



**INSTITUTO  
FEDERAL**  
Rio de Janeiro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

*Campus Realengo*

Curso de Graduação em Farmácia

Alice Cabral Paredes

**Desenvolvimento de  
microemulsões para uso tópico a  
partir de óleos essenciais com  
potencial atividade repelente**

Rio de Janeiro

2021

ALICE CABRAL PAREDES

**Desenvolvimento de microemulsões para uso tópico a partir  
de óleos essenciais com potencial atividade repelente**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Instituto Federal do Rio  
de Janeiro, como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Bacharel em  
Farmácia.

Orientador: Prof. Dra. Alessandra Licursi  
Maia Cerqueira da Cunha

Rio de Janeiro  
2021

Dados Internacionais de Catalogação na  
Publicação.  
Elaborada por Karina Barbosa dos Santos  
Bibliotecária - CRB 7 n° 6212

P227

Paredes, Alice Cabral

Desenvolvimento de microemulsões para uso tópico a partir de óleos essenciais com potencial atividade / Alice Cabral Paredes, 2021.

59f.:il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Farmácia) Instituto Federal do Rio de Janeiro, 2021.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Alessandra Licursi Maia Cerqueira Cunha

COBIB/CReal

CDU 615

ALICE CABRAL PAREDES

**Desenvolvimento de microemulsões para uso tópico a partir de óleos essenciais com potencial atividade repelente**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Data da aprovação: 14/02/2022

Banca Examinadora



---

Prof. Alessandra Licursi Maia Cerqueira da Cunha – (Orientadora)  
Instituto Federal do Rio de Janeiro - (IFRJ)



---

Prof. Ana Ferreira Ribeiro – (Membro Interno)  
Instituto Federal do Rio de Janeiro - (IFRJ)



---

Dra. Marlin Jeannette Pedrozo Peñafiel - (Membro Externo)  
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)

Dedico esse trabalho aos meus pais e a minha irmã, obrigada por sempre me apoiarem e acreditarem em mim. Vocês sempre serão minha inspiração.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de primeiramente agradecer a Deus, por me permitir chegar até aqui, por me dar forças e não deixar que eu perdesse minha fé durante essa trajetória que foi longa e desafiadora, mas acima de tudo muito gratificante.

Agradeço aos meus pais, Margarete e Luiz Henrique, que sempre foram tão cuidadosos e amorosos comigo, nunca mediram esforços para o meu bem, me apoiaram o tempo todo, acreditaram na minha educação e estiveram do meu lado nos momentos de dificuldade, vocês dois são os melhores pais do mundo e eu também não conseguiria sem vocês. Agradeço também a minha irmã, Aline, por estar sempre do meu lado, por me dar as melhores dicas, suporte e por me incentivar e apoiar nos melhores e piores momentos. Eu amo muito vocês!

Agradeço à minha prima Denise, minha madrinha Erika e meu tio Afonso, por serem tão importantes nessa minha trajetória, por acreditarem na minha educação e apoiar a mim e a minha família em todos os momentos, vocês sempre serão muito especiais para mim.

Agradeço à minha orientadora Alessandra Licursi, que além de ser uma excelente professora, que eu admiro tanto, foi muito atenciosa comigo e me ajudou muito desde o início, e à professora Rosana Candida, sem ela, nada disso seria possível, obrigada por me apoiar, por me dar tantas oportunidades, e acima de tudo por acreditar em mim, vocês duas foram muito importantes para meu crescimento profissional e são minha inspiração.

Também agradeço, aos meus colegas de projeto Matheus, Raphael e Mariana, que estão comigo desde o início desse projeto e contribuíram tanto para a realização do mesmo, e a todos os meus professores, que me ajudaram no meu amadurecimento como aluna.

Agradeço ao Rodrigo, por ser meu parceiro desde o início, por ser minha dupla, por ter me apoiado tanto em um dos piores momentos da graduação, você foi o maior presente que o IFRJ poderia me dar, e eu sempre serei grata por todos os momentos que passamos juntos.

Aos meus amigos, Camila, Diego, Patrick e Milena por todos os momentos, os bons e os ruins, os grupos de estudo, as crises de risos e de choro, sem vocês tudo teria sido pior, sem graça. Não poderia deixar de

agradecer aos meus amigos do estágio, Breno, Bianca e Hoffgan, por terem deixado esse finalzinho tão mais leve e divertido, ainda bem que eu encontrei vocês.

Agradeço ao CNPq pela bolsa de iniciação científica, à equipe do IFRJ – Maracanã e LEEA-PUC Rio, por possibilitarem a realização desse projeto. E a todos que participaram de forma direta e indireta da minha trajetória.

“Estou entre aqueles que acham que  
ciência tem uma grande beleza”

- Marie Curie

## RESUMO

Os óleos essenciais (OEs) vêm sendo cada vez mais utilizados devido suas inúmeras propriedades e ampla aplicabilidade em diversas áreas, e por esse motivo, se encontram em ascensão no mercado. Entre suas inúmeras propriedades, a atividade repelente se mostra de grande importância, visto que o uso de produtos naturais está cada vez mais recorrente e os repelentes comerciais já existentes podem causar problemas à saúde física e mental. Contudo, por serem compostos majoritariamente por substâncias voláteis, os OEs podem apresentar seu tempo de duração reduzido e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade, além de apresentarem irritabilidade na pele quando usados em abundância. O uso de sistemas microemulsionados é uma alternativa promissora para minimizar essas peculiaridades. As microemulsões (MEs) são dispersões compostas por uma fase aquosa, fase oleosa e um surfactante, sendo este último, um composto anfifílico que diminui a tensão superficial entre as moléculas e une os sistemas. O uso de OEs em sistemas microemulsionados para aumentar a biodisponibilidade e a atividade e para diminuir a irritabilidade já vem sendo aplicado. Para realização desse estudo, foi feita uma revisão bibliográfica para a escolha de OEs com potencial atividade repelente, e um surfactante compatível com o sistema, associando propriedades que permitam futuramente o desenvolvimento de uma formulação tópica. As MEs foram obtidas por meio de titulação, com a adição gradual de 0,2g do tensoativo, com auxílio de balança portátil, nas proporções 10:1 e 20:1 m/m A:O (água:óleo), pré-estabelecidas de acordo com os limites de concentração seguros para o uso tópico, até a formação da MEs. Após finalizadas, as amostras foram homogeneizadas em Vórtex por 1 minuto. Para avaliar as regiões de formação das MEs, foram elaborados diagramas de fase ternários utilizando o Software OriginPro 2018. Para a análise da estabilidade dos OEs em meio microemulsionado, testes de durabilidade (a 7°C e temperatura ambiente) foram realizados, além de avaliação da estabilidade após submissão dos sistemas à estresse térmico e centrifugação (10 min, 2000 rpm). Os OEs escolhidos foram *Litsea cubeba* (litsea) e *Cymbopogon nardus* (citronela), por apresentarem atividade repelente satisfatória e de baixo custo, e o surfactante de escolha foi o Tween 80®, pois apresenta compatibilidade com o sistema, além de ser usado

na literatura de forma recorrente em sistemas microemulsionados para este fim. No presente trabalho foram obtidas 8 amostras para cada OE, sendo realizadas 4 réplicas para cada proporção. O valor médio de proporção obtido após a realização das réplicas das amostras do OE de Litsea foi 10:1:20 m/m A:O:S (água:óleo:surfactante), obtendo o valor de  $\pm 0,3$  de desvio padrão, e 20:1:23 m/m A:O:S ( $\pm 0,9$  de desvio padrão). Para o OE de citronela, os valores médios obtidos nas réplicas foram as proporções 10:1:23 m/m A:O:S ( $\pm 1,2$  de desvio padrão), e 20:1:17 m/m A:O:S ( $\pm 0,7$  de desvio padrão). O uso dos diagramas de fase mostrou ser uma ferramenta teórica simples e eficiente para analisar as regiões de formação das MEs. O uso de OEs em sistemas microemulsionados é promissor, uma vez que as amostras realizadas são reprodutíveis e apresentaram boa durabilidade e estabilidade.

Palavras-chave: Óleos essenciais. Microemulsões. Atividade repelente. Uso tópico. Diagrama de fase ternários.

## ABSTRACT

Essential oils (EOs) have been increasingly used due to their numerous properties and wide applicability in several areas, and for this reason, they are on the rise in the market. Among its numerous properties, repellent activity is of great importance, since the use of natural products is increasingly recurrent and existing commercial repellents can cause physical and mental health problems. However, as they are mostly composed of volatile substances, EOs may have a reduced duration and, consequently, their bioavailability, in addition to presenting skin irritability when used in abundance. The use of microemulsion systems is a promising alternative to minimize these peculiarities. Microemulsions (MEs) are dispersions composed of an aqueous phase, an oil phase and a surfactant, which is an amphiphilic compound that reduces the surface tension between molecules and unites the systems. The use of EOs in microemulsion systems to increase bioavailability, activity and decrease irritability has already been applied. For this study, a literature review was carried out to choose EOs with potential repellent activity, and a surfactant compatible with the system, associating properties that allow the development of a topical formulation in the future. The MEs were obtained by means of titration, with the gradual addition of 0.2g of the surfactant, with the aid of a portable scale, in the proportions 10:1 and 20:1 m/m W:O (water:oil), pre-established according to safe concentration limits for topical use, until the formation of MEs. After finishing, the samples were homogenized in a vortex for 1 minute. To evaluate the regions of formation of the MEs, ternary phase diagrams were prepared using the OriginPro 2018 Software. To analyze the stability of the EOs in microemulsion, durability tests (at 7°C and room temperature) were performed, in addition to evaluation stability after subjecting the systems to thermal stress and centrifugation (10 min, 2000 rpm). The EOs chosen were *Litsea cubeba* (Litsea) and *Cymbopogon nardus* (Citronella), for presenting satisfactory repellent activity and low cost, and the surfactant of choice was Tween 80®, as it is compatible with the system in addition to being used in the literature of recurrent form in microemulsion systems for this purpose. In the present work, 8 samples were obtained for each EO, and 4 replicates were performed for each proportion. The average value of proportion obtained after carrying out the replicas of the Litsea EO samples was

10:1:20 m/m W:O:S (water:oil:surfactant), obtaining a value of  $\pm 0.3$  standard deviation, and 20:1:23 m/m W:O:S ( $\pm 0.9$  standard deviation). For citronella EO, the mean values obtained in the replicates were the proportions 10:1:23 m/m W:O:S ( $\pm 1.2$  standard deviation), and 20:1:17 m/m W:O:S ( $\pm 0.6$  standard deviation). The use of phase diagrams proved to be a simple and efficient theoretical tool to analyze the regions of formation of MEs. The use of EOs in microemulsion systems is promising, since the samples performed are reproducible and showed good durability and stability.

Keywords: Essential oils. Microemulsions. Repellent activity. Topical use. Ternary phase diagram.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Distribuição da taxa de incidência de dengue (A), chikungunya (B) e zika (C), por município no Brasil, da semana 1 a 47 no ano de 2021.....22
- Figura 2 - Esquema ilustrativo de microemulsões do tipo (A) reversa ou A:O, (B) bicontínua e (C) regular ou O:A.....25
- Figura 3 - Processo de formação das dispersões homogêneas espontâneas. As cores da imagem são apenas ilustrativas para compreensão do processo e visualização das separações de fase.....26
- Figura 4 - Esquema ilustrativo de um diagrama de fases para sistemas ternários constituído por três fases. Em sistemas pseudo-ternários, ao menos um dos vértices constitui uma combinação em proporção fixa de mais de um componente. \*Neste diagrama, considere variáveis representadas por T (do inglês *top*), R (do inglês *right*) e L (do inglês *left*). .....26
- Figura 5 - Materiais utilizados para realização das microemulsões adaptados para o rodízio de laboratórios durante a pandemia de COVID-19: Vórtex, pipetas pasteur, óleos essenciais, béquer, surfactante, água ultrapura, álcool isopropílico, balança portátil e frascos Fluxograma do procedimento de titulação de preparo das microemulsões. ....32
- Figura 6 - Fluxograma do procedimento de titulação de preparo das microemulsões.....33
- Figura 7 - (A) aba 1 da planilha montada em Excel a partir dos dados obtidos nas titulações dos óleos essenciais para avaliação das regiões de formação das microemulsões. (B) aba 2 para converter os dados obtidos em massa para os valores em porcentagem.....34

