. Estabilidade acelerada

O teste consistiu em submeter amostras das formulações ao aquecimento em estufas a 45 ± 2 °C, amostras a resfriamento em refrigerador a 5 ± 2 °C e amostras a temperatura ambiente não controlada, avaliando-se pH e condutividade elétrica nos tempos de preparo após 24 h, 7, 15, 30 e 90 dias. Todas as análises foram feitas em triplicata.

4.2.6. Caracterização físico-química das formulações

4.2.6.1. Análise microscópica das formulações

Foram avaliadas a presença de estruturas anisotrópicas nas formulações através do microscópio óptico de luz polarizada (Olympus BX50, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan).

4.2.6.2. Determinação do valor de pH

Para mensuração dos valores de pH das amostras, inseriu-se o eletrodo do peagômetro digital (GEHAKA PG1800), calibrado com soluções tampão padrão (pH 4,0 e 7,0), em diluição da amostra (1:10) à temperatura de $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2004).

4.2.6.3. Determinação da condutividade elétrica

A mensuração da condutividade elétrica das formulações foi realizada à temperatura ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$), introduzindo-se o eletrodo do condutivímetro (Digimed DM-32), previamente calibrado em solução padrão ($146,9\ \mu\text{S}/\text{cm}$), diretamente na amostra a ser analisada (DAVIS, 1997).

4.2.6.4. Avaliação da turbidez das nanoemulsões formadas

A turbidez das nanoemulsões formadas foi avaliada pelo turbidímetro de bancada TB – 2000 da MS Tecnopon Instrumentação (Piracicaba/SP, Brasil) à temperatura ambiente não controlada em triplicata.

4.2.6.5. Avaliação da densidade das nanoemulsões formadas

As densidades absoluta e relativa das nanoemulsões desenvolvidas foram determinadas por densímetro de tubo em U oscilante através da utilização do equipamento Anton Paar - DM 4500 à temperatura ambiente não controlada. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.6.6. Determinação da viscosidade e comportamento reológico

O estudo do comportamento reológico do produto desenvolvido foi realizado por meio do uso do reômetro de Brookfield R/S Plus, placa-placa, utilizando o Spindle P25, gap $3\ \mu\text{m}$, em triplicata, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). As análises foram realizadas utilizando tempo de ida e volta de 60

segundos coletando 2 pontos por segundo, com amostras produzidas no dia anterior à análise. A taxa de cisalhamento variou entre 0,01 a 60 s⁻¹. O software utilizado para as análises dos resultados foi o Brookfield Rheo 2000 Software.

4.2.6.7. Determinação do tamanho de partícula por Espalhamento de Luz Dinâmico – DLS (Dynamic Light Scattering)

O teste foi realizado com amostra diluída em água purificada, através de um sistema de osmose reversa, na proporção 1:1000, em equipamento Nanosizer (Malvern Nano-S90, Malvern Instruments, Worcestershire, UK), em triplicata, à temperatura ambiente não controlada. Tamanho de partícula, por intensidade, e índice de polidispersividade foram observados.

4.2.6.8. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*)

Quatro amostras escolhidas foram submetidas ao teste de calorimetria diferencial de varredura, no qual 10 mg de amostra foram utilizadas, utilizando varredura de 20°C a 300°C a uma taxa de 10°C por minuto. Equipamento de DSC Perkin Elmer, modelo Jade DSC, fluxo N₂: 3 kgf/cm², software Pyris. Este teste foi realizado no laboratório de tecnologia farmacêutica da FCFRP – USP.

4.2.6.9. Difração de raios-X (DRX)

As amostras das formulações foram colocadas em porta-amostras para materiais sólidos e foram submetidas às medidas de raios-x à temperatura ambiente. Foi utilizado o difratômetro de raios x Bruker - AXS®, modelo D2 PHASER, fabricado em janeiro de 2015 com escaneamento Theta/2Theta acoplado. A faixa de varredura 2 θ foi de 5° a 70° ao passo de 0,025° a 0,25 segundos. A amostra foi submetida a rotação à velocidade de 14 rpm. Este equipamento consiste em tubo de raios-X com radiação K α do cobre (λ = 0,15418 Å), sem monocromador, com gerador de 30 KV/ 10 mA, fenda de divergência de 2 mm, anteparo anti-dispersão de ar de 1mm, fenda Soller 2,5° e detector Lynxeye no modo 1 Dimensão. Este teste foi realizado no Departamento de Química da FFCLRP- USP.

As distâncias interplanares foram calculadas por meio da equação de Bragg:

$$n \lambda = 2d \sin \theta$$

onde:

n= ordens de reflexão

λ = comprimento de onda do aparelho

d= distância interplanar

θ = ângulo de reflexão de Bragg

4.2.6.10. Análise da estabilidade por espalhamento múltiplo de Luz – S-MLS (Static Multiple Light Scattering)

Amostras foram analisadas de forma pontual e por um período de 24 horas seguidas de hora em hora em equipamento Turbiscan® ASG (Formulaction, Toulouse, França), Software TurbiSoft-Lab-2.2.0.82-5. A estabilidade cinética do sistema e tamanho de partículas foram observadas. As amostras foram analisadas após 24 horas de preparo. Este teste foi realizado na *École de Biologie industrielle*, Cergy-França.

4.2.7. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e subsequentemente analisados pelo teste de comparações múltiplas de Fisher para os resultados provenientes da análise sensorial e pelo teste de comparações múltiplas de Tukey para os demais resultados (95% de confiança) utilizando o software OriginPro® 8.5 da Origin Lab Corporation.

Foram considerados significativos estatisticamente apenas os resultados que apresentaram valor de $p < 0,05$.

4.3. CASUÍSTICA

4.3.1. Avaliação do perfil sensorial das formulações desenvolvidas

A avaliação do perfil sensorial das emulsões foi realizada através do teste descritivo quantitativo segundo descrito por (STONE, 2012) utilizando panelistas treinados (n=12) durante os meses de maio e junho de 2017.

Foram avaliadas as quatro formulações desenvolvidas em sessões presenciais, duas formulações a cada sessão, devido à disponibilidade de tempo da sessão, previamente estipulada em, no máximo, uma hora.

Os quatro produtos foram disponibilizados, de forma aleatória, aos panelistas em embalagens semelhantes, rotuladas com codificação composta por duas letras e um número (ALMEIDA, GAIO, BAHIA, 2008; VIEIRA, 2015). Todos os panelistas realizaram o mesmo procedimento de higienização dos antebraços anteriormente ao início do teste, utilizando para tal água e sabonete neutro (AUST et al., 1987). Cada panelista recebeu um formulário com escala de onze pontos (Modelo – Anexo I), instrução verbal sobre como utilizá-lo e um kit de padrões para a análise dos atributos (INPI, 2015). Todas as amostras foram avaliadas na quantidade de aproximadamente 0,1 g e, para a mensuração da intensidade dos atributos estudados, foram disponibilizados os padrões de comparação mínima e máxima de cada um deles, pertencentes ao kit acima citado.

A avaliação de cada atributo ocorreu antes, durante e após a aplicação do produto, utilizando os dedos, antebraços e costas das mãos dos voluntários. O vocabulário treinado e suas respectivas definições foram acordadas entre todos os participantes a fim de eliminar o caráter subjetivo das análises, em estudos anteriores desenvolvidos por Vieira, 2015.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da FCFRP nº388, CAAE nº 48420815.1.0000.5403 (Anexo I).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo da geleificação da fécula de mandioca

A fim de determinar as condições do processo de geleificação da fécula de mandioca cada tensoativo e umectante selecionado para a formulação foi testado separadamente quanto à formação do gel. A partir do estudo de geleificação da fécula de mandioca juntamente com cada um dos componentes da formulação separadamente foi possível identificar anisotropia em todas as amostras analisadas. Todas as estruturas observadas sob microscopia (Figura 4) podem ser caracterizadas pelo formato exibido como liotrópicas lamelares (BRINON et al., 1999). Os resultados obtidos sugerem que o gel da fécula de mandioca é o componente essencial para que estas estruturas sejam observadas.

Diferentes compostos podem contribuir para a formação de cristais líquidos em sistemas emulsionados. Os grânulos de fécula apresentam birrefringência quando observados ao microscópio de luz polarizada. Esta característica pode ser observada devido às estruturas helicoidais duplas da amilopectina que formam a parte cristalina do grânulo, dispostas alternadamente com fases amorfas formando estruturas lamelares. Em água fria, a fécula é insolúvel, no entanto, com aumento de temperatura e quando adicionado à um sistema com excesso de água, há um intumescimento decorrente das interações entre a água e os grupamentos hidroxila da amilose (20-30% para fécula de mandioca) e amilopectina (70-80% para fécula de mandioca) presentes na sua estrutura, levando a uma expansão do tamanho do grânulo, conferindo ao sistema um aspecto gelatinoso e de viscosidade elevada (HAO et al, 2018; HOOVER, 2001; WAIGH et al, 2000). O elevado percentual de amilopectina presente na fécula de mandioca permite que seu gel tenha uma maior capacidade de incorporação de água, se comparado com outras féculas, o que o torna um polímero apropriado para a aplicação muco adesiva para liberação modificada de compostos bioativos, por exemplo (KAVEH et al., 2019).

Durante o processo de gelatinização, devido às significativas mudanças na estrutura original do grânulo com a entrada da água, ocorre uma transição

para fase mesomórfica, rompendo neste processo ligações entre as estruturas cristalinas e fase amorfa, então parte da birrefringência original é perdida. A temperatura durante o processo de geleificação varia de acordo com a espécie botânica do qual é proveniente, contudo, geralmente temperaturas acima de 60°C com variações de 1 a 1,5°C são capazes de promover a perda da birrefringência (CARLSTEDT, et al, 2015; RIBEIRO, 2011; WAIGH et al, 2000). A temperatura de geleificação observada foi de 62±2°C condizendo com o relatado em literatura, no entanto, apesar do processo de aquecimento e geleificação que a fécula sofreu, em todos os casos foi possível observar estruturas birrefringentes no sistema, evidenciando a presença de fase cristalina mesmo após aquecimento na temperatura testada.

