UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Tomografia por coerência óptica (OCT), reologia, análise
térmica e tamanho de partículas aplicados na caracterização de
sistemas emulsionados de orientação de uso cosmético**

Paula Souza Prestes

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. André Rolim Baby

São Paulo

2012

Paula Souza Prestes

**Tomografia por coerência óptica (OCT), reologia, análise
térmica e tamanho de partículas aplicados na caracterização de
sistemas emulsionados de orientação de uso cosmético**

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. André Rolim Baby

orientador/presidente

Profa. Lorena Rigo Gaspar Cordeiro

1º. examinador

Prof. Jivaldo do Rosario Matos

2º. examinador

Dedicatória

Aos amores de minha vida:

*Aos meus amados pais, **Rubens e Eunice**, pelo exemplo de vida, pelo amor e dedicação, pelos ensinamentos e valores transmitidos, pela bondade de ambos, pelo caráter, por sempre estarem ao meu lado, nunca medindo esforços para que eu pudesse alcançar meus sonhos.*

*Às minhas queridas irmãs, pelos momentos de descontração, companheirismo e apoio, quando necessário; pelo carinho e alegria contagiante transmitidos pela querida **Flávia** e “pequena” **Vitória**.*

*À memória de minha irmãzinha **Mariana**, a qual, logo na infância, me fez despertar aos mais puros sentimentos da vida, o amor e a saudade.*

*À memória de meus queridos e amados avôs, **Rubens e Nilza**, pelo carinho, amor, dedicação, paciência e ensinamentos. Ausentes no plano físico, porém, presentes em meu coração em todos os momentos, durante toda a eternidade.*

*À minha avó **Rita** e ao avô **João** (in memoriam) pelo carinho.*

*Ao meu noivo, **Douglas**, pelo amor, carinho, paciência, constante incentivo e compreensão nos momentos difíceis de minha vida.*

À eles, dedico minha obra, por me ensinarem a essência da vida: o respeito, a humildade e o amor.

Agradecimento Especial

Ao meu orientador, Professor Doutor André Rolim Baby, pelos ensinamentos no decorrer do estudo, pela confiança, pelo incentivo à pesquisa e ajuda em meu crescimento profissional e pessoal

Agradecimentos

A Deus, pela oportunidade concedida, e aos meus protetores espirituais, sempre iluminando meu caminho e me intuindo ao bem.

Às amigadas e colegas de trabalho que conquistei durante minha permanência no mestrado: Tatiana Balogh, Carla Pedriali, Roxana Flores, Robson Gama, Débora Granemann, Deborah Nishikawa, Fernanda Sarruf, Katyucia Sulamy, Camila Oliveira, Fabiana Graziola e Daniela Peres. Pela companhia, momentos de alegria e angústia compartilhadas, sempre ajudando e apoiando, cada um com suas peculiaridades.

Aos estagiários do laboratório Mariana Costa, Michelli, Mayara, Caynan, Elaine, Raquel, Larissa, Kamila e Priscila pelas colaborações e momentos de distração.

À aluna de iniciação científica Caroline Schetini Perrotti Spegiorin pela ajuda inicial em meu estudo.

À Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira Pinto e Edgar Machado Muniz Junior pela constante ajuda.

Às Professoras Doutoras Maria Valéria Robles Velasco e Telma Mary Kaneko pelas contribuições científicas. Às professoras Doutoras Carlota Oliveira Rangel Yagui e Vladi Olga Consiglieri pelo exame de seleção.

Ao Instituto de Química da USP (IQ-USP) e à Professora Doutora Elizabeth Pinheiro Gomes Áreas e Paula Gímenes pela contribuição prática e valiosas dicas na área de reologia.

Ao Professor Doutor Luiz Antonio Gioielli e Fabiana Andreia Schafer Martini Soares que contribuíram na realização da análise microscópica sob luz polarizada.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) e aos Doutores Adriano Marim Oliveira e Kleber Lanigra Guimarães e Professora Doutora Maria Helena Ambrosio Zanin pela parceria e contribuição ao desenvolvimento prático de meu trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) e ao Professor Doutor Anderson Zanardi de Freitas pela parceria e contribuição ao desenvolvimento prático de meu trabalho.

Ao Professor Doutor Jivaldo do Rosário Matos, pelas dicas de análise térmica.

Ao doutorando Daniel Granato, pelas dicas de estatística.

À Professora Doutora Gislaine Ricci Leonardi e Professor Doutor Marlus Chorilli que sempre confiaram em mim e incentivaram-me à pesquisa e, também, pela valiosa contribuição em meu exame geral de qualificação

À. Mírian que muito contribuiu com suas conversas, idéias e incentivo.

À Croda, pelo envio de amostras.

Aos secretários do departamento de Farmácia: Elaine M. Ychico, Jorge A. Lima, Edilson F. Santos, Elisabete C. S. Paiva e David

A todos do Departamento de Farmácia e Biblioteca que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os amigos e familiares que me apoiaram, ajudaram a enfrentar as dificuldades e contribuíram com gestos ou palavras de carinho e incentivo.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste sonho, cujos nomes estão ausentes neste texto, mas presentes na memória e no coração.

Muito Obrigada

Agradecimento à Agência de Fomento

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de mestrado (processo n° 2009/12502-5).

Epígrafe

“Se chorei ou se sorri

O importante

É que emoções eu vivi...”

Roberto Carlos

RESUMO

PRESTES, P.S. Tomografia por coerência óptica (OCT), reologia, análise térmica e tamanho de partículas aplicados na caracterização de sistemas emulsionados de orientação de uso cosmético. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Os atributos físicos, físico-químicos e químicos dos sistemas emulsionados são influenciados pelas características das gotículas da fase interna destes, como: concentração, tamanho e morfologia. Dessa forma, os objetivos envolveram a caracterização física e físico-química de sistemas emulsionados obtidos a partir dos tensoativos álcool estearílico 21 OE (óxidos de etileno) (*steareth-21*) e álcool oleílico 20 OE (*oleth-20*), bem como, a introdução da tomografia por coerência óptica (OCT) como técnica analítica para determinação do tamanho de partículas e caracterização morfológica das emulsões. Prepararam-se três formulações, diferindo-se no tensoativo utilizado, sendo o sistema emulsionado SE-1 composto por 8,0% (p/p) de *oleth-20*; o SE-2 por 4,0% (p/p) de *oleth-20* e 4,0% (p/p) *steareth-21*; e o SE-3 por 8,0% (p/p) *steareth-21*. Avaliaram-se a estabilidade preliminar, o valor de pH, os perfis reológico e termogravimétrico. A presença de fase gel cristalina foi determinada por meio da microscopia com luz polarizada e, o tamanho das gotículas, por meio da microscopia óptica comum, difração a *laser* e OCT. As amostras não apresentaram sinais de instabilidade por meio dos testes da centrifugação e do estresse térmico. O valor de pH foi considerado compatível com o da pele humana (4,6 a 5,8). Os sistemas apresentaram comportamento reológico não-Newtoniano pseudoplástico. SE-1 apresentou viscosidade aparente inferior (223,53 mPa.s) e área de histerese (2238,38 Pa/s) estatisticamente igual ao SE-2 (2911,19 Pa/s); SE-2 apresentou valor intermediário de viscosidade aparente (332,20 mPa.s) e, SE-3, valores superiores para ambos os parâmetros (636,40 mPa.s e 4248,97 Pa/s). Os testes oscilatórios constataram a predominância do caráter elástico para os três sistemas. Por meio da termogravimetria, o perfil das três amostras foi semelhante, independentemente do tipo e concentração do tensoativo não-iônico. Observou-se a presença de fase gel cristalina para os três sistemas, sendo aparentemente mais pronunciado para o SE-2. Tanto na análise microscópica quanto na difração a *laser* foram obtidos tamanho médio de partículas menor que 6,0 μm . De acordo com os resultados da OCT, as partículas menores que 6,0 μm não foram possíveis de serem conclusivamente observadas e aquelas maiores sugeriram ser a fase interna dos sistemas.

Palavras-chave: Emulsões cosméticas O/A. Gotículas fase interna. Tensoativos não-iônicos. Termogravimetria. Viscoelasticidade.

ABSTRACT

PRESTES, P.S. **Optical coherence tomography (OCT), rheology, thermal analysis and particle size determination applied for the characterization of cosmetic use emulsified systems.** 2012. Dissertation (Master's degree) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The physical, physicochemical and chemical attributes of the emulsified systems are influenced by the characteristics of their internal phase droplets, such as: concentration, size and morphology. Thus, the aims involved the physical and physicochemical characterization of emulsions obtained from the stearyl alcohol condensed with 21 mols ethylene oxide (EO) (steareth-21) and oleyl alcohol with 20 mols EO (oleth-20), as well as, the introduction of the optical coherence tomography (OCT) as the analytical technique tool to the determination of the particle size and morphological characterization of the emulsified systems. Three formulations were prepared, differing at the surfactant used, being the emulsified system SE-1 composed by 8.0% (p/p) of oleth-20, the SE-2 by 4.0% (p/p) of oleth-20 and 4.0% (p/p) steareth-21; and the SE-3 by 8.0% (p/p) steareth-21. The preliminary stability was evaluated, such as the ph value and the rheological and thermogravimetric profiles. The presence of the crystalline gel phase was determined from microscopy with polarized light and the droplet size through regular optical microscopy, laser diffraction and OCT. The samples did not present signs of instability throughout the centrifugation and thermal stress tests. The ph value was considered compatible to human skin (4.6 to 5.8). Systems represent the non-Newtonian pseudoplastic rheological behaviour. The SE-1 presented inferior apparent viscosity (223.53 mPa.s) and the hysteresis area (2238.38 Pa/s) statistically equal to SE-2 (2911.19 Pa/s); the SE-2 presented an average value of apparent viscosity (332.20 mPa.s) and, the SE-3, superior values to both parameters (636.40 mPa.s and 4248.97 Pa/s). The oscillating tests verified the elastic character predomination to the three systems. Throughout the thermogravimetry, the profile of the three samples was similar, independent from the kind and concentration of the non-ionic surfactant. The presence of the crystalline gel phase was identified at the three systems, being apparently more pronounced to the SE-2. Either at the microscopic analysis as well as at the laser diffraction were obtained an average size of the particles minor than 6.0 μm . According to OCT results, the particles below 6.0 μm were not possible to be identified and the major particles were suggested be the internal phase of the systems, however new studies should be performed.

Key-words: Cosmetic emulsions O/A. Internal phase droplets. Non-ionic surfactant. Thermogravimetry. Viscoelasticity

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura química geral do óxido de etileno, onde R é o radical da estrutura e n o número de óxidos de etileno introduzidos na molécula. **Fonte:** <http://www.chemicalregister.com>.....6
- Figura 2.** **a)** Fórmula estrutural do álcool oleílico 20 OE; **b)** Fórmula estrutural do álcool estearílico 21 OE. **Fonte:** <http://www.chemicalregister.com>.....6
- Figura 3.** Representação esquemática do efeito de cisalhamento, sendo em **(a)** o cubo hipotético sujeito à aplicação de força e em **(b)** o cubo sujeito à uma força tangencial na camada superior. **Fonte:** AULTON, 2005.....11
- Figura 4.** Curvas representando os diferentes tipos de comportamentos reológicos. **Fonte:** BARRA, 2010.....13
- Figura 5.** Reogramas obtidos em **(a)** por um material tixotrópico pseudoplástico e, em **(b)**, por um material tixotrópico dilatante. **Fonte:** AULTON, 2005.....14
- Figura 6.** Representação esquemática das principais fases líquido-cristalinas liotrópicas, respectivamente, **(a)** cristal líquido lamelar, **(b)** cristal líquido hexagonal e **(c)** cristal líquido cúbico micelar. **Fonte:** BRINON *et al.*, 1999.....18
- Figura 7.** Interação do raio de luz com uma partícula esférica, **(a)** ângulos difratados determinados pelo tamanho da partícula e **(b)** um padrão de difração. **Fonte:** PAPINI, 2003; PAPINI; LEAL NETO, 2006.....20

- Figura 8.** Tomografia de coerência óptica da palma da mão humana, sendo **A**: camada córnea, **B**: epiderme viável, **C**: derme e **D**: glândula sudorípara. **Fonte:** FREITAS; AMARAL; RAELE, 2010.....23
- Figura 9.** Imagens de tomografia por coerência óptica de amostras de cabelo afroétnico. **(a)** Imagem transversal e **(b)** longitudinal. Em ambas observam-se a medula, córtex e cutícula. **Fonte:** VELASCO *et al.*, 2009.....24
- Figura 10.** Principais componentes de um sistema de tomografia por coerência óptica. **Fonte:** FREITAS, 2007; VELASCO *et al.*, 2009.....25
- Figura 11.** Processo de formação de uma imagem de OCT, em **(a)** utilizando-se mapas de cores falsas em níveis de cinza e, em **(b)**, em níveis de cores do arco-íris. **Fonte:** FREITAS, 2007.....27
- Figura 12.** Aparato de vidro contendo três cubetas.....38
- Figura 13.** Curvas de fluxo dos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3 representadas como tensão de cisalhamento (Pa) em função da taxa de cisalhamento (1/s), com as velocidades variando de 0,1 a 200,0 1/s.....43
- Figura 14.** Varredura de amplitude dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 realizado à temperatura ambiente ($22,00 \pm 0,01^{\circ}\text{C}$) após 24 horas de preparo da formulação.....46

- Figura 15.** Varredura de frequência do sistema SE-3 realizado à temperatura ambiente ($22,00 \pm 0,01^{\circ}\text{C}$) após 24 horas de preparo da formulação.....47
- Figura 16.** Curvas TG/DTG obtidas a $10,0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (20 mL/min) das amostras do SE-1, SE-2 e SE-3. A seta pode estar relacionada com a perda da glicerina.....50
- Figura 17.** Curvas TG/DTG obtidas a $10,0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (20 mL/min) da fase oleosa da amostra SE-1.....51
- Figura 18.** Curvas TG/DTG obtidas a $10,0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (20 mL/min) da fase oleosa da amostra SE-2.....52
- Figura 19.** Curvas TG/DTG obtidas a $10,0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera dinâmica de N_2 (20 mL/min) da fase oleosa da amostra SE-3.....53
- Figura 20.** Representação, primeiramente, da perda de massa referente à água livre (setas azuis) e, posteriormente, à perda de massa da água ligada entre as lamelas (setas amarelas) dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3.....55
- Figura 21.** Fotomicrografia do SE-1, observado à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$). I: microscopia sem luz polarizada (400X); II: microscopia com luz polarizada (400X).....57
- Figura 22.** Fotomicrografia do SE-2, observado à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$). I: microscopia sem luz polarizada (400X); II: microscopia com luz polarizada (400X).....57

- Figura 23.** Fotomicrografia do SE-3, observado à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$). **I:** microscopia sem luz polarizada (400X); **II:** microscopia com luz polarizada (400X).....57
- Figura 24.** Representação da fase gel cristalina (abaixo da temperatura de transição) e fase líquido-cristalina (acima da temperatura de transição). Na qual T_c : temperatura de transição. **Fonte:** ECCLESTON, 1990.....59
- Figura 25.** Ilustração esquemática de uma gotícula de óleo sendo estabilizada por multilamelas de fase cristalina. **Fonte:** ECCLESTON, 1990....61
- Figura 26.** Contagem das gotículas da fase interna da emulsão realizado pelo programa Image[®] Pro Plus.....62
- Figura 27.** Valores médios ($n = 3$) e os desvios padrão do tamanho das partículas dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 por microscopia óptica. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,05$).....63
- Figura 28.** Valores médios ($n = 3$) e os desvios padrão dos valores de tamanho máximo encontrados para os sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 por microscopia óptica. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,05$).....63
- Figura 29.** Resultados individuais obtidos a partir do $D[4,3]$. Diâmetro médio ($n = 3$) das partículas nos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,05$). $D[4,3]$ é o diâmetro médio por volume das partículas.....65

- Figura 30.** Microesfera juntamente com gel de carbômero 1,0% (p/p), **(a)** a esfera encontra-se sobre o gel e **(b)** a esfera encontra-se introduzida ao gel.....67
- Figura 31.** Imagem tomográfica do sistema emulsionado SE-1, sem dispersão.....69
- Figura 32.** Imagem tomográfica da dispersão do sistema emulsionado SE-1.....69
- Figura 33.** Imagem tomográfica da dispersão do sistema emulsionado SE-2.....70
- Figura 34.** Imagem tomográfica da dispersão do sistema emulsionado SE-3.....70
- Figura 35.** Imagens tomográficas da dispersão do sistema emulsionado SE-1, com tempo reduzido de obtenção de imagens.....71
- Figura 36.** Imagens tomográficas obtidas dos sistemas a uma dispersão de 1:10, onde **(a)** SE-1, **(b)** SE-2 e **(c)** SE-3. Setas indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão.....72
- Figura 37.** Imagens tomográficas obtidas dos sistemas a uma dispersão de 1:50, onde **(a)** SE-1, **(b)** SE-2 e **(c)** SE-3. Setas indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão.....73
- Figura 38.** Imagens tomográficas obtidas dos sistemas a uma dispersão de 1:100, onde **(a)** SE-1, **(b)** SE-2 e **(c)** SE-3. Setas indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão.....74
- Figura 39.** Imagem tomográfica obtida do sistema SE-3 na dispersão de 1:10. Seta indica possível gotícula da fase interna da emulsão.....77

- Figura 40.** Imagem tomográfica obtida do sistema SE-3 na dispersão de 1:10. Seta indica possível gotícula da fase interna da emulsão.....77
- Figura 41.** Imagens tomográficas obtidas da dispersão (1:100) do sistema emulsionado SE-2. Setas e círculos indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão.....78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição quali e quantitativa (% p/p) sugerida das formulações dermocosméticas, onde SE: sistema emulsionado.....	31
Tabela 2. Caracterização organoléptica (aspecto, cor e odor) e média (n=2) do valor de pH dos sistemas emulsionados (SE).....	39
Tabela 3. Caracterização organoléptica (aspecto, cor e odor) dos sistemas emulsionados (SE) após o Teste da Centrifugação.....	39
Tabela 4. Caracterização organoléptica (aspecto, cor e odor) e média (n=2) do valor de pH dos sistemas emulsionados (SE) após o Teste do Estresse térmico.....	39
Tabela 5. Média dos valores da viscosidade aparente (n=3) registrados em função da taxa de cisalhamento de 200,0 1/s e da área de histerese (n=3) dos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3, à 22,00 ± 0,01°C.....	40
Tabela 6. Média (n = 3) e desvios-padrão dos resultados obtidos da distribuição das gotículas da fase interna dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3: distribuição de 10%, 50%, 90% e D[4,3].....	64
Tabela 7. Tamanho das partículas (µm) das regiões indicadas pelas setas dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 nas dispersões de 1:10, 1:50 e 1:100.....	76
Tabela 8. Média e desvio-padrão dos resultados obtidos dos tamanhos das partículas dos sistemas emulsionados, por meio das técnicas microscopia óptica e difração a <i>laser</i>	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O – água em óleo

C – cadeia carbônica

D – diâmetro

DSC – calorimetria exploratória diferencial

DTG – termogravimetria derivada

E_0 – fonte óptica

E_R – braço de referência

E_S – braço da amostra

f – frequência

FWHM – *full width at half maximum*, largura total à meia altura

G' – módulo elástico, módulo de armazenamento

G'' – módulo viscoso, módulo de perda

INCI – *international nomenclature of cosmetic ingredients*, nomenclatura internacional dos ingredientes cosméticos