Figura 8 - Dados das microemulsões de óleos essenciais exportados do Excel, para o preparo do diagrama de fases ternário após as titulações, no Software OriginPro 2018 .....	35
Figura 9 - Folhas e frutos da espécie <i>Litsea Cubeba</i> , parte extraída para a formulação de óleos essenciais .....	37
Figura 10 - Folhas da espécie <i>Cymbopogon nardus</i> (citronela) .....	38
Figura 11 - Estrutura molecular Tween 80® (monooleato de polioxietileno sorbitano), usado como surfactante nas microemulsões. As marcações w, x, y e z mostram os grupos de oxietileno presentes na molécula .....	39
Figura 12 - Microemulsões de óleo essencial de <i>Litsea</i> (OEL) após a última titulação nas proporções: (A) 10:1 m/m (água:óleo) e (B) duplicata 10:1 m/m (água:óleo); (C) 20:1 m/m(água:óleo) e (D) duplicata 20:1 m/m (água:óleo) ..	42
Figura 13 - Microemulsões de óleo essencial de citronela (OEC) após a última titulação nas proporções: (A) 10:1 m/m (água:óleo) e (B) duplicata 10:1 m/m (água:óleo); (C) 20:1 m/m(água:óleo) e (D) duplicata 20:1 m/m (água:óleo) ..	42
Figura 14 - (A) Diagrama de fase ternário do óleo essencial de <i>Litsea cubeba</i> ( <i>Litsea</i> ), indicando as regiões de formação das microemulsões. As mudanças de fases apresentadas durante o processo foram classificadas por cores: sendo bifásico (formação de duas fases) o amarelo mais claro, turvo laranja e solução homogênea em laranja mais escuro. (B) representa o diagrama ampliado para melhorar visualização das regiões .....	43
Figura 15 - (A) Diagrama de fase ternário do óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> (citronela), indicando as regiões de formação das microemulsões. As mudanças de fases apresentadas durante o processo foram classificadas por cores: sendo bifásico (formação de duas fases) o verde mais claro, turvo em verde intermediário e solução homogênea em verde escuro. (B) representa o diagrama ampliado para melhor visualização das regiões .....	44

Figura 16 - Amostras do ensaio de reprodutibilidade onde (A) Microemulsão com óleo essencial de Litsea na proporção 10:1:20 m/m (A:O:S); (B) Microemulsão com óleo essencial de Litsea na proporção 20:1:22 m/m (A:O:S); (C) Microemulsões com óleo essencial de citronela na proporção 10:1:24 m/m (A:O:S) e (D) ) Microemulsões com óleo essencial de citronela na proporção 20:1:17 m/m (A:O:S). .....46

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Metodologia realiza e resultados obtidos nos testes de estabilidade das microemulsões do óleo essencial de <i>Litsea cubeba</i> e <i>Cymbopogon nardus</i> .....	47
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação do aumento da atividade e melhora da estabilidade de óleos essenciais em meios microemulsionados realizados em estudos mais recentes .....	28
Tabela 2 – Proporções aproximadas das microemulsões do óleo essencial de litsea, obtidas pela titulação de Tween 80® nas proporções 10:1 e 20:1 (água:óleo) m/m, suas duplicatas e o desvio padrão*, realizadas por dois analistas .....	41
Tabela 3 - Proporções aproximadas das microemulsões do óleo essencial de citronela, obtidas pela titulação de Tween 80® nas proporções 10:1 e 20:1 (água:óleo) m/m, suas duplicatas e o desvio padrão*, realizadas por dois analistas .....	41
Tabela 4 - Componentes químicos presentes nas folhas e frutos de <i>Litsea cubeba</i> e nas folhas de <i>Cymbopogon nardus</i> , em ordem decrescente (%) quanto à sua majoritariedade, analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) .....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A:O	Água em óleo
A:O:S	Água:óleo:surfactante
CG- EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas
COVID-19	Corona vírus disease 2019 (do acrônimo em português: <i>doença do coronavírus 2019</i> )
EO	Óleo essencial (do acrônimo em inglês: <i>essential oil</i> )
EHL	Equilíbrio hidrófilo/lipófilo
DEET	N, N-dietil-m-tuloamida
ME	Microemulsão
m/m	(massa de soluto) / (massa de solução)
O:A	Óleo em água
OE	Óleo ssencial
OEL	Óleo essencial de <i>Litsea cubeba</i> - Litsea
OEC	Óleo essencial de <i>Cymbopogon nardus</i> – Citronela
RPM	Rotações por minuto
W:O	Água em óleo (do acrônimo em inglês: <i>water in oil</i> )
W:O:S	Água:óleo:surfactante (do acrônimo em inglês: <i>water:oil:surfactante</i> )

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS .....	20
<b>1.1.1 Atividade repelente dos óleos essenciais</b> .....	<b>21</b>
1.2 SISTEMAS MICROEMULSIONADOS .....	24
1.3 JUSTIFICATIVA .....	30
1.4 OBJETIVO.....	30
<b>1.4.1 Objetivo geral</b> .....	<b>30</b>
<b>1.4.2 Objetivo específico</b> .....	<b>30</b>
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>31</b>
2.1 METODOLOGIA.....	31
<b>2.1.1 Levantamento bibliográfico</b> .....	<b>31</b>
<b>2.1.2 Titulação para a escolha das microemulsões</b> .....	<b>31</b>
<b>2.1.3 Confecção dos diagramas de fase ternários</b> .....	<b>33</b>
<b>2.1.4 Teste de reprodução</b> .....	<b>35</b>
<b>2.1.5 Avaliação da estabilidade</b> .....	<b>35</b>
2.1.5.1 Teste de durabilidade .....	36
2.1.5.2 Testes de estresse térmico .....	36
2.1.5.3 Centrifugação .....	36
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
<b>2.2.1 Escolha dos óleos essenciais e surfactante</b> .....	<b>36</b>
2.2.1.1 Óleo essencial de <i>Litsea Cubeba</i> .....	37
2.2.1.2 Óleo essencial de <i>Cybopogon nardus</i> .....	37
2.2.1.3 Surfactante ou tensoativo.....	38
<b>2.2.2 Região de formação das microemulsões</b> .....	<b>40</b>
<b>2.2.3 Diagramas de fase ternários</b> .....	<b>42</b>
<b>2.2.4 Testes de reprodução</b> .....	<b>45</b>
<b>2.2.5 Avaliação da estabilidade</b> .....	<b>46</b>
2.2.5.1 Teste de durabilidade .....	47
2.2.5.2 Testes de estresse térmico .....	47
2.2.5.3 Centrifugação .....	47
<b>3 CONCLUSÃO</b> .....	<b>48</b>

<b>4 PESPECTIVAS .....</b>	<b>49</b>
<b>5 PRODUÇÃO ACADÊMICA.....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são misturas lipofílicas complexas, formadas majoritariamente por compostos aromáticos voláteis, podendo possuir até 60 substâncias (ISO, 2021; TARIQ et al., 2019). Sua composição inclui terpenos, sesquiterpenos, e substâncias oxigenadas como álcoois, éteres, ésteres, aldeídos, cetonas, fenóis, éteres fenóis e lactonas, que caracterizam a volatilidade e, conseqüentemente, o odor desses produtos (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

Os OEs podem ser obtidos através de diversas partes das plantas como as raízes, sementes, cascas, caules, folhas e flores, e por diferentes técnicas de extração adequadas à natureza de seus constituintes, tais como destilação por arraste à vapor, hidrodestilação, extração à baixa pressão e prensagem a frio (PAVELA, 2015a) e, podem sofrer tratamento físicos como filtração, decantação e centrifugação sem que ocorra alteração significativa em sua composição (ISO, 2021).

Por serem produtos do metabolismo secundário das plantas, os OEs possuem, dentre outras funções, um papel importante na defesa contra microorganismos, apresentando muitas vezes atividade antibacteriana, antifúngica, inseticida e antiviral (PAVELA, 2015b). Sabe-se que a bioatividade de cada óleo depende da sua composição química e da proporção de cada substância presente, no entanto, a elevada complexidade dessas misturas, torna improvável o conhecimento de todos os mecanismos responsáveis por suas propriedades terapêuticas (REICHLING, 2010). Seu principal mecanismo está relacionado com a capacidade de se acumularem na parede celular, causando sua ruptura, levando ao extravasamento do conteúdo celular, desequilíbrio da homeostase e por conseqüência à morte celular, esse mecanismo interfere diretamente no sistema nervoso dos vetores, induzindo sua morte (PAVONI et al., 2019a).

O uso desses óleos ocorre desde a Idade Média e, atualmente, possuem ampla aplicabilidade em segmentos como aromaterapia, alimentos & bebidas, cosméticos & cuidados pessoais, produtos para o lar, além de outros usos

industriais (SILVESTRE *et al.*, 2019) e por este motivo cada vez mais ganham destaque no mercado.

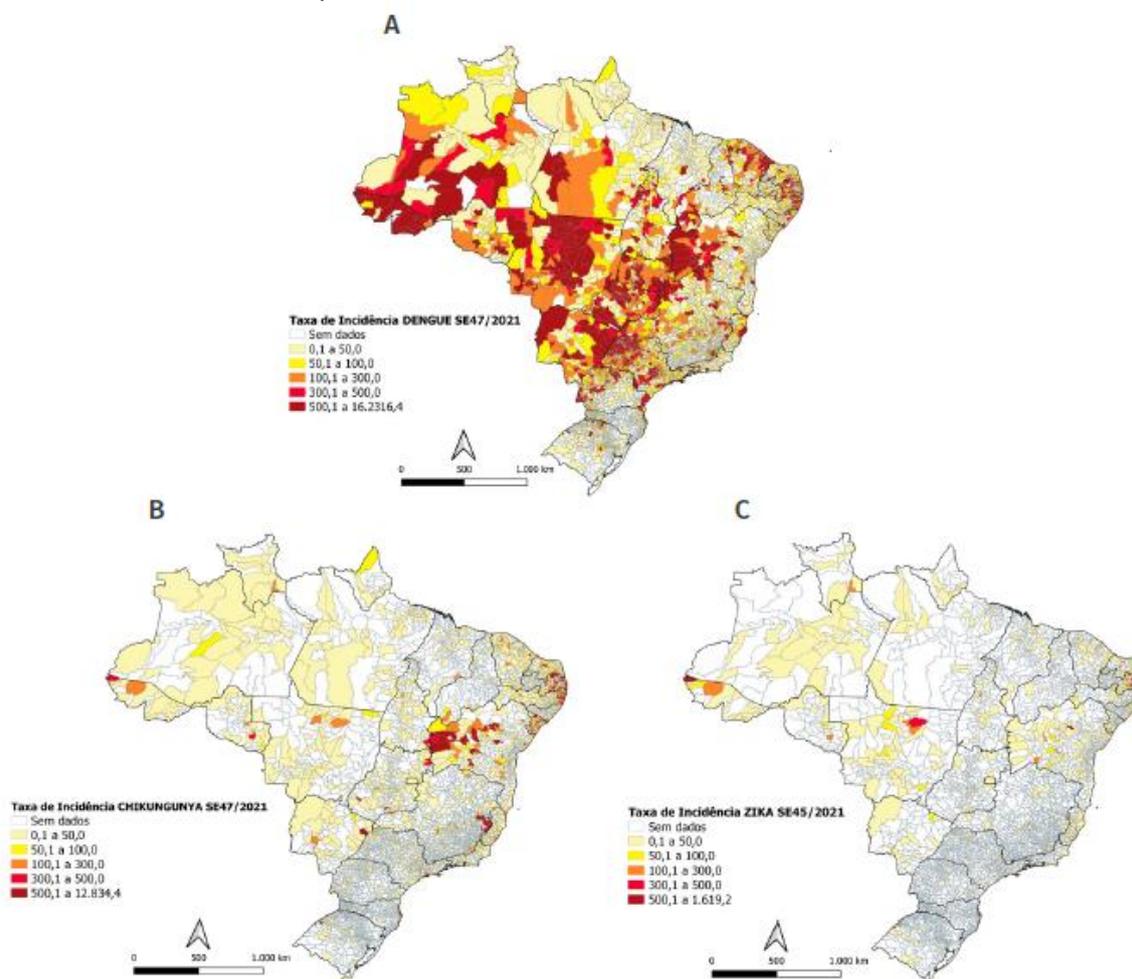
Atualmente, há aproximadamente 3.000 óleos essenciais reconhecidos e 10% destes possuem grande influência comercial (BAPTISTA-SILVA; BORGES; RAMOS, 2020). O Brasil é destaque na produção dos óleos essenciais, e está entre os cinco maiores produtores do mundo, por conta da produção em larga escala dos óleos cítricos (BIZZO; ANA MARIA; REZENDE, 2009). É importante ressaltar também, que, no início do ano de 2020 (última análise de mercado reportada), havia uma estimativa de crescimento para este mercado em torno de 5 a 8 % (Market analysis report. Report ID: GVR-3-68038-442-0, 2019). Este crescimento e alta demanda do mercado atual se dão também por conta da busca cada vez maior por utilização de extratos naturais no lugar de sintéticos (BIZZO; ANA MARIA; REZENDE, 2009).

### **1.1.1 Atividade repelente dos óleos essenciais**

O Brasil é um país com clima tropical predominante, e possui em sua área grandes extensões florestais na região Amazônica e nas costas Leste, Sudeste e Sul. As florestas bem como o clima tropical, facilitam a ocorrência de arboviroses provenientes da proliferação de artrópodes (FIGUEIREDO, 2000). As arboviroses mais conhecidas e recorrentes no Brasil são: zika, chikungunya e dengue. Essas doenças são transmitidas principalmente durante o repasto sanguíneo pela saliva contaminadas desses artrópodes (AVELINO-SILVA; RAMOS, 2017).

