

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Gustavo Ventura Motta

**PROCESSO DE NANOEMULSIFICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS
ASSISTIDO POR ULTRASSOM**

Santa Maria, RS

2019

Gustavo Ventura Motta

**PROCESSO DE NANOEMULSIFICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS
ASSISTIDO POR ULTRASSOM**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, **Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi

Santa Maria, RS
2019

Motta, Gustavo Ventura Motta

Processo de nanoemulsificação de óleos essenciais
assistido por ultrassom / Gustavo Ventura Motta
Motta.-2019.

94 p.; 30 cm

Orientador: Cezar Augusto Bizzi

Coorientador: Marcos Antônio Villetti

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2019

1. Sonoquímica 2. Intensificação de processos
3. Nanotecnologia 4. Energias Alternativas 5.
Nanoemulsificação de óleos essenciais I. Bizzi, Cezar
Augusto Bizzi II. Villetti, Marcos Antônio Villetti
III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, GUSTAVO VENTURA MOTTA MOTTA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Gustavo Ventura Motta

**PROCESSO DE NANOEMULSIFICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS
ASSISTIDO POR ULTRASSOM**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

Aprovado em 26 de março de 2019:



Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Prof. Dr. Marcos Antonio Villetti (UFSM)

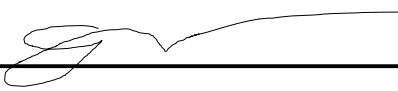


Prof. Dra. Maria de Fátima Pereira dos Santos (UFES)

Santa Maria, RS
2019

DECLARAÇÃO

A pesquisa descrita nesta dissertação foi totalmente elaborada por mim e as informações retiradas da literatura estão devidamente referenciadas. Esta dissertação não foi apresentada anteriormente para obtenção de qualquer outro grau.



Gustavo Ventura Motta

RESUMO

PROCESSO DE NANOEMULSIFICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS ASSISTIDO POR ULTRASSOM

AUTOR: Gustavo Ventura Motta

ORIENTADOR: Cezar Augusto Bizzi

Os óleos essenciais (OEs) são óleos voláteis, de origem vegetal, obtidos por processos físicos e químicos de extração. Para contornar a hidrofobicidade dos OEs e para promover a sua dispersão em meios naturalmente não favoráveis, muitos pesquisadores tem proposto o processo de emulsificação (ex. as nanoemulsões (NEs), com gotículas de diâmetros inferiores a ~300 nm). Com base nos aspectos apresentados acerca da utilização de NEs, esse trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um processo de nanoemulsificação de OEs, fazendo o uso da energia de ultrassom (US) para a obtenção de NEs do tipo óleo em água, sem a utilização de solventes orgânicos. A energia de US, aplicada através de sondas ou banhos de ultrassom, foi comparada com um método convencional de cisalhamento em homogeneizador de alta rotação (HAR). As emulsões foram obtidas por processos em batelada. Com o estudo do equilíbrio hidrofílico lipofílico (EHL) da fase oleosa e do conjunto de tensoativos, foi possível formular nanoemulsões translúcidas, de viscosidades variadas, obtendo produtos líquidos ou pastosos. Variações na geometria das *probes* e na amplitude da onda gerada, bem como o tempo de sonicação e quantidade de fase oleosa, foram estudadas para a elaboração de um método de obtenção de NEs. As emulsões que permaneceram estáveis por mais de 30 dias foram submetidas à análise de diâmetro hidrodinâmico aparente (DH). Nas avaliações utilizando apenas a energia de ultrassom, foram obtidas nanoemulsões com diâmetros hidrodinâmico a partir de 41 nm e com um índice de polidispersão (IPD) inferior a 0,25. Já nos experimentos utilizando o procedimento convencional de cisalhamento (nas rotações de 5000, 10000 e 15000 rpm), as emulsões apresentaram um alto IPD (acima de 0,25), o diâmetro hidrodinâmico variou de 50 nm a 1 µm, resultando em uma forte tendência à coalescência e separação de fases. Esses resultados comprovam a eficiência da energia de US para a obtenção de NEs uniformes, de tamanho de gota reduzido e cineticamente estáveis. Alguns processos em batelada com o uso de *probe* de US, bem como um processo utilizando um banho de US como reator se mostraram promissores para possíveis aplicações industriais. Dentre os dispositivos ultrassônicos avaliados o que teve o melhor desempenho para a redução do DH e do IPD das emulsões foi o dispositivo do tipo *probe*, de 750 W operando a 20 kHz e 60% de amplitude.

Palavras chave: sonoquímica, nanotecnologia, energias alternativas, intensificação de processos, nanoemulsificação de óleos essenciais.

ABSTRACT**NANOEMULSIFICATION PROCESS OF ESSENCIAL OILS ASSISTED BY ULTRASOUND**

AUTHOR: Gustavo Ventura Motta

ADVISOR: Cezar Augusto Bizzi

Essential oils are volatile oils obtained from plants by physico-chemical extraction processes. To overcome the hydrophobicity of essential oils, and allows their dispersion in an unfavorable environment, many researchers have proposed the emulsification process (eg. Nanoemulsions, NEs, with droplets size with less than 300 nm of diameter). Thus, this work aims to develop a process of nanoemulsification of essential oils by using ultrasound energy (US) to obtain oil-in-water NEs, without using organic solvents. US energy, applied using probes or baths systems, was compared with a conventional high-speed homogenizer shear method. The emulsions were obtained by batch processes. After careful evaluation of hydrophilic lipophilic balance (HLB) of the oil phase, and the appropriate surfactant, it was possible to produce a translucent NE with controlled viscosity, allowing obtaining liquid or pasty products. The NE was obtained by evaluating US probe geometry and amplitude, as well as the sonication time and the ration between oil and aqueous phase. The apparent hydrodynamic diameter (HD) analysis were performed for emulsions that remained stable for 30 days, or longer. When only ultrasound energy was used, NEs with HD of 41 nm, and with a polydispersion index (IPD) below 0.25 were obtained. On the other hand, when the conventional shear procedure (at 5000, 10000 and 15000 rpm) was evaluated, the emulsions with IPD higher than 0.25, and the HD ranging from 50 nm up to 1 μm were obtained. The higher values of IPD, associated with high values and non-uniform HD, resulted in an unstable NEs, with strong tendency to coalescence and phase separation. The obtained results corroborates that US energy is an efficient way for obtaining uniform, reduced drop size and kinetically stable NEs. The batch process using the US probe, as well as those using US bath, have shown promise alternatives for possible industrial applications. Among the evaluated ultrasonic systems, the most promising alternative for reducing the HD and IPD was the probe type device, with 750 W of nominal power, operating at 20 kHz, and 60% amplitude.

Keywords: sonochemistry, nanotechnology, alternative energies, process intensification, nanoemulsification of essential oils.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós Graduação em química pela oportunidade de executar este trabalho, por oferecer um curso de pós graduação em química com um corpo docente altamente qualificado e toda uma infraestrutura de ponta para a realização pesquisa em ciência e tecnologia.

Ao Departamento de Química, ao grupo de pesquisa do Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) e do Centro de Estudos em Petróleo (Cepetro) pela metodologia de trabalho, por incansavelmente buscar o aperfeiçoamento de seus pesquisadores e por proporcionar laboratórios modernos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

Ao Prof. César Augusto Bizzi pela orientação, pela amizade, pelo aprendizado proporcionado desde a graduação, pelas colaborações feitas ao longo do desenvolvimento deste trabalho e pela motivação.

Ao Prof. Marcos Antônio Villetti pela co-orientação, pelo conhecimento compartilhado e pelas sugestões feitas.

Ao Prof. Sérgio Mortari, pelas sugestões e colaborações.

Aos participantes da banca examinadora, Prof. Maria de Fátima Pereira dos Santos e Prof. Marcos Antônio Villetti, pelas sugestões e contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Aos professores Valderi Luiz Dressler, Érico Marlon Moraes Flores, Fábio Andrei Duarte, Edson Irineu Muller, Rochelle Sogari Picoloto, Paola de Azevedo Mello, Rodrigo Bolzan e Jussiane de Oliveira, do LAQUIA/CEPETRO, pela amizade, convívio e contribuições profissionais.

Aos colegas e funcionários do LAQUIA/CEPETRO.

Aos meus pais Mauro e Nara e aos meus irmãos Kássio e Vitória.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama esquemático da energia livre de gibbs (δg). Microemulsões possuem uma menor energia livre comparada à suas fases separadas.....	31
Figura 2 - Diagrama esquemático da energia livre de gibbs (δg). Nanoemulsões tem uma maior energia livre comparada à suas fases separadas.....	33
Figura 3 - Gerador de us de a) 130 w e de b) 750 w.....	39
Figura 4 - Conjunto de probes utilizadas durante o estudo.....	40
Figura 5 - Reatores utilizados nos experimentos: a) reator de inox (50 ml); b) béquer de plástico (50 ml) utilizado como reator; c) béquer de vidro (50 ml) utilizado como reator; d) reator de vidro ; e) reator de teflon (50 ml) ; f) reator de vidro (150 ml) fundo cônico e g) reator de vidro (160 ml).....	41
Figura 6 - Banhos ultrassônicos utilizados: a) 25 e 45 khz, 100 w; b) 37 e 80 khz, 200 w; e, c) 35 e 130 khz, 300 w.....	42
Figura 7 - Homogeneizador de alta rotação. E reator de vidro (50 ml) contendo duas fases (o/a) para ilustrar como seriam dispostos har, reator e reagentes antes do procedimento de agitação.....	42
Figura 8 - Processos em batelada em har. A) sistema em batelada; b) e c) sistema contínuo com adição das fases pela lateral da haste de cisalhamento.....	45
Figura 9 - Exemplos dos arranjos de aplicação direta da energia us. A) 20 khz, 130 w; b) 20 khz, 750 w.....	46
Figura 10 - Sistema de us utilizado no processo de emulsificação em banho ultrassônico. O sistema é constituído de uma chapa aquecedora, uma bomba peristáltica, um banho de us e um agitador mecânico de baixa rotação.....	47
Figura 11 - Classificação da aparência visual das emulsões: a) opalescente, b) turva e c) translúcida.....	48
Figura 12 - Aspecto visual das emulsões: a) formação de duas fases emulsionadas, b) gotas coalescidas na superfície da emulsão; e, c) separação de fases.....	60
Figura 13 - Dh, ipd e potencial zeta para emulsão 1 preparada em batelada com 33% de fo, com probe da figura 4d imersa em reator de vidro de 50 ml (750 w de potência, 20 khz de frequência, amplitude de 50% e tempo de 15 min).....	65
Figura 14 - Dh, ipd e potencial zeta para emulsão 6, preparada em batelada com 33% de fo, com probe da figura 4d imersa em reator de vidro de 50 ml (750 w de potência, 20 khz de frequência, amplitude de 40% e tempo de 10 min).....	66
Figura 15 - Dh, ipd e potencial zeta para emulsão 26, preparada em batelada em reator de vidro de 50 ml com probe da figura 4d imersa no reator (750 w de potência, 20 khz de frequência, 50% de amplitude e tempo de 15 min).....	66
Figura 16 - Dh, ipd e potencial zeta para a emulsão 28, preparada em batelada em reator de vidro de 50 ml com probe da figura 4d imersa no reator (750 w de potência, 20 khz de frequência, 60% de amplitude e tempo de 10 min).....	67
Figura 17 - Dh, ipd e potencial zeta para a emulsão 23, preparada com 33%	

de fo em reator de vidro de 50 ml em sistema híbrido (har/us). Primeira etapa em har (1200 w de potência, rotação de 10000 rpm, tempo de 10 min) e a segunda etapa com probe (figura 4i) imersa no reator (130 w de potência, 20 khz de frequência, 60% de amplitude e tempo de 20 min).	68
Figura 18 - Dh, ipd e potencial zeta para emulsão 37, preparada com 33% de fo em reator de vidro de 50 ml em sistema híbrido (har/us). Primeira etapa em har (1200 w de potência, rotação de 15000 rpm, tempo de 10 min) e a segunda etapa com probe (figura 4d) imersa no reator (750 w de potência, 20 khz de frequência, 50% de amplitude e tempo de 10 min).	69
Figura 19 - Dh e pdi para emulsão 11, preparada com 33% de fo em sistema híbrido (har/us). Primeira etapa em har (200 w de potência, rotação de 5000 rpm, tempo de 5 min) e a segunda etapa com o reator de vidro de 50 ml imerso no banho 3 preenchido com água (100 w de potência, 25 khz de frequência, 80% de amplitude e tempo de 15 min).	69
Figura 20 - Processo em batelada. A) gp dos parâmetros que afetaram o dh das emulsões, b) gsr da influência do tempo de processamento e amplitude no dh, c) gsr da influência do percentual de fo e do tempo de processamento no dh, d) gsr da influência do percentual de fo e da amplitude no dh.	75
Figura 21 - Processo em batelada. A) gp dos parâmetros que afetaram o ipd das emulsões, b) gsr da influência do percentual de fo e da amplitude no ipd, c) gsr da influência do percentual de fo e do tempo de processamento no ipd, d). Gsr da influência do tempo de processamento e amplitude no ipd.	78
Figura 22 - Sistema utilizado no processo de emulsificação em banho ultrassônico.	80
Figura 23 - Dh e ipd de emulsão obtida no banho 3 (100 w de potência, 25 khz de frequência e 80% de amplitude).	81
Figura 24 - Dh e ipd de emulsão obtida no banho 2 (330 w de potência, 37 khz de frequência e 80% de amplitude).	82
Figura 25 - Acompanhamento do ph das emulsões obtidas em batelada. O número de barras de cada ensaio representa o número de meses que a emulsão permaneceu estável.	83
Figura 26 - Gráfico de barras mostrando a influência da diminuição do percentual de tensoativos sobre o dh, ipd e potencial zeta.	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições de processo das emulsões, preparadas em batelada, na fase exploratória do estudo.	51
Tabela 2 - Condições de processo das emulsões, preparadas em sistemas combinados, em batelada.....	53
Tabela 3 - Níveis codificados e reais das variáveis independentes em estudo.....	55
Tabela 4 - Delineamento fatorial completo composto central rotacional (23), com 3 variáveis independentes, 3 repetições no ponto central (c) e 6 pontos axiais.....	56
Tabela 5 - Ehl, variação de temperatura (δt , °c) e aspecto visual das emulsões preparadas em batelada.....	62
Tabela 6 - Ehl, variação de temperatura (δt , °c) e aspecto visual das emulsões preparadas em sistemas combinados, em batelada.	63
Tabela 7 - Ensaio calorimétrico em har.	71
Tabela 8 - Ensaio calorimétrico em banho ultrassônico.....	72
Tabela 9 - Condições experimentais, dh e ipd para emulsificação em batelada.	74
Tabela 10 - Monitoramento mensal do ph para as emulsões preparadas em batelada.....	83
Tabela 11 - Viscosidade das nanoemulsões preparadas em batelada, obtidas a 25 ou 45 °c.	84
Tabela 12 - Influência da concentração de tensoativos sobre os valores de dh, ipd e potencial zeta.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A	Área Superficial
A/O	Água em Óleo
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DH	Diâmetro Hidrodinâmico
EHL	Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico
FA	Fase Aquosa
FO	Fase Oleosa
GP	Gráfico de Pareto
GSR	Gráfico de Superfície De Resposta
HAR	Homogeneizador de Alta Rotação
HLB	Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico, do inglês <i>Hidrofílic Lipofílic Balance</i>
IPD	Índice de Polidispersão
NE	Nanoemulsão
O/A	Óleo em Água
OE	Óleo Essencial
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIT	Temperatura de Inversão de Fase, do inglês <i>Phase Inversion Temperature</i>
PNN	Programa Nacional de Nanotecnologia
τ	Tensão de Cisalhamento
US	Ultrassom
σ	Tensão Interfacial
φ	Razão Entre os Volumes de Fase Dispersa e Fase Contínua

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	ENERGIA ULTRASSOM	20
3.2	NANOTECNOLOGIA	23
3.3	EMULSÕES	25
3.4	TENSOATIVOS	29
3.5	NANOEMULSÕES	32
3.6	ÓLEOS ESSENCIAIS	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1	INSTRUMENTAÇÃO	39
4.1.1	Sondas de Ultrassom	39
4.1.2	Reatores para aplicação direta de ultrassom	40
4.1.3	Banhos Ultrassônicos	41
4.1.4	Homogeneizador de alta rotação	42
4.1.5	Analisadores de tamanho de partícula, potencial zeta e viscosidade	43
4.1.6	Outros Equipamentos	43
4.2	REAGENTES	44
4.2.1	Fase Aquosa	44
4.2.2	Fase Oleosa	44
4.3	MÉTODOS	45
4.3.1	Processo convencional de emulsificação	45
4.3.2	Emulsificação assistida por ultrassom	45
4.3.2.1	<i>Aplicação direta utilizando probes de ultrassom</i>	45
4.3.2.2	<i>Aplicação indireta de ultrassom</i>	46
4.3.3	Caracterização das emulsões	48
4.3.3.1	<i>Aspectos qualitativos</i>	48
4.3.3.2	<i>Aspectos Quantitativos</i>	48
4.3.4	Experimentos univariados para avaliação preliminar	49
4.3.5	Delineamento composto central rotacional (DCCR)	55
4.3.6	Avaliações Complementares	56
4.3.6.1	<i>Avaliação calorimétrica em sistemas com probe ultrassônica</i>	57
4.3.6.2	<i>Avaliação calorimétrica em banhos ultrassônicos</i>	57
4.3.6.3	<i>Avaliação calorimétrica do sistema mecânico HAR</i>	58
4.3.6.4	<i>Avaliação de diferentes óleos essenciais</i>	58
4.3.6.5	<i>Controle de pH</i>	58
5	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	59
5.1	DEFINIÇÃO DA FORMULAÇÃO DA FASE OLEOSA	59
5.2	FASE UNIVARIADA DO ESTUDO: OBTENÇÃO DE NANOEMULSÕES EM DIFERENTES SISTEMAS	60
5.2.1	Aspecto visual e variação da temperatura de processamento das emulsões preparadas em batelada	60

5.2.2	Aspecto visual e variação da temperatura de processamento das emulsões preparadas em sistemas combinados (sistemas em batelada)	63
5.2.3	Avaliação do potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão das emulsões preparadas	64
5.2.4	Avaliações complementares da fase univariada do estudo	70
5.2.4.1	<i>Avaliação calorimétrica da energia liberada nos sistemas avaliados</i>	70
5.2.4.2	<i>Avaliação calorimétrica do sistema HAR</i>	71
5.2.4.3	<i>Avaliação calorimétrica em banhos ultrassônicos</i>	71
5.2.4.4	<i>Avaliação calorimétrica em sistemas de US com emprego de probe</i>	72
5.3	FASE MULTIVARIADA DO ESTUDO: OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS DE PROCESSO	73
5.3.1	DCCR aplicado para probe de US em batelada	73
5.3.1.1	<i>Diâmetro hidrodinâmico</i>	74
5.3.1.2	<i>Índice de Polidispersão</i>	77
5.3.2	Avaliações complementares	79
5.3.2.1	<i>Avaliação do emprego da cuba do banho US como reator para a obtenção de NE</i>	79
5.3.2.2	<i>Monitoramento da variação do pH</i>	82
5.3.2.3	<i>Avaliação da viscosidade das nanoemulsões produzidas</i>	84
5.3.2.4	<i>Ensaio com redução de tensoativos</i>	85
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	86
	REFERÊNCIAS	89

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são majoritariamente de origem vegetal, sendo constituídos por uma mistura complexa de substâncias que apresentam estruturas químicas variadas. Os OEs apresentam componentes voláteis, de caráter lipofílico e podem ser obtidos por diversos processos (APEL, 2001; BRASIL, 1999). Sua constituição varia de acordo com a espécie vegetal. As classes de compostos orgânicos majoritários são os fenilpropanóides e terpenóides, que compõe a fração volátil e de baixa massa molecular, além de uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos (saturados ou insaturados, lineares ou ramificados), ácidos, álcoois, aldeídos, ésteres acíclicos ou lactonas, compostos com nitrogênio e enxofre (BELL e CHARLWOOD, 1981).

As propriedades mais exploradas dos OEs são o seu potencial antimicrobiano (GUTIERREZ et al., 2009; NGUEFACK et al., 2012), antiviral (SCHNITZLER, KOCH e REICHLING, 2007), inibidor de acetilcolinesterase, (enzima que contribui para a disfunção cognitiva provocada pelo mal de Alzheimer) (MIYAZAWA e YAMAFUJI, 2006), antioxidante (DAMASCENO et al., 2011; MATSINGOU, KAPSOKEFALOU e SALIFOGLOU, 2000; SACCHETTI et al., 2005), anti-inflamatória (PONGPRAYOON et al., 1997), anti-câncer (LEGAULT e PICHETTE, 2007; SHARMA et al., 2009), atividade sobre o sistema nervoso central (NORTE, COSENTINO e LAZARINI, 2005), anti-parasitária (MIKUS et al., 2000), inseticida (LUCIA et al., 2007; MUMCUOGLU et al., 2002), anestésico (GHELARDINI et al., 2001), entre outros. Alguns estudos apontam que os constituintes de certos OEs podem ser mais eficazes do que os princípios ativos de alguns fármacos sintéticos. Isso pode estar associado à bioatividade de certos componentes dos OEs, principalmente, no que diz respeito à aquisição de resistência ou adaptação de sucessões de micro-organismos a certos fármacos sintéticos. A adaptação e/ou resistência de micro-organismos raramente são relatadas em tratamentos com base em extratos vegetais que possuem uso medicinal (BAKKALI et al., 2008; BURT, 2004).

Em função de algumas características intrínsecas aos OEs, como o seu caráter apolar que os confere lipofilicidade, a sua dispersão em um meio aquoso geralmente requer o uso de energia mecânica e/ou química. Além disso, tensoativos são comumente utilizados para diminuir a tensão interfacial e aumentar a estabilidade entre as fases (DALTIM, 2011).

Nessas dispersões, os sistemas são compostos por uma fase fragmentada de um líquido (ex.: óleos) dispersa em uma fase contínua composta por outro líquido (ex.: água). São exemplos de sistemas dispersos, as espumas (gás disperso em um líquido), as suspensões (material sólido micronizado disperso em um líquido) e as emulsões (dispersão de um líquido imiscível em outro) (DALVIN, 2011; WALSTRA e VAN VLIET, 2010).

Uma emulsão que apresenta uma fase dispersa composta por fragmentos líquidos de diâmetro nanométrico, estando estes fragmentos dispersos e imiscíveis em uma fase líquida contínua, pode ser definida como uma microemulsão ou nanoemulsão. Na literatura são encontrados equívocos a respeito dos aspectos físico-químicos que diferenciam uma micro e uma nanoemulsão (NE). Isso se dá por prevalecerem alguns aspectos históricos no que diz respeito à definição de micro e nanoemulsões. As microemulsões possuem diâmetros hidrodinâmicos (DH) de até ~100 nm e são termodinamicamente estáveis pelo fato de seus constituintes contornarem o efeito da gravidade sobre a fase dispersa (ANTON e VANDAMME, 2011). As nanoemulsões, são caracterizadas por tamanhos de gota de até ~300 nm, não são termodinamicamente estáveis, mas sim cineticamente estáveis porque o tamanho diminuto das partículas pode contornar a força gravitacional exercida sobre as mesmas. Esse reduzido tamanho de gota resulta na redução, ou até mesmo o desaparecimento dos efeitos de sedimentação, flotação ou coalescência, mesmo sem a presença de tensoativos (ANTON e VANDAMME, 2011). É possível encontrar na literatura trabalhos que definem as nanoemulsões como emulsões de diâmetro de gota de até 100 nm (LEONG et al., 2009; MCCLEMENTS, 2011).

Uma vantagem de NEs sobre as emulsões convencionais, além de uma maior área superficial, é a possibilidade de sua diluição sem uma considerável alteração do diâmetro médio de gotas da fase dispersa, o que favorece o seu uso para diversas finalidades. Devido ao tamanho diminuto das gotas de uma NE, a redução do seu DH mediante diluição é mais difícil quando comparado à uma emulsão de diâmetros superiores aos de uma NE (MORALES et al., 2003; SUGUMAR et al., 2013).