LALLS – difração de raio *laser* de baixo ângulo

LED – *light emitting diode*, diodo emissor de luz

OCT – *optical coherence tomography*, tomografia por coerência óptica

O/A – óleo em água

OE – óxido de etileno

rpm – rotação por minuto

RVL – região viscoelástica linear

SE – sistema emulsionado

T – temperatura

TG – termogravimetria

v – volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Emulsões.....	4
2.2 Estabilidade de emulsões	7
2.3 Comportamento reológico	9
2.4 Análise térmica.....	15
2.5 Microscopia de luz polarizada: cristais líquidos	16
2.6 Determinação de tamanho de partículas	19
2.6.1 Análise microscópica.....	19
2.6.2 Difratometria a laser.....	19
2.6.3 Tomografia por coerência óptica.....	22
3 OBJETIVOS	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Material.....	29
4.1.1 Equipamentos.....	29
4.1.2 Matérias-primas.....	29
4.1.3 Material de acondicionamento (embalagem primária).....	30
4.1.4 Material auxiliar na obtenção das imagens tomográficas	30
4.2 Métodos.....	30
4.2.1 Sistemas emulsionados	30
4.2.1.1 Técnica de preparo	31
4.2.2 Avaliação preliminar da estabilidade.....	32
4.2.2.1 Teste da centrifugação.....	32
4.2.2.2 Teste do estresse térmico.....	33
4.2.2.3 Critérios de aceite/rejeição.....	33
4.2.3 Caracterização físico-química	33
4.2.4 Caracterização física: determinação do perfil reológico	33
4.2.4.1 Ensaio rotacional.....	34

4.2.4.2 Ensaio oscilatório	35
4.2.5 Termogravimetria	36
4.2.6 Caracterização física: determinação morfológica e tamanho de partícula da fase interna das emulsões	36
4.2.6.1 Análise microscópica.....	36
4.2.6.2 Difratometria a <i>laser</i>	37
4.2.6.3 Tomografia por coerência óptica.....	38
4.2.7 Análise Estatística: microscopia óptica <i>versus</i> difratometria a <i>laser</i>	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 Avaliação preliminar de estabilidade.....	39
5.2 Caracterização física: determinação do perfil reológico	40
5.2.1 Ensaios rotacionais	40
5.2.2 Ensaios oscilatórios.....	44
5.3 Termogravimetria	49
5.4 Caracterização física: determinação morfológica e tamanho de partícula da fase interna das emulsões	56
5.4.1 Análise microscópica.....	56
5.4.1.1. Determinação morfológica	56
5.4.1.2 Determinação do tamanho de partícula	62
5.4.2 Difratometria a <i>laser</i>	64
5.4.3 Tomografia por coerência óptica.....	66
5.5 Análise estatística: microscopia óptica <i>versus</i> difratometria a <i>laser</i>	79
6 CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS	82
Anexos.....	90
ANEXO A – Carta de aceite do manuscrito submetido para publicação.....	91
ANEXO B – Título do manuscrito aceito para publicação, autores com suas respectivas filiações e <i>summary</i>	92

1 INTRODUÇÃO

O Brasil situa-se, atualmente, na terceira posição internacional dentre os países de maior consumo de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, estando abaixo, somente, dos Estados Unidos e do Japão (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS (ABIHPEC), 2011).

Com indicadores econômicos Brasileiros significativos, o setor apresentou, nos últimos 14 anos, crescimento médio deflacionado de 10,5%, passando de faturamento *ex-factory* (líquido de imposto sobre vendas) de R\$ 4,9 bilhões, em 1996, para R\$ 27,3 bilhões, em 2010. Em função desse perfil de crescimento, as empresas investiram em inovação, o que resultou em progresso e consumidores mais exigentes, adotando novos hábitos de compras. Tal contexto fez com que as indústrias de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes adaptassem o comportamento das vendas dos produtos em geral, também, fidelizando os seus consumidores (ABIHPEC, 2011).

Dessa forma, as indústrias visaram à produção eficiente e competitiva de produtos cosméticos de qualidade consistentemente elevada. Para isso, a seleção criteriosa dos componentes adjuvantes e compostos ativos das formulações; do processo de produção, bem como, do controle da qualidade são fatores de relevância. Além desses fatores, é mandatório o conhecimento de como os parâmetros físicos, físico-químicos e químicos influenciam a micro-organização morfológica dos sistemas emulsionados, como produtos finais ou acabados (McCLEMENTS, 2007).

É de grande interesse para as indústrias cosmética e farmacêutica, ter o conhecimento dos sistemas emulsionados, por exemplo, estudos de tensão e análise térmica podem fornecer parâmetros do comportamento do seu sistema, bem como da sua estabilidade, para melhor visualização de sua aplicabilidade e aceitabilidade pelos consumidores.

No presente trabalho, tais parâmetros foram avaliados por meio de ensaios reológicos, os quais fornecem dados a respeito do comportamento do sistema emulsionado frente à aplicação de uma tensão. O interesse pelos

ensaios reológicos vem crescendo nos últimos anos, pois seus resultados fornecem dados que podem prever a aceitabilidade do produto, entre outros.

Materiais, como as emulsões, possuem estrutura complexa. Eles diferem de simples fluídos que dissipam energia por meio do fluxo viscoso ou de simples sólidos que armazenam energia elástica, características que estão relacionadas à suas estruturas e identificadas nos ensaios reológicos (VIANNA FILHO, 2009).

Estudos térmicos têm sido empregados na área cosmética com a finalidade da complementação da avaliação da estabilidade do produto. A análise térmica vem sendo aplicada para a caracterização de produtos cosméticos, com a finalidade do conhecimento do perfil térmico do produto em questão e/ou dos componentes da formulação. Os ensaios térmicos, mais empregados em pesquisa na área cosmética, são a termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e também a calorimetria exploratória diferencial (DSC). No presente trabalho, as técnicas exploradas foram a termogravimetria e a termogravimetria derivada.

Os atributos físicos, físico-químicos e químicos dos sistemas emulsionados são influenciados pelas características das gotículas da fase interna, como exemplo: concentração, tamanho, morfologia e carga elétrica. Dessa forma, ferramentas analíticas e metodologias experimentais são requeridas para a obtenção, qualificação e quantificação de tais características e, dentre estas, a análise do tamanho das gotículas e/ou sua morfologia são comumente determinadas por ensaios de microscopia ou por difratometria a *laser* (SALAGER, 2000; AULTON, 2005).

Neste contexto, para contribuir com o avanço técnico-científico, apontou-se a necessidade da inserção de uma metodologia inovadora, a Tomografia por Coerência Óptica (OCT – *Optical Coherence Tomography*), com o propósito de caracterizar morfologicamente e determinar o tamanho de gotículas de sistemas emulsionados empregados como veículos farmacêuticos ou cosméticos.

Na década de 1990, Huang e colaboradores (1991), aplicaram os princípios da tomografia de coerência óptica em imagens de tecidos biológicos. Esta técnica abriu novos horizontes para novas áreas do conhecimento, como

a oftalmologia (HEE *et al.*, 1995; MEIRELLES *et al.*, 2005) e dermatologia (FREITAS, AMARAL; RAELE, 2010).

Atualmente a OCT é bastante empregada em consultórios oftalmológicos em muitos países (aprovado pela Food and Drug Administration nos Estados Unidos) e espalhou sua aplicabilidade na odontologia (FREITAS *et al.*, 2006; MELO *et al.*, 2005), dermatologia e na área industrial (GOODE, 2009).

A tomografia por coerência óptica, até o presente momento, não foi utilizada para a finalidade de determinação do tamanho das gotículas da emulsão, o que promove um caráter promissor ao estudo.

O foco do trabalho é o estudo do comportamento de sistemas emulsionados contendo tensoativos não-iônicos. O interesse pela escolha desses tensoativos foi devido aos mesmos não apresentarem carga iônica quando em solução aquosa. Por não interagirem eletricamente com os componentes da formulação, o que causaria instabilidade, os produtos com bases não-iônicas são amplamente utilizados na área, o que possibilita a incorporação de uma variedade de compostos ativos e adjuvantes cosméticos uma vez que, contribuindo com os formuladores e favorecendo os consumidores, promovem menos irritabilidade à pele humana (ECCLESTON, 1997; BALCAN *et al.*, 2002; LIU; POHL, 2008).

Revisão da Literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Emulsões

Emulsões são consideradas sistemas heterogêneos compostos por, pelo menos, um elemento imiscível no estado físico líquido, disperso intimamente em outro sob a forma de glóbulos e, por se tratarem de sistemas instáveis, necessitam de uma terceira fase para serem estabilizadas: os agentes tensoativos ou emulsificantes (SILVA; SOARES, 1996; ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr., 2000).

No momento em que os sistemas oleoso e aquoso entram em contato, sob agitação, são produzidas as gotículas da fase interna, sendo que as mesmas são formadas em tamanhos diferentes, dependendo das condições do preparo e demais parâmetros (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001). As gotículas poderão ser parâmetros para classificação do tipo de emulsão, sendo o tipo óleo-em-água (O/A) aquela em que o sistema oleoso constitui a fase dispersa, interna ou descontínua e o sistema aquoso, a fase dispersante, externa ou contínua. Estas são quantitativamente mais utilizadas devido ao sensorial considerado menos oleoso e agradável (SILVA; SOARES, 1996). Outra classificação das emulsões seria a água-em-óleo (A/O), no qual as gotículas da fase interna seriam constituídas pela fase aquosa da formulação (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1981; LEONARDI, 2004).

Tais sistemas são amplamente utilizados em segmentos de importância econômica, como nas indústrias de alimentos, de produtos cosméticos e de medicamentos. A obtenção de sistemas estáveis possuindo parâmetros indicativos quanti e qualitativamente confiáveis e reproduzíveis são requisitos relevantes, dentre outros, para a comercialização e aceitação das emulsões como veículos para agentes terapêuticos e de compostos ativos cosméticos (AMBROSONE *et al.*, 1999).

Para que possam ser aplicadas às mais diversas áreas, como cosmética, farmacêutica e química em geral, as emulsões devem apresentar período definido e pré-determinado de estabilidade (físico-química, por exemplo), sendo este dependente das aplicações pretendidas (BECHER; SCHICK, 1987; ATTWOOD, 2005).

Essas formulações são sistemas estabilizados cineticamente pela adição de agentes tensoativos, que são capazes de diminuir a tensão interfacial do sistema e de formar filme interfacial com propriedades estéricas e eletrostáticas em torno dos glóbulos da fase interna (JEONG; OH; KIM, 2001; MORRISON; ROSS, 2002).

Os agentes tensoativos são moléculas com características anfifílicas. Adsorvem-se na interface entre as fases dispersa e dispersante durante o processo de emulsificação e podem, prontamente, prevenir fenômenos como: floculação, coalescência e, conseqüentemente, possível separação de fase. Essas substâncias são classificadas como não-iônicos, aniônicos, catiônicos e anfóteros, de acordo com sua estrutura química (LOU; SOMASUNDARAM; ZHANG, 2001).

Os tensoativos não-iônicos não possuem carga elétrica quando dissociado em solução aquosa; os aniônicos possuem carga negativa quando dissociado, enquanto os catiônicos, carga positiva (SANTORO, 2006). Os tensoativos anfóteros possuem predominância da carga positiva em meio ácido; predominância de carga negativa em meio básico (LOU; SOMASUNDARAM; ZHANG, 2001).

Dentre os tensoativos existentes no mercado, foram selecionados para o desenvolvimento das formulações neste trabalho aqueles com caráter não-iônico etoxilado. A escolha por essa classe de tensoativos foi motivada devido às suas características estruturais e por não interagirem eletricamente com outros componentes da formulação (BALCAN *et al.*, 2002; LIU; POHL, 2008).

Dentre os tensoativos não-iônicos, os agentes etoxilados são amplamente empregados em produtos cosméticos. Suas propriedades e aplicações dependem do equilíbrio entre a cauda hidrofóbica de hidrocarbonetos e a cadeia polar de poli(óxido de etileno) (BALCAN *et al.*, 2002; LIU; POHL, 2008).

Os tensoativos selecionados para o estudo foram o álcool oleílico etoxilado com 20 mols de óxido de etileno (*oleth-20*) e o álcool estearílico etoxilado com 21 mols de óxido de etileno (*steareth-21*). A estrutura geral dos mols de óxido de etileno é representada na **Figura 1**.

Figura 1. Estrutura química geral do óxido de etileno, onde *R* é o radical da estrutura e *n* o número de óxidos de etileno introduzidos na molécula

Fonte: <http://www.chemicalregister.com>

As estruturas químicas e fórmulas moleculares dos tensoativos álcool oleílico 20 óxidos de etileno (OE) e álcool estearílico 21 OE encontram-se esquematizados na **Figura 2**.

Figura 2. a) Fórmula estrutural do álcool oleílico 20 OE; **b)** Fórmula estrutural do álcool estearílico 21 OE

Para que os agentes emulsificantes exerçam suas funções adequadamente num sistema emulsionado, devem apresentar as seguintes características (SANTORO, 2006):

- Reduzir a tensão superficial dos sistemas
- Ser rapidamente adsorvido ao redor das gotículas dispersas, como um filme condensado não aderente que previne coalescência
- Proporcionar potencial elétrico adequado para repulsões múltiplas ocorrerem
- Ser efetivo em concentrações razoáveis

De acordo com Lou, Somasundaram e Zhang (2001), outros fatores que também influenciam na função do emulsificante são o número de átomos carbonos na cadeia, número e localização das insaturações e presença de grupos funcionais adicionais.

Mediante o contexto, a obtenção de formas farmacêuticas emulsionadas de aplicação terapêutica ou cosmética depara-se com limitações técnico-

científicas diversas inerentes da instabilidade termodinâmica destes veículos (AMBROSONE *et al.*, 1999; LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001).

2.2 Estabilidade de emulsões

Formulação tópica estável é definida como aquela que mantém, dentro de limites específicos e prazo de validade, as mesmas características que apresenta logo que fabricada. Ainda, pode-se dizer que uma emulsão estável é capaz de conservar as proporções entre componentes e manter o filme interfásico mesmo após exposições a tensões decorrentes de fatores, como temperatura e agitação. A formulação ainda deve ser capaz de manter a integridade química de seus componentes, evitando alterações indesejáveis, como oxidação e hidrólise, que podem resultar na obtenção de compostos tóxicos e irritantes, afetando a eficácia e segurança do produto (BOODTS, 2003).

Para que seja garantida a estabilidade do sistema, a realização de testes de estabilidade é necessária, assegurando a estabilidade química, física, físico-química e microbiológica em função do tempo, sendo possível determinar o seu tempo de prateleira (*shelf-life*) (GONÇALVES, 1999).

Os testes de estabilidade devem ser conduzidos sob condições que permitam fornecer informações sobre a estabilidade do produto no menor período de tempo possível, assim, as amostras devem ser armazenadas em condições que acelerem mudanças que poderiam ocorrer durante o prazo de validade, contudo deve-se tomar cuidado para que tais condições não sejam extremas em demasia, assim, provocando alterações que não ocorreriam no mercado (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2004).

Os estudos de estabilidade podem ser classificados de acordo com o tempo de duração, podendo ser estudos de curto prazo (envelhecimento acelerado) e de longo prazo (envelhecimento natural). Os estudos a curto prazo têm por finalidade prever a vida útil do produto, ou seja, quando este estiver sob as condições ambientais de armazenamento de uso, enquanto os estudos a longo prazo tem por objetivo avaliar a vida útil real do produto sob

condições habituais de estocagem e uso. Tende a confirmar as estimativas efetuadas com os ensaios a curto prazo (LEONARDI, 2004; ANVISA, 2004).

Este estudo contribui para orientar o desenvolvimento da formulação e material a ser utilizado; fornecer subsídios para aperfeiçoamento das formulações; estimar o prazo de validade; auxiliar no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica (ANVISA, 2004).

A perda da estabilidade físico-química dessas formulações pode ser caracterizada por meio de três fenômenos, pelo menos:

- Floculação - os glóbulos emulsificados aglomeram-se, mas mantêm o filme interfacial (GULLAPALLI; SHETH, 1999). É um processo reversível (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992; BABY; HAROUTIOUNIAN FILHO; VELASCO, 2006).
- Cremeação - ocorre migração dos glóbulos devido à diferença de densidade entre os líquidos da fase dispersa, levando à distribuição heterogênea dos glóbulos pela fase dispersante. É um processo reversível caso as partículas não se combinem (SILVA; SOARES, 1996; BABY; HAROUTIOUNIAN FILHO; VELASCO, 2006).
- Coalescência - dois ou mais glóbulos se aproximam e, devido à energia presente no sistema, se unem, formando um glóbulo maior na fase interna (RIEGER, 1996). O processo resulta em uma separação irreversível do sistema emulsionado em duas fases distintas (BABY; HAROUTIOUNIAN FILHO; VELASCO, 2006).

Além da conservação das propriedades intrínsecas da forma farmacêutica e do composto ativo vinculado a ela, a estabilidade deve controlar a carga microbiana, pois se deve proteger o consumidor de possíveis micro-organismos patógenos e evitar a degradação de componentes da formulação via alteração de valor do pH, produção de gases ou, ainda, por ação enzimática, permitindo haver degradação dos tensoativos pela ação de lipases, levando à quebra da emulsão (PINTO; KANEKO; OHARA; 2000).

Os atributos físicos, físico-químicos, químicos e funcionais (eficácia) dos sistemas emulsionados são influenciados fortemente pelas características das gotículas da fase interna destes veículos, como exemplo: concentração,

tamanho, morfologia, carga elétrica. Ferramentas analíticas e metodologias experimentais são, portanto, requeridas para a obtenção, qualificação e quantificação de tais características (SALAGER, 2000; AULTON, 2005). Além disso, o comportamento reológico, distribuição de água livre e interlamelar, microscopia de luz polarizada são demais metodologias empregadas para a caracterização e obtenção de sistemas emulsionados estáveis (SANTORO, 2006).

2.3 Comportamento reológico

O estudo do comportamento reológico de sistemas emulsionados aprecia importância singular no desenvolvimento de novos produtos, principalmente, devido à sua relação com a estabilidade, mas também, devido ao perfil sensorial, uma vez que a sensação agradável promovida pelo uso do produto cosmético é fundamental para aceitação da fórmula por parte do consumidor (TAMBURIC, 2000; MASSON *et al.*, 2005; PRESTES *et al.*, 2009).

As características reológicas são propriedades a serem consideradas na produção, estocagem e aplicação dos produtos de uso tópico. Cada categoria de produto deve apresentar comportamento reológico adequado e compatível com sua aplicação (ALMEIDA; BAHIA, 2003; CORRÊA *et al.*, 2005; PRESTES *et al.*, 2009). Na área cosmética, um produto deve manter suas características reológicas reprodutíveis lote-a-lote, assegurando a qualidade tecnológica do produto acabado (SORIANO; CONTREARAS; FLORES, 2001; MASSON *et al.*, 2005).

Reologia é a ciência que estuda as propriedades de escoamento (fluxo) e de deformação da matéria sob a ação de forças ou tensões. O termo reologia deriva da palavra grega *rheo* (escoamento) e *logos* (ciência) (REMINGTON, 1998; LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001; ALMEIDA; BAHIA, 2003; TONZAR, 2006). Um dos elementos que a reologia estuda é a viscosidade dos produtos (TADROS, 2004).

Viscosidade pode ser entendida como a resistência interna que um fluido apresenta, resultante da aplicação de força, que causa deformação temporária ou permanente da matéria ou, simplesmente, a resistência do fluido frente ao

fluxo ou movimento. Quanto maior a viscosidade, maior a resistência (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001; AULTON, 2005; TONZAR, 2006).