5.2. Estudo do equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) requerido para a formulação

O EHL ou equilíbrio hidrofílico-lipofílico de um óleo pode ser determinado experimentalmente como descrito por Griffin, 1949. O valor de EHL da mistura de tensoativos mais apropriado para a estabilização de um sistema emulsionado é aquele que mais se aproxima do EHL do óleo utilizado (SAENGSON & JIMTAISON, 2017; PICHOT, SPYROPOULOS, NOTRON, 2009; AVEYARD, BIDS, MEAD, 1986). Para tanto foram testados cinco diferentes valores de EHL para as formulações a fim de encontrar em qual faixa o produto se apresentaria mais estável, seguido por testes de estabilidade preliminar e acelerada.

Com o objetivo de determinar o equilíbrio hidrofílico-lipofílico das formulações foram testados, inicialmente, quatro diferentes pares tensoativos formados pelo tensoativo lipofílico (Oleato de sorbitano) adicionado a um tensoativo hidrofílico (PEG-15; PEG-30; PEG-40; PEG-54 castor oil) sempre resultando em um total de 5% da formulação. As proporções entre eles variaram de forma a atingir cinco diferentes valores de EHL (6, 7, 8, 9 e 10) para se determinar qual aquele requerido para o sistema, resultando em um total de 20 formulações produzidas seguindo o método A e B (Tabela 1.1 e 1.2).

As formulações preparadas foram avaliadas macroscopicamente após 24 horas e nenhuma dentre as vinte formulações apresentaram sinais

macroscópicos de instabilidade, portanto, todas foram submetidas ao teste de centrifugação como preconizado pelo Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA) (Brasil, 2004).

O teste de centrifugação é um teste preliminar que permite prever uma possível instabilidade de emulsões através do emprego de aceleração gravitacional. Segundo a lei de Stokes, quanto maiores forem as partículas dispersas no sistema, maior será a velocidade de sedimentação das mesmas em função da gravidade, portanto o referido teste permite identificar fenômenos de instabilidade de formulações como a coalescência, sedimentação e cremeação, que podem promover uma separação de fases do sistema durante seu tempo de prateleira (SAENGSORN & JIMTAISONG, 2017; JAIN, FERNANDES E PATRAVALE, 2010).

Dentre as dezoito formulações produzidas somente três não apresentaram separação de fases após teste de centrifugação (Figura 5) indicando que os pares tensoativos das mesmas foram os mais adequados para estabilizar o sistema contendo o óleo de gergelim nos valores de EHL estudados. Foram elas: (F2A EHL 8 – Sistema tensoativo: *PEG-30 castor oil/ Sorbitan Oleate*); (F3A EHL 8 – Sistema tensoativo: *PEG-40 castor oil/ Sorbitan Oleate*) e (F4A EHL 8 – Sistema tensoativo: *PEG-54 castor oil/ Sorbitan Oleate*), portanto, foram escolhidas para seguir com os demais testes de estabilidade.

Figura 4: Imagens de microscopia sem e com luz polarizada sob o aumento de 200x do gel de fécula de mandioca: a) com água; b) com Oleato de sorbitana (span 80[®]); c) PEG-15 castor oil (Ultramona 150[®]); d) PEG-30 castor oil (Ultramona 300[®]); e) PEG-40 castor oil (Ultramona 400[®]); f) PEG-54 castor oil (Ultramona 540[®])

c)

d)

e)

f)

Fonte: Imagens obtidas pela autora

As formulações obtidas com os pares de tensoativo *PEG-15 castor oil*/*Sorbitan Oleate* (F1A) apresentaram separação de fases nos valores de EHL testados, bem como as formulações F2A, F3A e F4A em EHL 10, 9 e em EHL 7, portanto, não foram selecionadas para os demais testes. Dentre os tensoativos hidrofílicos testados o *PEG-15 castor oil* é aquele que possui o menor valor de EHL, portanto, menos hidrofílico que os demais por apresentar menor grau de etoxilação. Esta pode ser a razão pela qual os sistemas criados usando tensoativos mais hidrofílicos tenham estabilizado melhor já que se trata de emulsões geleificadas óleo em água.

Além disso, estudos prévios realizados por (MARUNO, 2009) apontam resultados de EHL semelhantes com a utilização do óleo de gergelim como fase oleosa no desenvolvimento de nanoemulsões.

Figura 5. a) F2A EHL 8; b) F3A EHL 8 e c) F4A EHL 8 após submetidas ao teste de centrífuga.

Fonte: Fotografias obtidas pela autora

Tabela 1.1 Composição das formulações desenvolvidas pelo método A

	EHL																			
(%)	6,0				7,0				8,0				9,0				10,0			
Formulações (Metodologia A)	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
<i>Sesamum Indicum (Sesame) Seed Oil</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-	5	5	5	-	5	5	5
<i>PEG-15</i>	2,12	-	-	-	3,38	-	-	-	4,62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>PEG-30</i>	-	1,15	-	-	-	1,82	-	-	-	2,5	-	-	-	3,18	-	-	-	3,6	-	-
<i>PEG-40</i>	-	-	0,98	-	-	-	1,55	-	-	-	2,12	-	-	-	2,7	-	-	-	3,28	-
<i>PEG-54</i>	-	-	-	0,84	-	-	-	1,34	-	-	-	1,84	-	-	-	2,32	-	-	-	2,82
<i>Sorbitan monooleate</i>	2,88	3,85	4,02	4,16	1,62	3,18	3,45	3,66	0,38	2,5	2,88	3,16	-	1,82	2,3	2,68	-	1,4	1,72	2,18
<i>Tapioca starch</i>	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	-	20	20	20	-	20	20	20
<i>Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben,</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5	0,5	0,5	-	0,5	0,5	0,5

<i>Butylparaben, Isobutylparaben</i>																				
Água Purificada (q.s.p.)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-	100	100	100	-	100	100	100

Tabela 1.2. Composição das formulações desenvolvidas pelo método B

(%)	EHL 8	
	F2	F4
Formulações (Metodologia B)		
<i>Sesamum Indicum (Sesame) Seed Oil</i>	5	5
<i>PEG-15 castor oil</i>	-	-
<i>PEG-30 castor oil</i>	2,5	-
<i>PEG-40 castor oil</i>	-	-
<i>PEG-54 castor oil</i>	-	1,84
<i>Sorbitan monooleate</i>	2,5	3,16
<i>Tapioca starch</i>	20	20
<i>Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben</i>	0,5	0,5
<i>Água Purificada (q.s.p.)</i>	100	100

5.3. Influência da ordem de adição das matérias-primas no preparo das emulsões desenvolvidas

A gelatinização da fécula é definida por alguns autores como um processo de desorganização dos grânulos gerado por um tratamento com elevada energia, geralmente temperatura e/ou pressão, que irão influenciar a ordem de desorganização dos mesmos em presença de água (MATIGNON, TECANTE, 2017; KNORR, HEINZ, BUCKOW, 2006). No entanto, não há um consenso a respeito de como esse processo ocorre. Alguns autores o definem como uma desorganização dos grânulos apenas em excesso de água (CONDE-PETIT, 2001) e ainda outros apontam que este processo ocorre em qualquer quantidade de água (WAIGH et al, 2000). Não há consenso também em relação ao final do processo de gelatinização, pois alguns autores afirmam que o final do processo varia de acordo com a espécie vegetal de onde a fécula foi extraída e das condições de gelatinização (BAKS et al, 2007; VERMEYLEN et al, 2006), no entanto há quem afirme que a partir do início do processo de gelatinização em excesso de água ele só terminará após toda a fécula ser gelatinizada (RATNAYAKE & JACKSON, 2007).

A fim de se estudar a influência da ordem de adição das matérias-primas, sobretudo a fécula de mandioca, no preparo das emulsões desenvolvidas foram testados dois métodos (A e B). Para estudar se a ordem de adição e geleificação da fécula de mandioca alteraria as características físico-químicas dos sistemas desenvolvidos foram escolhidos os previamente formulados F2 e F4. Portanto, quatro sistemas foram formados gerando as formulações F2A e F4A manipuladas de acordo com o método A e as formulações F2B e F4B manipuladas de acordo com o método B, estas formulações passaram pelos testes de estabilidade e caracterização descritos a partir da seção 5.5.

O sistema F3 não foi analisado neste ponto, pois apresentou, a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), separação de fases consistente com o processo de retrogradação e sinérese característico de géis de fécula/amido, bem como os sistemas F1 que apresentaram separação de fases no teste de centrifuga em todos os valores de EHL testados.

A retrogradação consiste no processo que ocorre nesses géis quando as cadeias de amilose se reaproximam, gerando um rearranjo que culmina na expulsão da água, processo denominado sinérese (HSIEH et al., 2019). Este é o principal problema que afeta produtos feitos à base de gel amiláceo e as féculas nativas são mais suscetíveis a este processo que os amidos modificados (MAHMOOD et al, 2017; SINGH, GEVEKE, YADAV, 2017; ZHU, 2015; WANG et al, 2009). No entanto, em comparação a outras féculas naturais, aquela proveniente da mandioca apresenta uma menor tendência a sofrer retrogradação devido a seu elevado conteúdo de amilopectina que permite a formação de géis de viscosidade mais elevada e com maior estabilidade durante armazenamento (WEIL et al., 2020).

5.4. Estudo da influência das hélices na produção das emulsões desenvolvidas

Com o objetivo de se estudar a influência de diferentes hélices utilizadas na produção das formulações desenvolvidas, quatro diferentes (Figura 3) foram testadas.

Após a manipulação das formulações F2 pelo método B utilizando as quatro diferentes hélices, elas passaram por avaliação macroscópica e pelo teste de centrífuga previamente descrito. Nenhuma delas apresentou, após 24 horas de preparo, sinais de instabilidade macroscópicos ou separação após teste de centrífuga realizado conforme preconizado pelo Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004).

Após 24 horas de preparo foi conduzida uma avaliação do tamanho das partículas (Tabela 2) dos sistemas a fim de observar se as diferentes hastes testadas foram capazes de influenciar o seu tamanho.

