

Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões múltiplas O/A/O com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*)*

Development and evaluated of O/W/O multiple emulsions stability containing pequi oil (*Caryocar brasiliense*)

Aline Rocha Pianovskí¹; Adrea Fernanda Gonçalves Vilela¹; Cleide Garbelini Lima¹; Ketlyn Konageski Silva¹; Vanessa Franco Marcelo Carvalho²; Carlo Ralph De Musis²; Sílvia Regina Pengo Machado³ & Márcio Ferrari⁴

RESUMO – O objetivo desta pesquisa foi desenvolver e avaliar a estabilidade de emulsões múltiplas O/A/O contendo óleo de pequi. A emulsão múltipla foi preparada pelo método de duas etapas e a caracterização, através da microscopia óptica. Para estabilizar essa emulsão, diferentes parâmetros foram estudados: concentração da emulsão primária e do tensoativo secundário, aditivos para aumentar a viscosidade da fase externa e velocidade de agitação. A avaliação da estabilidade acelerada foi realizada em diferentes temperaturas durante 30 dias, avaliando-se a viscosidade e o perfil reológico. Não houve diferença estatística na viscosidade aparente durante o período de estudo, indicando estabilidade das formulações. É possível formular emulsões múltiplas O/A/O estáveis com óleo de pequi.

PALAVRAS-CHAVE – Emulsão múltipla; óleo de Pequi; *Caryocar brasiliense*; estabilidade; reologia.

SUMMARY – The aims of this work was the development and evaluate the O/W/O multiple emulsions stability containing pequi oil. The multiple emulsions were prepared using the two-step procedure and the formulations were characterized by microscopic analysis. To improve the stability, several studies were improved as primary emulsion concentration and secondary emulsifier, additives effect to increase the external viscosity and agitation velocity were also investigated. The accelerated stability study was performed at different temperatures over 30 days and evaluated its viscosity and the rheological profile. There were no significant differences in the apparent viscosity during the period and stress conditions investigated. The analysis stability in these formulations indicated it could be possible to formulate O/W/O multiple emulsions stables with Pequi oil.

KEYWORDS – Multiple emulsion; Pequi oil; *Caryocar brasiliense*; stability; rheological.

INTRODUÇÃO

Emulsões múltiplas são sistemas complexos compostos por duas emulsificações, onde os dois tipos de emulsões (A/O e O/A ou O/A e A/O) existem simultaneamente, constituindo emulsões do tipo A/O/A ou O/A/O (Florence; Whitehill, 1982; Omotosho, 1990).

Uma emulsão O/A/O apresenta uma estrutura vesicular com glóbulos aquosos dispersos em uma fase oleosa. Esses glóbulos aquosos contêm micropartículas de uma segunda fase oleosa conhecida, geralmente, como fase interna. O líquido imiscível em que os glóbulos aquosos são dispersos é chamado fase externa. Desta maneira, a morfologia física da emulsão múltipla O/A/O consiste na presença de duas fases oleosas separadas por uma membrana aquosa (Avendano-Gomez *et al.*, 2005).

Estas podem ser obtidas, principalmente, por três

métodos: emulsificação por inversão de fases, em uma (formação espontânea) ou duas etapas. Os dois primeiros métodos não são muito utilizados pela dificuldade de reprodutibilidade e estabilidade. O método de duas etapas consiste na re-emulsificação de uma emulsão primária em outra fase (Devani *et al.*, 2005; Garti; Aserin, 1996).

Devido à sua estrutura, esses sistemas múltiplos apresentam aplicações nas áreas cosmética, farmacêutica e alimentícia. Tem apresentado grande interesse por ter capacidade de dissolver ou dispersar ativos nas diversas fases, veicular componentes incompatíveis e instáveis, além de possibilitar a liberação com perfil modificado de substâncias ativas (Hwang *et al.*, 2005; Lobato-Calleros *et al.*, 2006; Nakhare; Vyas, 1997; Ozer, *et al.*, 2007; Tadros, 2000; Zur Muhlen, *et al.*, 2007).

No entanto, as limitações das emulsões múltiplas estão centradas na sua instabilidade termodinâmica,

Recebido em 30/11/2007

*Trabalho apresentado em forma de conferência no XVIII Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos na cidade da Guatemala, outubro de 2007.

