

KELLE GOMES CRUZ

SISTEMAS MICROEMULSIONADOS À BASE DE TENSOATIVOS
HIDROCARBÔNICOS PARA APLICAÇÃO COMO SUPORTES PARA DISPERSÃO
DE COMPOSTOS ANTIBIÓTICOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da
Biblioteca Central da UFV

T

C957s
2013 Cruz, Kelle Gomes, 1986-
Sistemas multiemulsionados à base de tensoativos hidrocarbônicos
para aplicação como suportes para dispersão de compostos antibióticos /
Kelle Gomes Cruz - Viçosa, MG, 2013.
xiii, 80f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Alexandre Gurgel.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.57-65.

1. Emulsões. 2. Norflaxacino. 3. Ciprofloxacina. 4. Antibióticos.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 630.2477

KELLE GOMES CRUZ

SISTEMAS MICROEMULSIONADOS À BASE DE TENSOATIVOS
HIDROCARBÔNICOS PARA APLICAÇÃO COMO SUPORTES PARA DISPERSÃO
DE COMPOSTOS ANTIBIÓTICOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 13 de agosto de 2013.

Ana Clarissa dos Santos Pires

Cláudio Ferreira Lima
(Co-orientador)

Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz

Alexandre Gurgel
(Orientador)

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós.”

Fernando Pessoa

DEDICATÓRIA

A Deus pela minha vida e pela proteção e direção diante de todas as circunstâncias. Aos meus pais Benjamim e Selma, a quem tanto amo, e que sempre compreenderam e apoiaram meus sonhos. Aos meus irmãos, Josy, Kellisson, Welington e Wallisson e sobrinhos, Júnio, Vitória e Juliana, pelos bons e tão inéditos momentos que quando possível passamos juntos. A minha avó Elvira pelos conselhos. Aos meus tios e tias pela presença e compreensão. Aos queridos amigos que se fazem sempre presentes. A todos vocês agradeço, dedico e compartilho mais essa vitória em minha vida, e diante dessa etapa a qual foi tão árdua, almejo desafios maiores.

Se cheguei até aqui, foi porque me apoiei em ombros de gigantes.”

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, prof. Dr. Alexandre Gurgel, pela confiança e orientação que permitiram que este trabalho pudesse ser concluído.

Aos Drs. Cláudio Ferreira Lima e Sérgio Antônio Fernandes, pela coorientação.

A professora Dra. Daniele Menezes e suas orientadas pelo apoio e colaborações valiosas durante o desenvolvimento deste estudo.

Aos amigos do LATEC Thaís Cosendey, Kamilla Fernandes e Felipe Pedersoli, pelo companherismo, pelos momentos de diversão e pela intensa participação no desenvolvimento deste trabalho.

As amigas Nívia Oliveira e Juliana Diniz por vivenciar e compartilhar comigo esta etapa desde o primeiro momento.

Ao amigo Lucas Dias pela valiosa ajuda no tratamento estatístico.

Aos amigos Alessandro Soares e Pollyana Campos pelas admiráveis opiniões e revisões.

Aos professores do curso de pós-graduação, por terem colaborado nessa caminhada pela busca de conhecimento.

A Capes pela bolsa concedida.

A todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram a concluir este trabalho, cujos nomes estão ausentes neste texto, mas presentes na memória e no coração.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. ASPECTOS TEÓRICOS E REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Aspectos teóricos sobre sistemas microemulsionados	4
2.1.1. Introdução	4
2.1.2. Tensoativos	5
2.1.2.1. Tensoativos catiônicos	9
2.1.2.2. Tensoativos aniônicos	9
2.1.2.3. Tensoativos não-iônicos	10
2.1.2.4. Tensoativos anfóteros	10
2.1.3. Micelas	10
2.1.4. Microemulsões	12
2.1.4.1. Formação de microemulsões	13
2.1.4.2. Termodinâmica de formação de microemulsões	14
2.1.4.3. Razão <i>R</i> .	16
2.1.4.4. Diagrama de fases	17
2.1.4.4.1. Sistemas ternários	18
2.1.4.4.1.1. Sistemas de Winsor	19
2.1.4.4.2. Sistemas pseudoternários	21
2.1.4.5. Parâmetros que influenciam as microemulsões	21

2.1.4.5.1.	Influência do tensoativos	21
2.1.4.5.2.	Influência da força iônica	23
2.1.4.5.3.	Influência da temperatura	23
2.1.4.5.4.	Influência da salinidade	25
2.1.4.5.5.	Influência da natureza e concentração do cotensoativo	25
2.1.4.5.6.	Natureza do composto apolar	26
2.1.4.5.7.	Balanço hidrófilo-lipofílico (BHL)	27
2.1.5.	Tensoativos não-iônicos comerciais	28
2.2.	Aspectos teóricos sobre microemulsão como suporte para dispersão de compostos antibióticos	29
3.	OBJETIVOS	32
4.	JUSTIFICATIVA	33
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	34
5.1.	Materiais utilizados	34
5.1.1.	Caracterização do diagrama de fases	34
5.1.2.	Microemulsões como suporte para dispersão de compostos antibióticos	34
5.2.	Metodologia experimental	35
5.2.1.	Caracterização dos diagramas de fases	35
5.2.2.	Microemulsões como suporte para dispersão de compostos antibióticos	37
5.2.3.	Análise estatística	38
6.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
6.1.	Caracterização dos diagramas de fases	39
6.2.	Microemulsão como para dispersão de compostos antibióticos	48
6.3.	Análise estatística	55
7.	CONCLUSÃO	57
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
	Apêndice	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática de um tensoativo.	6
Figura 2. Representação esquemática dos tensoativos.	7
Figura 3. Representação esquemática da estrutura das micelas (a), uma micela normal e (b), uma micela reversa.	11
Figura 4. Formação do agregado micelar.	11
Figura 5. Representação esquemática das estruturas de (a) microemulsão água em óleo, (b) microemulsão óleo em água e (c) microemulsão bicontínua.	13
Figura 6. Diagrama ternário.	18
Figura 7. Diagrama ternário hipotético mostrando esquematicamente uma microemulsão.	19
Figura 8. Representação de diagramas pseudoternários com razão cotensoativo/tensoativo constante.	21
Figura 9. Esquema ilustrativo da importância de raios na curvatura de estruturas micelares.	22
Figura 10. Diagrama de Kahlweit-“fish”, que representa um corte na fase do prisma de uma mistura ternária (água-óleo-tensoativo), em que a quantidade de água e óleo estão constantes e há variação apenas da quantidade de tensoativo em função da temperatura.	24
Figura 11. Representação da evolução do sistema de Winsor em variação da temperatura.	24
Figura 12. Influência do cotensoativo na formação de microemulsões, (a) n-butanol, (b) n-hexanol, (c) n-octanol.	26
Figura 13. Comportamento de fase típico que mostra a transição da fase óleo em água (tipo I) com a estrutura bicontínua (tipo III) e fase de água em óleo de estrutura (tipo II), com uma relação de volume inicial de óleo para a água = 1:1.	27
Figura 14. Esquema ilustrativo do corte transversal de um lipossoma, que pode conter fármacos hidrofílicos na cavidade aquosa interna, enquanto fármacos hidrofóbicos ficam retidos na bicamada lipídica.	30
Figura 15. Estrutura geral do Tensoativo Tergitol [®] .	35

- Figura 16.** Diagramas ternários contendo tensoativo TMN6 (sistema 1), n-heptano e água à (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C. 41
- Figura 17.** Diagramas ternários contendo tensoativo TMN10 (sistema 2), n-heptano e água à (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C. 42
- Figura 18.** Diagramas pseudoternários contendo (a) tensoativo TMN6/butan-1-ol (C/T 0,5), água, n-heptano à 15 °C (sistema 3) ; (b) TMN10/ butan-1-ol (C/T 0,5), água, n-heptano e água à 25° C (sistema 4). 43
- Figura 19.** Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6/butan-1-ol (C/T=1,0) água e n-heptano à 25 °C (sistema 5); (b) TMN10/butan-1-ol (C/T=1,0), água, n-heptano e água à 15 °C (sistema 6). 44
- Figura 20.** Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6/etilenoglicol (C/T=0,5), água, n-heptano à 15 °C (sistema 9) (b) TMN10/etilenoglicol (C/T=0,5), água, n-heptano e água à 35 °C (sistema 10). 45
- Figura 21.** Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6/etilenoglicol (C/T=1,0), água, n-heptano à 35 °C (sistema 11) (b) TMN10/etilenoglicol (C/T=1,0), água, n-heptano e água à 25 °C (sistema 12). 46
- Figura 22.** Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6, água, octametilciclotetrasiloxano à 35° C (sistema 7) (b) TMN10, água octametilciclotetrasiloxano e água à 15 °C (sistema 8). 47
- Figura 23.** Estrutura química da Norfloxacin. 48
- Figura 24.** Estrutura química da Ciprofloxacina. 49
- Figura 25.** Estrutura química da Amoxicilina. 49
- Figura 26.** Placa de *Petri* contendo colônias de bactérias *Staphylococcus aureus*. 50
- Figura 27.** Diagramas utilizados nos testes biológicos contendo (a) tensoativo TMN6/etilenoglicol (C/T=0,5), água, n-heptano a 35 °C) (b) TMN10/etilenoglicol (C/T=0,5), água, n-heptano e água a 35 °C. 51
- Figura 28.** Resultados obtidos com suspensões dos compostos (a) Norfloxacin (b) Ciprofloxacina (c) Amoxicilina em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*. 52
- Figura 29.** Resultados obtidos com sistemas microemulsionados contendo (a) TMN6 e (b) TMN10 em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*. 52
- Figura 30.** Resultados obtidos com sistemas microemulsionados contendo TMN6 e compostos (a) Norfloxacin (b) Ciprofloxacina (c) 53

Amoxicilina em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*.

Figura 31. Resultados obtidos com sistemas microemulsionados 54 contendo TMN10 e compostos (a) Norfloxacin (b) Ciprofloxacina (c) Amoxicilina em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Agentes tensoativos.	8
Tabela 2. Classificação que define os vários equilíbrios existentes entre a microemulsão e as fases aquosa e oleosa.	20
Tabela 3. Especificações do tensoativo Tergitol [®] TMN.	35
Tabela 4. Composição dos sistemas testados.	40
Tabela 5. Halos de inibição médios com diferentes compostos testados para tensoativo TMN6 (sistema 9).	53
Tabela 6. Halos de inibição médios com diferentes compostos testados para tensoativo TMN10 (sistema 10).	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TMN - Tensoativo não-iônico contendo a estrutura polietilenoglicoltrimetilnonil éter

c.m.c. - concentração micelar crítica (c.m.c)

CTAC – cloreto de hexadecil-trimetilamônio

DTAB – brometo de dodeciltrimetilamônio

SDS – Dodecilsulfato de sódio

O/A – Micela óleo em água

A/O – Micela água em óleo

BHL – Balanço hidrofílico-lipofílico

ME – Micro-emulsão

WI – Winsor I

WII – Winsor II

WIII – Winsor III

WIV – Winsor IV

RESUMO

CRUZ, Kelle Gomes, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2013. **Sistemas microemulsionados à base de tensoativos hidrocarbônicos para aplicação como suportes para dispersão de compostos antibióticos.** Orientador: Alexandre Gurgel. Coorientadores: Cláudio Ferreira Lima e Sérgio Antônio Fernandes.

A solubilidade da água em substâncias lipofílicas, ou vice-versa, pode ser aumentada por meio da adição, em determinadas proporções, de moléculas anfifílicas denominadas tensoativos, que podem induzir a formação de um sistema microemulsionado a partir da redução considerável da tensão interfacial existente entre eles. Nesse trabalho foram avaliados os efeitos da temperatura, da adição de cotensoativo e da natureza do óleo para o preparo de sistemas termodinamicamente estáveis contendo os tensoativos Tergitol[®] TMN6 e TMN10, pertencentes à classe de tensoativos não-iônicos, água e óleo. Além disso foram analisadas as composições em que são formados sistemas microemulsionados por meio da construção de diagramas visando a aplicação como suporte para dispersão de compostos antibióticos. Observou-se que o tensoativo TMN6 é menos sensível à variação de temperatura que o TMN10. Comprovou-se que para ambos os tensoativos, na ausência de cotensoativo, os sistemas contendo o hidrocarboneto *n*-heptano demonstraram formação de região monofásica mais significativa que os contendo óleo siliconado. Também notou-se que os cotensoativos butan-1-ol e etilenoglicol utilizados neste estudo possuem a capacidade de evitar a formação de estruturas líquido-cristalinas (géis). Os compostos antibióticos Norfloxacin, Ciprofloxacina e Amoxicilina foram testados nas formas livre e micro-emulsionada comprovou-se então que o sistema microemulsionado contendo TMN6 reduziu a atividade de todos. O sistema microemulsionado contendo TMN10 ampliou a atividade de dois dos compostos testados. A análise estatística demonstrou que o antibiótico Ciprofloxacina contendo TMN10 apresentou resultado significativo. Assim, este estudo mostrou que é possível a microemulsão aumentar a atividade de um antibiótico, ou torná-lo seletivo, de acordo com as composições usadas.

ABSTRACT

CRUZ, Kelle Gomes, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, august, 2013. **Systems microemulsified based hydrocarbon surfactants for application such as supports for dispersing antibiotic compounds.** Adviser: Alexandre Gurgel. Co-advisers: Cláudio Ferreira Lima and Sérgio Antônio Fernandes.

The solubility of water in lipophilic substances, or vice-versa, can be enhanced upon addition of amphiphilic molecules in determined amounts. These compounds are known as surfactants, and can promote the formation of microemulsions by substantially decreasing the interfacial tension between them. In this work, the effects of temperature, amount of cosurfactant and type of oil were assessed in the preparation of self-assemblies, particularly microemulsions, which are regarded as thermodynamically stable systems. They comprise the commercial nonionic surfactants Tergitol[®] TMN6 and Tergitol[®] TMN10, water, cosurfactant and oil in different, specific compositions. Phase behavior studies were conducted to determine the best conditions under which microemulsions can be formed, by means of pseudoternary phase diagrams. The main purpose is to propose their use as templates for the dispersion of antibiotic agents, and compare the efficiency of these novel formulations with the ones obtained by common procedures that do not involve the use of microemulsions. It could be observed that the surfactant TMN6 is less sensitive to temperature changes than TMN10. For both surfactants, in the absence of cosurfactant, the effect of the type of oil is remarkable, in that systems containing n-heptane as oil can be stable over a broader range of composition than systems prepared with a silicone oil. It could also be concluded that the formation of liquid-crystalline systems, or gels, is impaired with the use of butan-1-ol and ethyleneglycol as cosurfactants. The antibiotic agents norfloxacin, ciprofloxacin and amoxicillin were tested in free and microemulsified media. It was demonstrated that TMN6 microemulsions tend to diminish the activity of all antibiotics tested, but TMN10 systems can enhance the action of two of them. A statistical analysis was carried out with the data obtained in the biological assays, further proving that TMN10 systems containing ciprofloxacin are significant. It has then been shown by this study that microemulsions can be effectively employed as templates for antibiotic formulations,

whose activity can be increased or optimized, by rendering them selective, according to the established experimental conditions.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis que tendem a quebrar ao longo do tempo, devido a uma variedade de propriedades físico-químicas e mecanismos de separação, por exemplo, a gravidade, floculação e coalescência (WEISS e McCLEMENTS, 2000). No entanto, o conceito dessa imiscibilidade passou por modificações, tendo sido comprovado que a adição de um terceiro componente em um sistema composto por dois líquidos que sejam entre si parcialmente ou totalmente imiscíveis (como é o caso de óleo e água) pode resultar no aumento (ou diminuição) da miscibilidade destes líquidos (ROSSI *et al.*, 2007).

Desse modo, uma estratégia que tem sido considerada eficaz para solubilizar a água e óleo é a adição de moléculas anfifílicas (BAUER *et al.*, 2010) denominadas tensoativos, que induzem a formação de um sistema microemulsionado que tem a capacidade de solubilizar óleo e água simultaneamente a partir da redução da tensão interfacial existente entre eles (BERA *et al.*, 2011).

Tem havido um crescente interesse na literatura sobre sistemas microemulsionados, essencialmente a partir das suas múltiplas e potenciais aplicações nos vários ramos da ciência moderna e da tecnologia. Como exemplos da utilização de microemulsões podem ser mencionados diversos trabalhos, como a recuperação de óleo terciário (XENAKIS e TONDRE, 1983; DOGRA e RAKSHIT, 2004); o desenvolvimento de nanocompósitos de semicondutores (ROMIO, 2011); purificação e extração de biomoléculas (MANDAL *et al.*, 2013) tais como aminoácidos (ADACHI *et al.*, 1991); transferência de agentes na separação de processos hidrometalúrgicos (TONDRE e DEROUICHE, 1989); entre outros.

O método de preparo de microemulsão é uma rota versátil que pode ser usada para controlar o tamanho das partículas, a geometria, a morfologia, a homogeneidade e área de superfície (WANI *et al.*, 2010), despertando por exemplo o interesse na tecnologia farmacêutica, devido ao seu considerável potencial para atuar como veículos de entrega de droga por meio da incorporação de uma grande variedade de moléculas na microemulsão (DANTAS *et al.*, 2009).

As microemulsões têm potencial para sistemas de entregas de substâncias que são normalmente de utilização limitada devido à sua hidrofobia, toxicidade ou incapacidade de acessar o sítio da ação, contudo, existe um número limitado de relatos na literatura sobre o uso de microemulsão para fins antimicrobianos (ZHANG *et al.*, 2010).

Apesar dos estudos existentes sobre nanopartículas utilizando microemulsões, não há, na literatura, estudo sobre preparação de nanopartículas antibióticas, através de sistemas de microemulsão, usando tensoativos não-iônicos da linha Tergitol[®]. Isto levou a estudar o preparo de nanopartículas de antibióticos, utilizando microemulsões não-iônicas, e a monitorar sua atividade antibiótica. Desta forma, este trabalho tornou-se relevante não só pela disponibilidade de dados experimentais que justifiquem a utilização de sistemas microemulsionados, mas também pela sua contribuição no aprimoramento e desenvolvimento da área em estudo.

Este trabalho foi dividido em oito tópicos. Primeiro foi apresentada uma **introdução geral** e no segundo tópico estão apresentados os **aspectos teóricos e revisão de literatura** referentes às microemulsões, tensoativos e microemulsão aplicada à compostos antimicrobianos. Fundamentalmente, este tópico consiste no levantamento dos conceitos e aplicações, como também do estado da arte relacionado à área de atuação do trabalho, que serviram de fundamentação para o desenvolvimento do mesmo.

O terceiro tópico exibe uma descrição detalhada dos **objetivos** gerais e específicos do estudo.

O quarto tópico contempla uma **justificativa** para o estudo.

A **metodologia experimental** é mostrada no quinto tópico, que inclui os materiais, os equipamentos, as condições, as técnicas e os procedimentos experimentais empregados neste trabalho.

Os **resultados e discussões** são abordados no sexto tópico.

Por fim, no sétimo e oitavo tópicos, são apresentadas as **conclusões** e as **referências bibliográficas**, respectivamente.

2. ASPECTOS TEÓRICOS E REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos teóricos sobre sistemas microemulsionados

2.1.1. Introdução

O termo "microemulsão" foi introduzido na literatura por Hoar e Shulman, em 1943, ao descreverem sistemas transparentes formados espontaneamente quando óleo e água eram misturados com quantidades relativamente grandes de tensoativo iônico misturado a um álcool de cadeia média (de 3 a 8 átomos de carbono), usualmente referido como cotensoativo (FORMARIZ, 2005; GANGULI *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2004). Seus trabalhos são o ponto de partida para a compreensão sistemática das microemulsões. A partir disso, a generalização e aplicações destes sistemas se difundiu no início dos anos 1970, com a sua utilização para a recuperação avançada de petróleo durante a crise de energia (NAJJAR, 2012).

Atualmente as microemulsões são classificadas como macroscopicamente monofásicas, termodinamicamente estáveis, fluidas, multicomponentes com claridade óptica, e misturas isotrópicas de óleo, água e tensoativo, frequentemente em combinação com um agente cotensoativo. Tais sistemas geralmente formam-se espontaneamente, apresentando agregados estruturais muito menores do que o comprimento de onda de luz, que é a razão para a sua transparência (ROSSI *et al.*, 2007).

A formação e estabilidade da microemulsão são dirigidas por uma diminuição da tensão interfacial para compensar o grande aumento na entropia de dispersão (BERA *et al.*, 2011). A estabilidade das microemulsões impedem a separação de fases por períodos mensurados em anos, ao contrário das macroemulsões, onde a aparência leitosa é resultado de partículas emulsionadas, e a separação de fase ocorre tipicamente entre horas e semanas depois que a emulsão é preparada (AJITH e RAKSHIT, 1996).

Os tensoativos são compostos orgânicos que possuem comportamento anfifílico (PENTEADO *et al.*, 2006). A preferência dos grupos anfifílicos por um ambiente aquoso ou apolar é responsável pelo fenômeno de auto-associação do

tensoativo, resultando em uma variedade de estruturas micelares agregadas (BLANKSCHTEIN *et al.*, 1986). A natureza e a estrutura do tensoativo, cotensoativo e óleo são fatores essenciais na formulação e nas características físico-químicas dos sistemas microemulsionados (FORMARIZ *et al.*, 2005; AJITH e RAKSHIT, 1995).

Devido às suas estruturas e propriedades, substâncias tensoativas em presença de água e óleo, adsorvem-se nas interfaces orientando-se de maneira que o grupo polar fique voltado para a fase aquosa e o grupo apolar para a fase oleosa, formando um filme molecular ordenado nas interfaces, que reduz as tensões interfacial e superficial (ROSSI *et al.*, 2007, PROSSER e FRANCES, 2001), assim, são capazes de solubilizar uma variedade de substâncias polares e não polares em seus nanodomínios (MANDAL *et al.*, 2013).

A obtenção de filmes moleculares ordenados permite a inserção de diversas moléculas em um meio que não seria compatível com elas, na ausência das estruturas auto-organizadas. Isto permite ampla aplicação científica e tecnológica desses sistemas, por exemplo, como agentes de liberação lenta de compostos químicos. Diversos setores demandam compostos com estas características. Nesse aspecto, a ação de soluções de fármacos pode ser acelerada ou retardada dependendo da solubilidade ou permeabilidade do veículo (OLIVEIRA e LIMA, 2006). A utilização de microemulsões na tecnologia farmacêutica é relativamente recente e tem despertado grande interesse como sistema de liberação de drogas no organismo (MENDONÇA, 2005).

Assim, substâncias tensoativas são ingredientes importantes em muitos produtos industrializados e possuem um papel de destaque em vários processos industriais, como na produção de fármacos, detergentes, óleos para automóveis, emulsificantes, compostos agroquímicos, entre outros (TAVARES *et al.*, 2011).

2.1.2. Tensoativos

Surfactante (tensoativo) é uma palavra derivada da contração da expressão “surface active agent”, termo que significa, literalmente, agente de atividade

superficial, ou seja, é um composto caracterizado pela capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido (BARROS *et al.*, 2007).

Tensoativos são compostos orgânicos que têm comportamento anfifílico, isto é, possuem duas regiões coexistindo em uma única molécula, uma hidrofóbica e outra hidrofílica, e usualmente são empregados para render estabilidade a emulsões (PENTEADO *et al.*, 2006; SAJJADI *et al.*, 2004). Essa dupla natureza, característica comum a todos os agentes tensoativos, resulta numa solução única e de favoráveis propriedades (HUIBERS, 1990).

A grande maioria dessas substâncias que atuam ativamente nos processos de adsorção em interfaces líquido-líquido, líquido-gás ou sólido-líquido de um dado sistema (HUNTER, 1992 *apud* ROSSI *et al.*, 2007), é sintetizada e comercialmente disponível a partir de derivados de petróleo (BARROS *et al.*, 2008). A estrutura genérica de um tensoativo está representada na Figura 1.

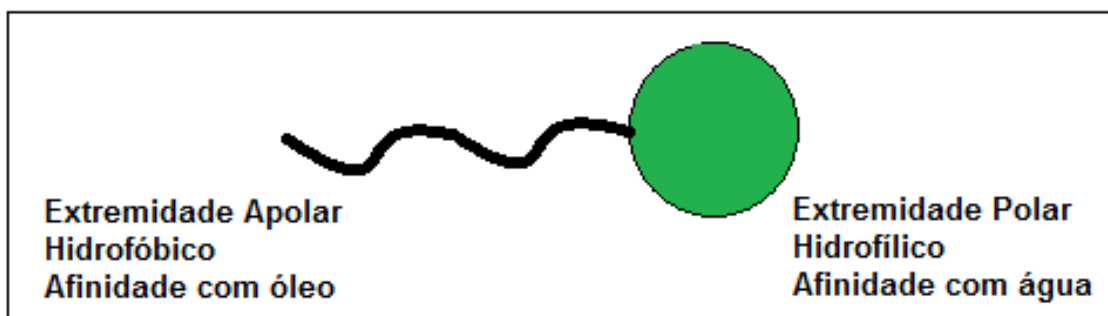


Figura 1. Representação esquemática de um tensoativo (*adaptado de* ROSSI *et al.*, 2007).

Um tensoativo típico possui a estrutura R-X, onde R pode ser uma cadeia de hidrocarboneto variando de 8 –18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo cabeça, polar (ou iônico), sendo esta a porção que o irá classificar (GURGEL, 2004; da SILVA, 2008). Dependendo de X, os tensoativos podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros (MANIASSO, 2001). A Figura 2 mostra uma representação esquemática da classificação dos tensoativos citados.