Isaac Newton definiu a viscosidade (η) como sendo a razão entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento, pois observou que a velocidade de fluxo (taxa ou velocidade de cisalhamento) é diretamente proporcional à tensão aplicada. Fluidos simples que obedecem a essa relação são chamados de fluidos Newtonianos, caracterizam-se por viscosidade constante independente da velocidade de cisalhamento aplicada (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001; AULTON, 2005; TONZAR, 2006). Água, glicerina, clorofórmio, xaropes simples, tinturas, óleos vegetais e sistemas coloidais muito diluídos são exemplos desses fluidos (ALMEIDA; BAHIA, 2003; TONZAR, 2006).

O fenômeno da viscosidade é melhor compreendido considerando um cubo hipotético ordenado em camadas estratificadas em placas paralelas (fluido feito em camadas), que podem deslizar umas sobre as outras. Quando uma força tangencial for aplicada à camada superior, presume-se que cada camada subsequente irá mover-se a velocidades progressivamente decrescentes, e que a camada mais inferior permanecerá estacionária, conforme **Figura 3**. Desse modo existirá um gradiente de velocidade, em m/s, e este será igual à velocidade da camada superior dividida pela altura do cubo, em metros. O gradiente resultante é a velocidade de cisalhamento e terá como unidade o segundo recíproco (1/s) (AULTON, 2005).

A tensão de cisalhamento é definida como a força atuante no cubo sobre a área da camada superior, tendo como unidade Newton por metro quadrado (N/m^2) ou Pascal (Pa) (ALMEIDA; BAHIA, 2003; AULTON, 2005).

Figura 3. Representação esquemática do efeito de cisalhamento, sendo em **(a)** o cubo hipotético sujeito à aplicação de força e em **(b)** o cubo sujeito à uma força tangencial na camada superior

Fonte: AULTON, 2005

Material não-Newtoniano não possui relação proporcional direta entre a taxa e tensão de cisalhamento. O início do escoamento pode se manifestar, ou não, apenas após pressão mínima exercida (valor de cedência) e a velocidade de cisalhamento não aumenta proporcionalmente com a elevação da tensão ou da agitação que provoca o escoamento (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001). A viscosidade varia como uma função da taxa de cisalhamento e, por essa razão, a indicação de um determinado valor de viscosidade deve ser acompanhado da indicação da taxa de cisalhamento, na qual a tensão foi medida. Além disso, sendo a viscosidade uma grandeza dependente da temperatura (T), é essencial que sempre se indique o valor de T a que se refere a medida realizada (TONZAR, 2006). A viscosidade dos líquidos diminui com o aumento da temperatura (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001). Comumente, emulsões, cremes, dispersões, géis e loções apresentam comportamento não-Newtoniano (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001; AULTON, 2005; TONZAR, 2006).

Os sistemas podem ser classificados quanto ao tipo de escoamento em reofluidificantes, também designados pseudoplásticos, reofluidificantes com valor de cedência (plásticos) e reoespessantes, conhecidos também como dilatantes (ALMEIDA; BAHIA, 2003).

O valor de cedência caracteriza-se pela tensão de cisalhamento mínima necessária para produzir o escoamento. Os materiais plásticos (ou de Bingham) se comportam dessa maneira (ALMEIDA; BAHIA, 2003). O fluxo plástico caracteriza-se quando seu reograma não passa pela origem, mas

cruza o eixo da tensão de cisalhamento no valor de cedência (AULTON, 2005). O valor de cedência tem grande importância, sobretudo nas preparações que se pretende manter a sua forma, até atingir a tensão suficiente para que essas sejam aplicadas e espalhadas sobre a pele ou mucosas. As pomadas com vaselina, parafinas, ceras e sílica são exemplos de materiais com tal comportamento (ALMEIDA; BAHIA, 2003).

O comportamento pseudoplástico caracteriza-se pela diminuição da resistência do material ao escoamento com o aumento da velocidade de deformação. Emulsões e suspensões são exemplos de materiais com esse comportamento (ALMEIDA; BAHIA, 2003; TONZAR, 2006). O fluxo pseudoplástico é o mais comumente encontrado em produtos emulsionados devido à sua viscosidade inicial e ao índice de fluidez adequado no momento da aplicação, proporcionando bom espalhamento e melhor cobertura da pele (HEWITT; DAHMS, 1996). O seu reograma inicia na origem e não há ponto de cedência, o material começa a fluir assim que uma tensão de cisalhamento seja aplicada, a inclinação da curva diminui gradualmente com o aumento da velocidade de cisalhamento (AULTON, 2005).

O comportamento dilatante caracteriza-se pelo aumento da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Isso ocorre, pois, quando a suspensão é agitada, o volume dos espaços interpartículas aumenta e a quantidade de líquido se torna insuficiente para assegurar a lubrificação, resultando no aumento da resistência ao escoamento (ALMEIDA; BAHIA, 2003). O seu reograma inicia na origem e não há ponto de cedência (AULTON, 2005).

A **Figura 4** representa o reograma dos materiais com comportamento Newtoniano, plástico, pseudoplástico e dilatante.

Figura 4. Curvas representando os diferentes tipos de comportamentos reológicos

Fonte: BARRA, 2010

Alguns materiais apresentam ainda a viscosidade dependente do tempo de aplicação da taxa de cisalhamento. Isso ocorre quando o fluido é deformado a velocidade constante. Com isso, distinguem-se dois tipos de comportamento: tixotropia e antitixotropia (reopexia) (ALMEIDA; BAHIA, 2003; TONZAR, 2006).

Tixotropia é uma palavra de origem grega na qual ocorreu a junção de duas outras: *thixis* que significa agitação e *trepo* que significa transformação, mudança. Hoje é aceito tixotropia como o fenômeno reversível de diminuição de viscosidade de um fluido com o tempo, quando submetido a um cisalhamento constante (LEE; MOTURI; LEE, 2009), enquanto reopexia é definida como o aumento da viscosidade com o tempo de cisalhamento (ALMEIDA; BAHIA, 2003).

A transição estrutural envolvida nesses dois casos é reversível porque o fluido recupera sua viscosidade após cessado o cisalhamento (LEE; MOTURI; LEE, 2009). Se a recuperação for instantânea, o material é denominado como não-tixotrópico (ALMEIDA; BAHIA, 2003).

A tixotropia pode ser representada qualitativamente pela área de histerese entre as curvas ascendente e descendente de um gráfico que representa a relação velocidade de cisalhamento/tensão (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1990; ALMEIDA; BAHIA, 2003). Exemplos de materiais tixotrópicos são as dispersões de goma xantana e de hidroxipropil-celulose

(ALMEIDA; BAHIA, 2003). A **Figura 5** representa dois reogramas, o primeiro referente a um material pseudoplástico e, o segundo, a um dilatante, indicando tixotropia.

Figura 5. Reogramas obtidos em **(a)** por um material tixotrópico pseudoplástico e, em **(b)**, por um material tixotrópico dilatante

Fonte: AULTON, 2005

Os estudos reológicos podem ser realizados de duas maneiras, por meio do teste rotacional, onde uma força ou tensão de cisalhamento é aplicada sobre a amostra, caracterizando a mesma quanto à sua viscosidade e comportamento de fluxo; e, também, por meio dos testes oscilatórios, sendo que estes possuem vantagem sobre os rotacionais, pois não ocorre a destruição da amostra (MIQUELIM, 2010).

Os ensaios oscilatórios são realizados aplicando-se uma oscilação sobre a amostra simulando o estado estacionário, sendo que os resultados obtidos estão fortemente correlacionados com a estrutura dos componentes utilizados na formulação (LIZARRAGA *et al.*, 2006).

Eles podem ser conduzidos por meio dos ensaios de variação de amplitude com deformação e frequência constantes, variando a tensão; varredura de frequência sob tensão constante e com a informação da região de comportamento viscoelástico, realizando estudos em função do tempo (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CANOVAS, 2005). Desse modo, os materiais são caracterizados a partir dos resultados obtidos pelos módulos elástico (G') e

viscoso (G''). As variação de frequência entre 0,1 e 10 Hz e as variações de deformação entre 0,01% e 100% são normalmente utilizados para medir as propriedades viscoelásticas do material (ADAMS; FRITH; STOKES, 2004; CHOI; LIM; YOO, 2004).

2.4 Análise térmica

A análise térmica é definida como “grupo de técnicas por meio das quais uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura e/ou tempo, enquanto essa substância é submetida a um programa controlado de temperatura e sob uma atmosfera específica”. Para que uma técnica térmica seja considerada termoanalítica é necessário, segundo a definição, envolver a medição de uma propriedade física, que essa seja expressa direta ou indiretamente em função da temperatura, e executada sob um programa controlado desta variável (SILVA; VELASCO DE PAOLA; MATOS, 2007; PEREIRA *et al.*, 2009).

A termogravimetria (TG) fornece informações com relação às variações de massa em função do tempo e/ou temperatura sob determinadas condições atmosféricas (SCHNITZLER *et al.*, 2000; SILVA; VELASCO DE PAOLA; MATOS, 2007). Os experimentos são executados por meio de uma termobalança de elevada sensibilidade, reprodutibilidade e resposta rápida às variações de massa. As curvas obtidas fornecem informações relativas à composição e estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e do resíduo formado. Dada a natureza dinâmica da variação de temperatura da amostra para originar curvas TG, fatores instrumentais [razão de aquecimento, atmosfera (N_2 , ar ou outros), vazão de gás, composição do cadinho, geometria do porta amostra e tamanho e forma do forno] e relacionados às características da amostra (quantidade, granulometria, forma cristalina, condutividade térmica, solubilidade dos gases liberados da amostra e calor de reação envolvido) podem influenciar a natureza, a precisão e a exatidão dos resultados experimentais (SILVA; VELASCO DE PAOLA; MATOS, 2007).

A termogravimetria derivada (DTG) é uma técnica que fornece a derivada primeira da curva TG (SCHNITZLER *et al.*, 2000). É representada por picos que determinam áreas proporcionais às variações de massa, tornando as

informações, visualmente, mais acessíveis e com melhor resolução quando comparada à curva TG. Apesar de a curva DTG oferecer as mesmas informações que a TG, ela permite: a partir da altura do pico, à qualquer temperatura, obter a razão de Δm (variação de massa) naquela temperatura; obter as temperaturas correspondentes ao início e final da reação com maior exatidão, e também, na maioria das vezes, calcular a Δm no caso de sobreposição de reações (SILVA; VELASCO DE PAOLA; MATOS, 2007).

2.5 Microscopia de luz polarizada: cristais líquidos

Os cristais líquidos são conhecidos desde 1889, quando Lehmann descreveu um estado intermediário na transformação térmica a partir do estado sólido para o líquido. Em 1922, Friedel usou o termo “estado mesomórfico” (*mesos*: intermediário, *morphé*: forma) para definir este quarto estado da matéria, assim, os cristais líquidos são também denominados como fases mesomórficas ou mesomórficas cristalinas. Apresentam, portanto propriedades e características de sólidos e líquidos (FERRARI, 1998; FERRARI; SILVEIRA; BELTRAMI Jr., 2004; MORAIS, 2006; CHORILLI *et al.*, 2009).

Esta fase intermediária possui ordem estrutural, rigidez e ligações definidas como os sólidos e mobilidade, regiões desordenadas e fluidas como os líquidos, ou seja, esta mesofase tem propriedades mecânicas típicas do estado líquido, fluidez e tensão superficial, mas certa ordem molecular e, dessa forma, constitui uma fase fluida ordenada ou cristal líquido (MORAIS, 2006; CHORILLI *et al.*, 2009).

A fase líquido-cristalina é termodinamicamente estável e representa o estado de fusão incompleto. A maioria dos compostos que apresentam este comportamento tem moléculas alongadas e possuem um ou mais grupos polares. Tais moléculas tendem a arranjar-se paralelamente, mantendo-se próximas por forças de van der Waals (FERRARI; SILVEIRA; BELTRAMI Jr., 2004; MORAIS, 2006).

Os cristais líquidos são divididos em duas principais classes: os termotrópicos e os liotrópicos. Os termotrópicos são formados pela influência da temperatura, são substâncias orgânicas com estrutura molecular simbolizada pelos ésteres colestéricos. São classificados como nemáticos ou

esméticos. Os nemáticos tem estruturas como linhas e mantêm arranjo paralelo quando observados ao microscópio, já os esméticos tem estrutura estratificada, podendo ser observados em camadas e seus eixos longos dispostos paralelos uns aos outros (FERRARI, 1998; FERRARI; SILVEIRA; BELTRAMI Jr., 2004; MORAIS, 2006).

A classe liotrópica depende da concentração de um material, um solvente, que seja parte integrante da estrutura do cristal líquido. É formada quando certos compostos, geralmente, agentes tensoativos, são tratados com solvente polar, mais comumente a água. Ela irá hidratar seletivamente a porção hidrofílica das moléculas do tensoativo, evitando as regiões hidrofóbicas (FERRARI, 1998; FERRARI; SILVEIRA; BELTRAMI Jr., 2004; URBAN, 2004; FORMARIZ *et al.*, 2005; MORAIS, 2006). Essa formação ocorre com interação fraca entre o agente anfifílico e moléculas de solventes, formando estruturas associadas e organizadas (FERRARI, 1998; FERRARI; SILVEIRA; BELTRAMI Jr., 2004; MORAIS, 2006), com isso, a formação depende da natureza hidrofílica ou lipofílica do tensoativo. Estes cristais são fortemente birrefringentes e a natureza física se apresenta de forma variada (FERRARI, 1998).

Dentre as mesofases liotrópicas, as mais importantes e comumente observadas são a lamelar (*neat phase*), a hexagonal (*middle phase*) e a fase cúbica (*cubic phase*) (FERRARI, 1998; URBAN, 2004; FORMARIZ *et al.*, 2005; MORAIS, 2006).

A fase lamelar é formada por camadas paralelas e planares de bicamadas de tensoativo separadas por camadas de solvente, formando uma rede unidimensional. As cadeias hidrocarbônicas se encontram no estado líquido e as bicamadas anfifílicas estão separadas por camadas de água (URBAN, 2004; MORAIS, 2006). Já, na fase hexagonal, os agregados são obtidos pelo arranjo de cilindros longos, formando estruturas bidimensionais (URBAN, 2004; FERRARI; SILVEIRA; BELTRAMI Jr., 2004). Fases cúbicas liotrópicas apresentam estruturas complexas e visualizadas com maior dificuldade que as demais. Há dois tipos de fase cúbica, a primeira é a cúbica bicontínua que consiste no domínio contínuo de água, dividindo-se em duas bicamadas contínuas de tensoativo; a segunda é a cúbica micelar, que consiste

em micelas de tensoativo arranjadas em forma cúbica e separadas por uma fase aquosa contínua (BRINON *et al.*, 1999).

Na **Figura 6** são observados os diferentes tipos de formas obtidas de mesofases líquido-cristalinas liotrópicas.

Figura 6. Representação esquemática das principais fases líquido-cristalinas liotrópicas, respectivamente, **(a)** cristal líquido lamelar, **(b)** cristal líquido hexagonal e **(c)** cristal líquido cúbico micelar

Fonte: BRINON *et al.*, 1999

Dentre os tipos de cristais líquidos encontrados nos produtos cosméticos, os liotrópicos são os predominantes e formam-se espontaneamente em vários tipos de sistemas emulsionados. Quando presentes na interface de uma emulsão água-em-óleo (A/O), aumentam a estabilidade da mesma, pois promovem elevação na rigidez da membrana interfacial (FERRARI, 1998; MORAIS, 2006).

A utilização de cristais líquidos em produtos cosméticos apresenta vantagens funcionais, como: estabilizam emulsões; promovem liberação modificada do composto ativo; incorporação de compostos ativos em matrizes cristalinas líquidas ou mesmo em formulações que o contenham, pois os cristais líquidos protegem as substâncias ativas sensíveis à degradação térmica ou fotodegradação e promovem aumento da retenção de água no estrato córneo, proporcionando aumento na hidratação cutânea (FERRARI, 1998; MORAIS, 2006).

2.6 Determinação de tamanho de partículas

2.6.1 Análise microscópica

A microscopia é a única técnica de medida direta, por esta razão é frequentemente utilizada como método padrão (IACOCCA; GERMAN, 1997). É possível a realização de medidas relativas não só ao tamanho, mas também às formas das partículas, fornecendo gama superior de informações em relação às técnicas convencionais (KING, 1984). Para a observação ao microscópio, as partículas são depositadas sobre lâmina, não havendo necessidade de embutimento. As imagens projetadas nos microscópios são bidimensionais (ALLEN, 1997).

Como as partículas são presentes em grande número e as medidas são realizadas individualmente por partículas, tal técnica requer a análise de um número estatisticamente significativo de amostras, o que demanda a utilização de programas automáticos de análise de imagens (realizados com o auxílio de microcomputadores). Este processo inclui algumas etapas, sendo elas: formação da imagem, aquisição e digitalização da imagem, pré-processamento e realce, segmentação, pós-processamento, realização das medidas (tamanho, contagem ou outro parâmetro analisado) e processamento, análise e apresentação dos dados (PAPINI, 2003).

Na formação da imagem podem ser usados microscópios ópticos (luz refletida ou transmitida) ou eletrônicos (varredura ou transmissão) (PAPINI, 2003).

A análise microscópica fornece informações sobre o caráter múltiplo das formulações, forma e regularidade do tamanho dos glóbulos formados e, também, com o auxílio da polarização, permite observar a presença de áreas de isotropia ou anisotropia presentes nas formulações (FERRARI, 1998; MORAIS, 2006).

2.6.2 Difratometria a laser

Faz parte de um conjunto de técnicas onde as partículas são dispersas em um fluido em movimento. As partículas causam descontinuidades no fluxo

dos fluidos, que são detectadas por uma luz incidente e, correlacionadas com o tamanho de partícula. Ao atingir uma quantidade de partículas, a luz incidente sofre uma interação segundo quatro diferentes fenômenos (difração, refração, reflexão e absorção) formando um invólucro tridimensional de luz (**Figura 7**) (PAPINI, 2003).

Figura 7. Interação do raio de luz com uma partícula esférica, **(a)** ângulos difratados determinados pelo tamanho da partícula e **(b)** um padrão de difração
Fonte: PAPINI, 2003; PAPINI; LEAL NETO, 2006.

O formato e o tamanho desse invólucro são afetados pelo índice de refração relativo da partícula no meio dispersante, pelo comprimento de onda da luz e pelo tamanho e formato da partícula. Detectores estrategicamente posicionados medem a intensidade e o ângulo da luz espalhada. O sinal dos detectores é então convertido para a distribuição de tamanho de partículas por meio de algoritmos matemáticos (PAPINI, 2003).

O conceito fundamental desta técnica é a teoria de espalhamento Mie que apresenta uma solução matemática para o espalhamento de luz incidente sobre partículas esféricas e pode ser aplicada para partículas com diferentes formatos e razões de aspecto. Para sua aplicação, porém, necessita-se conhecimento prévio dos índices de refração do material em análise e do meio em que ele se encontra (PAPINI, 2003).

No caso em que as partículas são opacas e maiores que o comprimento de onda da luz, pode ser utilizada a aproximação de Fraunhofer (também chamada de teoria de difração de Fraunhofer). O tamanho de partícula altera a

intensidade e o ângulo do feixe de luz espalhado. Com a utilização de luz monocromática (coerente), ou seja, o *laser*, o ângulo de espalhamento é inversamente proporcional ao diâmetro da partícula (assume-se a forma esférica). O menor tamanho de partícula passível de detecção deve ser, pelo menos, duas vezes o comprimento de onda do *laser*. A limitação do tamanho máximo surge do fato de que o ângulo do feixe difratado se torna muito próximo daquele de um feixe não espalhado (PAPINI, 2003).