Nanoemulsões são sistemas coloidais dispersos com tamanho de partícula inferiores a 500 nm. Esses sistemas, devido ao tamanho reduzido de seus glóbulos, apresentam maior estabilidade que emulsões convencionais, além de serem importantes alternativas para melhorar a solubilidade e absorção de compostos ativos. Fatores como método de obtenção, velocidade de adição da fase dispersante, velocidade do agitador, concentração de tensoativos na formulação são capazes de influenciar o tamanho das partículas das

nanoemulsões obtidas (GONÇALVES et al, 2018; MUNGURE et al, 2018; O'SULLIVAN et al, 2016).

O tamanho de partícula é um parâmetro importante a ser avaliado no controle do processo de produção de nanoemulsões porque a estabilidade física dos glóbulos depende do seu tamanho e de sua distribuição (MULLER-GOYMANN, 2004).

Dentre as formulações manipuladas, todas apresentaram tamanho de partícula inferiores a 100 nm (tabela 2, gráficos 1,2,3 e 4), portanto, podem ser consideradas nanoemulsões. A formulação que apresentou menor tamanho de partícula foi aquela produzida pela hélice de 3 palas, também conhecida como “marinha”. No entanto, dentre os índices de polidispersividade apresentados pelas amostras, a formulação produzida utilizando a hélice “Turbina” apresentou o menor, apesar de apresentar o maior tamanho de partícula ($p < 0,05$) dentre os testados, portanto, esta foi a hélice escolhida para a manipulação das formulações.

As formulações avaliadas apresentaram dispersão bimodal (Figuras 6, 7,8 e 9) e portanto, era esperado que os valores de PDI fossem mais elevados do que aqueles encontrados em dispersões monomodais. Estes resultados sugerem que os glóbulos da fase oleosa se mantiveram em escala nano mesmo após a gelatinização da fécula que por sua vez, apresentou partículas de maior diâmetro. O índice de polidispersividade (PDI – *Polidispersity Index*) representa quão polidispersas estão as partículas no sistema. Ele é um índice calculado a partir da foto correlação das análises espectroscópicas obtidas pelo equipamento. Valores de $PDI \leq 0,1$ designam uma distribuição populacional bastante homogênea, no entanto valores de até 0,5-0,7 caracterizam uma média dispersão. Somente valores superiores a 0,7 indicariam amostra bastante heterogênea (SABERI, FANG E McCLEMENTS, 2013; SREERAM et al., 2008; SYED-AB-RAHMAN; CARVALHAIS; OMAR, 2020).

Tabela 2. Tamanho de partícula das amostras produzidas com diferentes hélices

	Dispersora	3 Palas	4 Palas	Turbina
Pico 1	64,29	61,34	72,08	93,28
Pico 2	1157	1233	1647	1851
PdI	0,809	0,629	0,519	0,381
Porcentagem (%P1/%P2)	47/53	58/42	66/34	77/23

Figura 6. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice dispersora

Figura 7. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice de 3 palas.

Figura 8. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice 4 palas

Figura 9. Gráfico de tamanho de partícula da formulação F2B produzida com hélice turbina

5.5. Avaliação da estabilidade das formulações

5.5.1. Avaliação macroscópica, centrifugação e estresse térmico

Após 24 horas de preparo das formulações não foi possível notar nenhum sinal macroscópico de instabilidade, dando prosseguimento então ao teste de centrífuga como preconizado pelo Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Brasil, 2004). Neste teste, as formulações produzidas de acordo com o método B, assim como aquelas produzidas pelo método A, não apresentaram separação de fases. O mesmo ocorreu para o teste de estresse térmico, portanto, os demais testes de estabilidade foram realizados para estas quatro formulações.

Temperaturas elevadas podem acelerar reações físico-químicas nos produtos modificando características como cor, odor, pH e viscosidade. Devido às condições extremas a que o produto é exposto, o teste de estresse térmico tem por objetivo selecionar as melhores formulações para testes posteriores, e não estimar a vida útil do produto (BRASIL, 2004).

O teste de estresse térmico foi realizado após 24 horas da manipulação das formulações escolhidas e não houve diferença macroscópica em relação às emulsões testadas no início do teste, antes do aquecimento, e após o aquecimento em cada uma das temperaturas a que foram submetidas. Todas as formulações testadas permaneceram macroscopicamente estáveis ao final do teste, sem qualquer sinal de separação de fases (Figura 10).

Figura 10. a) F2A EHL 8; b) F3A EHL 8 e c) F4A EHL 8 após submetidas ao teste de estresse térmico.

Fonte: Fotografia obtida pela autora

5.5.2. Determinação de pH e condutividade elétrica

A análise do pH de formulações é um teste importante para se verificar se houveram alterações no produto ao longo do tempo já que contaminação microbiana e processos de hidrólise ou oxidação podem modificar o pH original da formulação (MORAIS, 2008). Especialmente quando se trata de amidos, o valor do pH do sistema pode desestabilizar toda a rede gel formada em pH muito ácido e pH muito básicos também podem afetar o comportamento físico do amido através da quebra de ligações de hidrogênio intermoleculares (HEDAYATI et al., 2016; MAJZOBI et al., 2015).

Os resultados para os valores de pH apresentados pelas formulações (tabela 3) se mostraram compatíveis com seu uso na pele que tem valor de pH compreendido entre 4,6 a 5,8 (ZOUBOULIS et al, 2018). Os resultados encontrados por (HEDAYATI et al., 2016; MAJZOBI et al., 2015) para amido

de trigo e de batata foram semelhantes, no entanto, degradação da rede polimérica à medida que o pH era reduzido foi observada, gerando redução na viscosidade e retrogradação e sinérese dos géis. Portanto, é importante observar o comportamento do pH ao longo do envelhecimento das formulações para avaliar a estabilidade das mesmas a longo prazo.

A determinação da condutividade elétrica de uma formulação é um importante parâmetro físico-químico a ser avaliado para monitoramento da estabilidade dos sistemas emulsionados. Alterações nos valores de condutividade elétrica em diferentes temperaturas e condições de armazenamento podem indicar sinais de instabilidade no sistema em questão (BRASIL, 2004).

Os valores de condutividade elétrica encontrados são compatíveis com formulações que tem como fase dispersante a água. Por isso valores muito mais elevados do que se comparados aos apresentados por emulsões água em óleo, já que a água é um melhor condutor de eletricidade. Portanto, os valores de condutividade elétrica, assim como os de pH devem ser acompanhados durante o envelhecimento da formulação de forma a serem indicadores de processos de instabilidade das mesmas (ALLOUCHE et al., 2004; MCCLEMENTS, 2007; TYRODE et al., 2005).

Tabela 3. Valores de pH e condutividade elétrica das formulações feitas em triplicata.

	F2A EHL 8	F3A EHL 8	F4A EHL 8
pH	4,74±0,02	5,79±0,03	4,66±0,06
Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	250,76±0,51	170,16±0,15	200,26±0,25

5.5.3. Estabilidade Preliminar (Ciclo gela e degela)

Diversos tratamentos físicos podem provocar alterações nos grânulos de fécula, um deles seria submeter seus géis a ciclos de resfriamento/aquecimento

para observar se o tratamento é capaz de afetar a organização da estrutura polimérica dos géis (ZHANG, HAM AND LIM, 2018, TAO et al 2015). Em se tratando de formulações contendo géis amiláceos é bastante interessante para se observar a força estrutural submetida a essas variações (KUMAR et al, 2018).

Este teste foi conduzido com o objetivo de avaliar o comportamento das formulações desenvolvidas frente a mudanças bruscas de temperatura. O teste de ciclos gela-degela tem o objetivo de observar como a formulação testada irá se comportar em ciclos alternados de aquecimento e resfriamento. Após análise estatística dos resultados contidos na tabela 4 pode-se verificar que as formulações F2A apresentaram diferença estatística tanto para pH quanto para a condutividade elétrica ($p < 0,05$) no entanto, o mesmo não foi verificado para as formulações F4A que se apresentaram mais estáveis tanto em relação aos valores de pH quanto aos valores de condutividade elétrica.

No entanto, os valores de pH para as formulações F4 se apresentaram mais baixos do que os avaliados anteriormente indicando que essas formulações estão mais susceptíveis à uma degradação do gel do que as formulações F2 que apresentaram aumento no valor de pH após os ciclos (MAJZOOBI et al., 2015).

Tabela 4. Dados de pH e condutividade elétrica das formulações durante o ciclo gela-degela.

	F2A -Dia 1	F2A – Dia 12	F4A – Dia 1	F4A – Dia 12
pH	4,182±0,12	4,52±0,79	3,96±0,15	3,987±0,25
Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	218,67±9,98	201,27±1,02	216,03±2,37	221,49±3,73

5.5.4. Estabilidade acelerada

Este teste tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento através do acompanhamento de características físico-

químicas das amostras durante o envelhecimento da formulação sob condições de temperatura diferentes (BRASIL, 2004).

Durante o processo de envelhecimento as formulações foram avaliadas de acordo com seus valores de pH e de condutividade. Os resultados encontrados estão apresentados nas figuras 11-16. As quatro formulações testadas apresentaram alguma estabilidade ao longo dos 90 dias de estudo nas temperaturas testadas. No entanto, as formulações F4 A e B se mostraram mais instáveis ao longo do tempo de estudo do que ambas as formulações F2.

Em relação à condutividade elétrica, esta se mostrou mais oscilante durante o período de estudo do que o pH, para as quatro formulações, podendo evidenciar uma possível desestabilização do sistema por mecanismos como a hidrólise, por exemplo.

A fécula de mandioca natural, assim como outras féculas naturais, é instável em condições muito ácidas. Em estudo realizado por Sae-Kang e Suphantharika em 2006 demonstrou-se que em pH 3 foi possível detectar processo de hidrólise ácida do gel. No entanto, outros estudos demonstram que em valores de pH que variavam de 4 a 9 não foi possível detectar modificações significativas no perfil reológico e na estabilidade do sistema (AGUDELO et al, 2014; CAMPANHA & FRANCO, 2011; SAE-KANG & SULPHANTHARIKA, 2006). Tendo em mente que valores de pH mais ácidos, sobretudo $\text{pH} \leq 3$, as formulações F2 (A e B) se mostraram mais estáveis durante o processo de envelhecimento já que apresentaram valores de pH que se mantiveram acima do valor citado.