A formação de micro e nanoemulsões não é espontânea, ou seja, requer o fornecimento de energia ao sistema para a redução do diâmetro das gotas. Em certas condições de emulsificação, quanto maior é a intensidade de energia adicionada a um sistema, maior é a possibilidade de aumento da área superficial entre as fases, aumentando assim o número de gotículas e, conseqüentemente, reduzindo o raio das

mesmas. A distribuição do diâmetro das gotas (índice de polidispersão, IPD) de uma emulsão varia de acordo com o tipo de fenômeno envolvido em seu processamento. (MELESON, GRAVES e MASON, 2004)

Nos últimos anos, estudos vem relatando a utilização de energias alternativas para a intensificação dos processos de emulsificação. Dentre essas fontes alternativas de energia, o ultrassom vem sendo amplamente investigado. De acordo com os trabalhos apresentados na literatura, os principais fenômenos responsáveis pela formação de emulsões são a turbulência, o cisalhamento e a inversão da gravidade (DALVIN, 2011; KUMAR e KUMAR, 2018). As emulsões formadas podem ser do tipo óleo em água (O/A), sendo o óleo a fase dispersa e a água a fase contínua, ou do tipo água em óleo (A/O), onde a fase dispersa é a água e o óleo é a fase contínua (WALSTRA e VAN VLIET, 2010).

Considerando que a formação de emulsões O/A, cuja fase dispersa apresenta gotas de diâmetros nanométricos, não ocorre de maneira espontânea, a escolha do método de transferência de energia se torna uma etapa crítica. As formas de se fornecer energia a um sistema emulsionável se dividem em métodos de baixa energia e de alta energia (TADROS et al., 2004). Nos métodos de emulsificação de baixa energia, a energia provém do potencial químico das espécies presentes no meio, sendo os exemplos mais comuns as técnicas de emulsificação espontânea e as de temperatura de inversão de fases (PIT, do inglês, *phase inversion temperature*). Os métodos de alta energia, os quais geralmente empregam energia mecânica para promover o cisalhamento de uma das fases, incluem as técnicas de microfluidização, alta pressão, alta rotação e/ou energia ultrassônica (SOLANS et al., 2005).

As características intrinsicamente relacionadas ao tipo de processamento são o diâmetro hidrodinâmico (DH) das gotículas e o IPD (relacionado com a distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotas dispersas em uma fase contínua), os quais afetam a viscosidade e a velocidade de sedimentação das gotículas. Portanto a reprodução de uma determinada emulsão em equipamentos que promovem fenômenos diferentes é muito difícil (WALSTRA e VAN VLIET, 2010).

A energia ultrassom (US), por sua vez, é aplicável a diversos processos industriais e seus efeitos característicos vêm constantemente sendo elucidados. A turbulência causada pela transmissão acústica (do inglês, *acoustic streaming*) e os efeitos causados pelo fenômeno da cavitação acústica são responsáveis por fornecer a energia necessária para que, em um processo de emulsificação, a área superficial

da fase dispersa seja aumentada, mesmo na ausência de um tensoativo (BIZZI et al., 2012). As principais vantagens de utilizar a energia US para a obtenção de emulsões são a possibilidade, em determinadas formulações, da diminuição da concentração de tensoativos e uma maior homogeneidade e estabilidade, em comparação aos processos mecânicos convencionais (ABBAS et al., 2013).

Fica evidente a necessidade de melhoramento dos processos convencionais de nano e/ou emulsificação de óleos essenciais. Além disso, existe uma carência de estudos relacionados a utilização de US como fonte primária de energia. Esses aspectos, aliados às potenciais aplicações da energia US na obtenção de materiais nanoestruturados, amparam a presente investigação acerca dos efeitos da energia US para a intensificação/formação de nanoemulsões de óleos essenciais. Para se verificar a eficiência do uso de US em processos de nanoemulsificação foram investigados diferentes sistemas de aplicação de US, sistemas em batelada, a composição de mistura óleo-água, a amplitude de US e demais parâmetros de processo. Além disso, o DH das gotas formadas e o IPD foram avaliados e comparados com os resultados de emulsões obtidas por processo convencional de agitação mecânica realizado em homogeneizador de alta rotação (HAR).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um processo de emulsificação de óleos essenciais assistida por ultrassom para a obtenção de produtos nanoestruturados, utilizando matérias primas de origem renovável.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o aspecto visual das emulsões obtidas.

Avaliar a intensificação de processos de emulsificação assistidos por ultrassom.

Produzir nanoemulsões sem a posterior remoção de solventes.

Comparar o procedimento proposto com um sistema utilizando homogeneizador de alta rotação.

Fazer uso da escala de EHL para a composição de um sistema tensoativo adequado.

Elencar processos com potencial emprego industrial.

3 REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura abordará os principais conceitos da energia ultrassom, nanotecnologia, emulsões, micro e nanoemulsões; além de processos de emulsificação, estabilidade físico-química de emulsões. Também será feito um apanhado geral sobre óleos essenciais e suas propriedades.

3.1 ENERGIA ULTRASSOM

A energia ultrassom (US) é resultante da oscilação de ondas mecânicas, as quais são propagadas em meios materiais. A propagação das ondas ultrassônicas se dá em frequências acima de 16 kHz, em ciclos consecutivos de rarefação e compressão. A amplitude e o comprimento de onda também governam a propagação de uma onda ultrassônica (CHEN, SHARMA e MUDHOO, 2011). O ultrassom também é definido como a faixa do espectro acústico cuja frequência sonora está acima da frequência audível por seres humanos (>16 kHz) (MASON e LORIMER, 2002).

Em dispositivos ultrassônicos comerciais o US é gerado a partir de materiais de origem natural ou sintética, os quais possuem propriedades piezoelétricas. O efeito piezoelétrico foi descrito pelos irmãos Jacques e Pierre Curie, em 1880 ao descobrirem que alguns minerais, como o quartzo, apresentam polarização elétrica ao sofrer estresse mecânico. Para a sonoquímica, o efeito piezoelétrico inverso é explorado através de transdutores, dispositivos que transformam pulsos elétricos em vibração mecânica na frequência de ultrassom (CHEN, SHARMA e MUDHOO, 2011).

Em 1883, Francis Galton desenvolveu o primeiro transdutor ultrassônico, que consistia em um sonificador para investigar, através da percepção sensorial, o limite da audição humana e animal em termos de frequências sonoras. A primeira versão comercial de um gerador ultrassônico foi criada em 1917, por Paul Langévin, o qual foi utilizado em embarcações, durante segunda guerra mundial, para a detecção de submarinos (MASON e LORIMER, 2002).

Há mais de um século surgiram os primeiros conceitos da sonoquímica e, até a atualidade, muitos estudos ainda vem sendo realizados para o aprofundamento do conhecimento desta área (GHELARDINI et al., 2001). Em 1985, John Thornycroft e Sidney Bernaby descreveram, pela primeira vez, o fenômeno da cavitação acústica.

Em 1927, Richards e Loomis publicaram, no *Journal of the American Chemical Society*, um artigo descrevendo os efeitos químicos de ondas sonoras de alta frequência. Neste artigo, dois tipos de efeitos foram descritos: *i*) a aceleração de reações químicas convencionais, como a hidrólise de dimetil sulfato; e, *ii*) a ocorrência de processos redox, tais como a oxidação do sulfito a sulfato (BURT, 2004). Após esta publicação, nas seis décadas seguintes, muitos estudos foram publicados detalhando estes dois tipos de efeitos. Mais tarde, constatou-se que os efeitos químicos ocorriam apenas na presença de gases mono ou diatômicos dissolvidos no meio líquido reacional. Ao ser comprovado que a natureza dos gases dissolvidos no meio influenciara em tais processos, os pesquisadores da área de ultrassom passaram a avaliar o comportamento das bolhas gasosas sob o campo ultrassônico. O estudo do comportamento das bolhas gasosas sob ação da energia US resultou na teoria da cavitação acústica (BAKKALI et al., 2008; DALVIN, 2011).

A energia US despertou interesse nos químicos pelo fato de o fornecimento dessa energia, que é capaz de modificar a reatividade química em um processo, se dar de maneira não convencional, se diferenciando da energia fornecida via aquecimento, pressurização ou incidência de radiação luminosa. Como principal fonte das mudanças de reatividade observadas nos processos avaliados, o fenômeno da cavitação acústica passou a ser observado de forma mais detalhada (MASON e LORIMER, 2002).

Quando ondas acústicas, na faixa denominada de baixa frequência (16 – 100 kHz), são irradiadas em um meio material apropriado para a sua propagação, mudanças químicas podem ocorrer neste meio. Isto se deve, principalmente, à geração de cavitação acústica (MASON e LORIMER, 2002). Os efeitos sonoquímicos mais intensos são observados em meios irradiados por ondas de frequências entre 16 a 100 kHz, sendo esta faixa a responsável por uma maior energia dissipada no meio, quando comparada com faixas de frequências maiores (acima de 100 kHz) (LEONG, MARTIN e ASHOKKUMAR, 2017). A relação existente entre a frequência sonora e a intensidade dos colapsos das bolhas de cavitação se deve ao tamanho das bolhas formadas, as propriedades físicas do meio sonificado e a amplitude da onda. Com o aumento da frequência, as bolhas de cavitação atingem um tamanho crítico menor e por isso as implosões são menos energéticas (ASHOKKUMAR, 2011; CHATTERJEE, 2003; CHEN, SHARMA e MUDHOO, 2011; LEONG, MARTIN e ASHOKKUMAR, 2017; MASON e LORIMER, 2002; SUSLICK, 1989; WU et al., 2018).

Os principais fenômenos observados em meios líquidos irradiados por dispositivos ultrassônicos de baixa frequência são a agitação, cavitação e transmissão acústica. Como resultado da cavitação acústica, microfluxos, microjatos e aquecimento localizado são observados nas vizinhanças do ponto onde ocorreu o colapso (CHEN, SHARMA e MUDHOO, 2011). Nestas faixas de frequências, também são observadas a erosão de sólidos e a desestabilização de interfaces líquido-líquido, líquido-sólido e líquido-vapor (SUSLICK, 1989). A cavitação pode ocorrer em frequências maiores que 100 kHz, estendendo a faixa de baixa frequência até 2 MHz. Essa faixa estendida, que compreende aproximadamente 16 kHz até 2 MHz, é conhecida como sonoquímica. Nessa faixa, os efeitos advindos do US são conhecidos por contribuir em reações químicas. A faixa de frequências de 2 até 10 MHz é conhecida como sendo a faixa de alta frequência (baixa potência), amplamente utilizada na medicina para o diagnóstico por imagem, em análises químicas e em estudos de fenômenos de relaxação (MASON e LORIMER, 2002).

As mudanças físico-químicas ocasionadas pela incidência da energia US em um determinado meio, são originados pelas bolhas de cavitação as quais são geradas nos ciclos de rarefação. Em condições adequadas, pode ocorrer a formação de uma cavidade em um meio material, desde que o mesmo possua propriedades elásticas (MASON e LORIMER, 2002). Essa cavidade será preenchida por vapores e/ou gases dissolvidos no meio (ASHOKKUMAR, 2011).

Um determinado líquido pode sofrer a ruptura de sua estrutura, formando uma cavidade (bolha de cavitação). Quando esta bolha formada é irradiada por sucessivos ciclos de compressão e rarefação de uma onda ultrassônica, alguns fenômenos podem ocorrer. Em determinadas amplitudes de onda e frequências de oscilação, pode ocorrer a difusão retificada, que consiste em um aumento da difusão de gases e vapores no meio líquido para o interior da bolha. Esse fenômeno faz com que a bolha atinja um tamanho crítico, acima do qual um ciclo de compressão é suficiente para que ocorra o colapso desta bolha de gás/vapor formada (ASHOKKUMAR, 2011; MASON e LORIMER, 2002). Colapsos oriundos de bolhas de cavitação acústica liberam uma considerável quantidade pontual de energia, no raio de alguns micrômetros do local da implosão. Dados experimentais reportam temperaturas da ordem de 5000 °C e pressões de 500 atm, em pontos localizados de alta energia, reforçando um modelo chamado de *“hot-spot”* (SUSLICK, 1990). Em meios líquidos, a intensidade do colapso está diretamente relacionada à frequência ultrassônica

aplicada, amplitude da onda gerada, composição do meio e suas propriedades como a temperatura, viscosidade, densidade, pressão de vapor e tensão superficial (CHATTERJEE, 2003; MASON e LORIMER, 2002; SUSLICK, 1990; WU et al., 2018).

Os efeitos físicos do ultrassom incluem a redução do tamanho de partícula em dispersões sólido-líquido (suspensões) e líquido-líquido (emulsões), favorecendo a formação de emulsões e nanoemulsões, melhorando a dispersão de partículas e a transferência de massa em um meio. Em certos processos ou reações, pode existir uma quantidade ideal de energia ultrassônica a ser incidida para que se obtenha um resultado satisfatório. Quando essa energia é baixa em relação a energia requerida, o processo ou reação pode apresentar um baixo desempenho. De maneira similar, quando a energia dissipada é superior à energia requerida, a coalescência e a elevada densidade de bolhas de cavitação pode comprometer o desempenho de processos e reações assistidos por US (CHATTERJEE, 2003; CHEN, SHARMA e MUDHOO, 2011).

3.2 NANOTECNOLOGIA

A palavra “*nano*” teve origem em 1960, quando os profissionais responsáveis pelo sistema métrico do Sistema Internacional de Unidades (SI), introduziram uma série de prefixos ao SI. Ao prefixo que representa a grandeza de uma parte por bilhão, deram o nome de “*nano*” (TOUMEY, 2018). Entre os exemplos de unidades que fazem uso do prefixo estão o nanossegundo e o nanômetro, os quais representam um bilionésimo de segundo e de metro, respectivamente. Em 1965, os pesquisadores Sin-itiro Tomonaga, Julian Schwinger e Richard Feynman, foram premiados com o Prêmio Nobel de física por suas contribuições à eletrodinâmica quântica e a manipulação de materiais na escala atômica e molecular (THE NOBEL PRIZE IN PHYSICS, 1965) (PHYSICS, 1965). Já o termo nanotecnologia, foi citado pela primeira vez em 1974, por Norio Taniguchi em sua publicação sobre os avanços na produção de semicondutores e a tendência de miniaturização destes dispositivos, destacando que os processos tecnológicos de manufatura de materiais em escala nanométrica seriam comparáveis a processos químicos e biológicos. Após isso, muitos pesquisadores de diversas áreas da ciência fizeram publicações relacionando as suas respectivas áreas com a nanotecnologia (SANJAY e PANDEY, 2017; TANIGUCHI, 1974).

Os nanomateriais são definidos como partículas que apresentam pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica (1 a 100 nm), estes materiais se originam de três formas: *i)* natural, como o material particulado de vulcões em atividade, névoas oceânicas e de águas termais naturais, incêndios florestais, volatilização de poeiras, entre outras; *ii)* acidental, na forma de sub-produtos em processos industriais ou em motores a combustão, ou *iii)* projetada, quando o nanomaterial é desenvolvido para atender uma determinada demanda tal como funcionalização de materiais (HRISTOZOV e MALSCH, 2009).

A nanotecnologia compreende a terceira forma e consiste na geração de materiais, dispositivos e sistemas de dimensões nanométricas. Nanopartículas possuem peculiaridades em suas propriedades ópticas, elétricas, magnéticas, químicas e mecânicas, quando comparadas a materiais de mesma composição porém com dimensões maiores. Além do seu tamanho, os nanomateriais apresentam características como uma alta relação área/volume e outras propriedades de superfície, que podem apresentar funcionalidades. Por outro lado, também podem apresentar toxicidade em relação aos materiais que estão fora desta escala (FARRE, SANCHIS e BARCELO, 2011; HRISTOZOV e MALSCH, 2009; KLOCHIKHIN e SHAPIRA, 2012).

Ao se processar materiais em nanoescala, novas propriedades e funcionalidades podem surgir e serem objeto de inovação em uma ou mais áreas. Dessa forma, qualquer pesquisa em ciência e tecnologias em escala nanométrica exige do conhecimento a multidisciplinaridade (KLOCHIKHIN e SHAPIRA, 2012). A potencialização das propriedades físicas e químicas de certos nanomateriais pode estar relacionada à elevada área de superfície, ao alto grau de dispersão e funcionalização. Tais aspectos podem contribuir para o desenvolvimento dos mais variados produtos em setores como o de transportes, medicina, têxtil, comunicações, alimentos, agricultura, energia, entre outros (ABDI, 2010).

No Brasil, a nanotecnologia é objeto de políticas públicas desde o ano de 2001 (ABDI, 2010). Em 2003, o país instituiu o primeiro programa de nanotecnologia o “*Programa de Desenvolvimento da Nanociência e Nanotecnologia*”, reforçado em 2005 pelo lançamento do “*Programa Nacional de Nanotecnologia*” (PNN) e está prevista permanecer como uma área prioritária e estratégica até o ano de 2022. Além disso, foi criada a SisNano, uma rede de 26 laboratórios atuantes em nanotecnologias (MCTIC, 2016; PLENTZ e FAZZIO, 2013). Apesar de haver esforços por parte dos

órgão públicos para alavancar a nanotecnologia brasileira, o país ainda não se projetou no mercado internacional de maneira inovadora e produtiva, o que torna difícil a consistência e continuidade de sua evolução, comprovada pela baixa participação na indústria mundial, fruto da pequena produção de nanomateriais de tecnologia nacional (PEIXOTO, 2013).

3.3 EMULSÕES

Sistemas polifásicos, ou dispersões, são compostos por uma fase fragmentada dispersa em uma fase contínua. São exemplos de sistemas dispersos as espumas, onde um gás está disperso em um líquido; as suspensões, onde um material sólido micronizado é disperso em um líquido e, as emulsões, que consistem na dispersão de um líquido imiscível em outro (DALVIN, 2011; GUTIERREZ et al., 2009; SCHNITZLER, KOCH e REICHLING, 2007).

As emulsões mais comuns apresentam uma fase dispersa composta por fragmentos de um líquido, onde tais fragmentos possuem diâmetros discretos que, geralmente, não são visíveis a olho nu, dispersos e imiscíveis em uma fase contínua, composta por um outro líquido de características diferentes. Além disso, existem tipos mais específicos de emulsões, tais como as microemulsões ou nanoemulsões. Na literatura é possível encontrar falta de consenso a respeito dos aspectos que diferenciam uma emulsão, microemulsão e nanoemulsão (ANTON e VANDAMME, 2011; GAIKWAD e PANDIT, 2008; MASON et al., 2006; MIYAZAWA e YAMAFUJI, 2006).

Em uma emulsão, também conhecida como dispersão coloidal, o tamanho médio das gotas (ou colóides) dispersas variam de poucos nanômetros até poucos micrômetros. As emulsões que possuem uma certa similaridade na densidade das fases contínua e dispersa e um tamanho de gota da fase dispersa suficientemente pequeno, tende a não desestabilizar facilmente, pois a própria energia térmica do ambiente pode evitar a agregação das gotas. Interações repulsivas e estéricas, decorrentes das características eletrônicas da superfície das gotas, também auxiliam na estabilidade de uma emulsão. Os primeiros sinais de instabilidade começam quando ocorre a agregação de gotas, fenômeno conhecido como coalescência (MASON et al., 2006). Após iniciado o processo de coalescência, como resultado da atração e posterior união de gotas, a tendência é que ocorra a formação de agregados

que poderão sedimentar, flotar ou permanecer em suspensão, porém com seu tamanho original aumentado. Tais fatores, salvo quando propositais, como no caso da formação de géis fractais em altas frações de fase dispersa, levam à instabilidade e até mesmo à completa separação das fases (AIME, CIPELLETTI e RAMOS, 2018; LIN et al., 1990).

Em função de algumas características intrínsecas dos materiais a serem emulsionados, tais como a sua composição química, polaridade e lipofilicidade, a sua dispersão em um meio aquoso, geralmente requer o uso de energia mecânica e/ou química. Além disso, o uso de um tensoativo, que apresenta afinidade por duas substâncias de polaridades diferentes, como por exemplo óleo e água, contribui para diminuir a tensão interfacial (γ) que um sistema emulsionável pode apresentar (APEL, 2001). Os tensoativos são moléculas anfifílicas, ou seja, moléculas que apresentam segmentos lipofílicos e hidrofílicos, que atuam na superfície das gotas da fase dispersa (LANGEVIN, 2014). Estas moléculas diminuem a tensão superficial existente na interface de dois líquidos que apresentam interações atrativas distintas. No caso das emulsões, os tensoativos evitam ou retardam o fenômeno da coalescência (MASON et al., 2006).

Para aumentar a área superficial (A) entre dois líquidos imiscíveis, a energia requerida é " $\sigma \times A$ ". Dessa forma, a tensão interfacial age no sentido de minimizar a área interfacial entre dois líquidos e a energia livre de Gibbs do sistema. Na ausência de tensoativos, em uma dispersão líquido-líquido, a situação de menor tensão interfacial entre dois líquidos imiscíveis em um determinado recipiente seria a completa separação de fases e a área interfacial o mais plana possível. Com exceção das bordas, onde há contato com a parede sólida do recipiente, pode haver a formação de menisco. Na ausência de tensoativos ou impurezas, dois líquidos imiscíveis sempre tenderão a ir para um estado de menor energia, o de menor área interfacial, atingindo o equilíbrio termodinâmico, no qual esta área não pode mais ser diminuída (DIAT, ROUX e NALLET, 1993; MASON et al., 2006).

Quando ocorre a aproximação de duas gotas da fase dispersa de uma determinada emulsão, uma fina camada de fase contínua é formada. Os tensoativos adsorvidos, ou eletrólitos ligados na superfície das gotas da fase dispersa, exercerão repulsão entre as gotas e caso sejam capazes de vencer as forças de atração e/ou aceleração de uma gota sobre a outra, impedirão que o filme de fase contínua seja rompido (MASON et al., 2006).

As emulsões são geralmente classificadas levando-se em consideração a sua composição e/ou a sua morfologia. Emulsões cuja a fase dispersa é oleosa são classificadas como emulsão óleo em água, ou emulsão O/A; uma emulsão tendo a água como fase dispersa é chamada de emulsão água em óleo (A/O) ou emulsão inversa. Uma emulsão bicontínua é aquela que não possui gotas esféricas, mas sim segmentos contínuos de fase dispersa (LIN et al., 1990; MASON et al., 2006; TADROS et al., 2004).

As moléculas que preenchem as gotas de uma emulsão experimentam uma pressão exercida pela curvatura da interface. Quanto menor for diâmetro de gota, maior será a curvatura e a pressão exercida sobre as espécies constituintes destas gotas. A pressão exercida na superfície das gotas é chamada de pressão de Laplace. Além do fenômeno da coalescência de gotas, que ocorre quando o filme de fase contínua é rompido, pode ocorrer também a repulsão de Ostwald. Essa repulsão é oriunda da afinidade de uma fase dispersa por uma fase contínua, resultado de uma falha no sistema tensoativo, a qual permite a união de gotas menores. Como gotas menores possuem pressão de Laplace maior, tendem a ir para o estado de equilíbrio e de menor energia onde a área interfacial é reduzida, sendo possível a agregação de gotas (MASON et al., 2006; TAYLOR, 2003).

Diferente das microemulsões, as quais são formadas pela mistura de substâncias químicas que possibilitam a dispersão de uma fase dispersa em pequenas gotas e por isso possuem estabilidade termodinâmica, as emulsões são dispersões metaestáveis. O termo “metaestável” se refere à como a emulsão foi criada, tendo em vista que a sua estabilidade pode durar meses, anos e até décadas. Para a formação de emulsões metaestáveis é necessário o fornecimento de energia mecânica de cisalhamento à fase contínua, ocorrendo, assim, a divisão das gotas da fase dispersa em gotas menores. Este processo é chamado de emulsificação. Geralmente, um sistema tensoativo é introduzido para manter a repulsão entre as gotas formadas após o cisalhamento mecânico, conferindo estabilidade cinética à emulsão por impedir ou retardar a aproximação e eventual coalescência das gotas de fase dispersa (BIBETTE e LEALCALDERON, 1996; MASON, 1999; MASON et al., 2006).

Para a deformação efetiva de uma gota de fase dispersa até a sua fragmentação em gotículas menores, a tensão de cisalhamento (τ) aplicada ao

sistema deve exceder a pressão de Laplace, a qual consiste na diferença de pressão ($\Delta P_{\text{Laplace}}$) entre os dois lados de uma interface cuja a superfície é curva, na qual o lado interno tende a sofrer compressão devido à tensão interfacial (γ), conforme a Equação 1, onde R1 e R2 são os raios de curvatura da interface. Dessa forma, quanto menor for o raio da gotícula, maior será a pressão de Laplace, que também aumentará com o aumento de γ . Quando tensoativos são adicionados ao sistema, as gotas recém formadas pelo cisalhamento terão a sua superfície revestida pela adsorção do(s) tensoativo(s). Gotículas revestidas com tensoativos podem continuar sofrendo cisalhamento e diminuindo o seu tamanho caso o fornecimento de energia persista, uma vez que os tensoativos proporcionam uma menor resistência à ruptura de filmes de fase dispersa comparado à resistência observada à ruptura de filmes de fase contínua (BIBETTE e LEALCALDERON, 1996; MASON et al., 2006; RALLISON, 1984; WALSTRA e VAN VLIET, 2010).

$$\Delta P_{\text{Laplace}} = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad \text{Equação (1)}$$

A razão entre o volume de fase dispersa e o volume de fase contínua (ϕ) também influenciam as propriedades reológicas de uma emulsão. Porém, somente a composição e proporção das fases não governam o tamanho e a distribuição dos tamanhos das gotas (ou IPD). Além da composição, o histórico e o tipo de cisalhamento proporcionado à uma emulsão também exerce um importante papel para a elucidação de sua estrutura e propriedades físicas (MASON et al., 2006).