A técnica de difratometria a raio *laser* começou a ser utilizada considerando apenas pequenos ângulos de difração e, assim, foi conhecida com as seguintes denominações: difração de Fraunhofer, difração de raio *laser* de baixo ângulo (LALLS) e difração de raio *laser near-forward* (SANTORO, 2006).

Os resultados das leituras são, geralmente, expressos por meio dos diâmetros derivados das partículas dispersas por volume. Assim, a expressão $D(v, 0,5)$ significa que 50% das partículas da amostra, em volume (v), tem diâmetro (D) menor que o valor calculado. O mesmo se aplica para $D(v, 0,1)$ e $D(v, 0,9)$ para 10% e 90% das partículas, respectivamente (SANTORO, 2006).

As medidas $D[4,3]$ e $D[3,2]$ representam, respectivamente, o diâmetro médio por volume das partículas medidas e o diâmetro médio por área de superfície das partículas medidas (SANTORO, 2006).

Deve-se conhecer o tipo de distribuição das partículas para que se possa melhor compreender a distribuição das mesmas no sistema. Assim, classifica-se o tipo de distribuição das gotículas como segue (SANTORO, 2006):

- Distribuição polidispersa: o sistema não apresenta um modelo definido de distribuição
- Distribuição multimodal: o sistema apresenta mais de um pico distinto de distribuição
- Distribuição monomodal: apenas um pico de distribuição definido é detectado na amostra

2.6.3 Tomografia por coerência óptica

A tomografia por coerência óptica (OCT) é uma técnica de diagnóstico de geração de imagens como cortes transversais, com resolução espacial elevada, não-invasiva e não-destrutiva. A capacidade da técnica em realizar imagens microscópicas, explorando a coerência temporal curta das fontes de grande largura de banda espectral, supera os microscópios ópticos confocais, apresentando alcance de até 2,0 cm de profundidade em amostras transparentes. A conveniência experimental e geração de imagem em tempo real (poucos segundos) são vantagens adicionais da técnica (FREITAS *et al.*, 2006; PINTO; WAKSMAN, 2006; FREITAS, 2007).

O sistema de tomografia por coerência óptica encontrou sua primeira aplicação na tomografia da retina, este foi o começo do que se chamou de revolução na área oftalmológica. A OCT permitiu aos especialistas examinar os olhos da mesma maneira que na área da histologia, porém, com a diferença de ser um sistema completamente não-invasivo, não-traumático e de maneira indolor e, também, em tempo real (FREITAS; AMARAL; RAELE, 2010).

Outra área de aplicabilidade e impacto significativo da OCT é na dermatologia. Na pele, a técnica de OCT permite construir imagens de pequenos vasos sanguíneos e outras estruturas em uma faixa de 1,0 - 2,0 mm abaixo da superfície da pele (FREITAS; AMARAL; RAELE, 2010).

A técnica pode produzir imagem na qual é possível identificar as diferentes estruturas da pele, como pode ser visualizado na partir da **Figura 8**. Por meio desta ferramenta é possível o diagnóstico de doenças da pele, como o câncer (MOGENSEN *et al.*, 2009).

Figura 8. Tomografia de coerência óptica da palma da mão humana, sendo **A:** camada córnea, **B:** epiderme viável, **C:** derme e **D:** glândula sudorípara

Fonte: FREITAS; AMARAL; RAELE, 2010

Por ser possível a identificação das estruturas da camada da pele, na área cosmética, a OCT está sendo utilizada como método para a avaliação da eficácia de produtos antienvhecimento (FREITAS; AMARAL; RAELE, 2010).

Outra aplicabilidade na área cosmética foi a identificação das diferentes estruturas presentes na fibra capilar, como constatado na pesquisa desenvolvida por Velasco e colaboradores (2009). De acordo com a **Figura 9 (a)**, podem ser visualizadas, com definição, as estruturas da fibra capilar, como: a medula, na região central com diâmetro médio de $29,00 \pm 7,00 \mu\text{m}$; região do córtex; e da cutícula, sendo esta a camada mais externa do pêlo. O diâmetro total da fibra capilar foi de $122,00 \pm 16,00 \mu\text{m}$. Por meio da **Figura 9 (a)**, pode ser observada a imagem da fibra capilar em corte transversal e na **Figura 9 (b)**, longitudinalmente, podendo ser observada e diferenciada as mesmas estruturas.

Figura 9. Imagens de tomografia por coerência óptica de amostras de cabelo afroétnico. **(a)** Imagem transversal e **(b)** longitudinal. Em ambas observam-se a medula, córtex e cutícula

Fonte: VELASCO *et al.*, 2009

A tomografia por coerência óptica, como pôde ser observado, já possui aplicabilidade na área cosmética, porém nunca foi utilizada com o propósito de caracterização de uma emulsão cosmética, bem como, para a determinação do tamanho das gotículas da fase interna da mesma. Este fato proporciona ao trabalho caráter desafiador e inovador, promovendo nova ferramenta de estudo.

Os componentes básicos de um sistema de tomografia por coerência óptica estão ilustrados na **Figura 10**. O coração do sistema é um interferômetro de Michelson, iluminado por uma fonte óptica de grande largura espectral. Este tipo de interferômetro é o mais comum empregado hoje em sistemas OCT (FREITAS, 2007; VELASCO *et al.*, 2009).

Nesse tipo de interferômetro, a luz é conduzida através de uma fibra até um divisor de feixe formando dois outros feixes com, aproximadamente, metade da intensidade de cada um. Um deles é conduzido pela fibra até um espelho de referência e, o outro, até a amostra objeto de estudo. A radiação retrorrefletida pelo espelho e a retroespalhada pela amostra são recombinadas, formando os padrões de interferência no detector (SCHMITT, 1999; FREITAS, 2007).

Figura 10. Principais componentes de um sistema de tomografia por coerência óptica

Fonte: FREITAS, 2007; VELASCO *et al.*, 2009

No sistema OCT, o campo elétrico proveniente da fonte óptica (E_0) é dividido pelo divisor de feixe em dois componentes: um campo elétrico no braço de referência (E_R) e outro no braço da amostra (E_S). O campo elétrico do braço de referência é refletido pelo sistema de varredura, enquanto que o campo elétrico proveniente do braço da amostra é espalhado pelo objeto em estudo. Os dois componentes do campo se recombina no divisor de feixe e o campo elétrico resultante é a soma destes dois campos ($E_R + E_S$) (FREITAS, 2007).

Ainda não existem estudos detalhados sobre qual o melhor comprimento de onda a ser utilizado em OCT para permitir penetração eficaz com bom contraste na produção das imagens. Normalmente é utilizado comprimentos de onda da ordem de 800 nm (FREITAS, 2007).

O processo de formação de uma imagem em OCT é feita por meio de varreduras longitudinais em uma determinada posição da amostra, variando-se

o comprimento do braço de referência. Cada varredura gera um sinal de retroespalhamento, contendo informações acerca das estruturas internas da amostra. Organizando todas as varreduras individuais em posições diferentes da amostra, obtém-se uma imagem bidimensional. Criando uma pilha de imagens bidimensionais é possível formar uma imagem tridimensional. Em geral, utiliza-se um elemento emissor de luz semiconductor [(diodo emissor de luz (*Light Emitting Diode* – LED)] superluminescente ou um *laser* (FREITAS, 2007).

A **Figura 11 (a)** apresenta detalhes na formação da imagem, em secção transversal, de uma amostra realizada por OCT. Cada coluna da imagem é obtida através do registro do sinal de retroespalhamento cujo sinal de interferência no detector é registrado como função da posição do espelho do braço de referência. A intensidade é convertida em níveis de cinza, utilizando um mapa de cores falsas. A intensidade do sinal retroespalhado gera cores “brancas” e cores “pretas”, onde a cor “branca” representa um sinal de grande intensidade e a “preta”, de baixa intensidade (FREITAS, 2007).

Entretanto, o olho humano não é muito sensível à diferenciação de tons de cinzas, dessa forma, outros mapas de cores falsas podem ser utilizados, como o mapa de cores na ordem de cores do arco-íris, sendo as cores “branco” e “vermelho” as responsáveis pelos sinais de alta intensidade, e as cores “azul” e “preto” para sinais de baixa intensidade [**Figura 11 (b)**]. A utilização deste mapa de cores melhora a diferenciação de estruturas tênues presentes na amostra, podendo utilizar a resolução dos monitores de vídeos dos computadores atuais que o olho humano é capaz de identificar (FREITAS, 2007).

Figura 11. Processo de formação de uma imagem de OCT, em **(a)** utilizando-se mapas de cores falsas em níveis de cinza e, em **(b)**, em níveis de cores do arco-íris

Fonte: FREITAS, 2007

Objetivos

3 OBJETIVOS

Os objetivos do trabalho envolveram a caracterização física e físico-química de sistemas emulsionados obtidos a partir dos tensoativos álcool estearílico 21 OE (*steareth-21*) e álcool oleílico 20 OE (*oleth-20*). Adicionalmente, o presente trabalho aprecia como objetivo a introdução da tomografia por coerência óptica (OCT) como técnica analítica para determinação do tamanho de partículas e caracterização morfológica dos sistemas emulsionados.

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

- Agitador mecânico 713D[®] (Fisatom) com hélice do tipo centrífuga
- Balanças semi-analíticas BG 4000[®] (Gehaka) e AS[®] 2000 (Marte)
- Banho termostatzado 500/3D[®] (Nova Ética)
- Cuba de ultrassom Cristófoli[®] (Cristófoli)
- Centrífuga 8BT[®] (ITR)
- Difratorômetro a *laser* LS[®] 230 (Beckman Coulter)
- Microscópio BX50[®] (Olympus) com lâminas e lamínulas para microscopia (Starfrost)
- Tomógrafo OCT OCP930SR[®] (Thorlabs)
- Peagômetro Q400AS[®] (Quimis)
- Reômetro Physica[®] MCR 300 com sistema *Peltier* e geometria cone (ângulo de 1°) e placa (diâmetro de 25 mm) (Anton Paar)
- Analisador TGA/SDTA 851^e Module[®] (Mettler Toledo)
- Chapa aquecedora redonda Q310-22B[®] (Quimis)

4.1.2 Matérias-primas

As matérias-primas (grau de pureza farmacêutico) empregadas no preparo das formulações estão descritas de acordo com o nome químico, denominação *INC* e fornecedor.

- Álcool cetoestearílico – *cetearyl alcohol* (Chemunion)
- Triglicérides do ácido caprílico/cáprico – *caprylic/capric triglyceride* (Croda)
- Dimeticone – *dimethicone* (Dow Corning)
- Butil hidróxi tolueno – *BHT* (Galena)
- Fenoxietanol (e) metilparabeno (e) etilparabeno (e) butilparabeno (e) propilparabeno (e) isobutilparabeno – *phenoxyethanol (and)*

methylparaben (and) ethylparaben (and) butylparaben (and) propylparaben (and) isobutylparaben (Chemunion)

- Álcool estearílico 21 OE – *steareth-21* (Croda)
- Álcool oleílico 20 OE – *oleth-20* (Croda)
- Glicerina – *glycerin* (Mapric)
- EDTA dissódico – *disodium EDTA* (Natural Pharma)
- Água destilada – *aqua*

4.1.3 Material de acondicionamento (embalagem primária)

- Potes brancos opacos boca larga de polietileno com tampa do tipo rosca

4.1.4 Material auxiliar na obtenção das imagens tomográficas

- Microesferas de tamanhos variando entre 425,00 – 850,00 μm (Cirebelle[®])
- Aparato de vidro contendo três cubetas

4.2 Métodos

4.2.1 Sistemas emulsionados

Três formulações compostas pelas matérias-primas descritas no item 4.1.2 foram preparadas. Estas se diferiram nos tensoativos (*steareth-21* e/ou *oleth-20*) e estão descritas quali e quantitativamente (% p/p) na **Tabela 1**.

Tabela 1. Descrição quali e quantitativa (% p/p) sugerida das formulações dermocosméticas, onde SE: sistema emulsionado

Nome Químico	Denominação <i>INCI</i>	Função	Composição (% p/p)		
			SE-1	SE-2	SE-3
Fase A					
Álcool cetoestearílico	<i>Cetearyl alcohol</i>	Espessante	6,0	6,0	6,0
Triglicérides do ácido caprílico/cáprico	<i>Caprylic/capric triglyceride</i>	Emoliente	7,0	7,0	7,0
Dimeticone	<i>Dimethicone</i>	Emoliente	3,0	3,0	3,0
Butil hidróxi tolueno	<i>BHT</i>	Antioxidante	0,1	0,1	0,1
Sistema conservante	<i>Phenoxyethanol (and)</i>	Conservante	0,5	0,5	0,5
	<i>methylparaben (and)</i>				
	<i>ethylparaben (and)</i>				
	<i>butylparaben (and)</i>				
	<i>propylparaben (and)</i>				
	<i>isobutylparaben</i>				
Álcool estearílico 21 OE	<i>Steareth-21</i>	Tensoativo	N.A.	4,0	8,0
Álcool oleílico 20 OE	<i>Oleth-20</i>	Tensoativo	8,0	4,0	N.A.
Fase B					
Glicerina	<i>Glycerin</i>	Umectante	3,0	3,0	3,0
Edetato dissódico	<i>Disodium EDTA</i>	Quelante	0,1	0,1	0,1
Água destilada	<i>Aqua</i>	Veículo	q.s.p	q.s.p	q.s.p
			100,0	100,0	100,0

Legenda. N.A.: matéria-prima não adicionada.

4.2.1.1 Técnica de preparo

As amostras foram pesadas, em réplica de dois, para que houvesse estabelecimento de padrão de preparação, de acordo com o procedimento a seguir: a fase oleosa (*Fase A*) foi aquecida até atingir temperatura de 60°C, aproximadamente, enquanto, a fase aquosa (*Fase B*), até 65°C. Tal valor de temperatura foi estipulado, pois os sistemas emulsionados tenderam a apresentar aspecto translúcido com brilho azulado, indicativo de

nanoestruturação. Ao atingir a devida máxima temperatura, a *Fase B* foi vertida sobre a *Fase A*, sob a forma de um fio fino contínuo e sob agitação mecânica de 1000 rpm (70 G) por 2 minutos até homogeneização das emulsões. Após esse tempo, a velocidade de agitação foi diminuída para 300 rpm (21 G) por 10 minutos, até os sistemas alcançarem temperatura aproximada de $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.

Após 24 horas de repouso (BABY *et al.*, 2007), as emulsões foram, então, avaliadas de acordo com suas propriedades organolépticas (aspecto, cor e odor), assim como seus valores de pH (item 4.2.3), perfis reológico (item 4.2.4) e térmico (item 4.2.5) e determinações da morfologia e do tamanho das partículas da fase interna das emulsões (item 4.2.6).

4.2.2 Avaliação preliminar da estabilidade

As formulações foram submetidas à Avaliação Preliminar da Estabilidade, empregando os Testes da Centrifugação e do Estresse Térmico (BABY *et al.*, 2008a).

4.2.2.1 Teste da centrifugação

Alíquotas das amostras de, aproximadamente, 5 g foram pesadas em balanças semianalíticas BG 4000[®] (Gehaka) e transferidas para tubos de centrifuga. O teste foi realizado em réplicas de dois de acordo com Baby e colaboradores (2004), modificado, nas seguintes condições experimentais: temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$); velocidade de rotação de 1200 rpm (84 G); tempo de teste de 30 minutos. Após o ensaio, as formulações foram analisadas macroscopicamente quanto ao aspecto e classificadas como segue (Baby *et al.*, 2004):

- (M) para modificada;
- (N) para normal, sem alteração quanto ao aspecto

4.2.2.2 Teste do estresse térmico

Alíquotas de, aproximadamente, 5 g das formulações foram transferidas para tubos de ensaio. As amostras, em réplicas de dois, foram submetidas ao estresse térmico, em banho termostatzado, no intervalo de temperatura controlada entre 40 – 80°C, com progressão de elevação de 10°C a cada 30 minutos. As formulações foram retiradas da condição drástica de estudo, ao término de 80,0°C, e avaliadas após atingirem a temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$) (BABY *et al.*, 2008a). Após o ensaio, as formulações foram classificadas como descrito no item 4.2.2.1.

4.2.2.3 Critérios de aceite/rejeição

Somente formulações classificadas como normal (N) para ambos os ensaios, a saber, o da Centrifugação e o do Estresse Térmico, foram consideradas aptas para a continuação dos experimentos.

4.2.3 Caracterização físico-química

Dispersões a 10% p/v das preparações foram analisadas quanto ao valor de pH em água recém-destilada, à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$), em peagômetro. Réplicas de três foram utilizadas (BABY *et al.*, 2008a).

4.2.4 Caracterização física: determinação do perfil reológico

Tanto os ensaios rotacionais quanto os oscilatórios foram realizados em reômetro da Anton Paar, modelo Physica[®] MCR-300, com controle de tensão e taxa de cisalhamento e de temperatura (sistema *Peltier* com precisão de $0,05^\circ\text{C}$), equipado com o programa US200[®]. A geometria de medição foi de um sistema cone-placa com ângulo de 1° e diâmetro de 25 mm, respectivamente (MONTEIRO, 2004).

4.2.4.1 Ensaio rotacional

Os ensaios foram realizados após preparo das formulações (período de repouso) (BABY *et al.*, 2007), sendo o comportamento reológico das amostras caracterizado por meio das curvas de fluxo, a partir das quais determinaram-se: a viscosidade aparente (mPa.s) e área de histerese (Pa/s).

Amostras, em réplicas de três, foram transferidas para a placa de medição protegida por aparato de acrílico, com o objetivo de reduzir a evaporação excessiva da fase aquosa das preparações. Foram utilizadas amostras de, aproximadamente, 0,5 g da formulação.

Anteriormente às medições, o sistema permaneceu em repouso durante três minutos até atingir a temperatura de $22,00 \pm 0,01^\circ\text{C}$, obtida por meio da placa *Peltier* (LASHMAR; BEESLEY, 1993; TADROS, 2004).

O comportamento das amostras foi caracterizado inicialmente pelas curvas de fluxo com taxas de cisalhamento de 0,1 a 200,0 1/s. Foram coletados na curva ascendente 50 pontos a 5 segundos por ponto, seguiu-se um intervalo de 5 pontos a 5 segundos a uma taxa de cisalhamento constante de 200,0 1/s e, finalmente, iniciou-se a curva descendente na qual se registraram 50 pontos a 5 segundos por ponto. Os valores de viscosidade aparente, a uma mesma velocidade de cisalhamento (200,0 1/s), foram determinados para as amostras (FIGUEIREDO; ARÊAS; ARÊAS, 2008).

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio do programa Statistica® 7.0 (Stat Soft™, Tulsa, Okla., USA). Inicialmente, as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Hartley (MUTH, 2006).

Para os resultados da viscosidade foi utilizado o teste não-paramétrico de múltipla comparação Kruskal-Wallis, no qual valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Já, os resultados obtidos da área de histerese foram analisados por meio do teste paramétrico, sendo as médias dos tratamentos testadas por meio da análise de variância univariada e as médias comparadas pelo teste de Fisher LSD a 5% de probabilidade (MUTH, 2006).

O coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis *viscosidade aparente* e *área de histerese* foi calculado e o valor de significância foi fornecido.

4.2.4.2 Ensaio oscilatório

As amostras foram submetidas aos testes oscilatórios de varreduras de amplitude de deformação e de frequência.