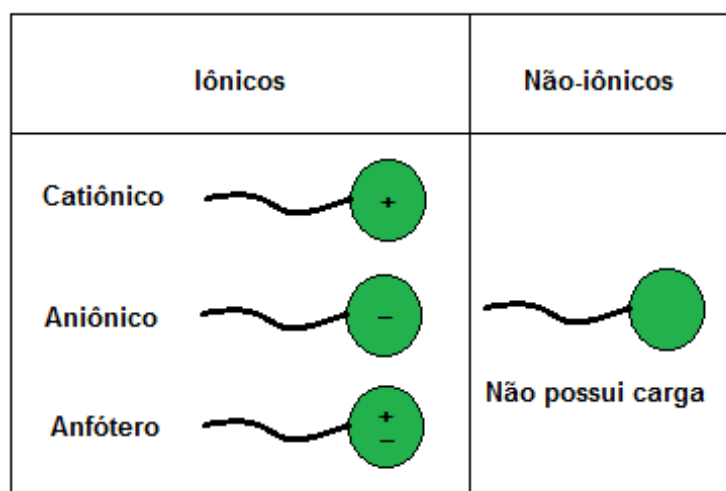


Figura 2. Representação esquemática dos tensoativos (*adaptado de ROSSI et al., 2007*).

À baixa concentração, os tensoativos existem somente como monômeros que irão acumular-se nas interfaces presentes. Contudo, quando as áreas interfaciais tornam-se saturadas e a concentração de tensoativos aumenta, os monômeros agregam-se no seio da solução longe das interfaces, formando micelas. A concentração em que as micelas começam a se formar é denominada concentração micelar crítica (c.m.c) (DESHPANDE *et al.*, 2001). A formação de microestruturas em soluções aquosas de tensoativos é um fenômeno comum de auto-organização molecular, como forma de atingir a estabilidade termodinâmica (FORMARIZ *et al.*, 2005).

Reações químicas podem ser otimizadas na presença de tensoativos. Em catálise micelar, por exemplo, tensoativos são frequentemente empregados para modificar o meio reacional, ou seja, a posição de equilíbrio das reações químicas, e em alguns casos sua estereoquímica, dependendo da natureza da reação, do tipo de reativo e da forma micelar (MANIASSO, 2001). Um fenômeno importante promovido por tensoativos e seus agregados, que explica tais modificações em um meio reacional, é a alteração das taxas de difusão molecular no meio, permitindo acelerar as reações químicas através da solubilização de espécies que apresentam baixa interação com o meio ou entre si (MANIASSO, 2001).

Recentemente o desenvolvimento de formas farmacêuticas tem focado o uso de lecitina, e alguns estudos recentes têm mostrado a utilização de

microemulsões contendo triglicerídeos como veículos e um cos-solvente (TROTTA *et al.*, 2002). Fosfolípídeos como a fostatidilcolina são tensoativos que possuem grande biocompatibilidade, não apresentando, independente da via de administração, problemas de toxicidade, sendo bastante utilizados para medicamentos via oral. Trata-se de tensoativos naturais, e devido esta característica, eles são rapidamente difundidos na interface óleo-água (ALBOOFAZELI *et al.*, 2000). A tabela 1 indica alguns agentes tensoativos empregados de acordo com sua classificação.


TIPO	AGENTE TENSOATIVO	FÓRMULA
CATIÔNICOS	Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$
	Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$
	Cloreto de cetilpiridino (CICP)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{C}_5\text{H}_5)\text{Cl}^-$
ANIÔNICOS	Dodecil sulfato sódico (SDS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^- \text{Na}^+$
	Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato sódico (Aerosol OT)	$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2\text{OCO}]_2\text{CHSO}_3^- \text{Na}^+$
	Dihexadecil fosfato (DHF)	$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}]_2\text{PO}_2^-$
NÃO-IÔNICOS	Polioxietileno (9-10) p-tercotil fenol (Triton X-100)	$(\text{CH}_2)_3\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{CH}_2)_2$  $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}$
	Polioxietileno (23) dodecanol (brij 35)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{23}\text{OH}$
ANFÓTEROS	3-(dodecildimetil amônio) propano 1-sulfato (SB-12)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{OSO}_3^-$
	4-(dodecildimetil amônio) butirato (DAB)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-$

Tabela 2 - Agentes tensoativos (MANIASSO, 2001)

Para qualquer aplicação dos tensoativos deve-se avaliar as questões relacionadas em cada caso especial, tais como a toxicidade, estabilidade e desempenho dos tensoativos que estão estreitamente relacionadas com a sua estrutura (DIAS e LINDMAN 2008 *apud* NAJJAR, 2012).

2.1.2.1. Tensoativos catiônicos

Tensoativos catiônicos são aqueles que possuem um ou mais grupos funcionais que, em solução aquosa, dissociam-se formando íons carregados positivamente, e contra-íons negativos. Os mais importantes contêm átomos de nitrogênio quaternário em sua estrutura, como o cloreto de hexadecil-trimetilamônio (CTAC) e brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) (ROSSI *et al.*, 2007; da SILVA, 2008).

Os tensoativos catiônicos, com um consumo de cerca de 700 mil toneladas por ano, têm muitas aplicações, tais como amaciantes, aditivos de asfalto, inibidores de corrosão, biocidas, produtos auxiliares têxteis, e assim por diante (BAGHA e HOLMBERG, 2010). Eles se adsorvem com efeito prolongado em vários substratos, e por isso, mudam as propriedades da superfície, o que é importante em muitas aplicações. Uma vez que a maioria de todas as superfícies possuem carga negativa (metais, minerais, plásticos, membranas celulares, etc), os principais usos desses tensoativos relacionam com a sua tendência para adsorver a estas superfícies. Acredita-se que a toxicidade destes agentes tensoativos resulta de sua tendência para interagir fortemente com carga de superfície negativa, incluindo as membranas lipídicas e células biológicas (BAGHA e HOLMBERG, 2010, PERSSON, 2012).

2.1.2.2. Tensoativos aniônicos

Os tensoativos aniônicos apresentam cargas elétricas na parte hidrofílica e ao se dissociarem em água, formam íons. Dentre os tensoativos aniônicos, os mais importantes deste grupo são os sabões sulfonados e sulfatados (ROSSI *et al.*, 2007; da SILVA, 2008).

Tensoativos aniônicos são a classe mais produzida (60% da produção mundial) e são mais baratos de fabricar. São utilizados principalmente na formulação de detergentes (PERSSON, 2012). O tensoativo dodecilsulfato de sódio (SDS) é um exemplo de tensoativo aniônico, geralmente usado em produtos industriais, cosméticos e para higiene, como pastas de dentes, xampus, cremes de barbear, detergentes, dentre outros (WATANABE *et al.*, 2005).

2.1.2.3. Tensoativos não-iônicos

Os tensoativos não-iônicos são derivados do polioxietileno e polioxipropileno, e constituem a segunda maior classe de tensoativos produzidos (MANIASSO, 2001; PERSSON, 2012). Esta classe de tensoativos não fornece íons em solução aquosa e sua solubilidade em água se deve à presença de grupos funcionais que possuem forte afinidade pela água, como alcoóis, glicóis, éteres e ésteres (ROSSI *et al.*, 2007; VIANA, 1992; *apud* da SILVA, 2008).

2.1.2.4. Tensoativos anfóteros

Tensoativos anfóteros (*zwitteriônicos*) constituem a menor classe de tensoativos e são conhecidos por terem excelentes efeitos dermatológicos (PERSSON, 2012). São os tensoativos que, em condições relativamente neutras de pH, contêm tanto carga negativa quanto carga positiva (ROSSI *et al.*, 2007) equilibradas, e seu caráter é afetado quando o pH do meio sofre alterações. Para pH menor que 4, eles se comportam como tensoativos catiônicos (carregados positivamente); para pH entre 4 e 9, eles se comportam como tensoativos não-iônicos (carga total neutra); e para pH acima de 9 se comportam como tensoativos aniônicos (carregados negativamente). Como os principais representantes desta classe, citam-se as betaínas e os aminoácidos (ROSSI *et al.*, 2007).

2.1.3. Micelas

Uma das propriedades fundamentais dos tensoativos é a tendência de formar agregados chamados micelas que, geralmente, se formam a baixas concentrações em água (BARROS *et al.*, 2007). As micelas são termodinamicamente estáveis e facilmente reprodutíveis, e não são estáticas, existindo simplesmente como um agregado (MANIASSO, 2001).

Em presença de um solvente hidrofílico as caudas hidrofóbicas se agregam e as cabeças hidrofílicas ficam expostas ao solvente, entretanto, em presença de solvente hidrofóbico são formadas micelas reversas, em que as cabeças hidrofílicas se agregam e as caudas hidrofóbicas ficam expostas ao solvente, como

demonstrado nas figuras 3a e 3b, respectivamente. A agregação de tensoativos podem ainda formar estruturas mais complexas, como agregados cilíndricos ou de camada dupla (CABRAL, 2012).

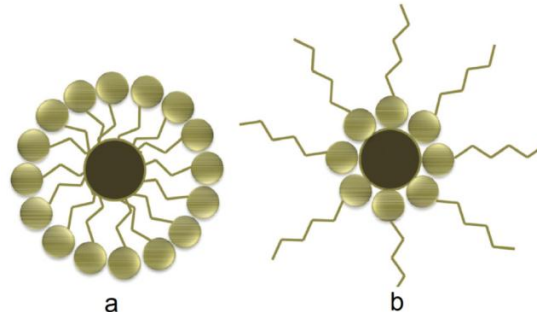


Figura 3- Representação esquemática da estrutura das micelas (a), uma micela normal e (b), uma micela reversa (BORGES e MACHADO, 2013).

A concentração mínima na qual se inicia a formação de micelas chama-se concentração micelar crítica (c.m.c.), sendo uma importante característica de um tensoativo (BARROS *et al.*, 2007). Abaixo da c.m.c., o tensoativo está predominantemente na forma de monômeros; quando a concentração está abaixo, porém acima da c.m.c., existe um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas, como mostra a figura 4 (MANIASSO, 2001).

A combinação destas propriedades distintas confere à molécula características únicas na dissolução aquosa. Em concentrações acima da c.m.c. as micelas possuem um diâmetro entre 3-6 nm o que representa de 30 a 200 monômeros (MANIASSO, 2001). A c.m.c. depende da estrutura do tensoativo (tamanho da cadeia do hidrocarboneto) e das condições experimentais (força iônica, contra-íons, temperatura, etc) (MANIASSO, 2001).

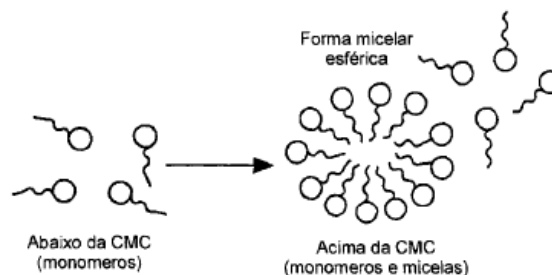


Figura 4 - Formação do agregado micelar (BORGES e MACHADO, 2013).

2.1.4. Microemulsões

Tem sido considerado que fluidos opticamente transparentes, isotrópicos de dispersões de óleo em água consiste de uniformes gotículas esféricas de óleo ou de água, na apropriada fase contínua, que são birrefringentes e viscoelásticas (Schuman *et al.*, 1959 *apud* ROSSI *et al.*, 2007).

Microemulsões são soluções monofásicas, termodinamicamente estáveis (DANTAS *et al.*, 2009), em que dois líquidos imiscíveis (água e óleo), ou seja, solventes polares e não polares (MANDAL *et al.*, 2013) são dissolvidos em uma única fase, por meio da adição de um tensoativo apropriado ou uma mistura de tensoativos (SOLANS e CELMA, 1997) e frequentemente um componente co-tensoativo (usualmente um álcool de comprimento de cadeia médio) (GRADZIELSKI e HOFFMANN, 1993).

Biais e colaboradores (1981) *apud* Rania e colaboradores (2012) descreve que independentemente do modelo geométrico, é possível recorrer ao modelo chamado de pseudofase para descrever a distribuição dos componentes entre os diferentes domínios nas microemulsões. Segundo estes autores, embora a microemulsão seja um sistema monofásico, é formalmente considerado que consiste em três pseudofases: uma fase orgânica que contém hidrocarboneto, álcool, e pequenas quantidades de água dissolvida, uma fase aquosa contendo água e um pouco de álcool dissolvido, e uma região interfacial que contém as moléculas anfifílicas e quantidades variáveis do álcool.

Num nível microscópico, as moléculas do agente tensoativo separam o óleo e água em duas subfases por adsorção na interface como um película interfacial (DEEN *et al.*, 2009), formada por uma monocamada de agente tensoativo adsorvido (KEGEL e LEKKERKERKER, 1993). Sendo usualmente soluções de baixa viscosidade (HOAR e SCHULMAN, 1943 *apud* PAUL e MOULIK, 2001), as microemulsões são macroscopicamente homogêneas e microscopicamente heterogêneas devido à monocamada de um tensoativo, que separa os domínios entre a água e óleo (SOLANS e CELMA, 1997).

Em função de sua composição química, as microemulsões apresentam uma variedade estrutural de microgotículas dispersas e dinâmicas, que possuem um

diâmetro variando entre 1-100 nm e uma camada mononuclear anfifílica que envolve as microgotículas como uma membrana (DEEN *et al.*, 2009; ROSSI *et al.*, 2007).

Estruturas de diferentes tipos podem ser formadas variando, por exemplo, a partir de microemulsões esféricas e cilíndricas para as fases lamelares e microemulsões bicontínuas, que podem coexistir com fases oleosas ou aquosas (GAO *et al.*, 2009). As microemulsões podem ser do tipo óleo-em-água (O/A), onde o sistema é rico em água e as microgotículas são diretas; ou do tipo água-em-óleo (A/O), onde o sistema é rico em óleo e as microgotículas são chamadas de inversas (FORMARIZ *et al.*, 2005; ROSSI *et al.*, 2007). A Figura 5 mostra um esquema genérico desse comportamento.

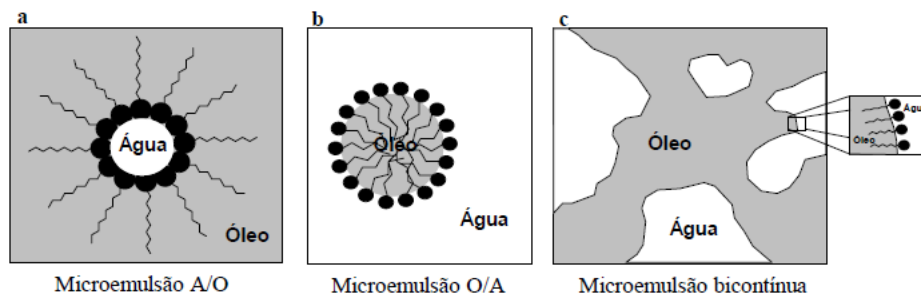


Figura 5. Representação esquemática das estruturas de (a) microemulsão água em óleo, (b) microemulsão óleo em água e (c) microemulsão bicontínua (GOMES, 2010).

2.1.4.1. Formação de microemulsões

A diferença mais significativa entre macroemulsão (cineticamente estável) e microemulsão (termodinamicamente estável) reside no fato de que realizar o trabalho mecânico em macroemulsões ou aumentar a concentração de tensoativo geralmente melhora sua estabilidade, mas este não é o caso com os sistemas microemulsionados, os quais são formadas relativamente de modo espontâneo, devido a interações específicas entre os constituintes das moléculas de óleo e água na interface (ROSANO *et al.*, 1989).

Na maioria dos casos, as microemulsões podem ser consideradas como “micelas inchadas” termodinamicamente estáveis. No entanto, a fim de se obter a formação espontânea, as barreiras de energia cinética precisam ser superadas, o que explica o procedimento e ordem de adição dos agentes tensoativos, que regem

a formação destes sistemas transparentes (ROSANO *et al.*, 1989). Tomando como exemplo, um sistema de microemulsão de óleo-em-água, o modelo para a microgotícula pode ser descrito como um núcleo oleoso rodeado por um invólucro interfacial onde o tensoativo e parte do cotensoativo estão presentes (ROSANO *et al.*, 1989).

2.1.4.2. Termodinâmica de formação de microemulsões

A termodinâmica da formação de microemulsão não foi investigada de forma significativa (KERTES, 1982; LAI e KERTES, 1992; MOULIK *et al.*, 1988 *apud* MOULIK e RAY, 1994), portanto, tais estudos são importantes. Os primeiros dados termodinâmicos precisos sobre sistema de microemulsão foram relatados em 1960 (NAJJAR, 2012). A solubilização de água em óleo ou de óleo em água, embora não seja físico-quimicamente natural, pode ser feita na presença de agentes tensoativos e pode ser quantificada através de considerações termodinâmicas (MUKHERJEE *et al.*, 1997).

Do ponto de vista físico-químico a formação de uma microemulsão é um pouco diferente das emulsões, pois além de as microemulsões serem transparentes e termodinamicamente estáveis, apresentam um tamanho de gotículas nanométrico (DAMASCENO *et al.*, 2011). A estabilização de microemulsões requer baixa solubilidade do tensoativo nas fases aquosa e oleosa, resultando na adsorção do tensoativo na interface óleo-água para provocar abaixamento da tensão interfacial (WASAN *et al.*, 1998).

A tensão interfacial (denotada por γ) é uma força que atua sobre uma superfície, perpendicularmente e para dentro, a partir dos limites da superfície, (HIEMENZ e RAJAGOPALAN, 1997). A tensão interfacial, dada pela equação 1 é definida pelo excesso de energia livre de Gibbs (G) por unidade de área interfacial (A), em relação às fases de contato (HIEMENZ e RAJAGOPALAN, 1997; CABRAL, 2012).

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right) \quad (1)$$

A lei da termodinâmica diz que a energia livre de Gibbs deve se tornar negativa para a formação espontânea de uma microemulsão termodinamicamente estável. Esse fenômeno pode ser expresso conforme a Equação 2.

$$\Delta G = \gamma \Delta A \quad (2)$$

Onde ΔA é a variação da área interfacial. Como a área interfacial não pode ser 0 (zero), a tensão interfacial deve diminuir a um ponto que a energia livre do sistema também diminua. Para a formação da microemulsão, a γ tem uma tendência para se aproximar de zero; conseqüentemente, a variação de energia livre também tende a zero e, com isso, o sistema fica estável termodinamicamente ($\Delta G \rightarrow 0$). Quando a γ for negativa, ΔG será < 0 e a microemulsificação será espontânea (CABRAL, 2012).

Uma tensão interfacial muito baixa entre óleo e água é um pré-requisito para a formação de microemulsões. A adsorção do tensoativo na área interfacial causa uma pressão bidimensional que diminui a tensão interfacial (DAMASCENO *et al*, 2011, FANU, 2011).

Na adsorção as moléculas unem-se à superfície do adsorvente e tendem a se acomodar em sítios que propiciem um número de coordenação máxima com o substrato (ATKINS e PAULA, 2011). Neste caso, a interface expande-se espontaneamente adsorvendo todas as moléculas de tensoativo até que um pequeno valor de tensão interfacial seja atingido.

Admitindo uma racionalização termodinâmica simplificada, considera-se que a energia livre de formação da microemulsão depende fundamentalmente de dois fatores: (i) da capacidade do tensoativo de reduzir a tensão interfacial, e (ii) da variação da entropia do sistema (GOMES, 2010), os quais estão resumidamente apresentados na equação 3,

$$\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S_{conf} \quad (3)$$

em que ΔG_f é a energia livre de formação, γ é a tensão interfacial, ΔA é a variação da área interfacial durante o processo de formação de microemulsão, ΔS é a variação de entropia configuracional do sistema, e T é a temperatura. O aumento da área interfacial (ΔA) é indispensável para a formação de gotículas de água em óleo, ou óleo em água.

O segundo termo ($-T\Delta S$) é a entropia configuracional, resultante do aumento de possíveis configurações resultantes da produção de um grande número de gotículas; desta forma, a estabilidade das microemulsões decorre das contribuições favoráveis de entropia devido à mistura de uma fase em outra. Esse termo, sendo negativo, realmente ajuda na formação de microemulsões, pois ele compensa o aumento da área interfacial, contribuindo de forma significativa para que a energia livre de formação seja menor que zero (CABRAL, 2012).

De acordo com Tadros e colaboradores (1980) a variação da entropia configuracional (ΔS_{conf}) pode ser aproximadamente expressa como:

$$\Delta S_{conf} = -nk_B \left[\ln \phi + \left\{ \frac{(1-\phi)}{\phi} \right\} \ln(1-\phi) \right] \quad (4)$$

Onde n é o número de gotículas dispersas na fase, k_B é a constante de Boltzmann e ϕ é fração de volume da fase dispersa.

2.1.4.3. Razão R

A razão R foi inicialmente proposta por Winsor (1948) para demonstrar a influência de moléculas anfifílicas e solventes na curvatura interfacial, forma uma primeira concepção relatada pela energia de interação entre camada anfifílica e regiões oleosas e aquosas. Entretanto, segundo o autor, a razão R compara a

tendência de um composto anfifílico disperso no óleo, com sua tendência para se dissolver em água.

Winsor (1948) expressou qualitativamente esta variação e tendência de dispersão por:

$$R = \frac{A_{co}}{A_{cw}} \quad (5)$$

A primeira concepção de Winsor (1948) para a razão R de energias de coesão estima a atração entre o solvente C e fase oleosa O na fase solubilizada (A_{co}) pela atração entre o solvente C e fase aquosa W na fase solubilizada (A_{cw}), determinando a curvatura preferencial. Assim, se $R > 1$, a interface tende para aumento da área de contato com a fase óleo e diminuição de contato com a fase aquosa, formando uma fase contínua oleosa correspondendo a características do sistema Winsor tipo II. Do mesmo modo, se $R < 1$, a interface tende para o aumento da área de contato com a fase água e redução de contato com a fase oleosa, resultando na formação de uma fase contínua aquosa, correspondendo ao sistema Winsor tipo I. Contudo, o balanço interfacial é representado por $R = 1$, formando estruturas bicontínuas, características correspondentes ao sistema Winsor tipo III.

2.1.4.4. Diagrama de fases

O diagrama de fases, mostrado na figura 6, permite descrever em que condição é possível obter microemulsões e as regiões limites de transição entre emulsões, fases separadas e microemulsões O/A e A/O (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Os diagramas ternários são considerados ferramentas gráficas e não uma simples representação gráfica, pois oferecem não só a possibilidade de interpretar os dados, mas também a de utilização de suas propriedades. A ferramenta gráfica descrita produz um diagrama triangular equilátero com três variáveis associadas, dessa forma a soma dessas variáveis será sempre 100% (ALMEIDA *et al.*, 2004; GIANNETTI *et al.*, 2007).

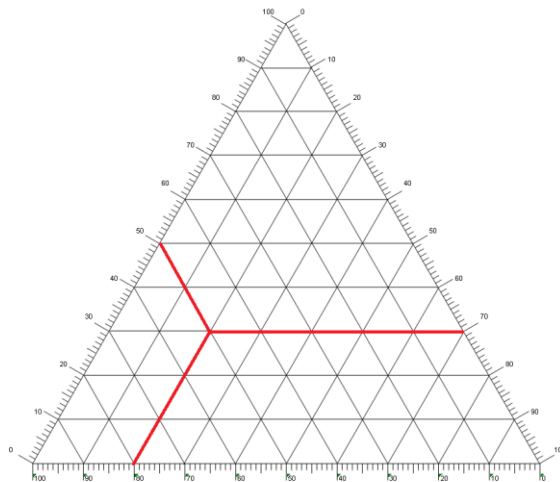


Figura 6. Diagrama ternário

2.1.4.4.1. Sistemas ternários

Os diagramas ternários (Figura 7) representam diretamente microemulsões formadas por três constituintes: água, óleo e tensoativo, onde em um diagrama triangular, cada componente assume um dos vértices do triângulo. Sendo assim, de acordo com as condições e proporções dos constituintes, podem-se delimitar as regiões de microemulsão (ALMEIDA *et al.*, 2004). Este método é extensivamente utilizado em ciências físicas, e baseia-se nas propriedades geométricas de triângulos equiláteros (ALMEIDA *et al.*, 2004).

Associado a microemulsões os diagramas ternários permitem mapear a presença de diferentes estruturas como classificado por Winsor (1948): Winsor I (O/W), Winsor II (W/O), Winsor III (fase secundária ou microemulsão bicontínua) e sistemas de Winsor IV que são formadas alterando a curvatura da interface com a ajuda de diferentes fatores, tais como a salinidade, temperatura, etc.

A construção de diagramas de fases pode ser uma ferramenta fundamental para caracterizar em que condições experimentais as microemulsões existem e em que proporções dos componentes outras estruturas podem estar presentes (FORMARIZ *et al.*, 2005). As microemulsões são representadas através de diagramas de fase ternários, quaternários e pseudoternários.

