

DESENVOLVIMENTO, ESTUDO DE ESTABILIDADE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EMULSÕES TÓPICAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Pogostemon Cablin Blanco Beth* E *Rosmarinus Officinalis*

Antonio Adilson Oliveira da Silva¹
Luanne Eugênia Nunes²
Marcelo Vitor de Paiva Amorim³

RESUMO

Desde a antiguidade, compostos bioativos, como os óleos essenciais (OE), têm sido empregados na prevenção e tratamento de diversas enfermidades. Entre eles, destacam-se os OE de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) e *Pogostemon cablin Blanco Benth* (Patchouli), reconhecidos por suas propriedades antibacterianas, neuroprotetoras, antioxidantes e anticancerígenas. No entanto, sua baixa solubilidade em água limita sua aplicação farmacêutica, sendo as técnicas de emulsificação uma alternativa promissora para contornar essa limitação. Este estudo teve como objetivo desenvolver formulações tópicas com óleo de macadâmia associado aos OE de *R. officinalis* e *P. cablin*, avaliar sua estabilidade, em diferentes temperaturas de armazenamento, e investigar sua atividade antimicrobiana frente às cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). Os 22 sistemas emulsionados foram submetidos aos testes de estabilidade em diferentes condições para escolher qual das emulsões seriam a mais estáveis, tais como: avaliação das características organolépticas, aspectos macroscópicos e microscópicos, pH, granulometria e índice de cremagem). Os resultados mostraram que as emulsões armazenadas em temperatura ambiente demonstraram maiores instabilidades, afetando as variações de pH, apresentando maiores níveis de índice de cremagem e alterações no tamanho da partícula. As emulsões mais afetadas durante o estudo de estabilidade foram as formulações F9, F10 e F11 dos Grupos 1 e 2. Após o estudo, foi possível escolher qual seria a melhor formulação entre os dois grupos formulados, sendo que os grupos armazenados em temperatura refrigerada indicaram uma maior estabilidade das formulações, especialmente a formulação F5. Logo após, iniciou-se a avaliação antimicrobiana de quatro formulações desenvolvidas a partir da formulação F5, sendo: F1 contendo apenas óleo de macadâmia (utilizada como controle negativo); F2 com apenas OE de *Rosmarinus officinalis*; F3 com OE de *Pogostemon cablin*; e F4 com a mistura de ambos os OE. Contudo, os testes antimicrobianos não demonstraram eficácia significativa, tanto para as emulsões quanto para os OE isolados. Contudo, os testes antimicrobianos não demonstraram eficácia significativa, tanto para as emulsões quanto para os OE isolados. Assim, sugere-se a realização de novos ensaios com redução da carga microbiana inoculada (10^6 UFC/mL) e/ou aumento da concentração dos OE nas formulações, visando aprimorar sua atividade antimicrobiana.

Palavras-chave. Patchoulli; Alecrim; Emulsão; Atividade antimicrobiana.

¹ Discente do curso Bacharelado em Farmácia da UNILAB

² Co-Orientadora. Doutorado em Ciências Farmacêuticas pela UFPE

³ Orientador. Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos pela UFRN

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são uma das principais fontes para a extração de substâncias com potenciais terapêuticos. Esses metabólitos têm como principal característica a produção de compostos biologicamente ativos, que não estão diretamente relacionados ao crescimento e à maturação da planta, mas estão intrinsecamente ligados à sua defesa, bem como à proteção contra predadores e estresses do ecossistema. (Cechinel Filho; Zanchett, 2020).

Essas substâncias possuem diversas propriedades medicinais e terapêuticas, como atividades antimicrobiana, analgésica, sedativa e anti-inflamatória (BIZZO *et al.*, 2009). Os OE são compostos orgânicos voláteis produzidos principalmente por plantas, se caracterizando por suas propriedades odoríferas e hidrofóbicas, influenciando diretamente na sua baixa solubilidade em água. Entre os seus componentes predominantes em plantas aromáticas, fitoterápicas e medicinais estão os metabólicos como sesquiterpenos, monoterpenos, fenilpropanos, entre outros (Isman, 2000; Bakkali *et al.*, 2008).

A família Lamiaceae é um dos maiores grupos de plantas que possuem flores, sendo composta por mais de 200 gêneros e mais de 6000 espécies, no qual é subdividida em 7 famílias (Souza & Lorenzi, 2005). A *Pogostemon cablin* Blanco Benth, mais popularmente conhecida como Patchouli, é uma planta pertencente à família Lamiaceae aromática, proveniente da Ásia, sendo produzida em grande escala nos países como Índia, Malásia, Filipinas, Indonésia e Cingapura.

As células secretoras do patchouli, oriundas do seu metabolismo secundário presentes em suas folhas possuem a capacidade de produzir óleos essenciais que são extremamente utilizados na indústria farmacêutica. Os OE extraídos dessas células secretoras têm atividades antimicrobianas, antifúngica, anti-helmíntica e anti-trypanosoma (Sandes *et al.*, 2012).

Os OE de *Pogostemon cablin* são amplamente utilizados na indústria farmacêutica devido às suas atividades terapêuticas. Dentre os principais compostos presentes no patchouli, destacam-se o betaguaieno, beta-patchouleno, seicheleno alfa-selineno, cariofileno, alfa-patchouleno, gamapatchouleno, alfa-guaieno, pogostol, alfa-bulneseno e patchoulol. Dentre os mais importantes estão o α -bulneseno, α -guaieno e cariofileno, esses compostos possuem atividades principalmente antimicrobiana, aromatizantes, anti-inflamatórias e antioxidantes. (Costa; Carvalho Filho; Dechamps, 2013).

A *Rosmarinus officinalis*, popularmente conhecido como alecrim, pertence à família Lamiaceae. É uma planta aromática, de ciclo de vida longo, com folhas estreitas e alongadas, nativa da região do Mediterrâneo, podendo atingir aproximadamente 1,3 m de altura. Suas

folhas e flores são amplamente utilizadas na indústria alimentícia devido às suas características odoríferas. Partes dessa planta tem sido estudada como novas alternativas para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas para o combate a determinados patógenos resistentes a antibióticos sintéticos (Diass *et al.*, 2021).

Nas folhas do alecrim são encontradas maiores concentrações de óleos essenciais (OE), os quais possuem propriedades antioxidantes, antitumorais e antimicrobianas. A planta possui metabólitos secundários bioativos, sendo principalmente os diterpenos fenólicos, flavonoides e ácidos fenólicos (Da Silva; Monteiro, 2021). Devido ao seu odor e sabor característico, o alecrim também é amplamente utilizado para fins alimentícios.