Os testes foram aplicados aos sistemas viscoelásticos e basearam-se, no primeiro caso, na aplicação de tensões variáveis de cisalhamento sobre as amostras e monitoração do efeito provocado em suas amplitudes de deformação, a uma frequência (f) constante. Esses ensaios tiveram por objetivo a determinação da região viscoelástica linear (RVL) de cada amostra, por meio da observação de suas respostas mecânicas expressas pelos módulos de armazenamento (G') e de perda ou dissipação (G''). A partir da determinação da RVL, definiu-se o valor de deformação para os testes de varredura de frequência. Para a varredura de amplitude de deformação estabeleceu-se a medição de 100 pontos na faixa de deformação de 0,01 – 10,0%, com frequência de 5,0 Hz. As tangentes das diferenças de fase (δ), correlacionadas com o maior ou menor grau de componente elástico e viscoso presente nas amostras, também foram registradas (MONTEIRO, 2004).

Nos testes de varredura de frequência foram medidos 100 pontos, com faixa de frequência de 0,1 – 40,0 Hz, utilizando a deformação na faixa de resposta linear sugerida pelo cálculo da varredura de amplitude de deformação (0,1%).

Os ensaios foram realizados em réplicas de três, sendo calculados seus respectivos valores de média como resultados.

Realizou-se análise estatística para os dez primeiros pontos da curva encontrados a partir do teste de varreduras de amplitude de deformação. Os resultados foram analisados por meio do programa Statistica[®] 7.0 (Stat SoftTM, Tulsa, Okla., USA). Inicialmente, as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Hartley (MUTH, 2006).

Para os resultados foi utilizado o teste paramétrico, sendo as médias dos tratamentos testadas por meio da análise de variância univariada e as médias comparadas pelo teste de Fisher LSD a 5% de probabilidade (MUTH, 2006).

4.2.5 Termogravimetria

O estudo foi realizado nas amostras dos sistemas emulsionados (**Tabela 1**) e, também, realizado em amostras contendo apenas a fase oleosa desses [álcool cetosteárilico, triglicérides do ácido caprílico/cáprico, dimeticone, BHT (butil hidróxi tolueno), sistema conservante, álcool estearílico 21 OE e álcool oleílico 20 OE], sendo respeitada a proporção (% p/p) dos componentes de acordo com a composição da formulação.

O estudo do comportamento térmico foi caracterizado pelas curvas TG/DTG, a partir do equipamento TGA/SDTA 851^e Module[®]. Utilizando cadinho de alumina, com massa de amostra de 5,0 – 10,0 mg, em faixa de temperatura entre 25,0 e 600,0°C sob atmosfera dinâmica de N₂ com vazão de 20 mL/min, em uma razão de aquecimento de 10,0°C/min. As amostras foram pesadas diretamente no equipamento, no qual a termobalança acusava o peso das mesmas (RODRIGUES *et al.*, 2008).

Antes dos ensaios, curvas em branco foram obtidas para avaliar a linha base do sistema.

4.2.6 Caracterização física: determinação morfológica e tamanho de partícula da fase interna das emulsões

4.2.6.1 Análise microscópica

Alíquotas de massa reduzida foram transferidas para lâmina de vidro, cobrindo-a com lamínula. Em seguida, submeteu-se à análise microscópica com análise de imagens por meio programa Image[®] Pro Plus. Réplicas de três foram analisadas, sendo observadas três regiões da lâmina aleatoriamente para verificar a homogeneidade da amostra. Realizou-se a contagem das gotículas da fase interna e, com auxílio da polarização, avaliou-se presença ou ausência de áreas de anisotropia, indicativo da presença de fase líquida e/ou fase gel cristalina. A análise da fase cristalina foi qualitativa. Os ensaios foram realizados à temperatura ambiente (25,0 ± 2,0°C) (MASSON *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2005).

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio do programa Statistica[®] 7.0 (Stat SoftTM, Tulsa, Okla., USA). A contagem das partículas (n=3) foi realizada por meio das variâncias dos tratamentos quanto à sua homogeneidade pelo teste de Hartley. Selecionou-se estudo paramétrico, sendo as médias dos tratamentos testadas por meio da análise de variância univariada e as médias comparadas pelo teste de Fisher LSD a 5% de probabilidade (MUTH, 2006).

4.2.6.2 Difratometria a *laser*

A determinação do tamanho das partículas por difratometria a *laser* foi realizada no equipamento LS[®] 230 (Beckman Coulter), com o modelo óptico de Fraunhofer PIDS. Este equipamento opera com difração de radiação a 780 nm e permite a medida de partículas de 0,4 a 2000 µm, gerando três leituras de 100 s cada (LEMOS *et al.*, 2006).

As amostras, em réplicas de três, foram dispersas em água recém-destillada. Para homogeneização, as dispersões foram para banho de ultrassom por 460 segundos para garantir a dispersão/desagregação das partículas; em seguida, as amostras foram adicionadas lentamente no aparelho, em compartimento adequado contendo água destilada até se obter um grau de obscuração aceitável (até 8%) especificado pelo programa do equipamento (BABY *et al.*, 2008b).

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio do programa Statistica[®] 7.0 (Stat SoftTM, Tulsa, Okla., USA). A análise estatística foi realizada com as médias (n = 3) dos parâmetros: 10% de distribuição das partículas, 50% de distribuição das partículas, 90% de distribuição das partículas e do o diâmetro médio por volume das partículas medidas (D[4,3]). Analisaram-se as variâncias dos tratamentos quanto à sua homogeneidade pelo teste de Hartley. Para os tratamentos não-paramétricos, selecionou-se o teste de múltipla comparação Kruskal-Wallis, no qual valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos; já, para os tratamentos paramétricos, as médias foram testadas por meio da análise de variância univariada e comparadas pelo teste de Fisher LSD a 5% de probabilidade (MUTH, 2006).

4.2.6.3 Tomografia por coerência óptica

A caracterização morfológica da fase interna das emulsões foi realizada com o auxílio do sistema *OCT OCP930SR*[®], Thorlabs, Newton, NJ, USA. O sistema utiliza comprimento de onda de 930 ± 5 nm, 100 ± 5 nm FWHM (*full width at half maximum* – largura total à meia altura), e potência óptica de 2,0 mW, com resolução de 6,2 mm e profundidade de imagem máxima de 1,6 mm.

Alíquotas das amostras, dispersas em proporções 1:1, 1:10, 1:50, 1:100 e 1:1000 em água recém-destilada, foram dispostas em um aparato de vidro contendo três cubetas, conforme **Figura 12**, onde varreduras longitudinais do *laser* foram realizadas por toda a extensão da amostra, para visualização ampla do comportamento do aspecto físico das gotículas.

Figura 12. Aparato de vidro contendo três cubetas

4.2.7 Análise Estatística: microscopia óptica *versus* difratometria a *laser*

Os resultados de tamanho de partícula obtidos pelos métodos de microscopia óptica e difratometria a *laser* foram submetidos à análise estatística por meio do programa Statistica[®] 7.0 (Stat SoftTM, Tulsa, Okla., USA). Primeiramente, realizou-se a análise das variâncias dos tratamentos quanto à sua homogeneidade pelo teste de Hartley. Para os tratamentos que apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$), o teste *t-Student* para amostras independentes foi aplicado, ao passo que, para aqueles que não apresentaram distribuição normal, o teste Mann-Whitney U foi utilizado, com 5% de probabilidade (MUTH, 2006).

Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação preliminar de estabilidade

A **Tabela 2** descreve as propriedades organolépticas e valor de pH dos sistemas emulsionados e, as **Tabelas 3** e **4**, os resultados da Avaliação Preliminar da Estabilidade.

Tabela 2. Caracterização organoléptica (aspecto, cor e odor) e média (n=2) do valor de pH dos sistemas emulsionados (SE)

	SE-1	SE-2	SE-3
Aspecto	Homogênea	Homogênea	Homogênea
Cor	Branca	Branca	Branca
Odor	Característico	Característico	Característico
Valor de pH	5,2	4,9	5,0

Tabela 3. Caracterização organoléptica (aspecto, cor e odor) dos sistemas emulsionados (SE) após o Teste da Centrifugação

	SE-1	SE-2	SE-3
Aspecto	Homogênea	Homogênea	Homogênea
Cor	Branca	Branca	Branca
Odor	Característico	Característico	Característico

Tabela 4. Caracterização organoléptica (aspecto, cor e odor) e média (n=2) do valor de pH dos sistemas emulsionados (SE) após o Teste do Estresse térmico

	SE-1	SE-2	SE-3
Aspecto	Homogênea	Homogênea	Homogênea
Cor	Branca	Branca	Branca
Odor	Característico	Característico	Característico
Valor de pH	4,9	4,8	4,9

Partindo-se do valor de pH dos sistemas emulsionados, fora verificado que, independente do tipo de tensoativo, os valores obtidos foram considerados biocompatíveis com o valor de pH da pele, indicando um meio

ligeiramente ácido devido à composição acídica do manto hidrolipídico, que oscila entre 4,6 a 5,8 (LEONARDI; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2002).

Após o teste da centrifugação, observou-se que as amostras não apresentaram tendência para separação de fases, portanto, consideradas aparentemente estáveis.

Verificou-se, também, que os sistemas emulsionados mantiveram-se aparentemente estáveis após a condição drástica de temperatura (Teste do Estresse Térmico), o que sugeriu que a composição quali e quantitativa (% p/p) dos sistemas foi adequada.

5.2 Caracterização física: determinação do perfil reológico

5.2.1 Ensaios rotacionais

Os valores das médias da viscosidade aparente (n=3) registrados em função da taxa de cisalhamento igual a 200,0 1/s e da área de histerese (n=3) dos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3, encontram-se descritos na **Tabela 5** e, a curva de fluxo, na **Figura 13** (página 42).

Tabela 5. Média dos valores da viscosidade aparente (n=3) registrados em função da taxa de cisalhamento de 200,0 1/s e da área de histerese (n=3) dos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3, à 22,00 ± 0,01°C

Sistemas Emulsionados	Viscosidade Aparente (mPa.s)	Área de Histerese (Pa/s)
SE-1	223,53 ^a ± 16,70	2238,38 ^a ± 154,82
SE-2	332,20 ^b ± 63,03	2911,19 ^a ± 481,14
SE-3	636,40 ^c ± 28,60	4248,97 ^b ± 696,95
p (Hartley)	< 0,05	0,24
p (Anova/ Kruskal-Wallis)	< 0,01	< 0,01

Legenda. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (viscosidade) e teste de Fisher LSD (histerese) (p < 0,05). SE-1: 8,0% (p/p) de *oleth-20*; SE-2: 4,0% (p/p) de *oleth-20* e 4,0% (p/p) *steareth-21*; SE-3: 8,0% (p/p) *steareth-21*.

De acordo com a análise estatística, todos os sistemas apresentaram valores de viscosidade aparente significativamente diferentes ($p < 0,05$), indicando que o tensoativo utilizado influenciou no parâmetro analisado.

O sistema SE-1, constituído do tensoativo não-iônico insaturado (*oleth-20*), apresentou viscosidade aparente média ($223,53 \pm 16,70$ mPa.s) inferior à das demais formulações. Já o sistema SE-2, composto por ambos os tensoativos em proporções idênticas, resultou em valor médio intermediário, igual a $332,20 \pm 63,03$ mPa.s, sendo que o sistema SE-3, constituído do tensoativo saturado (*steareth-21*), apresentou valor superior aos dos outros sistemas ($636,40 \pm 28,60$ mPa.s). Assim, comprovou-se que o tensoativo saturado promoveu valores de viscosidade e área de histerese superiores enquanto, o insaturado, os menores.

É registrado na literatura científica que a presença da insaturação na molécula faz com que ela se torne menos organizada, ou seja, mais fluida, pois a configuração *cis* da dupla ligação gera desordem no empacotamento das cadeias e menor extensão de forças atrativas de van der Waals nas mesmas (VIEIRA; GAZZINELLI; MARES-GUIA, 1996; CAMPBELL, 2000; NELSON; COX, 2005).

Desse modo, o resultado encontrado para a viscosidade corroborou com o antes descrito, uma vez que foi o sistema que apresentou valor de viscosidade inferior (SE-1). Já, o SE-3 continha tensoativo saturado e a presença de moléculas saturadas promove maior organização à estrutura, pois o arranjo linear das cadeias alifáticas leva a um empacotamento das moléculas, deixando-as mais próximas e mais unidas entre si por maior quantidade de ligações de van der Waals (VIEIRA; GAZZINELLI; MARES-GUIA, 1996; CAMPBELL, 2000; NELSON; COX, 2005), favorecendo com que esse sistema apresentasse valor de viscosidade aparente superior aos demais. O valor intermediário de viscosidade aparente foi constatado no SE-2, composto pela mistura dos dois tensoativos.

Teoricamente, quanto maior o valor de viscosidade aparente, mais estável é o sistema, pois necessita de tensão de cisalhamento maior a ser aplicada para que as interações entre as macromoléculas presentes nas emulsões sejam rompidas, tornando-se instável (AULTON, 2005; ALLEN Jr., POPOVICH; ANSEL, 2007). A partir do descrito, é permitido afirmar que o

tensoativo insaturado (*oleth-20*) conferiu à emulsão menor valor de viscosidade aparente ($223,53 \pm 16,70$ mPa.s) sugerindo, portanto, estabilidade inferior ao sistema. Já, o tensoativo saturado (*steareth-21*) conferiu à emulsão maior valor de viscosidade aparente ($636,40 \pm 28,60$ mPa.s) e maior estabilidade.

Adicionalmente, de acordo com a literatura científica, a presença de cadeias de polioxidoetilenos em moléculas de tensoativos promove o aumento da viscosidade dos sistemas. Isso ocorre devido à hidratação das cadeias de polioxidoetileno que são orientadas e estendidas à camada de água interlamelar durante o processo de emulsificação (ECCLESTON; BEATTIE, 1988; ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 1997). Quanto mais eficiente for o aprisionamento da água entre as bicamadas do tensoativo, maior será a viscosidade aparente (ECCLESTON, 1997; ECCLESTON *et al.*, 2000).

A presença de tixotropia nos materiais estudados conferiu área de histerese. A área de histerese pode ser qualitativamente representada por meio do gráfico de curva de fluxo a partir das curvas ascendente e descendente (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003).

Em relação à área de histerese, o SE-1 apresentou valor médio igual a $2238,38 \pm 154,82$ Pa/s, estatisticamente equivalente ao apresentado pelo SE-2, $2911,19 \pm 481,14$ Pa/s. O SE-3 apresentou área de histerese elevada ($4248,97 \pm 696,95$ Pa/s) estatisticamente superior comparado com os demais ($p < 0,05$).

A menor área de histerese apresentada pelo SE-1 pode ser explicada pelo fato do tensoativo insaturado ser menos organizado (VIEIRA; GAZZINELLI; MARES-GUIA, 1996; CAMPBELL, 2000; NELSON; COX, 2005), o que sugere que o sistema se reestrutura com facilidade, demandando menor tempo. No caso do SE-3, ocorreu o inverso. Pelo fato desse ser mais organizado, demanda-se maior tempo para a reestruturação, conferindo maior área de histerese.

Por meio do coeficiente de correlação de Pearson, constatou-se que as variáveis *viscosidade aparente* e *área de histerese* apresentaram correlação positiva ($r = 0,86$), ou seja, as variáveis influenciaram entre si direta e proporcionalmente, uma vez que, ao elevar o valor da viscosidade, o da área de histerese elevou-se tal qual (**Tabela 5**).

A **Figura 13** ilustra as curvas de fluxo das amostras SE-1, SE-2 e SE-3.

Figura 13. Curvas de fluxo dos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3 representadas como tensão de cisalhamento (Pa) em função da taxa de cisalhamento (1/s), com as velocidades variando de 0,1 a 200,0 1/s

A partir da curva de fluxo, constatou-se que os sistemas emulsionados apresentaram característica de fluidos não-Newtonianos, pseudoplásticos, tixotrópicos com área de histerese. Os fluidos não-Newtonianos são característicos da maioria dos fluidos farmacêuticos, que não seguem a Lei de Newton (segundo a qual a velocidade de fluxo é diretamente proporcional à tensão aplicada, chamada de tensão de cisalhamento, e a viscosidade é a constante de proporcionalidade entre eles), pois sua viscosidade varia com a velocidade de fluxo (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001; LEE; MOTURI; LEE, 2009). Dessa forma, fluidos não-Newtonianos não possuem viscosidade constante (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

O comportamento pseudoplástico é adequado e o mais desejado para produtos tópicos, pois sua viscosidade aparente reduz com o aumento da tensão, tornando-se mais fluido, facilitando seu escoamento (PRESTES *et al.*,

2009). Ou seja, confere melhor cobertura da pele, o que poderia não ser possível obter com um fluido Newtoniano, o qual flui rapidamente durante a aplicação, resultando em distribuição não uniforme (DAHMS, 1994; SANTOS, 2006).

Um material tixotrópico torna-se mais fluido com o tempo de manutenção a uma determinada tensão constante, porém, após o término dessa tensão, o material recupera gradualmente sua estrutura (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

A tixotropia é uma variável da viscosidade dependente do tempo e fornece informações da capacidade e do tempo necessário para o produto retornar à sua estrutura após o término de exercício da tensão (TADROS, 2004; PRESTES *et al.*, 2009).

Dessa forma, ambas as características, pseudoplastia e tixotropia, são desejadas em formulações cosméticas, pois estão relacionadas com a diminuição da viscosidade da formulação durante a aplicação, no entanto, Gaspar e Maia Campos (2003) realizaram estudo em formulações fotoprotetoras, no qual constataram que a tixotropia, com valor considerado elevado da área de histerese, não contribuiu satisfatoriamente com a funcionalidade dos produtos, pois provocou redução na eficácia foroprotetora dos sistemas (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

5.2.2 Ensaios oscilatórios

Com análises reológicas, a partir da aplicação do ensaio oscilatório, informações detalhadas sobre a estrutura das formulações, com mínima perturbação do material, podem ser obtidas. Neste tipo de ensaio, a tensão de cisalhamento varia como uma onda senoidal e a relação entre as ondas de tensão aplicada e a deformação resultante fornece dados sobre os tipos de resposta elástica ou viscosa do sistema (CHORILLI, 2007).

Em geral, o material responde à este tipo de deformação por meio de dois mecanismos: energia elástica armazenada e energia viscosa dissipada. Quantitativamente, estas podem ser representadas pelo módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') (COLO *et al.*, 2004). O G' é denominado de módulo de armazenagem, porque representa a energia armazenada durante a deformação à tensão crescente, a qual é liberada

quando a tensão é relaxada. Por outro lado, o G'' se deve ao elemento viscoso que não pode armazenar energia, porque a tensão aplicada é dissipada na forma de deformação irreversível (CHORILLI, 2007).

Foi realizada varredura de amplitude para os sistemas, com o objetivo de se determinar a região viscoelástica. A região viscoelástica linear é conhecida por ser a região onde a estrutura é preservada, ou seja, os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') respondem de forma linear à amplitude de deformação imposta ao material. É de fundamental importância a análise em regime oscilatório ser realizada nesta região, pois, de forma diferente, os valores dos módulos serão muito menores devido ao cisalhamento e à destruição da rede (HAMINIUK *et al.*, 2009).

Dessa forma, a partir da **Figura 14**, podem ser observados os resultados obtidos por meio do ensaio de varredura de amplitude para os três sistemas, evidenciando a faixa viscoelástica linear.

Figura 14. Varredura de amplitude dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 realizado à temperatura ambiente ($22,00 \pm 0,01^\circ\text{C}$) após 24 horas de preparo da formulação

De acordo com a **Figura 14**, podem-se observar os valores de módulos de perda (G'') e de armazenamento (G') em função da amplitude de deformação para o sistema SE-3, o qual apresentou faixa ampla de região viscoelástica linear.