À medida que ϕ ultrapassa o valor de 0,50, a forte repulsão que existia entre as gotas do meio passa a ser comprometida, pois ocorre o aumento de fase contínua no meio. O aumento de concentração de gotas faz com que elas se aproximem mais facilmente umas das outras durante o movimento browniano. A aproximação forçada das gotas pode mudar a sua morfologia e levar à cristalização, ocorrendo uma transição entrópica, para que haja o aumento da área disponível para o movimento translacional difuso das gotas. Logo, o aumento da ϕ leva à uma mudança no grau de organização do sistema (MASON et al., 1997; MASON et al., 2006).

Em um estudo sobre dispersão coloidal é de suma importância especificar o tipo de dispersão. Emulsões clássicas, microemulsões e nanoemulsões possuem métodos distintos de preparo, diferentes aplicações, diferentes fatores que influenciam

suas estabilidades, além de diferentes propriedades físico-químicas e funcionais (MCCLEMENTS, 2011).

3.4 TENSOATIVOS

Tensoativos são compostos anfífilicos, ou seja, que apresentam em sua molécula uma fração hidrofílica e outra lipofílica. Eles atuam na interface de dois líquidos imiscíveis, diminuindo a tensão interfacial existente entre eles. A presença ou ausência de cargas na fração polar (hidrofílica) da molécula de um tensoativo o classifica como iônico (cargas positivas ou negativas), não iônico (sem cargas) ou zwitterionico (possuem cargas negativas e positivas) (DALTIM, 2011).

Os tensoativos que apresentam uma maior solubilidade em água tendem a produzir emulsões do tipo O/A mais estáveis, enquanto tensoativos com maior solubilidade em óleo são mais indicados para produzir emulsões A/O. O conceito é chamado de regra de Bancroft, uma regra qualitativa. A lógica dessa regra é baseada no pressuposto de que, para as emulsões do tipo O/A, a estabilização das gotículas do óleo é dependente de uma alta hidrofílicidade da parte polar da molécula de tensoativo, para garantir a solvatação de moléculas de água ao redor da gota de óleo, sempre associada a uma parcela de hidrofobicidade para garantir a adsorção do tensoativo na interface óleo-água (KOMAIKO e MCCLEMENTS, 2015).

Em 1949, Griffin propôs uma modificação à regra de Bancroft, o HLB (do inglês *Hidrofílic Lipofílic Balance*) dos tensoativos, que é um balanço quantitativo entre as características hidrofílicas e lipofílicas de uma molécula em solução. A escala empírica que vai de 0 a 20, onde o polietilenoglicol, por ser bastante hidrofílico, serve de padrão com o seu HLB igual a 20. Hidrocarbonetos, pela sua hidrofobicidade, apresentam um HLB igual a 0. O EHL traduzido para o português é encontrado na literatura com a sigla de EHL (equilíbrio hidrofílico lipofílico)(DALTIM, 2011; MASON et al., 2006).

Para os tensoativos não iônicos, tais como os ésteres, alquilfenóis e outras bases etoxiladas, o cálculo do EHL é dado pela Equação 2. O EHL de misturas de tensoativos é dado pela Equação 3, onde a massa molar (MM) dos tensoativos e a massa molar de frações polares de suas moléculas (MM parte hidrofílica) são consideradas.

$$\text{EHL tensoativo} = \frac{MM_{\text{parte hidrofílica}}}{MM_{\text{total}}} \times 20 \quad \text{Equação (2)}$$

$$\text{EHL mistura} = \frac{[(\text{EHL}_{\text{tensoativo A}} \times \%_{\text{tensoativo A}}) + (\text{EHL}_{\text{tensoativo B}} \times \%_{\text{tensoativo B}})]}{100} \quad \text{Equação (3)}$$

O conceito de EHL de Griffin pode ser utilizado somente para os tensoativos não iônicos, nos quais a polaridade da molécula é proporcional à massa molar da sua fração hidrofílica. Assim, é possível obter misturas de tensoativos com ampla faixa de EHL. A partir destas misturas é possível emulsionar fases lipofílicas de propriedades específicas. Uma fase oleosa a ser emulsionada, composta por um ou mais materiais oleosos (exemplo: óleo essencial e óleo mineral), requer do conjunto de tensoativos um EHL específico, no qual esta fase oleosa será melhor estabilizada na fase contínua (DALVIN, 2011; MASON et al., 2006).

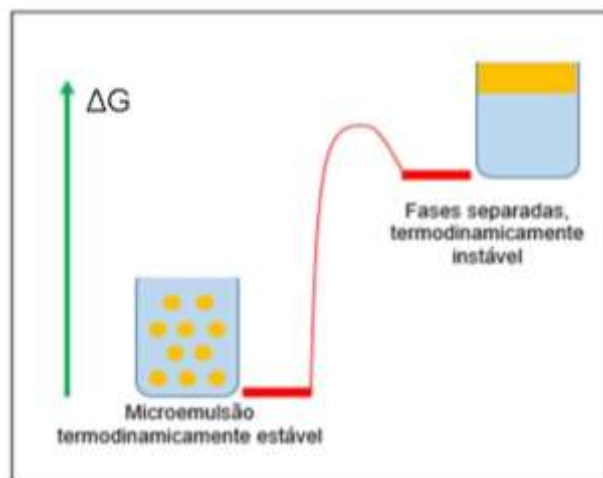
As microemulsões consistem em dispersões coloidais formadas por automontagem molecular, sendo o equilíbrio termodinâmico dos componentes do sistema em estudo o responsável pela formação das fases auto organizadas (ANTON e VANDAMME, 2011). A fase dispersa de uma microemulsão se apresenta finamente dividida em gotas de tamanho nanométrico e podem apresentar aspecto transparente, translúcido ou levemente opaco, em função disso, alguns autores as relatam como nanoemulsões (ANTON e VANDAMME, 2011; KOMAIKO e MCCLEMENTS, 2015; MCCLEMENTS, 2011; RUCKENSTEIN, 1999). Esse tipo de emulsão difere das emulsões clássicas e das nanoemulsões (definição na sequência do texto) por não requerer o fornecimento de energia mecânica de cisalhamento para a sua formação. Microemulsões podem ser do tipo O/A, A/O ou bicontínua (DANIELSSON e LINDMAN, 1981; MASON et al., 2006; MODARRES-GHEISARI et al., 2018; WHITESIDES e GRZYBOWSKI, 2002).

Uma microemulsão não é uma emulsão em microescala. Apesar da confusão que pode ser gerada pelo nome sugestivo, microemulsões não são emulsões em escala micrométrica obtidas por cisalhamento mas sim fases auto-organizadas em equilíbrio termodinâmico, cuja distribuição média dos diâmetros hidrodinâmicos das gotas geralmente está entre 1 e 100 nm. Nesse caso, a tensão superficial não tem um papel tão significativo quanto em uma nanoemulsão e emulsões em escala micrométrica. Um dos principais aspectos que diferenciam uma microemulsão de uma

emulsão micrométrica ou de uma nanoemulsão é o fato das duas últimas não serem termodinamicamente estáveis (ANTON e VANDAMME, 2011; MCCLEMENTS, 2011).

Para microemulsões contendo gotas oleosas de fase dispersa em uma fase contínua aquosa (emulsão O/A), a energia livre de Gibbs é mais baixa quando comparada à mesma energia das fases completamente separadas no mesmo recipiente. Portanto, é energeticamente desfavorável a agregação e coalescência de gotas dessas microemulsões de maneira espontânea, o que justifica a sua classificação como termodinamicamente estável (Figura 1) (MCCLEMENTS, 2011; MODARRES-GHEISARI et al., 2018). Além disso, no caso de microemulsões, uma vez atingido o estado de maior entropia, o sistema tende a não retornar para um estado mais ordenado, salvo no caso em que a energia necessária para que tal evento ocorra seja fornecida ao sistema (MASON et al., 2006).

Figura 1 - Diagrama esquemático da energia livre de Gibbs (ΔG). Microemulsões possuem uma menor energia livre comparada à suas fases separadas.



Fonte: Arquivo pessoal do autor

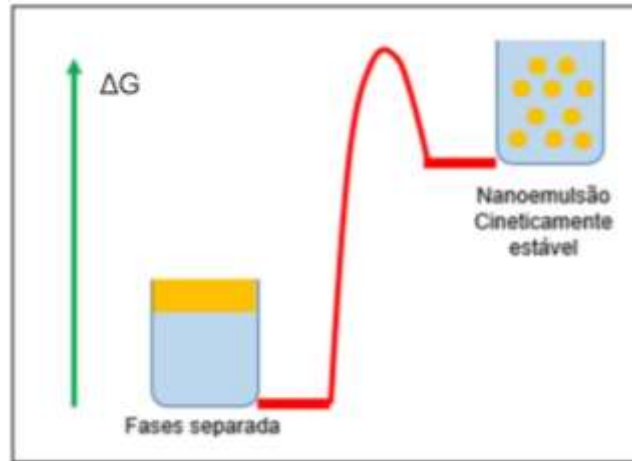
Quando o objetivo de um processo é dispersar substâncias instáveis, tais como peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos, entre outros, em um meio no qual essas substâncias sejam imiscíveis ou parcialmente miscíveis, o emprego de métodos de baixa energia é uma ótima alternativa. Os métodos de baixa energia são os responsáveis pela formação de microemulsões, uma vez que eles não promovem o cisalhamento mecânico da fase dispersa e sim a auto-organização das moléculas a partir da energia contida nos próprios reagentes na forma de potencial químico de

tensoativos, co-tensoativos, co-solventes e eletrólitos. A energia para formação de microemulsões também pode ser através do fornecimento de energia térmica. Métodos de emulsificação como o PIT (temperatura de inversão de fase) e emulsificação espontânea são exemplos onde somente os reagentes e/ou a variação da temperatura bastam para que a emulsificação ocorra de maneira espontânea, resultando em uma microemulsão. Nesses processos, geralmente é requerida a adição de um solvente para a diminuição da viscosidade da fase dispersa, sendo, em muitos casos, necessária a sua posterior remoção (KOROLEVA e YURTOV, 2012; MCCLEMENTS, 2011; MODARRES-GHEISARI et al., 2018; MORALES et al., 2003).

3.5 NANOEMULSÕES

As nanoemulsões são emulsões metaestáveis, de alta área superficial, cuja distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos das gotas encontra-se na escala nanométrica, geralmente entre 1 e 300 nm. Apesar de compreenderem a mesma faixa de tamanho das microemulsões, as nanoemulsões não são formadas a partir da auto-organização molecular, mas obtidas mediante o fornecimento de energia mecânica cisalhante. A energia fornecida deve ser capaz de vencer a elevada tensão interfacial existente entre as fases a serem nanoemulsionadas, diferente das microemulsões que possuem baixa tensão interfacial inerente aos diminutos raios de curvatura das gotas que as compõe. Outro diferencial é que nanoemulsões não são termodinamicamente estáveis, mas sim cineticamente estáveis. Por estarem em um estado metaestável, as nanoemulsões podem retornar ao estado de menor entropia e tender à separação de fases, caso o sistema sofra uma perturbação que seja capaz de exceder a energia livre de ativação, conforme mostrado na Figura 2 (ANTON e VANDAMME, 2011; MASON et al., 2006; MCCLEMENTS, 2011; MODARRES-GHEISARI et al., 2018; REDDY e FOGLER, 1981).

Figura 2 - Diagrama esquemático da energia livre de Gibbs (ΔG). Nanoemulsões tem uma maior energia livre comparada à suas fases separadas.



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Ao considerar um sistema em equilíbrio entre a dispersão coloidal (microemulsão ou nanoemulsão) e as fases separadas (água, óleo(s) e tensoativo(s) misturado(s) ao óleo ou à água), a energia livre associada à formação da dispersão coloidal a partir das fases separadas pode ser dada pelos termos energia livre interfacial (ΔGI) e pela entropia configuracional ($\Delta S_{\text{configuracional}}$), onde a energia livre de formação da dispersão coloidal (micro ou nanoemulsão) é dada pela Equação 4. Em temperatura, pressão e potencial químico interfacial constantes, a energia livre interfacial é igual ao aumento da área de contato entre as fases oleosa e aquosa, multiplicado pela tensão interfacial da interface óleo-água, de acordo com a Equação 5 (MCCLEMENTS, 2011).

$$\Delta G_{\text{formação}} = \Delta GI - T\Delta S_{\text{configuracional}} \quad \text{Equação (4)}$$

$$\Delta GI = \gamma\Delta A \quad \text{Equação (5)}$$

A $\Delta S_{\text{configuracional}}$ depende do número de formas que a FO pode estar arranjada no sistema. Ela sempre será negativa pois o número de arranjos possíveis para a FO no estado emulsificado é muito maior do que os arranjos possíveis no estado das duas fases (FO e FA) separadas, o que favorece a formação de uma dispersão coloidal. A $\Delta S_{\text{configuracional}}$ pode ser determinada ao se fazer uma análise estatística do número de configurações que as gotas de uma fase dispersa podem ter em uma emulsão e no

estado das fases separadas, de acordo com a Equação 6, onde n é o número de gotículas na emulsão, k é a constante de Boltzmann e ϕ é a fração de volume de fase dispersa (MCCLEMENTS, 2011).

$$\Delta S_{\text{configuracional}} = -\frac{nk}{\phi} (\phi \ln \phi + (1 - \phi) \ln(1 - \phi)) \quad \text{Equação (6)}$$

A estabilidade de nanoemulsões pode ser oriunda do próprio tamanho diminuto da fase dispersa, o qual pode vencer as forças de sedimentação ou ascensão, garantindo a sua suspensão homogênea na fase contínua e uma eventual repulsão exercida entre as gotas. A repulsão pode ser reforçada ou garantida pela adição de tensoativos ou eletrólitos, evitando a coalescência e aumentando, assim, a estabilidade. Outros fatores, como o pH e a temperatura, também podem influenciar na estabilidade de nanoemulsões (DALVIN, 2011; DIAT, ROUX e NALLET, 1993; LANGEVIN, 2014; REDDY e FOGLER, 1981).

Por possuir tamanho de gota menor que os comprimentos de onda da luz visível, as nanoemulsões possuem características que as distinguem de emulsões clássicas de escala micrométrica como a menor reflexão da luz. Para emulsões em microescala a aparência é geralmente opaca devido ao reflexo dos fótons provocado pelas gotas de fase dispersa. Já nas nanoemulsões geralmente ocorrem apenas o desvio de fótons. O aspecto visual das nanoemulsões pode variar, geralmente de translúcido à levemente opaco (MASON et al., 2006).

Para a obtenção de uma nanoemulsão os métodos considerados mais apropriados geralmente envolvem o fornecimento de alta energia cisalhante. Algumas nanoemulsões, caracterizadas como cineticamente estáveis, podem ser obtidas por métodos de baixa energia tais como o da temperatura de inversão de fase (CALLIGARIS et al., 2017). Porém, há autores que seguem algumas convenções, as quais não associam métodos de baixa energia à formação de nanoemulsões (REISS, 1975).

Quando se quer a formação de nanoemulsões com tamanho de gotas uniforme, o IPD deve estar em torno de 0,2. Emulsões cujo IPD está na faixa de 0,2 são chamadas de emulsões monodispersas, por apresentar uma estreita faixa de tamanho das gotas que a compõe. Este parâmetro é estimado por instrumentos que detectam

o diâmetro médio das gotas e sua distribuição de tamanhos, através espalhamento de luz provocado pelas gotas da nanoemulsão (MASON et al., 2006).

A fonte de energia mecânica de cisalhamento necessária para a formação de uma nanoemulsão pode variar bastante. Os dispositivos considerados de alta eficiência são os microfluidizadores, os dispositivos ultrassônicos, os homogeneizadores de alta rotação, membranas seletivas, válvulas de alta pressão e moinhos coloidais (KOROLEVA e YURTOV, 2012). Adicionalmente ao cisalhamento, ainda podem ser feitos recobrimentos nas gotas recém-formadas, como no caso da técnica de deposição de polímero pré-formado, o que confere rigidez às gotas e a possibilidade de liberação controlada do ativo que compõe o seu interior (SOUZA et al., 2016).

As taxas de cisalhamento requeridas para a formação de uma nanoemulsão, com diâmetro médio de gotas na faixa de 100 nm e IPD abaixo de 0,2 são relativamente altas. Elevadas taxas de cisalhamento não são possíveis em instrumentos comuns, tais como liquidificadores potentes e outros tipos de homogeneizadores de alta rotação. Além disso, equipamentos de cisalhamento localizado em regiões próximas às lâminas ou rotores, geralmente não são efetivos quando se deseja uma determinada vazão de processamento. Os equipamentos mais apropriados para os processos em fluxo são os microfluidizadores e os dispositivos ultrassônicos (KOROLEVA e YURTOV, 2012; MASON et al., 2006).

Os microfluidizadores são dispositivos nos quais uma emulsão grosseira, preparada previamente, é submetida ao bombeamento por pistão através de tubulações muito estreitas, onde o diâmetro da tubulação determinará o diâmetro da fase dispersa após a passagem da emulsão pelo dispositivo. Além disso, pressões da ordem de 2000 atm são observadas no interior das tubulações (KOROLEVA e YURTOV, 2012; MASON et al., 2006). Já os dispositivos ultrassônicos são aqueles que fornecem energia mecânica na frequência de ultrassom, cisalhando as gotas pela ocorrência de fenômenos como a transmissão acústica e, principalmente, a cavitação acústica (ABBAS et al., 2013; KUMAR e KUMAR, 2018; LEONG, MARTIN e ASHOKKUMAR, 2017; LEONG et al., 2009). Além disso, a energia US aumenta a convecção no meio sonificado, aumentando, assim, a transferência de massa e auxiliando na redução de viscosidade pela dissipação parcial da energia na forma de calor, comprovado pelo aumento de temperatura em alguns processos (BIZZI et al.,

2019; CHEN, SHARMA e MUDHOO, 2011; LEONG, MARTIN e ASHOKKUMAR, 2017; MELESON, GRAVES e MASON, 2004).

As nanoemulsões representam um interessante grupo de nanomateriais, os quais, entre outras finalidades, possibilitam o aprisionamento de agentes químicos ou biológicos em materiais de suporte, também chamados de nanocarreadores. Estes materiais de dimensões nanométricas podem dar funcionalidade a um determinado ativo, melhorando a sua solubilidade, a estabilidade físico-química de ativos sensíveis à luz, degradação e oxidação; além de aumentar a biodisponibilidade a partir da permeação e/ou o tempo de residência de ativos em locais alvo, proteger os ativos de ações do meio e controlar a sua taxa ou condição ideal de liberação, melhorando, assim, o desempenho do material a ser carregado. A possibilidade de produção de nanoemulsões atóxicas e biodegradáveis as tornam aplicáveis em diversos produtos na área médica, farmacêutica, nutracêutica e de alimentos (ANTON e VANDAMME, 2011; FATHI, MARTIN e MCCLEMENTS, 2014; LEONG et al., 2009; MCCLEMENTS, 2012; MCCLEMENTS, 2011; SHIN, KIM e PARK, 2015; WALSTRA e VAN VLIET, 2010).

As nanoemulsões apresentam uma série de vantagens sobre as emulsões convencionais e as microemulsões, tais como a possibilidade de produzir nanoemulsões de tamanho de gota controlado, produção em larga escala e obtenção de emulsões translúcidas e de alta estabilidade cinética. Por outro lado algumas desvantagens como a maior quantidade de tensoativo requerida para a estabilização comparada às microemulsões pode ser um fator limitante para determinadas aplicações, tendo em vista a toxicidade de certos tensoativos. Outro fator negativo é o consumo de energia, visto que nanoemulsões necessitam de altas taxas de cisalhamento, ao contrário de microemulsões que requerem apenas a elevação de temperatura e, eventualmente, agitação branda. Em nanoemulsões, a elevação do percentual de fase dispersa a ser emulsionada pode afetar fortemente a distribuição de tamanho das gotas, efeito que em emulsões convencionais não é observado (GHOSH, MUKHERJEE e CHANDRASEKARAN, 2013; MASON et al., 2006; SHIN, KIM e PARK, 2015).

3.6 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são majoritariamente de origem vegetal. São constituídos por uma mistura complexa de substâncias que apresentam estruturas químicas variadas. Os OEs apresentam componentes voláteis, de caráter hidrofóbico e podem ser obtidos por diversos processos físicos (APEL, 2001; BRASIL, 1999). Sua constituição varia de acordo com a espécie vegetal. As classes de compostos orgânicos majoritários são os fenilpropanóides e terpenóides, que compõe a fração volátil e de baixa massa molecular, além de uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos (saturados ou insaturados, lineares ou ramificados), ácidos, álcoois, aldeídos, ésteres acíclicos ou lactonas, compostos com nitrogênio e enxofre (BELL e CHARLWOOD, 1981).

As propriedades mais exploradas dos OEs são o seu potencial antimicrobiano, antiviral, inibidor de acetilcolinesterase, (enzima que contribui para a disfunção cognitiva provocada pelo mal de Alzheimer), antioxidante, anti-inflamatória, anti-câncer, atividade sobre o sistema nervoso central, anti-parasitária, inseticida, anestésico, entre outros. Alguns estudos apontam que os constituintes de certos OEs podem ser mais eficazes do que os princípios ativos de alguns fármacos sintéticos. Isso se deve à bioatividade de certos componentes dos OEs, principalmente no que diz respeito à aquisição de resistência ou adaptação de sucessões de micro-organismos a certos fármacos sintéticos. A adaptação e/ou resistência de micro-organismos raramente são relatadas em tratamentos com base em extratos vegetais que possuem uso medicinal (BAKKALI et al., 2008; BURT, 2004; DAMASCENO et al., 2011; GHELARDINI et al., 2001; GUTIERREZ et al., 2009; LEGAULT e PICHETTE, 2007; LUCIA et al., 2007; MATSINGOU, KAPSOKEFALOU e SALIFOGLOU, 2000; MIKUS et al., 2000; MIYAZAWA e YAMAFUJI, 2006; MUMCUOGLU et al., 2002; NGUEFACK et al., 2012; NORTE, COSENTINO e LAZARINI, 2005; PONGPRAYOON et al., 1997; SACCHETTI et al., 2005; SCHNITZLER, KOCH e REICHLING, 2007; SHARMA et al., 2009).

Devido às possibilidades de aplicação das diversas propriedades dos óleos essenciais, as indústrias de cosméticos, alimentos e farmacêutica vem lançando produtos utilizando esta matéria prima de origem vegetal e renovável (PIMENTEL-MORAL et al., 2018).

Em função de algumas características intrínsecas aos OEs, como o seu caráter apolar que os confere lipofilicidade, a sua dispersão em um meio aquoso geralmente requer o uso de energia mecânica e/ou química. Além disso, o uso de um tensoativo para diminuir a tensão interfacial e aumentar a estabilidade entre as fases normalmente é necessário (DALTIM, 2011).

A adição de OEs em nanocarreadores, tais como nanoemulsões, podem melhorar algumas de suas propriedades, principalmente em alimentos, fármacos e cosméticos, pois as quantidades de OE requeridas nesses segmentos são geralmente baixas, sendo o seu fracionamento em escala nanométrica uma boa opção para uma efetiva distribuição do OE no produto desejado. Além disso, efeitos negativos dos OEs, como perdas por volatilização, sabores indesejados quando dispersos em alimentos, escurecimento de alimentos por reações químicas com componentes do OE, inativação de princípios ativos antes de chegar ao alvo, entre outros, podem ser contornados ao introduzir o OE dentro de um carreador em nanoescala (GARG e SINGH, 2011; GHOSH, MUKHERJEE e CHANDRASEKARAN, 2013; SADAKA et al., 2014).