A macadâmia é uma planta originária do leste da Austrália, popularmente conhecida por fornecer uma noz bastante nutritiva, sendo amplamente utilizada pela indústria alimentícia. No entanto, devido às suas propriedades hidratantes e umectantes, tem se mostrado uma excelente alternativa para formulações de uso tópico. O óleo extraído da noz de macadâmia é rico em ácidos graxos monoinsaturados e contém vitamina E (tocotrienóis e tocoferóis), que são antioxidantes naturais, atuando na redução do estresse oxidativo, como também, apresenta ação anti-inflamatória. Além disso, o óleo é amplamente empregado em sistemas emulsionados, graças às suas características e à versatilidade que oferece para a indústria farmacêutica nas formulações (Hanum *et al.*, 2019).

Dessa forma, devido suas altas empregabilidades, baixo custo, funcionalidade e propriedades de interesse farmacológico, os OE têm despertado interesse para a indústria farmacêutica no desenvolvimento de sistemas tópicos emulsionados, as quais se caracterizam por serem um sistema de um ou mais líquidos imiscíveis termodinamicamente instáveis (Silva; Reis; Oliveira, 2024).

Os sistemas emulsionados são de extrema importância para a indústria farmacêutica, especialmente na veiculação de fármacos com substâncias bioativas lipofílicas, esses sistemas possibilitam solubilidade de ativos lipídicos pelas barreiras do organismo melhorando sua absorção e biodisponibilidade, como também, favorecem uma liberação controlada e prolongada desses fármacos resultando na diminuição dos efeitos colaterais. Os sistemas emulsionados têm sido frequentemente utilizados em formulações tópicas, pois proporcionam uma maior espalhabilidade, hidratação e permeação do fármaco na pele. Além disso, as emulsões garantem a proteção do ativo e impedem sua degradação, o que resulta em uma formulação mais segura e eficaz para uso em aplicações dermatológicas (Ferreira *et al.*, 2024).

Diante disto, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma emulsão tópica contendo óleo de macadâmia associado aos OE de *Pogostemon cablin* Blanco Benth e *Rosmarinus officinalis*, realizar um estudo de estabilidade e avaliar a sua atividade antimicrobiana.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Os reagentes empregados na preparação das emulsões incluíram os OES de *Rosmarinus officinalis* (Labotrat) e *Pogostemon cablin* Blanco Benth (Ammaterra). O óleo de macadâmia (Infinity Pharma), polissorbato 20 (Infinity Pharma), água destilada, lecitina de soja (Êxodo científica), cepas bacteriológicas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), ágar caseína de soja (KASVI), cloreto de Sódio PA (Dinâmica) e ágar Mueller-Hinton (Himedia).

2.2. Preparação das formulações

Inicialmente foram preparados 22 sistemas emulsionados, separados em dois grupos com 11 formulações cada, nos quais foram utilizadas diferentes concentrações e proporções de cada componente. A concentração do óleo de macadâmia foi fixada em 5%, a mistura dos tensoativos (polissorbato 20 e lecitina de soja) foi de 2%, a concentração de OE foi de 1% (quando presente) e água qsp para 30g.

Nas Tabelas 1 e 2 estão dispostos a variação das massas dos componentes utilizados para o desenvolvimento das formulações.

Tabela 1 - Proporções dos constituintes nas formulações das emulsões do grupo 1

Grupo 1 Formulações (F)	Óleo de <i>Macadâmia</i> <i>tetraphylla</i>	Polissorbato 20	Lecitina de soja	<i>Pogostemon</i> <i>cablin</i>	<i>Rosmarinus</i> <i>officinalis</i>	Água qsp
F1	1,5 g	0,60 g	0,00 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F2	1,5 g	0,54 g	0,06 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F3	1,5 g	0,48 g	0,12 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F4	1,5 g	0,42 g	0,18 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g

F5	1,5 g	0,36 g	0,24 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F6	1,5 g	0,30 g	0,30 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F7	1,5 g	0,24 g	0,36 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F8	1,5 g	0,18 g	0,42 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F9	1,5 g	0,12 g	0,48 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F10	1,5 g	0,06 g	0,54 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F11	1,5 g	0,00 g	0,60 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g

Fonte: Autoria própria (2025)

Tabela 2 - Proporções dos constituintes nas formulações das emulsões do grupo 2

Grupo 2 Formulações (F)	Óleo de <i>Macadâmia tetraphylla</i>	Polissorbato 20	Lecitina de soja	<i>Pogostemon cablin</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Água qsp
F1	1,5 g	0,60 g	0,00 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F2	1,5 g	0,54 g	0,06 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F3	1,5 g	0,48 g	0,12 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F4	1,5 g	0,42 g	0,18 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F5	1,5 g	0,36 g	0,24 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F6	1,5 g	0,30 g	0,30 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F7	1,5 g	0,24 g	0,36 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F8	1,5 g	0,18 g	0,42 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F9	1,5 g	0,12 g	0,48 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F10	1,5 g	0,06 g	0,54 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F11	1,5 g	0,00 g	0,60 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g

Fonte: Autoria própria (2025)

Foi utilizado diferentes proporções de tensoativos (100% a 0% de polissorbato 20 e 0% a 100% de lecitina de soja), com o objetivo de encontrar o equilíbrio hidrófilo-lipófilo crítico (EHLc) de toda a fase oleosa, correspondente à formulação que possuísse a melhor estabilidade físico-química.

As formulações foram separadas em duas fases: a fase oleosa contendo o óleo de macadâmia, lecitina de soja e OE (quando aplicáveis), e uma fase aquosa contendo água destilada e polissorbato 20. Em seguida, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa e inserida na sonda de ultrassom, foi utilizado a sonda modelo (Qsonica, LLC, Model Q500,53 CHURCH

HILL RD. NEWTOWN) para realizar a técnica de sonicação. Cada amostra foi mantida por 4 min, sob ultrassom, em banho de gelo, sem ciclo e com amplitude de 40%.

Uma vez produzidas, cada formulação foi dividida em dois tubos Falcon (contendo 10 g da formulação em cada tubo) e dois tubos de ensaios (contendo 5 g da formulação em cada tubo), conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Divisão das amostras e objetivos dos testes

Grupos	Tubos	Temperatura de armazenamento	Quantidade
1	Falcon	Ambiente	11
		Refrigerado	11
	Ensaio	Ambiente	11
		Refrigerado	11
2	Falcon	Ambiente	11
		Refrigerado	11
	Ensaio	Ambiente	11
		Refrigerado	11

Fonte: Autoria própria (2025)

Os Falcon e os tubos de ensaios foram divididos para serem armazenados em temperaturas diferentes: 2 a 8 °C (refrigeração) e 20 a 25 °C (temperatura ambiente). Os frascos foram mantidos nas respectivas temperaturas a partir do dia da preparação até 30° dia. As amostras presentes nos tubos Falcon foram utilizadas para avaliar as características organolépticas, pH, avaliação macroscópica, microscópica e granulometria e os tubos de ensaio foram utilizados para avaliar o índice de cremagem e características de instabilidades nas formulações: formação de cremagem, coalescência e separação de fases.