Para os sistemas SE-1 e SE-2 tal faixa apresentou-se em menor extensão ou, mesmo, inexistente, não apresentando região viscoelástica linear. Tal região, possivelmente, encontrou-se em valores de deformação abaixo de 0,01%, não acessíveis experimentalmente para essas amostras em razão dos limites de torque do equipamento (MONTEIRO, 2004).

A presença de região viscoelástica linear no sistema SE-3 sugeriu que o mesmo confere estabilidade superior em comparação com os demais, pois segundo Colo e colaboradores (2004), quanto maior a extensão da região viscoelástica linear, maior estabilidade a amostra apresenta.

O teste de varredura de frequência foi realizado apenas para o sistema SE-3, pois foi o único a apresentar região viscoelástica linear. Utilizou-se a deformação na faixa de resposta linear sugerida pelo cálculo da varredura de amplitude (0,1%) encontrado para o SE-3. O resultado está ilustrado na **Figura 15**.

Figura 15. Varredura de frequência do sistema SE-3 realizado à temperatura ambiente ($22,00 \pm 0,01^\circ\text{C}$) após 24 horas de preparo da formulação

A partir dos resultados da **Figura 14**, observaram-se que os valores do módulo de armazenamento (G') se apresentaram maiores em relação ao módulo de perda (G''), o que revelou predominância do caráter elástico das composições emulsionadas.

O caráter predominantemente elástico (*solid-like*) em uma formulação significa que a energia imposta sobre o sistema, para que o mesmo flua, é armazenada, ou seja, é retida no sistema para que ele retorne ao seu comportamento inicial. Já o caráter predominantemente viscoso (*liquid-like*)

implica o inverso, sendo a energia imposta ao sistema dissipada, perdida para o meio ambiente (COLO *et al.*, 2004).

O comportamento elástico pode ser visualizado e comprovado por meio da **Figura 14**, observando a tangente delta ($\tan \delta$). A tangente delta representa a razão G''/G' . De acordo com Monteiro (2004), a proporção em que G''/G' aumenta, indica o acréscimo do caráter viscoso ao sistema. Dessa forma, quando G'' é igual a G' , o resultado da $\tan \delta$ é 1, podendo ser observado no gráfico quando há o encontro do G' e G'' . Quando os valores da $\tan \delta$ encontram-se menores que 1, representa resultado característico de comportamento elástico ($G' > G''$) (COLO *et al.*, 2004).

Este fato pode ser observado para os três sistemas. A faixa de amplitude de deformação onde a $\tan \delta$ foi abaixo de 1 evidenciou comportamento elástico. Após $\tan \delta > 1$, os sistemas apresentaram comportamento viscoso, onde não há reestruturação dos mesmos, perdendo a energia para o ambiente.

Mediante a varredura de frequência do SE-3 (**Figura 15**) sua estrutura pode ser considerada mais resistente à deformação, nas condições do teste. Isso significou que o sistema SE-3 apresentou-se mais consolidado (CHORILLI, 2007), isto é, o tensoativo *steareth-21* promoveu estrutura mais rígida.

Estes dados confirmam os resultados obtidos por meio das medidas de escoamento (**Figura 13**), as quais indicaram ser o SE-3 aquele de maior organização estrutural. Além disso, foi aquele que obteve maior valor de viscosidade aparente e de área de histerese (conferindo maior tempo para retornar ao estado inicial), indicando, mais uma vez, grau de estruturação (CHORILLI, 2007).

Analisando-se a **Figura 14**, observou-se que os valores de G' do sistema SE-3 encontraram-se superiores aos do SE-1 e SE-2. Por meio da análise estatística dos dez primeiros pontos da curva, constataram-se valores estatisticamente diferentes para os três sistemas, sendo 868,93 Pa; 997,83 Pa e 1315,00 Pa, para os sistemas SE-1, SE-2 e SE-3, respectivamente.

A partir dos resultados da **Figura 14**, observou-se que o sistema SE-1 apresentou o menor valor de G' e o SE-2, valor intermediário. Resultado

semelhante ao encontrado da viscosidade aparente, onde os três sistemas apresentam valores estatisticamente diferentes.

Nos sistemas estudados no presente trabalho, o SE-1 e o SE-2 apresentaram valores menores de viscosidade e alto grau de desestruturação, uma vez que os mesmos não apresentaram região viscoelástica linear, indicando se desestruturarem a valores de deformação abaixo de 0,01%.

5.3 Termogravimetria

Os resultados da termogravimetria e termogravimetria derivada encontram-se nas **Figuras 16 a 19**.

Na **Figura 16** está ilustrada a sobreposição das curvas TG/DTG do sistema com um todo, ou seja, das emulsões propriamente ditas (SE-1, SE-2 e SE-3).

As **Figuras 17-19** ilustram as curvas TG/DTG somente da fase oleosa dos sistemas emulsionados (SE-1, SE-2 e SE-3), sem a adição da água, EDTA dissódico e glicerina.

Figura 16. Curvas TG/DTG obtidas a 10,0°C/min sob atmosfera dinâmica de N₂ (20 mL/min) das amostras do SE-1, SE-2 e SE-3. A seta pode estar relacionada com a perda da glicerina

Figura 17. Curvas (TG/DTG) obtidas a 10,0°C/min sob atmosfera dinâmica de N₂ (20 mL/min) da fase oleosa da amostra SE-1

Figura 18. Curvas (TG/DTG) obtidas a 10,0°C/min sob atmosfera dinâmica de N₂ (20 mL/min) da fase oleosa da amostra SE-2

Figura 19. Curvas (TG/DTG) obtidas a 10,0°C/min sob atmosfera dinâmica de N₂ (20 mL/min) da fase oleosa da amostra SE-3

A partir da **Figura 16**, verificou-se que o perfil dos três sistemas foi semelhante. O primeiro evento de perda de massa, que ocorre entre 25 e 110°C, pode ser atribuído à eliminação de água. Observou-se que, para os três sistemas, esse evento ocorreu de forma similar.

De acordo com a literatura científica, é possível utilizar a TG como um ensaio para a verificação de possível formação de fase gel cristalina em emulsões cosméticas, a partir das análises dos resultados. Isso ocorre, pois o teste permite realizar a diferenciação quantitativa entre água fixa interlamelar, inserida na fase gel hidrofílica do sistema emulsionado O/A, e água livre, mecanicamente fixada na referida fase; características próprias de sistemas líquido-cristalinos (JUNGINGER; AKKERMANS; HEERING, 1984).

A partir da DTG, artifício matemático que possui a finalidade de indicar eventos sobrepostos, impossíveis de serem analisados pela TG, foi evidenciada a presença de dois picos ao invés de um (revelando um processo sobreposto). De acordo com Junginger e colaboradores (1984), as curvas de liberação de água podem mostrar que as águas fixas interlamelares e águas livres são desprendidas em intervalos de temperatura distintos. Com isso, afirma-se que essas duas perdas de massas (**Figura 16**) podem ser caracterizadas primeiramente como a perda de água livre do sistema e, posteriormente, a perda da água fixada interlamelar (água ligada entre as lamelas) (JUNGINGER; AKKERMANS; HEERING, 1984).

Segundo Junginger, Akkermans e Heering (1984), a presença da fase lamelar cristalina em sistemas emulsionados favorece o aparecimento tanto da água livre quanto da água ligada entre as lamelas. A água presa interlamelamente, ou seja, aquela em que se encontrava entre as estruturas da mesofase, necessitou de mais energia para se desprender e sair do sistema. Esse evento pode ser claramente visualizado a partir da **Figura 16** e **Figura 20**, onde houve a necessidade de se atingir uma temperatura mais elevada para seu desprendimento, sendo o evento caracterizado pela segunda perda de massa da DTG.

Figura 20. Representação, primeiramente, da perda de massa referente à água livre (setas azuis) e, posteriormente, à perda de massa da água ligada entre as lamelas (setas amarelas) dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3

Ainda nos mesmos eventos da DTG (**Figura 20**), foi possível observar, para o sistema SE-1, que a taxa de evaporação de água livre aumentou até alcançar 65°C (**A**) e, então, houve um decréscimo. Houve aumento ainda maior da temperatura, alcançando um segundo pico à 80°C (**B**), indicando a evaporação da água presa interlamelar.

Para o sistema SE-2, estes eventos ocorreram à 75°C (**C**) e 102°C (**D**) e, para o sistema SE-3, a 60°C (**E**) e 75°C (**F**), respectivamente. Estes resultados corroboram com a pesquisa de Junginger, Akkermansm e Heering (1984).

O fato pelo qual o SE-2 ter alcançado o maior valor de temperatura significa que o processo de evaporação da água foi dificultado. De acordo com os resultados obtidos por meio da análise microscópica, este fato pode ter ocorrido, pois o SE-2 foi o sistema que aparentemente apresentou maior formação de fase gel lamelar, quando analisado visualmente, ocasionando o

atraso do processo de evaporação tanto da água livre quanto da água interlamelar.

Depois do processo de desidratação (**Figura 16**), os eventos observados através da DTG para os três sistemas foram caracterizados pela perda da glicerina, EDTA dissódico e fase oleosa dos sistemas. Estes dados podem ser confirmados por meio das **Figuras 17-19**, nas quais somente a fase oleosa de cada sistema foi avaliada.

Dados da literatura indicam que a perda da glicerina ocorre em torno de 100 – 180°C (SANTORO, 2006) e a decomposição térmica do EDTA dissódico é observado à 255°C (FMAIA, 2010). Comparando o primeiro evento (DTG) depois do processo de desidratação (**Figura 16**) (~ 160°C) com os primeiros eventos observados nas **Figuras 17, 18 e 19**, respectivamente (~ 250 – 256°C), sugeriu-se que o primeiro evento pode estar relacionado com a perda da glicerina (seta na **Figura 16**)

A partir das curvas TG nas **Figuras 17 a 19**, tem-se que a perda de massa da fase oleosa começa logo após 110°C. Através das curvas DTG foram revelados três eventos para os sistemas SE-1 (**Figura 17**) e SE-3 (**Figura 19**) e quatro eventos para o sistema SE-2 (**Figura 18**).

O evento adicional observado no SE-2 pode estar relacionado com a presença dos dois tensoativos na formulação. Para o SE-1, o segundo evento ocorreu a 305°C (*oleth-20*) e, para o SE-3, este ocorreu à 310°C (*steareth-21*). Os eventos observados no SE-2 ocorreram a 300 e 320°C e podem ser relacionados com a presença de *oleth-20* e *steareth-21*, respectivamente.

5.4 Caracterização física: determinação morfológica e tamanho de partícula da fase interna das emulsões

5.4.1 Análise microscópica

5.4.1.1. Determinação morfológica

Os resultados da análise microscópica sem e com luz polarizada podem ser observados nas **Figuras 21, 22 e 23**.

Figura 21. Fotomicrografia do SE-1, observado à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$).

I: microscopia sem luz polarizada (400X); II: microscopia com luz polarizada (400X)

Figura 22. Fotomicrografia do SE-2, observado à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$).

I: microscopia sem luz polarizada (400X); II: microscopia com luz polarizada (400X)

Figura 23. Fotomicrografia do SE-3, observado à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$).

I: microscopia sem luz polarizada (400X); II: microscopia com luz polarizada (400X)

Os cristais líquidos são caracterizados por apresentarem propriedades dos líquidos e dos sólidos, exibindo, em parte, estrutura típica dos fluidos e, também, estrutura do estado cristalino, como nos sólidos (MAKAI *et al.*, 2003; PRESTES *et al.*, 2010).

A formação da fase gel ocorre em sistemas aquosos quando a combinação de álcool graxo / tensoativo, em excesso àquele requerido para a formação de filme monomolecular na interface da gotícula óleo/água, interagem com a fase aquosa contínua (ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 1997; RIBEIRO; MORAIS; ECCLESTON, 2004). Na fase gel, conhecida também como fase ordenada, as cadeias de hidrocarbonetos estão compactadas em uma subcélula hexagonal com movimento rotacional ao longo do eixo, enquanto no estado líquido cristalino estão desordenados e *liquid-like*. O estado líquido cristalino é também conhecido como estado desordenado (**Figura 24**) (ECCLESTON, 1990).

De acordo com as **Figuras 21, 22 e 23**, por meio da análise microscópica sob luz polarizada, foi possível observar presença de anisotropia ao redor das gotículas de óleo nos três sistemas, o que pode ser indicativo da formação da fase gel cristalina.

A fase líquido-cristalina lamelar é raramente dominante em emulsões cosméticas contendo alcoóis de cadeia graxa longa. Dessa forma, no presente trabalho, não seria provável o aparecimento de estruturas líquidas cristalinas para os três sistemas emulsionados, uma vez que continham o álcool cetosteárilico em sua composição, um álcool graxo de cadeia longa (C₁₆-C₁₈) (ECCLESTON, 1990).

De acordo com a literatura, a formação de estruturas líquidas cristalinas em emulsões contendo álcool graxo de cadeia longa pode ocorrer somente durante o processo de emulsificação da emulsão, ou seja, em altas temperaturas (ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 1997).

Entretanto, no processo de resfriamento, os cristais tendem a se reorganizar e formar a fase gel. Em altas temperaturas, durante o processo de obtenção do sistema, a emulsão formada é estabilizada por um filme monomolecular na interface da gotícula de óleo e fase aquosa. Durante o resfriamento, as moléculas anfifílicas graxas se tornam progressivamente menos solúveis no óleo e difundem-se dessa fase para a aquosa, para formar

micelas esféricas ou cristais líquidos lamelares que irão estabilizar a emulsão ainda mais. Quando a temperatura alcança valores abaixo da temperatura de transição ($\sim 40 - 50^{\circ}\text{C}$), os cristais líquidos convertem-se à fase gel e qualquer álcool que não participou da reação precipita (ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 1997).

A temperatura de transição é aquela em que ocorre a fusão das cadeias de hidrocarbonetos (**Figura 24**). A temperatura é influenciada primeiramente pelas características da porção hidrofóbica do tensoativo, sendo também dependente do grau de insaturações e ramificações presentes (ECCLESTON, 1990).

Figura 24. Representação da fase gel cristalina (abaixo da temperatura de transição) e fase líquido-cristalina (acima da temperatura de transição). Na qual T_c : temperatura de transição

Fonte: ECCLESTON, 1990

Realizou-se experimento¹ no qual foi possível observar a temperatura de transição dos alcoóis graxos utilizados no sistema. Constatou-se que a temperatura de fusão do álcool cetosteárilico foi de $52,69^{\circ}\text{C}$, enquanto o do álcool estearílico etoxilado foi de $52,05^{\circ}\text{C}$ e, por fim, do oleílico etoxilado foi $40,82^{\circ}\text{C}$.

¹ Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Dessa forma, observou-se que à temperatura ambiente ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) todos, os componentes graxos de cadeia longa encontram-se abaixo da temperatura de transição do sistema, ou seja, em sua fase gel cristalina. A presença da fase gel cristalina lamelar tem sido descoberta em alguns tipos de emulsões quando o tensoativo e o álcool graxo interagem com a água (ECCLESTON, 1990).

De acordo com Eccleston (1990), é conhecido que a presença de tensoativos não-iônicos juntamente com a presença de álcool graxo em formulações promovem a formação de fase gel. Santos (2006) e Moraes (2006) relatam alguns alcoóis graxos que poderiam ser utilizados para essa finalidade, como o álcool estearílico, álcool cetílico e álcool cetoestearílico.

O sistema desenvolvido nesse trabalho refere-se justamente a esse tipo de formulação. Utilizaram-se tensoativos não-iônicos etoxilados para o desenvolvimento das emulsões, bem como o álcool cetoestearílico como agente espessante das fórmulas. Podendo a presença das estruturas lamelares ser justificada por esse motivo.

A formação de tais estruturas cristalinas ocorre devido à hidratação das cadeias de polioxidoetileno presentes nos tensoativos etoxilados os quais são orientados em direção à camada de água interlamelar (ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 1997).

A fase de gel pode ser interpretada como uma rede viscoelástica que é formada quando o álcool graxo de cadeia longa, juntamente com o tensoativo (em excesso do que seria necessário para formar um filme monomolecular misto na interface óleo-água), interage com a água da fase contínua. Dessa forma, uma microestrutura complexa é desenvolvida, principalmente caracterizada como lamelas múltiplas formadas por bicamadas de tensoativo, intercaladas por água interlamelar, levando ao intumescimento da rede viscoelástica (fase gel) (**Figura 25**) (ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 2000).

Figura 25. Ilustração esquemática de uma gotícula de óleo sendo estabilizada por multilamelas de fase cristalina

Fonte: ECCLESTON, 1990

O aumento da estabilidade da emulsão é obtido devido ao papel protetor das estruturas multilamelares em torno das gotículas de óleo, os quais são imobilizados na estrutura da fase contínua. Dois fatores principais contribuem para esse efeito: a redução das forças atrativas de van der Waals entre as gotículas de óleo e o aumento da viscosidade média do meio. Floculação e coalescência são, portanto, inibidos com as gotículas de óleo que estão sendo mantidas imobilizadas na fase contínua (ECCLESTON, 1990; ECCLESTON, 2000).

De acordo com a **Figura 22**, foi possível observar que houve maior tendência para formação de estruturas cristalinas em SE-2. Este dado leva a considerar o sistema SE-2 de estabilidade superior por conter fase gel cristalina mais acentuada ao redor das gotículas de óleo.

O fato do SE-2 ter apresentado maior formação de estruturas cristalinas pode ser justificada pelo mesmo apresentar os dois tensoativos em sua composição.

5.4.1.2 Determinação do tamanho de partícula

O programa utilizado realizou a contagem dos tamanhos das gotículas das emulsões, fornecendo não só dados dos valores médios encontrados nos sistemas como também forneceu os valores dos tamanhos da menor e da maior gotícula encontrada, organizando os resultados em tamanhos mínimos e máximos encontrados.

A **Figura 26** evidenciou um exemplo da forma como o programa realizou a contagem das gotículas.

Figura 26. Contagem das gotículas da fase interna da emulsão realizado pelo programa Image[®] Pro Plus

De acordo com a **Figura 26**, as partes em vermelho seriam as gotículas que foram contadas e analisadas estatisticamente. Nesse exemplo, o programa contou 6542 gotículas.

Os resultados dos valores médios ($n = 3$) e os desvios padrão do tamanho das partículas dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 encontram-se na **Figura 27**, enquanto os resultados dos valores dos tamanhos máximos obtidos nos mesmos sistemas encontram-se na **Figura 28**.

Figura 27. Valores médios ($n = 3$) e os desvios padrão do tamanho das partículas dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 por microscopia óptica. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,05$)

Figura 28. Valores médios ($n = 3$) e os desvios padrão dos valores de tamanho máximo encontrados para os sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 por microscopia óptica. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,05$)

De acordo com os dados da microscopia óptica, os valores médios ($n = 3$) e os desvios-padrão dos tamanhos de partículas obtidos para os sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 foram, respectivamente, $1,87 \pm 0,30 \mu\text{m}$; $2,03 \pm 0,29 \mu\text{m}$ e $1,78 \pm 0,19 \mu\text{m}$ (**Figura 27**). Por meio dos resultados da análise estatística, observou-se que esses dados não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Os sistemas apresentaram, em sua grande parte, gotículas com tamanho abaixo de $1 \mu\text{m}$, porém pôde ser observado por meio das **Figuras 21, 22 e 23** que houve a presença de gotículas com tamanho superiores. A média ($n = 3$) e o desvio-padrão do valor de tamanho máximo encontrado para o SE-1 foi $35,69 \pm 13,46 \mu\text{m}$; $28,77 \pm 12,21 \mu\text{m}$ para o SE-2 e $44,46 \pm 14,14 \mu\text{m}$ para o SE-3 (**Figura 28**). Esse fenômeno caracteriza essas emulsões como sistemas polidispersos, uma vez que não apresentaram apenas uma família de gotícula.