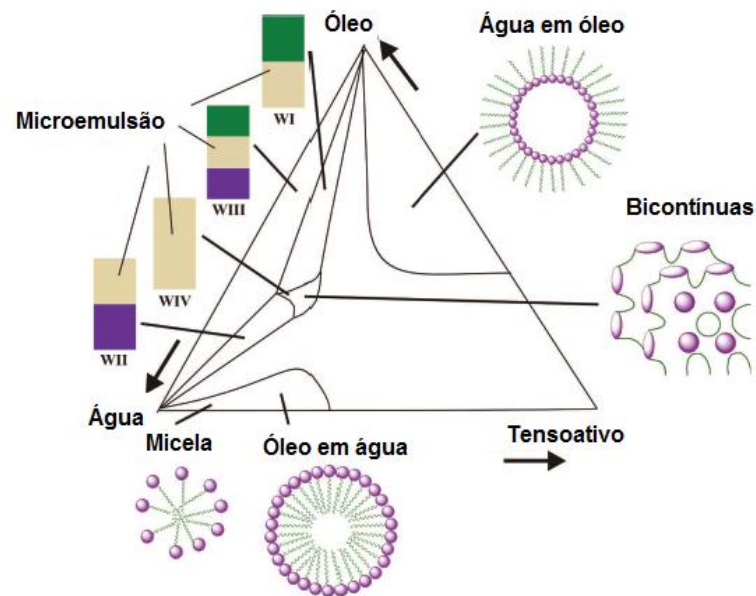


Figura 7. Diagrama ternário hipotético mostrando esquematicamente uma microemulsão adaptado de NAJJAR, 2012.

2.1.4.4.1.1. Sistemas de Winsor

Os sistemas microemulsionados podem existir em equilíbrio com outras fases, aquosa ou orgânica, formando sistemas multifásicos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Winsor (1948) propôs um sistema de classificação que define os vários equilíbrios existentes entre a microemulsão e as fases aquosa e oleosa. Quando a água e um líquido orgânico são misturados com uma quantidade adequada de um componente anfifílico, existem quatro principais tipos de equilíbrio que esse sistema pode proporcionar.

- ✓ Winsor I – Um líquido orgânico em excesso (fase oleosa) contendo apenas pequenas proporções de outros componentes do sistema está em equilíbrio com uma solução contendo água, óleo e componente anfifílico (fase microemulsionada), tipicamente do tipo óleo em água.
- ✓ Winsor II – Água ou uma solução aquosa salina em excesso, contendo apenas pequenas proporções de outros componentes no sistema, está em equilíbrio

com uma solução contendo líquido orgânico, água e componente anfifílico (fase microemulsionada), tipicamente do tipo água em óleo.

- ✓ Winsor III – Fases aquosa e oleosa livres estão em equilíbrio com uma terceira fase solubilizada contendo líquido orgânico, água e componente anfifílico (fase microemulsionada), podendo ser do tipo bicontínua.
- ✓ Winsor IV – Sistema do tipo IV contendo fase aquosa e oleosa não livres, sendo que líquido orgânico, água e componente anfifílico (fase microemulsionada) estão mutualmente solubilizados. Trata-se apenas de uma microemulsão, que pode ser de qualquer tipo.

Assim um sistema do tipo I pode ser considerado como um sistema do tipo IV em equilíbrio com excesso de fase oleosa. Um sistema do tipo II é ao mesmo tempo um sistema do tipo IV em equilíbrio com excesso de fase oleosa, enquanto um sistema do tipo III pode ser considerado um sistema do tipo IV em equilíbrio com excesso de fase oleosa e fase aquosa (WINSOR, 1948). Na Tabela 2 estão representados os quatro tipos de sistemas estabelecidos.



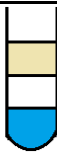
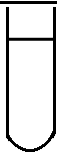
Distribuição de Winsor			
<i>Winsor I</i>	<i>Winsor II</i>	<i>Winsor III</i>	<i>Winsor IV</i>
Equilíbrio entre a fase emulsionada com a fase oleosa em excesso.	Equilíbrio entre a fase emulsionada e a fase aquosa em excesso.	Três fases em equilíbrio, óleo, emulsão e água.	É um sistema em que apenas existe a fase microemulsão.
			
*Fase emulsionada (transparente), fase oleosa (bege) e fase aquosa (azul).			

Tabela 2. Classificação que define os vários equilíbrios existentes entre a microemulsão e as fases aquosa e oleosa*

2.1.4.4.2. Sistemas pseudoternários

Um sistema pseudoternário possui aspecto de diagramas ternários, contudo é constituído por quatro componentes, onde agrupam-se dois constituintes de modo que a relação água/tensoativo ou a relação cotensoativo/tensoativo seja constante (ROSSI, 2007). Geralmente a relação cotensoativo/tensoativo é utilizada no estudo de comportamento de fase de sistemas microemulsionados. A figura 8 mostra exemplos representativos.

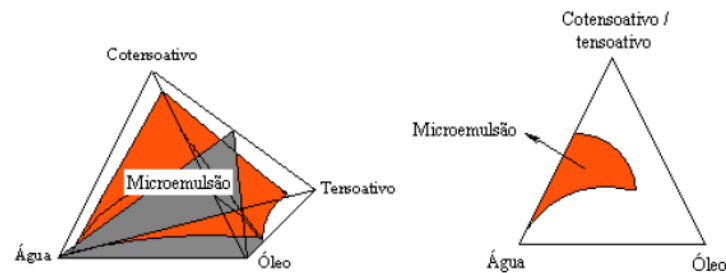


Figura 8 – Representação de diagramas pseudoternários com razão cotensoativo/tensoativo constante (adaptado de NAJJAR, 2012).

2.1.4.5. Parâmetros que afetam as microemulsões

O tipo de estrutura que se forma em um determinado sistema microemulsionado depende da natureza dos componentes (tensoativo, cotensoativo, água e fase óleo) e das condições termodinâmicas (temperatura, pressão e a presença de um campo de forças) (ANTALEK *et al.*, 1996 *apud* MEHTA e KAUR, 2011; MOULIK e PAUL, 1998; PAUL e MOULIK, 2001; TEXTER, 2000 *apud* ROSSI, 2007).

2.1.4.5.1. Influência do tensoativo

A possibilidade de formar microemulsão depende do balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo (FORMARIZ *et al.*, 2005). A escolha do tensoativo adequado a um sistema microemulsionado pode ser feita pelo caráter hidrofílico ou hidrofóbico deste tensoativo. Quando se deseja uma microemulsão do tipo A/O, por exemplo, deve-se utilizar um tensoativo mais hidrofóbico; consequentemente, um tensoativo de caráter hidrofílico deve ser

utilizado para obtenção de microemulsões do tipo O/A, ou seja, rico em água (CAPEK, 2004 apud ROSSI, 2007).

A natureza do tensoativo é, em grande parte, um fator determinante da formação de microemulsões. Mitchell e Ninham (1981) *apud* Robinson e Rees (1993) introduziram o conceito de fator de empacotamento, S_p (Eq. 6), para quantificar de uma maneira simples a influência do tensoativo:

$$S_p = \frac{v}{al} \quad (6)$$

Sendo v o volume, a área superficial da parte apolar da molécula e l o comprimento da cadeia apolar estendida.

Dependendo da estrutura do tensoativo, S_p assume valores específicos e as restrições de empacotamento permitem para a formação de uma configuração do agregado da forma preferida (GURGEL, 2004). Se $v > al$, é preferencial formar estruturas micelares A/O, quando o volume $v < al$ formação de estruturas micelas O/A, contudo, $v = al$ são formadas estruturas bicontínuas, assim, regulando a curvatura preferencial da interface (FLORENCE e ATTWOOD, 2003) como mostrado na figura 9.

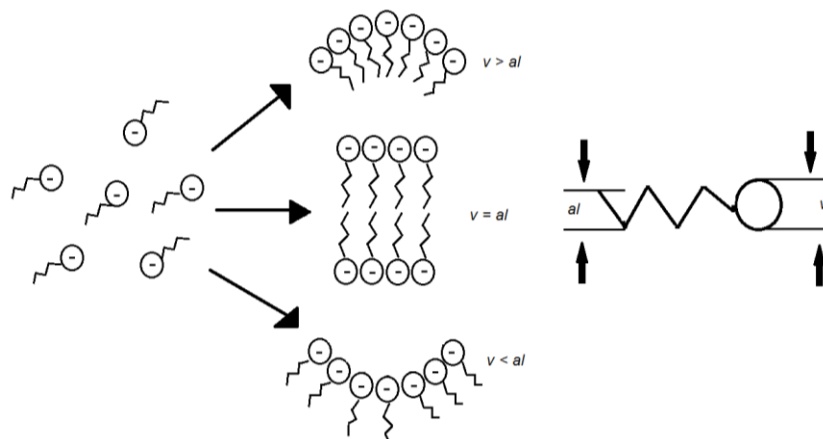


Figura 9 – Esquema ilustrativo da importância de raios na curvatura de estruturas micelares.

2.1.4.5.2. Influência da força iônica

Tensoativos iônicos são frequentemente utilizados na produção de microemulsões, tensoativos não-iônicos, como o polioxietileno alquil éter e polioxietileno hidrogenado de óleo de rícino, oferecem uma considerável vantagem de não precisarem de um cotensoativo para a formação de microemulsões (Lawrence, 1996 *apud* DAMASCENO *et al.*, 2011).

Um aumento da parte hidrofóbica da molécula diminui fortemente este valor, enquanto a natureza da parte hidrofílica tem uma menor influência, quer para os tensoativos iônicos ou não-iônicos (ROSSI, 2007). Pires e colaboradores (1996), em estudos realizados com biomoléculas, demonstraram que quanto maior a força iônica do meio, menor a interação entre biomoléculas hidrofílicas e a cabeça polar do tensoativo, sendo formada micelas menores. Como consequência, aumentando a força iônica da solução aquosa, reduz-se a capacidade da fase orgânica de incorporar água e biomoléculas. Por outro lado, tem sido relatado que em força iônica muito baixa, não ocorre formação de micelas reversas e separação de fases, mas sim uma microemulsão estável. (PIRES *et al.*, 1996).

2.1.4.5.3. Influência da temperatura

A temperatura modifica as propriedades do filme de tensoativo, resultando em mudanças estruturais. A solubilidade do tensoativo iônico em água aumenta com o aumento da temperatura: quanto mais apolar o tensoativo, maior a estabilidade das microemulsões em baixas temperaturas (ROSSI *et al.*, 2007).

O aumento da temperatura torna os agentes tensoativos não-iônicos mais hidrofóbicos enquanto os iônicos se tornam mais hidrofílicos. Portanto, é possível visualizar sistemas cujas propriedades serão independentes da temperatura, uma variação comercial e tecnologicamente importante (AJITH e RAKSHIT, 1995). Contudo, ao se tratar de um tensoativo não-iônico, um aumento na temperatura induz a inversão de fase de uma microemulsão do tipo O/A para A/O. Uma forma de representar o efeito da temperatura (T) pode ser através do diagrama de Kahlweit-“fish” (Figura 10), que é representado por um gráfico de temperatura (T) versus concentração de tensoativo de um sistema. Observa-se que, para a formação de uma microemulsão em equilíbrio, é necessário tanto uma concentração ideal de

tensoativos como uma temperatura (T) adequada (HELLWEG, 2002 *apud* DAMASCENO *et al.*, 2011).

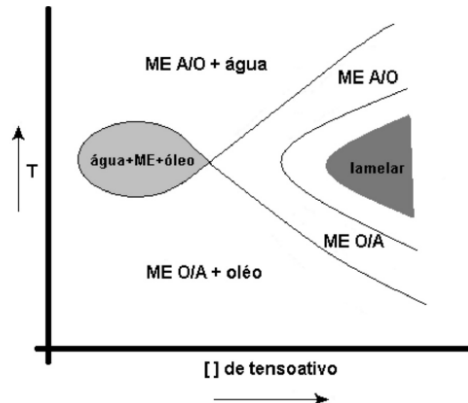


Figura 10. Diagrama de Kahlweit-“fish”, que representa um corte na fase do prisma de uma mistura ternária (água-óleo-tensoativo), em que a quantidade de água e óleo estão constantes e há variação apenas da quantidade de tensoativo em função da temperatura (DAMASCENO *et al.*, 2011).

Para tensoativos não-iônicos, a baixas temperaturas, gotículas de óleo na microemulsão são formadas (Winsor I). Um aumento de temperatura conduz a uma formação gradual de uma fase bicontínua (Winsor III) que, a temperaturas mais elevadas, transforma-se gradualmente de uma microemulsão com gotículas de água (Winsor II). Deste modo ocorre uma transição do tipo: WI→WIII→WII. Para tensoativos iônicos o aumento da temperatura acarreta uma maior solubilidade do tensoativo, elevando a solubilidade da água na microemulsão, conduzindo a uma transição do tipo: WII→WIII→WI (ROSSI, 2007). A figura 11 representa esquematicamente a evolução do sistema de Winsor em variação da temperatura.

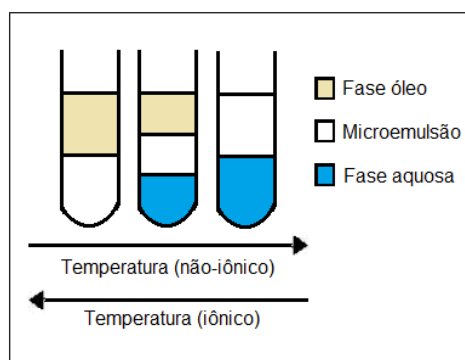


Figura 11 - Representação da evolução do sistema de Winsor em variação da temperatura.

2.1.4.5.4. Influência da salinidade

Em sistemas microemulsionados iônicos, o aumento da salinidade geralmente induz a uma variedade de mudanças de fases (JOHN e RAKSHIT, 1994). Entretanto, os sistemas não-iônicos, são pouco sensíveis a variações de salinidade (KAHLWEIT e STREY, 1997 *apud* ROSSI, 2007). No caso de tensoativos não-iônicos polietoxilados, ocorre a desidratação da cabeça hidrofílica em presença de sal, provocando maior interação dos tensoativos, que podem vir a precipitar. Desse modo, a adição de sal à solução dificulta a formação de microemulsão com esses sistemas (KOMAROMY-HILLER., 1996 *apud* CABRAL, 2012).

2.1.4.5.5. Influência da natureza e concentração do cotensoativo

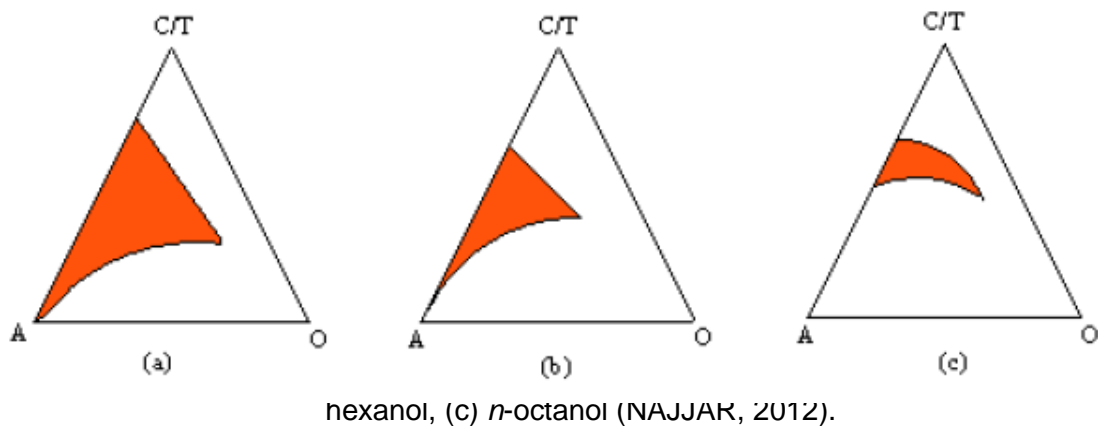
A combinação do tensoativo com o cotensoativo permite reduzir muito a tensão interfacial entre água e óleo, proporcionando um elevado poder dissolvente às microemulsões (OLIVEIRA *et al.*, 2001). O cotensoativo também é responsável pela estabilidade termodinâmica das microemulsões, especialmente quando tensoativos iônicos são utilizados, como o dodecil sulfato de sódio (SDS) e sais sódicos de ácidos graxos, denominados sabões (OLIVEIRA *et al.*, 2001).

O cotensoativo ideal é aquele que apresenta pouca solubilidade nas fases óleo e água, e dissolve apenas pequenas quantidades do tensoativo (LEITE, 1995 *apud* ROSSI *et al.*, 2007). Assim, o domínio da existência das microemulsões em diagramas pseudoternários varia com a razão cotensoativo/tensoativo.

A adição de alcoóis de cadeia média, tipicamente n -alcoóis, com $3 < n < 8$ a soluções de tensoativos muitas vezes aumenta a solubilização e ajuda na formação de microemulsões (BAUER *et al.*, 2010; ZHOU e RHUE, 2000). Em formulações de microemulsões, os alcoóis de cadeia são usados como cotensoativo, que podem influenciar a proporção do balanço na camada interfacial (LI *et al.*, 2010). O álcool adsorve-se no filme interfacial e assim modifica o parâmetro de empacotamento do tensoativo (CURRI *et al.*, 2000).

Outras funções desses alcoóis incluem a diminuição da viscosidade do sistema, prevenindo a formação de estruturas rígidas, tais como géis e precipitados, e ainda reduzem a tensão interfacial. Eles podem aumentar a mobilidade da cauda do hidrocarboneto para permitir a melhor penetração do óleo na camada interfacial,

consequentemente aumentando a solubilização de fases aquosas e oleosas (LI *et al.*, 2010). No caso de o cotenosoativo ser um álcool, a estabilidade da interface é inversamente proporcional ao tamanho da cadeia alquil do álcool, ou seja, quanto maior for a cadeia hidrocarbônica, menor será a região de microemulsão, como pode ser observado na figura 12 (CURRI *et al.*, 2000).



2.1.4.5.6. Natureza do composto apolar

Li *et al* (2010) *apud* Liu *et al* (2012) estudaram o efeito de diferentes tipos de óleos sobre a formação de microemulsões e descobriram que a formação do sistema de microemulsão ideal está relacionado com a polaridade dos óleos. A eletronegatividade dos átomos das moléculas no óleo também tem um efeito sobre a formação de microemulsões (LIU *et al* 2012).

A estrutura da fase óleo em função do tamanho da cadeia hidrocarbônica pode influenciar nas propriedades interfaciais, assim como as moléculas de óleo com pequeno volume molecular (hidrocarboneto de cadeia curta) ou alta polaridade (aumento da aromaticidade), conduz a fortes efeitos de solvatação entre o tensoativo e o óleo sobre a interface (LIU *et al* 2012).

De outro modo, o aumento no comprimento da cadeia do óleo conduz a uma diminuição das interações entre as microgotículas reduzindo a solubilização da microemulsão (SCHULMAN e ROBERTS, 1982 *apud* ROSSI, 2007).

2.1.4.5.7. Balanço hidrofílico-lipofílico (BHL)

Em 1949, Griffin introduziu o conceito de HLB (*hydrophilic-lipophilic balance*) ou BHL que descreve a anfifilicidade para tensoativos, definindo-os em uma escala empírica e quantitativa (FAN *et al.*, 2009). HBL é um equilíbrio empírico com base na porcentagem relativa dos grupos hidrofílicos para os grupos lipofílicos no tensoativo (NAJJAR, 2012).

Tensoativos com baixo BHL tendem a formar microemulsões A/O, trata-se do tensoativo predominantemente na fase oleosa, que está em equilíbrio com um "excesso" de fase de água que tem uma concentração muito baixa de tensoativo. Por outro lado, tensoativos de alto BHL favorecem a formação de microemulsões O/A, é o tensoativo na fase aquosa, que está em equilíbrio com um "excesso" de fase oleosa que tem uma concentração muito baixa de tensoativo. Valor de BHL mais alto indica maior solubilidade em água (FANU, 2011; FAN *et al.*, 2009).

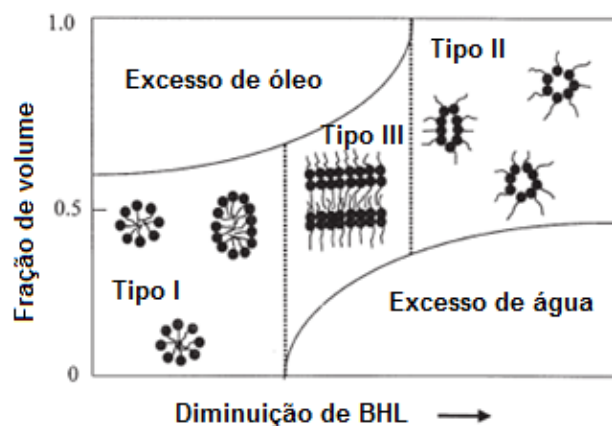


Figura 13 – Comportamento de fase típico que mostra a transição da fase óleo em água (tipo I) com a estrutura bicontínua (tipo III) e fase de água em óleo de estrutura (tipo II), com uma relação de volume inicial de óleo para a água = 1:1 (adaptado de FANU, 2011).

Num valor adequado de BHL, o sistema divide-se em três fases: um excesso de fase aquosa com baixa concentração de tensoativo, uma fase intermediária ou fase de microemulsão, e um excesso fase oleosa com baixa concentração de tensoativo, como mostrado na figura 13. Esta nova terceira fase é chamada sistema

microemulsionado Winsor tipo III, sendo que a fase de microemulsão contém a maior parte do agente tensoativo (FANU, 2011).

O balanço hidrofílico - lipofílico do tensoativo não-iônico é em grande parte influenciado pela temperatura; assim, tende a formar micelas aquosas a temperaturas mais baixas, enquanto que ele forma micelas reversas em altas temperaturas (KUNIEDA, 1996).

Diferentes fórmulas têm sido propostas para calcular o valor de BHL de um dado tensoativo (FAN *et al.*, 2009). Griffin, 1954 definiu uma equação empírica que pode ser usada para determinar o BHL com base na composição química (NAJJAR, 2012). Contudo, Davies *et al.* (1959) *apud* e Mehta e Kaur (2011) ofereceu uma equação empírica mais geral conferindo um número de diferentes grupos químicos hidrofílicos e lipofílicos num tensoativo através da equação 7,

$$HBL = [(n_H \cdot H) - (n_L \cdot L)] + 7 \quad (7)$$

em que H e L são os números atribuídos para os grupos hidrofílicos e lipofílicos respectivamente, e n_H e n_L são os respectivos números desses grupos por molécula de tensoativo. Ambos os números de parâmetros de empacotamento BHL estão intimamente correlacionadas.

No entanto, foi demonstrado que, para uma estrutura bicontínua, a qual corresponde a uma curvatura nula, o $BHL \approx 10$. Para $BHL < 10$, a curvatura é negativamente favorável (ou seja A/O microemulsão), enquanto que para o $BHL > 10$, os resultados das curvaturas sejam positivos (MEHTA e KAUR, 2011). A curvatura interfacial das microemulsões não-iônicas diminui progressivamente com o aumento da temperatura (STREY, 1994).

2.1.5. Tensoativos não-iônicos comerciais

Aplicações industriais, ambientais e médicas envolvem a utilização de produtos químicos que podem potencialmente influenciar na interação superfície da bactéria por sua adsorção às superfícies. Os tensoativos são usados tanto para a prevenção e interação com superfícies bacteriana (FENG e YAQIAN, 2011).

O potencial de tensoativos não-iônicos é justificado em função de sua relativa estabilidade a agentes que alterem as propriedades do meio, como acidez, salinidade e temperatura, se comparada à dos tensoativos iônicos (CUNHA e CARVALHO, 2005).

Os tensoativos não-iônicos apresentam características bem particulares, pois são compatíveis quimicamente com a maioria dos demais tensoativos e suas propriedades são pouco afetadas pela variação de pH. Estes aspectos combinados aumentam consideravelmente as suas possibilidades de aplicação, tornando-os bastante atrativos industrialmente tais como: cosméticos, detergentes, produtos farmacêuticos, flotação de minérios e extração (de la SALLES, 2000 *apud* FERNANDES, 2005). Desta classe de tensoativos, os comumente utilizados são aqueles à base de óxido de etileno, contudo, outras classes também são encontradas na literatura, e são considerados importantes tensoativos (CUNHA e ALVES, 2009; JUNIOR *et al.*, 2003).

Swedmark (1986) *apud* Persson (2012) relata em seu estudo que os tensoativos mostraram geralmente uma baixa toxicidade em animais de teste de laboratório, tais como ratos e cobaias, e o efeito diminui com o aumento do peso molecular, provavelmente devido a uma menor absorção no intestino. Silva e colaboradores (2004) em seu trabalho relatam que, dentre os tipos de tensoativos comercialmente disponíveis, verifica-se um consenso nas diferentes literaturas consultadas que os melhores resultados foram alcançados quando utilizadas substâncias à base de hidrocarbonetos, em especial os álcoois e éteres etoxilados não-iônicos (AZEVEDO, 2001 *apud* QUEIROZ *et al.*, 2008).

2.1.6. Aspectos teóricos sobre microemulsão como suporte para dispersão de compostos antibióticos

A atividade antibacteriana deve-se à capacidade dos componentes do óleo de danificar as membranas bacterianas e, por conseguinte, resultando na lise celular (GHOSH, 2012). Esta sugestão é feita com base no fato de que bactérias não podem sobreviver em gordura ou óleo puro e que a água é necessária para o seu crescimento e reprodução. Em microemulsões, as moléculas de água estão presentes ligadas pela estrutura da microemulsão e, portanto, o acesso à água por microorganismos é limitado neste sentido, estes sistemas são potencialmente antimicrobianos. Sugere-se ainda que a própria estrutura de microemulsões é prejudicial para a célula bacteriana ou microbiana e, em particular, que possam alterar a estrutura e função das membranas bacterianas (CHORILLI, 2007).