Atualmente, a dengue é a arbovirose com maior taxa de incidência no Brasil, em 2021 apresentou como média 235,8 casos por 100 mil habitantes, e a região mais afetada pela doença é o centro-oeste, seguido da região Sul, Sudeste, Nordeste e Norte (BRASIL, 2021). Na Figura 1, estão representadas as taxas de incidência de dengue, chikungunya e zika distribuídas por município no ano de 2021.

Figura 1: Distribuição da taxa de incidência de dengue (A), chikungunya (B) e zika (C), por município no Brasil, da semana 1 a 47 no ano de 2021.



Fonte: BRASIL, 2021.

Além das altas taxas de incidência, essas arboviroses podem se apresentar em formas graves, causando condições clínicas e sequelas indesejáveis ao paciente, podendo ser também fatais (CAMPOS et al., 2018). As estratégias para o controle desses vetores, podem ocorrer através do controle mecânico, que são medidas para evitar a proliferação e eliminar os vetores; controle biológico, baseado no uso de predadores ou patógenos com capacidade de reduzir a população vetorial; e controle químico, através do uso de produtos químicos, inseticidas (destinados ao local) ou repelentes (destinados ao uso humano) para matar larvas e insetos (ZARA et al., 2016).

Conforme supracitado, os OEs possuem um papel importante na defesa das plantas (PAVELA, 2015a). Em função disso, são muitas vezes considerados como uma alternativa no controle de insetos (NERIO; OLIVERO-VERBEL;

STASHENKO, 2010). Alguns OEs funcionam não somente como repelentes, que protegem apenas dos mosquitos adultos, mas também como larvicidas, impedindo a sua proliferação ao combater diretamente às larvas dos mosquitos (DIAS; MORAES, 2014).

A atividade repelente dos óleos essenciais se caracteriza pela presença de monoterpenos e sesquiterpenos como: eugenol, limoneno, timol, terpinoleno, citronelol, canfora, alfa-pineno, eucaliptol e citronelal (CHELLAPPANDIAN; VASANTHA-SRINIVASAN; SENTHIL-NATHAN, 2018). Entre os diversos OEs que apresentam essa atividade, os que possuem maior destaque são *Mentha piperita* (hortelã-pimenta), *Pogostemon cablin* (patchouli), *Cymbopogon nardus* (citronela), *Eucalipto globulus* (eucalipto), *Zanthoxylum piperitium* (pimenta-do-Japão), *Litsea cubeba* (litsea) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) (SOUZA et al., 2019). Um estudo realizado em 2017 por Benelli e colaboradores mostrou que a atividade repelente de um óleo essencial não depende somente dos compostos majoritários, mas também daqueles presentes em menor quantidade, por conta do sinergismo entre os compostos. Por esse motivo, a atividade do OE natural é muitas vezes maior do que a apresentada pelo composto principal isolado.

Comparativamente, os repelentes de origem sintética são mais utilizados que os de origem natural como os OEs. Esse fato pode ser explicado, pois, apesar de haver uma tendência para a utilização de produtos naturais, a grande oferta dos produtos de origem sintética, aliada à maior durabilidade que estes apresentam, torna-os mais acessíveis à população (NUCHUCHUA et al., 2009). A N, N-dietil-m-tuloamida (DEET) é uma das principais substâncias sintéticas utilizadas nas formulações de repelentes, devido seus ótimos tempos de proteção às picadas. Todavia, é necessário considerar que esta, assim como outros repelentes desta natureza, podem oferecer riscos para à saúde (AZEEM et al., 2019). Em função disso, é muito importante que se invista no desenvolvimento de produtos com atividade repelente de origem natural, que sejam menos danosos à saúde humana.

A utilização dos OEs como repelentes é promissora por serem fitoquímicos seguros para o uso humano (CHELLAPPANDIAN; VASANTHA-SRINIVASAN; SENTHIL-NATHAN, 2017), porém, não significa que podemos

utilizá-los indiscriminadamente. Os OEs que possuem elevadas concentrações de álcool e ésteres são seguros para o uso, no entanto, os que possuem concentrações elevadas de cetonas, fenóis e aldeídos, não devem ser aplicados diretamente sobre a pele, por oferecerem possíveis efeitos adversos, para o uso tópico (ANDREI; PERES; COMUNE, 2006).

Com relação ao uso dos OEs, é necessário considerar também algumas peculiaridades. Por serem compostos majoritariamente por substâncias voláteis, esses produtos tendem a ter um período de eficácia reduzido (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010). Fotossensibilidade, além da sua insolubilidade em água, também devem ser considerados (PAVONI et al., 2019a). Neste contexto a utilização de sistemas microemulsionados pode contribuir para uma melhor administração desses óleos, uma vez que por meio deles é possível facilitar a administração de substâncias hidrofóbicas, proteger as moléculas ativas contra degradação em meio fisiológico, fornecendo proteção contra oxidação, hidrólise enzimática e também promover a liberação controlada no sítio de ação e reduzir a volatilidade (CHAUHAN; THAKUR; SHARMA, 2019; PAVONI et al., 2020).

## 1.2 SISTEMAS MICROEMULSIONADOS

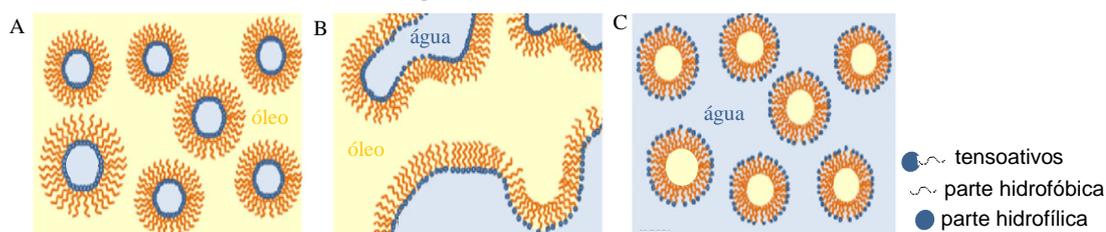
As microemulsões (MEs) são dispersões de diâmetro de gotículas na faixa dos nanômetros, composta por duas fases imiscíveis entre si, usualmente uma aquosa e a outra, a oleosa, sendo estabilizadas pela presença de um solvente anfifílico (surfactante), podendo ainda estar acompanhado de um co-surfactante (LV; LIU; MA, 2017). A estrutura dos surfactantes contém uma parte polar e outra apolar, que se ligam, respectivamente, aos meios aquoso e oleoso, reduzindo a tensão superficial do sistema.

Em comparação com as emulsões, as MEs possuem algumas vantagens, tais como: estabilidade termodinâmica, facilidade no preparo, longo prazo de validade, baixo custo e baixa tensão superficial (KALE & DEORE, 2017).

As MEs podem ser classificadas pela composição das suas fases, conforme ilustrado na Figura 2. A orientação para os sistemas água em óleo (A:O), óleo em água (O:A) e bicontínua depende da proporção entre as fases polar e apolar, principalmente o equilíbrio hidrófilo/lipófilo (EHL), e propriedades

físico-químicas do surfactante. (SJÖBLOM; LINDBERG; FRIBERG, 1996; OLIVEIRA *et al.*, 2004). No caso da utilização das MES com foco no desenvolvimento de formulações para uso tópico, os sistemas do tipo óleo em água (O:A) são as mais adequadas por possuírem maior capacidade de veiculação (SANTANA; PERRECHIL; CUNHA, 2013; ZHU *et al.*, 2020)

Figura 2: Esquema ilustrativo de microemulsões do tipo (A) reversa ou A:O, (B) bicontínua e (C) regular ou O:A.



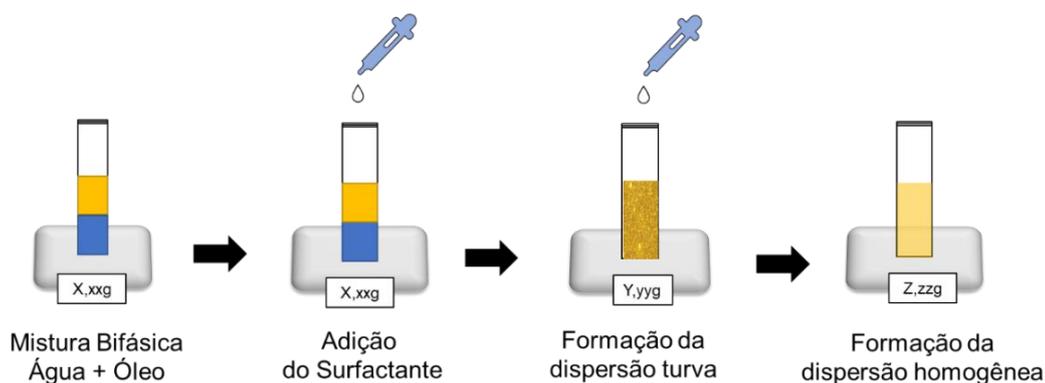
Fonte: Adaptado de SANTANA; PERRECHIL; CUNHA, 2013

Além disso, para os OEs, as MEs do tipo O:A possuem ótima capacidade de solubilização desses materiais e pode ser utilizada para aumentar a estabilidade, a solubilidade e a biodisponibilidade, pois permitem a incorporação de vários tipos de compostos na fase interna oleosa (baixa constante dielétrica), na região interfacial (constante dielétrica intermediária entre o óleo e a água) ou na fase externa aquosa (alta constante dielétrica) (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Além das vantagens supracitadas, as MEs apresentam estabilidade físico-química em relação às emulsões tradicionais, facilidade de preparação e ampliação (PAVONI *et al.*, 2019b). Ultimamente as MEs vem ganhando espaço na aplicação como sistema de liberação prolongada, atuando como sistemas reservatórios, proporcionando um efeito prolongado e como veículo para liberação de fármacos com estrutura mais lipofílica, principalmente as MEs do tipo O:A, pois sua fase interna pode solubilizar uma parte considerável de fármaco lipossolúveis (FORMARIZ *et al.*, 2005)

Para a representação das regiões formadas nas microemulsões, geralmente são realizados processos de titulação (Figura 3). Os resultados podem ser tabulados em diagramas de fases, que é uma alternativa para propor as regiões limite de transição das MEs (DA SILVA *et al.*, 2009).

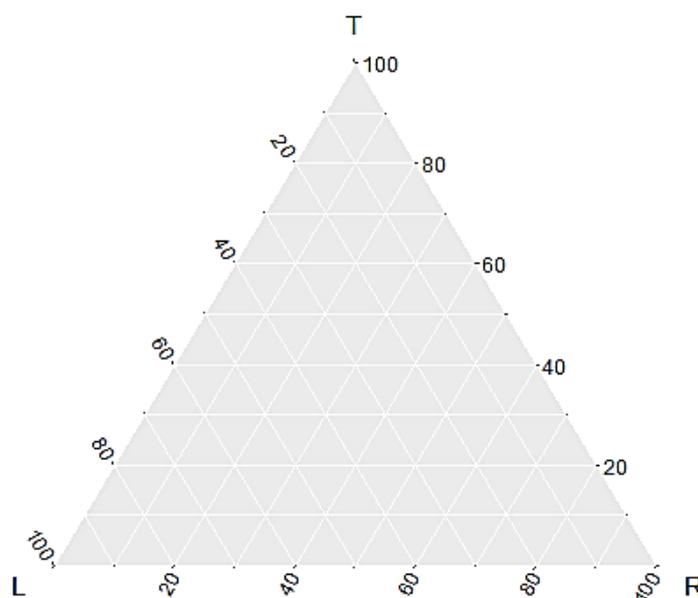
Figura 3: Processo de formação das dispersões homogêneas espontâneas. As cores da imagem são apenas ilustrativas para compreensão do processo e visualização das separações de fase.



Fonte: Próprio autor.

Nesses diagramas (Figura 4), cada vértice do triângulo corresponde a 100% de um componente (fase oleosa, fase aquosa e solvente anfifílico). Quando a MEs é formada pela adição de mais de três componentes (devido à introdução de um co-surfactante), esses diagramas são denominados pseudoternários e o surfactante e o co-surfactante são considerados de forma agrupada, e a razão entre eles mantida constante (GUIMARÃES, 2013).

Figura 4: Esquema ilustrativo de um diagrama de fases para sistemas ternários constituído por três fases. Em sistemas pseudoternários, ao menos um dos vértices constitui uma combinação em proporção fixa de mais de um componente. \*Neste diagrama, considere variáveis representadas por T (do inglês *top*), R (do inglês *right*) e L (do inglês *left*).



Fonte: Próprio autor.

