

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CAMPUS DE ARARAQUARA

BRUNA POLI FATTORI

Desenvolvimento de emulsão contendo C12 – 25 acid
PEG 8 éster e avaliação da estabilidade com diferentes
concentrações de óleo essencial de *Achillea millefolium*.

Araraquara

2011

BRUNA POLI FATTORI

**Desenvolvimento de emulsão contendo C12 – 25 acid
PEG 8 éster e avaliação da estabilidade com diferentes
concentrações de óleo essencial de *Achillea millefolium*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara,
da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de
Farmacêutico-Bioquímico.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Vera Lucia Borges Isaac

Araraquara

2011

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pela minha existência, por toda a força e proteção que permitiu seguir meu caminho de maneira correta. Pela oportunidade de estar onde estou.

Aos meus pais, Laércio e Marta, que com muita luta, amor e carinho, me proporcionaram uma boa formação, estando sempre ao meu lado, apoiando e participando da minha vida. Graças à vocês, pude crescer em uma família unida com bons exemplos a serem seguidos, por isso hoje sou uma pessoa adulta e feliz. E ao meu irmão, Tiago, pelo amor incondicional que nos une.

À todos os outros membros da minha família, vó Tania, vô Walter, tia Marina e tio Waltinho por ter me proporcionado uma infância linda, com muito amor, carinho e brincadeiras. À vó Delma e vô Waldemar, Tia Lena, pelas orações.

Ao meu namorado Fernando, que através de sua experiência, sempre esteve ao meu lado disposto a me ajudar e a tranquilizar - me. Sempre me apoiou nas horas complicadas, com muita paciência.

Às minhas amigas Ana Carla, que além de companheira de apartamento e amiga confidente, me ajudou muito nas provas e trabalhos, Aline (xuxu), Camila Mitiko, Camila Esteves (Camille), Diana (Didi), Eliane (Tuca), Fernanda (Fer Pin), Karina, Luís Otávio, Leonardo e Monique, pela amizade sincera e pela disponibilidade em me ajudar. Adorei ter conhecido vocês. Guardarei com muito carinho todos esses anos juntos.

A todos os colegas da turma 78, pelas amizades e convivência animada de todas as aulas e pelos trabalhos em grupo.

Agradeço à professora Dra. Vera Lúcia Borges Isaac pela oportunidade a mim confiada, pela orientação de estágio de treinamento, iniciação científica e de trabalho de conclusão de curso.

Ao professor Marcos, pelas dúvidas esclarecidas com as explicações mais completas possíveis.

Ao pessoal do Lacos, Ana Carolina, Bruna Chiari, Caroline, Danila, Daniele, Gabi, Gisele, Natália, Ilza pela imensa ajuda nos experimentos, pelas conversas animadas, principalmente Bruna Chiari e Gabi, que foram praticamente minhas professoras em reologia sempre dispostas a me auxiliar com muita paciência e dedicação. Ao Zé Ricardo, pelas orientações durante o estágio de treinamento e amizade.

Ao pessoal do Laboratório de Desenvolvimento de fármacos e Farmacognosia, por permitirem o uso dos equipamentos.

Ao Dudu e Matheus pela ajuda com os equipamentos.

Enfim, agradeço à todas as pessoas que direta ou indiretamente, auxiliaram-me durante a graduação e até o presente momento de minha vida, ajudando com as matérias ou até mesmo reservando um tempo para me ouvir. À todos que cruzaram meu caminho e contribuíram para minha formação pessoal e intelectual. Sou imensamente grata pelas amizades que construí e pelas lembranças que sempre me acompanharão. Lembranças estas que guardarei com muito carinho, de uma época muito feliz da minha vida.