Um estudo realizado por Al-Adham *et al.*, (2003) *apud* Zhang *et al.*, (2009) revelou que as microemulsões eram agentes antibiofilme altamente eficazes que resultaram em rápida perda de viabilidade das populações planctônicas de bactérias testadas. Teixeira *et al.*, (2007) *apud* Zhang *et al.*, (2010) relatou que microemulsão O/A era ativa contra cinco patógenos bacterianos. A droga em si, em forma de nanopartículas (como mostrado na figura 14), surgiu como uma nova estratégia para a administração de fármacos hidrofóbicos, devido à sua vantagem como transportadores de drogas coloidais (KRIEGEL; 2009). As nanopartículas das microemulsões cobrem uma superfície maior, em relação ao volume, o que, pode proporcionar meios mais eficientes para atividade antibacteriana (HOSSAIN *et al.*, 2012).

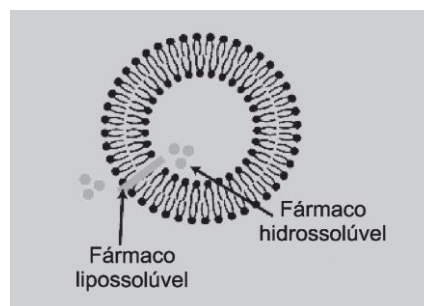


Figura 14 - Esquema ilustrativo do corte transversal de um lipossoma, que pode conter fármacos hidrofílicos na cavidade aquosa interna, enquanto fármacos hidrofóbicos ficam retidos na bicamada lipídica (adaptado de PIMENTEL, 2007).

A solubilização dos compostos lipofílicos em micelas dos tensoativos aumenta a concentração do composto lipofílico na fase de solvente, que pode levar a

melhorias nas suas propriedades funcionais tais como, por exemplo, biodisponibilidade antimicrobiana ou atividade antioxidante (KRIEGEL, 2009).

Por exemplo, Gaysinsky *et al.*, (2005) *apud* Kriegel *et al.*, (2009) demonstraram em vários estudos que a encapsulação de antimicrobianos lipofílicos em microemulsões pode aumentar sua atividade contra bactérias patógenas Gram positivas e Gram negativas de origem alimentar, devido a uma maior interação com superfícies bacterianas. Sistemas microemulsionados apresentam grande capacidade solvente para os fármacos, tornando-as formulações mais atrativas na área farmacêutica, além de oferecerem vários benefícios para administração oral, incluindo aumento na absorção, da potência terapêutica e redução da toxicidade (TROTTA *et al.*, 2002).

Neste sentido, as potencialidades desses sistemas em aumentar a absorção de fármacos no trato gastrointestinal, proporcionar proteção de substâncias contra o meio biológico, possibilitar o direcionamento do fármaco tornam os sistemas microemulsionados uma importante alternativa a ser explorada (FORMARIZ, 2005).

A norfloxacin é um fármaco antibiótico sintético da classe de fluoroquinolonas. O composto consiste em um pó branco ou amarelo claro, cristalino e desprovido de odor e com um sabor amargo. Amplamente utilizado para o tratamento de infecções do trato urinário (ITU), é um agente bactericida de amplo espectro contra patógenos gram-positivos e gram-negativos. Também é indicado terapeuticamente para o tratamento de gastroenterites bacterianas. Quimicamente é denominado como ácido 1-etil-6-flúor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolino carboxílico (Figura 23) (MORAES, 2010; OLIVEIRA, 2001).

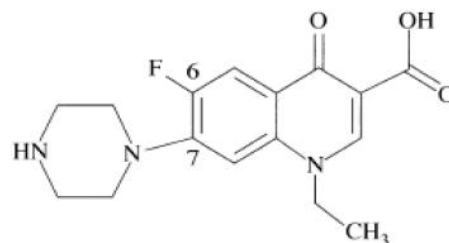


Figura 15– Estrutura química do Norfloxacin

A ciprofloxacina é um antibiótico introduzido para o tratamento de patologias causadas por microorganismos gram-positivos e gram-negativos como as infecções de tratamento urinário (PITA *et al.*, 2004). Os bacilos gram-negativos são os principais agentes causadores de ITU como relatado na literatura, principalmente *E. coli*, (LUCCHETTI *et al.*, 2005) sendo responsável por 90% ou mais das infecções adquiridas (COSTA *et al.*, 2010). O ciprofloxacino é uma fluorquinona cujo nome químico é ácido-1-cipropropil-6-fluor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolona carboxílico (Figura 24). O composto é descrito como um pó cristalino amarelo claro, ligeiramente hidrocópico (CAZEDEY, 2009).

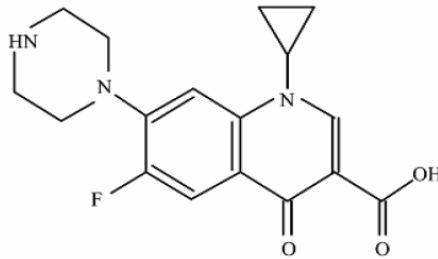


Figura 16 – Estrutura química do Ciprofloxacina

A amoxicilina é uma penicilina semi-sintética que possui atividade antibacteriana, à maioria das bactérias patogênicas, superior a de outras penicilinas, apresentando as mesmas indicações clínicas da ampicilina (FRANK, 2008). Este medicamento pode combater tanto bactérias gram-positivas quanto bactérias gram-negativas. O composto é um pó cristalino, branco, levemente solúvel em água (FRANK, 2008). Possui nome químico (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hidroxifenol)acetil-amido]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] n-heptano-2-ácido carboxílico (Figura 25).

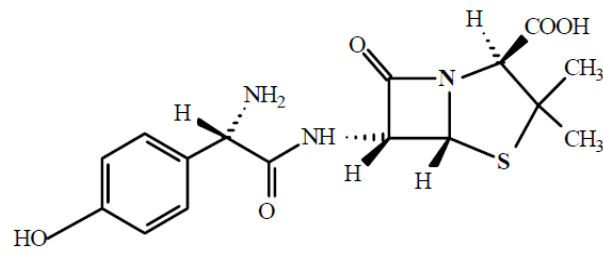


Figura 17 – Estrutura química da Amoxicilina

3. OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo caracterizar sistemas contendo água, óleo e tensoativos comerciais não-iônicos à base de hidrocarbonetos e polietilenoglicol, analisando as composições em que são formados sistemas microemulsionados por meio da construção de diagramas (pseudo)ternários. Em alguns casos o efeito da presença de cotensoativos deverá ser testado. Trata-se de sistemas com propriedades únicas, sendo que a grande diversidade de suas aplicações e o crescente uso tecnológico devem-se a esse aspecto. Após a caracterização da estabilidade, serão investigadas as aplicações destes sistemas na formulação de compostos com ação biológica.

Os objetivos específicos envolvem a preparação de microemulsões observando o efeito da temperatura, do tensoativo, da natureza do óleo e da presença de cotensoativo (natureza e estrutura). Nesse sentido, serão implementados estudos de dispersão de compostos antibióticos, em especial a norfloxacin, a ciprofloxacina e a amoxicilina, dissolvidos em alguns sistemas microemulsionados pré-selecionados para avaliar a atividade de compostos antibióticos contra uma típica bactéria patogênica Gram-positiva a *Staphylococcus aureus*. Dessa forma, com o alcance dos resultados almejados, será possível estudar o desenvolvimento de alternativas de produtos que permitam maior solubilidade de compostos antibióticos, com a utilização de tensoativos de baixo custo e simples manuseio.

4. JUSTIFICATIVA

De acordo com Ghosh (2012) as microemulsões são potentes agentes antimicrobianos, e têm demonstrado ser uma alternativa eficaz de entrega de fármacos lipofílicos com liberação controlada. Tem sido relatado que as microemulsões tem uma ação antimicrobiana significativa contra células bacterianas em escalas de tempo muito curtos (AL-ADHAM *et al.*, 2000), e foram ativas contra biofilme bacteriano (AL-ADHAM *et al* 2000; ZHANG *et al.*, 2008).

A realização deste trabalho é justificada pela crescente necessidade de procurar novos agentes antimicrobianos a partir de substâncias naturais e inorgânicas para destruir a patogenicidade de microorganismos no ambiente de vida, tais como bactérias, fungos, leveduras e vírus que causam infecções graves em seres humanos (WANI *et al.*, 2010). Como resultado, o efeito terapêutico de uma droga carregada em uma microemulsão pode ser melhorada em comparação com uma forma de dosagem convencional (KUMAR, 2011).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Materiais utilizados

5.1.1. Caracterização do diagrama de fases

- ✓ Tensoativos não-iônicos comerciais TMN 6 e TMN 10 da linha Tergitol[®] (Sigma Aldrich[®])
- ✓ Álcoois de cadeia curta como cotensoativos (butan-1-ol e etilenoglicol);
- ✓ Solventes apolares: o hidrocarboneto n-heptano e solvente siliconado (Sigma Aldrich[®])
- ✓ Água destilada;
- ✓ Vidrarias (béquer, tubo de ensaio, pipeta de Pasteur e balão volumétrico);
- ✓ Pipeta automática;
- ✓ Balança analítica (Shimadzu, AX200);
- ✓ Agitador de soluções (Phoenix, AP56);
- ✓ Banho termostatizado (CT-282, Cientec);
- ✓ Filme de silicone Parafilm[®].

5.1.2. Microemulsões como suporte para dispersão de compostos antibióticos

- ✓ Materiais descritos no item 5.1.1.;
- ✓ Alça de repicagem;
- ✓ Alça de Drigalsky;
- ✓ Pinça;
- ✓ Bico de Bunsen (ou lamparina);
- ✓ Autoclave;
- ✓ Geladeira;
- ✓ Capela de fluxo laminar com luz UV;
- ✓ Etanol 70% (v/v);
- ✓ Estufa para cultivo de microorganismos;
- ✓ Compostos antibióticos (Norfloxacina, Ciprofloxacina e Amoxicilina);

- ✓ Discos, com 7mm de diâmetro, feitos com papel de filtro;
- ✓ Meio líquido para bactérias Caldo Nutriente (fornecido por Himedia)
- ✓ Meio sólido para bactérias Nutriente Ágar (fornecido por Acumedia)
- ✓ Cepas de bactérias *Staphylococcus aureus*

5.2. Metodologia experimental

5.2.1. Caracterização dos diagramas de fases

Os tensoativos Tergitol[®] formam a classe de tensoativos não-iônicos à base de hidrocarbonetos que possuem a ramificação hidrofóbica 2,6,8-trimetil-4-nonil. Eles apresentam como cabeça polar o grupo polietileno, com variados graus de etoxilação, e a sua estrutura geral é mostrada na Figura 15.

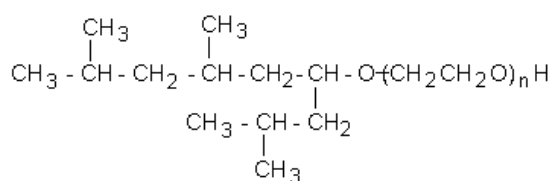


Figura 15 – Estrutura geral do Tensoativo Tergitol[®].

Os tensoativos da linha Tergitol[®] podem apresentar elevado grau de etoxilação. A Tabela 3 mostra a especificação de alguns destes produtos, da linha TMN, com relação a pureza, número médio de unidades de óxido de etileno (EO), peso molecular médio e balanço hidrofílico-lipofílico (BHL).

Tensoativo	Pureza	Número médio (EO)	Peso molecular médio	BHL
Tergitol TMN 3	99 %	2.98	318	8.1
Tergitol TMN 6	90 %*	8.33	553	13.1
Tergitol TMN 10	90 %*	11.55	695	14.4

*Contém etilenoglicol livre (em sua maioria)

Tabela 3- Especificações do tensoativo Tergitol[®] TMN

A escolha do tensoativo partiu de tensoativos não-iônicos que são de fácil aquisição, e ainda são de baixo custo. A seleção da fase apolar contempla, um derivado do petróleo (*n*-heptano) bastante empregado na indústria e um solvente siliconado. Foram selecionados cotensoativos (butan-1-ol e etilenoglicol) utilizados no estudo de microemulsão para facilitar a obtenção das regiões de miscibilidade nos diagramas de fase. Os diagramas de fases contendo sistemas microemulsionados, alvo deste estudo, devem apresentar uma boa região de microemulsão O/A, pois correspondem à região rica em água que interessa ao processo de absorção do óleo, o que torna os sistemas menos viscosos, mais econômicos e menos prejudiciais ao meio ambiente.

Os resultados obtidos na caracterização dos sistemas testados são apresentados em diagramas ternários e pseudoternários que demonstram as composições em que microemulsões são formadas. As regiões dos diagramas de fases são descritas como: (i) sistemas microemulsionados, aqueles transparentes isotrópicos em nível macroscópico, com baixa viscosidade, porém variável dependendo da composição; (ii) sistemas polifásicos, que apresentam duas ou mais fases; (iii) e sistemas transparentes com alta viscosidade, isotrópicos ou birrefringentes (formação de géis). Todos os sistemas foram avaliados nas temperaturas 15 °C e 35 °C, além da temperatura ambiente; esses valores de temperaturas foram escolhidos, porque são menor e maior que o valor de condições normais de temperatura, 25 °C. Os sistemas testados que continham água destilada, óleo, tensoativo e cotensoativo estão mostrados na Tabela 4.

Sistema	Tensoativo	Óleo	Cotensoativo
1	TMN6	n-heptano	Ausente
2	TMN10	n-heptano	Ausente
3	TMN6	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 0,5)

4	TMN10	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 0,5)
5	TMN6	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 1,0)
6	TMN10	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 1,0)
7	TMN6	octametilciclotetrasiloxano	Ausente
8	TMN10	octametilciclotetrasiloxano	Ausente
9	TMN6	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 0,5)
10	TMN10	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 0,5)
11	TMN6	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 1,0)
12	TMN10	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 1,0)

Tabela 4 – Composição dos sistemas testados

Para caracterizar os sistemas contendo os tensoativos estudados, foram construídos e caracterizados os diagramas de fase ternários das misturas que contêm esses tensoativos. Para determinar as regiões de diagrama de fase ternário, inicialmente realizou-se o preparo de várias amostras com composições diferentes. Cada amostra preparada na base de cálculo de 1 grama representa um ponto distinto do diagrama, com o objetivo de observar as possíveis regiões presentes.

Após o preparo as amostras foram agitadas durante 60 segundos, e então deixadas em repouso por 24 horas envolvidas em filme de silicone, para minimizar a evaporação de compostos voláteis. Anotou-se o aspecto da amostra, isto é, se ocorreu separação de fase, e nos casos em que não ocorreu, verificou-se a viscosidade da amostra, para ter um indício se é uma microemulsão (pouco viscosa)

ou um cristal-líquido (muito viscoso). A partir destas informações foi possível identificar regiões distintas no diagrama.

A partir dos resultados construiu-se uma curva (curva binodal) que separa as regiões distintas no diagrama; portanto, realizou-se uma titulação para determinar a curva. A titulação efetivou-se da seguinte forma: foram preparadas amostras contendo apenas dois componentes da mistura (tensoativo e óleo, por exemplo), e tituladas com o componente ausente. De preferência, a amostra titulante deve ser translúcida, e deve ser titulada até se formar turbidez. A esse tipo de titulação dá-se nome de titulação turbidimétrica. Titulando várias amostras diferentes obteve-se vários pontos da curva binodal, que pôde ser construída com mais precisão. O procedimento acima descrito foi repetido para todos os sistemas estudados e para todos os tensoativos utilizados.

Para o estudo do efeito da adição de um cotensoativo, estabeleceu-se uma razão mássica fixa entre o cotensoativo e tensoativo (C/T). Dessa maneira a proporção desses dois componentes não varia, e eles podem vir a ser considerados como um único componente (nesse caso a mistura “tensoativo + cotensoativo” é considerada um pseudocomponente). Assim o diagrama construído é chamado de pseudoternário. O primeiro cotensoativo testado foi o butan-1-ol, por ser o cotensoativo mais utilizado em sistemas microemulsionados (OTTO *et al.*, 2008 *apud* CABRAL, 2012) e em seguida o etilenoglicol. Foram preparados sistemas com razão mássica C/T 0,5 e 1,0 para ambos os cotensoativo testados.

No estudo do efeito da variação de temperatura (15 °C, 25 °C e 35 °C), as amostras, após preparadas, foram colocadas e mantidas em um banho termostatizado e, durante a titulação turbidimétrica, após a adição de cada gota, foram colocadas novamente no banho, para verificar o efeito da gota adicionada na temperatura de interesse.

Alternativamente, prepararam-se-se várias misturas com composições pré-definidas, que cubriam toda a extensão de um diagrama ternário, e deixadas amostras em observação no banho termostatizado a 15 °C e 35 °C. Tais abordagens são avaliadas na prática, como forma de otimização do experimento, pois, em função da experiência obtida com o preparo de sistemas dessa natureza, pode-se

obter uma variedade muito grande de estruturas, ou sistemas em estados distintos de equilíbrio (monofásicos, transparentes, viscosos, turvos, entre outros).

5.2.2. Avaliação da atividade antimicrobiana de microemulsão contendo antibióticos

Nestes ensaios de difusão em ágar foram testados três compostos com atividade antibiótica: a Norfloxacin, a Ciprofloxacina e a Amoxicilina sob a orientação da professora Daniele Cristiane Menezes, no Departamento de Química da UFV. Para a realização dos testes foram usados controles com a microemulsão sem nenhum princípio ativo (branco) e suspensões dos antibióticos feitas em água. Para todos os testes as frações em massa dos componentes são: Norfloxacin 0,079 g; Ciprofloxacina 0,082 g; Amoxicilina 0,091 g. A composição da microemulsão não foi variada para que isso não fosse um fator que interferisse nos resultados obtidos, sendo que as amostras foram preparadas visando a concentração do composto a ser testado de $250,0 \text{ mmol.L}^{-1}$, concentração considerada muito alta para o antibiótico e, portanto, se não for verificada atividade antibiótica com essa concentração, a formulação testada do composto não é ativa. Além disso, a concentração dos diferentes compostos testados deveria ser a mesma para possibilitar a comparação dos resultados obtidos com os diferentes antibióticos.

A bactéria utilizada foi a *Staphylococcus aureus*, porque é uma espécie de fácil cultivo em laboratório e comumente usada em testes antimicrobianos. Do mesmo modo, é uma bactéria patogênica ao homem, e o estudo de sistemas antimicrobianos é principalmente de interesse farmacológico.

Inicialmente foram preparados os meios, sólido (quantidade suficiente para 8 mL por placa) e líquido (3 mL para o microorganismo). Então todas as vidrarias, os discos de papel de filtro, as ponteiros das pipetas automáticas, a água destilada e os meios de cultura preparados foram autoclavados. Após o material ser retirado da autoclave, a capela de fluxo laminar foi esterilizada, primeiramente com álcool 70% v/v) e depois com luz UV. Dentro da capela as placas de *Petri* foram preparadas, colocando 8 mL do meio sólido em cada uma, e espalhando o meio de forma

homogênea sobre toda a placa. Depois que o meio esfriou, as placas foram fechadas, vedadas com filme plástico e guardadas em geladeira. Ainda na capela a cepa do microorganismo foi repicada no meio líquido adequado. Após a repicagem, o meio líquido ficou na estufa, a 35 °C, entre 18 e 24 h.

Para a realização do teste de sensibilidade foi utilizado o método de Kirby-Bauer ou método de difusão-ágar, que consiste na semeadura da bactéria em placas de nutriente ágar e colocação dos discos. Após retirados os meios líquidos da estufa, estes foram diluídos com água previamente autoclavada até atingirem densidade ótica igual a um padrão de comparação (0,5 da escala de Mac Farland, aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

Após a diluição, 100 µL do meio líquido foram colocados na placa de *Petri* que continha o meio sólido apropriado. Em seguida, o meio líquido foi espalhado homogeneamente sobre o meio sólido com a alça de Drigalsky, esterilizada na chama do bico de Bunsen antes e depois de cada uso.

Depois de espalhado o meio líquido sobre a placa de *Petri*, um disco de papel de filtro foi colocado no centro da placa. Com uma pinça esterilizada adicionou-se 10 µL da microemulsão contendo o princípio ativo a ser testado. Assim, a placa de *Petri* foi fechada, vedada com filme plástico e colocada na estufa, a 37 °C, durante 18 a 24 h. Então o halo de inibição foi medido com uma régua logo após a retirada da placa de *Petri*. O experimento foi realizado em triplicata. O mesmo procedimento foi usado com a microemulsão sem nenhum princípio ativo, para verificar se a microemulsão causa morte dos microorganismos.

5.2.3. Análise estatística

A análise estatística dos efeitos da atividade antibiótica dos compostos testados com a adição de microemulsão foi realizar-se por meio da comparação entre as médias do halo das placas contendo o antibiótico sem a microemulsão em comparação entre as médias dos antibióticos contendo a microemulsão. Microsoft Excel software 2010 (Microsoft, EUA) foi usado para calcular médias e desvios

padrões. O teste t de Student's será aplicado para acessar o nível de significância estatística das amostras utilizando o programa Minitab 16.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. Caracterização dos diagramas de fases

Inicialmente, foram testados sistemas contendo tensoativo, óleo e água, e ainda as temperaturas foram controladas para verificar o efeito da temperatura na região de formação da microemulsão.

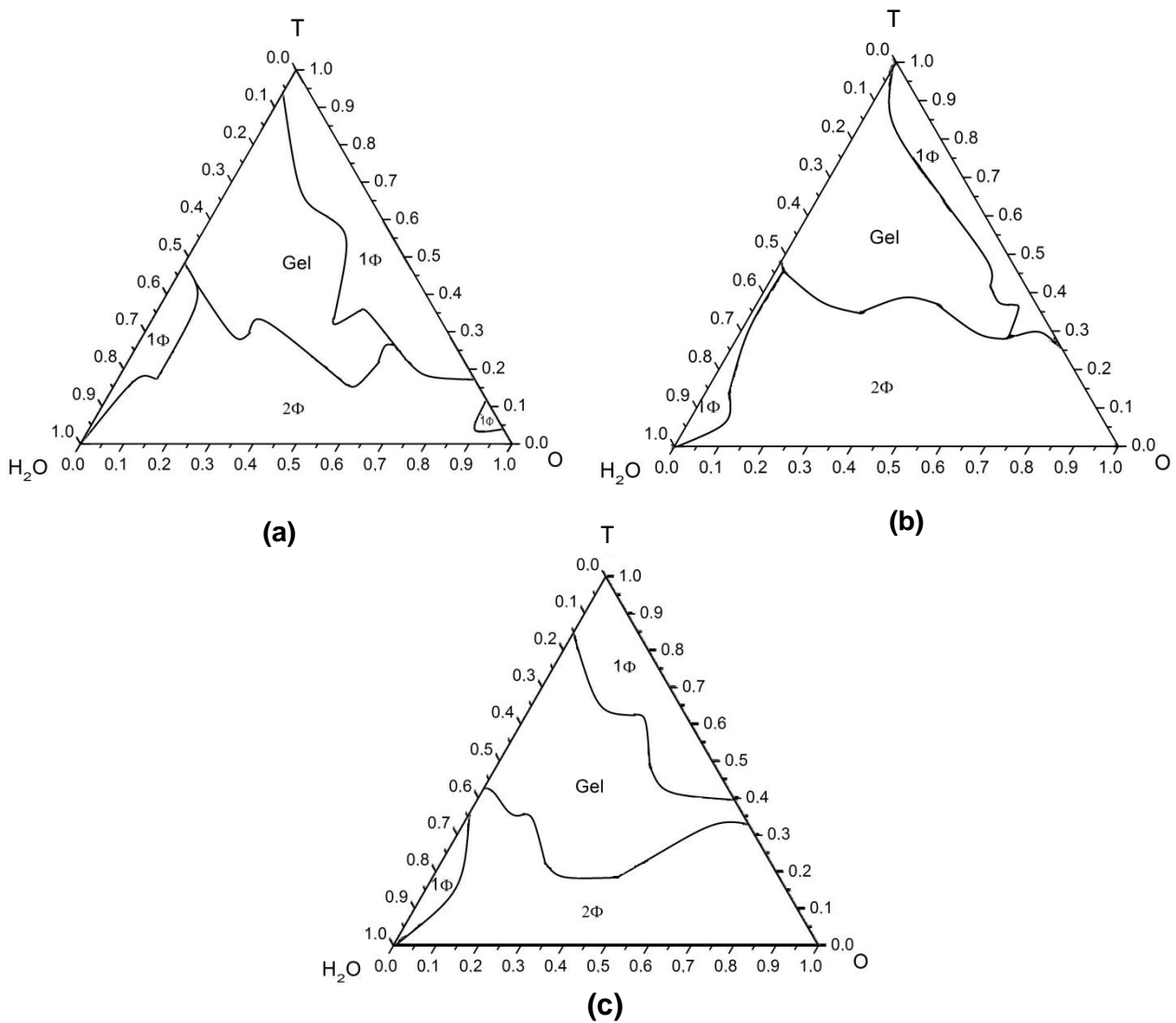


Figura 16 – Diagramas ternários contendo tensoativo TMN6 (sistema 1), *n*-heptano e água a (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C.