Alguns estudos já foram reportados na literatura abordando o desenvolvimento e avaliação de formulações de sistema microemulsionados com OEs, com o intuito de melhorar as propriedades dos óleos (atividade antifúngica, antiviral, antibacteriana, repelente e larvicida), aumentar a atividade, e minimizar os efeitos de algumas características presentes nesses óleos, como alta capacidade oxidativa, alta volatilidade, baixa solubilidade, alta viscosidade, aumentar a estabilidade e conservação. Alguns deles ainda estudam a probabilidade de aplicação tópica das MEs com OEs. A Tabela 1 apresenta alguns desses estudos realizados para avaliação da atividade, da estabilidade e dos benefícios quanto ao uso de OEs em sistemas microemulsionados, nos últimos anos. Pode-se observar também os OEs e os compostos anfifílicos utilizados nesses estudos.

Como dito anteriormente, os OEs podem sofrer degradação pela presença de umidade, oxigênio, luz e calor, podendo afetar sua conservação. Os OEs possuem em sua composição compostos orgânicos, que pode gerar radicais livres por meio de quebras homolíticas, quando expostos a luz e calor, que em decorrência disso, essas espécies podem gerar compostos instáveis (peróxidos, hidroperóxidos, entre outros) pela reação com outras moléculas (GUIMARÃES et al., 2008). Para diminuir as altas taxas de oxidação, Zhao e colaboradores (2020) desenvolveram MEs com óleo de krill, que é altamente oxidável, insolúvel e viscoso, visando melhorar a manipulação e aumentar sua conservação, e os resultados mostraram que a MEs são estáveis e possui características que fornecem uma base para uma aplicação futura.

Com a finalidade de intensificar a atividade do óleo essencial de citronela, Toledo (2020) realizou testes *in vitro* e *in vivo* com o óleo sozinho e em MEs. Foi observado uma melhora significativa na ação antifúngica da citronela nos testes *in vivo* da MEs. O sistema também proporcionou estabilidade da formulação e uma melhor solubilização. Testes reológicos também foram feitos para fundamentar as propriedades das MEs, a partir de óleos citronela, para posterior aplicação tópica *anti-candida*.

Tabela 1: Avaliação do aumento da atividade e melhora da estabilidade de óleos essenciais em meios microemulsionados realizados em estudos mais recentes.

<b>Óleos essenciais/ Fase oleosa</b>	<b>Compostos anfífilicos</b>	<b>Referência</b>
Hortela-pimenta, cravo, alecrim e quercetina	Cremophor EL e 1,2-propanodiol	Lv, 2017
Laranja	Tween 80® e propanol	Radi, 2017
Copaíba	Dioleato de poligliceril-6 e PEG-8 caprílico/glicerídeos cáprico	Neves, 2018
Anis, Ajowan e Crithmum maritimum	Tween 80® e Etanol	Pavela, 2019
Capim-limão	Tween 80®	Li, 2019
Citronela, Hortelã e Eucalipto	Tween 80®	Sieniawska, 2019
Lavanda	Tween 80® e butilenoglicol	Song, 2019
Alecrim, orégano e canela	Tween 80®	Dávila-Rodriguez, 2020
D-limoneno	Gelucire®	Mehanna, 2020.
Combava	Tween 80® e propilenoglicol	Pumival, 2020
Krill e Miristato de isopropila	Tween 80®, Span 80® e etanol	Zhao, 2020
Citronela e óleo de semente de uva	Polioxietileno, éter laurílico e fosfatidolcolina de soja	Toledo, 2020
Artemisia, Alpinia	Tween 2®0 e etanol	Mou, 2021
Melaleuca alternifolia	Alquil poliglicosídeo	Vo, 2021
Alpinia	Tween 80® e Etanol	Khumpirapang, 2021
Canela	Tween 80® e álcool anidro	Shi, 2021

Fonte: Próprio autor.

O uso de sistemas microemulsionados se mostra efetivo para intensificar as propriedades dos OEs, e melhorar algumas de suas características que afetam a estabilidade e durabilidade nas formulações. Em 2021, Shi utilizou microemulsões com OE de canela para melhorar as taxas de decomposição e oxidação do óleo puro. Para obtenção das MEs, foi adicionado uma mistura de Tween 80® e álcool anidro, como solventes anfifílicos em um sistema 2:3 (v/v) de água destilada e óleo essencial, sob agitação. Apesar do OE de canela apresentar uma maior atividade inseticida, as MEs apresentaram 100% de repelência por 6 horas, boa estabilidade, incorporação e um excelente efeito de liberação prolongada.

A utilização de OEs em meios microemulsionados é uma alternativa promissora em função da sua eficácia e simplicidade para fins de formulações de uso tópico, incluindo atividade repelente. Esses sistemas podem ser interessantes para melhorar a ação destes produtos, uma vez que, por meio dessa abordagem, a administração de substâncias hidrofóbicas torna-se mais eficiente, promovendo sua liberação controlada em meio fisiológico, aumentando o tempo de ação e protegendo suas moléculas ativas de possíveis degradações.

### 1.3 JUSTIFICATIVA

Os óleos essenciais são misturas lipofílicas com uma ampla aplicabilidade em diversas áreas, alguns possuem potencial atividade repelente promissora. Todavia, estes óleos possuem uma peculiaridade quando se trata da utilização tópica: por serem muito voláteis, podem apresentar uma biodisponibilidade baixa e proporcionar um tempo de ação e eficácia reduzidos.

A incorporação desses produtos em meios microemulsionados é uma alternativa para o desenvolvimento de produtos biossustentáveis, visto que diminuem os impactos ao meio ambiente e à saúde humana, aumentam a estabilidade dos OEs, protegem da degradação por oxidação, volatilização e aumentam a solubilização e o seu tempo de ação, já que vem sendo muito utilizado como sistema de liberação prolongada.

### 1.4 OBJETIVOS

#### 1.4.1 Objetivo geral

Desenvolvimento de microemulsões em sistemas ternários para a veiculação de óleos essenciais com potencial atividade repelente visando uma futura aplicação em formulações de uso tópico.

#### 1.4.2 Objetivos específicos

- A. Escolha dos óleos essenciais com potencial atividade repelente aliando custo e benefício;
- B. Desenvolvimento e otimização dos parâmetros experimentais para a utilização de microemulsões;
- C. Análise crítica dos resultados para escolha das condições mais promissoras;
- D. Avaliação da estabilidade: durabilidade das amostras em temperaturas ambiente e refrigerada em curto e longo prazo, estresse térmico e o teste de centrifugação;
- E. Avaliação dos resultados, de modo a traçar estratégias para aplicabilidade futura em formulações de uso tópico.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 METODOLOGIA**

#### **2.1.1 Levantamento bibliográfico**

Uma pesquisa foi realizada com o intuito de escolher OEs com potencial atividade repelente a serem utilizados. Para essa seleção foi levado em consideração a efetividade de repelência e espécies que não são conhecidas popularmente para esses fins. O critério para escolha do surfactante foi em função da afinidade com a pele, com o sistema e com o uso recorrente em meios microemulsionados.

Foram utilizadas como plataformas de pesquisa o portal de periódicos CAPES e PubMed. Para as buscas foram aplicadas as palavras-chaves em inglês: “essential oil”, “repellent”, “microemulsions”, “nanosystem” e “microencapsulation”.

Manuais de aromaterapia também foram utilizados como base de pesquisa (BAUDOUX, 2019; WOLFFENBUTTEL, 2019) com o propósito de determinar proporções iniciais seguras das MEs para o uso tópico, devido aos limites de concentração de OEs estabelecidos que podem causar irritação na pele.

#### **2.1.2 Titulação para escolha da proporção das microemulsões**

Este trabalho se desenvolveu a partir de um projeto de pesquisa de iniciação científica (Prociência/Pibic) aprovado pelo Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia (IFRJ) intitulado “Desenvolvimento e caracterização de micro- e nanoemulsões em sistemas pseudoternários de óleos essenciais com potencial atividade repelente”, e faz parte de alguns dos projetos do grupo de pesquisa composto pelas professoras Alessandra Licursi e Rosana Candida, e pelos alunos de iniciação científica: Alice Cabral, Matheus Delduque, Mariana Reis e Raphael Pais.

Para o desenvolvimento dos experimentos foram utilizados: Vórtex, pipetas Pasteur, óleos essenciais, béquer, surfactante, água ultrapura, balança portátil e frascos com tampa de rosca para armazenamento das amostras, e para a limpeza dos frascos, o álcool isopropílico (Figura 5). Ressalta-se que os experimentos desse trabalho ocorreram durante a pandemia de Coronavírus

(COVID-19), e foram seguidos todos os protocolos de biossegurança estabelecidas pela instituição

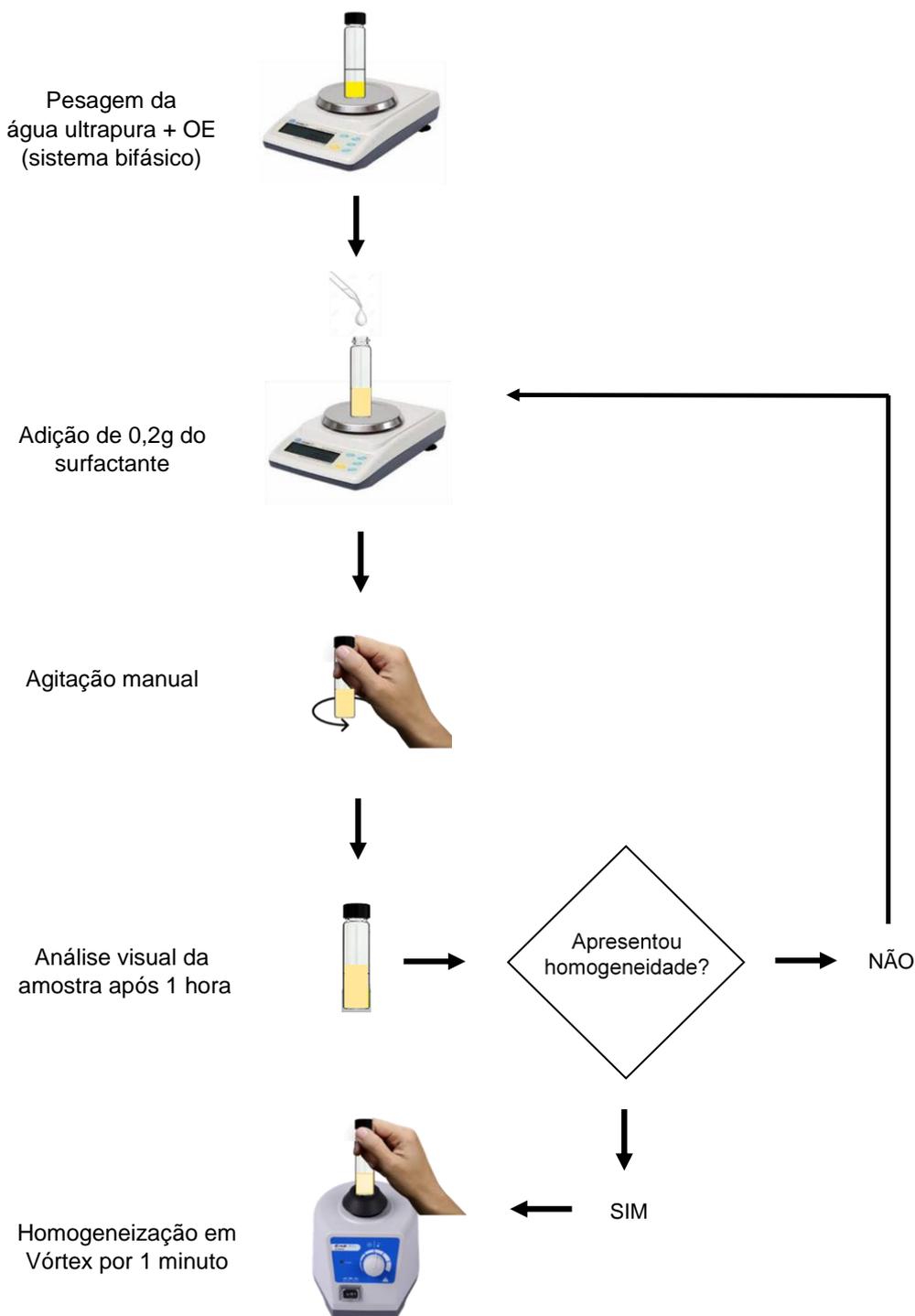
Figura 5: Materiais utilizados para realização das microemulsões adaptados para o rodízio de laboratórios durante a pandemia de COVID-19: Vórtex, pipetas Pasteur, óleos essenciais, béquer, surfactante, água ultrapura, álcool isopropílico, balança portátil e frascos.



Fonte: Próprio autor.