SUMÁRIO

RESUMO	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE SIGLAS	
1. INTRODUÇÃO	11
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
1.1.1 EMULSÕES	12
1.1.1.1 Tipos de emulsões	13
1.1.1.2 Fatores que podem causar alterações em emulsões	15
1.1.2 TENSOATIVOS	16
1.1.2.1 Agentes de Consistência	17
1.1.3 ESTABILIDADE	19
1.1.4 REOLOGIA	19
1.1.5 ATIVOS NATURAIS EM COSMÉTICOS	21
1.1.6 <i>Achillea millefolium</i> L.	23
1.2 OBJETIVOS	25
2. DESENVOLVIMENTO	25
MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1 MATERIAL	25
2.1.1 Equipamentos	25
2.1.2 Vidrarias Diversas	25
2.1.3 Outros Acessórios	25
2.2 MÉTODOS	26
2.2.1 Preparo da Emulsão	26
2.2.2 Teste de Centrifugação	27
2.2.3 Teste de Estabilidade	27
2.2.4 Estabilidade Preliminar	28
2.2.5 Estresse Térmico	29
2.2.6 Aspecto	29
2.2.7 Cor	30
2.2.8 Odor	30
2.2.9 pH	31
2.2.10 Viscosidade	31
2.2.11 DETERMINAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO	32
2.2.12 Obtenção do óleo essencial de <i>Achillea millefolium</i>	33
2.2.13 Espectrofotometria no Ultravioleta-visível	33
2.2.14 Incorporação no creme	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.1 PREPARO DA EMULSÃO	34
3.2 TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO	34
3.3 ESTRESSE TÉRMICO	35
3.4 ESTABILIDADE PRELIMINAR E ACELERADA DAS EMULSÕES	35
3.5 VISCOSIDADE	37
3.6 COMPORTAMENTO REOLÓGICO	38
3.7 Obtenção do óleo essencial de <i>Achillea millefolium</i>	42
3.7.1 Cromatografia em Camada Delgada Comparativa	42
3.7.2 Espectrofotometria no ultravioleta-visível	43
4. CONCLUSÃO	45
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

RESUMO

Emulsões são utilizadas especialmente na área de cosméticos. São sistemas dispersos constituídos de duas fases líquidas imiscíveis (oleosa e aquosa), onde a fase dispersa ou interna é finamente dividida e distribuída em outra fase contínua ou externa. A estabilidade da emulsão é garantida com o uso de agentes emulsificantes, podendo ser melhorada com a ajuda de agentes espessantes, que aumentam a viscosidade. Os agentes espessantes podem ser: polímeros, álcoois, ácidos ou ésteres graxos e ceras naturais. O objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade de um sistema emulsionado não-iônico, apresentando como tensoativo emulsificante uma base auto emulsionável não-iônica e incorporado de óleo essencial em diferentes concentrações, para posterior avaliação da atividade antiirritante em cosméticos pós-barba e pós depilação. Para isto, foi necessário realizar os teste de estabilidade, que fornecem informações sobre a confiabilidade e a segurança das preparações, além da caracterização reológica completa, como auxiliar do desenvolvimento da preparação e do estudo de estabilidade. Foram realizados testes de estabilidade preliminar, que auxiliam na triagem das formulações e também realizou-se testes de estabilidade acelerada, com o objetivo de estimar o prazo de validade do produto. Com o objetivo de analisar o comportamento do produto durante o armazenamento e no momento do uso, estudou-se o comportamento reológico das preparações, onde avaliou-se as curvas de fluxo, a tixotropia e os testes oscilatórios.

Os resultados obtidos mostraram que a emulsão proposta é estável frente aos testes de estabilidade, não apresentando alterações significativas quanto aos parâmetros analisados. Foi verificado que ela pode receber um ativo e liberá-lo, no entanto, as concentrações de óleo essencial de *Achillea millefolium* incorporadas

nesta emulsão, não apresentaram atividade antiinflamatória esperada, sendo necessários estudos posteriores.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Média dos valores de absorbância da emulsão durante os 90 dias do teste de estabilidade.

Figura 2: Valores de viscosidade aparente mínima (taxa de cisalhamento = 100s^{-1}) da emulsão submetida a condições de estresse no armazenamento durante 90 dias.

Figura 3: Curva de fluxo no dia 1.

Figura 4: Curva de fluxo no dia 90.

Figura 5: Varredura de tensão no dia 1.