¹Acadêmicos do Curso de Farmácia da Universidade de Cuiabá/UNIC; ²Estatístico, Doutor, Professor da Universidade de Cuiabá/UNIC;

³Farmacêutica, Doutora, Professora de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia/UNIC;

⁴Farmacêutico, Doutor, Professor de Cosmetologia da Faculdade de Farmácia/UNIC.

uma vez que estas possuem estrutura complexa e, conseqüentemente, dificuldades de estabilização (Ursica *et al.*, 2004).

A estabilidade é influenciada por diversos fatores: composição da formulação, tamanho dos glóbulos, viscosidade, volume de fases, valor de pH, presença de eletrólitos, gradiente osmótico e propriedades do filme interfacial formado (Avendano-Gomez *et al.*, 2005; Baillet *et al.*, 1994; Özer *et al.*, 2000).

O pequi (*Caryocar brasiliense*) é uma árvore originária da região do cerrado brasileiro (Franquilino, 2006) de onde é extraído o óleo de interesse cosmético.

Na composição do óleo de pequi verifica-se a presença de diferentes ácidos graxos (palmítico, oléico, mirístico, palmitoléico, esteárico, linoléico e linolênico) além da vitamina A (Croda do Brasil, 2002; Facioli; Gonçalves, 1998). Os ácidos graxos constantes nesse óleo são bastante semelhantes aos apresentados em nossa epiderme (Rieger, 1987), o que possibilita seguir mais uma tendência cosmética que é o uso de produtos biomiméticos, favorecendo a compatibilidade formulação-pele.

Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya (2004) identificaram a presença de carotenóides no pequi, o que pode favorecer seu uso em cosmético, pois esses metabólitos podem atuar como antioxidantes retardando a lipoperoxidação e conseqüentemente, o envelhecimento cutâneo.

Sendo assim, é de grande importância o estudo da utilização do óleo de pequi vislumbrando a aplicabilidade na área cosmética, sinalizando o aproveitamento de recursos naturais com desenvolvimento sustentável e, conseqüentemente, desenvolvimento regional e contribuição social. Portanto, os objetivos deste trabalho foram o de desenvolver e avaliar a estabilidade de emulsões múltiplas do tipo O/A/O contendo óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*).

MATERIAL E MÉTODOS

As emulsões primária e múltipla foram formuladas com as seguintes matérias-primas denominadas pela *International Nomenclature Cosmetics Ingredients* (INCI) (ICID, 2000): Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer e Carbomer (BFGoodrich, Dinaco SA, São Paulo, Brasil), Caryocar Brasiliense Fruit Oil, Caprylic/ Capric Triglyceride, Cetyl Esters, Oleyl Alcohol, Sucrose Polybehenate e C18-C36 Acid Glycol Ester (Croda do Brasil Ltda, Campinas, Brasil), BHT, EDTA e Triethanolamine (Henrifar ma Ltda, São Paulo, Brasil), Methylidibromo Glutaronitrile (and) phenoxyethanol (Tec Pharma Ltda, São Paulo, Brasil), Mineral Oil (Volp Ltda, São Paulo, Brasil), PEG-30 Dipolyhydroxystearate (Beraca Ingredients, São Paulo, Brasil), Parfum e Aqua.

• Preparo da emulsão primária

A emulsão primária foi preparada pelo método de inversão de fases e sua estabilidade avaliada em outra pesquisa desenvolvida em nosso laboratório (dados não apresentados neste trabalho).

• Preparo da emulsão múltipla

A emulsão múltipla foi preparada pelo método de duas etapas ou dupla emulsificação (Ferrari, 2002; Florence; Whitehill, 1982).

• Análise macroscópica

Após vinte e quatro horas avaliou-se o aspecto e as propriedades organolépticas da emulsão múltipla.

• Determinação do tipo da emulsão múltipla

O teste de diluição foi realizado com o objetivo de identificar o tipo de emulsão (A/O ou O/A) (Prista *et al.*, 1996).

• Análise microscópica

A análise microscópica (Nikon YS2-T) forneceu informações sobre o caráter múltiplo das emulsões, forma e regularidade do tamanho dos glóbulos formados. Foi observado, também, o aspecto físico da emulsão como coalescência e floculação.

• Determinação da porcentagem de separação de fases das emulsões múltiplas

Emulsão múltipla recém-preparada foi adicionada em tubo cônico graduado de 15,0mL. O volume de separação de fases (V_{sep}) foi observado após 24 horas. A porcentagem de separação das fases (B%) foi calculada pela Equação 1 (Nakhare; Vyas, 1996):

$$B(\%) = [100 (V_{sep} / 15)] / [(V_1 + V_2) / (V_1 + V_2 + V_0)]$$

Onde: V_{sep} = volume de separação;

V_1 = fase oleosa interna;

V_2 = fase oleosa externa;

V_0 = fase aquosa.