Figura 11. pH das formulações a 5°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05)

Figura 12. Condutividade elétrica das formulações a 5°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05)

Figura 13. pH das formulações a 25°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05)

Figura 14. Condutividade elétrica das formulações a 25°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05)

Figura 15. pH das formulações a 45°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05)

Figura 16. Condutividade elétrica das formulações a 45°C ao longo de 90 dias de armazenamento. * diferença significativa em relação ao dia 1 (p valor <0,05)

5.6. Caracterização físico-química das formulações

5.6.1. Análise microscópica das formulações

A microscopia de luz polarizada pode ser utilizada para a detecção de cristais líquidos liotrópicos, com exceção das mesofases cúbicas, porque cristais líquidos apresentam birrefringência assim como estruturas puramente

cristalinas. Cada cristal líquido apresenta típicas texturas em preto e branco e, no caso da existência de uma placa de onda adicional com fortes propriedades birrefringentes, efeitos de textura coloridos podem ser observados. Estruturas hexagonais podem ser reconhecidas por sua forma de leque enquanto mesofases lamelares apresentam tipicamente o formato de cruz de malta decorrente do rearranjo concêntrico de camadas planas. (MULLER-GOYMANN, 2004).

As quatro formulações escolhidas foram observadas sob microscopia de luz polarizada e foi possível observar que apresentaram área de anisotropia (Figura 17), com estruturas liotrópicas lamelares (formato de cruz de malta), após 24 horas de preparo, independentemente do método de obtenção empregado, evidenciando que o mesmo não influencia de forma qualitativa na formação de estruturas liotrópicas lamelares no sistema. E, da mesma forma como foi observado no estudo de geleificação do amido, as estruturas permanecem após aquecimento da formulação.

Figura 17. a) F2A; b) F2B; c) F4A; d) F4B em aumento de 200x sob microscopia de luz polarizada.

5.6.2. Avaliação da turbidez e densidade das nanoemulsões formadas

A análise turbidimétrica é uma análise simples e de baixo custo, porém que pode apresentar importantes informações a respeito da solubilidade de partículas, tamanho dos glóbulos e características dos tensoativos de uma amostra coloidal, devendo ser confirmadas por outras técnicas, como a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) (PATERNINA et al., 2019).

Os resultados obtidos para as nanoemulsões testadas evidenciam que muito embora sua composição seja parecida, os valores de turbidez apresentados por elas são bastante diferentes. Provavelmente o tamanho de partícula das amostras seja também bastante diferente já que o tamanho dos glóbulos formados influencia na dispersão da luz e, portanto, glóbulos maiores geram maior dispersão na faixa do visível tornando a formulação opticamente turva ou opaca (JONES; DECKER; MCCLEMENTS, 2010; TADROS et al., 2004). Além disso, o tensoativo hidrofílico da formulação F2 tem caráter menos hidrofílico do que o tensoativo da formulação F4 que apresenta mais etoxilações, portanto, menos capaz de fazer ligações com o meio no qual está disperso.

Os valores de densidade absoluta e densidade relativa são praticamente iguais entre si e também muito semelhantes à densidade da água o que era esperado devido ao grande percentual de água livre presente até este ponto da formulação.

Tabela 5. Resultados da análise turbidimétrica e de densidade das formulações desenvolvidas antes da adição de fécula.

	Turbidimetria (NTU)	Densidade abs.(g/cm ³)	Densidade rel.
F2	805,3 (±2,5)	0,99 (±0,0)	0,99 (±0,0)
F4	65,3 (±0,6)	0,99 (±0,0)	0,98 (±0,0)

5.6.3. Avaliação do comportamento reológico

Os testes foram realizados 24 horas após o preparo das formulações, em triplicata. As formulações apresentaram comportamento não-newtoniano de

fluxo pseudoplástico (F2A e F4A) tixotrópico (F2B e F4B) (Figura 18), perfis interessantes para aplicação tópica devido à diminuição da viscosidade do produto à medida que se aumenta a taxa de cisalhamento, facilitando dessa forma a aplicação do produto sobre a pele (SINGH et al., 2017).

A partir deste resultado pode-se observar que os diferentes métodos de geleificação empregados no processo de formulação geraram perfis de comportamento reológico diferentes.

Figura 18. Perfil reológico das formulações desenvolvidas.

Diferentes estruturas coloidais apresentam diferentes comportamentos reológicos. No caso das estruturas líquido-cristalinas, quanto maior for o grau de organização da microestrutura, maior será a viscosidade do sistema. Dessa forma, sistemas cúbicos e hexagonais de ordem tri e bidimensionais respectivamente apresentarão maior viscosidade que os cristais líquidos lamelares que possuem sua microestrutura arranjada unidimensionalmente (MULLER-GOYMANN, 2004).

O processo de gelatinização é influenciado por suas condições e pela origem do grânulo, que por sua consequência influenciará também nas características de textura e reologia dos produtos formados (PAPATHANASIOU et al, 2015). As formulações produzidas pela metodologia A (F2A e F4A) apresentaram comportamento pseudoplástico. Esse comportamento se caracteriza por uma quebra momentânea na rede polimérica durante o

cisalhamento onde a viscosidade aparente diminui à medida que o cisalhamento aumenta. À medida que o cisalhamento é reduzido ou cessa o sistema se reorganiza (YE et al, 2017, PARK, CHUNG AND YO, 2004). No entanto, as formulações produzidas pela metodologia B apresentaram área de histerese (F2B 1.725,44 Pa/s e F4B 2.406 Pa/s) e comportamento tixotrópico, onde ocorre também uma redução da viscosidade aparente em relação ao aumento do cisalhamento, porém de forma diferente às anteriores pseudoplásticas, a reorganização do sistema é dependente do tempo (OISHI et al, 2017; KRYSTYJAN et al, 2016).

Os valores das áreas de histerese apresentados pelas formulações B são diferentes ($p < 0,05$) indicando que os tensoativos hidrofílicos empregados nas formulações foram capazes de gerar uma diferença significativa no comportamento de fluxo dos sistemas aqui estudados.

5.7.Determinação do tamanho de partícula por Espalhamento de Luz Dinâmico – DLS (Dynamic Light Scattering)

A fim de determinar o tamanho das partículas presentes nas formulações desenvolvidas pelo método B, anteriormente ao passo da adição de fécula, foi utilizada a técnica de espalhamento dinâmico de luz a qual é uma técnica de medição do tamanho hidrodinâmico das partículas a partir da detecção da intensidade do espalhamento de luz gerado pelo movimento browniano delas. Essa intensidade se difere de acordo com o tamanho das partículas que então pode ser determinado a partir desta correlação utilizando a relação Stokes-Einstein.

Os tamanhos de partícula observados para as emulsões formadas anteriormente à adição da fécula de mandioca indicam que aquelas obtidas com o par de tensoativos F2 (monooleato de sorbitana/PEG-30) podem ser classificadas como nanoemulsões, enquanto aquelas obtidas com o par de tensoativos F4 (monooleato de sorbitana/PEG-54) se apresentam como macroemulsões (Tabela 6) contrariando os resultados obtidos pela análise turbidimétrica que evidenciava o contrário. Portanto, a turbidez mais acentuada das amostras F2 não está relacionado com seu tamanho de

partícula. Os valores do índice de polidispersividade (PDI) para a formulação F2 também é menor do que o apresentado pela F4 indicando que há uma distribuição de tamanho mais uniforme.

Tabela 6. Tamanho de partícula e índice de polidispersividade das emulsões produzidas pelo método B anteriormente à adição de fécula de mandioca.

	F2	F4
Tamanho (nm)	83,93	1.764
Pdl	0,212	0,382

Figura 19. Tamanho de partícula por DLS da formulação F2nano.

Figura 20. Tamanho de partícula por DLS da formulação F4nano.

5.8. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*)

Transições de fase são acompanhadas por mudanças de energia livre do sistema geradas por uma alteração na entalpia (ΔH) ou entropia (ΔS) do sistema. Mudanças de entalpia resultam em sinais endotérmicos ou exotérmicos a depender de onde o consumo de energia ocorre durante a transição de fases. A transição de fase cristalina para fase amorfa exige um grande consumo de energia, por exemplo. Fusão e evaporação também são exemplos de processos endotérmicos. No entanto, a transição entre fase cristalina para líquido-cristalina, e por sua vez, da líquido-cristalina para a líquida exigem um menor consumo energético. Já variações na entropia do sistema irão gerar transições de fase que podem ser detectadas pela inclinação da linha de base devido a uma mudança na capacidade de aquecimento. Transições de fase líquido-cristalinas poliméricas são aquelas de segunda ordem comumente denominadas transições vítreas que podem ser acompanhadas por um efeito entálpico (MULLER-GOYMANN, 2004).

Abaixo são apresentados (tabela 7, figura 21) os termogramas, as temperaturas de *onset*, de pico, bem como a variação de entalpia do sistema obtidos após a análise de calorimetria diferencial de varredura. Para as quatro formulações escolhidas, um amplo pico endotérmico foi observado entre 105°C e 115°C indicando a ocorrência de um processo de eliminação da água livre do sistema (GADKARI et al., 2019; HE et al., 2015).

Apenas para as formulações F2 foi verificado um pequeno pico endotérmico em torno de 45°C (figura 20 a e b) que condiz com a transição sol-gel de emulgéis encontrada por Sagiri *et al.*, 2015. Efeitos semelhantes foram encontrados por Albon and Sturtevant, 1978, referentes a uma transição de fase gel para fase líquido cristalina e por Ferreira and Loh, 2016 e Ishak *et al.*, 2019 referentes a uma transição de fase gel – fase líquida. O mesmo efeito não foi observado nas demais formulações sugerindo que a diferente estrutura do tensoativo hidrofílico empregado tenha influenciado na microestrutura das formulações desenvolvidas. A fim de se aprofundar e verificar se ambas as formulações F2 A e B se tratam de fase gel lamelar ou cristal líquido lamelar, análises de difração

de raios-x foram realizadas.

Como podemos observar pelas informações apresentadas, apesar de haverem alterações nos valores de entalpia dos processos envolvidos, essas diferenças não evidenciam que o método de escolha exerça influência direta nas formulações estudadas, sugerindo que tais mudanças não refletem de forma substancial na estrutura das formulações.