5.4.2 Difratometria a *laser*

As médias ($n = 3$) e os desvios-padrão dos resultados obtidos por meio da técnica de difratometria a *laser* estão representados na **Tabela 6** e **Figura 29**.

Tabela 6. Média ($n = 3$) e desvios-padrão dos resultados obtidos da distribuição das gotículas da fase interna dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3: distribuição de 10%, 50%, 90% e D[4,3]

Formulações	10% das gotículas (μm)	50% das gotículas (μm)	90% das gotículas (μm)	D [4,3] (μm)
SE-1	$1,98^a \pm 0,96$	$3,82^a \pm 0,21$	$10,02^a \pm 4,64$	$5,15^a \pm 0,94$
SE-2	$1,46^a \pm 0,21$	$3,40^b \pm 0,30$	$8,59^a \pm 1,20$	$4,60^a \pm 0,47$
SE-3	$1,37^a \pm 0,11$	$3,79^a \pm 0,13$	$9,35^a \pm 0,38$	$4,84^a \pm 0,17$
p (Hartley)	< 0,05	0,08	< 0,05	< 0,05
p (Anova/ Kruskal-Wallis)	0,56	< 0,01	0,62	0,29

Legenda. Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis e teste de Fisher LSD ($p < 0,05$). D[4,3] é o diâmetro médio por volume das partículas.

Constatou-se que das variáveis analisadas, somente a variável distribuição de 50% das gotículas apresentou diferença estatística ($p < 0,05$). Neste caso, o SE-2 apresentou tamanho de partícula inferior aos demais sistemas.

A **Figura 29** ilustra os valores individuais do D[4,3] para os sistemas.

Figura 29. Resultados individuais obtidos a partir do D[4,3]. Diâmetro médio ($n = 3$) das partículas nos sistemas emulsionados SE-1, SE-2 e SE-3. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Fisher LSD ($p < 0,05$). D[4,3] é o diâmetro médio por volume das partículas

Os valores médios ($n = 3$) e os desvios-padrão dos tamanhos de partículas para os SE-1, SE-2 e SE-3 foram, respectivamente, $5,15 \pm 0,94$; $4,60 \pm 0,47$ e $4,84 \pm 0,17$ µm. Apesar de apresentarem tamanhos diferentes, observou-se que não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Assim, constatou-se que o tipo de tensoativo utilizado não influenciou significativamente no parâmetro distribuição das partículas dos sistemas emulsionados.

5.4.3 Tomografia por coerência óptica

Foram utilizadas microesferas como referência da análise, para verificar a calibração do equipamento.

Para realização das análises, as esferas foram observadas juntamente com um aparato o qual a imobilizava, no caso, utilizou-se o gel de carbômero a 1,0% (p/p). Os resultados obtidos encontram-se na **Figura 30**.

(a) **(b)**

Figura 30. Microesfera juntamente com gel de carbômero 1,0% (p/p), **(a)** a esfera encontra-se sobre o gel e **(b)** a esfera encontra-se introduzida ao gel

De acordo com a **Figura 30**, verificou-se que a calibração do equipamento encontrou-se em condições adequadas, uma vez que a esfera **(a)** obteve tamanho de 651,48 μm e a **(b)** o tamanho foi de 724,84 μm . Os resultados encontram-se dentro da faixa de diâmetro preconizada das esferas de 425,00 – 850,00 μm .

Com a finalidade de determinar os parâmetros ótimos para a análise do tamanho das gotículas, ensaios preliminares foram realizados, observados nas **Figuras 31 a 35**.

A **Figura 31** representa a imagem tomográfica da amostra do sistema SE-1 sem realização da dispersão em água destilada. A partir dessa imagem, constatou-se a necessidade da realização deste procedimento, uma vez que não foi possível detectar tamanho apropriado das gotículas da fase interna.

As imagens obtidas nas **Figuras 32 a 34** foram analisadas com os sistemas dispersos aleatoriamente. De acordo com essas imagens, observou-se que as gotículas da fase interna encontraram-se na superfície da lâmina, sugerindo ser insatisfatória a metodologia empregada. Esse fato ocorreu, pois o tempo em que as amostras foram diluídas e o de análise foi elevado, resultando no acúmulo de gotículas na superfície da amostra e não mais na região central. Deste modo, modificou-se a metodologia, diminuindo o tempo entre a dispersão e realização da análise do tamanho das gotículas (**Figura 35**).

Figura 31. Imagem tomográfica do sistema emulsionado SE-1, sem dispersão

Figura 32. Imagem tomográfica da dispersão do sistema emulsionado SE-1

Figura 33. Imagem tomográfica da dispersão do sistema emulsionado SE-2

Figura 34. Imagem tomográfica da dispersão do sistema emulsionado SE-3

Figura 35. Imagens tomográficas da dispersão do sistema emulsionado SE-1, com tempo reduzido de obtenção de imagens

Após os ensaios preliminares, novos testes foram conduzidos com dispersões 1:10, 1:50 e 1:100 das amostras em água recém-destilada.

As **Figuras 36, 37 e 38** representam as imagens tomográficas dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 em dispersão 1:10, 1:50 e 1:100, respectivamente.

Figura 36. Imagens tomográficas obtidas dos sistemas a uma dispersão de 1:10, onde **(a)** SE-1, **(b)** SE-2 e **(c)** SE-3. Setas indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão

Figura 37. Imagens tomográficas obtidas dos sistemas a uma dispersão de 1:50, onde **(a)** SE-1, **(b)** SE-2 e **(c)** SE-3. Setas indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão

Figura 38. Imagens tomográficas obtidas dos sistemas a uma dispersão de 1:100, onde **(a)** SE-1, **(b)** SE-2 e **(c)** SE-3. Setas indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão

Em todas as imagens tomográficas foi possível observar regiões claras e escuras, devido à intensidade do sinal gerado. Observando as imagens obtidas nas **Figuras 36, 37 e 38**, verificaram-se diferenças visuais quando analisadas as dispersões 1:10 e 1:50. Constatou-se que na dispersão 1:10, as regiões com pontilhados “brancos” foram pronunciadas, indicando conter partículas bastante espalhadoras. Esse fato ocorre por ser a dispersão mais concentrada, podendo haver partículas aglomeradas. Porém, não se observou diferença quando se observou as dispersões de 1:50 para 1:100.

É fato consolidado que emulsões são sistemas constituídos por uma fase oleosa, outra aquosa e um sistema emulsificante que irá diminuir a tensão interfacial entre os dois sistemas imiscíveis e, ocasionará o processo de emulsificação. Dessa forma, emulsões são sistemas que apresentam interface, nesse caso, entre a água e o óleo.

Nas imagens tomográficas (**Figuras 36 – 38**), regiões que apresentam interfaces são caracterizadas por apresentarem grande espalhamento de luz, ou seja, apresentam regiões brancas.

O interior das partículas da fase interna das emulsões em estudo é caracterizado por ser constituído pela fase oleosa do sistema, ou seja, não possuem a propriedade de espalhar a luz, apresentando-se como regiões escuras nas imagens tomográficas (**Figuras 36 – 38**).

Outro fator importante a ser considerado para a análise das imagens obtidas é o fato do equipamento OCT possuir limite de detecção. O mesmo é capaz de mensurar apenas partículas que possuam tamanhos superiores a 6,00 μm .

De acordo com os ensaios realizados nas técnicas de difratometria a *laser* e microscopia óptica, constatou-se que a média dos tamanhos das partículas encontrou-se em faixa inferior ao limite de detecção do equipamento OCT.

Diante do exposto, sugere-se que as partículas “brancas” que puderam ser visualizadas nas imagens tomográficas (**Figuras 36 – 38**) representam a interface entre várias gotículas da emulsão, as quais se encontram muito próximas umas das outras e possuem partículas menores que 6,00 μm , não sendo passíveis de detecção pelo equipamento.

Já, para as partículas “pretas”, sugerem-se essas serem representadas pelas gotículas da fase interna da emulsão propriamente dita. Os resultados das análises do tamanho das partículas das regiões indicadas pelas setas nas **Figuras 36 – 38** encontram-se na **Tabela 7**.

Tabela 7. Tamanho das partículas (μm) das regiões indicadas pelas setas dos sistemas SE-1, SE-2 e SE-3 nas dispersões de 1:10, 1:50 e 1:100

Amostras	Tamanho das Partículas (μm)		
	Dispersão 1:10	Dispersão 1:50	Dispersão 1:100
SE-1	35,20	32,65	30,00
SE-2	18,00	20,92	14,54
SE-3	21,81	15,31	25,00; 22,45

Foram realizadas as medidas das partículas somente na direção horizontal, pois a medida na direção vertical não seria condizente com a realidade, uma vez que seria necessária a determinação do índice de refração da fase oleosa da emulsão.

Estes resultados encontraram-se de acordo com os obtidos pela análise microscópica dos valores de tamanho máximo (**Figura 28**), exceto para o SE-3, que apresentou tamanho de partículas maior. Porém, analisando outras imagens que foram obtidas do sistema SE-3 (**Figuras 39 e 40**), regiões compatíveis às analisadas anteriormente (**Figura 28**) foram evidenciadas. A partir da **Figura 39**, pode ser observada região escura de tamanho de 37,50 μm e, na **Figura 40**, regiões escuras de tamanhos diferentes variando de 17,63 a 33,67 μm .

Figura 39. Imagem tomográfica obtida do sistema SE-3 na dispersão de 1:10. Seta indica possível gotícula da fase interna da emulsão

Figura 40. Imagem tomográfica obtida do sistema SE-3 na dispersão de 1:10. Seta indica possível gotícula da fase interna da emulsão

Além das regiões proeminentes de pontos escuros mensuráveis, observou-se, também, a existência de partículas de tamanhos menores, como pode ser observado na **Figura 41**.

Figura 41. Imagens tomográficas obtidas da dispersão (1:100) do sistema emulsionado SE-2. Setas e círculos indicam possíveis gotículas da fase interna da emulsão

O resultado da análise dos tamanhos das partículas escuras na **Figura 41** resultou em tamanhos variando de 7,00 a 15,54 μm . Resultados compatíveis com ambas as análises realizadas anteriormente, difratometria a *laser* e microscopia óptica.

Outro limite da técnica para a determinação do tamanho das partículas na emulsão foi o comprometimento da resolução da imagem ao ser processada pelo computador com extensão “.bmp” para análise posterior, aumentando a dificuldade para determinação dos tamanhos das gotículas. No momento em que as imagens estavam sendo criadas em tempo real, foi possível perfeita visualização das partículas com tamanhos entre 6,00 – 20,00 μm durante todo o tempo de análise e por toda a região da lâmina.

Outro fator importante a ser considerado, é que, apesar dos resultados serem compatíveis aos encontrados pelas outras técnicas para a realização deste trabalho, ainda sugere-se estudo mais aprofundado para certamente identificar as partículas “pretas” como as gotículas da fase interna da emulsão.

5.5 Análise estatística: microscopia óptica *versus* difratometria a *laser*

Os resultados para as médias dos valores encontrados, comparando as metodologias microscopia óptica e difratometria a *laser*, encontram-se descritos na **Tabela 8**.

Tabela 8. Média e desvio-padrão dos resultados obtidos dos tamanhos das partículas dos sistemas emulsionados, por meio das técnicas microscopia óptica e difratometria a *laser*

Sistemas Emulsionados	Microscopia Óptica	Difratometria a <i>Laser</i>
SE-1	1,87 ^a ± 0,30 µm	5,15 ^b ± 0,94 µm
SE-2	1,96 ^a ± 0,29 µm	4,60 ^b ± 0,47 µm
SE-3	1,78 ^a ± 0,19 µm	4,84 ^b ± 0,17 µm

Legenda. Letras diferentes representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com o teste paramétrico *test-t* e não-paramétrico Mann-Whitney U ($p < 0,05$).

A partir dos resultados da estatística, constatou-se que as metodologias empregadas não podem ser comparadas, uma vez que apresentaram resultados estatisticamente diferentes de uma mesma amostra.

Este dado é corroborado com literatura, a qual relata que a análise microscópica não poderia ser comparada à análise da difratometria a *laser*, pois a primeira analisa o diâmetro das gotículas enquanto, os resultados da segunda, geram o volume da distribuição das mesmas (KECK, 2010).

Conclusões

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados e condições experimentais adotadas, as seguintes conclusões são apresentadas:

- Sistemas Emulsionados e Avaliação Preliminar da Estabilidade

As amostras, após a Avaliação Preliminar da Estabilidade por meio dos testes da Centrifugação e do Estresse Térmico, foram consideradas aparentemente estáveis.

O valor de pH indicou um meio levemente ácido independentemente do tipo e concentração do tensoativo, considerando-os biocompatíveis com a pele.

- Perfil Reológico

Os sistemas emulsionados apresentaram características de fluidos não-Newtonianos, pseudoplásticos e com área de histerese. Observou-se que o tensoativo insaturado *oleth-20* (SE-1) proporcionou emulsões com valores de viscosidade aparente inferior aos demais e área de histerese estatisticamente igual ao SE-2; o sistema composto por ambos os tensoativos (SE-2) (*steareth-21* e *oleth-20*) apresentou valor intermediário de viscosidade aparente e, o sistema contendo o tensoativo saturado *steareth-21* (SE-3), valores superiores para ambos os parâmetros.

Por meio dos testes oscilatórios, houve a predominância do caráter elástico para os três sistemas, no entanto, foi possível verificar região viscoelástica linear somente para o sistema SE-3.

- Termogravimetria

Por meio da termogravimetria, o perfil dos três sistemas foi semelhante, independentemente do tipo e concentração do tensoativo não-iônico.

Os dois primeiros eventos de perda de massa, a partir da DTG, foram caracterizados pela evaporação da água dos sistemas. Sendo o primeiro evento caracterizado pela perda de água livre e, posterior, água interlamelar.

O sistema com ambos os tensoativos *steareth-21* e *oleth-20* (SE-2) necessitou de temperaturas superiores para a evaporação da água.

A perda da fase oleosa dos sistemas foi possível observar somente após 110°C, independentemente dos tensoativos utilizados.

- Análise da Área de Anisotropia

Houve formação de fase gel lamelar nos três sistemas, sendo aparentemente mais pronunciado no sistema formado pela da mistura do *oleth-20* com *steareth-21* (SE-2), corroborando com os resultados encontrados por meio da análise térmica.

- Tamanho de Partículas

Tanto na análise microscópica quanto na difratometria a *laser* foram obtidos tamanho médio de partículas menor que 6,0 µm. De acordo com os resultados da OCT, devido ao limite da técnica, os mesmos não foram possíveis de serem mensurados. Outro limite da técnica OCT observado durante o experimento foi o comprometimento da resolução da imagem ao ser convertida a extensão “.bmp”.

Por meio da microscopia, foi possível observar partículas com tamanhos maiores a 6,0 µm, dados que foram encontrados a partir da técnica OCT, no qual as partículas pretas sugeriram ser representativas das gotículas da fase interna da emulsão.

Dessa forma, concluiu-se que a técnica OCT aparentemente permitiu observar partículas que se encontram no interior da emulsão que sugeriram ser as gotículas da fase interna.

Tais considerações/ conclusões reforçam a introdução da OCT como metodologia promissora, porém, maior sensibilidade é requerida para avaliar as gotículas de tamanhos inferiores e a continuação dos estudos para a garantia das análises das partículas pretas.

Referências

REFERÊNCIAS²

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. ABIHPEC. Inteligência de mercado. Panorama do setor. Download do panorama do setor. Disponível em: http://www.abihpec.org.br/wp-content/uploads/2010/11/Microsoft-Word-Panorama-do-setor-2010-2011-14_04_2011.pdf. Acesso em: 01 nov. 2011.

ADAMS, S.; FRITH, W.J.; STOKES, J.R. Influence of particle modulus on the rheological properties of agar microgel suspensions. **Journal of Rheology**, v.48, n.6, p.1195-1213, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília:, 2004. 52p. (Séries temáticas da ANVISA. Qualidade em cosméticos, 1).

ALLEN Jr., L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 775p.

ALLEN, T. **Particle size measurement**. 5.ed. London: Chapman and Hall, 1997. v.1. (Powder technology series).

ALMEIDA, I.F.; BAHIA, M.F. Reologia: interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. **Cosmetics & Toiletries**, v.15, n.3, p.96-100, 2003.

ALVES, R. **Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose**. São Paulo, 2007. 113p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

AMBROSONE, L.; CEGLIE, A.; COLAFEMMINA, G.; PALAZZO, G. General methods for determining the droplet size distribution in emulsion systems. **Journal of Chemical Physics**, v.110, n.2, p.797-804, 1999.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN Jr., L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistema de liberação de fármacos**. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000. p.299-311.

ATTWOOD, D. Sistemas dispersos. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.65-112.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.

BABY, A.R.; MACIEL, C.P.M.; ZAGUE, V.; KANEKO, T.M.; CONSIGLIERI, V.O.; VELASCO, M.V.R. Estabilidade de produtos de aplicação tópica: ensaios aplicados aos produtos cosméticos e dermatológicos emulsionados.

² De acordo com a NBR 6023/2002 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS E TÉCNICAS (ABNT).

International Journal of Pharmaceutical Compounding, Edição Brasileira, v.6, n.3, p.130-139, 2004.

BABY, A.R.; HAROUTIOUNIAN FILHO, C.A.H.; VELASCO, M.V.R. Formas farmacêuticas emulsionadas: sinais de instabilidade e ensaios de estabilidade acelerada. **Anfarmag**, v.12, n.61, p.6-10, 2006.

BABY, A.R.; MIGLIATO, K.F.; MACIEL, C.P.M.; ZAGUE, V.; PINTO, C.A.S.O.; SALGADO, H.R.N.; KANEKO, T.M.; VELASCO, M.V.R. Accelerated chemical stability data of O/W fluid emulsions containing the extract of *Trichilia catigua* Adr. Juss (and) *Ptychopetalum olacoides* Benth. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.3, p.405-412, 2007.

BABY, A.R.; HAROUTIOUNIAN FILHO, C.A.; SARRUF, F.D.; TAVANTE Jr., C.R.; PINTO, C.A.S.O.; ZAGUE, V.; ARÊAS, E.P.G.; KANEKO, T.M.; VELASCO, M.V.R. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rotina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.2, p.233-248, 2008a.

BABY, A.R.; SANTORO, D.M.; VELASCO, M.V.R.; SERRA, C.H.R. Emulsified systems based on glyceryl monostearate and potassium cetyl phosphate: scale-up and characterization of physical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v.361, n.1/2, p.99-103, 2008b.

BALCAN, M.; ANGHEL, D.F.; VOICU, A.; BALCAN, D.C. Determination of thermodynamic parameters of ethoxylated nonionic surfactants by means of reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.204, n.1-3, p.141-151, 2002.

BARRA, G. **Apostila de Processos 4**: EMC 5744. Parte 1: Fundamentos de Reologia e Materiais Poliméricos. [Apostila]. Disponível em: <http://emc5744.barra.prof.ufsc.br/Reologia%20parte%201.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2010.

BECHER, S.E.; SCHICK, M.J. Macroemulsions. In: SCHICK, M.J., ed. **Nonionic surfactants: physical chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1987. p.435-491. (Surfactant Science Series, v.23).

BOODTS, J.B. **Estabilidade química e física de formulações dermocosméticas contendo retinaldeído**. Ribeirão Preto, 2003. 123p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; DOUCET, J.; TRANCHANT, J.F.; COUARRAZE, G. Percutaneous absorption of sunscreens from liquid crystalline phases. **Journal of Controlled Release**, v.60, n.1, p.67-76, 1999.