Um fator que deve ser considerado ao adicionar um óleo essencial à uma formulação do tipo emulsão ou nanoemulsão é que algumas propriedades dos componentes dos óleos essenciais podem afetar algumas das características da formulação a ser obtida. Devido ao caráter polar de alguns compostos, em especial os compostos fenólicos aromáticos, presentes em óleos essenciais, alguns efeitos como a dificuldade de aprisionamento desses compostos dentro dos carreadores lipofílicos, podem ser observados. Adsorção na superfície da fase dispersa ou maior interação dos ativos com a fase contínua, podem comprometer a estabilidade, a distribuição do tamanho de gotas e a diminuição dessas gotas durante o cisalhamento. Em função disso, uma escolha correta dos materiais carreadores deve ser feita para assegurar a funcionalidade da emulsão (DONSI et al., 2012; DONSI et al., 2014; GARG e SINGH, 2011; PIMENTEL-MORAL et al., 2018).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

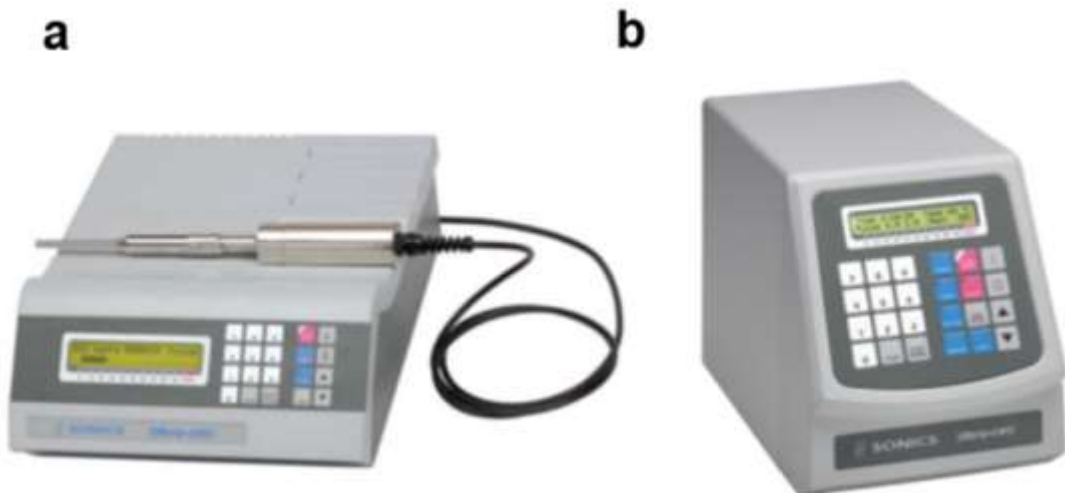
Nessa sessão serão descritos os equipamentos, reagentes e procedimentos utilizados nas avaliações feitas para produção de nanoemulsões assistida por US, bem como o método com agitação mecânica convencionalmente utilizado, o qual foi utilizado como método de comparação.

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

4.1.1 Sondas de Ultrassom

Para os experimentos de produção de emulsão assistida por US, foram utilizados geradores de ultrassom de 20 kHz, com potência nominal de 130 W e de 750 W (Sonics and Materials Inc., Newtown, EUA).

Figura 3 - Gerador de US de a) 130 W e de b) 750 W.



Fonte: www.sonics.com

A esses geradores foram acoplados os transdutores (dispositivo que contém um arranjo de cristais piezoelétricos capaz de transformar a energia elétrica, oriunda do gerador, em energia mecânica). A deformação mecânica gerada nos transdutores é propagada para o meio que se deseja sonificar por meio de ponteiros metálicas (*probes*), que são dispositivos utilizados para a transmissão da energia acústica (guias

de onda), utilizados para aplicação direta da energia US. A Figura 4 ilustra as *probes* utilizadas durante o estudo.

Figura 4 - Conjunto de probes utilizadas durante o estudo.



Fonte: Arquivo pessoal do autor

4.1.2 Reatores para aplicação direta de ultrassom

Nesse estudo foram avaliados reatores para aplicação direta de US com diâmetro, volumes e geometria variáveis, visando condições reacionais que garantissem a homogeneidade dos eventos de cisalhamento provocados pela energia US à todos os componentes do meio. Os diferentes reatores utilizados estão mostrados na Figura 5. A finalidade com que cada reator foi avaliado está descrita na sequência desse texto.

Figura 5 - Reatores utilizados nos experimentos: a) reator de inox (50 mL); b) béquer de plástico (50 mL) utilizado como reator; c) béquer de vidro (50 mL) utilizado como reator; d) reator de vidro ; e) reator de teflon (50 mL) ; f) reator de vidro (150 mL) fundo cônico e g) reator de vidro (160 mL).



Fonte: Arquivo pessoal do autor

4.1.3 Banhos Ultrassônicos

Para os procedimentos de preparo de emulsões assistidos por US em banhos ultrassônicos, os equipamentos utilizados durante os experimentos dispunham de configurações variáveis de frequência e potência, além de controle de amplitude da onda gerada. Em banhos ultrassônicos, geralmente há um arranjo de transdutores localizados abaixo da cuba/reator, sendo a energia propagada para o meio de forma indireta. Os equipamentos utilizados estão apresentados na Figura 6. Foram utilizados três modelos de banhos ultrassônicos, os quais operam em frequências de 25 e 45 kHz com potência nominal de 100 W – modelo Transsonic TI-H-5 (Figura 6a); 35 e 130 kHz com 200 W de potência – modelo Transsonic TI-H-10 (Figura 6b); 37 e 80 kHz e 330 W - modelo Elmasonic P (Figura 6c); todos com ajuste de amplitude de 0 a 100% (Elma GmbH&Co, Singen, Alemanha). Os tempos de sonicação variaram de 15 a 50 minutos e a temperatura inicial dos processos em banho US foram fixadas em 45 °C, tendo em vista as baixas temperaturas de degradação de princípios ativos da

maioria dos OEs e também o aquecimento adicional ocasionado pelos próprios efeitos da energia US.

Figura 6 - Banhos ultrassônicos utilizados: a) 25 e 45 kHz, 100 W; b) 37 e 80 kHz, 200 W; e, c) 35 e 130 kHz, 300 W.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.1.4 Homogeneizador de alta rotação

Para o procedimento de preparo de emulsões com agitação mecânica foi utilizado o homogeneizador de alta rotação, modelo Polytron PT 3100 D, com 1200 W de potência, haste de 10 mm e rotações de 5000 até 15000 rpm (Kinematica Dispersing and Mixing Technology, Montreal, Canadá), apresentado na Figura 7.

Figura 7 - Homogeneizador de alta rotação. E reator de vidro (50 mL) contendo duas fases (O/A) para ilustrar como seriam dispostos HAR, reator e reagentes antes do procedimento de agitação.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.1.5 Analisadores de tamanho de partícula, potencial zeta e viscosidade

Para a avaliação do potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico aparente (DH) das gotículas das nanoemulsões, foi utilizado o equipamento analisador de partícula Zeta Sizer Nano ZS (Malvern Instruments, Cambridge, UK). Para a avaliação da distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos aparentes das gotículas (IPD) em escala micrométrica foi utilizado o equipamento analisador de partícula Master Sizer 2000 (Malvern Instruments, Cambridge, Reino Unido), equipado com uma unidade manual de dispersão de amostras Hydro 2000S (Malvern Instruments, Cambridge, Reino Unido). Em ambos os analisadores de partícula o DH e o IPD foram obtidos pela incidência da radiação *laser* em uma célula contendo a amostra (emulsão produzida) dispersa em água. Nesse tipo de análise, a radiação é difratada pela superfície das gotas da FO e o detector é capaz de determinar o ângulo de difração, gerando um gráfico que mostra a distribuição do diâmetro das gotas (IPD) e um diâmetro médio dessa distribuição (DH). Cabe ressaltar que o DH obtido de um único ângulo de difração, gera um resultado de diâmetro médio aparente, pois assume-se que a partícula seja perfeitamente esférica e que todos os ângulos de difração seriam o mesmo em toda a sua superfície. Para o cálculo do ângulo de difração real de uma partícula, mais de um ângulo de difração precisam ser selecionados e equacionados.

A viscosidade das emulsões formadas nos principais experimentos, foi determinada utilizando-se um viscosímetro - modelo Stabinger SVM 3000 (Anton Paar, Graz, Áustria).

4.1.6 Outros Equipamentos

Para todos os procedimentos de pesagem utilizou-se uma balança analítica com resolução de 0,001 g e carga máxima de 310 g (Ohaus Corp, Pine Brook, Estados Unidos).

4.2 REAGENTES

4.2.1 Fase Aquosa

Como fase aquosa (FA) utilizou-se somente água deionizada, obtida a partir do processo de destilação e posterior processo de desionização em coluna trocadora de íons.

4.2.2 Fase Oleosa

A fase oleosa (FO) foi composta por óleos essenciais, tais como o de citronela (*Cymbopogon winterianus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), hortelã (*Mentha spicata*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), manjerição (*Ocimum basilicum*), neem (Nome científico) e o de tomilho (*Thymus vulgaris*), ambos fornecidos pela Vimontti Óleos Essenciais e extraídos pela Agroindústria São Caetano Limitada, sediada no município de Santa Maria-RS. O veículo oleoso utilizado foi o óleo mineral, adquirido no comércio local.

Foram utilizados tensoativos não-iônicos, como o trioleato de sorbitano (nome comercial: *Span 85*) de EHL 1,8; o monooleato de sorbitano (nome comercial: *Span 80*) de EHL 4,3 e o monooleato de sorbitano etoxilado (nome comercial: *tween 80*) de EHL 15 (Praid Especialidades Químicas), os índices de EHL de cada tensoativo foram fornecidos pelo fabricante. Os tensoativos utilizados foram considerados como constituintes da fase oleosa.

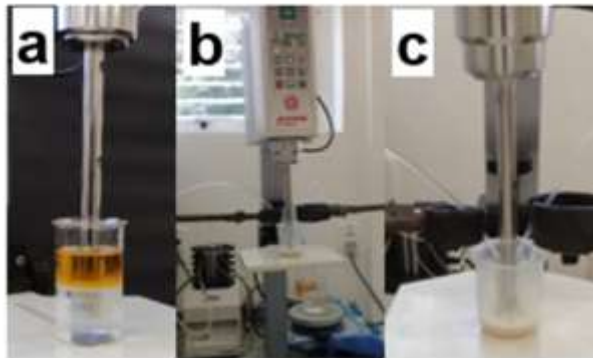
O preparo da FO foi feito em béquer de vidro de 1 L, adicionando-se 24,4% de óleo essencial, 22,5% de óleo mineral e 53,1% de tensoativos em proporções variadas para atingir um determinado EHL resultante da mistura dos três tensoativos utilizados.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Processo convencional de emulsificação

Para o preparo das emulsões pelo método convencional foi utilizado um equipamento cisalhador de alta rotação (Figura 7). Foram montados processos em batelada, nos quais as fases oleosa e aquosa, devidamente pesadas, foram colocadas em contato e submetidas ao cisalhamento (Figura 8a) sob rotações de 5000 a 15000 rpm. Colocando a fase oleosa e a fase aquosa em contato nas proporções de FO de 10 a 50%, sendo que a maioria dos ensaios ocorreram com 33% de FO.

Figura 8 - Processos em batelada em HAR. a) sistema em batelada; b) e c) sistema contínuo com adição das fases pela lateral da haste de cisalhamento.

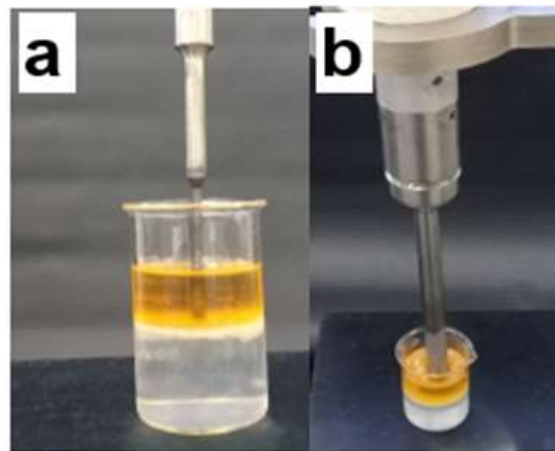


4.3.2 Emulsificação assistida por ultrassom

4.3.2.1 Aplicação direta utilizando probes de ultrassom

Os dispositivos de liberação de energia direta no meio de reação empregados nesse estudo foram avaliados em batelada (Figura 9a e b). As *probes* de US foram diretamente imersas no meio a ser emulsionado. Essa configuração permite que a propagação da energia US para a mistura a ser emulsificada ocorra de forma direta. Diferentes arranjos de *probes* e de reatores foram avaliados, conforme detalhado na descrição de cada um dos processos apresentados no decorrer do texto.

Figura 9 - Exemplos dos arranjos de aplicação direta da energia US. a) 20 kHz, 130 W; b) 20 kHz, 750 W.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.3.2.2 Aplicação indireta de ultrassom

Os processos de nanoemulsificação em banhos ultrassônicos foram conduzidos diretamente na cuba/reator do dispositivo. Esses processos ocorreram com a alimentação do reator com uma lâmina de água deionizada (fase aquosa) correspondente a 67% da composição da mistura final (FA e FO). A fase aquosa foi aquecida a 45 °C. Após a estabilização da temperatura da fase aquosa, iniciou-se a sonicação no banho ultrassônico (operando a 25 kHz, 100 W e 80% da amplitude) com alimentação contínua da fase oleosa, que foi bombeada para dentro da cuba do banho de US (reator, contendo a FA). Não foram avaliadas amplitudes superiores a 80% pois nestas condições de elevada potência foi previamente verificado o aumento da temperatura para valores indesejados. A fase oleosa também foi pré-aquecida em chapa de aquecimento a 45 °C. A alimentação por bomba peristáltica foi delimitada a 30 minutos, tempo no qual a FO adicionada ao reator correspondeu a 33 % da mistura final. Após a etapa de alimentação da FO o meio foi sonicado por mais 20 minutos, totalizando um tempo de sonicação de 50 minutos (durante os 30 min iniciais, de introdução da FO, o sistema estava sendo irradiado com US). A altura da lâmina de mistura a ser emulsificada, após a adição da FO sobre a FA, foi fixada em 2 cm para se ter um bom aproveitamento da energia liberada (parâmetro escolhido de forma empírica). Para facilitar a dispersão das gotas da fase oleosa, durante a etapa de alimentação, utilizou-se agitação mecânica de baixa rotação (100

rpm) dentro da cuba de US. O sistema de preparo de emulsões em banho ultrassônico é mostrado na Figura 10.

Além disso, foram feitos experimentos sem o auxílio da agitação mecânica de baixa rotação e sem a alimentação gradual de fase oleosa. Nestes casos, as fases oleosa e aquosa foram colocadas em contato e, posteriormente, sonicadas em diferentes tempos (5, 10 ou 15 min). Em alguns experimentos também foi explorada a eficiência de emulsificação com a aplicação indireta da energia acústica gerada no banho, onde as fases oleosa e aquosa, devidamente pesadas, foram colocadas em contato em reatores (Figura 5b e 5c), imersos nos banhos ultrassônicos preenchidos até o volume máximo com água aquecida a 45 °C. Nessa configuração, o banho ultrassônico não foi utilizado como reator, ele foi usado na sua configuração padrão (a energia ultrassônica é dissipada pela água e, a partir dessa última, adentra no reator parcialmente imerso).

Figura 10 - Sistema de US utilizado no processo de emulsificação em banho ultrassônico. O sistema é constituído de uma chapa aquecedora, uma bomba peristáltica, um banho de US e um agitador mecânico de baixa rotação.



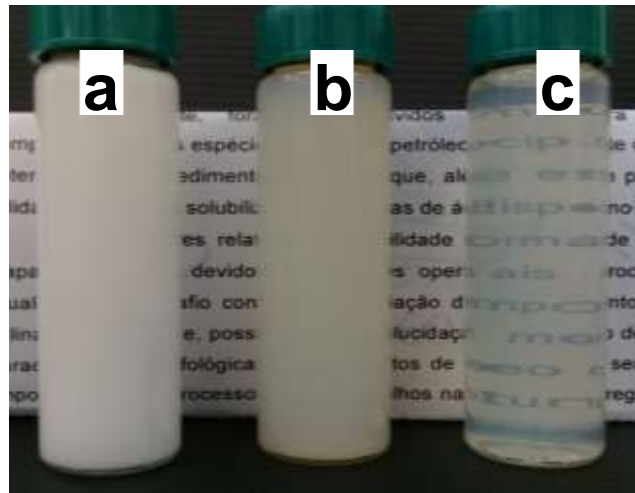
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.3.3 Caracterização das emulsões

4.3.3.1 Aspectos qualitativos

Os aspectos qualitativos dos emulsionados foram avaliados visualmente (Figura 11), classificando a sua aparência como opalescente, turva ou translúcida, podendo o emulsionado apresentar classificação mista.

Figura 11 - Classificação da aparência visual das emulsões: a) opalescente, b) turva e c) translúcida.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

4.3.3.2 Aspectos Quantitativos

Para emulsões obtidas em dispositivos que causam o cisalhamento de certos materiais, tais como os dispositivos ultrassônicos e HAR utilizados no presente estudo, a eficiência e uniformidade do cisalhamento provocado na FO pode ser avaliado mediante a medida do DH das gotas formadas e da distribuição do DH destas gotas (IPD) em uma determinada emulsão.

A estabilidade da emulsão, ou seja, a tendência dos componentes da FO sofrerem agregação e, conseqüente, separação de fases, pode ser estimada mediante a medida do potencial zeta, o qual mensura o potencial eletrostático oriundo da densidade de cargas presentes na superfície das gotas.

O DH e o IPD foram analisados em dois equipamentos: no Master Sizer 2000 e no Zeta Sizer Nano ZS. O potencial zeta das emulsões que permaneceram estáveis por mais de 30 dias foi medido pelo Zeta Sizer Nano ZS.

4.3.4 Experimentos univariados para avaliação preliminar

Devido à ausência de estudos relacionados a emulsificação de óleos essenciais utilizando os arranjos acima descritos, foi necessária uma etapa exploratória afim de verificar quais dos sistemas seriam adequados para utilização no processo proposto. Nesse sentido, foram feitos experimentos utilizando proporções variadas de três tensoativos e demais combinações de processo. A resposta a todos esses experimentos foi obtida utilizando a metodologia EHL dos tensoativos, que é um balanço quantitativo entre as características hidrofílicas e lipofílicas de uma molécula em solução, conforme Equação 3. Quando se objetivou obter uma mistura de tensoativos com EHL mais alto, a proporção de tensoativo de EHL mais elevado (*tween 80*) foi aumentada em relação aos demais (*span 80* e *span 85*). Para a redução do EHL, *span 80* ou *span 85* tiveram seus percentuais aumentados enquanto o percentual de *tween 80* foi diminuído. A faixa de EHL testada foi de 7 a 14.

$$\text{EHL}_{\text{mistura}} = \frac{[(\text{EHL}_{\text{tensoativo A}} \times \% \text{tensoativo A}) + (\text{EHL}_{\text{tensoativo B}} \times \% \text{tensoativo B})]}{100} \quad (3)$$

Além da metodologia EHL, objetivou-se explorar as formas de transferência de energia que resultassem em um sistema emulsionado translúcido.

Nessa fase do estudo, os tempos de sonicação ou agitação para os processos em batelada foram fixados em 5, 10 ou 15 minutos. Os tempos de processamento foram estipulados de acordo com ensaios preliminares e avaliação visual dos emulsionados. Ainda para cada sistema de US avaliado, foi determinada a densidade potência aparente liberada em meio aquoso, para se ter uma aproximação de como cada sistema liberaria energia no meio contendo os demais componentes da emulsão, utilizando o método calorimétrico utilizando termômetro digital convencional, cabe ressaltar que os resultados de densidade de potência são aparentes, uma vez que

para se obter o valor real seria necessário o conhecimento da quantidade de calor que é dissipada para as vizinhanças.

Foram avaliadas 45 emulsões do tipo O/A que foram preparadas, em diversas proporções de FO, com combinações variadas de três tensoativos não iônicos, sempre monitorando o EHL do conjunto de tensoativos. Nas Tabelas 1 e 2 estão descritos todos os experimentos preliminares feitos em batelada e sistemas combinados.

Tabela 1 - Condições de processo das emulsões, preparadas em batelada, na fase exploratória do estudo.

							(continua)
Nº	EHL tens.	Condições de processo	Potência nominal (W)	Amplitude (%)	Frequência (kHz)	Tempo (min)	
1	7,20	Batelada - reator de vidro (50 mL); <i>Probe</i> (Figura 4d), 1,2 cm imersa	750	50	20	15	
2	7,36	Batelada – reator de vidro (50 mL); <i>Probe</i> (Figura 4d), 1,2 cm imersa	750	50	20	15	
4	7,55	Batelada- reator de vidro (50 mL) <i>Probe</i> (Figura 4d), 1,2 cm imersa	750	60	20	10	
5	7,68	Batelada - reator de vidro (50 mL) <i>Probe</i> (Figura 4d), 2 cm imersa	750	65	20	10	
6	7,79	Batelada - reator de vidro (50 mL) <i>Probe</i> (Figura 4d), 1 cm imersa.	750	40	20	10	
8	13,40	Batelada - reator plástico (50 mL); HAR (15000 RPM)	1200	-	-	10	
9	7,23	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15	
10	8,25	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	100	25	15	
11	13,40	Batelada - reator plástico (50 mL); HAR (10000 RPM)	1200	-	-	10	
12	7,90	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15	
13	9,54	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15	
14	7,90	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15	
15	9,65	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15	
16	9,02	Batelada - reator de vidro (50 mL); <i>Probe</i> (Figura 4i), 1 cm de imersão	130	50	20	10	
17	8,41	Batelada - reator de vidro (50 mL) imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15	
20	10,30	Batelada - reator de vidro (50 mL); <i>Probe</i> (Figura 4i), 1 cm imersa	130	50	20	10	
21	13,40	Batelada - reator plástico (50 mL); HAR (5000 RPM)	1200	-	-	10	
22	8,9	Batelada - reator de vidro (50 mL) <i>Probe</i> (Figura 4), 1 cm imersa na fase aquosa e fase oleosa alimentada na ponta da probe via bomba peristáltica.	130	70	20	15	

Tabela 1 - Condições de processo das emulsões, preparadas em batelada, na fase exploratória do estudo.

Nº	EHL tens.	Condições de processo	Potência nominal (W)	Amplitude (%)	Frequência (kHz)	(conclusão)
						Tempo (min)
26	12,00	Batelada - reator de vidro (50 mL); Probe (Figura 4), 1,5 cm imersa	750	50	20	15
27	10,90	Batelada - reator de vidro (50 mL); Probe (Figura 4), 1,5 cm imersa	750	55	20	15
28	10,70	Batelada - reator de vidro (50 mL); Probe (Figura 4), 1,5 cm imersa.	750	60	20	10
29	8,31	Batelada - reator de vidro (50 mL); Probe (Figura 4), 2 cm imersa	750	50	20	10
38	9,50	Batelada - reator de vidro (50 mL); Probe (Figura 4), 2 cm imersa	130	60	20	10
39	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a) Probe (Figura 4e), 1,5 cm imersa	750	55	20	10
40	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a) Probe (Figura 4e), 1,5 cm imersa	750	45	20	10
41	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a) Probe (Figura 4e), 1,5 cm imersa	750	35	20	10
42	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a) Probe (Figura 4i), 1,5 cm imersa	130	80	20	15
43	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a); Probe (Figura 4i), 1,5 cm imersa	130	70	20	15
44	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a) Probe (Figura 4f), 1,5 cm imersa	130	50	20	15
45	13,40	Batelada - reator de inox de 50 mL (Figura 5a) Probe (Figura 4i), 1,5 cm imersa	130	60	20	15

Tabela 2 - Condições de processo das emulsões, preparadas em sistemas combinados, em batelada.