Figura 6: Varredura de tensão no dia 90.

Figura 7: Varredura de frequência dia 1.

Figura 8: Varredura de frequência dia 90.

Figura 9: Ensaio de fluência e relaxação no dia 1.

Figura 10: Ensaio de fluência e relaxação no dia 90.

Figura 11: Cromatografia em camada delgada comparativa do óleo essencial bruto de *Matricaria chamomilla* (C), padrão comercial azuleno (A) e *Achillea millefolium* (M).

Figura 12: Espectro no ultravioleta visível do óleo essencial obtido da *Achillea millefolium*.

Figura 13: Espectro no ultravioleta visível do padrão comercial azuleno.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição percentual (m/m) da formulação proposta.

Tabela 2: Média dos valores de pH das amostras armazenadas nos tempos pré – estabelecidos nas diferentes condições de estresse.

Tabela 4: Média dos valores de tixotropia das amostras armazenadas nos tempos pré – estabelecidos nas diferentes condições de estresse.

LISTA DE SIGLAS

O/A	Óleo em água
A/O	Água em óleo
O/A/O	Óleo em água em óleo
A/O/A	Água em óleo em água
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
pH	Potencial Hidrogeniônico
EHL	Equilíbrio hidrófilo – lipófilo
BHT	Butil hidróxido tolueno
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
UV/VIS	Ultravioleta/Visível
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético

1. INTRODUÇÃO

Os cosméticos estão disseminados pelo mundo todo, porque transmitem um valor, uma promessa ou até realizam um sonho. Quando o indivíduo adquire uma preparação cosmética, ele busca felicidade, bem estar, status e, até mesmo, poder. A vaidade é algo presente no ser humano e está diretamente relacionada com sua auto estima. Por isso, o mercado mundial dos cosméticos está em plena ascensão, a cada mês observamos o surgimento de novas marcas e novos produtos nas prateleiras dos supermercados, perfumarias e outros estabelecimentos que comercializam esse tipo de manufatura.

Existem muitos cosméticos classificados como emulsões, pois essa forma farmacêutica possui grande aplicabilidade, versatilidade e comumente seu aspecto e toque final, em uma preparação tópica, agradam ao consumidor. A emulsão é composta por duas fases imiscíveis entre si, portanto a escolha de um agente emulsivo adequado, torna-se importante para garantir emulsões estáveis. Os tensoativos são substâncias capazes de diminuir a tensão interfacial dessas duas fases imiscíveis, possibilitando uma mistura homogênea que dará origem à emulsão (ISAAC *et al.* 2008; BREUER, 1985).

A estabilidade de uma emulsão está intimamente relacionada com a escolha do tensoativo com poder emulsificante, que deve ser compatível com os componentes da formulação. Por tratar-se de sistemas termodinamicamente instáveis, as emulsões devem ser submetidas aos estudos de estabilidade de modo a garantir sua utilização com eficácia e segurança.

Os testes de estabilidade utilizados possibilitam a avaliação de uma emulsão antes e após a incorporação de ativos para verificar se ela mantém as características compatíveis com os fins a que se destina (ISAAC *et al.* 2008).

Do ponto de vista mercadológico, a incorporação de ativos naturais como os extratos vegetais e os óleos essenciais, despertam grande interesse para os fabricantes e consumidores pois vendem o conceito de algo não tóxico e sem contra indicações. Cosméticos contendo ativos naturais são mais atraentes para os consumidores e acabam ganhando a preferência no momento da escolha.

Estudos envolvendo a aplicação de ativos naturais e a avaliação da preparação cosmética, em especial as emulsões, após a incorporação destes ativos, são de fundamental importância para garantir a eficácia e a qualidade do produto acabado e, sobretudo, valorizar as riquezas naturais do nosso país que, conscientemente e ecologicamente exploradas, com planejamento correto de sustentabilidade pode alimentar muitos anos de pesquisa e aplicação dada a sua fartura e riqueza endêmica.