De forma contrária ao que era esperado, o ΔH das formulações que continham o PEG-540 (F4A e F4B) não apresentaram variação de entalpia superior àquelas que continham o PEG-300 (F2A e F2B), indicando que, apesar de as formulações F4A e F4B apresentarem um tensoativo hidrofílico com maior capacidade para formar ligações de hidrogênio devido ao seu maior número de etoxilações e, portanto, ter maior capacidade para aprisionar a água livre presente no sistema (GOPI *et al.*, 2019), esse efeito não foi suficiente para ser observado na análise.

Tabela 7. Valores de temperatura de *onset*, temperatura de pico e variação de energia para o teste de calorimetria diferencial de varredura

	To (°C)	Tp (°C)	ΔH (J.g⁻¹)
F2A	116,44	115,92	1.029,40
F2B	112,80	112,54	1.196,02
F4A	98,19	105,59	1.376,96
F4B	115,27	114,98	1.172,85

Figura 21 (continua). Termogramas das formulações a) F2A, b) F2B, c) F4A e d) F4B desenvolvidas.

a)

b)

Figura 21 (continuação). Termogramas das formulações a) F2A, b) F2B, c) F4A e d) F4B desenvolvidas.

c)

d)

5.9. Difração de raios-X

Com a análise de difração de raios-x (XRD) interferências características na microestrutura do sistema são geradas. Uma interferência típica decorre de uma repetição entre distâncias de camadas internas exemplificadas pela equação de

Bragg como d . A partir da equação podemos notar que a distância entre as camadas é inversamente proporcional ao ângulo de interferência. Portanto, grandes distâncias na região de cadeias longas podem ser detectadas por difrações de baixo ângulo (SAXD – *Small angle x-ray diffraction*), como as distâncias entre as intercamadas de cristais líquidos permitindo detectar o ordenamento entre elas, enquanto distâncias nas regiões de pequena ordem podem ser investigadas por difração de alto ângulo (WAXD – *Wide angle x-ray diffraction*) (MULLER-GOYMANN, 2004).

Análises de difração de raios-x (XRD) foram realizadas nas quatro formulações selecionadas (F2A, F2B, F4A e F4B) e os difratogramas bem como os valores das distâncias entre as estruturas podem ser observados abaixo (Tabela 8 e Figura 22). Assim como visto nos resultados de DSC, pode-se observar um perfil muito semelhante entre as quatro formulações independentemente da metodologia empregada ou mesmo do tensoativo hidrofílico escolhido.

As quatro formulações estudadas apresentaram ampla região amorfa compatível com o comportamento de polímeros semicristalinos com baixo grau de cristalinidade como é o caso da fécula de tapioca, bem como de outros amidos naturais (MENDES et al., 2016). Além de apresentarem picos na região de alto ângulo, compatível com estrutura ordenada (ISHAK et al., 2019).

Tabela 8. Valores de distância e 2θ encontrados nos difratogramas das formulações estudadas.

	2θ	d (Å)
F2A	27,5° / 20,8°	3,24 / 4,27
F2B	27,8° / 20,9°	3,21 / 4,24
F4A	27,5° / 20,4°	3,24 / 4,36
F4B	27,9° / 20,6°	3,20 / 4,30

À temperatura ambiente, à qual foi realizado o teste, as quatro formulações apresentaram pico em torno de aproximadamente $2\theta \approx 21^\circ$ e $2\theta \approx 27^\circ$, região descrita em literatura como fase gel lamelar ($L\beta$) ou α -gel

(ALFUTIMIE; CURTIS; TIDDY, 2014; FERREIRA; LOH, 2016; ISHAK et al., 2019). Essa informação é corroborada pelos resultados prévios encontrados nos testes de DSC e microscopia de luz polarizada que já evidenciavam a existência de uma organização em fase lamelar.

Figura 22. Difratogramas das formulações a) F2A, b) F2B, c) F4A, d) F4B e e) *overlay*, desenvolvidas.

a)

b)

c)

d)

e)

Estruturas em α -gel são estruturas favoráveis à aplicação em produtos de cuidados pessoais e aplicação tópica devido a sua grande capacidade de aprisionar água entre suas lamelas, em consequência, apresentam um maior potencial de hidratação cutânea do que formulações que não a apresentam (LARSSON; KROG, 1973; SONE et al., 1999; WANG; MARANGONI, 2016).

5.10 Análise da estabilidade por espalhamento múltiplo de Luz – S-MLS (Static Multiple Light Scattering)

Para melhor avaliar a estabilidade da formulação escolhida (F2B) após os testes já descritos, foi realizada uma análise de espalhamento múltiplo de luz onde informações do perfil de transmitância e de retroespalhamento foram analisadas. Devido à aparência branca e opaca da formulação ocasionada pelo tamanho das partículas presentes nesse sistema complexo e à capacidade da fase oleosa em dispersar a luz da fonte infravermelha (fonte do retroespalhamento), a análise de retroespalhamento é mais representativa para se avaliar processos de instabilidade desse sistema do que a transmitância (BOOSTANI et al., 2020).

O resultado foi apresentado na figura 23 que apresenta o perfil de transmitância e retroespalhamento da amostra que foi avaliada de hora em hora

durante um dia inteiro após 24 horas de preparo. Pelo gráfico se pode observar que como esperado, praticamente não houve detecção de transmitância para a amostra. Pode se observar também que à medida que o tempo avança há um pequeno decréscimo no percentual de retroespalhamento, porém, a amostra se mantém basicamente uniforme em relação à altura indicando que não há aparente tendência à ocorrência de processos de instabilidade como floculação, cremeação e separação de fases (SU et al., 2020).

Figura 23. Análise de retroespalhamento de 24 horas da formulação F2B.

5.11 Avaliação do perfil sensorial das formulações desenvolvidas

Os aspectos sensoriais de um produto cosmético desempenham importante papel na escolha do consumidor. Para uma aceitação melhor do mesmo a espalhabilidade já se mostrou ser uma das características mais importantes (SAVARY, GRISEL E PICARD, 2013, PARENTE, GAMBARO E ARES, 2008).

Para todas as amostras testadas os parâmetros de cor, brilho, opacidade, formação de elevação e espalhabilidade foram aqueles que se sobressaíram. De forma oposta, os parâmetros de resíduos de forma geral (ceroso, aquoso e oleoso) e pegajosidade pós-aplicação foram os parâmetros que obtiveram menores pontuações. O resultado obtido descreve um interessante perfil para a formulação já que os parâmetros que obtiveram maiores pontuações são aqueles que descrevem atributos desejáveis para este tipo de formulação

enquanto os parâmetros que obtiveram menor pontuação são atributos menos desejáveis para o tipo de formulação proposto.

Os resultados obtidos no teste de avaliação sensorial descritiva e quantitativa (Figura 24) evidenciam notáveis similaridades entre os perfis das quatro formulações. Apenas os parâmetros cor, brilho, fluidez e espalhabilidade apresentaram diferenças significativas entre as formulações testadas ($p < 0,05$). Em relação à cor as amostras F4 se diferenciam das F2, apontando para um branco mais intenso, uma diferença perceptível em relação a uma mudança de matéria-prima. Em relação ao brilho, a amostra F4B apresenta brilho menos acentuado que as demais. Em relação à fluidez, as formulações produzidas pelo método B são menos fluidas que as produzidas pelo método A. E, por fim, em relação à espalhabilidade, a formulação F4B apresenta uma menor espalhabilidade que as demais.

A análise sensorial pode ainda ser uma ferramenta muito útil ao indicar caminhos para o aprimoramento da formulação como uma melhoria na sensação ao toque e até mesmo espalhabilidade.

Figura 24. Gráfico aranha de teste sensorial descritivo quantitativo realizado com painel treinado ($n=12$).

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

A partir do estudo pudemos concluir que foi possível desenvolver formulações nanoemulsionadas dispersas em sistema de fase α -gel utilizando como base o amido de mandioca natural. O perfil reológico apresentado pelas formulações foi muito interessante para aplicação tópica, principalmente o da nanoemulsão escolhida (F2B) por apresentar tixotropia.

Foram observadas diferenças de tamanho e distribuição das partículas no sistema, diferenças no perfil reológico, sensorial e principalmente, diferenças na estabilidade ao longo do tempo que sugerem que a adição e geleificação da fécula após a emulsificação do óleo (método B) foi capaz de gerar interações mais numerosas ou mais fortes entre as moléculas presentes na formulação resultando numa estrutura menos susceptível à instabilidade. Em relação à análise de perfil sensorial, as formulações apresentaram atributos relevantes para a aceitação do produto cosmético pelo usuário.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

AGAMA-ACEVEDO, E.; BELLO-PEREZ, L.A. **Starch as an emulsions stability: the case of octenyl succinic anhydride (OSA) starch**. Current opinion in food science. Volume 13, pg 78-83, 2017.

AGUDELO, A., VARELA, P., SANZ, T., FIZSMAN, S.M. Native tapioca starch as a potential thickener for fruit fillings. Evaluation of mixed models containing low-methoxyl pectin. **Food Hydrocolloids**. v. 35, p. 297-304, 2014.

AJAZUDDIN, A. A; AJITAKHICHARIYA, S.; RAVISH, J. P.; TAPAN, K.; DULAL, K. **Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel**. Journal of Controlled Release, Volume 171, Issue 2, Pages 122-132, 2013.

ALBON, N.; STURTEVANT, J. M. Nature of the gel to liquid crystal transition of synthetic phosphatidylcholines. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 75, n. 5, p. 2258–2260, 1978. DOI: 10.1073/pnas.75.5.2258.

ALFUTIMIE, Abdullatif; CURTIS, Robin; TIDDY, Gordon J. T. Gel phase (L β) formation by mixed saturated and unsaturated monoglycerides. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 456, n. 1, p. 286–295, 2014.

ALLOUCHE, Joachim; TYRODE, Eric; SADTLER, Véronique; CHOPLIN, Lionel; SALAGER, Jean Louis. Simultaneous Conductivity and Viscosity Measurements as a Technique To Track Emulsion Inversion by the Phase-Inversion-Temperature Method. **Langmuir**, [S. l.], v. 20, n. 6, p. 2134–2140, 2004.