Este teste foi considerado como preliminar de estabilidade. As amostras que não apresentaram separação de fases foram submetidas à condição de estresse: centrifugação (Fanem Ltda. – Mod. 206 R, Excelsa Baby II–440 watts) 3000rpm durante 30 minutos e à temperatura de $45^\circ\text{C} \pm 75\%$ Umidade Relativa (UR) por 48h. As que apresentaram separação de fases foram eliminadas do estudo, sendo que as demais foram submetidas ao teste de estabilidade acelerada.

• **Estabilização da emulsão múltipla** (Ferrari, 2002; Ferrari; Rocha-Filho, 2005)

Com o objetivo de determinar o caráter múltiplo e a estabilização das emulsões, as amostras preparadas foram submetidas aos testes descritos a seguir. Em cada teste analisou-se o aspecto macro e microscópico, tipo de emulsão e porcentagem de separação de fases.

• **Influência da concentração da emulsão primária:** diferentes concentrações da emulsão primária (40 a 70% p/p) foram avaliadas mantendo-se fixa a concentração de tensoativo secundário.

• **Influência da concentração do tensoativos secundários:** o PEG-30 Dipolyhydroxystearate, utilizado como tensoativo secundário (emulsificação A/O) foi testado em concentrações de 4,0; 5,0 e 6,0% (p/p).

• **Influência de aditivos na fase externa da emulsão múltipla:** alguns componentes utilizados para aumentar a viscosidade da fase externa foram avaliados em diferentes concentrações associados ou não: Oleyl Alcohol; Sucrose Polybehenate; C18-C36 Acid Glycol Ester.

• **Influência da velocidade de agitação na formação dos glóbulos múltiplos:** as emulsões múltiplas foram preparadas com agitação (Fisaton–Mod. 713) a 500rpm. Depois de definida a emulsão múltipla que apresentava melhor desempenho, o estudo da influência da velocidade de agitação na formação dos glóbulos múltiplos foi realizado, variando-a em 900 e 1200rpm.

• **Determinação da estabilidade acelerada da emulsão múltipla** (ANVISA, 2004; Ferrari, 2002)

Sessenta gramas (60,0g) da emulsão considerada estável pelo teste preliminar foram acondicionadas em frascos plásticos de poliestireno e submetidas a condições variáveis de temperatura. As amostras foram expostas às temperaturas: $4\pm 2^\circ\text{C}$ (Geladeira Eletrolux, mod. RDE 35), $37\pm 2^\circ\text{C}$ e $75\pm 5\%$ UR (Câmara Climática Nova Ética, mod. 420-CLD 300) e $45\pm 2^\circ\text{C}$, $75\pm 5\%$ UR (Câmara Climática Nova Ética, mod. 420-CLD 300) e $25\pm 2^\circ\text{C}$ (Ambiente climatizado). Os parâmetros avaliados foram: determinação da viscosidade e comportamento reológico.

As leituras foram realizadas no 1º dia (24 horas após o preparo da emulsão) no 7º, 15º e 30º dias. O experimento foi realizado em triplicata.

• Determinação da viscosidade e comportamento reológico

A determinação da viscosidade e comportamento reológico foi realizada em Reômetro (Brookfield-modelo RV-III) tipo cone e placa, acoplado a um *Software Rheocalc* versão V3.0, utilizando o spindle CP 52 e 0,5g de amostra a 25°C (Ferrari, 2002).

• Análise dos resultados

Os resultados da estabilidade acelerada foram submetidos aos testes estatísticos ($p < 0,05$) ANOVA e aos testes de Tamhane para amostras heterogêneas e de Tukey para as homogêneas. As análises estatísticas foram avaliadas pelo programa SPSS 13.0 for Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Su *et al.* (2006) para se obter emulsões múltiplas estáveis é fundamental utilizar emulsões primárias também estáveis. Portanto, foi utilizado para o desenvolvimento da emulsão múltipla O/A/O, uma emulsão primária O/A estável composta de 10% de óleo de pequi (resultados não apresentados).