As regiões de formação das MEs foram obtidas por meio de titulação (Figura 6). O presente trabalho contou com o auxílio dos demais alunos de iniciação científica acima descritos, para os estudos de verificação da reprodutibilidade, com o parâmetro variante, o analista. Inicialmente, foram pré-estabelecidas duas proporções 10:1 (água:óleo) m/m, onde foram pesados 1g de água ultrapura e 0,1g de óleo essencial, e 20:1 (água:óleo) m/m, com 2g de água ultrapura e 0,1g de óleo essencial, apresentando uma faixa segura, visando não causar irritabilidade na pele (BAUDOUX, 2019; WOLFFENBUTTEL, 2019). Cada análise foi realizada em duplicata por dois analistas, fornecendo ao todo, quatro resultados para cada proporção. Após a percepção visual da formação das MEs, os frascos foram vedados com papel parafilm de modo a impedir a perda por volatilização, e envolvidas com papel alumínio, para proteger da luz.

Figura 6: Fluxograma do procedimento de titulação de preparo das microemulsões.



Fonte: Próprio autor.

### 2.1.3 Confeção dos diagramas ternários

Os dados obtidos nas titulações de cada dupla de analistas foram organizados em planilhas no Excel (Figura 7), dado que, é um programa recorrente para elaboração de planilhas e de fácil manuseio dos dados. Os

valores obtidos foram repassados em sua respectiva coluna, e a coluna nomeada “sistema” dispõe de três opções de preenchimento: bifásico, turvo e bicontínuo. A avaliação das fases deve ser feita no momento da titulação, para a melhor exatidão das regiões de formação das MEs. A planilha contém duas abas, nomeadas em “dados em massa”, indicada na Figura 7 (A) onde a massa total é obtida através das somas das colunas A, B e C, e na segunda aba, Figura 7 (B), os dados são apresentados automaticamente em porcentagem através de fórmulas.

Figura 7: (A) aba 1 da planilha montada em Excel a partir dos dados obtidos nas titulações dos óleos essenciais para avaliação das regiões de formação das microemulsões. (B) aba 2 para converter os dados obtidos em massa para os valores em porcentagem.

(A)

	A	B	C	D	E	F
1	Óleo	Surfactante	Água	Sistema		Massa Total
2						0,00
3						0,00
4						0,00
5						0,00
6						0,00
7						0,00
8						0,00
9						0,00

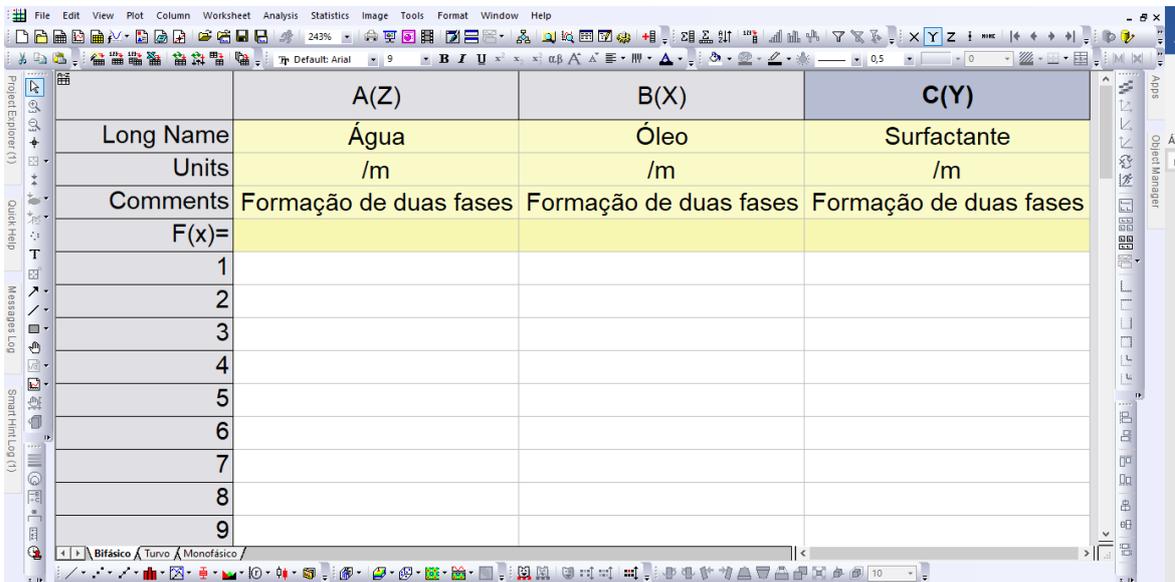
(B)

	A	B	C	D	E	F
1	Óleo	Surfactante	Água	Sistema		
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

Fonte: Próprio autor.

Para a confecção dos diagramas e posterior análise das regiões de formação das MEs, as planilhas citadas anteriormente foram transferidas para o Software OriginPro 2018, e otimizadas de acordo com os parâmetros para a construção do diagrama de fase pelo software (Figura 8).

Figura 8: Dados das microemulsões de óleos essenciais exportados do Excel, para o preparo do diagrama de fases ternário após as titulações, no Software OriginPro 2018



	A(Z)	B(X)	C(Y)
Long Name	Água	Óleo	Surfactante
Units	/m	/m	/m
Comments	Formação de duas fases	Formação de duas fases	Formação de duas fases
F(x)=			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			

Fonte: Próprio autor.

As colunas A(Z), B(X) e C (Y), foram preenchidas com os dados da planilha e, as fases das MEs: solução bifásica, turva e monofásica, foram separadas por abas, para melhor organização das amostras. Após completar todas as abas, os diagramas de fase ternários foram gerados para cada OE.

#### 2.1.4 Teste de reprodução

Os testes de reprodução são importantes para avaliar se as proporções estudadas são suscetíveis para a produção em larga escala e comercialização sem perder sua estabilidade e propriedades. Este teste foi realizado após o conhecimento das regiões de formação das MEs, conforme descrito no item 4.2.

As proporções encontradas (item 2.1.2) foram repetidas em novas amostras por etapa única, sem a execução da titulação. Após a formação da ME, os frascos foram agitados em Vórtex por um minuto. As amostras foram vedadas com papel parafilme para impedir perda por volatilização, e envolvidas com papel alumínio para proteger da luz.

#### 2.1.5 Avaliação da estabilidade

A avaliação das amostras realizadas nesse estudo ocorreu em três etapas: (i) testes de durabilidade, armazenando e observando as amostras em

temperatura ambiente, ao abrigo da luz e umidade; (ii) estresse térmico, por meio da verificação da estabilidade em baixa e altas temperaturas, e (iii) centrifugação.

#### 2.1.5.1 Teste de durabilidade

Após as titulações, as amostras foram vedadas e envolvidas em papel alumínio, para impedir a volatilização e a exposição à luz, e foram abrigadas em um local livre de umidade e sem exposição solar, sendo examinados quanto a sua característica visual (sistema homogêneo, turvo ou bifásico) uma vez por semana por um período de quatro meses.

#### 2.1.5.2 Testes de estresse térmico

As amostras foram avaliadas em diferentes temperaturas: baixa e alta. As amostras designadas à avaliação em baixa temperatura foram armazenadas sob refrigeração (aproximadamente 7°C), e ao abrigo da luz, por uma semana, posteriormente foram retiradas para o degelo e analisadas quanto o aspecto visual e estabilidade do sistema. Já as amostras designadas à avaliação em altas temperaturas, foram submetidas à um banho maria, ao mesmo tempo, onde a temperatura aumentava gradualmente, durante 20 minutos, variando de 40°C até 80°C, e analisadas quanto o aspecto visual e estabilidade do sistema após o resfriamento.

#### 2.1.5.3 Centrifugação

Para avaliar a ação de forças físicas e resistência a sedimentação, as amostras foram centrifugadas (Quimis®) por 10 minutos em 2000 rotações por minuto (rpm). Posteriormente, as amostras foram avaliadas quanto à separação de fases, presença de turbidez, sedimentação e mudança na coloração.

## 2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.2.1 Escolha dos óleos essenciais e surfactante.

Inicialmente, de acordo com as propriedades repelentes, foram pré-escolhidos quatro óleos essenciais: eucalipto, citronela, litsea e capim-limão. Após o aprofundamento teórico, associando custo e disponibilidade, entre outros fatores, foram escolhidos os óleos de *Litsea cubeba* (litsea) e *Cymbopogon*

*nardus* (citronela) como pontos de partida para estudo. Ambos OEs foram adquiridos no comércio local.

#### 2.2.1.1 Óleo essencial de *Litsea cubeba*

*Litsea* é um arbusto que tem como origem a china e outros países do sudeste asiático (Figura 9), possui diversos componentes que proporcionam atividade antifúngica, antibacterianos, anti-inflamatório, repelente e analgésicos, além do seu uso na área de cosméticos (ZHOU *et al.*, 2020). Dentro dos diversos componentes presentes na estrutura dessa planta, o 3,7-dimetil-2,6-octanodienal é o que mais se destaca no combate à mosquitos e ácaros, sendo um dos principais responsáveis pelo seu papel como repelente (PARK; LEE; CHUNG, 2021). O óleo essencial de *Litsea cubeba* – *Litsea* (OEL) é obtido através das folhas e frutos, extraídas da planta (PANTE *et al.*, 2021).

Figura 9: Folhas e frutos da espécie *Litsea Cubeba*, parte extraída para a formulação de óleos essenciais.



Fonte: PAN, 2007.

#### 2.2.1.2 Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*

A citronela é um capim perene, o que significa que possui um longo ciclo de vida, cresce em regiões tropicais e subtropicais, e são de origem da Ásia, mas também são comumente encontradas na África e América (Figura 10). De todas

as suas propriedades, a mais reconhecida popularmente é a atividade repelente, em sua estrutura, os ativos responsáveis por essa propriedade são o citronelal, citronelol e geraniol (ARPIWI; MUKSIN; KARTINI, 2020). O óleo essencial de *Cymbopogon nardus* - Citronela (OEC) é extraído a partir das folhas da planta (TOLEDO et al., 2020).

Figura 10: Folhas da espécie *Cymbopogon nardus* (citronela)



Fonte: MOKKIE, 2014.

#### 2.2.1.3 Surfactante ou Tensoativo

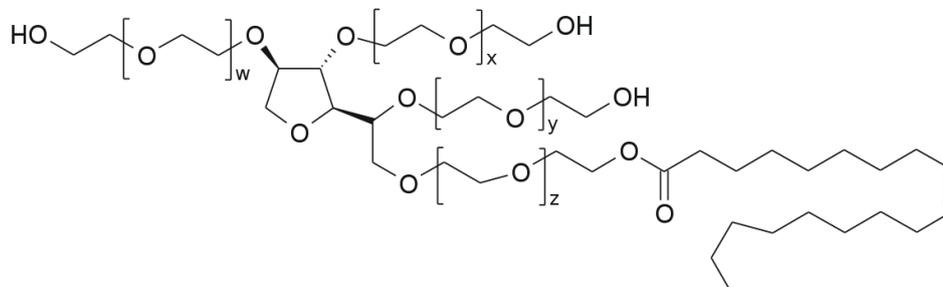
Para a escolha do surfactante, parâmetros como biocompatibilidade, toxicidade, irritabilidade, afinidade com o meio de aplicação, foram avaliados. Também foi analisado, por meio do levantamento bibliográfico, os surfactantes usados de forma recorrente em MEs similares às do presente trabalho.

Os surfactantes são moléculas que possuem em sua estrutura uma parte apolar que geralmente tem origem em uma cadeia carbônica cíclica, linear ou ramificada; e uma parte polar, que é formada por alguns átomos com polo negativo ou positivo. A presença de carga na molécula possibilita sua solubilidade, devido a atração eletrostática das cargas pelas moléculas de água (DALTIM, 2011).

Essas moléculas podem ser classificadas em aniônicos, catiônicos, não iônicos e anfóteros. Os surfactantes aniônicos, apresentam a parte hidrofílica carregada negativamente, são amplamente utilizados em xampus, sabonetes e em formulações cosméticas no geral, porém possuem a ação desengordurante muito forte, sendo ideal sua associação com outra classe. Os surfactantes catiônicos por sua vez possuem carga positiva, e podem ser mais tóxicos que o aniônico, tornando-o menos usual em formulações (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013). Os surfactantes não iônicos não apresentam tendência a ionização e são usualmente utilizadas em formulações, por não interagirem com a “água dura”, que é rica em sais de cálcio e magnésio e outros minerais, diminuindo o poder espumógeno da formulação. Por último, os surfactantes anfóteros são os menos utilizados pois desempenham funções secundárias e possuem alto custo (GASPERI, 2015)

O surfactante escolhido para a realização das MEs desse estudo foi monooleato de polioxietileno sorbitano, também conhecido como polissorbato 80 ou Tween 80® (Figura 11). Os polissorbatos são utilizados de forma recorrente em formulações cosméticas, orais e em produtos alimentícios (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Atuam como surfactantes hidrofílicos e não iônicos, podendo ser empregado em diferentes preparações e não possuem relatos significativos de efeitos adversos, sendo considerados seguros para o uso humano (MEDICINES AGENCY, 2018).