ALMEIDA, I.F.; GAIO, A.R.; BAHIA, M.F. Hedonic and descriptive skinfeel analysis of two oleogels: comparison with other topical formulations. **Journal of Sensory Studies**, v. 23, p. 92-113, 2008.

ANDRADE, F.F. **Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico**. 2008. 115f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN JR., L.V. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9.ed. Porto Alegre: Artmed, p. 399-410, 2013.

AUST, L.B., ODDO, L.P., WILD, J.E., MILLS, O.H., & DEUPREE, J.S. The descriptive analysis of skin care products by a trained panel of judges. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 38, p. 443-449, 1987.

AVEYARD, R., BIDS, B.P., MEAD, J. Interfacial tension minima in oil-water-surfactant systems: Effects of alkane chain length and presence of n-alkanols in systems containing aerosol OT. **Journal of the chemical society faraday transactions I**, v.82, p.1755-1770, 1986.

BAKS, T., NGENE, I. S., VAN SOEST, J. J. G., JANSSEN, A. E. M., & BOOM, R. M. Comparison of methods to determine the degree of gelatinisation for both high and low starch concentrations. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, issue 4, p. 481-490, 2007.

BRACONI, F.; OLIVEIRA, I. S.; BARONI, M. N. F.; ROCHA-FILHO, P. A. Aplicação cosmética do óleo de canola. In: **Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos**, 1995, São Paulo. Anais Associação Brasileira de Cosmetologia, p. 6-19.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Séries Temáticas. Série Qualidade 1, v.1, Brasília, DF, 2004.

BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; DOUCET, J.; TRANCHANT, J-T., COUARRAZE, G. Percutaneous absorption of sunscreens form liquid crystalline phases. **Journal of Controlled Release**, v.60, p.67-76, 1999.

BOM, S.; JORGE, J.; RIBEIRO, H.M.; MARTO, J. A step forward on sustainability in cosmetic industry: A review. **Journal of cleaner production**. Volume 225, pgs 270- 290, 2019.

BOOSTANI, Sareh; HOSSEINI, Seyed Mohammad Hashem; GOLMAKANI,

Mohammad Taghi; MAREFATI, Ali; ABDUL HADI, Nabilah Binti; RAYNER, Marilyn. The influence of emulsion parameters on physical stability and rheological properties of Pickering emulsions stabilized by hordein nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 101, n. October 2019, p. 105520, 2020.

CAMPANHA, R., FRANCO, C. Gelatinization properties of native starches and their Naegeli dextrans. **Journal of Thermal Analysis & Calorimetry**, v. 106, issue 3, p. 799-804, 2011.

CARLSTEDT, J., WOJTASZ, J., FHYR, P., KOCHERBITOV, V. Understanding starch gelatinization: The phase diagram approach. **Carbohydrate Polymers**. V. 129, p.62-69, 2015.

CONDE-PETIT, B. Structural features of starch in food: A polymeric and colloidal approach. **Laboratory of Food Chemistry and Food Technology**, Inst. of Food Science, ETH Zurich, 2001.

DEMIATE, I.M.; WOSIACKI, G; CEREDA, M. P.; MESTRES, C. **Viscographic characteristics of chemically modified cassava starches by RVA**. Publication UEPG Ciencias exatas e da terra, Ciencias agrárias e engenharias, v.11, n 1, p. 7-17, 2005.

DRELICH, A.; GOMEZ, F.; CLAUSSE, D.; PEZRON, I. Evolution of water-in-oil emulsions stabilized with solid particles. **Colloids and Surfaces A**, v. 365, pp. 171-177, 2010.

DAVIS, H. M. Analysis of creams and lotions. In: SENZEL, A. J. **Newburguer's manual of cosmetic analysis**. Washington: Association of Official Analytical Chemists, cap. 4, 1997, p. 32.

Ecovia Intelligence. **Global market for natural & organic personal care products**, 2011.

EL-GUENDOUIZ, Soukaina; AAZZA, Smail; LYOUSSEI, Badiaa; MAJDOUB, Nessrine; BANKOVA, Vassya; POPOVA, Milena; RAPOSO, Sara; ANTUNES, Maria Dulce; MIGUEL, Maria Graça. Effect of poplar-type propolis on oxidative

stability and rheological properties of O/W emulsions. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [S. l.], v. 26, n. 8, p. 1073–1082, 2018.

FARJAMI, Toktam; MADADLOU, Ashkan. An overview on preparation of emulsion-filled gels and emulsion particulate gels. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 86, n. July 2018, p. 85–94, 2019.

FERREIRA, Guilherme A.; LOH, Watson. Structural parameters of lamellar phases formed by the self-assembly of dialkyldimethylammonium bromides in aqueous solution. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 392–401, 2016.

GADKARI, Rahul Rajkumar; SUWALKA, Sheetal; YOGI, Mayank Raj; ALI, Wazed; DAS, Apurba; ALAGIRUSAMY, Ramasamy. Green synthesis of chitosan-cinnamaldehyde cross-linked nanoparticles: Characterization and antibacterial activity. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 226, n. April, p. 115298, 2019.

GONÇALVES, A., NIKMARAM, N., ROOHINEJAD, S., ESTEVINHO, B. N., ROCHA, R., GREINER, R., McCLEMENTS, D.J. Production, properties, and applications of solid self-emulsifying delivery systems (S- SEDS) in the food and pharmaceutical industries. **Colloids and Surfaces A Physicochemical Engineer Aspects**. V. 538, 2018.

GRIFFIN, W.C. Classification of surface-active agents by 'HLB'. **Journal of the society of cosmetic chemists**. P. 311-326. 1949.

GOPI, Sreeraj; AMALRAJ, Augustine; JUDE, Shintu; THOMAS, Sabu; GUO, Qipeng. Bionanocomposite films based on potato, tapioca starch and chitosan reinforced with cellulose nanofiber isolated from turmeric spent. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, [S. l.], v. 96, p. 664–671, 2019.

HAO, Y., CHEN, Y., LI, Q., GAO, Q. Preparation of starch nanocrystals through enzymatic pretreatment from waxy potato starch. **Carbohydrate Polymers**. V. 189, p. 171-177, 2018.

HE, Weiyan; LIU, Jinrong; CAO, Zhenzhu; LI, Caihong; GAO, Yanfang. Preparation and characterization of monodisperse zirconia spherical nanometer powder via lamellar liquid crystal template method. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, [S. l.], v. 23, n. 10, p. 1721–1727, 2015.

HEDAYATI, Sara; SHAHIDI, Fakhri; KOOCHAKI, Arash; FARAHNAKY, Asgar;

MAJZOOBI, Mahsa. Physical properties of pregelatinized and granular cold water swelling maize starches at different pH values. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 91, p. 730–735, 2016.

HIROSE, N., DOI, F., UEKI, T., AKAZAWA, K., CHIJIWA, K., SUGANO, M. (1992). Suppressive effect of sesamin against 7,12-dimethyl benzen[a]anthracene induced rat mammary carcinogenesis. **Anticancer Research**, v.12, p.1259–1266, 1992.

HSIEH, Chao Feng; LIU, Weichang; WHALEY, Judith K.; SHI, Yong Cheng. **Structure, properties, and potential applications of waxy tapioca starches – A review** *Trends in Food Science and Technology*, 2019.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrates Polymers**, v.45, p. 253-267, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cultivo da Mandioca no Brasil**. Disponível em: www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Mandioca_Brasil_2013.pdf/f03ad3fa-7989-40e0-bc08-c1d18ebb6024. Acesso em: 02/01/2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201511.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201511.pdf). Acesso em: 12/01/2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Comentarios/lspa_201601comentarios.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Comentarios/lspa_201601comentarios.pdf). Acesso em: 12/01/2018.

ISHAK, Khairul Anwar; ZAHID, N. Idayu; VELAYUTHAM, Thamil Selvi; ANNUAR, Mohamad Suffian Mohamad; HASHIM, Rauzah. Effects of lipid packing and intermolecular hydrogen bond on thermotropic phase transition of stearyl glucoside. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 281, p. 20–28, 2019. DOI: 10.1016/j.molliq.2019.02.075.

JAIN, A.; DEVEDA, P.; VYAS, N.; CHAUHAN, J. Development of antifungal emulsion-based gel for topical fungal infection. **International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry**, v. 2, pp. 18-25, 2011.

JAIN, J., FERNANDES, C., PATRAVALE, V. Formulation development of parenteral phospholipid-based microemulsion of etoposide. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. v. 11, issue 2, p.826-831, 2010.

JIANG, Suisui; LIU, Chengzhen; WANG, Xiaojin; XIONG, Liu; SUN, Qingjie. Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 69, p. 251–257, 2016.

JONES, Owen G.; DECKER, Eric A.; MCCLEMENTS, David Julian. Comparison of protein-polysaccharide nanoparticle fabrication methods: Impact of biopolymer complexation before or after particle formation. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 344, n. 1, p. 21–29, 2010.

KAVEH, Zahra; AZADMARD-DAMIRCHI, Sodeif; YOUSEFI, Gholamhossein; HOSSEINI, Seyed Mohammad Hashem. Effect of different alcoholic-alkaline treatments on physical and mucoadhesive properties of tapioca starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], 2019.

KNORR, D., HEINZ, V., BUCKOW, R. High pressure application for food biopolymers. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**. V.3, p. 619-631, 2006.

KRYSTYJAN, M., SIKORA, M., ADAMCZYK, G., DOBOSZ, A., TOMASIK, P., BERSKI, W., ŁUKASIEWICZ, M., IZAK, P. Thixotropic properties of waxy potato starch depending on the degree of the granules pasting. **Carbohydrate Polymers**, v.141, p. 126-134, 2016.

KUMAR, C. M., & SINGH, S. A. Bioactive lignans from sesame (*Sesamum indicum* L.): evaluation of their antioxidant and antibacterial effects for food applications properties. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n.5, p. 2934–2941, 2015.