O estudo iniciou-se variando a concentração da emulsão primária (40 a 70%), fixando a concentração de 5% do tensoativo polimérico PEG Dipolyhydroxystearate (Tabela I). Essa concentração foi fixada fundamentada no trabalho de Ferrari (2002) que descreveu a emulsão múltipla estável com óleo vegetal e 5% do tensoativo em estudo.

Segundo Su *et al.* (2006) o aumento da viscosidade da fase externa da emulsão propicia maior estabilidade.

Baillet *et al.* (1994) demonstraram que o aumento da concentração da emulsão primária resulta no aumento da viscosidade da emulsão múltipla favorecendo a estabilidade do sistema. Pela análise macroscópica observou-se que essas considerações foram válidas, pois a F1 (40% emulsão primária) apresentou separação de fases antes de 24 horas, enquanto que as demais (F2-F4), apresentaram um discreto halo de separação.

A análise microscópica permitiu verificar rápida coalescência dos glóbulos da F1, floculação e coalescência nas F2 e F3 e discreta floculação da emulsão F4.

Para avaliação não ser apenas subjetiva pela análise microscópica, utilizou-se a metodologia do volume de separação de fases (Nakhare; Vyas, 1996) que sugere que a emulsão com mais 10% de separação das fases, apresentará, provavelmente, instabilidade durante o teste de estabilidade.

Sendo assim, as formulações F1 a F4 foram submetidas a este teste preliminar de estabilidade associado à análise microscópica. As emulsões múltiplas F1, F2, F3 e F4 apresentaram respectivamente 74,5%, 4,1%, 4,7% e 5,7% de separação de fases. Apesar das F2 e F3 apresentarem menor volume de separação, a fórmula considerada mais estável foi a F4, por apresentar apenas discreta floculação pela análise microscópica, glóbulos esféricos e regulares.

Partindo dessa formulação, fixou-se a concentração da emulsão primária em 70% e variou a concentração do tensoativo secundário (Tabela I - F5 e F6). Para a F5 o volume de separação foi de 35,7% e 4,1% para F6. Esta última formulação apresentou, microscopicamente, floculação e discreta coalescência. Portanto, a emulsão considerada com melhor estabilidade presumida foi a F4.

Um dos fatores responsáveis pela instabilidade da emulsão múltipla é a migração dos tensoativos de uma interface para outra (Axel *et al.*, 2006; Magdassi *et al.*, 1985). Para minimizar esse problema, optou-se por trabalhar com tensoativos poliméricos nas duas interfaces utilizando o Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer na primeira emulsificação (O/A) e o PEG Dipolyhydroxystearate na A/O.

Assim, como Vasiljevic *et al.* (2005, 2006), nesta pesquisa, também foram obtidas emulsões múltiplas utilizando baixa concentração de tensoativos (5,3%), sendo 0,3% na emulsificação O/A e 5% na A/O.

TABELA I

Composição das emulsões múltiplas O/A/O, variando concentração de emulsão primária (F1 a F4), tensoativo secundário (F5 e F6) e aditivos da fase externa (F7 a F15)

COMPOSIÇÃO	F1% (p/p)	F2% (p/p)	F3% (p/p)	F4% (p/p)	F5% (p/p)	F6% (p/p)	F7% (p/p)	F8% (p/p)	F9% (p/p)	F10% (p/p)	F11% (p/p)	F12% (p/p)	F13% (p/p)	F14% (p/p)	F15% (p/p)
Emulsão Primária	40,0	50,0	60,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0
Caryocar Brasiliense Fruit Oil	6,0	5,0	4,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
PEG-30 Dipolyhydroxystearate	5,0	5,0	5,0	5,0	4,0	6,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Caprylic/ Capric Triglyceride	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Mineral oil q.s.p.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Sucrose Polybehenate	—	—	—	—	—	—	5,0	8,0	10,0	—	—	—	—	5,0	8,0
Cetyl Esters	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,0	10,0	—	—	5,0	5,0
C18-C36 Acid Glycol Ester	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,0	10,0	—	—

Para aumentar a estabilidade da formulação até então considerada com melhor desempenho (F4), foram adicionados aditivos à fase externa para aumentar a viscosidade (Tabela I).

Quando aditivadas com Sucrose Polybehenate (F7 a F9), as emulsões não apresentaram separação de fases mesmo depois de 48 horas na temperatura de 45 °C e centrifugação. Pela análise microscópica pôde ser observada uma moderada coalescência na F8, enquanto que a F9 ficou extremamente viscosa, não contemplando o caráter estético que formulações cosméticas devem apresentar.