(continua)						
Nº	EHL tens.	Condições de processo	Potência nominal (W)	Amplitude (%)	Frequência (kHz)	Tempo (min)
3	7,43	Batelada - reator de vidro (50 mL); <i>Probe</i> (Figura 2e), 1,2 cm de imersão	750	60	20	10
		<i>Probe</i> (Figura 4i), 1,2 cm de imersão	130	70	20	10
7	7,82	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 5000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
		<i>Probe</i> (Figura 4d), 1 cm de imersão	750	60	20	5
11	8,25	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 5000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
		Reator imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15
18	8,41	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 5000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
		Reator imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15
19	8,70	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 10000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
		Reator imerso em banho US preenchido com água a 45 °C	100	80	25	15
23	11,10	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 10000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	10
		<i>Probe</i> (Figura 4i), 1,2 cm de imersão	130	60	20	20
24	11,23	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 5000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	10
		<i>Probe</i> (Figura 4i), 1,2 cm de imersão	130	50	20	15
25	11,90	Batelada - reator de vidro (50 mL); <i>Probe</i> (Figura 2e), 1,5 cm de imersão	750	40	20	15
30	8,70	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 15000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
		<i>Probe</i> (Figura 4e), 2 cm de imersão	750	45	20	10
31	11,94	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 15000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
		<i>Probe</i> (Figura 4e), 2 cm de imersão	750	45	20	10
32	7,35	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 15000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	5
33	11,94	<i>Probe</i> (Figura 4e), 2 cm de imersão	750	45	20	10
		<i>Probe</i> (Figura 4e), 1 cm de imersão	750	45	20	10
34	9,02	<i>Probe</i> (Figura 4e), 1 cm de imersão	750	45	20	10
		<i>Probe</i> (Figura 4e), 1 cm de imersão	750	45	20	10

Tabela 3 - Condições de processo das emulsões, preparadas em sistemas combinados, em batelada.

			(conclusão)			
Nº	EHL tens.	Condições de processo	Potência nominal (W)	Amplitude (%)	Frequência (kHz)	Tempo (min)
35	10,00	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 15000 RPM (Figura 8a)	1200	-		5
		<i>Probe</i> (Figura 4e), 1,5 cm de imersão	750	45	20	10
36	11,78	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 15000 RPM (Figura 8a)	-	-	-	10
		<i>Probe</i> (Figura 4e), 1,5 cm de imersão	750	50	20	10
37	12,90	Batelada - reator de vidro (50 mL); HAR em 15000 RPM (Figura 8a)	1200	-	-	10
		<i>Probe</i> (Figura 4d), 1,5 cm de imersão	750	50	20	10

4.3.5 Delineamento composto central rotacional (DCCR)

Após os experimentos preliminares univariados, foi feito um delineamento composto central rotacional (DCCR) afim de melhor elucidar os efeitos do US no processo de nanoemulsificação em batelada. Neste estudo foram avaliadas 3 variáveis independentes: *i)* a porcentagem de FO; *ii)* o tempo de sonicação; e *iii)* a amplitude do US. O delineamento proposto foi executado utilizando um fatorial 2^3 com 6 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 experimentos.

As 3 variáveis independentes estudadas foram estabelecidas em níveis codificados: $-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$. Onde o valor de α é dado em função do número de variáveis independentes. As faixas de variação entre os limites inferior e superior de cada variável independente foi estabelecida a partir de dados obtidos na fase univariada do estudo. Como resposta ao DCCR foram determinados o DH e o IPD das emulsões produzidas.

Tabela 4 - Níveis codificados e reais das variáveis independentes em estudo.

Variáveis Independentes	Níveis codificados e reais das variáveis independentes				
	$-\alpha$	-1	0	$+1$	$+\alpha$
AMPLITUDE (%)	29,95	40	55	70	80,05
FASE OLEOSA (%)	7,95	18	33	48	58,05
TEMPO (min)	00:02:40	00:04:00	00:08:00	00:12:00	00:14:40

Valores codificados: $\pm\alpha$; 0 ; ± 1 ; pontos axiais $\pm\alpha = \pm 1,67$; ponto central $C = 0$; pontos de máximo e mínimo = ± 1 .

Cabe ressaltar que para os experimentos em batelada, o percentual de fase oleosa e aquosa foi obtido mediante pesagem em balança analítica. Os experimentos referentes ao DCCR com valores reais e codificados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 5 - Delineamento fatorial completo composto central rotacional (23), com 3 variáveis independentes, 3 repetições no ponto central (C) e 6 pontos axiais.

Número do ensaio	Níveis codificados e reais das variáveis independentes		
	AMPLITUDE (%)	FASE OLEOSA (%)	TEMPO (min)
01	-1 (40)	-1 (18)	-1 (00:04:00)
02	+1 (70)	-1 (18)	-1 (00:04:00)
03	-1 (40)	+1 (48)	-1 (00:04:00)
04	+1 (70)	+1 (48)	-1 (00:04:00)
05	-1 (40)	-1 (18)	+1 (00:12:00)
06	+1 (70)	-1 (18)	+1 (00:12:00)
07	-1 (40)	+1 (48)	+1 (00:12:00)
08	+1 (70)	+1 (48)	+1 (00:12:00)
09	0 (55)	0 (33)	0 (00:08:00)
10	0 (55)	0 (33)	0 (00:08:00)
11	0 (55)	0 (33)	0 (00:08:00)
12	- α 1,68 (30)	0 (33)	0 (00:08:00)
13	+ α 1,68 (80)	0 (33)	0 (00:08:00)
14	0 (55)	- α 1,68 (7,95)	0 (00:08:00)
15	0 (55)	+ α 1,68 (80,05)	0 (00:08:00)
16	0 (55)	0 (33)	- α 1,68 (00:02:40)
17	0 (55)	0 (33)	+ α 1,68 (00:14:40)

4.3.6 Avaliações Complementares

Um estudo calorimétrico foi conduzido como um artifício de comparação entre os diferentes sistemas (banhos e *probes* de US e HAR), buscando relacionar as características das emulsões produzidas com a quantidade de energia que está sendo liberada no meio reacional.

Diferentes óleos essenciais foram processados em condições semelhantes às do ponto central do DCCR e o seu IPD e DH foram analisados. Além disso foi monitorado o pH dos emulsionados obtidos em batelada delineados no DCCR. Também foi conduzido um estudo sobre a influência da concentração de tensoativos no DH, IPD e potencial zeta de emulsões processadas nas mesmas condições do ponto central dos experimentos em batelada do DCCR, porém com a diminuição

gradual de tensoativos, sendo que a proporção entre os três tensoativos usados se manteve a mesma.

4.3.6.1 Avaliação calorimétrica em sistemas com probe ultrassônica

Foi feita uma avaliação da quantidade de energia liberada pela *probe* longa de US (Figura 4), a qual também foi empregada nos experimentos delineados e apresentados na Tabela 3, nas amplitudes de 40, 55 e 70%, operando a 20 kHz e com tempo fixado em 15 minutos. Nos testes calorimétricos a sonicação foi feita em batelada, nas mesmas condições de emulsificação, porém somente com água deionizada. Os incrementos de temperatura observados após o tempo de sonicação foram posteriormente avaliados, a fim de se inferir qual condição apresentou maior densidade de potência aparente ($W L^{-1}$).

4.3.6.2 Avaliação calorimétrica em banhos ultrassônicos

Os experimentos feitos em banho ultrassônico, durante os experimentos univariados desse estudo, foram executados em banho US de 25 kHz e 100 W, mostrado na Figura 6a. Na segunda etapa, buscou-se explorar outras condições de frequência, potência e volume da cuba/reator utilizando, além do equipamento avaliado na primeira fase, os demais equipamentos estão apresentados na Figura 6.

Para estes 3 banhos US, buscou-se mensurar a liberação de energia para o meio na forma de calor. Nos ensaios calorimétricos somente água, formando uma lâmina de 2 cm de altura, tal como a lâmina formada nos experimentos de emulsificação, foi utilizada para a dissipação da energia fornecida pelo banho ultrassônico. As medições de temperatura inicial e final, após 15 min de sonicação, foram feitas utilizando um termômetro digital. A amplitude foi fixada em 80%. Potência nominal e frequências variaram de acordo com o equipamento utilizado. A diferença de temperatura observada em cada um dos experimentos executados serviu de indicativo para estimar a da densidade de potência aparente ($W L^{-1}$) liberada no meio sob irradiação.

4.3.6.3 Avaliação calorimétrica do sistema mecânico HAR

De maneira semelhante aos ensaios calorimétricos descritos para os dispositivos ultrassônicos do tipo *probe* e banho de US, foi avaliado se houve incremento de temperatura no sistema mecânico HAR, nas rotações de 5000, 10000 e 15000 rpm. O tempo foi fixado em 15 minutos. Para esse e os demais ensaios calorimétricos, utilizou-se somente água deionizada nos respectivos reatores.

4.3.6.4 Avaliação de diferentes óleos essenciais

A partir do ponto central do delineamento experimental DCCR, os valores de amplitude (55%), percentual de FO (33,33% da mistura final) e tempo (8 minutos) foram utilizados para experimentos complementares com foco em avaliar se a composição do OE afeta aspectos qualitativos e quantitativos das emulsões. Os óleos essenciais de alecrim, manjeriço, tomilho, melaleuca e as combinações dos óleos essenciais de cravo e melaleuca, bem como dos óleos essenciais de neem e melaleuca, foram submetidos aos processos de nanoemulsificação. Este estudo buscou avaliar se a composição do OE afeta aspectos qualitativos e quantitativos das emulsões obtidas sob as mesmas condições.

4.3.6.5 Controle de pH

Para as emulsões obtidas nos processos em batelada, delineadas no planejamento experimental, foi realizado o monitoramento do pH durante 6 meses após o preparo. Para essas medições utilizou-se o potenciômetro digital (MPA 210 - Ms Tecnopon Instrumentação, Brasil) equipado com um eletrodo de vidro combinado para meio aquoso.

5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nessa sessão, os resultados obtidos nas investigações utilizando US, em batelada, como no procedimento convencional (agitação mecânica) serão apresentados e discutidos. Para melhor compreensão, a apresentação e discussão dos resultados foi dividida em duas partes: i) avaliação preliminar, aqui denominada de avaliação univariada pois as variáveis foram exploradas sem que se observasse possíveis inter-relações; e, ii) avaliação com planejamento de experimentos multivariado.

5.1 DEFINIÇÃO DA FORMULAÇÃO DA FASE OLEOSA

Nos experimentos univariados a formulação da FO foi feita fixando o percentual de OE em 26% da FO. O percentual de veículo oleoso foi fixado em 24% enquanto o percentual da mistura de tensoativos não-iônicos foi fixado em 50% da FO. Os três tensoativos utilizados possuem características que permitem a variação do EHL da mistura de tensoativos. Uma vez que o tensoativo Tween 80, que possui a fração polar da molécula com uma hidrofiliidade mais pronunciada que os demais, e um EHL em torno de 15 (EHL mais alto entre os tensoativos utilizados), tem uma tendência em aumentar o valor do EHL da mistura de tensoativos quando adicionado em maior proporção na formulação. De maneira similar, quando se buscou reduzir o valor do EHL da mistura de tensoativos, o Span 80 e o Span 85, que possuem EHL em torno de 4,3 e 1,8, respectivamente, foram utilizados na fase oleosa. Com base na Equação 2, misturas entre Span 80 e 85 com o Tween 80 permitiram que diferentes valores de EHL fossem obtidos, permitindo a avaliação desse parâmetro.

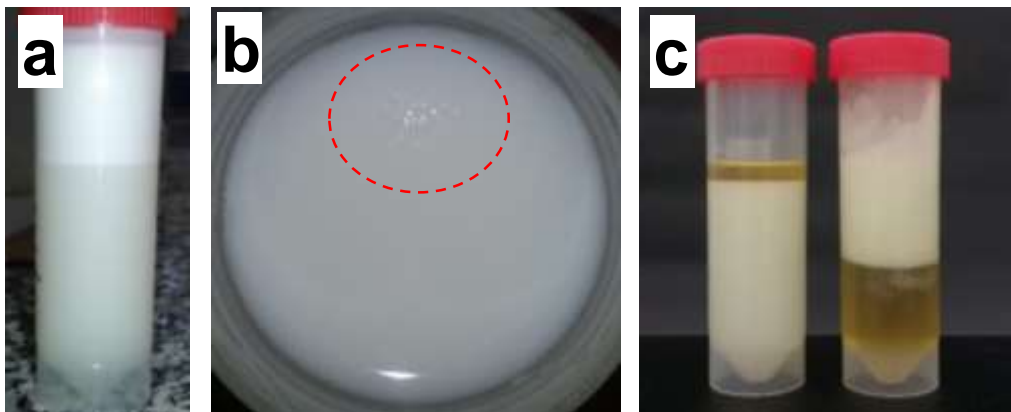
O óleo essencial utilizado para a formulação de todas as emulsões deste estudo, exceto aquelas que foram formuladas visando a mudança de OE após ser encontrada uma condição ideal de processo, foi o óleo essencial de melaleuca.

O óleo mineral, utilizado como veículo oleoso, apresentou boa miscibilidade nos demais componentes da FO.

5.2 FASE UNIVARIADA DO ESTUDO: OBTENÇÃO DE NANOEMULSÕES EM DIFERENTES SISTEMAS

Para as 45 emulsões preparadas na fase univariada desse estudo, tanto em HAR como em dispositivos US e/ou combinações foi observado, semanalmente, aspectos visuais como a formação de duas fases emulsionadas (Figura 12a), a coalescência de gotas de fase oleosa (Figura 12b) e a separação de fases (Figura 12c). O EHL que resultou em emulsões translúcidas e que permaneceram estáveis por mais de 6 meses foi o de 13,40. Este valor foi fixado para o preparo da FO utilizada nos experimentos posteriores do DCCR.

Figura 12 - Aspecto visual das emulsões: a) formação de duas fases emulsionadas, b) gotas coalescidas na superfície da emulsão; e, c) separação de fases.



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.2.1 Aspecto visual e variação da temperatura de processamento das emulsões preparadas em batelada

As emulsões preparadas em batelada, em diferentes proporções dos três tensoativos (*span 80*, *span 85* e *tween 80*) e consequente variação no EHL, foram analisadas visualmente, classificando o seu aspecto visual de acordo com a Figura 12. O aspecto visual das emulsões foi monitorado baseando-se na observação de qualquer mudança de coloração (Figura 11), formação de duas fases emulsionadas (Figura 12a), coalescência aparente (Figura 12b) ou separação de fases (Figura 12c), em relação à emulsão original. Na Tabela 5, além do número dado a emulsão obtida,

consta o EHL, a diferença entre as temperaturas iniciais e finais (ΔT) dos processos, o aspecto visual e o tempo (meses) que a emulsão permaneceu sem alterações visuais (separação, coalescência, mudança de coloração). Cabe destacar que a variação de temperatura foi um parâmetro avaliado em todos os sistemas de emulsificação da fase univariada, uma vez que alguns compostos presentes na fase oleosa são passíveis de degradação térmica e/ou volatilização.

Na Tabela 5, os processos que resultaram em uma emulsão com o aspecto mais próximo do translúcido, foram as emulsões cujo EHL foi calculado na faixa de 13,40, sendo esta faixa melhor explorada na segunda fase deste estudo. A variação da temperatura foi maior no processo 5, indicando que o sistema do tipo *probe* de US de 750 W, operando a 20 kHz em amplitudes acima de 60%, dentre todos os sistemas avaliados, é o que provoca uma maior liberação de energia térmica no meio. Quando a amplitude foi fixada em 50%, o aumento na temperatura não foi tão pronunciado quanto o observado em amplitudes acima de 60%. Salvo algumas exceções, as emulsões que apresentaram aspecto mais próximo de translúcido foram as de maior estabilidade cinética, permanecendo sem alterações visuais durante um período de armazenamento maior que 10 meses. Para as emulsões preparadas em HAR, mesmo com um HLB de 13,40 o qual resultou em emulsionados translúcidos em emulsões preparadas em *probes* de US, o aspecto visual ficou opalescente e as amostras emulsionadas não permaneceram estáveis por mais de dois meses, comprovando a baixa eficiência do dispositivo HAR.

Tabela 6 - EHL, variação de temperatura (ΔT , °C) e aspecto visual das emulsões preparadas em batelada.

Nº	EHL tens.	ΔT (°C)	Aspecto	Estabilidade (meses)
1	7,20	8	Opalescente	4
2	7,36	6	Opalescente	1
4	7,55	27	Opalescente	1
5	7,68	50	Opalescente	1
6	7,79	30	Opalescente	1
8	13,40	20	Opalescente	2
9	7,23	13	Opalescente	6
10	8,25	8	Opalescente	>12
11	13,40	20	Opalescente	7
12	7,90	12	Opalescente	0
13	9,54	13	Opalescente	0
14	7,90	16	Opalescente	4
15	9,65	14	Opalescente	>12
16	9,02	30	Opalescente	5
17	8,41	13	Opalescente	2
20	10,30	30	Opalescente	0
21	13,40	20	Opalescente	0
22	8,9	26	Opalescente	>10
26	12,00	20	Opalescente	5
27	10,90	30	Opalescente	0
28	10,70	27	Opalescente	3
29	8,31	19	Opalescente	0
38	9,50	12	Opalescente	4
39	13,40	16	Translúcido com baixa turbidez	>10
40	13,40	15	Translúcido com alta turbidez	>10
41	13,40	19	Translúcido com alta turbidez	>10
42	13,40	34	Translúcido com alta turbidez	>10
44	13,40	20	Translúcido com alta turbidez	>10
45	13,40	19	Translúcido com alta turbidez	>10
46	13,40	29	Translúcido com alta turbidez	>10

5.2.2 Aspecto visual e variação da temperatura de processamento das emulsões preparadas em sistemas combinados (sistemas em batelada)

Para as emulsões obtidas pela combinação de duas fontes de energia de cisalhamento, como a energia US e HAR, combinadas em série, foram observados os aspectos visuais e o incremento de temperatura que a emulsão apresentou após a saída dos dois sistemas ao qual fora submetida. A Tabela 6 mostra os parâmetros controlados para as emulsões preparadas em batelada, para os sistemas combinados.

Tabela 7 - EHL, variação de temperatura (ΔT , °C) e aspecto visual das emulsões preparadas em sistemas combinados, em batelada.

Nº	EHL tens.	ΔT (°C)	Aspecto	Estabilidade (meses)
3	7,43	40	Opalescente	>12
7	7,82	44	Opalescente	6
18	8,41	12	Opalescente	>12
19	8,70	12	Opalescente	0
23	11,10	17	Opalescente	>10
24	11,23	21	Opalescente	5
25	11,90	30	Opalescente	1
30	8,70	20	Opalescente	5
31	11,94	24	Opalescente	4
32	7,35	29	Opalescente	4
33	11,94	15	Opalescente	3
34	9,02	19	Opalescente	3
35	10,00	16	Opalescente	3
36	11,78	17	Opalescente	>6
37	12,90	20	Translúcido com baixa turbidez	>12

Na Tabela 6, os baixos valores de EHL testados poderiam estar contribuindo para o aspecto opalescente das emulsões obtidas, pois, quando o EHL se aproximou de 13, como no ensaio 37, uma diminuição da turbidez foi observada. No que diz respeito à variação de temperatura, as emulsões preparadas em *probe* de US de 750 W, operando com a amplitude na faixa de 60%, apresentaram maior temperatura

final, indicando que nessas condições este dispositivo, novamente, foi o que mais dissipou energia para o meio na forma de calor.

As emulsões obtidas nos experimentos de número 8, 11 e 21, preparadas em batelada no HAR, em rotações de 5000 a 15000 rpm, não permaneceram estáveis por mais de 4 meses. Nessas emulsões foram observadas a coalescência após 20 dias de armazenamento, a posterior formação de duas fases emulsionadas após 45 dias de armazenamento e, por fim, a separação de fases após 120 dias de armazenamento. Isso confirma que o HAR não foi uma fonte de energia eficiente, nas condições avaliadas, para a formação de nanoemulsões translúcidas e visualmente estáveis por mais de 6 meses. Por ter ocorrido a visível separação de fases, tais emulsões não foram submetidas à análise do diâmetro hidrodinâmico (DH) e IPD.

5.2.3 Avaliação do potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão das emulsões preparadas

As análises do potencial zeta, DH e IPD das emulsões dos ensaios univariados foram feitas somente nas amostras emulsionadas que não apresentaram alterações visuais por um período de 70 dias, como a formação de duas fases emulsionadas (Figura 12a), a coalescência aparente de gotas (Figura 12b) ou a completa separação de fases (Figura 12c). Essas alterações visuais indicam um estágio avançado de instabilidade, onde as alterações passam a ocorrer em escalas maiores que a nanométrica. Nesse caso, as emulsões que apresentaram aspecto de gel também não foram analisadas, tendo em vista que seria necessária uma diluição (e conseqüente mistura de fases com emprego de um cisalhador) para introdução no equipamento analisador, o que poderia interferir no resultado da medição de DH e IPD.

Algumas das emulsões, as quais apresentaram aspecto visual uniforme, tais como as emulsões obtidas nos experimentos 1, 26 e 28 (processos de obtenção estão descritos na Tabela 1), as quais não apresentaram alterações visuais, como a formação de duas fases emulsionadas, a coalescência e a separação de fases, após um período de observação de 70 dias, foram submetidas à análise do DH, IPD e do potencial zeta. Algumas das emulsões de aspecto opalescente, turvo ou translúcido, tais como as emulsões obtidas pelos experimentos de número 23 e 37, que não

apresentaram alterações visuais durante o período de 70 dias após o preparo, também foram submetidas à análise de DH e IPD e potencial zeta.

Para a emulsão de número 1, os resultados apresentados na Figura 13 mostram um alto IPD (acima de 0,25) e um DH relativamente pequeno. Porém, é possível observar no gráfico de distribuição de DH, que existe um sinal deslocado para a região de micrômetros, onde o analisador ZetaSizer nano não consegue obter informação com exatidão e precisão requeridas. Este sinal deslocado na região de micrômetros pode ser um indicativo de formação de gotas de escala micrométrica, ou até mesmo coalescência, que possivelmente estariam contribuindo para o processo de desestabilização da emulsão 1.

Outro fator que pode estar contribuindo para tal resultado é o baixo potencial zeta (em módulo), que quanto mais próximo de zero representa a baixa repulsão entre as gotas da fase dispersa. Os mesmos efeitos observados na emulsão 1, são também observados para as emulsões de número 6, 26 e 28, onde o DH, IPD e potencial zeta estão apresentados, respectivamente, nas Figuras 14, 15, 16 e 17. A emulsão 8, apresentou um potencial zeta que possivelmente representaria uma condição de repulsão entre as gotículas. No entanto, outros fatores como o alto IPD, o qual demonstra que as gotas formadas possuem de 10 a 1000 nm de diâmetro, provavelmente tenham governado o processo de desestabilização desta emulsão.

Figura 13 - DH, IPD e potencial zeta para emulsão 1 preparada em batelada com 33% de FO, com probe da Figura 4d imersa em reator de vidro de 50 mL (750 W de potência, 20 kHz de frequência, amplitude de 50% e tempo de 15 min).

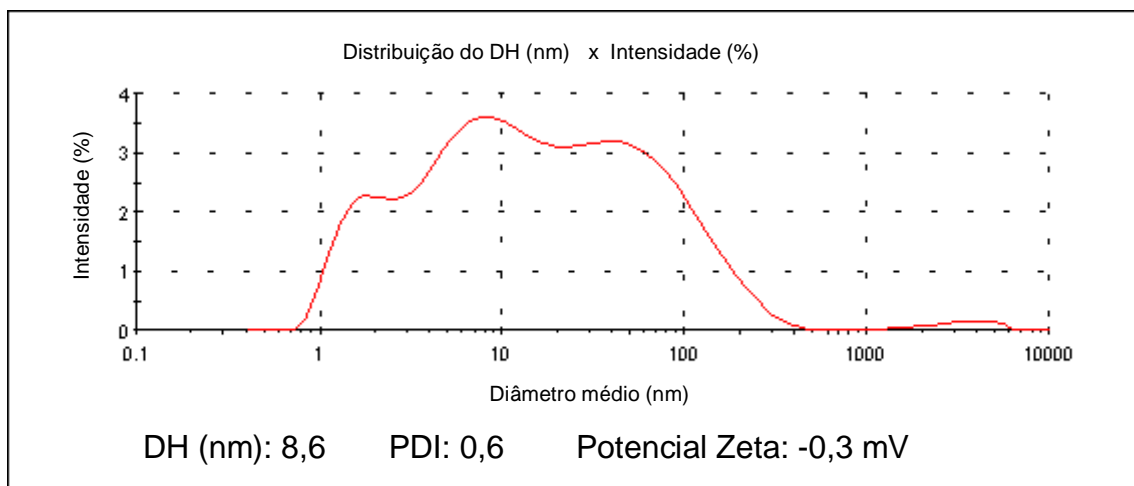


Figura 14 - DH, IPD e potencial zeta para emulsão 6, preparada em batelada com 33% de FO, com probe da Figura 4d imersa em reator de vidro de 50 mL (750 W de potência, 20 kHz de frequência, amplitude de 40% e tempo de 10 min).