KUMAR, L., BRENNAN, M., ZHENG, H., BRENNAN, C. The effects of dairy ingredients on the pasting, textural, rheological, freeze-thaw properties and swelling behaviour of oat starch. **Food Chemistry**. V. 245, p. 518-524, 2018.

LARSSON, Kåre; KROG, Niels. Structural properties of the lipid-water gel phase. **Chemistry and Physics of Lipids**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 177–180, 1973. DOI: 10.1016/0009-3084(73)90014-5.

LEI, Lingling; HE, Zongze; CHEN, Huanle; MCCLEMENTS, David Julian; LI, Bin; LI, Yan. Microstructural, rheological, and antibacterial properties of cross-linked chitosan emulgels. **RSC Advances**, [S. l.], v. 5, n. 121, p. 100114–100122, 2015.

LI, J.; WU, L.; WU, W.; WANG, B.; WANG, Z.; XIN, H.; XU, Q. A potential carrier based on liquid crystal nanoparticles for ophthalmic delivery of pilocarpine nitrate. **International Journal of Pharmaceutics**. Volume 455, Issues 1–2, Pages 75-84, 2013.

LUPI, F.R, GENTILE, L., GABRIELE, D., MAZZULLA S., BALDINO, N., DE CINDIO, B. Olive oil and hyperthermal water bigels for cosmetic uses. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 459, 70-78, 2015.

MAHMOOD, K., KAMILAH, H., SHANG, P. L., SULAIMAN, S., ARIFFIN, F., ALIAS, A. K. A review: Interaction of starch/non-starch hydrocolloid blending and the recent food applications. *Food Bioscience*. V. 19, p. 110-120, 2017.

MAJZOobi, Mahsa; KAVEH, Zahra; FARAHNAKY, Asgar; BLANCHARD, Christopher L. Physicochemical properties of pregelatinized wheat and corn starches in the presence of different concentrations of L-ascorbic acid. **Starch/Staerke**, [S. l.], v. 67, n. 3–4, p. 303–310, 2015.

MARUNO, Monica. Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de gergelim aditivadas de óleo de framboesa para queimaduras da pele. [S. l.], p. 166, 2009. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-22102009-154453/en.php>.

MATIGNON, A., TECANTE, A. Starch retrogradation: From starch components to cereal products. **Food Hydrocolloids**. V.68, p. 43-52, 2017.

MCCLEMENTS, David Julian. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 47, n. 7, p. 611–649, 2007.

MCCLEMENTS, David Julian. Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. **Annual Review of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 241–269, 2010.

MCCLEMENTS, David Julian; LI, Yan. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. **Advances in Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 159, n. 2, p. 213–228, 2010.

MENDES, J. F.; PASCHOALIN, R. T.; CARMONA, V. B.; SENA NETO, Alfredo R.; MARQUES, A. C. P.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 137, p. 452–458, 2016.

MLODOZENIEC, A. R. Thermodynamics and physical properties of a lyotropic mesophase (liquid crystal) and micellar solution of an ionic amphiphile. **Journal Society of Cosmetic Chemists**, Volume 28, pgs. 659-683, 1978.

MORAIS, J.M. **Desenvolvimento e avaliação do processo de obtenção de emulsões múltiplas A/O/A em etapa única empregando óleo de canola e tensoativo não iônico derivado do óleo de rícino**. 2008. 231 fl. Tese (Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2008.

MUJTABA, M. A.; MUK CHO, Haeng; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; ONG, H. C.; GUL, M.; HARITH, M. H.; YUSOFF, M. N. A. M. Critical review on sesame seed oil and its methyl ester on cold flow and oxidation stability. **Energy Reports**, [S. l.], v. 6, p. 40–54, 2020.

MULLER-GOYMANN, C.C. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and

nanoparticles for topical administration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. Volume 58, Issue 2, Pages 343-356, 2004.

MUNGURE, T.E., ROOHINEJAD, S., BEKHIT, A.E.D., GREINER, R., MALLIKARJUNAN, K. Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. **Current Opinion in food science**.v. 19, p. 72-76, 2018.

O'SULLIVAN, J., MURRAY, B., FLUNN, C., NORTON, I. The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. **Food Hydrocolloids**. V. 53, p. 141-154, 2016.

OISHI, C.M., MARTINS, F. P., THOMPSON, R. L. The “avalanche effect” of an elasto-viscoplastic thixotropic material on an inclined plane. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**. v. 247, p.165–177, 2017.

PANWAR, A.S.; UPADHYAY, N.; BAIRAGI, M.; GUJAR, S.; DARWHEKAR, G.N.; JAIN, D.K. Emulgel: a review. **Asian Journal of Pharmacy Life Science**. V.1, pp. 2231-4423, 2011.

PAPATHANASIOU, M. M., REINEKE, K., GOGOU, E., TAOUSKIS, P. S., KNORR, D. Impact of high pressure treatment on the available glucose content of various starch types: A case study on wheat, tapioca, potato, corn, waxy corn and resistant starch (RS3). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. V. 30, p. 24-30, 2015.

PARENTE, M. A., GAMBARO, A., ARES, G. SENSORY CHARACTERIZATION OF EMOLLIENTS. **Journal of sensory studies**. V. 32, issue 2, p. 149-161, 2008.

PARK, S., CGUNG, M. G., YOO, B. Effect of octenylsuccinylation on rheological properties of corn starch pastes. **Starch**. V. 56, p. 399-406, 2004.

PATERNINA, Christian A.; LONDOÑO, Alexandra K.; RONDON, Miguel; MERCADO, Ronald; MUÑOZ, Samuel. Influence of salinity and hardness on the micellization of an extended surfactant studied by turbidimetry. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, [S. I.], v. 182, n. April, p. 106300, 2019.

PATTANASHETTI, Nandini A.; HEGGANNANAVAR, Geetha B.; KARIDURAGANAVAR, Mahadevappa Y. Smart Biopolymers and their Biomedical Applications. **Procedia Manufacturing**, [S. l.], v. 12, n. December 2016, p. 263–279, 2017.

PICHOT, R., SPYROPOULOS, F., NOTRON, I. T. Mixed-emulsifier stabilised emulsions: Investigation of the effect of monoolein and hydrophilic silica particle mixtures on the stability against coalescence. **Journal of colloid and interface science**. V. 329, issue 5, p. 284-291, 2009.

RATNAYAKE, W. S., & JACKSON, D. S. A new insight into the gelatinization process of native starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, issue 4, p. 511-529, 2007.

RIBEIRO, A. P. L. **Estudos das féculas de mandioca nativo, modificado e modificados combinados por via química para a utilização na indústria alimentícia**. João Pessoa, 2011. 110f. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba/ Centro de Tecnologia de Alimentos, 2011.

RIVERA-CORONA, J.L.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, F.; REDÓN-VILLALOBOS, R.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, E.; SOLORZA-FERIA, J. Thermal, structural and rheological properties of sorghum starch with cactus mucilage addition. **LWT – Food Science and Technology**. V. 59, pp 806-812, 2014.

SABERI, A.H., FANG, Y., McCLEMENTS, D.J. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification. **Journal of colloid interface science**. V. 391, p. 95-102, 2013.

SADEGH-HASSANI, Fatemeh; MOHAMMADI NAFCHI, Abdorreza. Preparation and characterization of bionanocomposite films based on potato starch/halloysite nanoclay. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 67, p. 458–462, 2014.

SAE-KANG, V., SUPHANTHARIKA, M. Influence of pH and xanthan gum addition on freeze-thaw stability of tapioca starch pastes. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, p. 371-380, 2006.

SAENGSORN, K., JIMTAISON, A. Determination of hydrophilic–lipophilic balance value and emulsion properties of sachai oil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. V.7, issue 12, p. 1092-1096, 2017.

SAGIRI, Sai Sateesh; SINGH, Vinay K.; KULANTHAIVEL, Senthilguru; BANERJEE, Indranil; BASAK, Piyali; BATTACHARYA, M. K.; PAL, Kunal. Stearate organogel-gelatin hydrogel based bigels: Physicochemical, thermal, mechanical characterizations and in vitro drug delivery applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [S. l.], v. 43, p. 1–17, 2015.

SANTOS, O.D.H.; MORAIS, J.M.; ANDRADE, F.F.; AGUIAR, T.A.; ROCHA FILHO, P.A. Development of vegetable oil emulsion with lamellar liquid-crystalline. **Journal of Dispersion Science and Technology**. v. 32, p. 433-438, 2011.

SARISOZEN, C.; VURAL, I.; LEVCHENKO, T.; HINCAL, A. A.; TORCHILIN, V. P. PEG-PE-based micelles co-loaded with paclitaxel and cyclosporine A or loaded with paclitaxel and targeted by anticancer antibody overcome drug resistance in cancer cells. **Drug Delivery**, v.19, pp. 169-176, 2012.

SAVARY, G., GRISEL, M., PICARD, C. Impact of emollients on the spreading properties of cosmetic products: A combined sensory and instrumental characterization. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**. V.102, p.371-378, 2013.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL. Departamento de Economia Rural. **Análise da Conjuntura Agropecuária – Mandioca Safra 2014/2015**. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/mandioca_2014_15.pdf>. Acesso em: 12/01/2018

SHAKEEL, Ahmad; FAROOQ, Ujala; IQBAL, Tanveer; YASIN, Saima; LUPI, Francesca R.; GABRIELE, Domenico. Key characteristics and modelling of bigels systems: A review. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 97, n. February 2018, p. 932–953, 2019.

SHENOY, R.R.; SUDHEENDRA, A. T.; NAYAK, P.G.; PAUL, P.; KUTTY, N.G.; RAO, C.M. Normal and delayed wound healing is improved by sesamol, an active constituent of *Sesamum indicum* (L.) in albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 133, Issue 2, n. 27, p. 608–612, 2011.

SHITTU, L. A. J., BANKOLE, M. A., AHMED, T., AILE, K., AKINSANYA, M. A., BANKOLE, M. N. Differential antimicrobial activity of the various crude leaves extracts of *Sesame radiatum* against some common pathogenic microorganisms. **Scientific Research and Essays**, v.1, p. 108–111, 2006.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food chemistry**, v. 81, n.2, 219- 231, 2003.