Figura 11: Estrutura molecular Tween 80® (monooleato de polioxietileno sorbitano), usado como surfactante nas microemulsões. As marcações w, x, y e z mostram os grupos de oxietileno presentes na molécula.



Fonte: MASTER UEGLY, 2010.

Para fundamentar a escolha do Tween 80®, foi realizado uma busca por estudos comparativos entre surfactantes. Song em 2021, analisou o desempenho de diferentes surfactantes em MEs, no entanto o Tween 80® foi o que obteve melhor resultado solubilizando óleos essenciais, além de ser usado de forma recorrente em estudos de micro- e nanoemulsões, corroborando a escolha desse surfactante para o presente trabalho.

Em um primeiro momento, também se considerou a possibilidade do uso combinado com co-surfactante (como propilenoglicol). No entanto, após testes iniciais, as MEs alcançaram estabilidade e foram reprodutíveis somente com o Tween 80®, e por este motivo os ensaios utilizando co-surfactante não foram adiante.

### 2.2.2 Região de formação das microemulsões

Para conhecer as regiões de formação das MEs foram realizadas titulações do surfactante (Tween 80®) nas proporções 10:1 e 20:1 m/m (água:óleo) para os OEs de litsea e citronela, a formação das MEs é demarcada pela mudança de sistema durante o processo de titulação, passando de turvo para homogêneo. As amostras de cada proporção foram realizadas em duplicatas por dois analistas, com o objetivo de verificar a reprodutibilidade dos resultados, avaliando a influência das regiões de formação das MEs quando realizadas com diferentes analistas. Após a tabulação das proporções obtidas, o desvio padrão amostral foi calculado, a partir da equação 1, a fim de medir o grau de dispersão entre os analistas e as amostras realizadas. Os valores do desvio padrão são necessários para avaliar a precisão dos resultados obtidos em cada análise, quando mais próximo de zero, significa que os valores obtidos estão próximos ao valor médio das amostras (SKOOG, 2006).

$$(1) \quad S_x = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Com esse estudo, obteve-se quatro resultados para cada proporção, as amostras foram nomeadas 10:1\_1 e 20:1\_1 e suas duplicatas foram nomeadas 10:1\_2 e 20:1\_2. Dois analistas realizaram as titulações para o mesmo óleo,

totalizando 8 amostras para cada óleo, sendo as análises realizadas com quatro réplicas para cada proporção. Na Tabela 2 e na Tabela 3 estão descritas, respectivamente, as proporções aproximadas obtidas nas titulações realizadas por cada analista para o OEL e OEC, e os respectivos valores dos desvios padrão. Devido à pandemia de COVID-19 não foi possível a realização de mais réplicas para ambos os óleos, e por este motivo não foi possível fazer uma avaliação estatística mais criteriosa da média e da variabilidade entre os analistas, por meio dos testes t e F.

Tabela 2: Proporções aproximadas das microemulsões do óleo essencial de litsea, obtidas pela titulação de Tween 80® nas proporções 10:1 e 20:1 (água:óleo) m/m, suas duplicatas e o desvio padrão\*, realizadas por dois analistas.

m/m	Analista 1	Analista 2	Desvio padrão
10:1_1	10:1:20	10:1:20	0,3
10:1_2	10:1:20	10:1:20	
20:1_1	20:1:21	20:1:22	0,9
20:1_2	20:1:23	20:1:24	

\* Desvio padrão calculado considerando todas as casas decimais fornecidas pelo equipamento utilizado na pesagem,

Fonte: Próprio autor.

Tabela 3: Proporções aproximadas das microemulsões do óleo essencial de citronela, obtidas pela titulação de Tween 80® nas proporções 10:1 e 20:1 (água:óleo) m/m, suas duplicatas e o desvio padrão\*, realizadas por dois analistas.

m/m	Analista 1	Analista 2	Desvio padrão
10:1_1	10:1:22	10:1:23	1,2
10:1_2	10:1:21	10:1:24	
20:1_1	20:1:17	20:1:18	0,7
20:1_2	20:1:18	20:1:17	

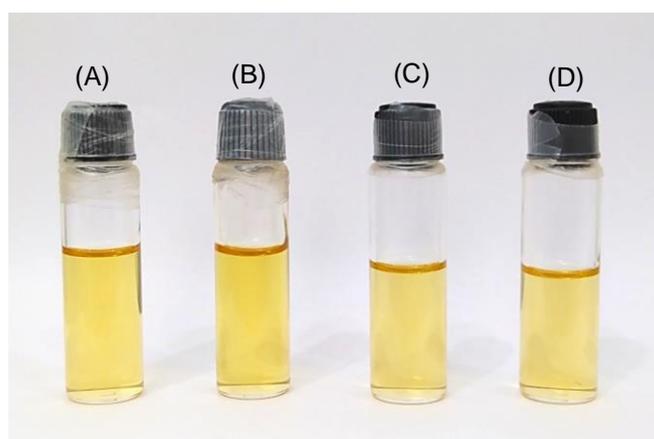
\* Desvio padrão calculado considerando todas as casas decimais fornecidas pelo equipamento utilizado na pesagem.

Fonte: Próprio autor.

Uma característica visual que difere as MEs das emulsões, é a ausência de turbidez, por possuírem partículas de tamanho consideravelmente pequeno, e serem opticamente transparentes (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Essa característica é essencial para as titulações de obtenção das regiões de formação das MEs,

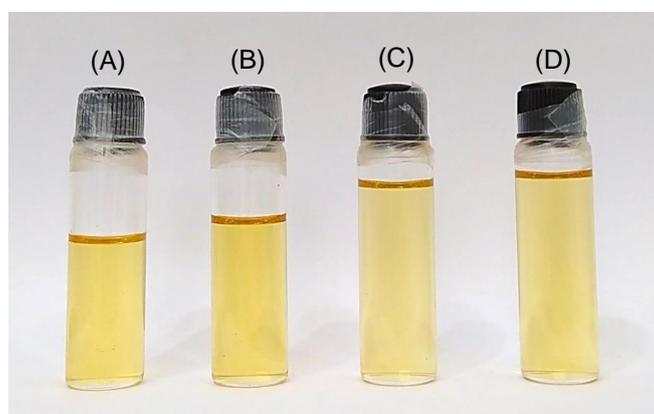
uma vez que foi adicionado tensoativo até o sistema passar de turvo para homogêneo, e pode ser observada nas amostras realizadas para os OEL, Figura 12, e para o OEC, na Figura 13. Inicialmente não era conhecido a massa de surfactante suficiente para a produção das MEs desse estudo, portanto, visando não extravasar o volume dos frascos, as primeiras amostras das proporções 20:1 m/m (A:O) foram realizadas com a massa reduzida, sendo 1g de água e 0,05g de OE, por esse motivo os frascos equivalentes às proporções 20:1, (C) e (D), na Figura 12, apresentar menor volume em comparação com a proporção 10:1, (A) e (D).

Figura 12: Microemulsões de óleo essencial de litsea (OEL) após a última titulação nas proporções: (A) 10:1 m/m (água:óleo) e (B) duplicata 10:1 m/m (água:óleo); (C) 20:1 m/m(água:óleo) e (D) duplicata 20:1 m/m (água:óleo).



Fonte: Próprio autor.

Figura 13: Microemulsões de óleo essencial de citronela (OEC) após a última titulação nas proporções: (A) 10:1 m/m (água:óleo) e (B) duplicata 10:1 m/m (água:óleo); (C) 20:1 m/m(água:óleo) e (D) duplicata 20:1 m/m (água:óleo).

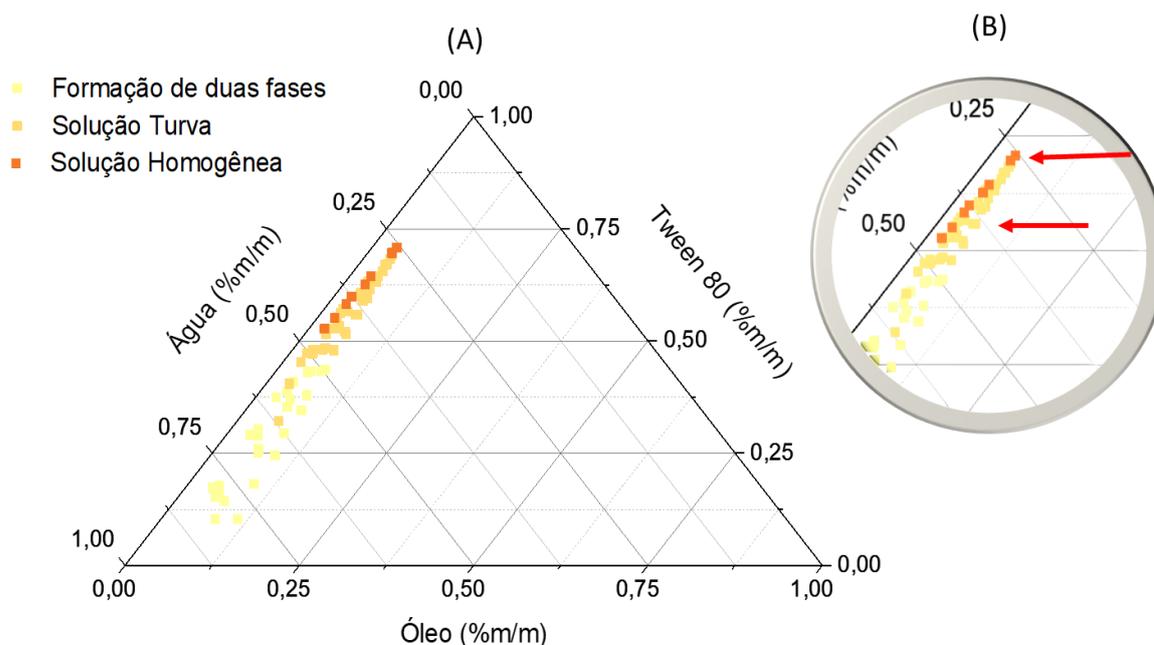


Fonte: Próprio autor.

### 2.2.3 Diagramas de fase ternários

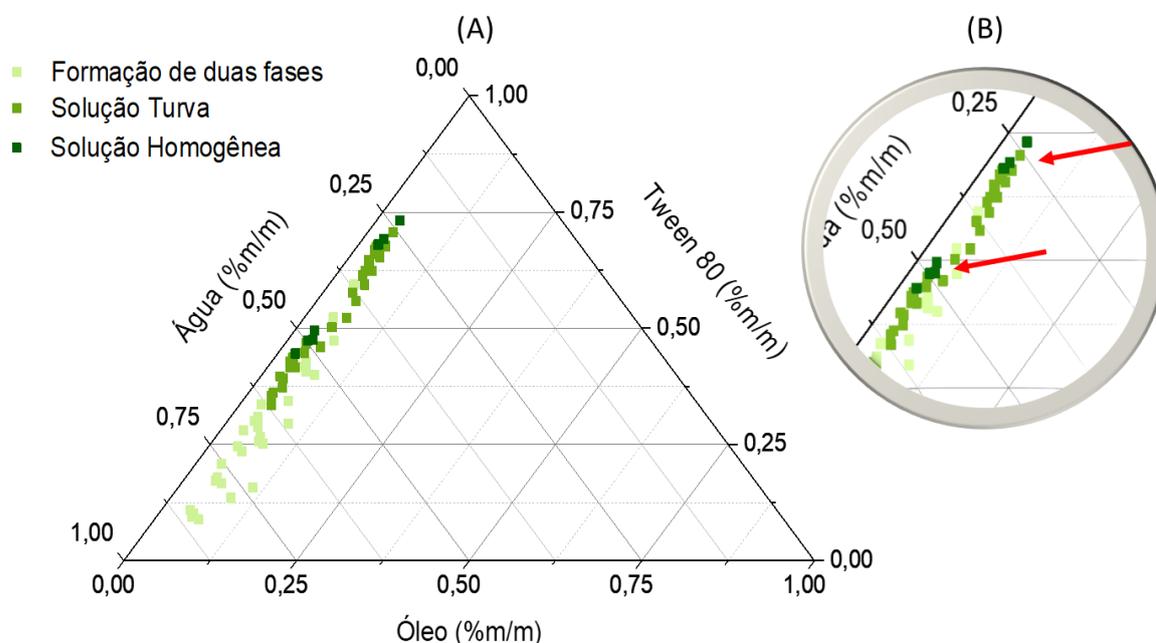
A construção dos diagramas de fase é uma ferramenta teórica para propor as regiões de formação das MEs, pois por meio dele é possível avaliar todas as regiões geradas, identificar a melhor combinação de componentes, e a quantidade prevalente no sistema mais estável das MEs. Para a elaboração desses diagramas, foi utilizado os dados de todas as titulações, que foram previamente tabulados em Excel. Nos diagramas, as mudanças de fase conseguintes da adição progressiva do surfactante Tween 80® são demarcadas pela mudança da coloração dos pontos presentes no diagrama. Assim como, os pontos se concentram mais a esquerda do diagrama, pois foi escolhido uma proporção onde a concentração de óleo é baixa, visto que se pretende ter um produto com capacidade de aplicação tópica, sem causar irritabilidade. Na Figuras 14 e na Figura 15 estão os diagramas de fase ternários das MEs dos óleos de litsea e citronela, respectivamente.