2.3. Estudo de Estabilidades

As análises para os estudos de estabilidades foram realizadas no dia do preparo e nos 7°, 15° e 30° dias. Em cada dia, foram avaliados os parâmetros das características organolépticas, macroscópicas, microscópicas, pH e índice de cremagem, conforme o guia de controle de qualidade de produtos cosméticos da ANVISA (Brasil, 2004). A granulometria foi avaliada no 15° e 30° dia. Tais parâmetros foram realizados para eleger qual a melhor formulação de cada grupo. Esta seria novamente produzida, com a inclusão do(s) OE para avaliação da atividade antimicrobiana.

As avaliações organoléptica e macroscópica foram realizadas para observar as características das formulações e verificar possíveis instabilidades relacionadas à cor, odor, separação de fases, formação de gotículas de óleo, cremagem, coalescência e floculação.

O pH das formulações foram avaliados através do auxílio de um peagômetro (modelo MS TECNOPON mPA210). Este teste teve como objetivo avaliar a variação do pH ao longo do tempo e verificar a sua compatibilidade com o pH da pele.

As análises microscópicas foram feitas utilizando um microscópio (Nikon eclipse E100), utilizando as objetivas de 40x. Teve como objetivo avaliar possíveis instabilidades relacionadas à eventos de floculação e coalescência.

A granulometria é a medida do tamanho de partículas presente em um determinado sistema ou material, imprescindível na avaliação das emulsões, por ser considerado como um parâmetro para detecção de instabilidade, como a coalescência (Capek, 2004). A granulometria foi realizada através do analisador de partículas por espalhamento de luz baseado na técnica de difração a laser, modelo PSA1190 (Anton Paar, Áustria), utilizando configuração de medição em modo líquido com tempo de medição de 1 min, velocidade do agitador de 250 rpm, modo de reconstrução Fraunhofer, velocidade da bomba de 120 rpm, com ultrassom e obscuração entre 5,0 a 30,0%. Os resultados foram obtidos em forma de volume percentual acumulativo, nas faixas de D_{10} , D_{50} e D_{90} , e em valor de diâmetro médio da gotícula D_M .

O índice de cremagem (IC, %) é o processo que possibilita avaliar a estabilidade cinéticas das emulsões. Esse processo ocorre principalmente quando gotículas pertencentes da fase dispersa sofrem elevação na fase contínua ocasionando uma diferença de densidade entre as fases, levando, assim, a formação de creme na parte superior da emulsão (Castro, 2014). O índice de cremagem foi determinado, conforme protocolo estabelecido por Onunkwo; Adikwu (1997), utilizando uma régua para mensurar a altura total da emulsão e a altura do creme. A seguinte fórmula foi empregada no cálculo do IC:

$$\%IC = \frac{H_c}{H_o} \times 100$$

Em que:

H_c = altura da camada de creme (cm)

H_o = altura total da emulsão armazenada no tubo de ensaio (cm)

2.4. Pesquisa de Atividade Antimicrobiana

As emulsões que apresentarem melhores condições de estabilidade termodinâmica, foram preparadas mais uma vez, com o objetivo de avaliar a pesquisa de atividade

antimicrobiana. A formulação F5 do grupo 2 das refrigeradas apresentou melhores resultados físico-químicos quando comparada com as demais formulações de ambos os grupos, por este motivo, foram preparadas quatro novas formulações: a F1 contendo apenas óleo de macadâmia (utilizada como controle negativo); a F2 com apenas OE de *Rosmarinus officinalis*, a F3 com OE de *Pogostemon cablin* e a F4 com a mistura de ambos OE, respeitando a concentração de 1% de OE nas formulações F2, F3 e F4, conforme a Tabela 4.

Tabela 4 - Proporções dos constituintes das quatro formulações

Formulações (F)	Óleo de <i>Macadâmia tetraphylla</i>	Polissorbato 20	Lecitina de soja	<i>Pogostemon cablin</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Água qsp
F1	1,5 g	0,36 g	0,24 g	0,00 g	0,00 g	27,9 g
F2	1,5 g	0,36 g	0,24 g	0,30 g	0,00 g	27,6 g
F3	1,5 g	0,36 g	0,24 g	0,00 g	0,30 g	27,6 g
F4	1,5 g	0,36 g	0,24 g	0,15 g	0,15 g	27,6 g

Fonte: Autoria própria (2025)

2.4.1. Preparo das bactérias

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, foram selecionadas cepas dos microorganismos *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), mantidas em manutenção em ágar caseína de soja inclinado, imersas em glicerol. Um inóculo de cada bactéria foi transferido para tubos contendo caldo nutriente e incubadas à $32 \pm 2,5$ °C por 18 a 24h. Em seguida, com auxílio de alça de platina, foram realizadas semeaduras para placas contendo ágar caseína de soja (TSA). Posteriormente, cada placa foi incubada à $32 \pm 2,5$ °C por 18 a 24h.

Transcorrido o tempo de incubação, foi realizada uma coloração de Gram de cada cepa para verificar se as micromorfologias estavam de acordo com o esperado. Após confirmação, foi realizada a preparação da suspensão microbiana com intensidade similar a 0,5 da escala de McFarland, equivalente a uma concentração aproximada de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, utilizando tubo contendo 10 mL de solução salina estéril. A turbidez da suspensão foi ajustada visualmente com base na escala padrão, observando-se contra a luz. Em seguida, com auxílio de swab estéril, as cepas foram semeadas em placas de ágar Mueller-Hinton. Em seguida, foram preparadas as amostras para iniciar avaliação antimicrobiana das emulsões. No total, foram utilizadas 8 placas de ágar Mueller-Hinton, sendo 4 para *Pseudomonas aeruginosa* e 4 para *Staphylococcus aureus*.

2.4.2. Preparo das soluções dos OE

Inicialmente, foram preparadas soluções de cada OE na concentração de 5%, utilizando uma mistura de 0,5% de polissorbato 80, 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) e qsp de água destilada. O objetivo da era avaliar se o OE na concentração similar à da formulação possuía alguma atividade antimicrobiana para a concentração de cada cepa avaliada neste estudo.

Uma vez prontas, cada solução foi filtrada utilizando filtro estéril de 0,22 µm, processo crucial para a eliminação de partículas finas, bactérias ou microrganismos proeminentes das soluções (Gray, 2014). Após o processo de filtração, as soluções passaram por um processo de diluição para as seguintes concentrações 2%, 1%, 0,5%, 0,25% e 0,125%, em eppendorf, utilizando solução salina 0,9% estéril como diluente. Tais soluções foram utilizadas como controle positivo dos OE, apresentando concentrações similares à concentração dos OE em cada formulação.