As formulações F10 e F11, com Cetyl Esters, apresentaram separação de fases no teste de centrifugação após 24 horas do preparo.

Devido à alta viscosidade, dificultando até mesmo a agitação no agitador mecânico (1000rpm), as formulações aditivadas com C18-C36 Acid Glycol Ester (F12 e F13) não foram submetidas aos testes de estabilidade acelerada.

A associação da Sucrose Polybehenate com o Cetyl Esters resultou nas formulações F14 e F15. A primeira apresentou aspecto de creme, do tipo O/A/O com glóbulos esféricos e regulares sem coalescência ou floculação, enquanto que a F15, com floculação pela análise microscópica.

Esses estudos de estabilização confirmam que o aumento da viscosidade da fase externa propicia uma melhor estabilidade ao sistema (Baillet *et al.* 1994; Su *et al.*, 2006), visto que a F4 com 5,1% de volume de separação de fases não apresentou mais esta característica quando incorporado, na fase externa, aditivos que aumentavam a viscosidade.

No entanto, apenas as formulações F7 e F14 apresentaram estabilidade nas avaliações preliminares, sendo então submetidas ao teste de estabilidade acelerada. Neste trabalho serão apresentados apenas os resultados da F14.

Definidas estas características da emulsão múltipla, foi realizado um estudo da velocidade de agitação. De acordo com Gallardo *et al.* (1999), a técnica e a velocidade de agitação podem interferir no tamanho dos glóbulos e homogeneidade da emulsão.

Diferentemente de Ferrari (2002), que obteve emulsões múltiplas com melhor aspecto em 1200rpm, neste trabalho, a velocidade de agitação que proporcionou melhores glóbulos, em relação ao aspecto e regularidade da forma, foi a de 500rpm. Scherze, Knofel e Muschiolik (2005) relataram que, alta agitação na segunda emulsificação, pode romper os glóbulos transformando a emulsão múltipla em primária.

A emulsão múltipla (F14) foi submetida ao teste de estabilidade acelerada em diferentes condições de temperatura por 30 dias e avaliada a viscosidade e o perfil reológico.

Após 30 dias de estocagem nas diferentes temperaturas, as emulsões apresentaram-se, macroscopicamente, sem alterações quanto ao aspecto, cor e odor. Pela análise microscópica, mantiveram o caráter múltiplo, glóbulos uniformes e esféricos.

Pelas análises estatísticas da viscosidade aparente mínima (Tabela II) não houve diferenças significativas entre o 1° e o 30° dia, podendo assim, considerar essa formulação estável nas condições padronizadas.

Ao observar a Tabela II, verifica-se que, excetuando a temperatura de 25°C, houve uma diminuição, tanto

TABELA II
Valores da viscosidade aparente mínima (cP), índices de consistência e de histerese (d/cm².s), das emulsões múltiplas submetidas ao teste de estabilidade acelerada

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Viscosidade aparente Mínima (cP)*	Índice de consistência	Índice de fluxo	Área de histerese (d/cm ² .s)
1°	25 °C	3290,14±97,78	21823,33±4859,99	0,51±0,05	9637,33±2420,3
	4 °C	2483,14±19,98	16450,67±343,36	0,51±0,01	7796,00±36,59
30°	25 °C	3672,46±129,06	28825,00±3548,58	0,45±0,02	13976,33±1836,41
	37 °C	3016,29±123,93	20930,67±1454,98	0,48±0,01	10872,67±1048,80
	45 °C	2895,90±112,28	17587,00±1501,88	0,52±0,02	8513,00±568,29

Os valores foram calculados pelos valores originais (n=3) e expressos pela média ± desvio padrão. *p<0,05.

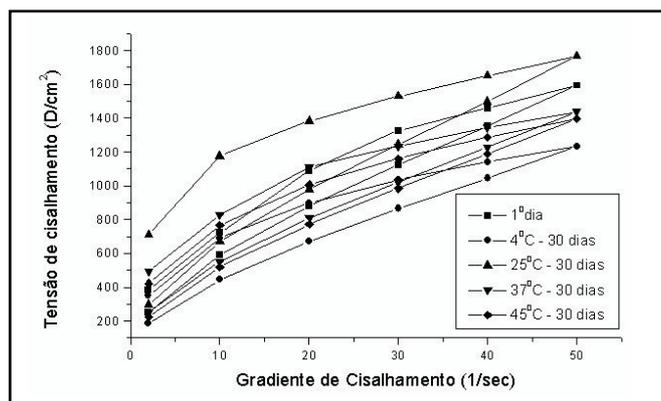


FIG. 1 - Reogramas do 1° e do 30° dias da emulsão múltipla submetida ao teste de estabilidade acelerada em diferentes temperaturas de estocagem.

na viscosidade aparente mínima, quanto no índice de consistência no final de 30 dias de testes.