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 EMULSÕES

Segundo a literatura, emulsões são sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis, formados pela associação de fases lipofílicas com hidrofílicas através da adição de agentes modificadores de tensão superficial, onde uma das fases fica descontinuada e dispersa em gotículas microscópicas, chamadas de micelas, envolvidas pelos agentes tensoativos emulsificantes, responsáveis pela estabilidade física (PROENÇA *et al.* 2006). Nesses sistemas, quando a fase aquosa é predominante, são denominados emulsões O/A (óleo em água) e quando a oleosa

é a predominante, são denominados emulsões A/O (água em óleo) (BARATA, 2002; PROENÇA, *et al.*, 2006). As emulsões classificadas como O/A são as mais utilizadas devido ao seu aspecto leve, por serem menos oleosas e mais agradáveis, tanto para aplicação tópica (loções, cremes e emulsões) quanto à administração por via oral (emulsões farmacêuticas) (RIBEIRO 2002; PRISTA *et al.*, 2003).

Do ponto de vista cosmético, as emulsões leves, com pequenas quantidades de material graxo, são as preferidas pelos consumidores, uma vez que proporcionam melhor espalhabilidade, maior deslizamento e melhor sensação quando aplicadas (ISAAC, 1998).

A fase oleosa das emulsões O/A é constituída pelos elementos graxos ou emolientes da formulação, podendo conter óleos de diversas origens. Esta é a fase responsável pela maioria das propriedades que as emulsões apresentam quando aplicadas à pele. A fase aquosa normalmente contém, além da água purificada, os agentes sequestrantes, conservantes antimicrobianos e antioxidantes, umectantes, tampões, corretivos de pH e corantes (LACHMAN *et al*, 2001).

1.1.1.1 Tipos de emulsões

As emulsões podem ser classificadas de acordo com a característica hidrófila ou lipófila da fase predominante, ou seja, a fase externa ou dispersante. Sendo assim, as emulsões são classificadas como:

- Água em óleo (A/O)
- Óleo em água (O/A)
- Emulsões múltiplas (A/O/A) ou (O/A/O)

- Microemulsões

As emulsões do tipo água em óleo (A/O) possuem a fase externa contendo material de origem graxa e a fase interna aquosa dispersa nela. São pouco utilizadas na fabricação de cosméticos, pela sensação desagradável e “pesada” quando aplicadas na pele. São mais usadas para os medicamentos, pois alguns fármacos possuem característica lipofílica e difícil solubilização (PRISTA, ALVES e MORGADO, 1995).

Já as emulsões do tipo óleo em água (O/A), são bastante utilizadas na área de cosméticos devido às inúmeras vantagens anteriormente descritas. Possuem a fase externa aquosa e fase interna oleosa dispersa sob a forma de gotículas. Por conter maior quantidade de água em relação ao material graxo, seu custo de produção é menor, já que a água destilada é uma substância de simples obtenção e barata (ISAAC, 1998).

Emulsões múltiplas são sistemas complexos nos quais a fase dispersa contém pequenas gotículas de uma outra fase dispersa em seu interior. Esta segunda fase dispersa está fisicamente separada por uma fase dispersa de composição distinta. Assim, pode-se dizer que as emulsões múltiplas são sistemas onde os dois tipos de emulsão (A/O e O/A ou O/A e A/O) existem concomitantemente, separadas por uma membrana, constituindo emulsões do tipo A/O/A ou O/A/O. Estas podem ser obtidas, principalmente, por três métodos: emulsificação por inversão de fases, emulsificação em uma etapa e emulsificação em duas etapas (FLORENCE; WHITEHILL, 1982; OMOTOSHO, 1990; PIANOVSKI *et al.* 2008).

Em relação ao tamanho das partículas dispersas no sistema (50 nm até 100 μm), as emulsões são classificadas em microemulsões, macroemulsões e mini emulsões, apresentando estabilidade termodinâmica (BECKER,1997; BENITA,1998; OLIVEIRA,1997; RORIZ, 2010).