2.4.3. Método de difusão em poço-cavidade

Para a avaliação do teste de pesquisa de atividade antimicrobiana, utilizou-se o método de difusão em poço-cavidade. Esse método é amplamente empregado na microbiologia para avaliar a atividade antimicrobiana de determinadas substâncias frente a microrganismos específicos ou selecionados para a análise (Martins *et al.*, 2021).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima dos óleos essenciais e das emulsões utilizou-se um total de 8 placas de ágar Mueller-Hinton foram preparadas, sendo 4 para cada cepa. Duas placas (uma para cada cepa) continham a formulação F1, utilizada como controle negativo (Br), F2, F3, F4, de acordo com a Tabela 4, e um disco impregnado com o diluente utilizado para preparar as soluções de concentrações seriadas dos OE. Seis placas (três para cada cepa) foram utilizadas para analisar as soluções de concentrações seriadas dos OE (2%, 1%, 0,5%, 0,25% e 0,125%).

Para o ensaio de difusão em poço-cavidade, foram utilizados poços com 10 mm de diâmetro, feitos com auxílio de ponteiros estéreis, e preenchidos com 100 µL de cada solução. Em seguida, as placas foram levadas à estufa para incubação a 37 °C por 16h a 20h. Após o período de incubação, as placas foram analisadas para mensurar o halo de formação de inibição de cada solução, expressos em milímetros (Clsi, 2024; Gavanj; Larki, 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estudo de Estabilidade das emulsões

3.1.1. Características organolépticas e macroscópicas

As emulsões são empregadas em diversos produtos farmacêuticos e cosméticos, sendo ideais em diversas aplicações na cosmetologia, pois proporcionam estabilidade, qualidade estética e morfofuncionais, principalmente, possibilitando a solubilização de componentes hidrofílicos e lipofílicos (Tadros, 2007). Nesse sentido, as características organolépticas e macroscópicas se tornam cruciais para a determinação da qualidade das emulsões. A avaliação da estabilidade em várias condições ambientais que venham a ser submetidas, comprovam a garantia, segurança e qualidade das formulações, uma vez que se torna possível a avaliação de alterações que impossibilite e diminua sua eficácia, estabilidade e aceitabilidade de acordo com a ANVISA (Brasil, 2004).

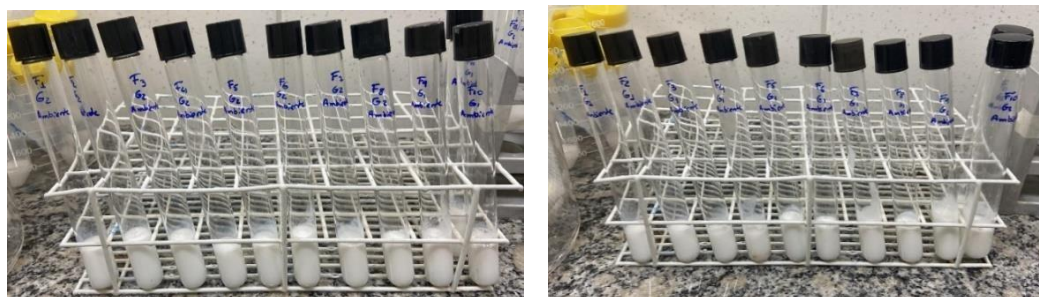
Produtos farmacêuticos com fins cosméticos são suscetíveis a alterações em sua estabilidade, dependendo do local de armazenamento. Portanto, produtos voltados para esse ramo precisam garantir sua integridade e estabilidade ao longo do tempo e nas diferentes condições às quais são expostos, como variações de temperatura e tipos de armazenamento. Alterações no odor, na coloração e em aspectos visuais, como a formação de creme, podem ser indicativos críticos de instabilidade da emulsão, sugerindo, principalmente, contaminação microbiológica ou falhas na formulação (Rosário *et al.*, 2021).

Dessa forma, para que se possa afirmar que a emulsão apresenta estabilidade, ela deve permanecer inalterada por um período de aproximadamente 13 a 15 dias, a partir das 24 horas da criação da formulação, mesmo quando submetida a diferentes condições, como ambiente ou refrigeração. Diante disto, as formulações dos grupos G1 e G2 (Figura 1), foram avaliadas e encontram-se descritas nas Tabelas 5 e 6.

Figura 1 – Formulações dos grupos G1 e G2.

Formulações do grupo G1

Formulações do grupo G2



Fonte: Autoria própria (2025)

Tabela 5 - Características organolépticas e macroscópicas das formulações G1 em cada temperatura

G1	Temp.	D0	D7	D15	D30
F1	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F2	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F3	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F4	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F5	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F6	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F7	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F8	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR	L+O+CR
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR	L+O+CR
F9	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR+GO	L+O+CR+GO
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR+GO	L+O+CR+GO
F10	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR+GO	L+O+CR+GO
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR+GO	L+O+CR+GO
F11	Ambiente	L+O+H	L+O+CR	L+O+CR+GO	L+O+CR+GO
	Refrigerado	L+O+H	L+O	L+O+CR+GO	L+O+CR+GO

Legenda: D, dias indicados; L, aspecto leitoso; O, odor característico do óleo de macadâmia; H, Emulsão homogênea; CR, formação de creme; GO, Gotículas de óleos na superfície.

Fonte: Autoria própria (2025)

Tabela 6 - Características organolépticas e macroscópicas das formulações G2 em cada temperatura.

G2	Temp.	D0	D7	D15	D30
F1	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F2	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F3	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F4	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F5	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F6	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F7	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F8	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR	L+OE+CR
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR	L+OE+CR
F9	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR+GO	L+OE+CR+GO
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR+GO	L+OE+CR+GO
F10	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR+GO	L+OE+CR+GO
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR+GO	L+OE+CR+GO
F11	Ambiente	L+H+OE	L+OE+CR	L+OE+CR+GO	L+OE+CR+GO
	Refrigerado	L+H+OE	L+OE	L+OE+CR+GO	L+OE+CR+GO

Legenda: D, dias indicados; L, aspecto leitoso; H, Emulsão homogênea; OE, odor característico de OE de Patchouli; CR, formação de creme; GO, Gotículas de óleos na superfície.

Fonte: Autoria própria (2025)

Durante as análises dos experimentos, ambos os grupos de formulações G1 e G2 armazenadas na temperatura ambiente apresentaram formação de creme a partir do sétimo dia, bem como formação de gotículas de óleos. Já as formulações dos grupos G1 e G2, armazenadas na temperatura refrigerada, apresentaram formação de creme apenas após o décimo quinto dia. Essas alterações influenciam diretamente as propriedades físico-químicas, aspecto, textura, eficácia e qualidade.