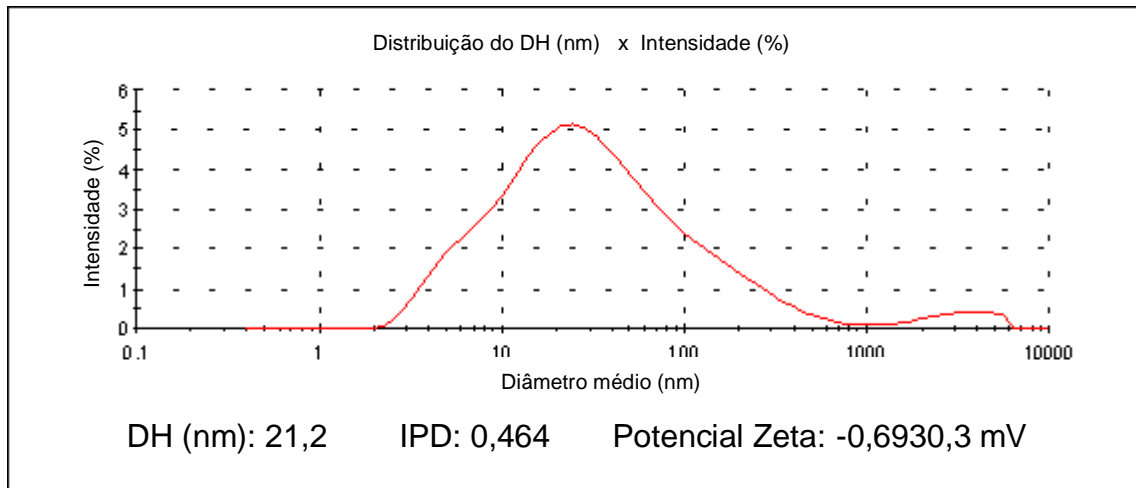


Figura 15 - DH, IPD e potencial zeta para emulsão 26, preparada em batelada em reator de vidro de 50 mL com probe da Figura 4d imersa no reator (750 W de potência, 20 kHz de frequência, 50% de amplitude e tempo de 15 min).

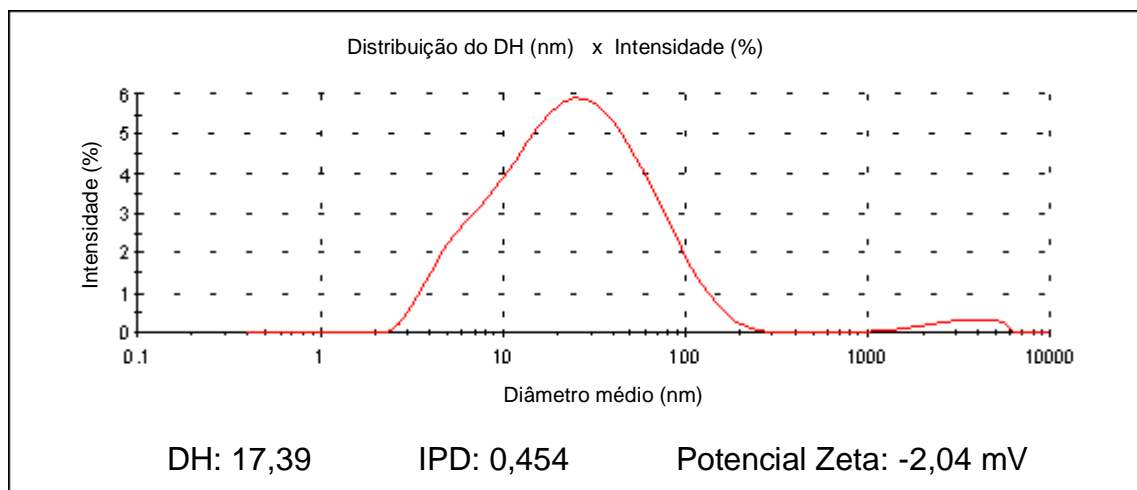
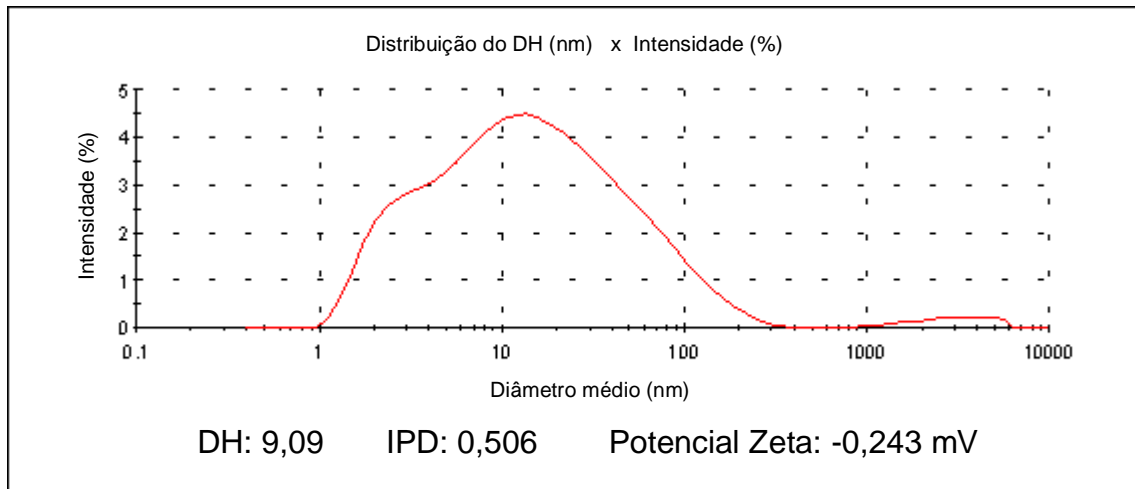


Figura 16 - DH, IPD e potencial zeta para a emulsão 28, preparada em batelada em reator de vidro de 50 mL com probe da Figura 4d imersa no reator (750 W de potência, 20 kHz de frequência, 60% de amplitude e tempo de 10 min).



Algumas emulsões que apresentaram boa estabilidade, sem alterações dos aspectos visuais nos primeiros 70 dias, foram submetidas à análise do DH, IPD e do potencial zeta.

A emulsão 23, cujo processamento está descrito na Tabela 2, apresentou um IPD de 0,217, o que é satisfatório, comparado com o IPD das emulsões apresentadas anteriormente neste item. O potencial zeta de -12,4 mV é outro indicativo de que pode haver repulsão entre as gotas. A observação mais importante a ser feita, para justificar a baixa polidispersividade das gotas e um DH de 38 nm (Figura 17), é a consideração de que esta emulsão foi submetida a duas etapas de cisalhamento. A primeira etapa foi feita no HAR, supostamente a responsável pela formação de uma pré-emulsão (incorporação da FO na fase aquosa), enquanto que a segunda etapa na *probe* de US foi a responsável pela uniformização da distribuição dos tamanhos das gotas. De forma similar, a emulsão de número 37 foi submetida a duas etapas de cisalhamento, em HAR e *probe* de US, respectivamente, e apresentou DH de 52,2 e IPD de 0,243, os quais foram satisfatórios (Figura 18). Uma comparação entre o DH da emulsão 23 (30 minutos de processamento) e da emulsão 37 (20 minutos de processamento) (Tabela 2), pode se supor que um maior tempo de sonicação na segunda etapa de cisalhamento pode ter sido determinante para redução do DH da emulsão 23. Por outro lado, a densidade potência liberada no meio pela *probe* de US (750 W, Figura 4d) utilizada no processo da emulsão 37, é maior comparado à *probe* utilizada para o preparo da emulsão 23 (130 W, Figura 4). Como uma maior potência pode resultar

em uma maior turbulência no meio, pode-se supor que nano-gotas já formadas, sob alta energia cisalhante, tendam a sair de seus estados de equilíbrio e coalesçam durante o processo, devido a choques energéticos com outras gotas aceleradas em sua direção. A emulsão de número 11, cujo processo de obtenção está descrito na Tabela 2, após um período de armazenamento de 6 meses, se mostrou visivelmente desestabilizada por apresentar a formação de duas fases. Esta emulsão foi analisada no Master Sizer para a obtenção do DH e IPD. Os resultados, que estão apresentados na Figura 19, mostram que os diâmetros médios das gotas da fase dispersa foram de 100 nm até poucos micrômetros, levando a um alto IPD. Tais resultados justificam o aspecto visual do emulsionado opalescente e desestabilizado (separação das fases). A razão para tal instabilidade da emulsão 11 pode estar associada aos fatores: EHL fora da faixa ideal (~13,4), baixo rpm na etapa em HAR e incidência de US pouco energética na configuração indireta (reator imerso em banho US preenchido com água).

Figura 17 - DH, IPD e potencial zeta para a emulsão 23, preparada com 33% de FO em reator de vidro de 50 mL em sistema híbrido (HAR/US). Primeira etapa em HAR (1200 W de potência, rotação de 10000 rpm, tempo de 10 min) e a segunda etapa com probe (Figura 4i) imersa no reator (130 W de potência, 20 kHz de frequência, 60% de amplitude e tempo de 20 min).

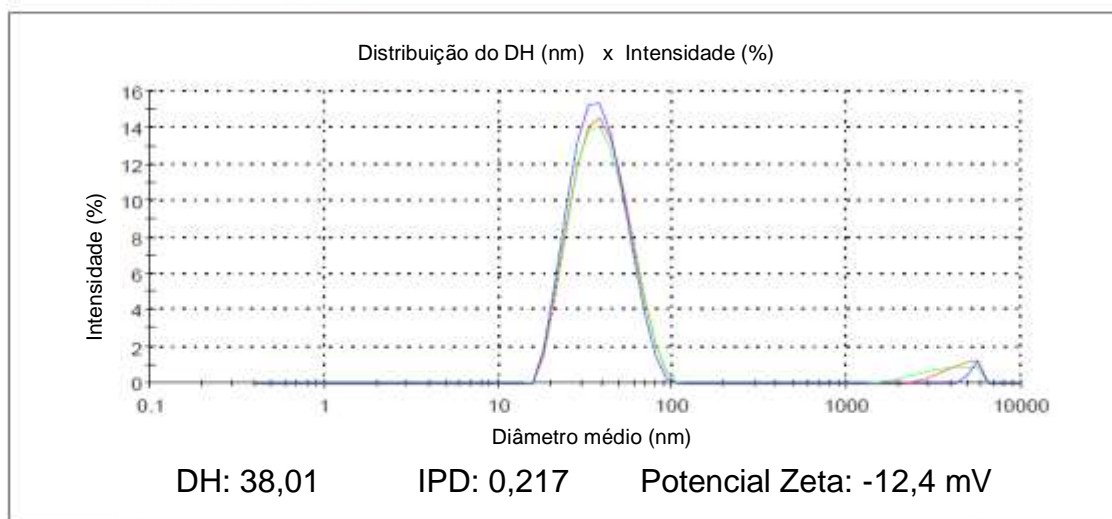


Figura 18 - DH, IPD e potencial zeta para emulsão 37, preparada com 33% de FO em reator de vidro de 50 mL em sistema híbrido (HAR/US). Primeira etapa em HAR (1200 W de potência, rotação de 15000 rpm, tempo de 10 min) e a segunda etapa com probe (Figura 4d) imersa no reator (750 W de potência, 20 kHz de frequência, 50% de amplitude e tempo de 10 min).

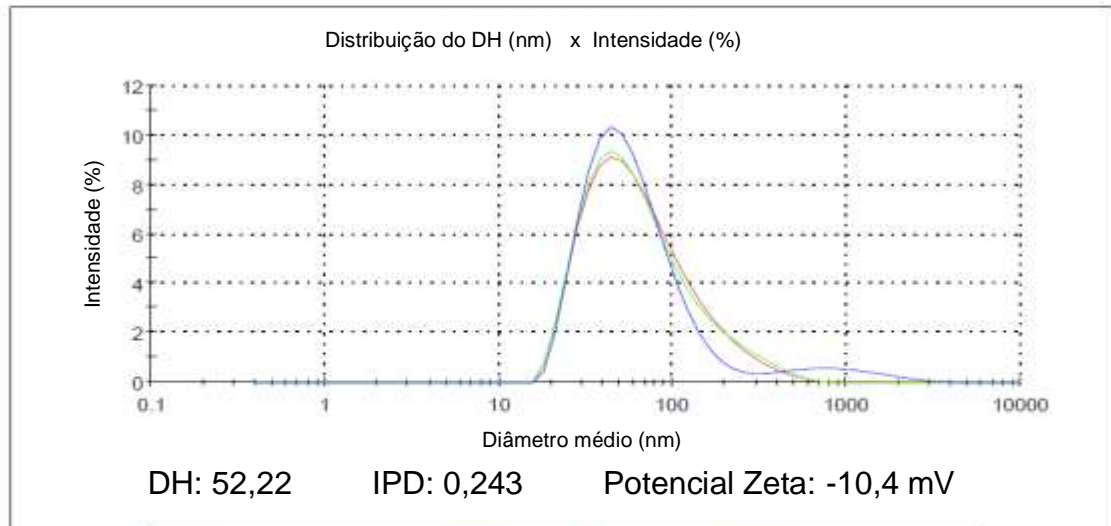
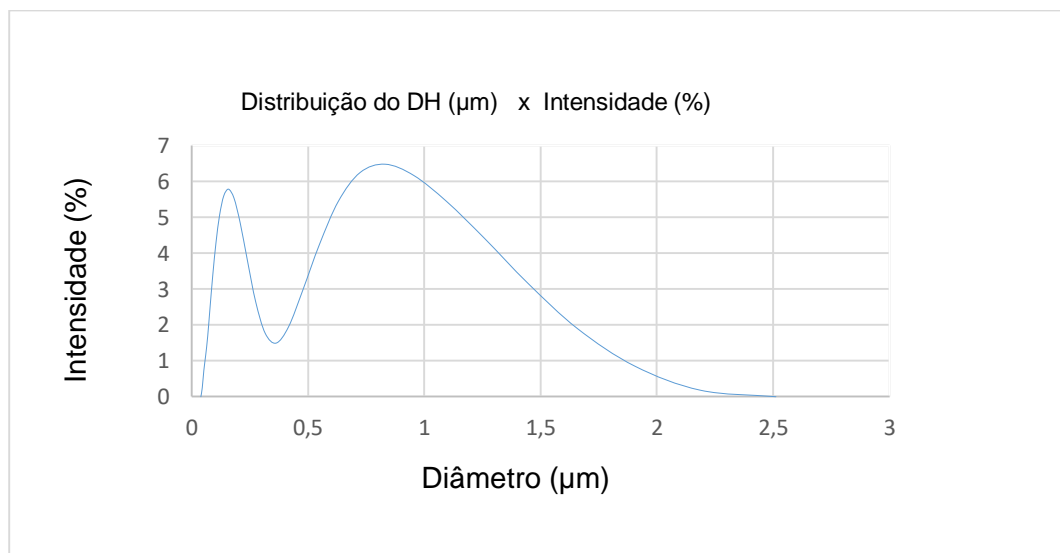


Figura 19 - DH e PDI para emulsão 11, preparada com 33% de FO em sistema híbrido (HAR/US). Primeira etapa em HAR (200 W de potência, rotação de 5000 rpm, tempo de 5 min) e a segunda etapa com o reator de vidro de 50 mL imerso no banho 3 preenchido com água (100 W de potência, 25 kHz de frequência, 80% de amplitude e tempo de 15 min).



5.2.4 Avaliações complementares da fase univariada do estudo

5.2.4.1 Avaliação calorimétrica da energia liberada nos sistemas avaliados

Para avaliar a quantidade de energia liberada no meio reacional, na forma de calor, foram conduzidos ensaios calorimétricos para a identificação de qual sistema seria o mais eficiente na transferência de energia. A quantidade de energia liberada no meio reacional é um parâmetro importante para a formação e controle das características da emulsão, uma vez que pode influenciar uma série de fatores como a viscosidade da fase a ser nanoemulsionada e a degradação de certos princípios ativos do OE em processamento. Cabe ressaltar que em todos os ensaios calorimétricos o reagente utilizado para tal quantificação foi somente a água deionizada, nas mesmas condições de processo das emulsões que apresentaram menor DH na fase exploratória do estudo, para cada um dos equipamentos testados (banhos e *probes* de US e HAR).

Considerando que a energia dissipada na forma de calor seja uma boa estimativa para se representar a energia que efetivamente é dissipada no meio reacional, a densidade de potência aparente (em $W L^{-1}$) foi calculada de acordo com a equação 4:

$$D = \frac{\left(\frac{dT}{dt}\right) \cdot C_p \cdot m}{v} \quad (4)$$

Onde:

D é a densidade de potência ($W dm^{-3}$)

T é a temperatura ($^{\circ}C$),

t é o tempo (s),

C_p é o calor específico ($J g^{-1} ^{\circ}C^{-1}$),

M é a massa (g) da substância submetida a aplicação do US ou HAR e

v é o volume (dm^3 , por aproximação foi equiparado à L) de água.

5.2.4.2 Avaliação calorimétrica do sistema HAR

As rotações utilizadas no HAR, para o ensaio calorimétrico, foram a de 5000, 10000 e a de 15000 rpm. O reator utilizado foi o mesmo utilizado para os processos em batelada no HAR (Figura 5c) e o volume de água foi fixado em 50 mL e o tempo máximo em 15 minutos. Os resultados estão expressos na Tabela 7.

Tabela 8 - Ensaio calorimétrico em HAR.

rpm	ΔT (°C)	W L ⁻¹
5000	0	0
10000	2	9,28
15000	7,4	34,36

As densidades de potência calculadas para o HAR indicam que a rotação de maior energia, dentre as avaliadas, foi a de 15000 rpm. Com rotações acima desse valor (ex. 20000 rpm), observou uma trepidação intensa do equipamento (na configuração utilizada), inviabilizando a utilização do mesmo para produção de emulsão. Dessa forma, não foram feitas avaliações calorimétricas nessas condições.

5.2.4.3 Avaliação calorimétrica em banhos ultrassônicos

Para este ensaio, foram testados 3 banhos ultrassônicos operando em cubas com diferentes volumes e diferentes frequências de US. A amplitude e o tempo de sonicação foram fixados em 80% e 15 minutos, respectivamente. A lâmina de água foi a mesma apresentada no ensaio calorimétrico (2 cm), assim como no experimento de emulsificação relatado no item 4.3.3.2 e mostrado na Figura 10. Os resultados estão expressos na Tabela 8.

Tabela 9 - Ensaio calorimétricos em banho ultrassônico.

Banho	Potência nominal (W)	Frequência (kHz)	Volume (L)*	ΔT (°C)	$W L^{-1}$
1	200	35	1,440	15,2	70,6
		130	1,440	13,1	60,8
2	330	37	1,334	20,8	96,6
		80	1,334	16,2	75,2
3	100	25	0,442	11,7	54,3
		45	0,442	9,8	45,5

* Foi considerado o volume referente a uma lâmina de solução equivalente a 2 cm de altura.

Os resultados da Tabela 8 indicam que quando a potência nominal aumenta, a densidade de potência também aumenta. Para sistemas de mesma potência nominal, a maior quantidade de energia foi dissipada para o meio reacional em frequências de até 37 kHz, confirmando o que é amplamente discutido na literatura (intensificação dos efeitos físicos do US em condições de baixa frequência de US) (MASON e LORIMER, 2002; ASHOKKUMAR, 2011).

5.2.4.4 Avaliação calorimétrica em sistemas de US com emprego de probe

Para o dispositivo do tipo *probe* de US, conectada ao gerador de 750 W de potência nominal, foram feitos ensaios calorimétricos para a avaliação da liberação de energia na forma de calor, na mesma condição de amplitude do ponto central do delineamento experimental mostrado na Tabela 3. A amplitude foi fixada em 55%, o tempo de sonicação foi fixado em 15 minutos e somente água foi utilizada (em um volume de 50 mL) no reator da Figura 5a. A variação de temperatura, durante os 15 minutos de sonicação, foi de 64 °C. A densidade de potência dissipada calculada foi de 297 $W L^{-1}$, indicando que a quantidade de energia liberada na forma de calor, nessa configuração de ultrassom, é maior do que em sistemas do tipo banho ultrassônico e HAR nas condições as quais estes 3 sistemas foram avaliados. Essa maior quantidade de energia dissipada certamente foi um dos fatores que contribuíram para que as emulsões produzidas com esse tipo de sistema apresentassem maior estabilidade, com menor diâmetro de gota e IPD.

5.3 FASE MULTIVARIADA DO ESTUDO: OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS DE PROCESSO

Após a fase exploratória, foi possível a obtenção de informações referentes aos efeitos causados por cada um dos equipamentos avaliados em diferentes condições de processo. A partir dos resultados de IPD e de DH para algumas emulsões preparadas na fase univariada desse estudo, tais como os apresentados nas Figuras 23 e 24 (processamento em fluxo em *probe* de dupla alimentação de 750 W, frequência de 20 kHz, amplitude de 50 e 60%, percentual de FO fixado em 33% e tempo de residência de 8 min), foi estabelecido como condição de partida para os experimentos seguintes (avaliados em fluxo e em batelada).

5.3.1 DCCR aplicado para *probe* de US em batelada

As emulsões foram preparadas utilizando o dispositivo do tipo *probe* de US apresentado na Figura 4. O reator utilizado foi o de teflon, com volume de 50 mL (Figura 5e). As condições experimentais (percentual de FO, amplitude e tempo de processamento), DH e IPD das emulsões analisadas estão mostradas na Tabela 9.

Após a análise do DH e IPD das 17 emulsões preparadas em batelada, seguindo o delineamento experimental, plotaram-se gráficos de pareto e de superfície de resposta. Os gráficos de pareto (GP) serviram para verificar, dentre os parâmetros experimentais (percentual de FO, amplitude e tempo), quais parâmetros influenciaram significativamente no DH (Figura 20a) e no IPD (Figura 21a). A análise dos gráficos de superfície de resposta (GSR), facilitaram a visualização da resposta de DH e PDI frente aos parâmetros experimentais avaliados em pares. Além disso, caso o modelo proposto seja representativo, ele pode indicar quais otimizações podem ser feitas em relação aos valores do ponto central das variáveis em estudo. Estes gráficos são gerados pela combinação de técnicas estatísticas e matemáticas baseadas em um modelo de equação. As regiões em verde escuro nos GSR expressam os valores de amplitude, percentual de FO e tempo que possivelmente poderiam levar à um menor DH (Figura 20b, c e d) e IPD (Figura 21b, c e d).

Tabela 10 - Condições experimentais, DH e IPD para emulsificação em batelada.