1.1.1.2 Fatores que podem causar alterações em emulsões

Como as emulsões são sistemas instáveis, existem diversos fatores que podem ocasionar alterações em relação à cor, odor, aspecto, o que pode comprometer sua aplicação e desempenho. A perda da estabilidade físico química desta forma farmacêutica revela-se por meio de três fenômenos: cremeação, floculação e coalescência. Pode ocorrer também alterações de natureza química como perturbações no potencial hidrogeniônico, reações fotoquímicas, hidrólise de alguns componentes e, por fim, contaminação microbiana (ANVISA, 2004; AZZINI, 1999; RORIZ, 2010).

A inversão de fases ocorre quando há mudança do tipo de emulsão de A/O para O/A e vice versa, tratando-se de uma incompatibilidade física do sistema que pode comprometer sua eficiência. Na floculação, ocorre adesão reversível das gotículas que se juntam formando aglomerados, mas a integridade do filme interfacial se mantém (SILVA e SOARES,1996; MASSON 2005; CAPEK, 2004; RORIZ, 2010).

A cremagem ou cremeação é a separação das fases de uma emulsão onde ocorre a migração das gotículas emulsificadas devido a uma diferença de densidade dos líquidos dispersos. Este processo pode favorecer a coalescência que resulta na redução da espessura e ruptura do filme líquido entre as gotículas que se aproximam e se unem, surgindo gotas maiores. Assim acontece a separação

irreversível da emulsão em duas fases (SILVA e SOARES, 1996; MASSON, 2005; CAPEK, 2004; RORIZ, 2010)

1.1.2 TENSOATIVOS EMULSIFICANTES

Emulsificantes são componentes que fazem as emulsões estabilizarem a dispersão da fase interna na fase externa (contínua). Tais materiais são capazes de reduzir a tensão interfacial entre as duas fases e, desta forma, favorecendo o processo de emulsificação.

Os emulsificantes típicos são moléculas que tem uma porção hidrofílica e uma porção lipofílica. São classificados como aniônicos, catiônicos, não-iônicos ou anfóteros, dependendo da natureza da cabeça hidrossolúvel de seu grupo. Embora os emulsificantes ajudem a estabilizar a interação entre a fase oleosa e a fase aquosa, as emulsões ainda estão sujeitas à instabilidade. Isto significa que eventualmente irão se separar e a velocidade dessa separação vai depender da composição da emulsão (PROSSER e FRANCES, 2001; HUNTER, 1992; ATWOOD e FLORENCE, 1985).

Existe uma ferramenta auxiliar na escolha do emulsificante não iônico, denominado de equilíbrio hidrófilo lipófilo, EHL. Esse sistema possui uma escala de 1 a 20, onde seu aumento é proporcional ao da polaridade da molécula, usado para descrever a natureza do tensoativo e determinar o tipo de emulsão que irá produzir (PRISTA, 1981; SILVA & SOARES, 1996; RORIZ, 2010).

O C12-25 acid PEG-8 ester (Xalifin 15[®]) é uma cera auto-emulsionante de caráter não-iônico, composta por ésteres de polietilenoglicol com cadeias alquílicas de 12 a 20 carbonos. Permite o preparo de emulsões de alta estabilidade, versatilidade, hipoalergenicidade, e que requeiram maior viscosidade, bastando,

para isso, a simples fusão com a fase aquosa. A emulsão contendo Xalifin 15[®] é rapidamente absorvida e deixa na pele um toque sensorial agradável (IPELE, 2008).

1.1.2.1 Agentes de Consistência

Os agentes de consistência geralmente compõem a fase oleosa da emulsão auxiliando sua estabilidade. O álcool cetosteárilico pertence a uma classe de compostos químicos chamados alcoóis graxos. É caracterizado como um álcool por possuir um grupo R-OH (hidrofílico), onde o grupo R representa a cadeia graxa que possui 16 a 18 carbonos (lipofílica). Pode ser de origem sintética ou natural (produzido a partir dos óleos vegetais). O álcool cetosteárilico atua como agente espessante, proporciona lubricidade, consistência, emoliência e estabilidade às formulações cosméticas e farmacêuticas. É empregado na formulação de cremes para tratamento de pele, sabonetes dermatológicos, produtos solares e condicionadores capilares, proporcionando toque suave e proteção à pele (STHAMPA DATCH PETRÓLEO, 2007)