As instabilidades relacionadas às características macroscópicas das emulsões podem influenciar diretamente no aumento da incidência de coalescência, ocasionando uma fusão irreversível das gotículas, podendo levar à quebra da emulsão, assim como à redução da sua estabilidade (Franzol; Rezende, 2015). Nos aspectos organolépticos, todas as formulações de ambos os grupos, em cada temperatura de armazenamento, não tiveram alterações significativas em sua coloração e/ou cheiro. Características como aspecto, cor e odor devem ser mantidas estáveis e íntegras durante 15 dias frente a diversos ambientes (Brasil, 2004).

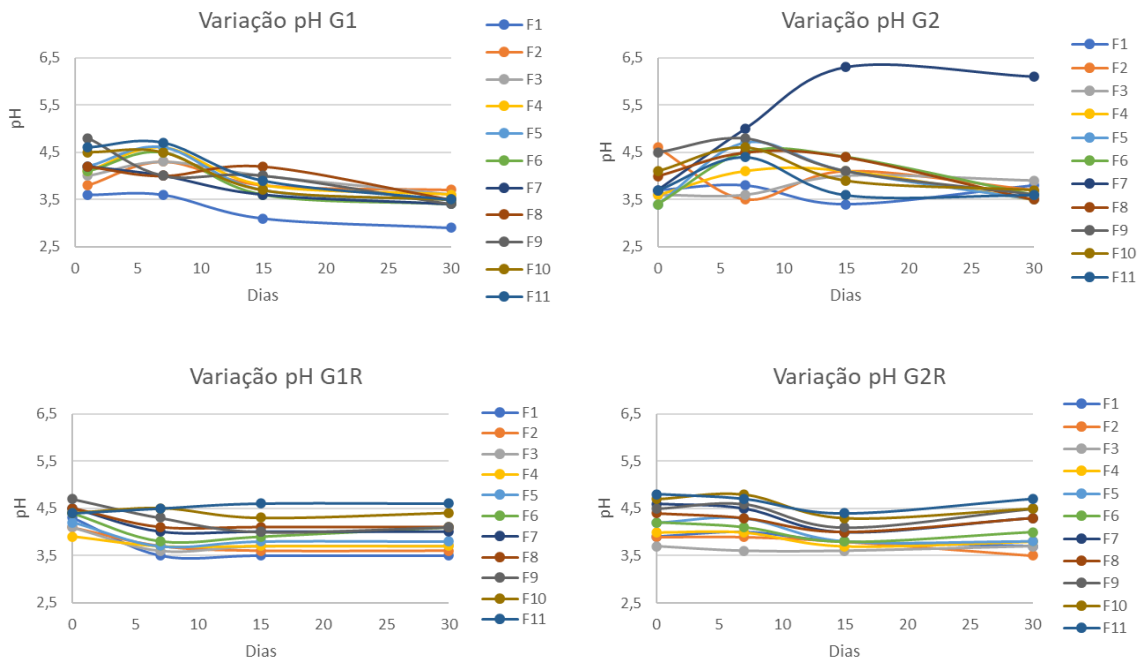
3.1.2. Determinação do pH

A determinação foi avaliada ao longo do tempo durante os 30 dias do estudo de estabilidade. O pH se torna crucial nos testes de estudo de estabilidade, pois proporciona informações significativas sobre possíveis alterações das emulsões e sua integridade. Além disso, por se tratarem de emulsões que estão sendo testadas para uso tópico, um pH equilibrado possibilita uma melhor interação entre a emulsão e a barreira tópica (Morais, 2006).

Os valores dos pH das emulsões durante os 30 dias estão representados na Figura 2. Os dois primeiros gráficos correspondem às formulações que estavam armazenadas em temperatura ambiente (G1 e G2) e os dois últimos às amostras refrigeradas (G1 refrigeradas e G2 refrigeradas).

De acordo com a Figura 2 é possível notar uma diminuição do pH ao longo do estudo de estabilidade para as formulações do grupo G1. As amostras apresentaram pH inicial que variou entre 3,5 a 4,7 e finalizou com pH entre 2,7 a 4,5. No grupo G2, em temperatura ambiente, os pH inicial apresentou maiores desvios com formação de tendência para diminuição do pH e uniformização. Exceto para a F7 da G2, a qual apresentou maior desvio com formação de tendência para o aumento do pH, com valor de pH final de 6,1.

Figura 2 - Variação do pH das formulações durante o estudo de estabilidade



Fonte: Autoria própria (2025)

Comparando com as amostras refrigeradas percebe-se que a diferença das condições de armazenamento pode influenciar diretamente nas mudanças de pH das formulações. As amostras G1R e G2R (refrigeradas), armazenadas sob refrigeração, tiveram mudanças mínimas em consideração aos pH. Esses resultados indicam que amostras armazenadas em temperatura ambiente estão mais propícias as variações de pH.

Segundo (Azzini, 1999), existem fatores que podem influenciar diretamente a estabilidade dos pH das emulsões quando armazenadas na temperatura ambiente, como: degradação de triglicerídeos, compostos orgânicos como ácidos graxos, hidrólise, oxidação ou contaminação por agentes microbianos.

3.1.3. Índice de Cremagem

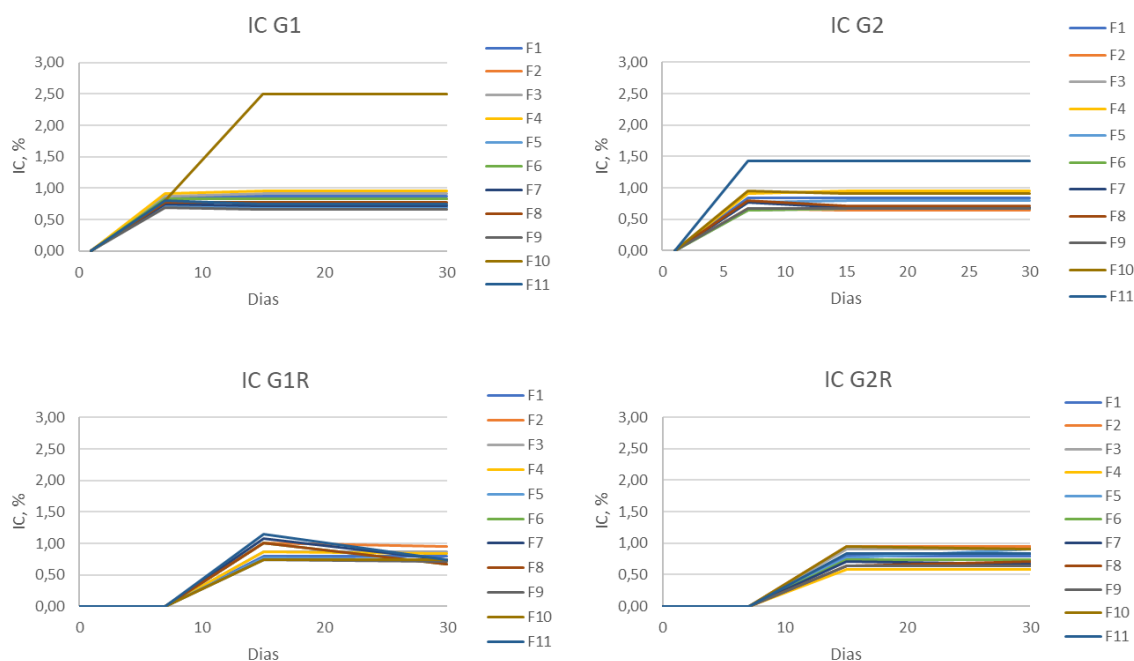
Para avaliação do IC (%), foram realizadas análises para identificar possíveis alterações nas formulações em relação aos aspectos de formação de creme, gotículas e separação de fases. As análises realizadas experimentalmente durante 30 dias são necessárias, tendo em vista que tal parâmetro reflete diretamente na estabilidade e na tendência das formulações se separarem em fases, sendo algo não adequado para formulações tópicas (Goodwin, 2004).