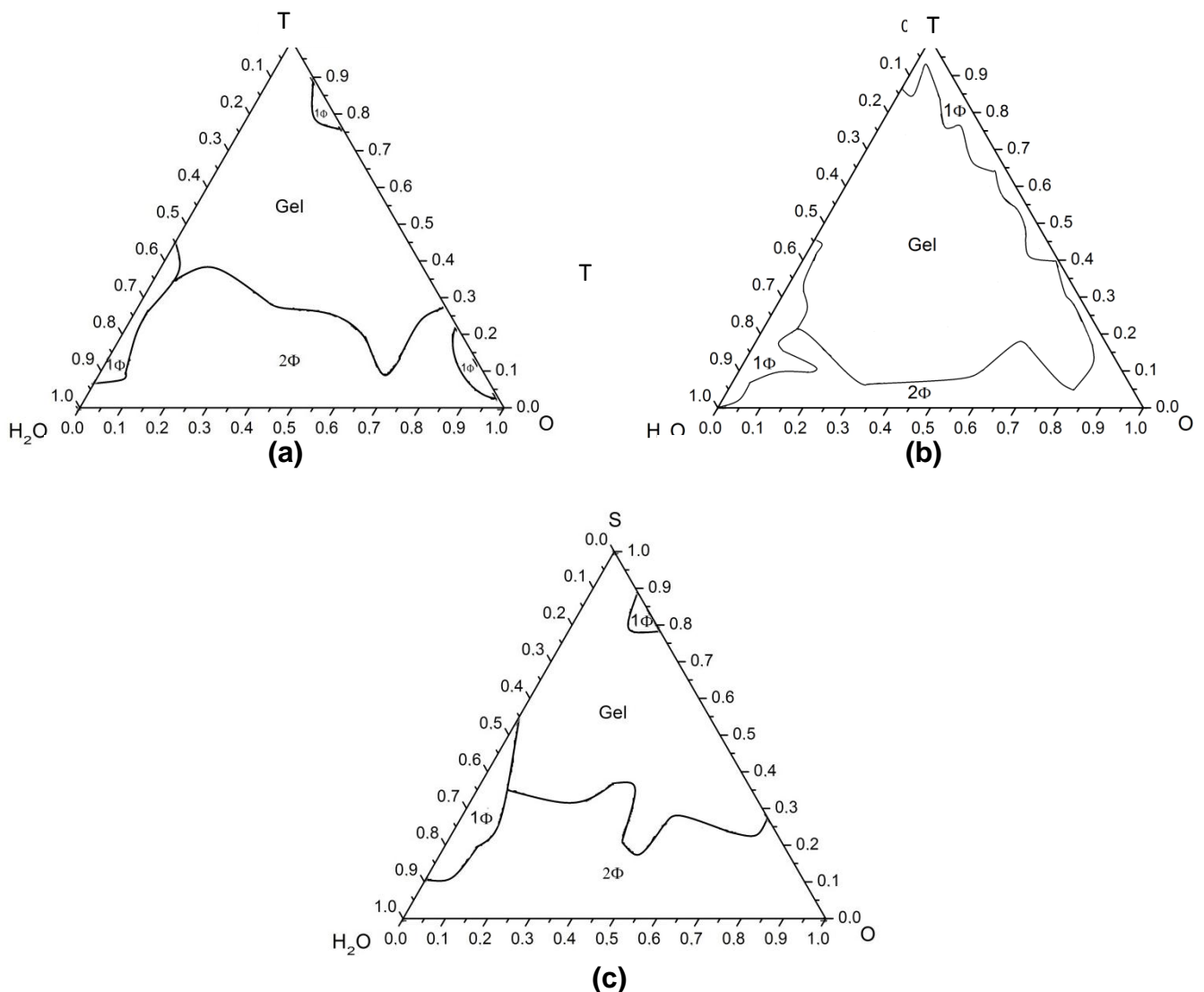


Figura 17 – Diagramas ternários contendo tensoativo TMN10 (sistema 2), *n*-heptano e água a (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C

Os diagramas mostrados nas figuras 16 e 17 demonstram três formações possíveis dependendo da composição de cada componente T (tensoativo), O (óleo) e H₂O (água): a formação de sistemas polifásicos (2 ϕ), a formação de sistemas líquido-cristalinos (gel) e também a formação de sistemas microemulsionados (1 ϕ), possivelmente contendo micelas, aquelas que contêm gotículas de óleo dispersas em água; micelas reversas, aquelas que contêm gotículas de água dispersas em óleo ou ainda estruturas microemulsionadas cilíndricas, lamelares ou bicontínuas.

Nota-se maior região de formação de microemulsões nos sistemas a 15 °C da figura 16a, em regiões onde há maior quantidade de tensoativo, contudo não houve variação significativa na região de formação de sistemas líquido cristalinos (géis).

O tensoativo TMN6 possui caráter hidrofóbico comparado ao tensoativo TMN10 devido à sua cabeça polar ser menor, o que explica a tendência de formação de sistemas microemulsionados nos diagramas onde há maior porcentagem do componente óleo. Tensoativos não-iônicos tendem a formar sistemas mais estáveis à baixa temperatura, o aumento da temperatura provoca desidratação da cabeça polar, desfavorecendo a interação da cabeça polar com as moléculas de água.

Houve considerável formação de microemulsão nos sistemas a 25 °C da figura 16b, com formação de microemulsão em região contendo maior quantidade de água. Sistemas não-iônicos são menos sensíveis à temperatura comparados aos sistemas com tensoativos iônicos. Devido a seu caráter hidrofílico o tensoativo TMN10 tende a formar microemulsões A/O e bem próximas à consideráveis proporções do componente óleo. Nota-se ainda que os sistemas à 15 °C e 35 °C não são favoráveis para formação microemulsões, havendo assim expressivas regiões de formação de sistemas polifásicos e líquido cristalinos.

Com a finalidade de observar as mudanças que podem ocorrer ao adicionar um cotensoativo, foi estudada a sua influência no domínio de microemulsão dos tensoativos TMN6 e TMN10. Como já foi mencionado, este trabalho busca amplas regiões de microemulsão O/A e, como consequência disso, o estudo da influência do cotensoativo foi realizada a uma razão C/T=0,5 e C/T=1,0 para dois tipos de alcoóis, sendo eles: butan-1-ol e etilenoglicol. As figuras 18, 19, 20 e 21 apresentam o comportamento dos domínios de microemulsão em função dos alcoóis utilizados como cotensoativo e da temperatura.

Nos diagramas apresentados nas figura 18 e 19, são demonstrados os dois tipos de sistemas formados: um polifásico e outro em quem é formada microemulsão. Nestas figuras, estão os diagramas que melhor demonstram a formação de microemulsão, de acordo com a razão mássica e controle de temperatura; os diagramas com as demais temperaturas com respectivos resultados estão no apêndice.

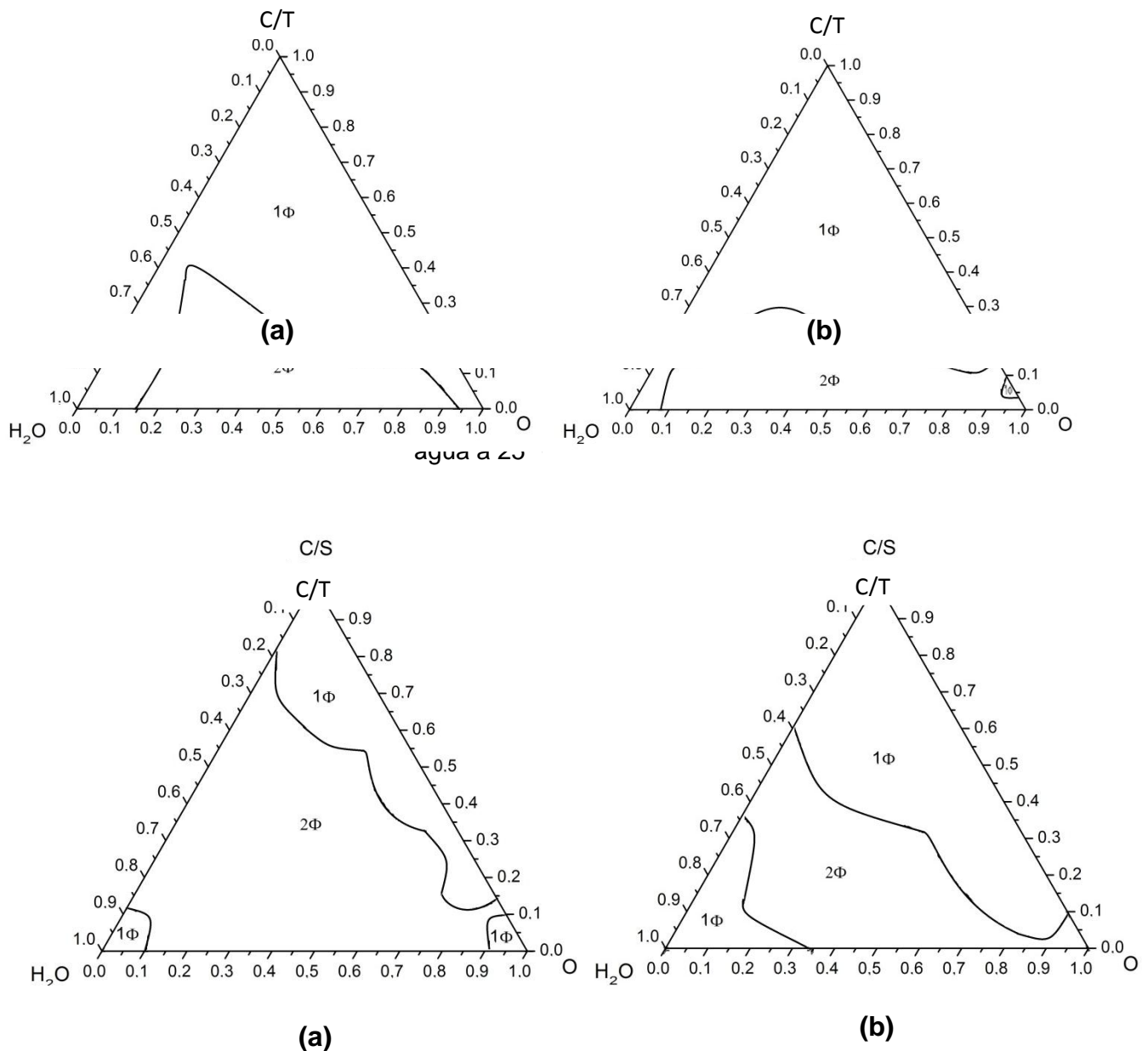


Figura 19 – Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6/butan-1-ol ($C/T=1,0$) água e *n*-heptano a $25\text{ }^\circ\text{C}$ (sistema 5); (b) TMN10/butan-1-ol ($C/T=1,0$), água, *n*-heptano e água a $15\text{ }^\circ\text{C}$ (sistema 6).

É possível notar que o aumento da razão mássica de $C/T=0,5$ para $C/T=1,0$ resultou na diminuição da região monofásica (TMN6 e TMN10), demonstrando que os tensoativos utilizados não necessitam de grande quantidades de butan-1-ol como cotensoativo para formar microemulsão. Observa-se ainda, que foi obtida uma região de microemulsão com ampla faixa de matéria ativa aquosa para os sistemas $C/T=0,5$ para ambos os tensoativos. No que diz respeito ao efeito da temperatura, nota-se que houve maior formação de microemulsão no diagrama 17a a $15\text{ }^\circ\text{C}$ e no

diagrama 18b a 25 °C nos sistemas contendo C/T=0,5; e maior formação de microemulsão no diagrama 19a a 25 °C e no diagrama 19b a 15° C nos sistemas contendo C/T=1,0. Realizando uma comparação dos diagramas da figura 16 e 17 com os diagramas da figura 18 e 19, nota-se que o cotensoativo age como um cossolvente, e impede a formação de sistemas mais viscosos, formando uma grande região monofásica, esta, função da variação da tensão interfacial no meio causada pela estrutura do cotensoativo.

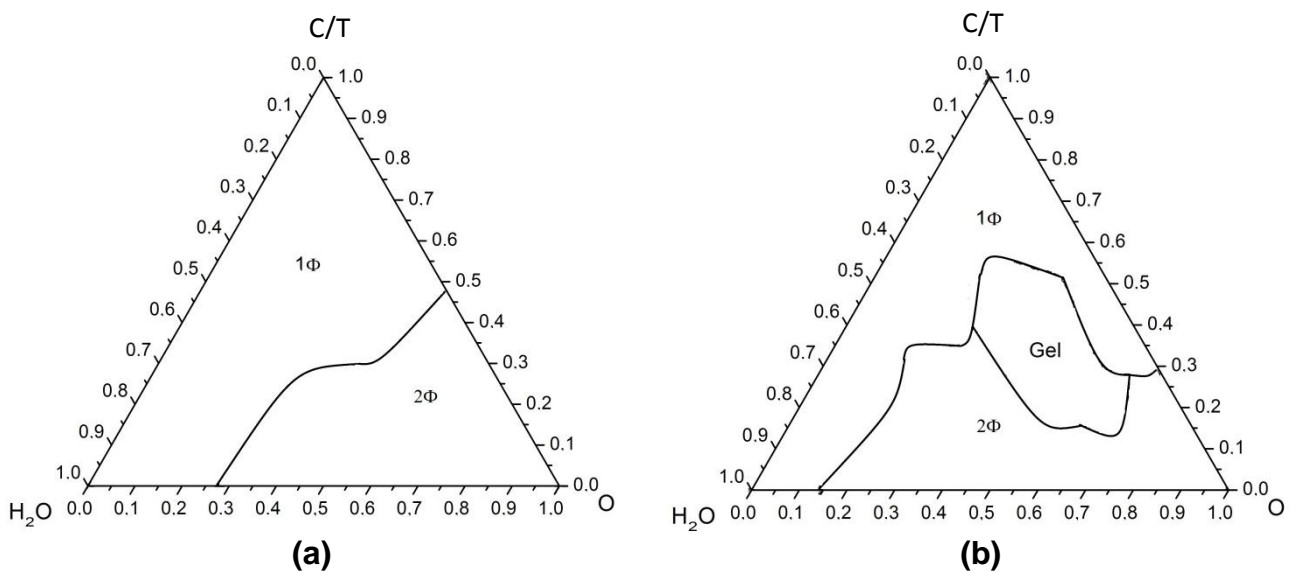


Figura 20 – Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6/etilenoglicol (C/T=0,5), água, *n*-heptano a 15 ° C (sistema 9) (b) TMN10/etilenoglicol (C/T=0,5), água, *n*-heptano e água a 35 °C (sistema 10).

Foram ainda testados sistemas contendo etilenoglicol como cotensoativo, para verificar qual seu efeito na formação de microemulsão. A estes sistemas, o efeito da temperatura também foi testado. Nas figuras 20 e 21 estão os diagramas de fases com formação de região com microemulsão para os sistemas 9 e 10 contendo razão mássica C/T=0,5; e sistemas 11 e 12 contendo razão mássica C/T=1,0, respectivamente.

A adição do cotensoativo etilenoglicol favoreceu a formação de grande região monofásica e impediu a formação de sistemas mais viscosos no diagrama da figura 20a. Contudo, isso ocorreu apenas a 15 °C, pois os resultados do diagramas desses sistemas a 25 °C e 35 °C demonstraram a formação de regiões com formação de sistemas viscosos (gel). Nota-se ainda que houve formação de sistemas mais

viscosos (gel) no diagrama 20b, o mesmo ocorreu a 15 °C e 25 °C, entretanto, a 35 °C, houve maior formação de região de microemulsão.

Observa-se que os sistemas contendo cotensoativo butan-1-ol $C/T=0,5$ (diagrama 20a) apresentaram formação de microemulsão A/O em região contendo maior porcentagem do componente água, permitindo assim a formação de sistemas microemulsionados com diminuição na viscosidade e no custo. Esse comportamento resulta do caráter mais hidrofílico do etilenoglicol, que facilita a formação de microemulsão O/A.

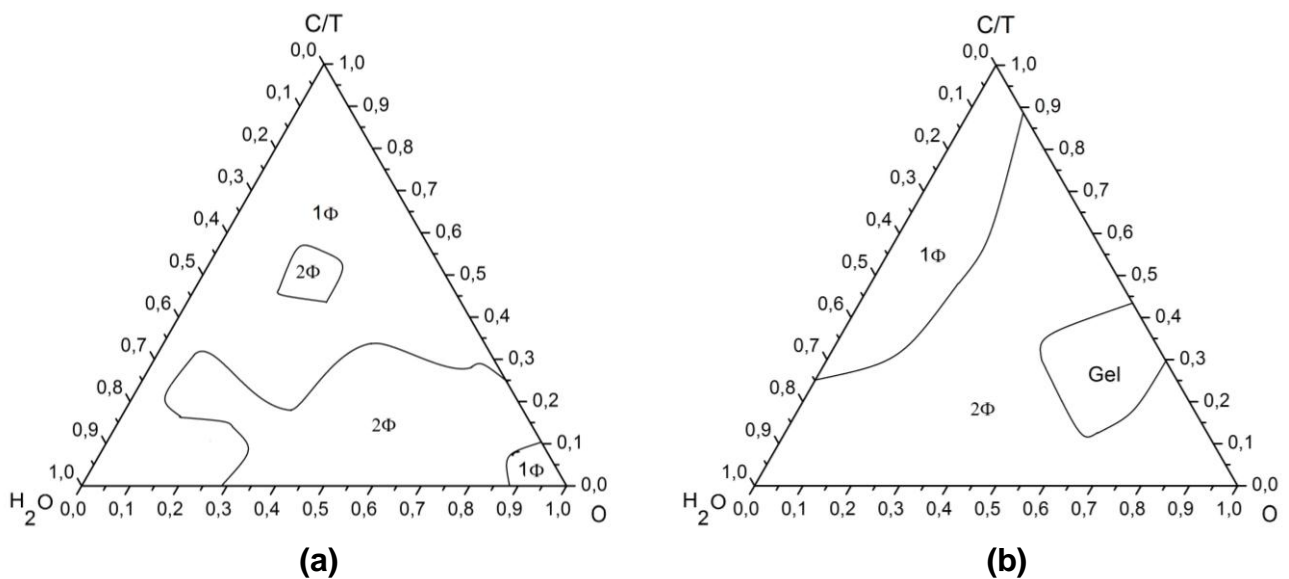


Figura 21 – Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6/etilenoglicol ($C/T=1,0$), água, *n*-heptano a 35 °C (sistema 11) (b) TMN10/etilenoglicol ($C/T=1,0$), água, *n*-heptano e água a 25 °C (sistema 12).

Com o aumento da razão mássica $C/T=0,5$ para $C/T=1,0$, o sistema contendo tensoativo TMN6 (figura 21a) exibiu aumento razoável da região monofásica, com formação de microemulsão em região de altas concentrações do componente óleo. Estes resultados demonstram que o tensoativo TMN6 contendo o álcool etilenoglicol como cotensoativo, não apresentou comportamento semelhante aos sistemas contendo o butan-1-ol (figuras 18 e 19) como cotensoativo, onde não há necessidade de grandes quantidades de cotensoativo pra formação de sistemas microemulsionados. Os resultados apresentados nas figuras 20 e 21 demonstram que o etilenoglicol possui acentuado caráter hidrofílico e induz a formação de

sistemas WI em regiões com maior quantidade do componente água. Evidencia-se também o caráter hidrofóbico do butan-1-ol, onde nos diagramas das figuras 18 e 19 houve significativa formação de sistemas WII, com ampla região do componente óleo. Nota-se ainda que o caráter dos cotensoativos é o mesmo independente da variação da razão mássica e da temperatura.

Também foram testados sistemas contendo o óleo siliconado octametilciclotetrasiloxano, na tentativa de encontrar uma alternativa para o uso do heptano, uma vez que os óleos siliconados são menos tóxicos. Os sistemas foram testados na ausência de cotensoativo. No entanto, não houve formação de região monofásica significativa na presença deste óleo siliconado. Nota-se que houve maior formação de sistemas polifásicos nos dois sistemas e a formação de microemulsão nas regiões onde há maior quantidade de tensoativo. Os melhores resultados, considerando também o efeito da temperatura, são mostrados na figura 22.

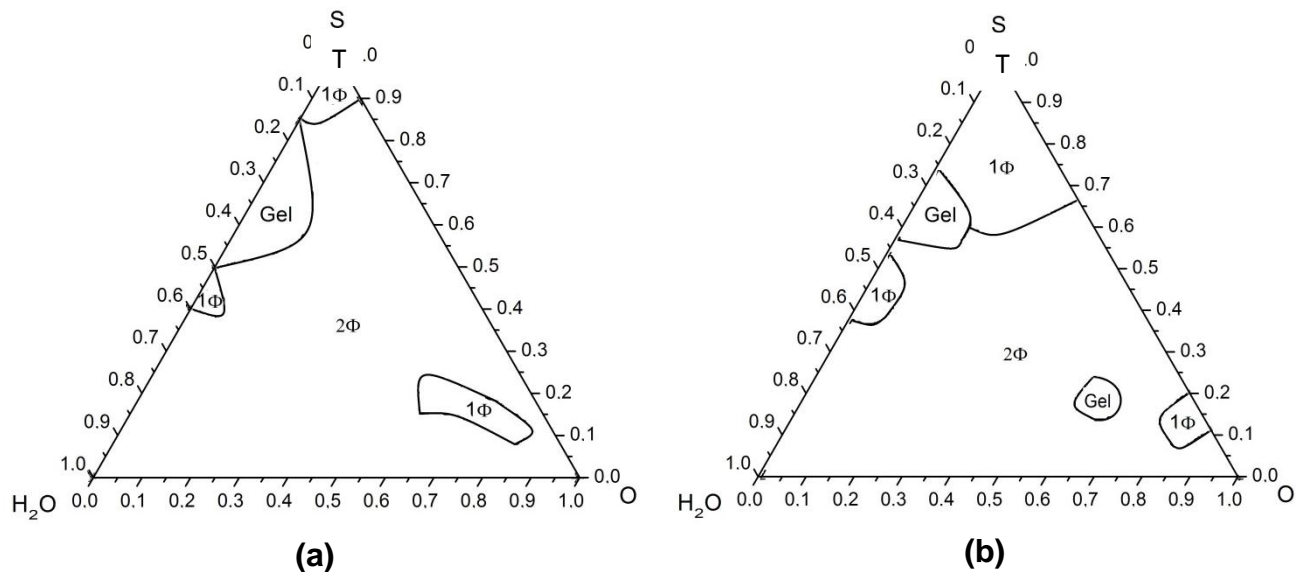


Figura 22 – Diagramas contendo (a) tensoativo TMN6, água, octametilciclotetrasiloxano a 35° C (sistema 7) (b) TMN10, água octametilciclotetrasiloxano e água a 15 °C (sistema 8).

6.2. Microemulsão como suporte para dispersão de compostos antibióticos

Na figura 26 são mostradas duas placas de *Petri* usadas, contendo colônias de bactérias *Staphylococcus aureus* utilizadas apenas para ilustrar os resultados obtidos.

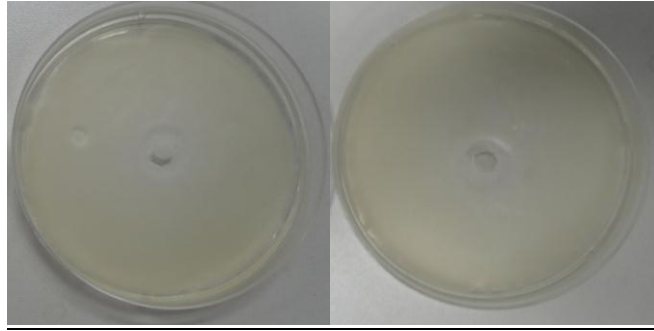
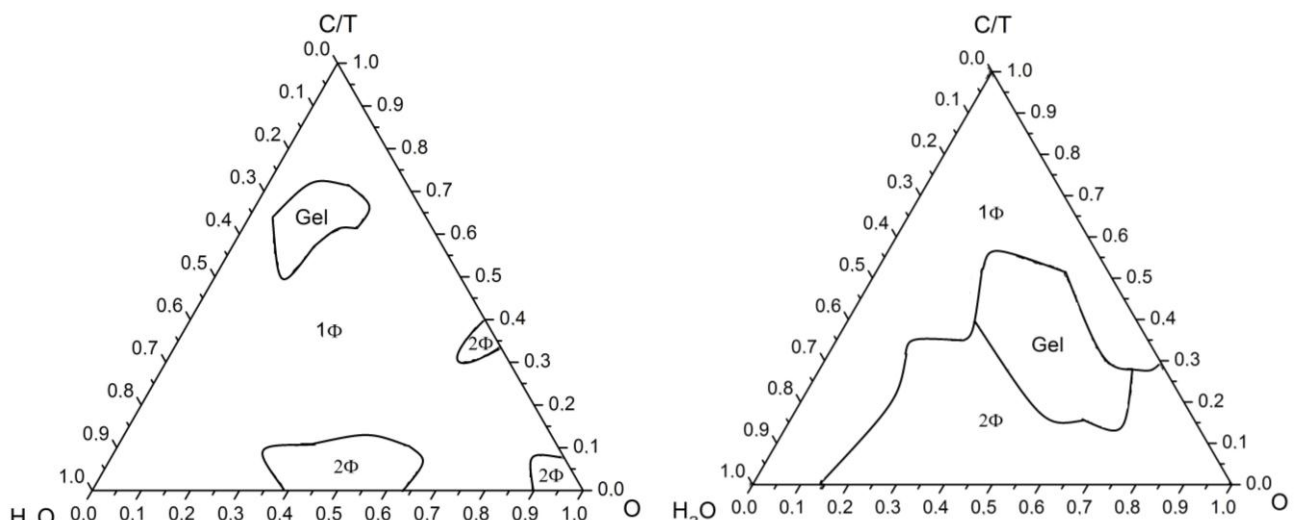


Figura 26 – Placas de *Petri* contendo colônias de bactérias *Staphylococcus aureus*

O critério de escolha dos sistemas a serem utilizados está relacionado à maior amplitude de região de microemulsão a 35 °C, que é a temperatura próxima à temperatura do corpo humano (36 °C). Ainda foram considerados os sistemas contendo etilenoglicol como cotensoativo que de acordo com os resultados apresentaram região com ampla quantidade do componente água, permitindo assim preparar sistemas microemulsionados com baixa viscosidade a um custo menor. A razão cotensoativo/tensoativo (C/T) é uma fator fundamental para o aumento do poder de solubilização da microemulsão. Para os tensoativos TMN6 e TMN10 uma razão C/T = 0,5 forneceu diagramas pseudoternários com regiões de Winsor (WI, WII e WIV) onde a região de WIV do tipo O/A foi a região de trabalho.