Figura 14: (A) Diagrama de fase ternário do óleo essencial de Litsea cubeba (litsea), indicando as regiões de formação das microemulsões. As mudanças de fases apresentadas durante o processo foram classificadas por cores: sendo bifásico (formação de duas fases) o amarelo mais claro, turvo laranja e solução homogênea em laranja mais escuro. (B) representa o diagrama ampliado para melhorar visualização das regiões



Fonte: Próprio autor.

Figura 15: (A) Diagrama de fase ternário do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (citronela), indicando as regiões de formação das microemulsões. As mudanças de fases apresentadas durante o processo foram classificadas por cores: sendo bifásico (formação de duas fases) o verde mais claro, turvo em verde intermediário e solução homogênea em verde escuro. (B) representa o diagrama ampliado para melhor visualização das regiões.



Fonte: Próprio autor.

Nas áreas indicadas pelas setas vermelhas na Figura 14(B) e na Figura 15(B), é possível observar a melhor região para formação das MEs de cada OE. A diferença nos padrões visuais na formação de cada região nos diagramas, é perceptível pois os OEs possuem diferentes componentes. Na Tabela 4 são apresentados alguns dos componentes químicos mais recorrentes na composição dos OEs de litsea e citronela, obtidos pela análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) de amostras extraídas diretamente da planta (PARK; LEE; CHUNG, 2021; SCHERER *et al.*, 2009). Vale ressaltar que alguns OE podem possuir aproximadamente 100 substâncias químicas em sua composição, e as proporções de cada uma dessas substâncias, bem como sua recorrência, pode variar de acordo com o método de extração, parte da planta ou marca comercial adquirida (ZHOU *et al.*, 2020).

Tabela 4: Componentes químicos presentes nas folhas e frutos de *Litsea cubeba* e nas folhas de *Cymbopogon nardus* em ordem decrescente (%) quanto a sua majoritariedade nas espécies, analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

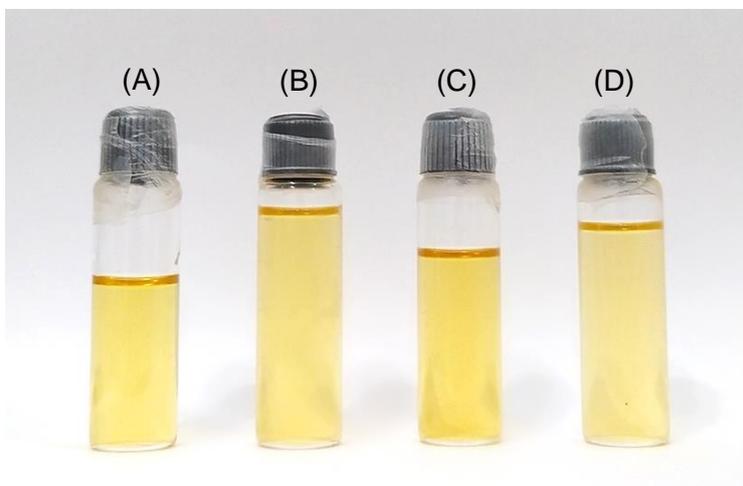
Componentes químicos (%) extraídos das plantas e analisados por CG-EM			
<i>Litsea cubeba</i>	%	<i>Cymbopogon nardus</i>	%
3,7-Dimethyl-2,6-octadienal	75,88	B- Citronelal	45,00
Limoneno	10,44	Geraniol	20,71
Eucalipitol	3,70	$\beta$ -Citronelol	14,49
$\alpha$ -Pinene	1,55	Limoneno	3,37
$\beta$ -Pineno	1,02	$\beta$ -Elemeno	1,50
Sulcatona	0,93	Acetato citronelila	1,46
Geraniol	0,76	Acetato de geranila	1,40
Sabineno	0,72	$\Delta$ - Cardineno	1,27
$\alpha$ -Terpineol	0,69	Elemol	1,24
Piperitone	0,45	Geranial	0,67
Canfeno	0,40	Germaceno D	0,57
Oxido de beta carofileno	0,40	$\gamma$ - Cardineno	0,46
4- isopropilciclohexaol	0,27	$\alpha$ - Muroleno	0,38

Fonte: PARK; LEE; CHUNG, 2021; SCHERER *et al.*, 2009.

#### 2.2.4 Teste de reprodução

Para atestar a reprodução das condições encontradas após a titulação, as mesmas proporções foram realizadas em novas amostras visando uma posterior produção em larga escala. Na execução dessas amostras, as proporções escolhidas foram baseadas nos resultados obtidos anteriormente pelos analistas. Para o OEL, as amostras possuem as proporções 10:1:20 e 20:1:22 m/m água:óleo:surfactante (A:O:S), que foram proporções realizadas nas titulações e que apresentaram formação de uma MEs homogêneas e estáveis. Para o OEC, as amostras de reprodutibilidade foram realizadas com as proporções 10:1:24 e 20:1:17 m/m (A:O:S), que são as composições que tiveram êxito na formação das MEs na fase da titulação. Todas as amostras (Figura 16) foram reprodutíveis e apresentaram estabilidade por no mínimo 4 meses em temperatura ambiente.

Figura 16: Amostras do ensaio de reprodutibilidade onde (A) Microemulsão com óleo essencial de litsea na proporção 10:1:20 m/m (A:O:S); (B) Microemulsão com óleo essencial de litsea na proporção 20:1:22 m/m (A:O:S); (C) Microemulsões com óleo essencial de citronela na proporção 10:1:24 m/m (A:O:S) e (D) ) Microemulsões com óleo essencial de citronela na proporção 20:1:17 m/m (A:O:S).



Fonte: Próprio autor.

### 2.2.5 Avaliação da estabilidade

Os testes realizados da estabilidade das amostras realizadas é extrema importância para observar a capacidade das MEs serem reproduzidas em possíveis aplicações futuras. Os estudos relacionados à influência da temperatura nas amostras, se mostrou muito necessário para as análises das MEs. De acordo com (JOURNAN *et al.*, 1993), conforme citado por (ZHU *et al.*, 2020), o uso de surfactantes não iônicos, como o Tween 80®, em sistemas microemulsionados, tendem deixar a MEs mais sensíveis à temperatura, sendo necessário para o estudo presente a avaliação do comportamento das amostras, mesmo que esses efeitos sejam considerados muito complexos, comparados à estabilidade das MEs.

As análises realizadas apresentaram resultados satisfatórios frente a forças físicas, mudança de temperatura e estabilidade da formulação à longo prazo, todas as amostras produzidas não apresentaram turbidez ou mudanças de fase. No Quadro 1 estão descritos resumidamente as metodologias utilizadas para cada teste e os resultados alcançados pelas amostras.

Quadro 1: Metodologia realizada e resultados obtidos nos testes de estabilidade das microemulsões do óleo essencial de *Litsea cubeba* e *Cymbopogon nardus*

<b>Durabilidade</b>	<b>Estresse térmico</b>	<b>Centrifugação</b>
As microemulsões foram armazenadas ao abrigo da luz e umidade por um longo prazo	As microemulsões foram refrigeradas (7°C) e posteriormente retirados para o degelo; Submetidas ao banho-maria com aumento gradual da temperatura de 40 até 80°C.	As microemulsões foram centrifugadas por 10 minutos em 2000 rpm.
Resultado obtido: as amostras não apresentaram separação de fases ou turbidez por 4 meses	Resultado obtido: as amostras não apresentaram separação de fases ou turbidez.	Resultado obtido: as amostras não apresentaram separação de fases ou turbidez

Fonte: Próprio autor.

#### 2.2.5.1 Testes de durabilidade

As amostras dos óleos de litsea e citronela foram preparadas no decorrer do ano 2021. Após sua produção, foram armazenadas em temperatura ambiente ao abrigo de luz e umidade por 4 meses. A avaliação da durabilidade das amostras à longo prazo se mostrou importante para observar o comportamento das MEs, ou seja, se ocorreu a alteração do sistema homogêneo em bifásico ou turvo, após a sua produção.

#### 2.2.5.2 Testes de estresse térmico

Visando avaliar a estabilidade das MEs diante de mudanças bruscas de temperatura e/ou ambiente, as amostras foram monitoradas em condições de exposição em diferentes temperaturas. As MEs que foram submetidas a refrigeração (7°C) e as designadas ao banho-maria, com aumento gradual da temperatura, a partir de 40°C até 80°C, por 20 minutos, foram observadas logo após a realização dos testes e permaneceram visualmente estáveis, não havendo separação de fases, turbidez ou sedimentação.

#### 2.2.5.3 Testes de centrifugação

As MEs são consideradas mais estáveis que as emulsões, pois possuem uma maior resistência à sedimentação, influenciando diretamente em sua

estabilidade. Comparativamente, quando estão sob ação da gravidade ou de força centrífuga, as emulsões se rompem, enquanto as MEs permanecem estáveis (ROSSI et al., 2007). Para avaliar a relação desses sistemas microemulsionados com forças físicas, as amostras de todas as proporções estudadas nesse trabalho foram centrifugadas, sendo os resultados satisfatórios.

### 3 CONCLUSÃO

Em virtude dos resultados obtidos, foi possível concluir que o Tween 80® atuou de forma eficiente como surfactante sem a necessidade do uso de um co-surfactante, para realização da MEs.

A técnica empregada para a construção dos diagramas de fase ternários, usados para propor as regiões de formação das MEs, se mostrou simples e reprodutível, sendo possível avaliar com clareza as regiões do diagrama.

A troca de analistas corroborou com a análise dos resultados obtidos nas titulações, e as MEs de ambos os óleos, litsea e citronela, geraram a mesma região de formação, mesmo sendo realizada por analistas diferentes, sendo estes a única variante.

Os testes de reprodução e de durabilidade mostraram que as proporções alcançadas nas titulações, podem ser comercializadas e usadas em produções em larga escala, já que todas as amostras realizadas se mostraram estáveis por um período de 4 meses.

Após a observação das amostras nos testes de estresse térmico, em baixa (7°C) e altas (de 40°C até 80°C) temperaturas, e centrifugação, não foram observadas turbidez, precipitação, separação de fases, sedimentação ou mudança na coloração da amostra, demonstrando estabilidade preliminar das formulações frente à força física e alterações bruscas de temperatura.

O uso de sistemas microemulsionados se mostrou promissor para formulações com óleos essenciais de *Litsea cubeba* de *Cymbopogon nardus*, visto que as amostras obtidas nesse estudo apresentaram boa solubilidade e estabilidade, sendo favorável para futuras formulações para uso tópico com potencial atividade repelente.

#### **4 PESPECTIVAS**

Devido a pandemia de COVID-19, a etapa de caracterização das MEs prevista para esse trabalho não pôde ser realizada. Contudo, pretende-se, quando possível, retornar de forma segura para o laboratório e realizar as análises. A caracterização das MEs pode ser realizada por meio de espalhamento de luz dinâmico, testes de condutividade, potencial zeta, microscopia ótica, entre outros métodos.

Pretende-se realizar testes de pH nas microemulsões obtidas nesse estudo, já que, uma formulação para uso tópico deve ter como pH ideal, um valor próximo ao pH da pele, evitando assim irritação, queimadura, proliferação de bactérias. Adicionalmente, auxiliará na conservação da formulação, assegurando a eficácia dos componentes presentes na mesma (GASPERI, 2015). Mesmo que as MEs desse estudo tenham proporção segura para uso tópico, pretende-se também, realizar testes de simulação para aplicação tópica de modo a avaliar a toxicidade, e testes reológicos.

## 5 PRODUÇÃO ACADÊMICA

Este trabalho de conclusão de curso faz parte de um projeto aprovado institucionalmente denominado “Desenvolvimento e caracterização de micro- e nanoemulsões em sistemas pseudoternários de óleos essenciais com potencial atividade repelente” sob a coordenação das professoras Rosana Candida e Alessandra Licursi, e essa linha de pesquisa permitiu a participação e apresentação de trabalhos científicos, em eventos como:

- 60º Congresso Brasileiro de Química, 2021 – *online*.  
Apresentação oral: *“Avaliação das regiões de formação de microemulsões de óleos essenciais com potencial atividade repelente”*.
- XIV Jornada Interna de Iniciação Científica e Tecnológica, 2020 – *online*.  
Apresentação do trabalho intitulado *“Formação de microemulsões sem detergente em sistemas pseudoternários como ferramenta analítica para análise de óleos essenciais cítricos”*
- XV Jornada Interna de Iniciação Científica e Tecnológica, 2021 – *online*.  
Apresentação do trabalho intitulado *“Desenvolvimento e caracterização de microemulsões de óleos essenciais com potencial atividade repelente”*
- XV Jornada Interna de Iniciação Científica e Tecnológica, 2021 – *online*.  
Apresentação do trabalho intitulado *“Avaliação da viabilidade da análise de óleos essenciais cítricos em microemulsão sem detergente por cromatografia líquida com detecção fluorimétrica*

## REFERÊNCIAS

ALLEN, L. V. J.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

ANDREI, P.; PERES, A.; COMUNE, D. Aromatherapy and its applications. **Centro Universitário São Camilo**. v.11, n.4, p. 57-68, 2006.