Diferentes trabalhos que estudaram a estabilidade de emulsões múltiplas também relataram esse fato, sugerindo que essa alteração da viscosidade está relacionada com a diminuição do tamanho ou rompimento dos glóbulos (Nakhare; Vyas, 1996; Ferrari, 2002; Vasiljevic *et al.*, 2005), ou ainda, que o aumento do volume da fase externa da emulsão múltipla diminui a viscosidade aparente (Vasiljevic *et al.*, 2005).

Pela análise dos reogramas (Figura 1), pode se verificar que as formulações não obedeceram à lei de Newton, sendo então consideradas fluidos "não-Newtoniano" (Martin, 1993).

Observa-se também que a viscosidade é diminuída com o aumento do gradiente de cisalhamento, categorizando um fluido pseudoplástico (Martin, 1993; Tadros, 2004). Esse perfil foi confirmado com o índice de fluxo (Tabela II). Quando esse parâmetro for diferente de 1,0, é indicativo de pseudoplasticidade (Ferrari, 2002; Guaratini *et al.*, 2006).

A tixotropia da emulsão múltipla foi avaliada pela área de histerese nos reogramas (Figura 1). Esse parâmetro fornece informações da capacidade e do tempo que a formulação apresenta em retornar à sua estrutura após a retirada dessa tensão (Martin, 1993; Tadros, 2004).

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem concluir que, nas condições padronizadas, é possível formular emulsões múltiplas do tipo O/A/O estáveis com o óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*), pela técnica de preparo

de duas etapas. A partir das avaliações da viscosidade e da reologia durante os testes de estabilidade acelerada, presume-se a estabilidade física da formulação.

Além da composição do óleo de pequi favorecer uma compatibilidade com a pele, essa emulsão múltipla desenvolvida também apresenta como vantagem, baixa concentração de emulsionantes, característica desejável em formulações tópicas. Além dos benefícios atribuídos ao óleo de pequi, deve-se entender que a formulação desenvolvida pode ser utilizada como um veículo diferenciado, ressaltando as vantagens desse sistema para associação de outros ativos cosméticos.

AGRADECIMENTOS

Universidade de Cuiabá- UNIC; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso - FAPEMAT; Beraca Ingredients e Croda do Brasil Ltda.