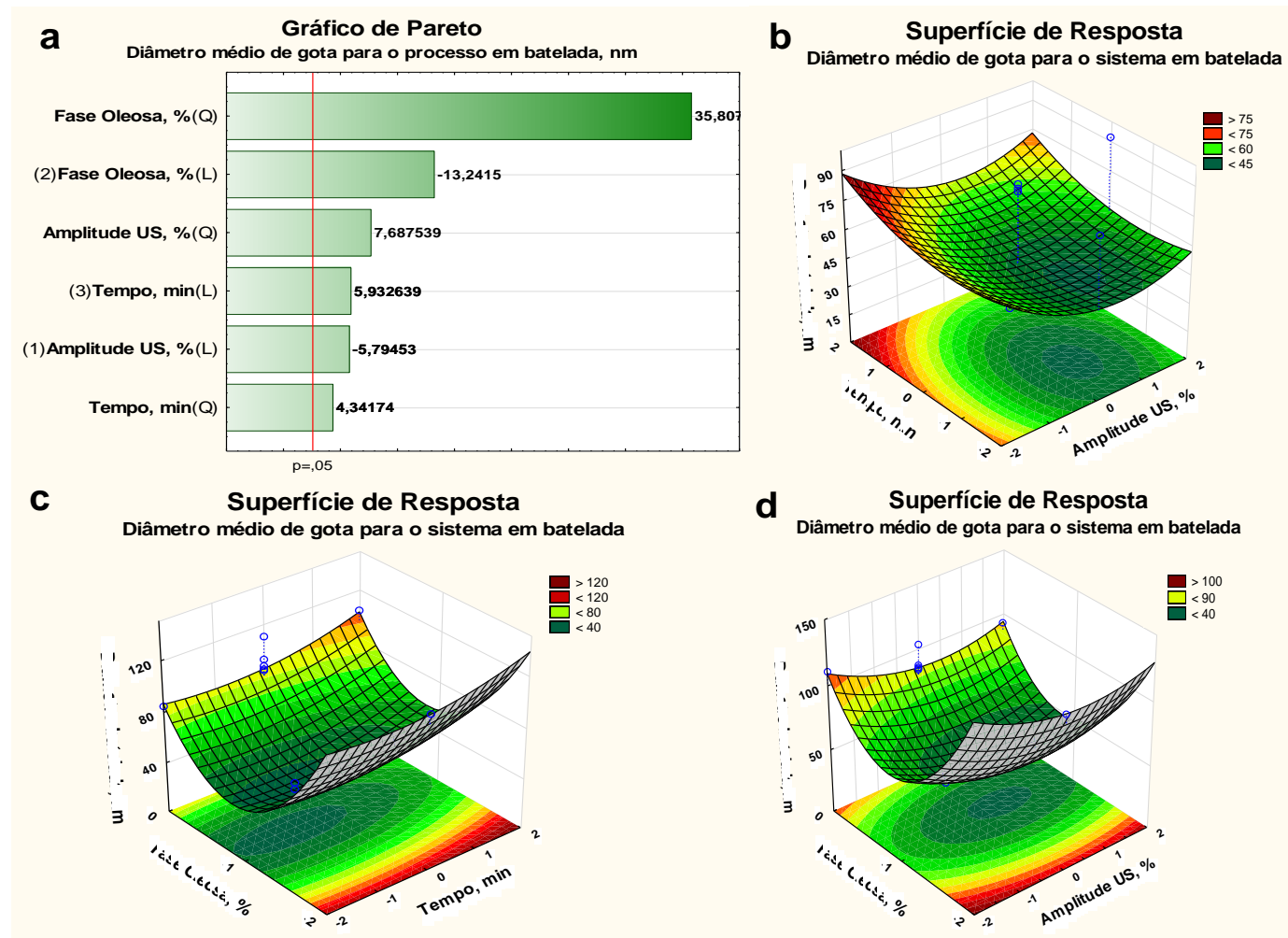
ENSAIO	F. O. (%)	AMPLITUDE (%)	TEMPO (min)	IPD	DH (nm)	Aspecto
E1-batelada	18	40	04:00	0,207	46,37	Translúcido
E2-batelada	18	70	04:00	0,124	40,93	Translúcido
E3-batelada	48	40	04:00	(S)	(S)	(S)
E4-batelada	48	70	04:00	(S)	(S)	(S)
E5-batelada	18	40	12:00	0,299	51,52	Translúcido
E6-batelada	18	70	12:00	0,262	47,03	Translúcido
E7-batelada	48	40	12:00	(S)	(S)	(S)
E8-batelada	48	70	12:00	(S)	(S)	(S)
E9-batelada	33	55	08:00	0,085	83,47	Turvo
E10-batelada	33	55	08:00	0,068	84,61	Turvo
E11-batelada	33	55	08:00	0,090	86,94	Turvo
E12-batelada	33	30	08:00	0,240	110,7	Turvo
E13-batelada	33	80	08:00	0,043	92,17	Turvo
E14-batelada	7,95	55	08:00	0,533	120,8	Translúcido
E15-batelada	58,05	55	08:00	(S)	(S)	(S)
E16-batelada	33	55	02:40	0,074	85,07	Turvo
E17-batelada	33	55	14:40	0,083	103,5	Opalescente

(S): emulsões que desestabilizaram.

5.3.1.1 Diâmetro hidrodinâmico

A Figura 20a indica que o parâmetro experimental que teve maior influência no DH, nas condições estudadas, foi o percentual de FO, enquanto a amplitude da onda gerada e o tempo foram menos influentes para determinar o DH. Cabe ressaltar que apesar da amplitude da onda ultrassônica não ter afetado significativamente o DH, como observado com relação ao percentual de FO, foi possível a obtenção de nanoemulsões com DH entre 40,9 e 120,8 nm. Isso demonstra que a energia US desprendida pelo dispositivo do tipo *probe*, operando em batelada, foi eficaz para a obtenção de nanoemulsões estáveis.

Figura 20 - Processo em batelada. a) GP dos parâmetros que afetaram o DH das emulsões, b) GSR da influência do tempo de processamento e amplitude no DH, c) GSR da influência do percentual de FO e do tempo de processamento no DH, d) GSR da influência do percentual de FO e da amplitude no DH.



As Figuras 20b e d, indicam que um pequeno incremento no valor da amplitude da onda ultrassônica, possivelmente situado entre 55 e 70%, pode levar à diminuição do DH. O aumento de amplitude faz com que o dispositivo de US forneça uma maior quantidade de energia ao meio e, conseqüentemente, melhore alguns aspectos da emulsificação, dentre eles a diminuição do DH. A Figura 20b indica que a diminuição do tempo de processamento de 8 min para em torno de 4 min, também pode levar a uma diminuição do DH. Isso se torna interessante em escala industrial, onde se busca redução de tempo de processamento e, conseqüentemente, de gasto energético. O indicativo de diminuição do tempo de processamento para a redução do DH pode estar indicando que as gotas formadas em um tempo de processamento de aproximadamente 4 min podem estar aumentando o seu DH quando o fornecimento de energia é mantido por mais alguns minutos, como por exemplo 8 minutos. Este aumento no DH está possivelmente relacionado ao maior número de colisões que as gotas recém formadas são submetidas e/ou ao aumento da temperatura no meio como um todo (ou em pontos localizados), ambos sob os efeitos da cavitação e transmissão acústica.

Quando foram avaliados a influência do percentual de FO e do tempo de processamento no DH, o GSR da Figura 20c e 20d mostrou que a diminuição do percentual de FO de 33,33% para aproximadamente 18% pode favorecer a redução do DH. Esta redução pode estar relacionada a uma maior quantidade de fase contínua que pode atenuar os choques entre as gotas de FO provocados pela energia US, evitando a coalescência durante o processamento. Para o parâmetro tempo, a Figura 20b e 20c indicam que uma redução de 8 para 4 min de processamento seria suficiente para a redução do DH, onde mais tempo de processamento poderia levar a colisões sucessivas das gotas já formadas, favorecendo a coalescência.

A Figura 20d mostra que o aumento da fase oleosa, quando esta se aproxima de 50% da composição, pode comprometer a estabilidade cinética das nanoemulsões e levar à completa separação de fases. Tal efeito pode ser causado pela diminuição da camada de FA contida entre as gotas. A medida que se aumentou o percentual de FO, para valores de $\phi > 0,5$, observou-se a tendência para que as gotas formadas passassem a deformar a sua superfície para que mais gotas se acomodem no meio, caso a fonte de cisalhamento (aumento da área superficial da FO dispersa) seja mantida no meio. Essa possível deformação pode resultar em produtos com aspecto de gel fractal e na possível desestabilização da nanoemulsão.

As condições ótimas expressas pelos GSR da Figura 20b, 20c e 20d, indicam que emulsões com DH de aproximadamente 40 nm podem ser obtidas utilizando-se o dispositivo do tipo *probe* de US operando em batelada.

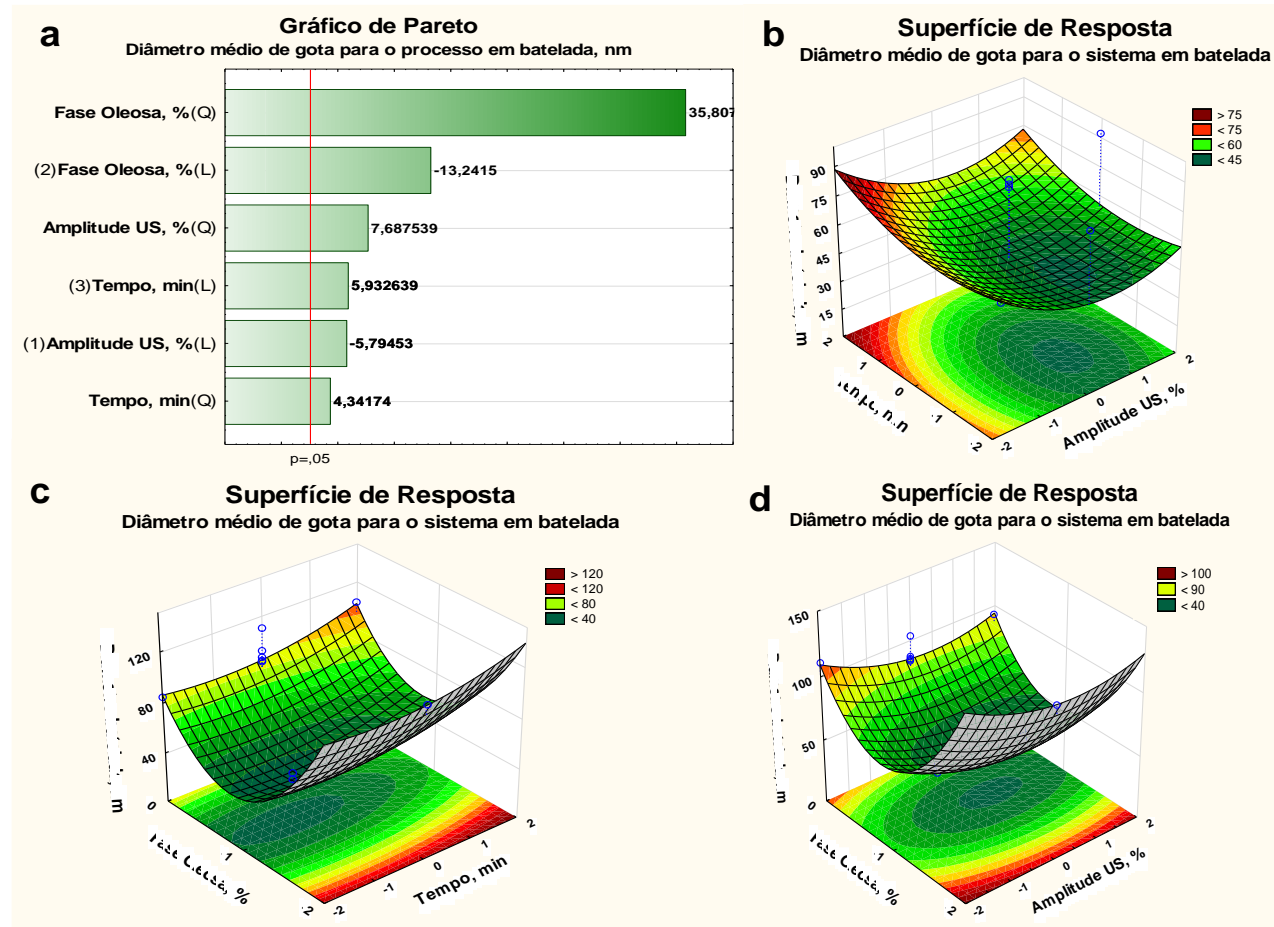
5.3.1.2 Índice de Polidispersão

Para o IPD das emulsões preparadas em batelada o GP da Figura 21a mostra que o parâmetro que mais afetou o IPD foi o percentual de FO, seguido pela amplitude da onda ultrassônica que teve uma influência discreta comparada ao percentual de FO. Tal resultado não elimina o mérito da eficiência da energia US para a obtenção de nanoemulsões de DH diminutos e IPD uniformes, mas indica que nesse tipo de nanoemulsificação, a quantidade de FO influencia fortemente a distribuição do DH das gotas das emulsões.

Apesar de o GP da Figura 21a indicar que o parâmetro que mais influenciou o PDI das emulsões preparadas, os GSR (Figura 21b e 21c) sugerem que o percentual de FO de 33,33% (fixado no ponto central do delineamento experimental) foi satisfatório para a obtenção de nanoemulsões com baixos IPD, semelhantes aos IPDs de emulsões monodispersas, possibilitando que valores inferiores a 0,075 fossem obtidos. Tal resultado possivelmente indica que carências ou excessos de FO podem resultar em um aumento de IPD em relação às nanoemulsões preparadas com o percentual de FO fixado próximo aos 33,33%.

Para a amplitude, fixada em 55% no ponto central, os GSR da Figura 21b e 21d demonstram que um pequeno incremento nesse parâmetro poderia reduzir o IPD. Provavelmente este resultado está relacionado ao incremento de energia fornecido ao meio, o qual poderá promover um cisalhamento ainda mais uniforme das gotas. No entanto, maiores amplitudes de US ocasionam um aumento de temperatura (>70 °C) do meio reacional, o que pode ser um aspecto negativo considerando a volatilidade e estabilidade dos OEs.

Figura 21 -Processo em batelada. a) GP dos parâmetros que afetaram o IPD das emulsões, b) GSR da influência do percentual de FO e da amplitude no IPD, c) GSR da influência do percentual de FO e do tempo de processamento no IPD, d). GSR da influência do tempo de processamento e amplitude no IPD.



Para o parâmetro tempo de processamento, apesar de não ter sido expresso como grande influenciador do IPD no gráfico de pareto da Figura 21a, os GSR da Figura 21c e 21d, indicam que o IPD reduziu em tempos mais curtos de processamento, sendo o tempo de 2:40 min mais adequado quando comparado ao tempo de processamento de 8 min (ponto central). Esse resultado mostra que após o tempo de 2:40 min, possivelmente a nanoemulsão já está formada e com o seu DH uniformizado e que a exposição da nanoemulsão a tempos maiores de processamento pode promover a colisão bastante energéticas das gotas já formadas (pelos fenômenos da cavitação e transmissão acústica), podendo ser suficiente para favorecer a coalescência das gotas formadas, ainda durante o processamento.

Considerando os resultados de DH e IPD, expressos na Tabela 9 e nos GP e GSR, para as emulsões processadas em batelada é possível afirmar que ao variar o percentual de FO, pode ser favorecida a diminuição do DH com o consequente aumento do PDI, assim como a diminuição do PDI pode levar ao aumento do DH. Tal situação implica na escolha de uma condição de compromisso, na qual o percentual de FO deve ser fixado em pontos onde DH e PDI não sejam prejudicados.

5.3.2 Avaliações complementares

5.3.2.1 Avaliação do emprego da cuba do banho US como reator para a obtenção de NE

A partir das avaliações calorimétricas realizadas em diferentes dispositivos do tipo banho ultrassônico, preenchidos somente com água (2 cm de lâmina de água), foi possível prever qual dos dispositivos avaliados apresentou maior densidade de potência. O banho que apresentou maior densidade de potência foi o banho 2 (Tabela 8), operando com potência nominal de 330 W, na frequência de 37 kHz e 80% de amplitude.

A partir do conhecimento da densidade de potência dissipada em água por cada um dos banhos avaliados, foram escolhidos os banhos 2 (operando na frequência de 37 kHz) e o banho 3 (operando na frequência de 25 kHz), ambos com a amplitude fixada em 80%, para o ensaio de nanoemulsificação.

A configuração dos processos de nanoemulsificação nos banhos US está apresentado na Figura 10. Os processos foram conduzidos com a FO pré-aquecida, sendo alimentada por 30 minutos na cuba/reator contendo uma lâmina de água pré-aquecida sob sonicação e agitação mecânica de baixa rotação (100 rpm). O agitador mecânico de baixa rotação foi utilizado para evitar que a FO fosse acumulada na região próxima de onde ocorreu a alimentação. Após a alimentação da FO, interrompeu-se a agitação mecânica e o meio foi sonicado por mais 20 minutos (perfazendo um tempo total de 50 min).

Para este processo de nanoemulsificação realizado no banho 3, apesar do aspecto opalescente a turvo mostrado na Figura 22, os resultados de DH e IPD, obtidos no Zeta Sizer Nano, foram satisfatórios. O DH foi de 65 nm e o IPD ligeiramente acima de 0,25, mesmo após 70 dias de armazenamento. Isso demonstra que o emprego de banhos ultrassônicos para transferência direta de energia representa uma condição eficiente para a obtenção de nanoemulsões de DH abaixo de 100 nm, conforme mostrado na Figura 23.

Figura 22 - Sistema utilizado no processo de emulsificação em banho ultrassônico.

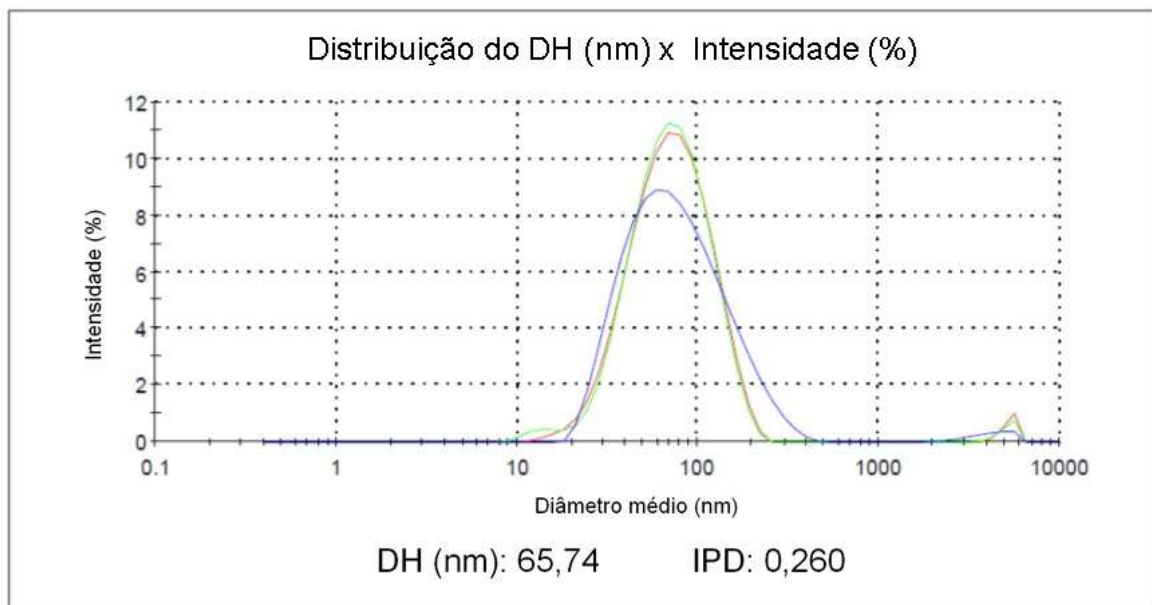


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Para o banho 2 (330 w de potência, frequência de 37 kHz e 80% de amplitude da onda de US) foi testado o processo de nanoemulsificação nas condições de operação previamente descritas (fases previamente aquecidas, com adição da FO por bombeamento para o reator/cuba do banho US contendo a FA). Após a análise do DH e do IPD, verificou-se que o banho 2 foi efetivo para a produção de uma nanoemulsão com DH e IPD satisfatórios (65 nm e 0,260 respectivamente), conforme Figura 23. O

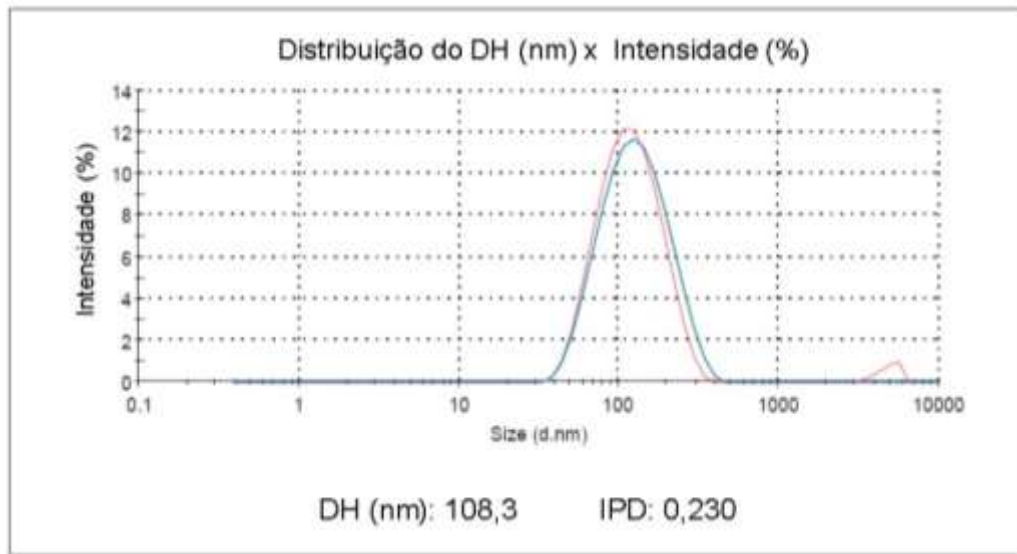
processo de nanoemulsificação no banho 2, apesar de fornecer maior densidade de potência para a formação da nanoemulsão, não produziu emulsões com DH mais satisfatórios do que a emulsão produzida no banho 3. O DH obtido para essa emulsão utilizando o banho 2 foi de 108,3 nm. Esse aumento no DH pode estar relacionado ao próprio aumento de energia US liberada no meio, fazendo com que as colisões de nano gotas já formadas possa resultar em coalescência, aumentando o DH. O PDI não variou significativamente com o emprego das diferentes frequências e potências de US (Figura 24).

Figura 23 - DH e IPD de emulsão obtida no banho 3 (100 W de potência, 25 kHz de frequência e 80% de amplitude).



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Figura 24 - DH e IPD de emulsão obtida no banho 2 (330 W de potência, 37 kHz de frequência e 80% de amplitude).



Fonte: Arquivo pessoal do autor

5.3.2.2 Monitoramento da variação do pH

5.3.2.2.1 Monitoramento de pH para as emulsões preparadas em batelada

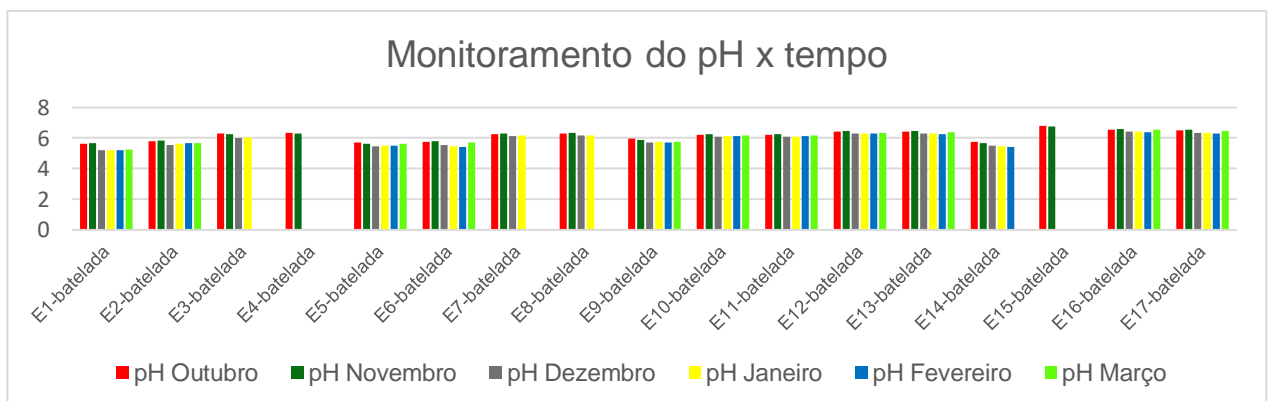
O pH das emulsões preparadas em batelada foi monitorado por 6 meses e, durante o acompanhamento, não houve mudança significativa entre os valores ao longo do tempo, como mostram a Tabela 10 a Figura 25. Esta pequena variação pode indicar que mudanças bruscas nas cargas da superfície das gotas não foram observadas, indicando uma boa estabilidade. Para as emulsões que desestabilizaram durante o estudo de pH, não há indicativos de influência de variações no pH para que a separação ocorresse, uma vez que mudanças bruscas de pH não foram observadas nos períodos que antecederam a desestabilização e separação.

Tabela 11 - Monitoramento mensal do pH para as emulsões preparadas em batelada.

Ensaio	pH					
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar
E1-batelada	5,62	5,68	5,21	5,22	5,20	5,25
E2-batelada	5,79	5,82	5,53	5,62	5,68	5,66
E3-batelada	6,28	6,26	6,00	6,05	(S)	(S)
E4-batelada	6,32	6,27	(S)	(S)	(S)	(S)
E5-batelada	5,69	5,61	5,45	5,50	5,49	5,61
E6-batelada	5,73	5,78	5,53	5,47	5,42	5,72
E7-batelada	6,24	6,31	6,11	6,17	(S)	(S)
E8-batelada	6,30	6,33	6,17	6,15	(S)	(S)
E9-batelada	5,94	5,87	5,71	5,74	5,71	5,76
E10-batelada	6,22	6,26	6,10	6,14	6,12	6,17
E11-batelada	6,20	6,25	6,09	6,10	6,12	6,18
E12-batelada	6,42	6,44	6,27	6,30	6,29	6,35
E13-batelada	6,43	6,46	6,30	6,29	6,26	6,36
E14-batelada	5,76	5,68	5,49	5,44	5,42	(S)
E15-batelada	6,78	6,74	(S)	(S)	(S)	(S)
E16-batelada	6,54	6,58	6,42	6,40	6,36	6,52
E17-batelada	6,48	6,53	6,34	6,33	6,31	6,46

(S): emulsões que desestabilizaram durante o acompanhamento do pH.