CAMPBELL, M.K. **Bioquímica**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 751p.

CHOI, Y.H.; LIM, S.T.; YOO, B. Measurement of dynamic rheology during ageing of gelatine–sugar composites. **International Journal of Food Science & Technology**, v.39, n.9, p.935-945, 2004.

CHORILLI, M. **Desenvolvimento e caracterização físico-química de sistemas nanoestruturados contendo palmitato de retinol**: controle microbiológico, avaliação da segurança e eficácia no tratamento do envelhecimento cutâneo. Araraquara, 2007. 196p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista.

CHORILLI, M.; PRESTES, P.S.; RIGON, R.B.; LEONARDI, G.R.; CHIAVACCI, L.A.; SCARPA, M.V. Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos empregando silicones fluído de co-polímero glicol e poliéter funcional siloxano. **Química Nova**, v.32, n.4, p.1036-1040, 2009.

COLO, S.M.; HERH, P.K.W.; ROYE, N.; LARSSON, M. Rheology and the texture of pharmaceutical and cosmetic semisolids. Bordentown: American Laboratory, 2004. p.1-5. Disponível em: <http://www.americanbiotechnologylaboratory.com/Media/PublishingTitles/n1104col.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2011.

CORRÊA, N.M.; CARVALHO Jr., F.B.; IGNÁCIO, R.F.; LEONARDI, G.R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.1, p.73-78, 2005.

DAHMS, G.H. Einfluß der Thixotropie auf die Lichtschutzwirkung von Sonnenschutzemulsionen. **Parfümerie und Kosmetik**, v.75, n.10, p.675-679, 1994.

ECCLESTON, G.M.; BEATTIE, L. Microstructural changes during the storage of systems containing cetostearyl alcohol/ polyoxyethylene alkyl ether surfactants. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.14, n.15-17, p.2499-2518, 1988.

ECCLESTON, G.M. Multiple-phase oil-in-water emulsions. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v.41,n.1, p.1-22, 1990

ECCLESTON, G.M. Functions of mixed emulsifiers and emulsifying waxes in dermatological lotions and creams. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.123-124, p.169-182, 1997.

ECCLESTON, G.M.; BEHAN-MARTIN, M.K.; JONES, G.R.; TOWNS-ANDREWS, E. Synchrotron X-ray investigations into the lamellar gel phase formed in pharmaceutical creams prepared with cetriride and fatty alcohols. **International Journal of Pharmaceutics**, v.203, n.1/2, p.127-139, 2000.

FERRARI, M. **Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleo de andiroba e copaíba**. Ribeirão Preto, 1998. 147p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

FERRARI, C.; SILVEIRA, F.R.X.; BELTRAMI Jr., L.M. **Uso de cristais líquidos em cosméticos**. Piracicaba, 2004. 94p. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade Metodista de Piracicaba.

FIGUEIREDO, E.N.; ARÊAS, J.A.G.; ARÊAS, E.P.G. Rheology of decane/water and triglyceride/water emulsions stabilized by β -casein and sodium caseinate. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.19, n.7, p.1336-1346, 2008.

FMAIA. **EDTA dissódico** Ficha de informação de segurança de produtos químicos (FISPQ) SA023. Documento, 2010. p.3. Disponível em: http://www.fmaia.com.br/fichas_de_seguranca.html. Acesso em: 10 mai. 2010.

FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; SILVA Jr., A.A.; GREMIÃO, M.P.D.; OLIVEIRA, A.G.O. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.3, p.301-313, 2005.

FREITAS, A.Z.; ZECELL, D.M.; VIEIRA Jr., N.D.; RIBEIRO, A.C.; GOMES A.S.L. Imaging carious human dental tissue with optical coherence tomography. **Journal of Applied Physics**, v.99, n.2, p.24906/1-24906/6, 2006.

FREITAS, A.Z. **Caracterização de tecidos biológicos através de tomografia por coerência óptica**. São Paulo, 2007. 118p. Tese de Doutorado - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo.

FREITAS, A.Z.; AMARAL, M.M.; RAELE, M.P. Optical coherence tomography: development and applications. In: DUARTE, F.J. **Laser pulse phenomena and applications**. Rijeka: InTech, 2010. cap.20, p.409-432.

GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Rheological behavior and the SPF of sunscreens. **International Journal of Pharmaceutics**, v.250, n.1., p.35-44, 2003.

GONÇALVES, R.A. **Desenvolvimento e avaliação “in vitro” e “in vivo” de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos**. São Paulo, 1999. 169p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

GOODE, B.G. **Optical coherence tomography: OCT aims for industrial applications**. 09.01.2009. Disponível em: http://www.laserfocusworld.com/display_article/368547/12/none/none/Feat/. Acesso em: 15 out. 2011.

GULLAPALLI, R.P.; SHETH, B.B. Influence of an optimized non-ionic emulsifier blend on properties of oil-in-water emulsion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.48, n.3, p.233-238, 1999.

HAMINIUK, C.W.I.; SIERAKOWSKI, M.R.; IZIDORO, D.R.; MACIEL, G.M.; SCHEER, A.P.; MASSON, M.L. Comportamento reológico de sistemas pécticos de polpas de frutas vermelhas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p.225-231, 2009.

HEE, M.R.; IZATT, J.A.; SWANSON, E.A.; HUANG, D.; SCHUMAN, J.S.; LIN, C.P.; PULIAFITO, C.A.; FUJIMOTO, J.G. Optical coherence tomography of the human retina. **Archives of Ophthalmology**, v.113, n.3, p.325-332, 1995.

HEWITT, J.; DAHMS, G.H. Rheology: its effect on physical SPF's. **Soap, Perfumery & Cosmetics**, v.69, n.1, p.23-25, 1996.

HUANG, D.; SWANSON, E.A.; LIN, C.P.; SCHUMAN, J.S.; STINSON, W.G.; CHANG, W.; HEE, M.R.; FLOTTE, T.; GREGORY, K.; PULIAFITO, C.A.; FUJIMOTO, J.G. Optical coherence tomography. **Science**, v.254, n.5035, p.1178-118, 1991.

IACOCCA, R.G.; GERMAN, R.M.A. Comparison of powder particle size measuring instruments. **International Journal of Powder Metallurgy**, v.33, n.8, p.35-48, 1997.

JEONG, M.W.; OH, S.G.; KIM, Y.C. Effects of amine and amine oxide compounds on the zeta potencial of emulsion droplets stabilized by phosphatidilcholine. **Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.181, p.247-256, 2001.

JUNGINGER, H.; AKKERMANS, A.A.M.D.; HEERING, W. The ratio of interlamellarly fixed water to bulk water in O/W creams. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v.35, p.45-57, 1984.

KECK, C.M. Sizing methods for nanocarriers. In: WORKSHOP NANOTECNOLOGIA, 1, São Paulo, 2010. **Apostila**. São Paulo, 2010. p.6.

KING, R.P. Measurement of particle size distribution by image analyser. **Powder Technology**, v.39, n.2, p.279-289, 1984.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.1.

LASHMAR, U.T.; BEESLEY, J. Correlation of rheological properties of an oil in water emulsion with manufacturing procedures and stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v.91, n.1, p.59-67, 1993.

LEE, C.H.; MOTURI, V.; LEE, Y. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. **Journal of Controlled Release**, v.136, n.2, p.88-98, 2009.

LEMOES, R.G.; FERREIRA, J.M.F.; LAUTENSCHLAGER, C.E.R.; HEINECK, K.S.; CONSOLI, N.C. **Estudo do comportamento de barreiras hidráulicas verticais de solo-bentonita percolada por soda cáustica**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MECÂNICA DOS SOLOS E ENGENHARIA GEOTÉCNICA, 13., Curitiba, 2006. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <http://www.karlaheineck.eng.br/publicacoes/1187698815COBRAMSEG%20-%202006%20-02.pdf>. Acesso em: 20 set. 2011.

LEONARDI, G.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Estabilidade de formulações cosméticas. **International Journal of Pharmaceutical Compounding, Edição Brasileira**, v.3, n.4, p.154-156, 2001.

LEONARDI, G.R.; GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, M.B.G. Study of pH variation on the skin using cosmetic formulations with and without vitamins A, E or ceramide: by a non-invasive method. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.77, n.5, p.563-569, 2002.

LEONARDI, G.R. **Cosmetologia aplicada**. São Paulo: Medfarma, 2004. p.92-93.

LIU, X.; POHL, C. New hydrophilic interaction/reversed-phase mixed-mode stationary phase and its application for analysis of nonionic ethoxylated surfactants. **Journal of Chromatography, A**, v.1191, n.1/2, p.83-89, 2008.

LIZARRAGA, M.S.; PIANTE VICIN, D.De.; GONZÁLES, R.; RUBIOLO, A.; SANTIAGO, L.G. Rheological behaviour of whey protein concentrate and λ -carrageenan aqueous mixtures. **Food Hydrocolloids**, v.20, n.5, p.740-748, 2006.

LOU, A.; SOMASUNDARAM, P.; ZHANG, L. Surfactants and interfacial phenomena in cosmetics and detergency. **Cosmetics & Toiletries**, v.116, p.53-60, 2001.

MAKAI, M.; CSÁNYI, E.; NÉMETH, Z.S.; PÁLINKÁS, J.; EROS, I. Structure and drug release of lamellar liquid crystals containing glycerol. **International Journal of Pharmaceutics**, v.256, n.1/2, p.95-107, 2003.

MASSON, D.S.; MORAIS, G.G.; MORAIS, J.M.; ANDRADE, F.F.; SANTOS, O.D.H.; OLIVEIRA, W.P.; ROCHA FILHO, P.A. Polyhydroxy alcohols and peach oil addition influence on liquid crystal formation and rheological behaviour of O/W emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.26, n.4, p.463-468, 2005.

McCLEMENTS, D.J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition (Journal Seek)**, v.47, n.7, p.611-649, 2007.

MEIRELLES, R.L.; AGGIO, F.B.; COSTA, R.A.; FARAH, M.E. STRATUS optical coherence tomography in unilateral colobomatous excavation of the optic disc and secondary retinoschisis. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v.243, n.1, p.76-81, 2005.

MELO, L.S.A.; ARAUJO, R.E.; FREITAS, A.Z.; ZECELL, D.M.; VIEIRA, N.D.; GIRKIN, J.; HALL, A.; CARVALHO, M.T.; GOMES, A.S.L. Evaluation of enamel dental restoration interface by optical coherence tomography. **Journal of Biomedical Optics**, v.10, n.6, p.1-5, 2005.

MIQUELIM, J.N. **Avaliação reológica e microscópica de espumas tipo marshmallow**. São Paulo, 2010. 135p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

MOGENSEN, M.; THRANE, L.; JORGENSEN, T.M.; ANDERSEN, P.E.; JEMEC, G.B.E. OCT imaging of skin cancer and other dermatological diseases. **Journal of Biophotonics**, v.2, n.6/7, p.442-451, 2009.

MONTEIRO, A.M.R. **Proteínas com funcionalidade mecânica**: um estudo físico-químico sobre a viscoelasticidade da gliadina, uma proteína de reserva do glúten do trigo. São Paulo, 2004. 195p. Tese de Doutorado - Instituto de Química - Universidade de São Paulo.

MORAIS, G.G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide**. Ribeirão Preto, 2006. 158p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

MORRISON, I.D.; ROSS, S. **Colloidal dispersions**: suspensions, emulsions and foams. New York: Wiley-Interscience, 2002. p.420-455.

MUTH, J.E. **Basic statistics and pharmaceutical statistical applications**. 2.ed. Boca Raton: Chapman & Hall, CRC Press, 2006. 714p. (Biostatistics, 16).

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry**. 4.ed. New York: W.H. Freeman, 2005. 1119p.

PAPINI, C.J. **Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula**. São Paulo, 2003. 130p. Dissertação de Mestrado - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo.

PAPINI, C.J.; LEAL NETO, R.M. **Análise Granulométrica de Pós Metálicos por Difração de Laser Via Seca**. In: XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, Foz do Iguaçu, 2006. Anais eletrônicos. **Disponível em:** <http://www.metallum.com.br/17cbecimat/resumos/17Cbecimat-302-056.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2011.

PEREIRA, J.G.; OKUMURA, F.; RAMOS, L.A.; NOBREGA, J.A.; CAVALHEIRO, E.T.G. Termogravimetria: um enfoque para a clássica determinação de cálcio em cascas de ovos. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1661-1666, 2009.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo: Atheneu, 2000. 309p.

PINTO, T.L.; WAKSMAN, R. Clinical applications of optical coherence tomography. **Journal of Interventional Cardiology**, v.19, n.6, p.566-573, 2006.

PRESTES, P.S.; RIGON, R.B.; CORRÊA, N.M.N.; LEONARDI, G.R. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.30, n.1, p.37-43, 2009.

PRESTES, P.S.; CHORILLI, M.; CHIAVACCI, L.A.; SCARPA, M.V.; LEONARDI, G.R. Physicochemical characterization and rheological behavior evaluation of the liquid crystalline mesophases developed with different

silicones. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.31, n.1, p.117-123, 2010.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1981. v.1, p.179-210, 1125-1181.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. v.2, p.422.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992. v.1, p.147.

REMINGTON Farmacia. Buenos Aires: Medica Panamericana, 1998. p.426.

RIBEIRO, H.M.; MORAIS, J.A.; ECCLESTON, G.M. Structure and rheology of semisolid o/w creams containing cetyl alcohol/nonionic surfactant mixed emulsifier and different polymers. **International Journal of Cosmetic Science**, v.26, n.2, p.47-59, 2004.

RIEGER, M.M. Teste de estabilidade para macroemulsões. **Cosmetics & Toiletries**, v.8, n.5, p.24-26, 1996.

RODRIGUES, P.O.; CARDOSO, T.M.; SILVA, M.A.S.; MATOS, J.R. Caracterização termoanalítica e estudo do perfil de dissolução de comprimidos contendo Metronidazol. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.4, p.528-534, 2008.

SALAGER, J.L. Formulation concepts for the emulsion maker. In: NIELLOUD, F.; MARTI-MESTRES, G., eds. **Pharmaceutical emulsions and suspensions**. New York: Marcel Dekker, 2000. p.20-68. (Drugs and the pharmaceutical sciences, v.105).

SANTORO, D.M. **Propriedades físico-químicas de emulsões obtidas a partir dos emulsificantes monoestearato de glicerila e cetil fosfato de potássio**. São Paulo, 2006. 130p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

SANTOS, O.D.H.; MIOTTO, J.V.; MORAIS, J.M.; OLIVEIRA, W.P.; ROCHA-FILHO, P.A. Attainment of emulsions with liquid crystal from marigold oil using the required HLB method. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.26, n.2, p.243-249, 2005.

SANTOS, O.D.H. **Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética *in vivo* de emulsões de óleo de *Calendula officinalis* com cristal líquido**. Ribeirão Preto, 2006. 133p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

SCHIMITT, J.M. Optical Coherence Tomography: a review. **Journal of selected topics in quantum electronics**, v.5, n.4, p.1205-1215, 1999.

SCHNITZLER, E.; COSTA, W.; CARVALHO FILHO, M.A.; IONASHIRO, M. Proposta de análises rápidas de calcários da região de Ponta Grossa por termogravimetria (TG), comparadas com as titulações complexométricas clássicas. **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v.6, n.1, p.37-46, 2000.

SILVA, E.C.; SOARES, I.C. Tecnologia de emulsões. **Cosmetics & Toiletries**, v.8, n.5, p.37-46, 1996.

SILVA, E.C.; VELASCO DE PAOLA, M.V.R.; MATOS, J.R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.3, p.347-356, 2007.

SORIANO, M.M.J.; CONTREARAS, M.J.F.; FLORES, E.S. Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives. **Farmaco**, v.56, n.5/7, p.513-522, 2001.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v.67, n.1/2, p.147-156, 2005.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.108-109, p.227-258, 2004.

TAMBURIC, S. The aging of polymer-stabilized creams: A rheological viewpoint. **Cosmetics & Toiletries**, v.115, n.10, p.43-49, 2000.

TONZAR, A.C. Medições de viscosidade e reologia em cosméticos. **Cosmetics & Toiletries, Edição em Português**, v.18, n.3, p.56-58, 2006.

VELASCO, M.V.R.; BABY, A.R.; SARRUF, F.D.; KANEKO, T.M.; SAMAD, R.E.; VIEIRA JÚNIOR, N.D.; FREITAS, A.Z. Prospective ultramorphological characterization of human hair by optical coherence tomography. **Skin Research and Technology**, v.15, n.4, p.440-443, 2009.

VIANNA FILHO, R.P. **Aplicação de polissacarídeos em emulsão cosmética: análises reológicas**. Curitiba, 2009. 123p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - Universidade Federal do Paraná.

VIEIRA, E.C.; GAZZINELLI, G.; MARES-GUIA, M. **Bioquímica celular e biologia molecular**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 360p. (Biblioteca biomédica).

URBAN, M.C.C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação micro e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona**. Araraquara, 2004. 136p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho".

ANEXO A – Carta de aceite do manuscrito submetido para publicação

Assunto: Ms JDST 2012 / 148

De: johsj (johan.sjoblom@chemeng.ntnu.no)

Para: psprestes@yahoo.com.br; camilla.dagsgard@chemeng.ntnu.no;
catherine.VanSciver@taylorandfrancis.com;

Data: Segunda-feira, 15 de Agosto de 2011 6:41

Dear Dr Prestes

Your ms "Rheological Measurements and . **has been** accepted for publication in the **Journal of Dispersion Science and Technology**. The article has been placed in the production. Note that articles are generally published in the order they are accepted. At this time, there is approximately a 12 month time period between the acceptance of a paper and its actual publication.

Please review the Instructions to Author on the journal's website (http://www.informaworld.com/smpp/title~db=all~content=t713597266~tab=submitt~mode=paper_submission_instructions). Be sure the accepted files conform to its requirements. If you feel that the paper needs slight alterations, please email the new version to Catherine Van Sciver (Catherine.Vansciver@taylorandfrancis.com), who will monitor your paper until its publication. Please name the files with your manuscript number and the word "revised."

Thank you for this most valuable contribution to JDST.

Johan Sjoblom

Editor-in-Chief

ANEXO B – Título do manuscrito aceito para publicação, autores com suas respectivas filiações e *summary*

Rheological measurements and thermal characterization of lamellar gel phase emulsions developed with cetearyl alcohol/ nonionic ethoxylated surfactants

Paula S. Prestes¹, Fabiana A. S. M. Soares¹, Adriano M. Oliveira², Elizabeth P. G. Arêas³, Luiz A. Gioielli¹, Telma M. Kaneko¹, Kléber L. Guimarães², Maria Helena A. Zanin², Maria Valéria R. Velasco¹, André R. Baby¹

¹Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil; ²Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), São Paulo, Brasil; ³Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

SUMMARY

The aim was to characterize emulsion systems (ES) containing nonionic ethoxylated surfactants by using rheological, microscopic and thermogravimetric assays. Three formulations were developed: ES-1: 8.0% (w/w) oleth-20; ES-2: 4.0% (w/w) oleth-20 / 4.0% (w/w) steareth-21; and ES-3: 8.0% (w/w) steareth-21. The systems showed typical non-Newtonian pseudoplastic behavior. The presence of lamellar gel phase was observed for all systems, being more pronounced for ES-2. Through thermogravimetry, the profiles of the three systems were found to be similar, consisting of two main events, the first one being characterized by loss of water and, beyond 110 °C, by loss of the oil phase.

Keywords: Liquid crystal; O/W emulsion systems; Polarized light microscopy; Thermal analysis; Cosmetic emulsion.