REFERÊNCIAS

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. 2004. v.1.
2. Avendano-Gomez, J.R.; Grossiord, J.L.; Clausse, D. Study of mass transfer in oil-water-oil multiple emulsions by differential scanning calorimetry. *J. Colloid Interface Sci.* 2005 (290): 533-545.
3. Axel Benichout, *et al.* W/O/W double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide complexes. *Colloids and surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.*, 2006, doi:10.1016/j.colsurfa.2006.07.056.
4. Azevedo-Meleiro, C.H.; Rodriguez-Amaya, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *J. Food Compos. Analysis.* 2004 (17): 385-396.
5. Baillet, A. *et al.* Emulsion multiple de type L/H/L: étude de l'obtention et du mécanisme de libération. *Int. J. Cosmet. Sci.* 1994 (16): 1-15.
6. Croda do Brasil. *Crodamazon Pequi* (Catálogo). Campinas, julho 2002.
7. Devani, M.J.; Ashford, M.; Craig, D.Q.M. The development and characterisation of triglyceride-based 'spontaneous' multiple emulsions. *Int. J. Pharm.* 2005 (300): 76-88.
8. Facioli, N.L.; Gonçalves, L.A.G. Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). *Quím. Nova.* 1998 (21): 16-19.
9. Ferrari, M. Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etilexila e óleo de andiroba (*Carapa guyanensis*). 2002. 142f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
10. Ferrari, M.; Rocha Filho, P.A. *Emulsão múltipla*: inovação tecnológica na cosmetologia e tecnologia farmacêutica. *Int. J. Pharm. Compounding* (Ed. Brasileira). 2005 (7):74-78.
11. Florence, A.T.; Whitehill, D. The formulation and stability of multiple emulsions. *Int. J. Pharm.* 1982 (11): 277-308.
12. Franquillino, E. *Ativos amazônicos*. *Cosmet. Toiletries* (Ed. Port.). 2006 (18): 18-53. Edição temática.
13. Gallardo, V. *et al.* The effect of preparation technique on droplet size in silicone emulsions. *J. Cosmet. Sci.* 1999 (50): 9-14.
14. Garti, N.; Aserin, A. Double emulsion stabilised by macro-molecular surfactants. *Adv. Coll. Int. Sci.* 1996 (65): 37-69.
15. Guaratini, T. *et al.* Stability of cosmetic formulations containing esters of Vitamins E and A: chemical and physical aspects. *Int. J. Pharm.* 2006 (327): 12-16.
16. Hwang, Y.-J.; OH, C.; OH, S.-G. Controlled release of retinol from silica particles prepared in O/W/O emulsion: the effects of surfactants and polymers. *J. Control. Release.* 2005 (106): 229-349.
17. ICID - International Cosmetic Ingredient Dictionary And Handbook. 8th. ed. Washington: CTFA, 3v, 2000.
18. Lobatto-Calleros, *et al.* Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from W₁/O/W₂ multiple emulsion: viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research Int.* 2006 (39): 678-685.
19. Magdassi, S.; Frenkel, N.; Garti, N. Correlation between nature of emulsifier and multiple emulsion stability. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1985 (11): 791-798.
20. Martin, A.N. *Physical pharmacy*. London: Lea & Febiger, 1993. 4th ed. p. 453-473.
21. Nakhare, S.; Vyas, P. Multiple emulsion based systems for prolonged delivery of rifampicin: *in vitro* and *in vivo* characterization. *Pharmazie*, 1997 (52): 224-226.
22. Nakhare, S.; Vyas, P. Preparation and characterization of multiple emulsion based systems for controlled diclofenac sodium release. *J. Microencapsul.* 1996 (13): 281-292.
23. Omotosho, J.A. The effect of acacia, gelatin and polyvinylpyrrolidone on chloroquine transport from multiple w/o/w emulsions. *Int. J. Pharm.* 1990 (62): 81-84.
24. Özer, Ö. *et al.* The effect the type and the concentration of the lipophilic surfactant on the stability and release kinetics of the w/o/w multiple emulsions. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2000 (22): 459-470.
25. Özer, Ö. *et al.* W/O/W multiple emulsions containing nitroimidazole derivatives for vaginal delivery. *Drug. Deliv.* 2007 (14): 139-145.
26. Prista, L.N., Alves, A.C., Morgado, R. *Tecnologia Farmacêutica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. vol. 1.
27. Rieger, M. Skin lipids and their importance to cosmetic science. *Cosmet. Toiletries*, 1987 (102): 45-49.
28. Scherze, I.; Knofel, R.; Muschiolik, G. Automated image analysis as a control tool for multiple emulsions. *Food Hydrocolloids.* 2005 (19): 617-624.
29. Su, J. *et al.* Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilization of water-oil-water emulsions. *Food Hydrocolloids.* 2006 (20): 261-268.
30. Tadros, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2004 (108-109): 227-258.
31. Tadros, T. Science and technology of emulsions-from nanoemulsions to multiple emulsions. *IFSCC magazine.* 2000 (3): 31-38.
32. Ursica, L. *et al.* Particle size analysis of some water/oil/water multiple emulsions. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2004 (37): 931-936.
33. Vasiljevic, D. *et al.* An investigation into the characteristics and drug release properties of multiple W/O/W emulsion systems containing low concentration of lipophilic polymeric emulsifier. *Int. J. Pharm.* 2006 (309): 171-177.
34. Vasiljevic, D.; Vuleta, G.; Primorac, M. The characterization of the semi-solid W/O/W emulsions with low concentrations of the primary polymeric emulsifier. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2005 (27): 81-87.
35. Zur Mulhen, A. *et al.* Using skin models to assess the effects of a pre-work cream. *Curr. Probl. Dermatol.* 2007 (34): 19-32.

Endereço para correspondência

Márcio Ferrari
Faculdade de Farmácia da Universidade de Cuiabá/UNIC
Av. Beira Rio, 3100 - Jardim Europa
Cuiabá/MT - Brasil
78015-480
E-mail: ferrarimarcio@uol.com.br