Figura 25 - Acompanhamento do pH das emulsões obtidas em batelada. O número de barras de cada ensaio representa o número de meses que a emulsão permaneceu estável.



Fonte: Arquivo pessoal do autor

5.3.2.3 Avaliação da viscosidade das nanoemulsões produzidas

As emulsões obtidas nos processos delineados no planejamento fatorial foram submetidas à análise de viscosidade para se obter informações a respeito da influência do percentual de fase oleosa nesse parâmetro. A viscosidade da fase oleosa, a 25 °C, foi de 64 mPa s. A viscosidade das emulsões que continham um percentual de FO de até 33% não variaram significativamente entre si, ficando em torno de 2 a 3 mPa s. Já as emulsões formuladas com o percentual de FO igual ou superior a 48%, tiveram um grande incremento na viscosidade e variaram entre si. Além disso, as emulsões com mais de 48% de FO apresentaram uma viscosidade muito superior à viscosidade da FO pura, como mostrado na Tabela 11. As emulsões formuladas com alto percentual de fase oleosa apresentaram aspecto pastoso e pouca ou nenhuma fluidez, como no caso das emulsões que foram processadas com percentuais de 48% ou de 58% de FO (Tabela 11). Esse aspecto foi considerado negativo nessa etapa da investigação, pois para os processos em fluxo é desejável que o emulsionado apresente boa fluidez para que não ocorra o entupimento das tubulações de descarga dos reatores.

Tabela 12 - Viscosidade das nanoemulsões preparadas em batelada, obtidas a 25 ou 45 °C.

Ensaio	F. O. (%)	Amplitude (%)	Tempo (min)	Visc. Din. (mPa s)
E1-batelada	18	40	04:00	2,2
E2-batelada	18	70	04:00	2,2
E3-batelada	48	40	04:00	483 (45°C)
E4-batelada	48	70	04:00	224,2.9
E5-batelada	18	40	12:00	2,2
E6-batelada	18	70	12:00	2,3
E7-batelada	48	40	12:00	250,9
E8-batelada	48	70	12:00	237,5
E9-batelada	33	55	08:00	7,1
E10-batelada	33	55	08:00	8,2
E11-batelada	33	55	08:00	9,9
E12-batelada	33	30	08:00	7,3
E13-batelada	33	80	08:00	8,7
E14-batelada	7,95	55	08:00	0,9
E15-batelada	58,05	55	08:00	597 (45°C)
E16-batelada	33	55	02:40	8,5
E17-batelada	33	55	14:40	9,7

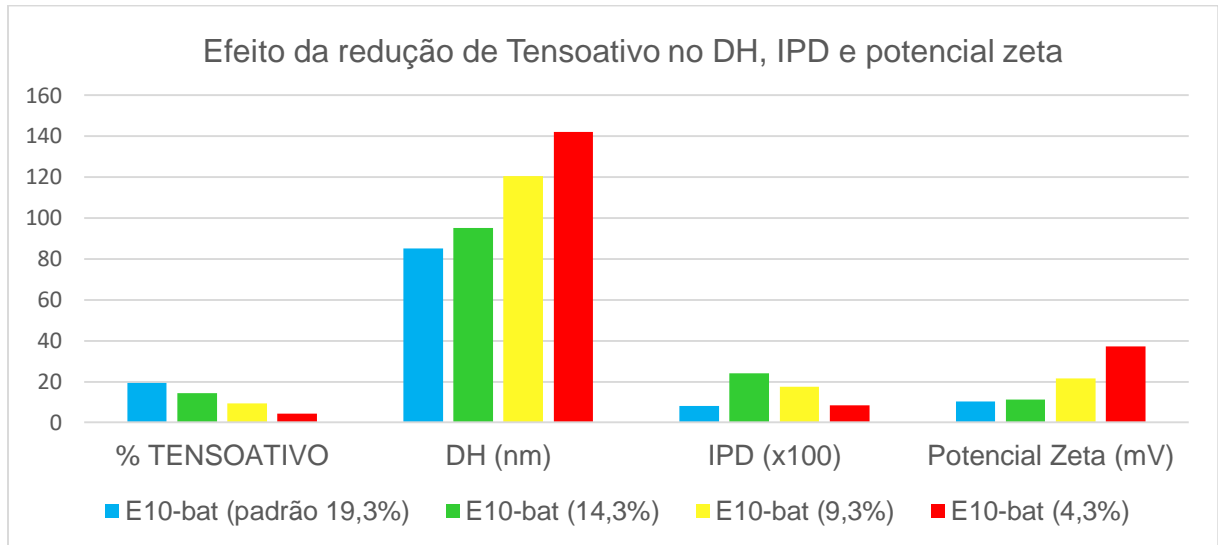
5.3.2.4 Ensaio com redução de tensoativos

A redução de tensoativos foi avaliada para observar qual efeito esta redução poderia causar no DH, IPD e potencial zeta. O processo de produção ocorreu em batelada, nas mesmas condições experimentais do ensaio E10-batelada mostradas na Tabela 12. Os resultados mostram que o DH aumentou de maneira linear quando houve a diminuição do percentual de tensoativo, em toda a faixa estudada, conforme mostrado na Figura 26. Isso indica que a redução de tensoativo pode estar favorecendo um recobrimento ineficaz das gotas formadas, comprometendo a repulsão entre as mesmas e favorecendo o aumento do DH. Para o IPD não houve uma variação significativa entre o percentual padrão (19,3%) e o menor percentual (4,3%). Para o potencial zeta, houve um aumento significativo, em módulo, dos valores, conforme mostrado na Tabela 12, podendo indicar que a redução do percentual de tensoativos pode estar favorecendo o aumento de cargas negativas na superfície das gotas formadas, o que provavelmente está relacionado à composição química do OE, nesse caso o OE de melaleuca, o qual pode ter alguns de seus componentes adsorvidos na superfície das partículas em função da falta de tensoativo.

Tabela 13 - Influência da concentração de tensoativos sobre os valores de DH, IPD e Potencial zeta.

Emulsão	TENSOATIVO (%)	DH (nm)	IPD	Potencial Zeta (mV)
E10-bat (padrão 19,3%)	19,3	85,00	0,081	-10,40
E10-bat (14,3%)	14,3	95,01	0,241	-11,36
E10-bat (9,3%)	9,3	120,50	0,174	-21,73
E10-bat (4,3%)	4,3	142,00	0,086	-37,30

Figura 26 - Gráfico de barras mostrando a influência da diminuição do percentual de tensoativos sobre o DH, IPD e potencial zeta.



6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos indicam que a energia US, dependendo das características do processo, pode ser bastante eficiente para a obtenção de nanoemulsões, com DH (<100 nm) e IPD (<0,25) relativamente baixos, comprovando a capacidade de cisalhamento e uniformização de tamanhos de gotas das fases dispersas avaliadas.

O HAR, nas condições estudadas, não se mostrou eficiente para a obtenção de nanoemulsões translúcidas e estáveis, mesmo na faixa de EHL onde foi possível a formulação de emulsões translúcidas e estáveis em processos assistidos por US. O aspecto leitoso das emulsões logo após o preparo em HAR, assim como a posterior formação de duas fases e separação após o quarto mês de armazenamento, também indicam a baixa eficiência deste método de agitação mecânica de alta rotação para a obtenção de nanoemulsões, nas condições avaliadas. Resultando em amostras emulsionadas de altos IPD (>0,25) e DH (>100 nm).

Com relação ao uso de energia US, os processos avaliados no ponto central do delineamento experimental, caracterizado por utilizar 750 W de potência, 55% de amplitude da energia US, 33% de FO e 8 min de sonicação apresentaram resultados de DH (37 a 87 nm) e IPD (0,068 a 0,220) satisfatórios, ou seja, DH abaixo de 100 nm e IPD abaixo de 0,25. Além disso, as análises dos GSR dão indicativos de condições

de processamento que podem ser promissoras para a obtenção de nanoemulsões de DH e IPD nas faixas consideradas ideais, além dos indicativos de quais condições levariam a resultados indesejáveis, como o aumento de FO para valores menores do que 18%, que resultou em aumento do DH e do IPD. O que pode auxiliar o desenvolvimento do emprego da energia US para a produção de materiais nanotecnológicos.

Foi comprovado, também, que o uso de somente água deionizada como fase aquosa possibilitou a obtenção de nanoemulsões estáveis, sem requerer a adição de íons para o controle das taxas de coalescência. Esse aspecto é importante uma vez que representa um processo de menor custo, sem a dependência de outros reagentes e de mais simples operacionalização.

A utilização da escala arbitrária de EHL se mostrou uma ferramenta satisfatória para a montagem de experimentos onde se deseja encontrar uma combinação adequada de tensoativos para um determinado material a ser emulsionado. Para o OE de melaleuca misturado ao óleo mineral, o HLB da mistura dos três tensoativos utilizados que apresentou emulsões de aspecto visual translúcido foi de 13,4, sendo que fora dessa faixa as emulsões apresentaram aspecto turvo ou opalescente. Cabe ressaltar que o aspecto translúcido foi observado apenas em processos empregando a energia US, nos processos empregando o HAR, mesmo com o EHL fixado em 13,4 as NEs apresentaram aspecto opalescente. Além disso, a redução da concentração de tensoativos se mostrou inviável para a formulação em questão, uma vez que resultou em aumento do DH e do IPD.

É válido ressaltar que a eficiência do processo proposto somente foi alcançada em procedimentos onde a energia US foi empregada. Mesmo que a dependência dessa fonte de energia não tenha ficado explícita nos GP e GSR, por existirem aspectos que não foram avaliados nesse estudo, a contribuição do US foi imprescindível para que as nanoemulsões formadas apresentassem regularidade, baixos índices de DH e IPD e relativa elevada estabilidade.

O processo do DCCR (E16-batelada, Tabela 9), se mostrou bastante promissoras para uso industrial, uma vez que na condição de amplitude e percentual de FO do ponto central, 55% e 33% respectivamente, foi obtida uma nanoemulsão de DH de 85 nm e de IPD de 0,203 (ver Tabela 9) com a vantagem de ter sido utilizado um tempo consideravelmente inferior (2:40 min) ao tempo de processamento do ponto

central (8:00 min). O que torna o processamento de NEs em dispositivos US bastante atraente.

O processo utilizando a cuba de banhos US para a emulsificação, configuração que permite o processamento de volumes maiores de NEs (>600 mL) comparado ao volume dos reatores utilizados nos processos com *probe* US (50 mL), foi promissor pois obteve-se emulsionados com DH inferior a 100 nm e IPD em torno de 0,25, porém mais estudos devem serem feitos para se reduzir o tempo de processamento neste dispositivo o qual é consideravelmente maior comparado aos tempos de processamento empregados nos dispositivos do tipo *probe* US.

Comparado a alguns trabalhos que empregaram a energia US de frequência similar (20-24 kHz) e potência de 400 W para a obtenção de NEs de 135 nm (KENTISH, WOOSTER, ASHOKKUMAR, BALACHANDRA, MAWSON e SIMONS, 2008) e de potência de 600 W operando com amplitudes acima de 90% para a obtenção de NEs de 19 nm (HASHTJIN e ABBASI, 2014) os resultados obtidos foram satisfatórios, uma vez que NEs de OE de melaleuca, com DH na faixa de 41 nm foram obtidas nas condições de processo do ponto central do DCCR.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. et al. An overview of ultrasound-assisted food-grade nanoemulsions. **Food Eng. Rev.**, v. 5, n. 3, p. 139-157, 2013.
- ABDI, Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial, Cartilha sobre nanotecnologia, Campinas - Unicamp, Brasília, 2010.
- AIME, S.; CIPELLETTI, L.; RAMOS, L. Power law viscoelasticity of a fractal colloidal gel. **J. Rheol.**, v. 62, n. 6, p. 1429-1441, 2018.
- ANTES, F. G. et al. Feasibility of low frequency ultrasound for water removal from crude oil emulsions. **Ultrason. Sonochem.**, v. 25, p. 70-75, 2015.
- ANTON, N.; VANDAMME, T. F. Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. **Pharm. Res.**, v. 28, n. 5, p. 978-985, 2011.
- APEL, M. A. **Óleos voláteis e espécies da Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae): composição química e atividades antimicrobiana e antiinflamatória.** 2001. Doutorado -Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- ASHOKKUMAR, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles – An overview. **Ultrason. Sonochem.**, v. 18, n. 4, p. 864-872, 2011.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food Chem. Toxicol.**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. **Secondary plant products.** 1 ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1981.
- BIBETTE, J.; LEALCALDERON, F. Surfactant-stabilized emulsions. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, v. 1, n. 6, p. 746-751, 1996.
- BIZZI, C. A. et al. Handbook on applications of ultrasound: sonochemistry for sustainability: **Ultrasound-assisted industrial synthesis and processes.** 1st ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2012.
- BIZZI, C. A. et al. Furfural production from lignocellulosic biomass by ultrasound-assisted acid hydrolysis. **Ultrason. Sonochem.**, v. 51, p. 332-339, 2019.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância Sanitária. Resolução 104/1999, se 26/04/1999. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1999.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CALLIGARIS, S. et al. Development of Transparent Curcumin Loaded Microemulsions by Phase Inversion Temperature (PIT) Method: Effect of Lipid Type and Physical State on Curcumin Stability. **Food Biophys.**, v. 12, n. 1, p. 45-51, 2017.

CHATTERJEE, D. Use of ultrasonics in shear layer cavitation control. **Ultrasonics**, v. 41, n. 6, p. 465-475, 2003.

CHEN, D.; SHARMA, S. K.; MUDHOO, A. **Handbook on applications of ultrasound: Sonochemistry for sustainability**. ed. CRC Press, 2011.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2011.

DAMASCENO, E. I. T. et al. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis*. **Braz. J. Pharmacog.**, v. 21, n. 1, p. 78-85, 2011.

DANIELSSON, I.; LINDMAN, B. The definition of microemulsion. **Colloids Surf.**, v. 3, n. 4, p. 391-392, 1981.

DIAT, O.; ROUX, D.; NALLET, F. Effect of shear on a lyotropic lamellar phase. **J. Phys. II**, v. 3, n. 9, p. 1427-1452, 1993.

DONSI, F. et al. Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: Effect of the emulsifier. **J. Biotechnol.**, v. 159, n. 4, p. 342-350, 2012.

DONSI, F. et al. Infusion of essential oils for food stabilization: Unraveling the role of nanoemulsion-based delivery systems on mass transfer and antimicrobial activity. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 22, p. 212-220, 2014.

FARRE, M.; SANCHIS, J.; BARCELO, D. Analysis and assessment of the occurrence, the fate and the behavior of nanomaterials in the environment. **TRAC - Trends Anal. Chem.**, v. 30, n. 3, p. 517-527, 2011.

FATHI, M.; MARTIN, A.; MCCLEMENTS, D. J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 39, n. 1, p. 18-39, 2014.

GAIKWAD, S. G.; PANDIT, A. B. Ultrasound emulsification: Effect of ultrasonic and physicochemical properties on dispersed phase volume and droplet size. **Ultrason. Sonochem.**, v. 15, n. 4, p. 554-563, 2008.

GARG, A.; SINGH, S. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. **Colloids Surf. B**, v. 87, n. 2, p. 280-288, 2011.

GHELARDINI, C. et al. Local anaesthetic activity of beta-caryophyllene. **Farmaco**, v. 56, n. 5-7, p. 387-389, 2001.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. **Ultrason. Sonochem.**, v. 20, n. 1, p. 338-344, 2013.

GUTIERREZ, L. et al. Effect of mixed antimicrobial agents and flavors in active packaging films. **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, n. 18, p. 8564-8571, 2009.

HASHTJIN, A. M.; ABBASI, S. Optimization of ultrasonic emulsification conditions for the production of orange peel essential oil nanoemulsions **Journal of Food Science and Technology**. v. 52, p. 5, 2014.

HRISTOZOV, D.; MALSCH, I. Hazards and Risks of Engineered Nanoparticles for the Environment and Human Health. **Sustainability**, v. 1, n. 4, p. 1-34, 2009.

KENTISH, S; WOOSTER, T. J.; ASHOKKUMAR, M.; BALACHANDRAN, S.; MAWSON, R.; SIMONS, L. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 170-175, 2008.

KLOCHIKHIN, E. A.; SHAPIRA, P. Engineering small worlds in a big society: assessing the early impacts of nanotechnology in China. **Rev. Policy Res.**, v. 29, n. 6, p. 752-775, 2012.

KOMAIKO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification: Factors influencing particle size. **J. Food Eng.**, v. 146, p. 122-128, 2015.

KOROLEVA, M. Y.; YURTOV, E. V. Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications. **Russ. Chem. Rev.**, v. 81, n. 1, p. 21-43, 2012.

KUMAR, H.; KUMAR, V. Ultrasonication assisted formation and stability of water-in-oil nanoemulsions: Optimization and ternary diagram analysis. **Ultrason. Sonochem.**, v. 49, p. 79-88, 2018.

LANGEVIN, D. Annual Review of Fluid Mechanics: **Rheology of adsorbed surfactant monolayers at fluid surfaces**. 2014.

LEGAULT, J.; PICHETTE, A. Potentiating effect of beta-caryophyllene on anticancer activity of alpha-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 59, n. 12, p. 1643-1647, 2007.

LEONG, T. S. H.; MARTIN, G. J. O.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic encapsulation – A review. **Ultrason. Sonochem.**, v. 35, p. 605-614, 2017.

LEONG, T. S. H. et al. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. **Ultrason. Sonochem.**, v. 16, n. 6, p. 721-727, 2009.

LIN, M. Y. et al. Universal diffusion-limited colloid aggregation. **J. Phys. Condens. Matter**, v. 2, n. 13, p. 3093-3113, 1990.

LUCIA, A. et al. Larvicidal effect of Eucalyptus Grandis essential oil and turpentine and their major components on Aedes Aegypti larvae. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 23, n. 3, p. 299-303, 2007.

MASON, T. G. New fundamental concepts in emulsion rheology. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, v. 4, n. 3, p. 231-238, 1999.

MASON, T. G. et al. Osmotic pressure and viscoelastic shear moduli of concentrated emulsions. **Phys. Rev. E**, v. 56, n. 3, p. 3150-3166, 1997.

MASON, T. G. et al. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **J. Phys. Condens. Matter**, v. 18, n. 41, p. R635-R666, 2006.

MASON, T. J.; LORIMER, J. P. **Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing**. ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2002.

MATSINGOU, T. C.; KAPSOKEFALOU, M.; SALIFOGLOU, A. In vitro antioxidant activity of black tea and Mediterranean herb infusions toward iron under simulated gastrointestinal conditions. **J. Food Sci.**, v. 65, n. 6, p. 1060-1065, 2000.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.

MCCLEMENTS, D. J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. **Soft Matter**, v. 7, n. 6, p. 2297-2316, 2011.

MCTIC, Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Estratégia Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação, disponível em: <<http://bibliotecadigital.planejamento.gov.br/handle/123456789/990>>. Acesso em: 10/12/2018, Brasília, 2016.

MELESON, K.; GRAVES, S.; MASON, T. G. Formation of concentrated nanoemulsions by extreme shear. **Soft Mater.**, v. 2, n. 2-3, p. 109-123, 2004.

MIKUS, J. et al. In vitro effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. **Planta Medica**, v. 66, n. 4, p. 366-368, 2000.

MIYAZAWA, M.; YAMAFUJI, C. Inhibition of acetylcholinesterase activity by tea tree oil and constituent terpenoids. **Flavour Fragr. J.**, v. 21, n. 2, p. 198-201, 2006.

MODARRES-GHEISARI, S. M. M. et al. Ultrasonic nano-emulsification – A review. **Ultrason. Sonochem.**, 2018.

MORALES, D. et al. A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nano-emulsion formation. **Langmuir**, v. 19, n. 18, p. 7196-7200, 2003.

MUMCUOGLU, K. Y. et al. The in vivo pediculicidal efficacy of a natural remedy. **Isr. Med. Assoc. J.**, v. 4, n. 10, p. 790-793, 2002.

NGUEFACK, J. et al. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 377-383, 2012.

NORTE, M. C. B.; COSENTINO, R. M.; LAZARINI, C. A. Effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats. **Phytomedicine**, v. 12, n. 4, p. 294-298, 2005.

PEDROTTI, M. F. et al. Intensification of ultrasonic-assisted crude oil demulsification based on acoustic field distribution data. **Ultrason. Sonochem.**, v. 40, p. 53-59, 2018.

PEIXOTO, F. J. M. **Nanotecnologia e sistemas de inovação: implicações para política de inovação no Brasil**. 2013. Tese de doutorado -Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2013.

PHYSICS, T. N. P. i., The Nobel Prize in Physics 1965, disponível em: <<https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1965/summary>>. Acesso em: 10/11/2018, 1965.

PIMENTEL-MORAL, S. et al. Lipid nanocarriers for the loading of polyphenols - A comprehensive review. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 260, p. 85-94, 2018.

PLENTZ, F.; FAZZIO, A. Considerações sobre o Programa Brasileiro de Nanotecnologia. **Ciênc. Cult.**, v. 65, p. 23-27, 2013.

PONGPRAYOON, U. et al. Topical antiinflammatory activity of the major lipophilic constituents of the rhizome of *Zingiber cassumunar*. Part I: The essential oil. **Phytomedicine**, v. 3, n. 4, p. 319-322, 1997.

RALLISON, J. M. The deformation of small viscous drops and bubbles in shear flows. **Annu. Rev. Fluid Mech.**, v. 16, p. 45-66, 1984.

REDDY, S. R.; FOGLER, H. S. Emulsion stability - delineation of different particle loss mechanisms. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 79, n. 1, p. 105-113, 1981.

REISS, H. Entropy-induced dispersion of bulk liquids. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 53, n. 1, p. 61-70, 1975.

RUCKENSTEIN, E. Thermodynamic insights on macroemulsion stability. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 79, n. 1, p. 59-76, 1999.

SACCHETTI, G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chem.**, v. 91, n. 4, p. 621-632, 2005.

SADAKA, F. et al. Review on antimicrobial packaging containing essential oils and their active biomolecules. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol**, p. 1-23, 2014.

SANJAY, S. S.; PANDEY, A. C. EMR/ESR/EPR Spectroscopy for characterization of nanomaterials: **A brief manifestation of nanotechnology**. 1 ed. India: Springer India, 2017.

SANTOS, D. et al. Ultrasound-assisted acid hydrolysis of cellulose to chemical building blocks: Application to furfural synthesis. **Ultrason. Sonochem.**, v. 40, p. 81-88, 2018.

SCHNITZLER, P.; KOCH, C.; REICHLING, J. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 51, n. 5, p. 1859-1862, 2007.

SHARMA, P. R. et al. Anticancer activity of an essential oil from *Cymbopogon flexuosus*. **Chem. Biol. Interact.**, v. 179, n. 2-3, p. 160-168, 2009.

SHIN, G. H.; KIM, J. T.; PARK, H. J. Recent developments in nanoformulations of lipophilic functional foods. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 46, n. 1, p. 144-157, 2015.

SOLANS, C. et al. Nano-emulsions. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, v. 10, n. 3-4, p. 102-110, 2005.

SOUZA, T. D. et al. Evaluation of photodynamic activity, photostability and in vitro drug release of zinc phthalocyanine-loaded nanocapsules. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 83, p. 88-98, 2016.

SUGUMAR, S. et al. Bio-based nanoemulsion formulation, characterization and antibacterial activity against food-borne pathogens. **J. Basic Microbiol.**, v. 53, n. 8, p. 677-685, 2013.

SUSLICK, K. S. Sonochemistry. **Science**, v. 247, p. 1439-1445, 1990.

SUSLICK, K. S. The chemical effects of ultrasound. **Sci. Am.**, v. 260, n. 2, p. 80-86, 1989.

TADROS, T. et al. Formation and stability of nano-emulsions. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 108, p. 303-318, 2004.

TANIGUCHI, N. Proceedings of international conference production engineering: **On the basic concept of 'nano-technology'**. Tokyo: Japan society of precision engineering, 1974.

TAYLOR, P. Ostwald ripening in emulsions: estimation of solution thermodynamics of the disperse phase. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 106, p. 261-285, 2003.

TOUMEY, C. Let there be nano. **Nat. Nanotechnol.**, v. 13, n. 10, p. 872-873, 2018.

WALSTRA, P.; VAN VLIET, T. Química de alimentos de fennema: **Sistemas dispersos: considerações básicas**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

WHITESIDES, G. M.; GRZYBOWSKI, B. Self-assembly at all scales. **Science**, v. 295, p. 2418-2421, 2002.

WU, P. F. et al. Mechanism and dynamics of hydrodynamic-acoustic cavitation (HAC). **Ultrason. Sonochem.**, v. 49, p. 89-96, 2018.