SINGH, A., GEVEKE, D. J., YADAV, M. P. Improvement of rheological, thermal and functional properties of tapioca starch by using gum arabic. **LWT- Food science and technology**. V. 80, p. 155-162, 2017.

SONE, Toshiro; HANAMIZU, Tomoko; ICHIOKA, Minoru; YOKOKURA, Teruo; YOSHIKAWA, Satoshi; KONDO-YANAI, Naomi; HIRAKI, Yoshio; ESUMI, Kunio. Moisturizing effect of vesicles formed from monoglycerides on human skin. **International Journal of Cosmetic Science**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 23–31, 1999.

SREERAM, K. J.; NIDHIN, M.; INDUMATHY, R.; NAIR, Balachandran Unni. Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates. **Bulletin of Materials Science**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 93–96, 2008.

SRIVASTAVA, Nidhi; PATEL, Dinesh Kumar; RAI, Vineet Kumar; PAL, Anirban; YADAV, Narayan Prasad. Development of emulgel formulation for vaginal candidiasis: Pharmaceutical characterization, in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [S. l.], v. 48, n. July, p. 490–498, 2018.

STONE, H.; ILEIBAUM, R.N.; THOMAS, H.A. **Sensory evaluation practices**. Ed 4. Academic Press, 2012.

SU, J.; GUO, Qing; CHEN, Yulu; DONG, Wenxia; MAO, Like; GAO, Yanxiang; YUAN, Fang. Characterization and formation mechanism of lutein pickering emulsion gels stabilized by β -lactoglobulin-gum arabic composite colloidal nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 98, n. 17, p. 105276, 2020.

SYED-AB-RAHMAN, Sharifah Farhana; CARVALHAIS, Lilia Costa; OMAR, Dzolkhifli. Development of plant-based emulsion formulations to control bacterial leaf blight and sheath brown rot of rice. **Heliyon**, [S. l.], v. 6, n. 1, 2020.

TADROS, Tharwat; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 108–109, p. 303–318, 2004.

TAMASHIRO, H. R. S.; SILVEIRA, J. A. G.; MANTOVANI, D. M. N.; CAMPANÁRIO, C. R. A. de A. Aspectos determinantes do consumo de produtos cosméticos verdes. **Review of Administration and Innovation - RAI**, v. 11, n. 1, p. 238, 13 abr. 2014.

TAO, H., YAN, J., ZHAO, J., TIAN, Y., JIN, Z., XU, X. Effect of multiple freezing/thawing cycles on the structural and functional properties of waxy rice starch. **Plos One**, v. 10, issue 5, p. 127-138, 2015.

THEN, Yoon Yee; IBRAHIM, Nor Azowa; YUNUS, Md Zin Wan. Enhancement of Tensile Strength and Flexibility of Polycaprolactone/Tapioca Starch Blends by Octadecylamine Modified Clay. **Journal of Polymers and the Environment**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 535–539, 2011.

TORRES, Ophelie; MURRAY, Brent; SARKAR, Anwasha. Emulsion microgel particles: Novel encapsulation strategy for lipophilic molecules. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 55, p. 98–108, 2016.

TYRODE, Eric; ALLOUCHE, Joachim; CHOPLIN, Lionel; SALAGER, Jean Louis. Emulsion catastrophic inversion from abnormal to normal morphology. 4. Following the emulsion viscosity during three inversion protocols and extending the critical dispersed-phase concept. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 67–74, 2005.

VAN DER BURGT, Y. E. M.; BERGSMA, J.; BLEEKER, I.P.; MIJLAND, P. J. H. C.; KAMERLING, J. P.; VliegENHART, J. F. G. Structural studies on methylated starch granules. **Starch/Stärke**, v. 52, n. 2-3, p. 40-43, 2000.

VERMEYLEN, R., DERYCKE, V., DELCOUR, J. A., GODERIS, B., REYNAERS, H., & KOCH, M. H. J. Gelatinization of starch in excess water: Beyond the melting of lamellar crystallites. A combined wide- and small-angle X-ray scattering study. *Biomacromolecules*, v. 7, issue 9, p. 2624-2630, 2006.

VIEIRA, G.S. **Análise sensorial: terminologia, desenvolvimento de padrões e treinamento de painelistas para avaliação de produtos cosméticos**. Dissertação de Mestrado. Ribeirão Preto, 2015.

WAIGH, T.A., GIDLEY, M.J., KOMANSHEK, B.U., DONALD, A.M. The phase transformations in starch during gelatinization: a liquid crystalline approach. **Carbohydrate research**. Volume 328, p. 165-176, 2000.

WANG, B., WANG, L. J., LI, D., OZKAN, N., LI, S. J., MAO, Z. H. Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. **Carbohydrate Polymers**, volume 77, issue 3, p. 472-481, 2009.

WANG, Fan C.; MARANGONI, Alejandro G. Advances in the application of food emulsifier α -gel phases: Saturated monoglycerides, polyglycerol fatty acid esters, and their derivatives. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 483, p. 394–403, 2016.

WANG, Yifeng; DONG, Meng; GUO, Mengmeng; WANG, Xia; ZHOU, Jing; LEI, Jian; GUO, Chuanhang; QIN, Chaoran. Agar/gelatin bilayer gel matrix fabricated by simple thermo-responsive sol-gel transition method. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 77, p. 293–299, 2017.

WEIL, Wanphen; WEIL, Robert C.; KEAWSOMPONG, Suttipun; SRIROTH, Klanarong; SEIB, Paul A.; SHI, Yong-cheng. Food Hydrocolloids Pyrodextrin from waxy and normal tapioca starches: Physicochemical properties. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 104, n. February, p. 105745, 2020.

WESTESEN, K.; BUNJES, S.; HAMMER, G.; SIEKMANN, B. Novel colloidal drug delivery systems. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 55, n. 4, p. 240-247, 2001.

YE, F., MIAO, M., JIANG, B., HAMAKER, B. R., JIN, Z., ZHANG, T. Characterizations of oil-in-water emulsion stabilized by different hydrophobic maize starches. **Carbohydrate Polymers**. V.166, Issue 15, p. 195-201, 2017.

ZABARA, Alexandru; MEZZENGA, Raffaele. Controlling molecular transport and sustained drug release in lipid-based liquid crystalline mesophases. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 188, p. 31–43, 2014.

ZHANG, C., HAN, J.A., LIM, S.T. Characteristics of some physically modified starches using mild heating and freeze-thawing. **Food Hydrocolloids**. V.77, p.894-901, 2018.

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.122, p. 456-48, 2015.

ZOUBOULIS, C.C., ELEWA, R., OTTAVIANI, M., FLUHR, J., PICARDO, M., BERNOIS, A., HEUSÈLE, C., CAMERA, E. Age influences the skin reaction pattern to mechanical stress and its repair level through skin care products. **Mechanisms of Ageing and Development**. V. 170, p. 98-105, 2018.

ANEXOS

ANEXO I - FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL (11 PONTOS)

Nome:

❖ Cor

Não Branco

Branco

❖ Brilho

Não Brilhante

Brilhante

❖ Opacidade

Não Opaco

Opaco

❖ Formação de Elevação

q

Sem Elevação

Alta Elevação

❖ Fluidez

Não Fluido

Fluido

❖ Pegajosidade (Pré Aplicação)

Não Pegajoso

Pegajoso

❖ Espalhabilidade

Espalhável com Dificuldade

Facilmente Espalhável

❖ Refrescância

Não Refrescante

Refrescante

❖ Sensação ao Toque

Sensação Não Suave

Sensação Suave

❖ Branqueamento

Sem Branqueamento

Com Branqueamento

❖ Resíduo _____

Resíduo

❖ Pegajosidade (Pós Aplicação)

Não Pegajoso

Pegajoso

ANEXO II – PROTOCOLO CEP SENSORIAL

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. CEP/FCFRP nº. 016/2016
kms

Ribeirão Preto, 16 de junho de 2016.

A Pós-graduanda
Gisely Spósito Vieira
Orientador: Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho
Departamento de Ciências Farmacêuticas
FCFRP/USP

Prezada Pós-graduanda,

Informamos que o projeto de pesquisa intitulado "ANÁLISE SENSORIAL DESCRITIVA: DESAFIOS ENTRE A METODOLOGIA E A PERCEPÇÃO HUMANA", apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº. 388 - CAAE nº 48420615.1.0000.5403, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP/USP em sua 153ª Reunião Ordinária realizada em 13/06/2016.

Lembramos que, de acordo com a Resolução 466/2012, item IV.5, letra d, o TCLE deverá "ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha. Em ambas as vias deverão constar o endereço e contato telefônico ou outro, dos responsáveis pela pesquisa e do CEP local".

Informamos que deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa em formulário próprio deste Comitê, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção do mesmo, tais como eventos adversos e eventuais modificações no protocolo ou nos membros da equipe, através da interposição de emenda na Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

PROF. DR. CLENI MARA MARZUCCHI MACILADO
Coordenadora do CEP/FCFRP

ANEXO III – PROTOCOLO CEP TAPIOCA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. CEP/FCFRP nº. 053/2017
kms

Ribeirão Preto, 20 de dezembro de 2017.

À Pós-graduanda
Marina Pereira de Abreu Oliveira
Orientador: Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho
Depto. de Ciências Farmacêuticas - FCFRP/USP

Prezada Pesquisadora,

Informamos que o projeto de pesquisa intitulado “**APLICAÇÃO DO AMIDO DE MANDIOCA EM FORMULAÇÕES COSMÉTICAS PARA O CUIDADO DA PELE**”, apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº. 422 – CAAE nº 60137816.3.0000.5403, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP/USP em sua 172ª reunião ordinária, conforme Parecer Consubstanciado do CEP nº 2.449.893.

Lembramos que, de acordo com a Resolução 466/2012, item IV.5, letra d, o TCLE deverá “ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha. Em ambas as vias deverão constar o endereço e contato telefônico ou outro, dos responsáveis pela pesquisa e do CEP local”.

Informamos que deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa em formulário próprio deste Comitê, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção do mesmo, tais como eventos adversos e eventuais modificações no protocolo ou nos membros da equipe, através da interposição de emenda na Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

PROFª. DRª. CLENI MARA MARZOCCHI MACHADO
Coordenadora do CEP/FCFRP