ARPIWI, N. L.; MUKSIN, I. K.; KARTINI, N. L. Essential oil from *Cymbopogon nardus* and repellent activity against *Aedes aegypti*. **Biodiversitas**. v. 21, n. 8, p. 3873–3878, 2020.

AVELINO-SILVA, V. I.; RAMOS, J. F. Arboviroses e políticas públicas no Brasil / Arboviruses and public policies in Brazil. **Revista Ciências em Saúde**. v.7, n.3, p.1–2, 2017.

AZEEM, M. *et al.* Chemical composition and repellent activity of native plants essential oils against dengue mosquito, *Aedes aegypti*. **Industrial Crops & Products**. v.140, p.111609, 2019.

BAUDOUX, D. **O grande manual da aromaterapia**. 1<sup>o</sup> edição. Belo Horizonte: Laszlo, 1 de jan de 2019.

BAPTISTA-SILVA, S.; BORGES, S.; RAMOS, O. L. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review. **Journal of Essential Oil Research**. v. 32, n. 4, p. 279–295, 2020.

BENELLI, G. *et al.* Acute larvicidal toxicity of five essential oils (*Pinus nigra*, *Hyssopus officinalis*, *Satureja montana*, *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens*) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus*: Synergistic. **Parasitol**. v.66, n.1, p.166-171, 2017.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Brazilian essential oils: general view, developments, and perspectives. **Química Nova**. v.32, n.2, p.588-594, 2009.

BRASIL. Ministério de Saúde. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviruses urbanas causadas por virus transmitidos pelo mosquito Aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemioológicas 1 a 47, 2021. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletimsepidemiologicos/edicoes/2021/boletim\\_epidemiologico\\_svs\\_44-2.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletimsepidemiologicos/edicoes/2021/boletim_epidemiologico_svs_44-2.pdf). Acesso em: 17 de fev. 2022.

CAMPOS, J. M. *et al.* Arboviroses de importância epidemiológica no Brasil. **Revista de Ciências da Saúde Básica e Aplicada**. v,1. n. 1, p. 36-48, 2018.

CHAUHAN, I.; THAKUR, P. SHARMA, S. Microemulsions: New vista in novel drug delivery system. **Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy**. v.7, n.2, p.37-44, 2019.

CHELLAPPANDIAN, M.; VASANTHA-SRINIVASAN, P.; SENTHIL-NATHAN, S. Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue. **Environment International**, v. 113, n. October 2017, p. 214–230, 2018.

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

DÁVILA-RODRÍGUEZ, M. *et al.* Essential oils microemulsions prepared with high-frequency ultrasound: physical properties and antimicrobial activity. **Journal of Food Science and Technology**. V, 57, n.11, p. 4133–4142. 2020.

DA SILVA, A. J. *et al.* Uso de diagramas de fase pseudoternários como ferramenta de obtenção de nanoemulsões transdérmicas. **Revista Brasileira de Farmácia**. v, 90, n.1, p.245-249. 2009.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes Aegypti* L. (Diptera: Culicidae) Larvicides: Review. **Parasitology Research**. v.113, n.2, p.565-592, 2014.

FIGUEIREDO, L. T. M. The Brazilian flaviviruses. **Microbes and Infection**. v. 2, n. 13, p. 1643-1649, 2000.

FORMARIZ, T. *et al.* Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v, 41, n. 3. 2005.

GASPERI, E. N. **Cosmetologia I**. Indaial: Uniasselvi, 2015.

GVR-3-68038-442-0. Citrus Oil Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Orange Oil, Lemon Oil), By Application (Personal Care, Food & Beverages, Aromatherapy), By Region, And Segment Forecasts, 2019 – 2025. **Market analysis report**, 2019.

GUIMARÃES, L. L. *et al.* Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*cymbopogon citratus* (d.c.) stapf). **Quimica Nova**. v. 31, n.6. 2008

GUIMARÃES, G. P. **Desenvolvimento e caracterização de microemulsão antifúngica contendo derivado do tiofeno**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, 2013. Disponível em: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/tede/1895/1/PDF%20%20Geovani%20%20Pereira%20Guimaraes%20Parte%20%201.pdf>

ISO 9235:2021 - aromatic natural raw materials - Vocabulary. Geneva: **International Organization for Standardization**. v.3, n.8, 2021.

JOUBRAN, R. F.; CORNELL, D. G.; PARRIS, N. **Microemulsions of triglyceride and non-ionic surfactant—Effect of temperature and aqueous phase composition. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects**, v.80 (2–3), p.153–160, 1993.

KALE, S. N; DEORE, S. L. Emulsion, micro emulsion and nano emulsion: A Review. **Systematic Reviews in Pharmacy**. v.8, n.1, p.39-47, 2017.

KHUMPIRAPANG, N. *et al.* Development of microemulsion containing alpinia galanga oil and its major compounds: Enhancement of antimicrobial activities. **Pharmaceutics**. v. 13, n.2, p.1–16. 2021.

LI, Y. *et al.* Enhanced Antioxidant and Antiproliferative Activities of Cymbopogon citratus (DC.) Stapf Essential Oils in Microemulsion. **American Chemical Society Sustainable Chemistry and Engineering**. v.7, n.18, p.15173–15181. 2019.

LV, X.; LIU, T.; MA, H. Preparation of Essential Oil-Based Microemulsions for Improving the Solubility, pH Stability, Photostability, and Skin Permeation of Quercetin. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 18, n. 8, p. 3097–3104, 2017.

MEDICINES AGENCY, E. **Information for the package leaflet regarding polysorbates used as excipients in medicinal products for human use**. 2018. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-information-package-leaflet-regarding-polysorbates-used-excipientsmedicina-l-products-human\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-information-package-leaflet-regarding-polysorbates-used-excipientsmedicina-l-products-human_en.pdf). Acesso em: 01 de fev. 2022

MEHANNA, M. M.; ABLA, K. K.; ELMARADNY, H. A. Tailored limonene-based nanosized microemulsion: Formulation, physicochemical characterization and in vivo skin irritation assessment. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**. v.11, n.2, p. 274–285. 2021.

MOKKIE. Citronella (*Cymbopogon nardus*). 2014. 1 fotografia. 3,920 x 2,204 pixels. Disponível em: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Citronella\\_\(Cymbopogon\\_nardus\)\\_1.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Citronella_(Cymbopogon_nardus)_1.jpg). Acesso em: 01 de fev. 2022.

MOU, L. *et al.* Component analysis and antifungal activity of three Chinese herbal essential oils and their application of postharvest preservation of peach fruit. **Food, Science and Technology**. v.151. 2021

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent Activity of Essential Oils: A Review. **Bioresour Technology**. v.101, n.1, p.372-378, 2010.

NEVES, J. K. O. *et al.* Microemulsions containing Copaifera multijuga Hayne oil-resin: Challenges to achieve an efficient system for  $\beta$ -caryophyllene delivery. **Industrial Crops and Products**. v.111, p.185–192. 2018

NUCHUCHUA, O. *et al.* In vitro characterization and mosquito (*Aedes aegypti*) repellent activity of essential-oils-loaded nanoemulsions. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. v. 10, n. 4, p. 1234–1242, 2009.

OLIVEIRA, A. G. *et al.* Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v. 27, n.1, p.131–138. 2004.

PAN, L. Litsea cubeba flowers. 2007. 1 fotografia. 856 x 1280 pixels. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Litseacubebaflores.jpg>  
Acesso em: 15 de jan. 2022.

PANTE, G. C. *et al.* *Litsea cubeba* essential oil: chemical profile, antioxidant activity, cytotoxicity, effect against *Fusarium verticillioides* and fumonisins production. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**. v. 56(4), p. 387–395, 2021.

PARK, J.-H.; LEE, H.-S.; CHUNG, N. Acaricidal and repellent activities of *Litsea cubeba* (Lour.) oil and 3,7-dimethyl-2,6-octadienal against *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). **Applied Biological Chemistry**, v. 64, n. 1, 2021.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**. v.76, p.174-187, 2015a.

PAVELA, R. Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. **Parasitology Research**. v.114, p.3835-3853, 2015b.

PAVELA, R. *et al.* Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils—Towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 631–640, 2019.

PAVONI, L., PAVELA, R., CESPI, M. Green micro-and nanoemulsions for managing parasites, vectors and pests. **Nanomaterials**, v. 9, n. 9, 2019a.

PAVONI, L. *et al.* Green nanoemulsion interventions for biopesticide formulations. **Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives**. Academic Press: Cambridge. p.133-160, 2019b.

PAVONI, L. *et al.* An Overview of Micro- and Nanoemulsions as Vehicles for Essential Oils: Formulation, Preparation and Stability. **Nanomaterials**. v.10, p.135-159, 2020.

PUMIVAL, P. *et al.* Antifungal Activity and the Chemical and Physical Stability of Microemulsions Containing *Citrus hystrix* DC Leaf Oil. **Natural Product Communications**. v.15, n.9. 2020

RADI, M. *et al.* The use of orange peel essential oil microemulsion and nanoemulsion in pectin-based coating to extend the shelf life of fresh-cut orange. **Journal of Food Processing and Preservation**. v.24, n.2. 2017

REICHLING, J. Plant-microbe interactions and secondary metabolites with antibacterial, antifungal and antiviral properties. **Annual Plant Reviews**. n. 39, p 214-347, 2010.

ROSSI, C. G. F. T. *et al.* Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Revista Universidade Rural Série Ciências Exatas e da Terra**. v,26. n. 1-2, p. 45-66, 2007.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6 ed. Londres: Pharmaceutical Press, 2009.

SANTANA, R. C.; PERRECHIL, F. A.; CUNHA, R. L. High- and low-energy emulsifications for food applications: A focus on process parameters. **Food Engineering Reviews**. v.5, n.2, p.107-122, 2013.

SCHERER, R. *et. al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.11, n.4, p.442-449, 2009

SHI, W.; YAN, R.; HUANG, L. Preparation and insecticidal performance of sustained-release cinnamon essential oil microemulsion. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2021.

SIENIAWSKA, E. *et al.* Microemulsions of essentials oils – Increase of solubility and antioxidant activity or cytotoxicity. **Food and Chemical Toxicology**. v.129, p.115–124. 2019

SILVESTRE, W. P. *et al.* Pervaporation in the separation of essential oil components: A review. **Trends in Food Science & Technology**. v.93, p.42-52, 2019.

SJÖBLOM, J.; LINDBERG, R.; FRIBERG, S. E. Microemulsions – phase equilibria characterization, structures, applications and chemical reactions. **Advances in Colloid and Interface Science**. v.65, p.125-287, 1996.

SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos de Química Analítica** 8 ed. São Paulo: Thomson, 2006.

SONG, X. *et al.* Evaluation of phase behavior, microstructure transition and antiradical activity of lavender essential oil-based microemulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 1360–1367, 2019.

SONG, X. *et al.* Formation of sachal oil microemulsion systems: effects of non-ionic surfactants, short-chain alcohols, straight-chain esters and essential oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.101, 2021.

SOUZA, M.A. *et al.* Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) – A review. **South African Journal of Botany**. v.124. p.160-165. 2019

TARIQ, S.; WANI, S.; RASOOL, W. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal, and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 134, n. March, p. 103580, 2019.

TOLEDO, L. G. *et al.* Improved in vitro and in vivo anti-candida *albicans* activity of *Cymbopogon nardus* essential oil by its incorporation into a microemulsion system. **Internacional Journal of Nanomedicine**. v.15, p. 10481-10497, 2020.

VO, T. V.; CHOU, Y. Y.; CHEN, B. H. Preparation of microemulsion from an alkyl polyglycoside surfactant and tea tree oil. **Molecules**, v.26, n.7. 2021.

WOLFFENBUTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia**: abordagem técnica e científica. 3<sup>o</sup> edição. Belo Horizonte: Editora Laszlo, 1 de jan de 2019.

ZARA, A. L. S. A., *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v.25, n.2, p. 391–404, 2016.

ZHAO, J. *et al.* Preparation and characterization of microemulsions based on antarctic krill oil. **Marine Drugs**, v. 18, n. 10, 2020.

ZHOU, Q. *et al.* Active constituents of *Litsea Cubeba*. **Thermal Science**, v. 24, n. 3, p. 1745–1752, 2020.

ZHU, S.; LI, J.; LIU, Y. Formation and stability of *Eucommia ulmoides* Oliver seed oil-loaded inverse microemulsion formed by food-grade ingredients and its antioxidant activities. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 5, p. 1489–1499, 2020.