Foram preparados sistemas por mistura direta contendo 0,2 g de cotensoativo/tensoativo; 0,1 g de óleo e 0,7g de água (figura 27) . Durante o processo de preparo a consistência dos sistemas formados foram analisadas visualmente, onde, em presença de microemulsão, os sistemas contendo Ciprofloxacina e Amoxicilina formaram soluções líquidas e o sistema contendo Norfloxacin apresentou aparência gelatinosa.



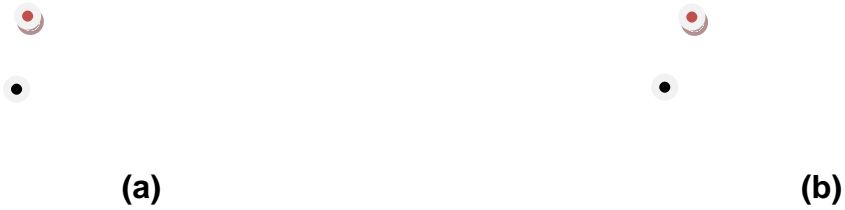


Figura 27. Diagramas utilizados nos testes biológicos contendo (a) tensoativo TMN6/etilenoglicol (C/T=0,5), água, *n*-heptano a 35 °C (b) TMN10/etilenoglicol (C/T=0,5), água, *n*-heptano e água a 35 °C. trocar Kelle que estão erradas

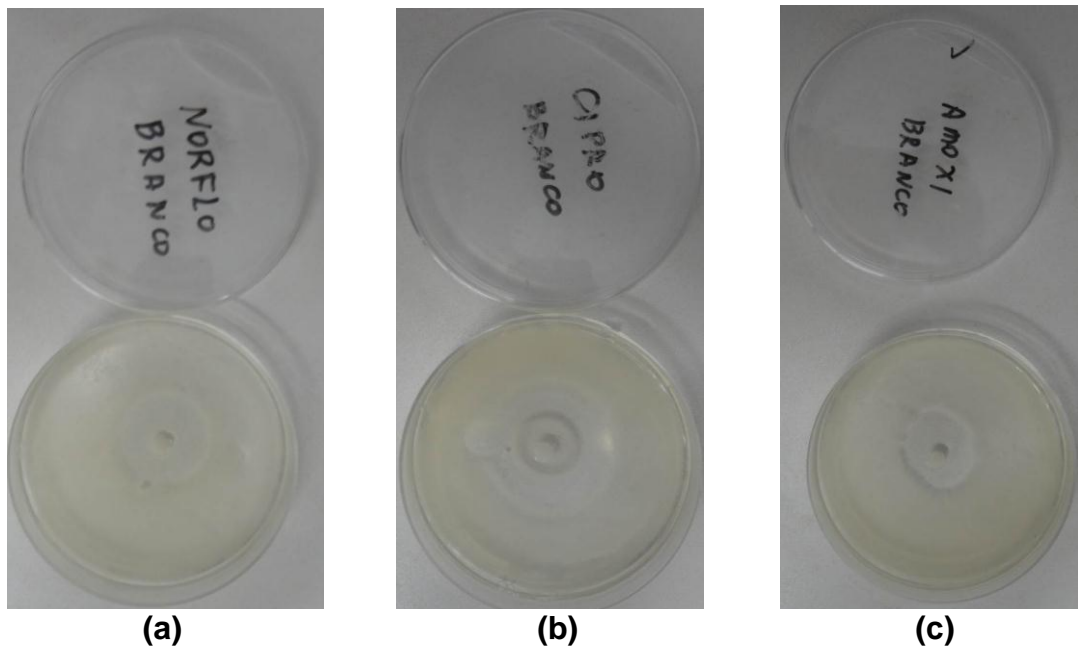


Figura 28. Resultados obtidos com suspensões dos compostos (a) Norfloxacin (b) Ciprofloxacina (c) Amoxicilina em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*.

Todos os testes foram realizados em triplicata para cada uma das formulações, o halo de inibição de cada uma das unidades experimentais foi medido, e por fim, calculado o valor médio do halo mostrados nas tabelas 5 e 6. A atividade dos compostos antibióticos Norfloxacin, Ciprofloxacina e Amoxicilina foi testada na

forma livre como controle, as suspensões foram feitas em água e agitadas a cada aplicação. A figura 28 apresenta os resultados dos halos formados.

O sistema microemulsionado “branco” (tabela 5) sem antibiótico contendo TMN6 (figura 29b) apresentou halo de inibição com 0,4791 cm e não causou morte das bactérias, ou seja, a microemulsão testada não possui atividade antibacteriana acentuada. Entretanto, o sistema microemulsionado “branco” (tabela 6), sem antibiótico e contendo TMN10 (figura 29a), com halo de inibição de 0,8833 cm, causou morte das bactérias expressiva, ou seja, comparada com o a microemulsão testada possui proeminente caráter antibiótico.



Figura 29. Resultados obtidos com sistemas microemulsionados contendo (a) TMN6 e (b) TMN10 em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*.

Na tabela 5 nota-se que a microemulsão contendo o antibiótico Norfloxacin reduziu o halo de inibição em cerca de 15,25 %. Já com Ciprofloxacina o halo de inibição foi reduzido de 14,61 % e com Amoxicilina a redução foi de 16,27 %. A figura 30 mostra os halos formados.

TMN6						
ME (branco)	Norfloxacin (branco)	Ciprofloxacina (branco)	Amoxicilina (branco)	ME/Norfloxacin	ME/Ciprofloxacina	ME/Amoxicilina

Halo (mm) S. <i>aureus</i>	0,4791	1,4750	2,1666	1,0500	1,2500	1,8500	0,8791
-------------------------------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

Tabela 5 – Halos de inibição médios com diferentes compostos testados para tensoativo TMN6 (sistema 9).

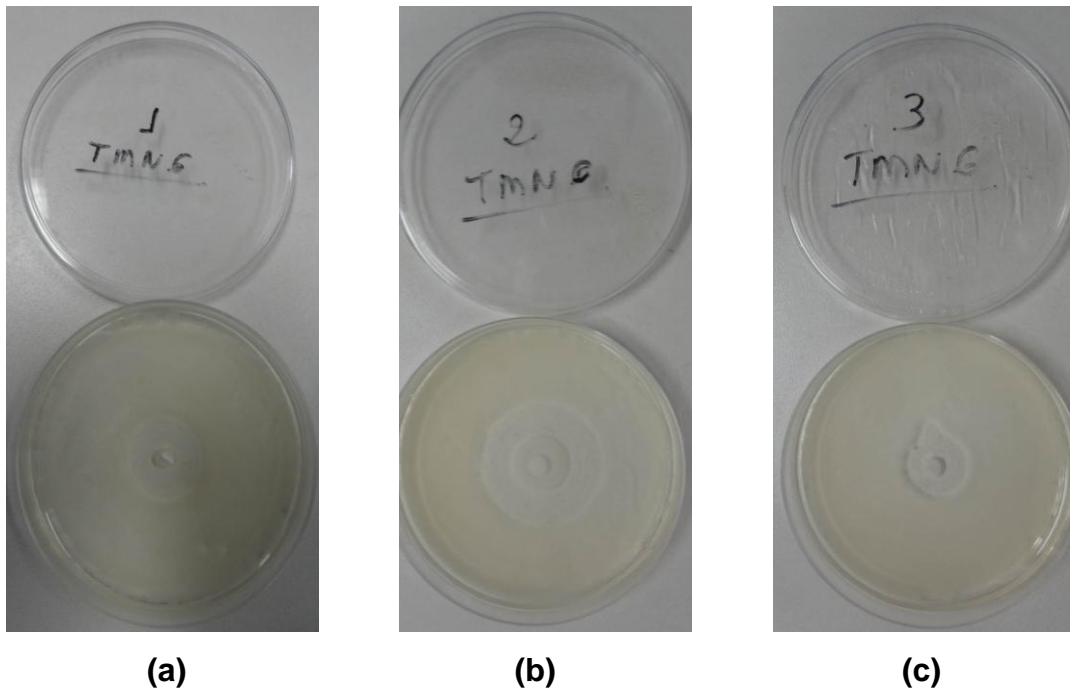


Figura 30. Resultados obtidos com sistemas microemulsionados contendo TMN6 e compostos (a) Norfloxacina (b) Ciprofloxacina (c) Amoxicilina em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*.

Os resultados mais relevantes foram obtidos com a microemulsão contendo TMN10, como mostrado na tabela 6. Pode ser notado nos resultados, que a microemulsão é capaz de melhorar a atividade antibacteriana dos compostos testados.

TMN10						
ME	Norfloxacina	Ciprofloxacina	Amoxicilina	ME/Norfloxacina	ME/Ciprofloxacina	ME/Amoxicilina

	(branco)	(branco)	(branco)	(branco)			
Halo (mm) S. <i>aureus</i>	0,8833	1,4750	2,1666	1,0500	1,4458	2,3291	1,1166

Tabela 6 – Halos de inibição médios com diferentes compostos testados para tensoativo TMN10 (sistema 10).

No caso da microemulsão contendo Norfloxacinina houve redução de 1,97 % no halo de inibição. No entanto, os resultados mais significativos de microemulsão contendo antibiótico foram obtidos com a Ciprofloxacina, com aumento de 7,50 % e a Amoxicilina em que o halo de inibição teve aumento de 6,28 % (figura 31).

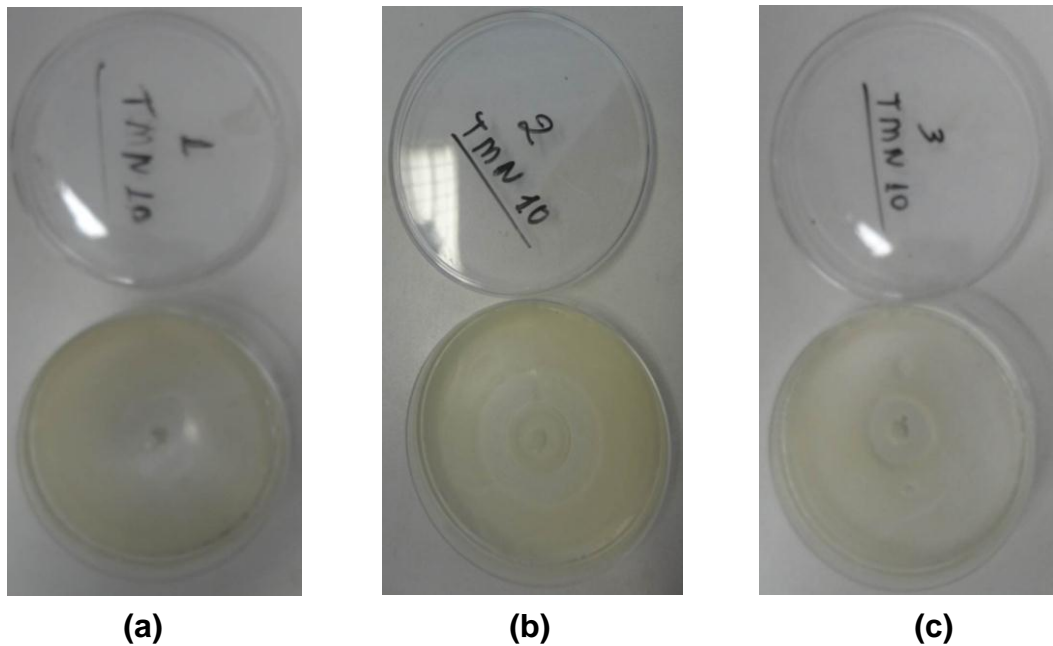


Figura 31. Resultados obtidos com sistemas microemulsionados contendo TMN10 e compostos (a) Norfloxacinina (b) Ciprofloxacina (c) Amoxicilina em placas de cultivo de bactéria *Staphylococcus aureus*.

Al-Dham e colaboradores (2000) avaliaram a estabilidade de várias formulações de microemulsões, sob o ponto de vista microbiológico, através da observação da cinética de morte e microscopia eletrônica de transmissão das bactérias *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Fu e colaboradores (2006) também avaliaram a

atividade antimicrobiana de várias formulações de microemulsões, verificando que houve melhor ação dos produtos quando a taxa de C/T=1,5, apresentando, portanto, melhor ação antimicrobiana.

O fato é que este experimento mostrou que é possível a microemulsão aumentar a atividade antibiótica, um indício de que estes sistemas podem ser usados em formulações de antibióticos. Em síntese nota-se que tensoativos mais hidrofílicos (BHL maior), como o TMN10, favorecem a ação dos antibiótico. Estes tipos de tensoativos possuem a cabeça mais polar, o que sugere que os tensoativos iônicos poderiam apresentar resultados melhores por serem mais polares. Outra alternativa, seria alterar a composição da microemulsão ou até mesmo o antibiótico para obter resultados melhores.

Entretanto, é de suma importância ressaltar que este estudo está em fase inicial e são necessários novos experimentos, para verificar o espectro de ação desses sistemas, bem como as condições em que seu uso pode ser indicado.

O teste em contendo ME/Ciprofloxacina foi o único que teve resultado significativo, ou seja, a média do TMN10/Ciprofloxacina foi estatisticamente maior que a média do Ciprofloxacina (branco). Para os demais testes todas as médias comparadas são estatisticamente iguais (apêndice). O nível de significância adotado foi de 5% (alfa igual a 0,05). O teste aplicado foi o teste t com delineamento casualizado para duas médias independentes (considerando homogeneidade de variâncias entre as duas amostras testadas).

7. CONCLUSÃO

Conclusivamente pode se dizer que:

- Foram caracterizados sistemas contendo os tensoativos Tergitol[®] TMN6 e TMN10 da classe de tensoativos não-iônicos, água e óleo, e ainda analisadas as composições em que são formados sistemas microemulsionados por meio da construção de diagramas.
- O efeito da temperatura foi avaliado e desta forma evidenciou-se que o tensoativo TMN6 é menos sensível à variação de temperatura que o tensoativo TMN10.
- Comprovou-se que os sistemas contendo o hidrocarboneto n-heptano demonstraram formação de região monofásica mais significativa que os contendo óleo siliconado, na ausência de cotensoativo, em ambos os tensoativos.
- Comprovou-se que os sistemas contendo cotensoativos têm a capacidade de evitar a formação de estruturas líquido-cristalinas (géis), e ainda o proeminente caráter hidrofóbico do butan-1-ol e caráter hidrofílico do etilenoglicol.
- Os compostos antibióticos Norfloxacin, Ciprofloxacina e Amoxicilina foram testados na forma livre e microemulsionados. Desta forma, comprovou-se que o sistema microemulsionado contendo TMN6 reduziu a atividade de todos os compostos antibióticos testados. No entanto, o sistema microemulsionado contendo TMN10 ampliou a atividade dos compostos antibióticos testados, com diferenças consideráveis para dois compostos (7,50 % na Ciprofloxacina e 6,28 % na Amoxicilina).
- O teste estatístico demonstrou que o teste contendo ME/Ciprofloxacina foi o único a apresentar resultado significativo, com média de microemulsão contendo o atinbiótico maior que a média do antibiótico puro.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOOFAZELI, R.; BARLOW, D.; LAWRENCE, M.J. Particle analysis of concentrated phospholipidic microemulsions II. Photo correlation spectroscopy. **AAPS Pharm. Sci.** 2, 3, 1-10, 2000. Disponível em www.pharmasci.org. Acesso em: 20 jun. 2013.
- ADACHI, M.; HARADA, M.; SHIOI, A.; SATO, Y.; Extraction of Amino Acids to Microemulsion, **J. Phys. Chem.**, 95, 7925-7931, 1991.
- AJITH, S.; RAKSHIT, A. K. Effect of NaCl on a Nonionic Surfactant Microemulsion System, **Langmuir**, 11, 1122-1126, 1996.
- AJITH, S.; RAKSHIT, A.K. Studies of Mixed Surfactant Microemulsion Systems: Brij 35 with Tween 20 and Sodium Dodecyl Sulfate, **J. Phys. Chem.**, 99, 14778-14783, 1995.
- AL-ADHAM, I.S.I.; KHALIL, E.; AL-HMOUD, N.D.; KIERANS, M.; COLLIER, P.J. Microemulsions are membrane-active, antimicrobial, self-preserving systems, **Journal of Applied Microbiology**, 89, 32-39, 2000.
- ALBUQUERQUE, H. S.; VALE, T. Y. F.; DANTAS, T. N. de C.; NETO, A. A. D.; SANTANNA, V. C.; COELHO, T. A. M.; Estudo da eficiência de sistemas microemulsionados na recuperação avançada de petróleo. **4º PDPETRO**, 2007.
- ALMEIDA, C. M. V. B., BARELLA, F. A., GIANNETTI, B. F. Graphical tool for energy analysis: concepts and an example of application. **IV International Biennial Workshop Advances in Energy Studies: Energy-Ecology Issues in Latin America**. State University of Campinas. Campinas, 2004.
- ABOOFAZELI, R.; BARLOW, D.; LAWRENCE, M.J. Particle analysis of concentrated phospholipidic microemulsions II. Photo correlation spectroscopy. **AAPS Pharm. Sci.** 2, 3, 1-10, 2000. Disponível em www.pharmasci.org. Acesso em: 20 jun. 2013.
- ATKINS, P. W., JONES, L., **Princípios de Química – Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**, 5ª. Edição, Bookman, São Paulo, 2011.
- BAGHA, A. R.T.; HOLMBERG, K. Cationic Ester-Containing Gemini Surfactants: Physical-Chemical Properties, **Langmuir**, 26, 12, 9276–9282, 2010.
- BARROS, F.F. C. ; QUADROS, C. P.; JÚNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações Em alimentos, **Quim. Nova**, 30, 2, 409-414, 2007.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; PASTORE, G. M. Studies of emulsifying properties and stability of the biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* in cassava wastewater. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28, 4, 979-985, 2008.

BAUER, C.; BAUDUIN, P.; DIAT, O.; ZEMB, T. Liquid Interface Functionalized by an Ion Extractant: The Case of Winsor III Microemulsions, **Langmuir**, 27, 5, 1653–1661, 2010.

BERA, A.; MANDAL, A.; OJHA, K.; KUMAR, T. Water Solubilization Capacity and Conductance Behaviors of Anionic and Cationic Microemulsion Systems, **J. Chem. Eng. Data**, 56, 4422–4429, 2011.

BLANKSCHTEIN, D.; THURSTON, G.M.; BENEDEK, G.B. Phenomenological theory of equilibrium thermodynamic properties and phase separation of micellar solutions. **Journal of Chemical Physics**, 85, 7268-7288, 1986.

BORGES, L. D.; MACHADO, P. F. L. Lavagem a Seco, **Química nova na escola**, 35, 1, 11-18, 2013.

CABRAL, D. L. M. **Sistemas microemulsionados contendo o tensoativo siliconado comercial Q2-5211: Caracterização e possíveis aplicações em formulações de antifúngicos e pesticidas**, Viçosa, Dissertação, 68f, 2012.

CAZEDEY, E. C. L. **Análise químico-farmacêutica de cloridrato De ciprofloxacino em solução oftálmica**, Universidade estadual paulista, São Paulo, Tese, 180f, 2010.

CHORILLI, M. **Desenvolvimento e caracterização físico-química de Sistemas nanoestruturados contendo palmitato de Retinol: controle microbiológico, avaliação da Segurança e eficácia no tratamento do Envelhecimento cutâneo**, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, SP, Tese, 172f, 2007.

COSTA, L. C.; BELÉM, L.F.; SILVA, P. M. F.; PEREIRA, H. S.; JÚNIOR, E. D.S.; LEITE, T. R.; PEREIRA, G. J. S. Urinary infection in outpatients: prevalence and profile of antimicrobial resistance, **RBAC**, 42, 3, 175-180, 2010.

CUNHA, J. P. A. R. da., ALVES, G. S. Características físico-químicas de soluções aquosas com adjuvantes de uso agrícola. **Interciência**, 9, 34, 655-659, 2009.

CUNHA, J. P. A. R., CARVALHO, W. P. A. Distribuição volumétrica de aplicações aéreas de agrotóxicos utilizando adjuvantes. **Nova Técnica**, v.13, n.2, 130-135, 2005.

CURRI, M. L.; AGOSTIANO, A.; MANNA, L.; MONICA, M. D.; CATALANO, M.; CHIAVARONE, L.; SPAGNOLO, V.; LUGARA, M. Synthesis and Characterization of CdS Nanoclusters in a Quaternary Microemulsion: the Role of the Cosurfactant, **J. Phys. Chem. B**, 104, 8391-8397, 2000.

DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T.; Microemulsão: um promissor

carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 32, 1, 9-18, 2011.

DANTAS, T. N. C.; SILVA, H. S. R. C.; NETO, A. A. D.; MARCUCCI, M. A.; MACIEL, M. A. M. Development of a new propolis microemulsion system for topical applications. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20, 3, 368-375, 2009.

DEEN, R.; et al. Phase behavior and kinetics of phase separation of a nonionic microemulsion of C12E5/water/1-chlorotetradecane upon a temperature quench. **Journal. J Phys Chem B**. 21,113,20,7138-7146, 2009.

DESHPANDE, S.G., BAJAJ, A., SAWARKAR, S.P.; **Intraarterial and intravascular drug delivery systems In Advances in Controlled and Novel Drug Delivery**; Ed: Jain, N.K.; CBS Publishers and Distributors, New Delhi, 182 – 183, 2001.

DOGRA, A.; RAKSHIT, A. K. Phase Behavior and Percolation Studies on Microemulsion System Water/SDS + Myrj45/Cyclohexane in the Presence of Various Alcohols as Cosurfactants, **J. Phys. Chem. B**, 108, 10053-10061, 2004.

FAN, Y.; S SIMON,.; SJÖBLOM, J. Chemical Destabilization of Crude Oil Emulsions: Effect of Nonionic Surfactants as Emulsion Inhibitors, **Energy Fuels**, 23, 4575–4583, 2009.

FANU, M. **Colloids in Biotechnology**, Surfactant Science Series volume 152, 2011. Disponível em http://books.google.com.br/books?id=JF1w6m6Kmd4C&hl=pt-BR&source=gbs_similarbooks Acesso em 6 jun 2013

FERNANDES, M. R. **Desenvolvimento de um novo combustível microemulsionado base-diesel**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grade do Norte, 97f, 2005.

FENG, Z.; YAQIAN, W. **Formula Optimization Design of Pesticide Microemulsion**, Pesticides - Formulations, Effects, Fate, Prof. Margarita Stoytcheva, 2011.

FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**. Edusp: São Paulo, 2003.

FORMARIZ, A. T.; **Formulação e caracterização físico-química e biofarmacêutica de microemulsões lipídicas contendo Doxorubicina**. Tese de de Doutorado, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo, 189f, 2008.

FORMARIZ, T. F. **Incorporação de doxorubicina em microemulsões estabilizadas por fosfatidilcolina de soja e estudo da atividade antiproliferativa in vitro através de cultura de células**. Araraquara, Dissertação, Universidade Estadual Paulista, 199f, 2005.

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

FRANK, C. S. **Concepção, construção e avaliação de fotorreatores catalisados na degradação de carga poluente de amoxicilina em efluente hospitalar**, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Tese, 87f, 2008.

FU, P.P.; HOWARD, P.C.; CULP, S.J.; XIA, Q.; WEBB, P.J.; BLANKENSHIP, L.R.; WAMER, W.G.; BUCHER, J.R. Do topically applied skin creams containing retinyl palmitate affect the photocarcinogenicity of simulated solar light? **J. Food Drug Anal.**, 10, 4, 262-268, 2002.

GAO, Y.; LI, N.; ZHANG, S.; ZHENG, X.L.; , DONG, B.; LI.U. Organic Solvents Induce the Formation of Oil-in-Ionic Liquid Microemulsion Aggregations, **J. Phys. Chem. B**, 113, 1389–1395, 2009.

GANGULI, A. K., GANGULY, A., VAIDYA, S. Microemulsion-based synthesis of nanocrystalline material, **Chemical Society Reviews**, 39, 474-485, 2010.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Mustard oil microemulsion formulation and evaluation of bactericidal Activity, **Int J Pharm Pharm Sci**, 4, 4, 497-500, 2012.

GIANNETTI, B. F.; BARRELLA, F. A.; BONILLA, S. H.; ALMEIDA, C. M. V. B., Applications of the emergetic ternary diagram for eco-efficiet decision making. **Produção**, 17, 2, 246-262, 2007.

GOMES, F. E. S. **Obtenção de sistemas microemulsionados e estudo de simulação de por dinâmica molecular de sistemas micelares objetivando a veiculação de produtos naturais bioativos**, Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN, Natal, 172f, 2010.

GRADZIELSKI, M.; HOFFMANN, H. Charged o/w microemulsion droplets, **Progr Colloid Polym Sci**, 93, 167-174, 1993.