Em sistemas emulsionados, existem alguns tipos de instabilidades que podem afetar diretamente sua estabilidade. No caso das emulsões, a formação de creme superficial é um

fenômeno que influencia diretamente nos aspectos de separação de fases, nos quais podem ocorrer processos como coalescência e, posteriormente, floculação, afetando diretamente a estabilidade das emulsões.

Os valores de IC para cada formulação estão representados na Figura 3, sendo G1 e G2 (ambientes) e G1R e GR2 (refrigeradas).

Figura 3 - Variação da porcentagem do índice de cremagem das formulações



Fonte: Autoria própria (2025)

Foi possível observar que todas as amostras apresentaram a formação de creme. Nas amostras G1 e G2, houve uma formação inicial a partir do 7º dia. Entretanto, quando se observam os gráficos das amostras refrigeradas, o acontecimento nas alterações de fases só ocorreu a partir do 15º. Além disso, ao observar o grupo G1, dentre todas as formulações, a F10 foi a mais instável, com índice de cremagem elevado até o dia 30. As formulações F1, F4, F7 e F8 demonstraram maior estabilidade e menor índice de cremagem ao longo do tempo. Para o grupo G2, a formulação mais instável foi a F11 e as mais estáveis foram F3, F7, F8 e F9, demonstrando menor IC durante os 30 dias. As formulações que estiveram em temperatura refrigerada foram as que menos apresentaram problemas relacionados ao desenvolvimento de creme. Nos grupos G1R e G2R (refrigeradas), a formação de creme só ocorreu a partir do dia 15º. Em G1R, as formulações F11, F6 e F2 tiveram o maior IC e maior instabilidade, enquanto as F1, F7, F8 e F9 apresentaram maior estabilidade. Em G2R, as formulações F4, F7, F8 e F9 foram as mais estáveis, e as F2, F3 e F10, as mais instáveis.

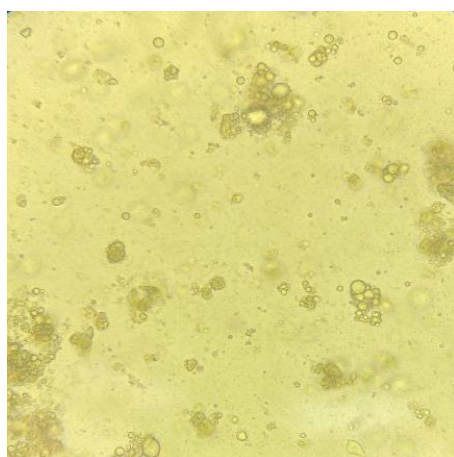
3.1.4. Microscopia das formulações

A microscopia das emulsões foi realizada com todas as amostras, a fim de verificar os processos de instabilidade que podiam surgir ao decorrer dos estudos de estabilidade. Foram observadas, com o auxílio do microscópio, as gotículas da fase oleosa (tamanho, proximidade e distribuição) dispersas na fase aquosa. As principais mudanças observadas ocorreram principalmente nas últimas formulações. No entanto, nas primeiras formulações, os tamanhos, a proximidade e a distribuição das gotículas permaneceram uniformes e constantes, sem alterações.

Na Figura 4 estão dispostas duas microscopias de dois grupos distintos das formulações, sendo F11 do grupo G1 ambiente e F5 G2 refrigerada.

Figura 4 - Avaliação microscópica das emulsões diferentes temperaturas: ambiente e refrigerada

Formulação F11 G1



Formulação F5 G2R



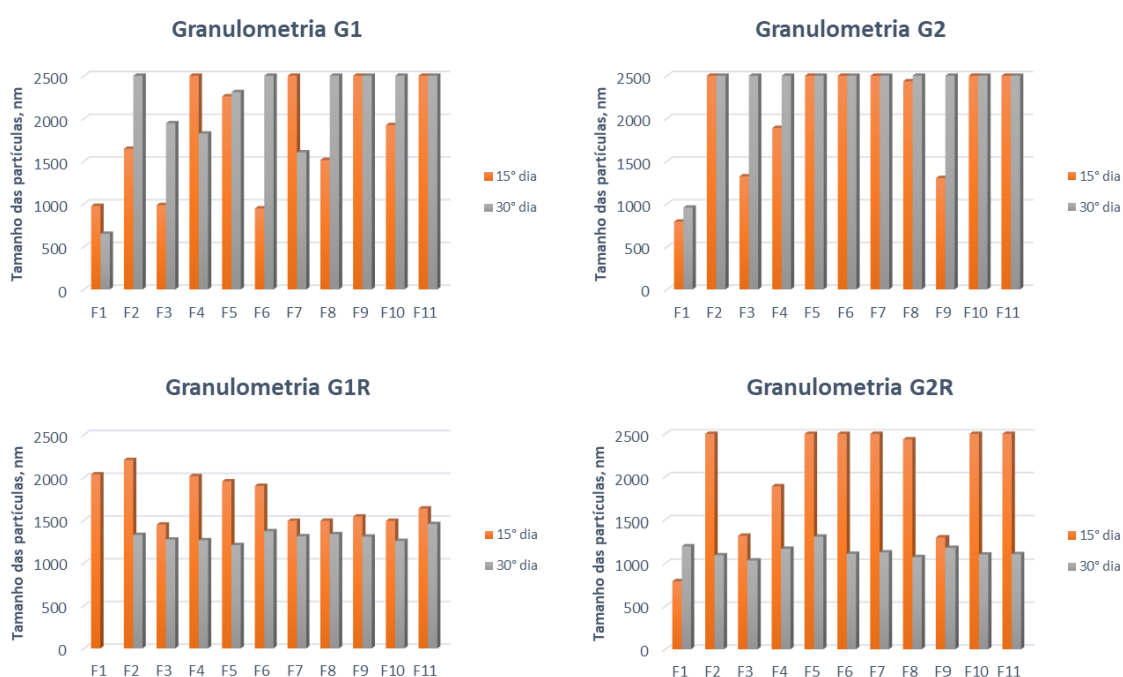
Fonte: Autoria própria (2025)

Na formulação F11 do G1, podemos perceber instabilidade das partículas, com várias gotículas sobrepostas, características de floculação e aumento das gotículas, como ocorre na coalescência. Na formulação F5 G2R, podemos perceber gotículas sem alterações, uniformes e sem presença de processo de floculação. Resultados similares à formulação F5 foram encontradas nas formulações de menor índice (1 a 7) e similares à formulação F11, de maior índice (8 a 10) A microscopia se torna essencial para as análises, pois auxilia na detecção de problemas nas emulsões que muitas das vezes as análises macroscópicas não permitem identificar. Desse modo, a estabilidade das emulsões está intrinsecamente ligada ao tamanho de suas partículas e à uniformidade (Coutinho *et al.*, 2018).

3.1.5. Granulometria

A avaliação da granulometria das formulações encontra-se exibidas na Figura 5. A avaliação da granulometria foi realizada no 15º (cor laranja) e 30º (cor cinza) dias, para ambos os grupos. As amostras do grupo G1 apresentaram comportamentos heterogêneos no aspecto granulométrico entre os dias analisados, destacando as formulações F2, F8, F9 e F10 obtiveram um aumento significativo no tamanho de partículas, indicando coalescência e instabilidade física. Já as formulações F1, F4, F7 e F11 mostraram redução do diâmetro das partículas.

Figura 5 - Granulometria das emulsões ambientes e refrigeradas



Fonte: Autoria própria (2025)

As emulsões do grupo G2 mostraram uma tendência maior no aumento do tamanho das partículas ao longo dos dias avaliados, as formulações F7 e F10 foram as que tiveram um maior aumento no crescimento de partículas, exceto para a formulação F1, que apresentou um desempenho mais estável.

As emulsões do grupo G1R (refrigeradas), apresentaram granulometria mais estável, com diminuição no tamanho das partículas ao longo dos dias, demonstrando bom desempenho. Nas formulações do grupo G2R (refrigeradas), quase todas as formulações apresentaram uma diminuição do tamanho das partículas, exceto para a formulação F1.

A granulometria de sistemas emulsionados possibilita a caracterização e controle de qualidade desses sistemas, pois uma das principais causas de instabilidades é o aumento das

partículas influenciando diretamente na estabilidade. Emulsões como os grupos G1R e GR2, com partículas menores e bem distribuídas tendem a apresentar maior resistência a efeitos como coalescência, cremagem e separação de fases (Franzoi; Rezende, 2015).

3.1.6. Seleção da formulação promissora

Com base nos resultados encontrados nos testes de estabilidade, a formulação F5 do grupo refrigerado foi a que apresentou melhores características com formação de tendência para resistir às condições intrínsecas das formulações e extrínsecas do ambiente armazenado. Diante disto, as 4 novas formulações (F1, F2, F3 e F4) foram produzidas, baseadas nas condições experimentais da formulação F5 refrigerada, com o objetivo de avaliar a atividade antimicrobiana dos OE e das formulações.

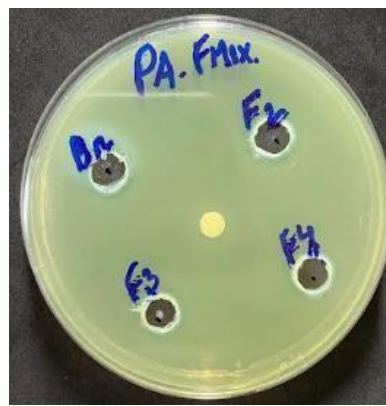
3.1.7. Avaliação microbiológica das formulações e OE

A análise microbiológica foi realizada com o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano dos OE utilizados para desenvolver as formulações, bem como avaliar a atividade antimicrobiana das 4 formulações selecionadas. Os resultados das atividades antimicrobianas das formulações encontram-se na Figura 6. Foi possível observar que não houve inibição antimicrobiana, ou seja, formação do halo inibitório, das formulações em ambas as cepas na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. (ATCC 6538), (ATCC 9027)

Figura 6 – Atividade antimicrobiana por difusão em poços das formulações

Placa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)

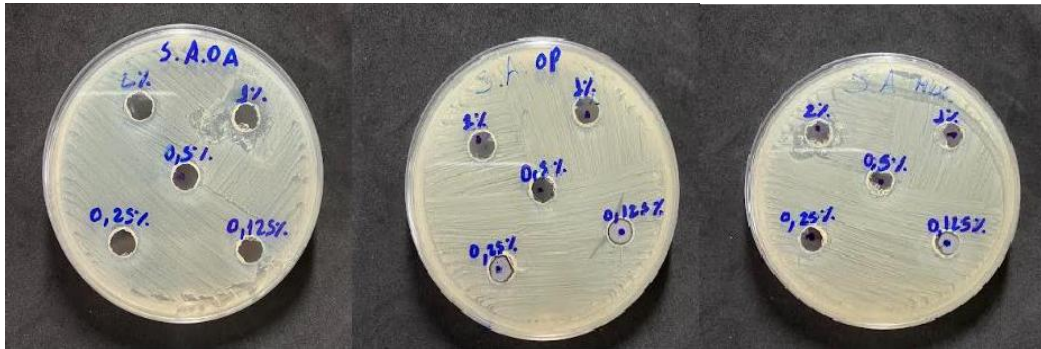
Placa de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027)



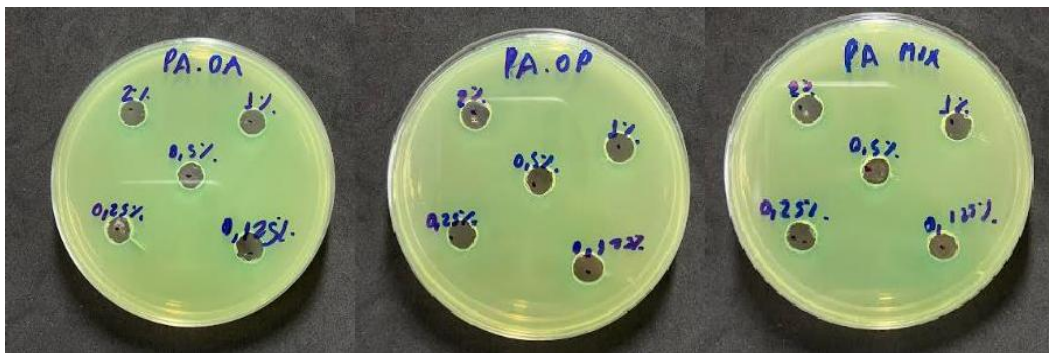
Fonte: Autoria própria (2025).