GURGEL, A. **CHARACTERIZATION of novel self-assembled systems and applications in chemical reactions**. Tese de doutorado (PhD), University of East Anglia, Norwich, Reino Unido, 2004.

HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. **Principles of Colloid and Surface Chemistry**, Revised and Expanded, 3a ed., 1997.

HOLMES, J. D.; STEYTLER, D. C. G.; REES, D. ROBINSON, B. H. Bioconversions in a Water-in-CO₂ Microemulsion, **Langmuir**, 14, 6371-6376, 1998.

HOSSAI, S.; et al., Microemulsions as Nanoreactors for preparation of Nanoparticles with Antibacterial Activity, **Journal of Bangladesh Chemical Society**, Vol. 25(1), 71-79, 2012, Disponível em: <http://www.banglajol.info/index.php/JBCS/article/view/11777> Acesso em: 24 jun de 2013.

HUIBERS, P. D. T.; Quantum-Chemical Calculations of the Charge Distribution in Ionic Surfactants, **Langmuir**, 15, 7546-7550, 1990.

JOHN, A. C.; RAKSHIT, A. K. Phase Behavior and Properties of a Microemulsion in the Presence of NaCl, **Langmuir**, 10, 2084-2087, 1994.

JUNIOR, A. S. C.; FIALHO, S. L.; CARNEIRO, L. B.; ORÉFICE, F.; Microemulsions as drug delivery systems for topical ocular administration. **Arq. Bras. Oftalmol.**, 66, 385-39, 2003.

KEGEL, W. K.; LEKKERKERKER, H. N. W. Competition between a Lamellar and a Microemulsion Phase in an Ionic Surfactant System, **J. Phys. Chem.**, 97, 1, 1124-1133, 1993.

KRIEGEL, C.; KIT, K. M.; MCCLEMENTS, D. J.; WEISS, J. Nanofibers as Carrier Systems for Antimicrobial Microemulsions. Part I: Fabrication and Characterization, **Langmuir**, 25, 1154-1161, 2009.

KUMAR, A.; AGARWAL, S. P.; AHUJA, A.; ALI, J.; CHOUDHRY, R.; BABOOTA, S. Preparation, characterization, and in vitro antimicrobial assessment of nanocarrier based formulation of nadifloxacin for acne treatment, **Pharmazie**, 66, 2011.

KUNIEDA, H.; FUKUI, Y.; UCHIYAMA, H.; SOLANS, C. Spontaneous Formation of Highly Concentrated Water-in-Oil Emulsions (Gel-Emulsions), **Langmuir**, 12, 2136-2140, 1996.

LAI, W. C.; KERTES, A. S. Thermodynamics of microemulsion systems IV. Enthalpies of solution of fatty acid cosurfactants in hydrocarbon oils. **Colloides and surfaces**, 4, 379-387, 1982.

LI, X.; CHAI, J.; SHANG, S.; LI, H.; LU, J.; YANG, B.; WU, Y.; Phase Behavior of Alcohol-Free Microemulsion Systems Containing Butyric Acid as a Cosurfactant, **J. Chem. Eng. Data**, 55, 3224-3228, 2010.

LIU, W.; CHAI, J.; CHEN, L.; XU, L.; ZHU, M.; LU, J. Effect of the Composition of Mixed Oils on the Phase Behavior and Solubilization Ability of Microemulsion Systems, **J. Chem. Eng. Data**, 57, 469-474, 2012.

LUCCHETTI, G.; SILVA, A. J.; UEDA, S. M. Y.; PEREZ, M. C. D.; MIMICA, L. M. J. Infecções do trato urinário: análise da frequência e do perfil de sensibilidade dos agentes causadores de infecções do trato urinário em pacientes com cateterização vesical crônica, **J Bras Patol Med Lab**, 41, 6, 383-389, 2005.

MANDAL, S.; GHOSH, S.; BANERJEE, C.; KUCHLYAN, J.; BANIK, D.; SARKAR, N. A Novel Ionic Liquid-in-Oil Microemulsion Composed of Biologically, Acceptable Components: An Excitation Wavelength Dependent Fluorescence Resonance Energy Transfer Study, **J. Phys. Chem. B**, 117, 3221–3231, 2013.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, 24, 1, 2001.

MATTOX, J. R, ROHM AND HAAS COMPANY. **Microbicial microemulsion** . 07/209,620 fev. 2000, 31 Jun 22 1988. Disponível em <http://www.patentbuddy.com/Patent/4954338>. Acesso em: 07 jun. 2013.

MENDONÇA, C. R. B. **Desenvolvimento de metodologia para análise direta de óleos vegetais empregando microemulsões de água em óleo e meios não aquoso**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 184f, 2005.

MEHTA, S.K.; KAUR, G.. Microemulsions: Thermodynamic and Dynamic Properties, Thermodynamics, **Mizutani Tadashi** , 2011.

MORAES, R. A. **Avaliação farmacocinética de duas formulações de norfloxacinó em voluntários sadios de ambos os sexos**, Universidade Federal do Ceará, Ceará, Tese, 173f, 2010.

MOULIK, S.P. RAY, S . Thermodynamics of clustering of droplets in water/AOT/heptane microemulsion, **Pure & Appl. Chem.**, Vol. 66, 3, 521-525, 1994.

MOULIK, S. P.; PAUL, B. K. Structure, dynamics and transport properties of microemulsions, **Adv. Colloid Int. Sci.** , 78, 199-195, 1998.

MUKHERJEE, K.; MUKHERJEE, D.C.; MOULIK, S. P. Thermodynamics of Microemulsion Formation III. Enthalpies of Solution of Water in Chloroform as Well as Chloroform in Water Aided by Cationic, Anionic, and Nonionic Surfactants, **Journal of colloid and interface science** 187, 327–333, 1997.

NAJJAR, R. Microemulsion – **An Introduction to properties and applications**, InTech Chapters, 2012.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicação como sistemas de liberação de fármacos. **Quim. Nova.**, 27, 1, 131-138, 2004.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V. Microemulsões I: Fundamentos teóricos de formação do sistema microemulsionado. **Pharm. Bras.** 1, 8, 73-79, 2001.

OLIVEIRA, P. R. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação in vitro de matrozes hidrofílicas de norfloxacinó contendo polioxietileno e**

hidroxipropilmetilcelulose, Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Tese, 178f, 2010.

OLIVEIRA, R. B.; LIMA, E. M. **Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos**. Revista Eletronica de Farmácia, 3, 1, 29-35, 2006.

PAUL, B. K.; MOULIK, S. P. Uses and Applications of Microemulsions. **Current Scienc.**, special section: soft condensed matter, 80, 8, 990-1001, 2001.

PENTEADO, J. C. P.; SEOUD, O. A. E.; CARVALHO, L. R. F. Linear alkylbenzene sulfonates: Chemistry, environmental impact and analysis. **Química Nova**, 29, 5, 1038-1046, 2006.

PERSSON, L. Master of Science Thesis in the Master Degree Programme Materials and Nanotechnology, **Chalmers university of technology**, Gothenburg, Sweden, 2012.

PIMENTEL, L.F.; JUNIO, A.T.J.; MOSQUEIRA, V. C. F.; MAGALHES, N. S. S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária, Brazilian **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 43, 4, 503-514., 2007.

PIRES, M. J.; BARROS, M. R. A.; CABRAL, J. M. S. Liquid-liquid extraction of proteins with reversed micelles. **Biotechnology Progress**, 12, 290-301, 1996.

PITHAPURWALA, Y. K.; SHAH, D. O. Interfacial composition of microemulsions: modified Schulman-Bowcott model, **Chem. Eng. Commun.** 29, 101-112, 1984.

PROSSER, A. J.; FRANCES, E. I. Adsorption and surface tension of ionic surfactants at the air-water interface: review and evaluation of equilibrium models. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 178,1-40, 2001.

QUEIROZ, A. A., MARTINS, J. A. S., CUNHA, J. P. A. R. Adjuvants and water quality in pesticide application. **Biosci. J.** Uberlândia, 24, 4, 8-19, 2008.

RANIA, M.; HATHOUT, T.; WOODMAN, J. Applications of NMR in the characterization of pharmaceutical microemulsions, **Journal of Controlled Release**, 161, 1-6, 2012.

ROBINSON, B. H.; REES, G. D. Microemulsions and Organogels: Properties and Nobel Applications. **Advanced Materials**, 5, 9, 608-619, 1993.

ROMIO, A. P. **Encapsulação de nanopartículas de níquel obtidas a partir da técnica de polimerização em miniemulsão direta e inversa**. Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Tese, 178f, 2011.

ROSANO, H. L.; NIXON, A. L. Interfacial Stoichiometry of a Microemulsion System, **J. Phys. Chem.**, 93, 4536-4539, 1989.

ROSSI, C. G. F. T.; DANTAS, T. N. C.; NETO, A. A. D.; MACIEL, M. A. M. Microemulsões: Uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Ver. Univ. Rural. Sér. Ci. Exatas e da Terra**, 26, 1-2,5, 45-66, 2007.

SAJJADI, S.; JAHANZAD, F.; YIANNESKIS, M. Catastrophic phase inversion of abnormal emulsions in the vicinity of the locus of transitional inversion. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp** 240:149–155, 2004.

SILVA, D. J.; GOMIDE, J. L.; COLODETTE, J. L., Utilização de surfactantes, na polpação kraft de madeira de eucalipto, como auxiliar na remoção de extrativos lipofílicos. **Revista Árvore**, 28, 6, 911-917, 2004.

SILVA, P. K. L. da. **Remoção de óleo da água de produção por flotação de coluna utilizando tensoativos de origem vegetal.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2008.

SOLANS, C. ; CELMA, M. J. G. Surfactantes for microemulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, 2, 464-471, 1997.

STREY, R. Microemulsion microstructure and interfacial curvature, **Colloid e Polymer Science**, 272, 1005-1019, 1994.

TAVARES, L. C.; BATALHA, F.N.; MOREIRA, R. F.; VILAR, D.A.N.; BARRA, I. M. M.; FREITAS, C. A. B.; MARINHO, V. H. S. **Propriedades e aplicações dos tensoativos.** 51º Congresso Brasileiro de Química, Meio Ambiente e Energia, São Luiz, MA, 2011.

TADROS, T. F.; VINCENT, B. in **'Encyclopaedia of Emulsion Technology'** Becher, P. Ed., 1, Marcel Dekker, New York, 1980.

TONDRE, C; DEROUICHE, A. Mechanbm of Solute Transfer across Water/Oil Interfaces in Biphasic Microemulsion Systems, **J. Phys. Chem.**, 94, 1624-1626, 1989.

TROTTA, M.; PATTARINO, F.; IGNONI, T. Stabiliy of drug-carrier emulsions containing phosphatidylcholine mixtures. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 53, 206-208, 2002.

WANI, S. P.; DIVAKARA, B. N.; UPADHYAYA, H. D.; LAXMIPATHI GOWDA, C. L. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. **Applied Energy**, 87, 732-742, 2010.

WASAN, D. T., et al, **Surfactants in Chemical / Process Engineering**, 28, 1^a ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1998.

WATANABE, K.; IMAI S.; MORI, Y. H. Surfactant effects on hydrate formation in an unstirred gas/liquid system: An experimental study using HFC-32 and sodium

dodecyl sulfate. Department of Mechanical Engineering, Keio University, **Chemical Engineering Science**. 60, 17, 4846-4857, 2005.

WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Mass Transport Phenomena in Oil-in-Water Emulsions Containing Surfactant Micelles: Solubilization, **Langmuir**, 16, 5879-5883, 2000.

WINSOR, P.A. Hydrotropy, solubilization and related emulsification processes. **Trans Faraday Soc** 44, 376–398, 1948.

XENAKIS, A.; TONDRE, C. Oil-in-Water Microemulsion Globules as Carriers of Lipophilic Substances across Liquid Membranes, **J. Phys. Chem.**, 87, 4737-4743, 1983.

ZHANG, H.; CUI, Y.; ZHU, S.; FENG, F.; ZHENG, X. Characterization and antimicrobial activity of a pharmaceutical microemulsion, **International Journal of Pharmaceutics**, 395, 154–160, 2010.

ZHANG, H.; LU, Z.; WANG, S.; SHEN, Y.; FENG, F.; ZHENG, X. Development and antifungal evaluation of a food-grade U-type microemulsion, **Journal of Applied Microbiology** 105, 993–1000, 2008.

ZHANG, H.; SHEN, Y.; WENG, P.; ZHAO, G.; FENG, F.; ZHENG, X. Antimicrobial activity of a food-grade fully dilutable microemulsion against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, **International Journal of Food Microbiology**, 135, 211–215, 2009.

ZHOU, M. R.; RHUE, D. Screening Commercial Surfactants Suitable for Remediating DNAPL Source Zones by Solubilization, **Environ. Sci. Technol.**, 34, 1985-1990, 2000.

APÊNDICE A – Diagramas dos sistemas caracterizados

Tabela 1 – Composição dos sistemas testados

Sistema	Tensoativo	Óleo	Cotensoativo
1	TMN6	n-heptano	Ausente
2	TMN10	n-heptano	Ausente
3	TMN6	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 0,5)
4	TMN10	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 0,5)
5	TMN6	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 1,0)
6	TMN10	n-heptano	Butan-1-ol (C/T 1,0)
7	TMN6	octametilciclotetrasiloxano	Ausente
8	TMN10	octametilciclotetrasiloxano	Ausente
9	TMN6	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 0,5)
10	TMN10	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 0,5)
11	TMN6	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 1,0)
12	TMN10	n-heptano	Etilenoglicol (C/T 1,0)

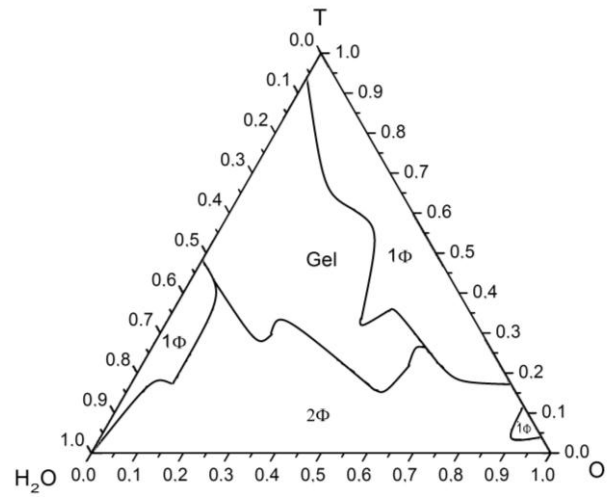
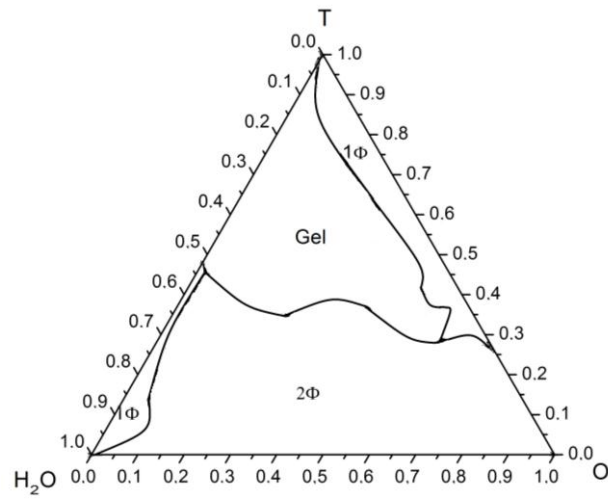
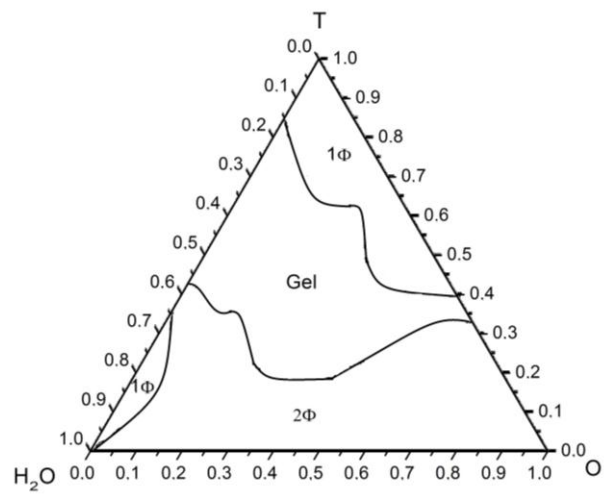
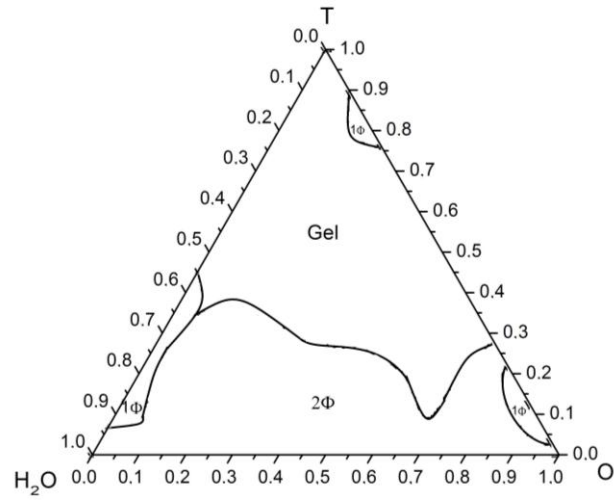
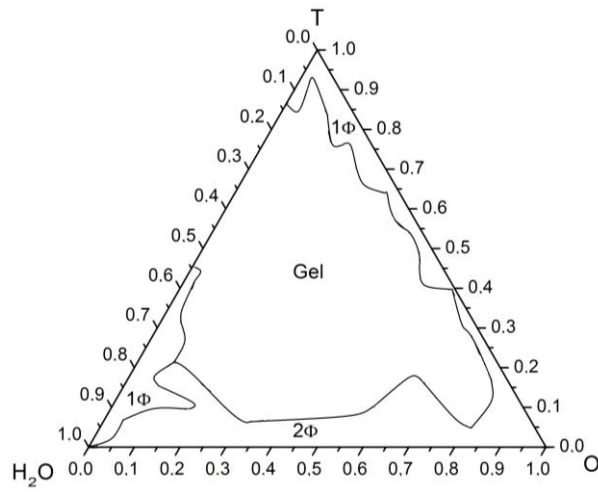
Figura 1 – Sistema 1 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C**(a)****(b)****(c)**

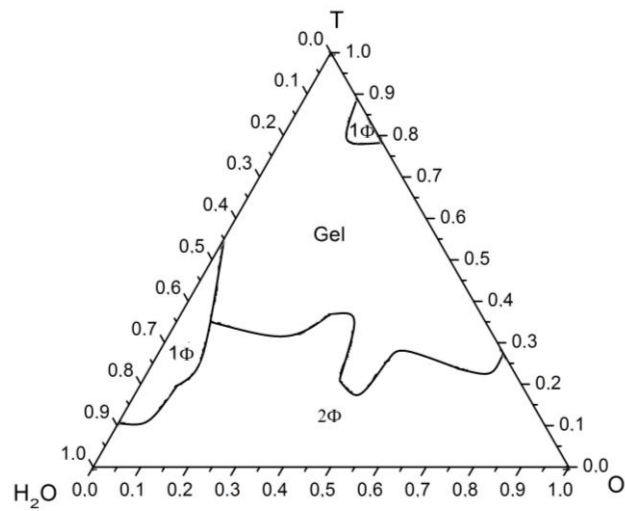
Figura 2 – Sistema 2 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)

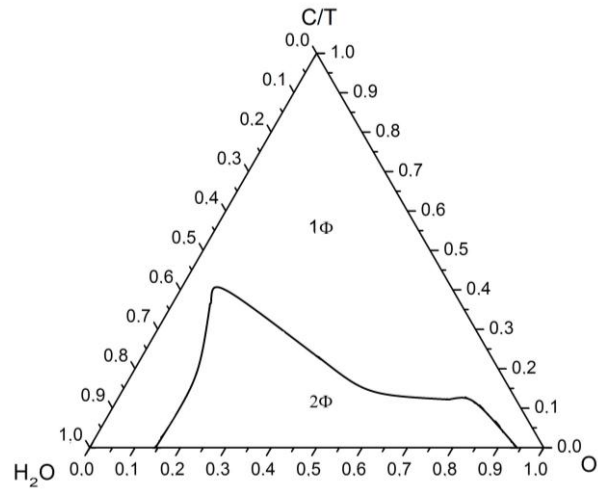


(b)

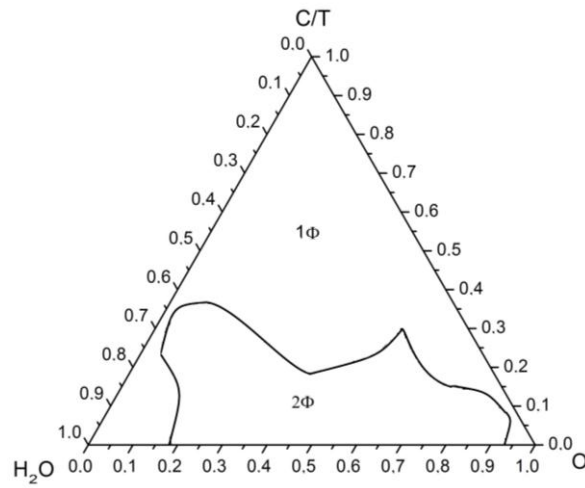


(c)

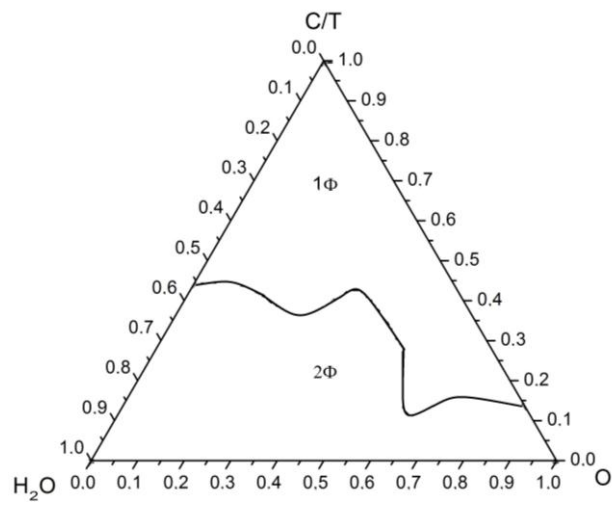
Figura 3 – Sistema 3 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)

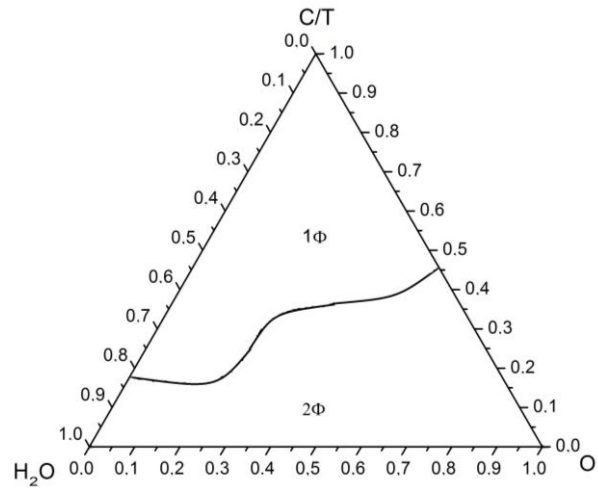


(b)

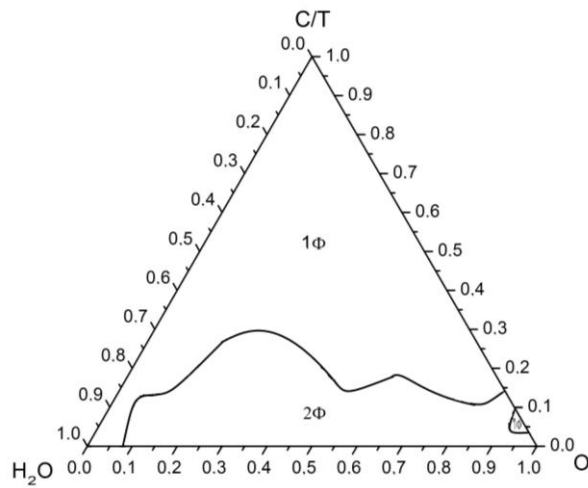


(c)

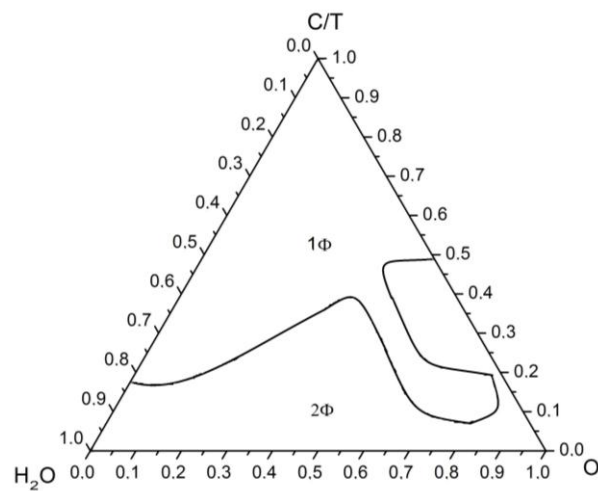
Figura 4 – Sistema 4 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)



(b)



(c)