Para avaliação da atividade antimicrobiana apenas dos OE (controle positivo), foram utilizadas soluções com concentrações de 2%, 1%, 0,5%, 0,25% e 0,125% para cada amostra dos OE, totalizando 15 poços perfurados. Todas as 6 placas semeadas com os OE, puros ou misturados, não apresentaram formação de halo de inibição em ambas as cepas na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, Figura 7.

Figura 7 – Atividade antimicrobiana por difusão em poços dos OE
Placas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).



Placas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).



Fonte: Autoria própria (2025)

Diante dos resultados encontrados, foi possível avaliar que as formulações não apresentaram atividade antimicrobiana para a concentração determinada de até 2% de cada OE ou mistura de OE, na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, para ambas as cepas. Desta forma, estudos posteriores deverão ser realizados com a avaliação de um inóculo inferior (10^6 UFC/mL) das cepas e/ou aumento da concentração dos OE nas formulações.

4. CONCLUSÃO

Por meio do presente estudo, objetivou-se desenvolver, realizar o estudo de estabilidade e avaliar a atividade antimicrobiana de formulações tópicas elaboradas com óleo de macadâmia associado aos OE de *Pogostemon cablin* Blanco Benth e *Rosmarinus officinalis*, visando explorar o potencial de ativos naturais dos OE, como alternativa para o uso como potencial forma farmacêutica com ação antimicrobiana. Entretanto, os resultados do estudo de estabilidade demonstraram formulações mais estáveis quando estavam armazenadas em ambiente refrigerado e com massa dos componentes similar a formulação F5. Em seguida, de acordo com o teste de avaliação do potencial antimicrobiano das emulsões e dos OE isolados, realizados com as cepas de bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, as

formulações e o OE isolados não apresentaram resultados satisfatórios. Por este motivo, sugerem-se que estudos posteriores sejam realizados com a avaliação de um inóculo inferior (10^6 UFC/mL) das cepas e/ou aumento da concentração dos OE nas formulações.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratório de Biomassas da UNILAB pela parceria que possibilitou acesso à sonda de ultrassom para manipulação das formulações.

REFERÊNCIAS

AZZINI, R.G. **Desenvolvimento e avaliação in vitro e in vivo de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos**. São Paulo, 1999. 169p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, fev. 2008

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. 1. ed. v. 1, 52 p. Brasília, 2004.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M.. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 107, p. 125-155, 2004.

CASTRO, R. M. L. D. **Emulsão: uma revisão bibliográfica**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

CECHINEL F., V.; ZANCHETT, C. C. C. **Fitoterapia avançada: uma abordagem química, biológica e nutricional**. Artmed Editora, 2020.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**: supplement M100. 34. ed.: CLSI, 2024.

COSTA, G. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; DESCHAMPS, C. Rendimento e composição do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) conforme o tempo de extração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 319–324, 2013.

COUTINHO, V. P. *et al.* Efeito da velocidade de homogeneização nas propriedades de emulsões cosméticas. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 2, p. 0240–0245, 4 jul. 2018.

DA SILVA, M. C. R.; MONTEIRO, D. V. S. Atividades antimicrobianas e antifúngicas do óleo essencial de alecrim (*rosmarinus officinalis* L.). **Revista Multidisciplinar Em Saúde**, v. 2, n. 2, p. 53-53, 2021.

DIASS, K. *et al.* Biological and pharmaceutical properties of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula officinalis* L. **Materials Today: Proceedings**, v. 45, p. 7768–7773, 2021.

FERREIRA, L. L. C.; LOPES, D. C. D. X. P.; OLIVEIRA, J. de S. P.; OLIVEIRA, M. S. de; CUNHA, L. E. R. da; BEHRENS, M. D.; SANTOS, E. P. dos. Avaliação da eficácia da emulsão tópica de *Curcuma longa* L. no tratamento de reações locais em cavalos imunizados com *Bothrops* spp. venenos. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. e68066, 2024.

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

GAVANJI, S.; LARKI, B. Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on *Candida albicans*. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 23, p. 201–207, 2017.

GOODWIN, J.W. 2004. **Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers – An Introduction**. England, John Wiley and Sons LTD, 2004.

GRAY, N. F. **Chapter thirty-five – Filtration methods**. In: PERCIVAL, Steven L.; YATES, Marylynn V.; WILLIAMS, David W.; CHALMERS, Rachel M.; GRAY, Nicholas F. (Ed.). *Microbiology of Waterborne Diseases*. 2. ed. London: Academic Press, 2014. p. 631–650.

HANUM, T. I.; LAILA, L.; SUMAIYAH, S.; SYAHRINA, E. Macadamia nuts oil in nanocream and conventional cream as skin anti-aging: a comparative study. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, [S.l.], v. 7, n. 22, p. 3917-3920, 14 nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.533>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7048368/>. Acesso em: 4 jun. 2025.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, n. 1, p. 603-608, 2000

MARTINS, O. A. *et al.* Métodos de avaliação antimicrobiana de extratos de diferentes variedades de *Olea europaea* L.: revisão de literatura. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 3, p. 180–199, set./dez. 2021.

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

ONUNKWO, G. C., ADIKWU, M. U. Stability of veegum/Mucuna gum emulsions. *Stp Pharma Scientes*, 7: 320-325, 1997.

ROSÁRIO, Marcelino Santos do *et al.* Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata martius*). **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 29552–29570, mar. 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n3-596.

SANDES, S. S. *et al.* Estruturas secretoras foliares em patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]. **Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 8, n. 5, p. 1–6, 2012.

SILVA, A. M.; REIS, L. S. A.; OLIVEIRA, L. S. Estudo dos óleos essenciais mais utilizados na aromaterapia e suas atividades terapêuticas. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação** – REASE, São Paulo, v. 10, n. 10, p. 3697–3713, out. 2024.

SOUZA, V.C; LORENZI, H. **Sistemática Botânica. Guia ilustrado para a identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 639 p., 2005.

TADROS, T.; NESTOR, J.; TAELEMAN, M. C.; SMITS, R. Emulsões: correlação da estabilidade física de longo prazo com medições reológicas de curto prazo. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 10, n. 2, jul./dez. 2009.

VERÍSSIMO, L. M. **Desenvolvimento de sistemas farmacêuticos emulsionados para veiculação gênica**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.