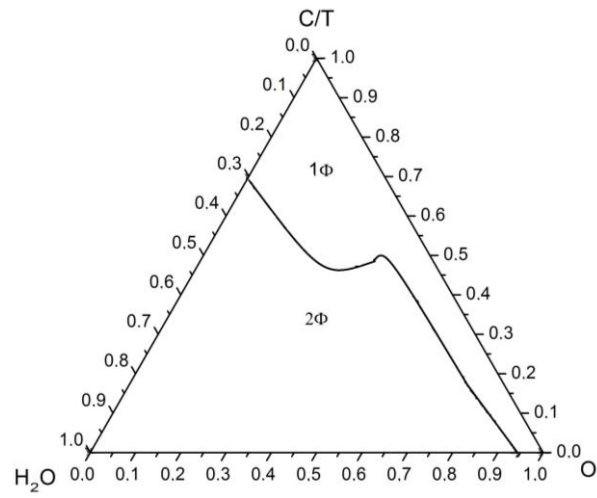
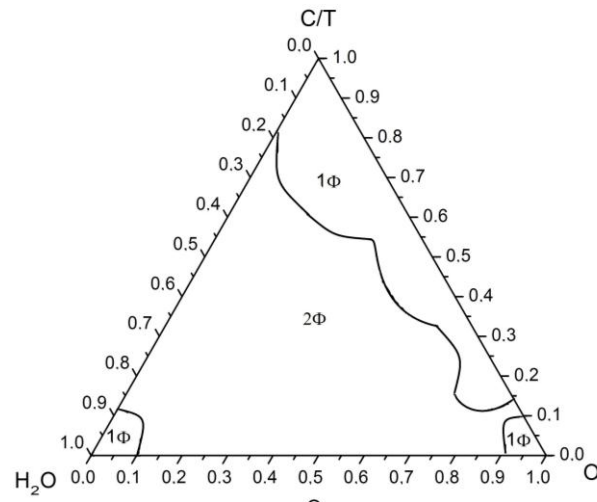
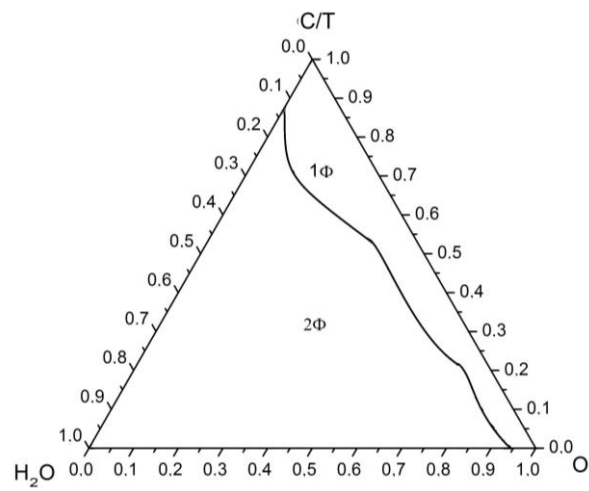
Figura 5 – Sistema 5 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C**(a)****(b)****(c)**

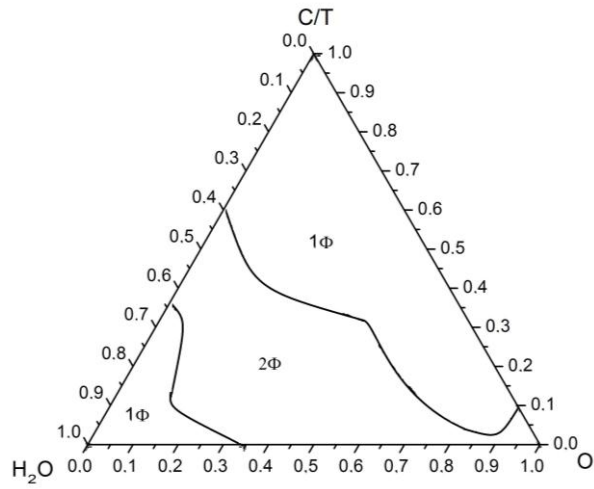
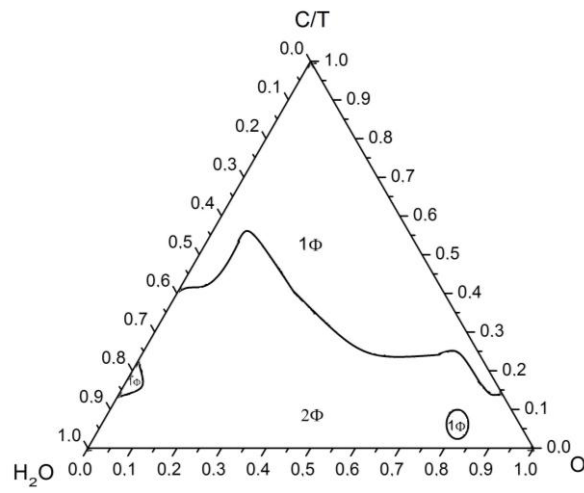
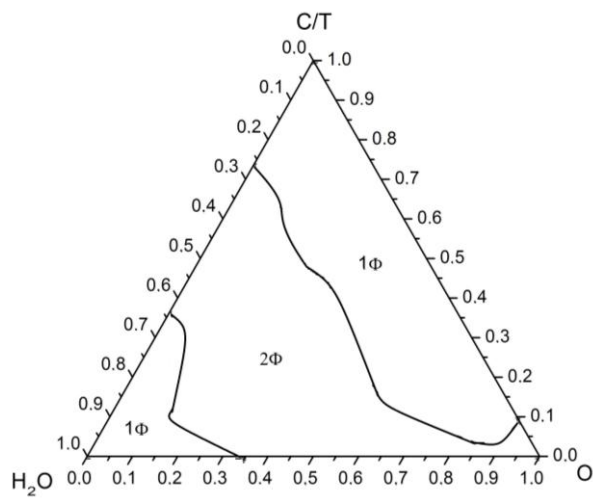
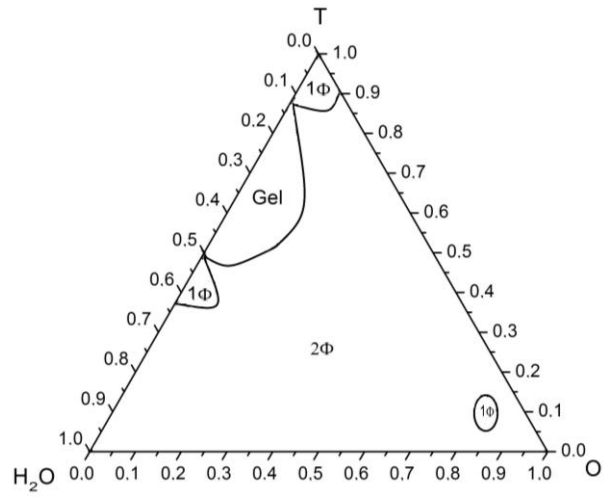
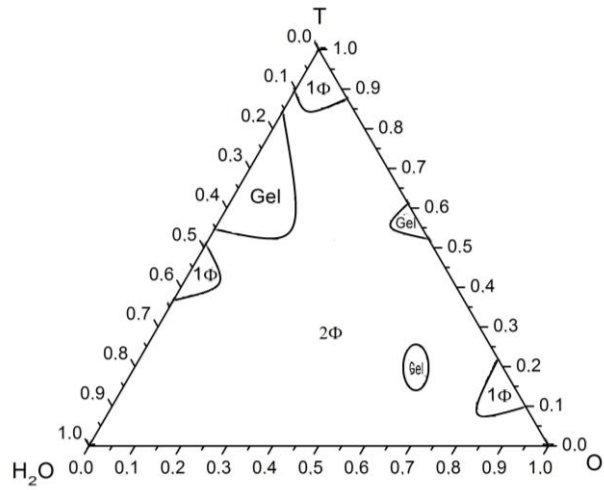
Figura 6 – Sistema 6 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C**(a)****(b)****(c)**

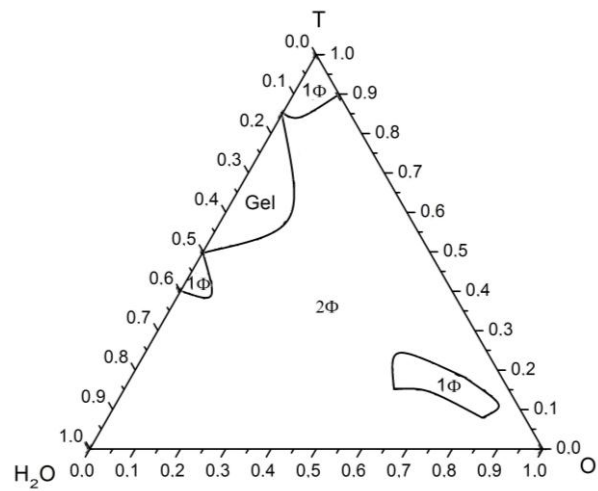
Figura 7 – Sistema 7 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)

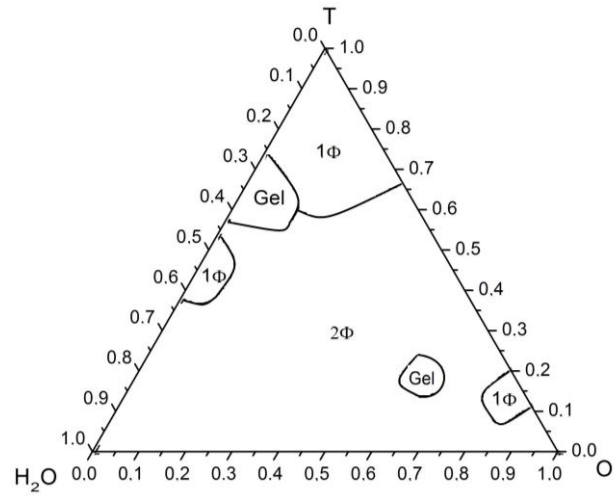


(b)

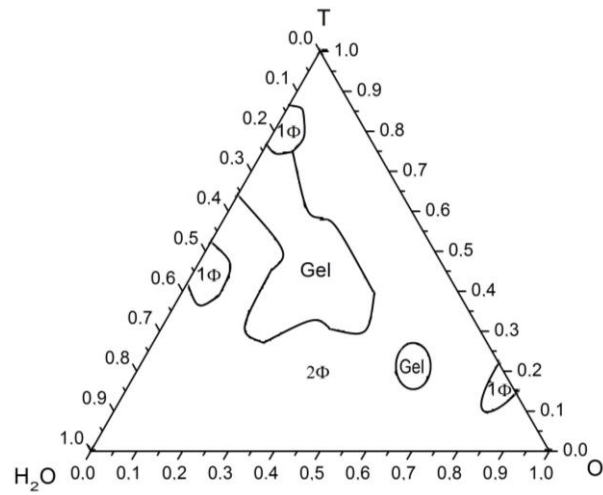


(c)

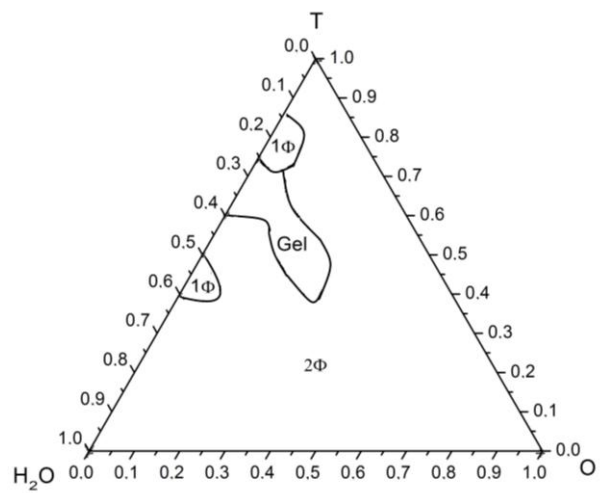
Figura 8 – Sistema 8 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)

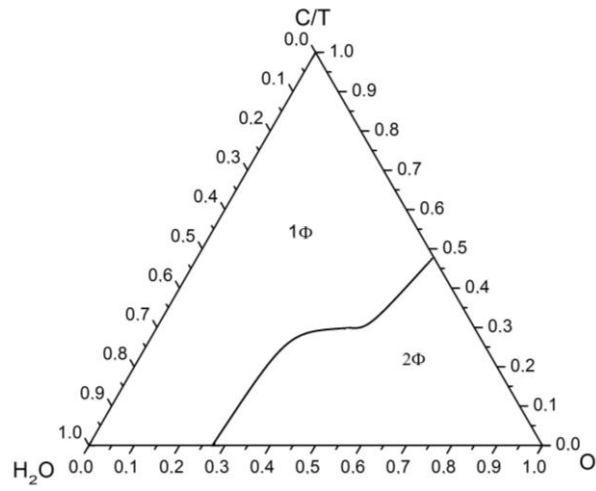


(b)

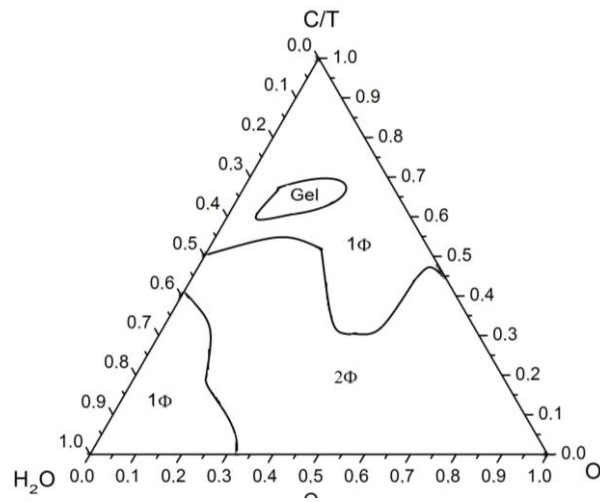


(c)

Figura 9 – Sistema 9 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)



(b)



(c)

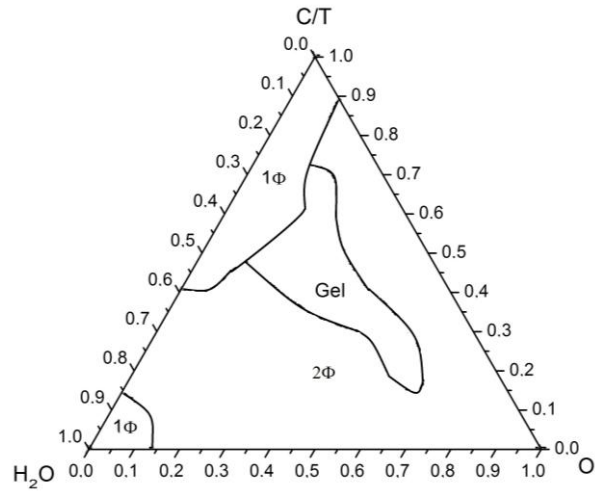
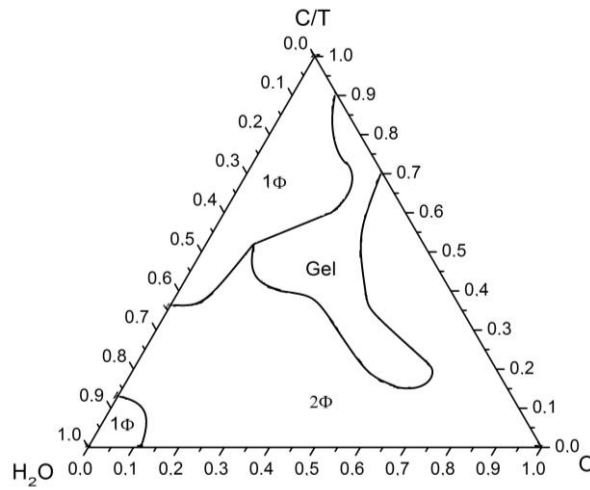
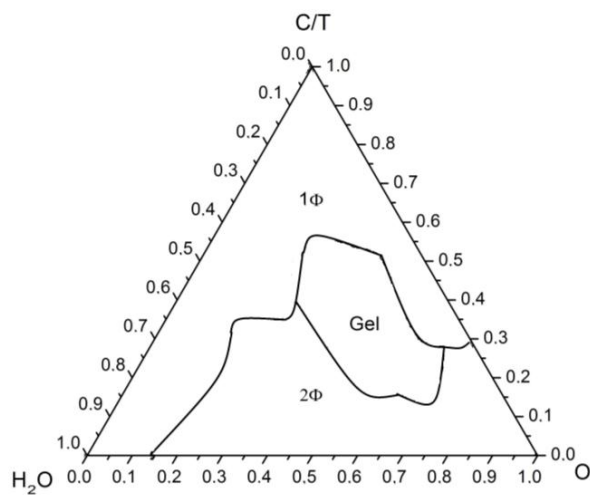
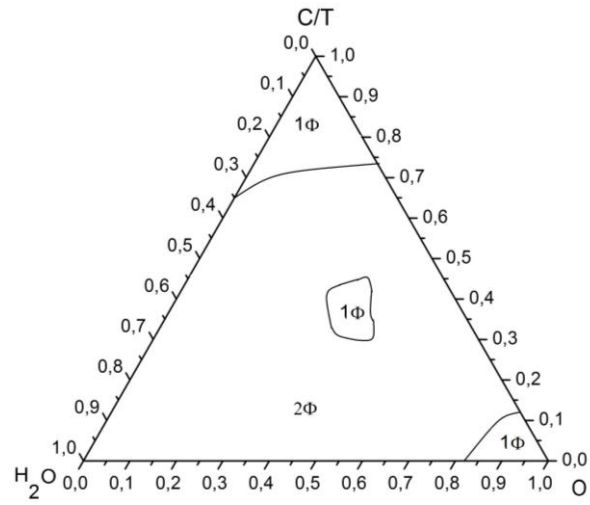
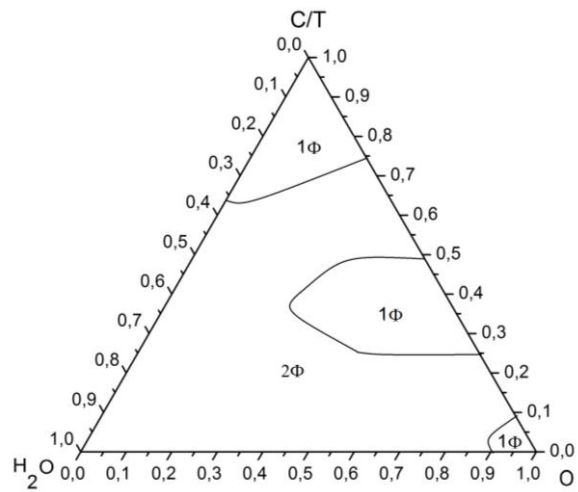
Figura 10 – Sistema 10 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C**(a)****(b)****(c)**

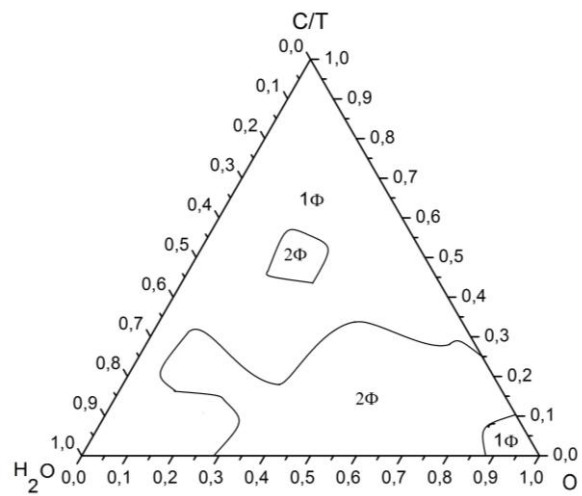
Figura 11 – Sistema 11 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)

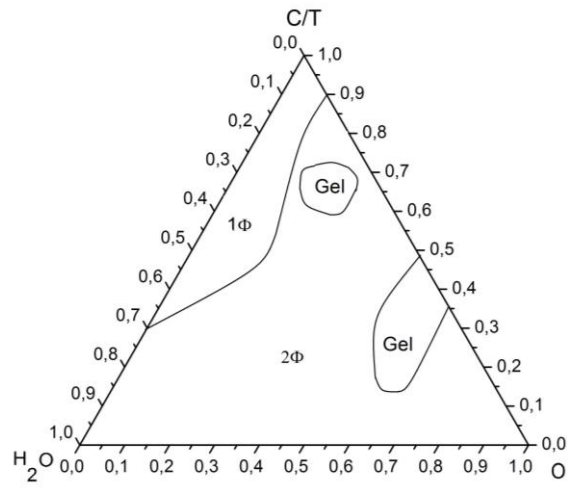


(b)

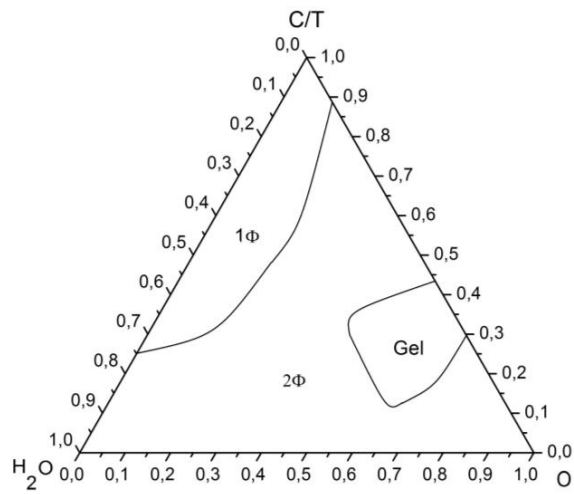


(c)

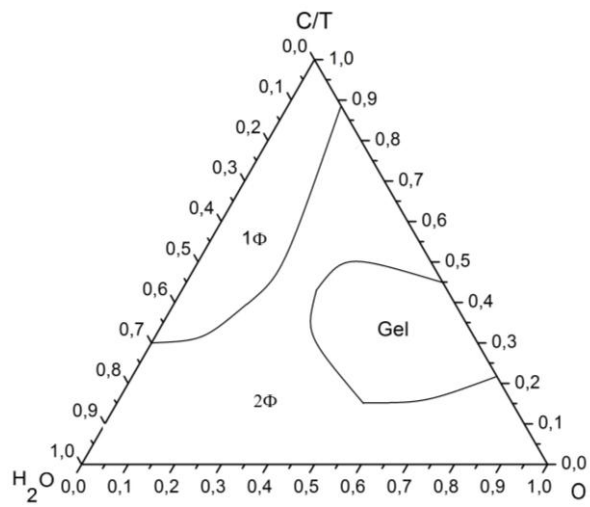
Figura 12 – Sistema 12 (a) 15 °C, (b) 25 °C e (c) 35 °C



(a)



(b)



(c)

APÊNDICE B - Análise estatística

Two-Sample T-Test and CI: norflo TMN10; norflo

Two-sample T for norflo TMN10 vs norflo

	N	Mean	StDev	SE Mean
norflo TMN10	3	1,4458	0,0473	0,027
norflo	3	1,4750	0,0661	0,038

Difference = mu (norflo TMN10) - mu (norflo)

Estimate for difference: -0,029167

95% lower bound for difference: -0,129270

T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = -0,62 P-Value = 0,716 DF = 4

Both use Pooled StDev = 0,0575

Two-Sample T-Test and CI: norflo TMN6; norflo

Two-sample T for norflo TMN6 vs norflo

	N	Mean	StDev	SE Mean
norflo TMN6	3	1,2500	0,0750	0,043
norflo	3	1,4750	0,0661	0,038

Difference = mu (norflo TMN6) - mu (norflo)

Estimate for difference: -0,225000

95% lower bound for difference: -0,348082

T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = -3,90 P-Value = 0,991 DF = 4

Both use Pooled StDev = 0,0707

Two-Sample T-Test and CI: cipro TMN10; cipro

Two-sample T for cipro TMN10 vs cipro

	N	Mean	StDev	SE Mean
cipro TMN10	3	2,3292	0,0641	0,037
cipro	3	2,167	0,113	0,065

Difference = mu (cipro TMN10) - mu (cipro)

Estimate for difference: 0,162500

95% lower bound for difference: 0,002119

T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = 2,16 P-Value = 0,048 DF = 4

Both use Pooled StDev = 0,0921

Two-Sample T-Test and CI: cipro TMN6; cipro

Two-sample T for cipro TMN6 vs cipro

	N	Mean	StDev	SE Mean
cipro TMN6	3	1,850	0,213	0,12
cipro	3	2,167	0,113	0,065

Difference = mu (cipro TMN6) - mu (cipro)

Estimate for difference: -0,316667

95% lower bound for difference: -0,613938
 T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = -2,27 P-Value = 0,957 DF = 4
 Both use Pooled StDev = 0,1708

Two-Sample T-Test and CI: amoxi TMN10; amoxi

Two-sample T for amoxi TMN10 vs amoxi

	N	Mean	StDev	SE Mean
amoxi TMN10	3	1,1167	0,0564	0,033
amoxi	3	1,050	0,207	0,12

Difference = mu (amoxi TMN10) - mu (amoxi)
 Estimate for difference: 0,066667
 95% lower bound for difference: -0,196837
 T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = 0,54 P-Value = 0,309 DF = 4
 Both use Pooled StDev = 0,1514

Two-Sample T-Test and CI: amoxi TMN6; amoxi

Two-sample T for amoxi TMN6 vs amoxi

	N	Mean	StDev	SE Mean
amoxi TMN6	3	0,879	0,100	0,058
amoxi	3	1,050	0,207	0,12

Difference = mu (amoxi TMN6) - mu (amoxi)
 Estimate for difference: -0,170833
 95% lower bound for difference: -0,453409
 T-Test of difference = 0 (vs >): T-Value = -1,29 P-Value = 0,867 DF = 4
 Both use Pooled StDev = 0,1623