A resina Carbopol[®] constitui uma família de polímeros dispersíveis empregado para espessar sistemas aquosos e hidroalcoólicos. É obtido pela síntese e polimerização do ácido acrílico, sendo que, dependendo da cadeia carbônica e variação do grupo carboxila, podem ser obtidos diversos tipos de resina Carbopol[®]. Os tipos mais comuns são o Carbopol 940[®] (INCI: Carbomer) e o Carbopol Ultrez[®] (INCI: Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer). A resina Carbopol proporciona estabilidade aos géis, e emulsões a altas e baixas temperaturas, apresenta ainda importante, resistência microbiana e resistência ao envelhecimento (HOSMANI, 2006; NOVEON, 2007).

O Carbopol® pode espessar emulsões, desde que seja neutralizado, pois a resina Carbopol®, quando dispersa em água, tem capacidade espessante limitada. Para obter o espessamento da emulsão é necessária a neutralização dos grupos carboxilas presentes no polímero, levando à “abertura” de sua cadeia, que passa a uma conformação linear resultando no espessamento do sistema onde está incorporado. (HOSMANI, 2006; NOVEON, 2007).

Além de favorecer o aumento da viscosidade do sistema, a manteiga de karité apresenta elevada concentração de ácidos graxos monoinsaturados que promovem o crescimento celular ajudando a restabelecer a pele danificada. Rica em ácido cinâmico, a manteiga de karité pode contribuir como um filtro solar natural, auxiliando na proteção da pele e dos cabelos contra a radiação ultravioleta. Por conter uma boa quantidade de tocoferóis, a manteiga de karité tem propriedades antioxidantes, possui propriedades emolientes, e como as gorduras vegetais, exerce uma ação protetora sobre a pele e os cabelos, prevenindo contra o ressecamento. Além dessas propriedades, a manteiga de karité proporciona um toque aveludado e uma agradável sensação de emoliência à pele (BATISTUZZO, 2006).

1.1.3 ESTABILIDADE

A estabilidade é um parâmetro de indiscutível importância em diversas áreas além dos cosméticos, como: a área de alimentos, de fármacos e medicamentos, de produtos químicos em geral, dentre outros. Uma das etapas do desenvolvimento de novos produtos consiste em avaliar por quanto tempo ele manterá sua eficácia e qualidade, de acordo com as características desejáveis do momento em que acabou de ser preparado. O estudo de estabilidade de formulações cosméticas como as emulsões, fornece informações sobre o comportamento do produto, em determinado

intervalo de tempo, submetendo – o a condições extremas, as quais ele poderá enfrentar, com a finalidade de avaliar sua conduta desde a fabricação até o término da validade (ISAAC *et al.* 2008). Dessa forma, o estudo de estabilidade auxilia no desenvolvimento de formulações, como na escolha dos componentes, na verificação da compatibilidade com material de embalagem, na estimativa do prazo de validade e colabora para aumentar a confiabilidade e segurança dos produtos, certificando que as características físicas e químicas, responsáveis pela sua eficácia, serão mantidas durante o prazo de validade estipulado (BONTORIM, 2009).

1.1.4 REOLOGIA

A reologia tornou-se uma ferramenta importante na avaliação da estabilidade de diversos produtos, pois caracteriza-se pelo estudo das propriedades de fluxo e deformação da matéria (AULTON, 2005; LAHOUD *et al.*, 2010; SCHRAMM, 2006). As propriedades de deformação da matéria podem ser avaliadas através da reologia como extrusibilidade, compressibilidade, ductibilidade, espalhabilidade, elasticidade, fluidez e viscosidade. A reologia ajuda no entendimento e aperfeiçoamento de processos tecnológicos, exercendo importante papel no preparo e uso de formas líquidas e semi sólidas (LAHOUD *et al.* 2010).

Um critério que governa a qualidade e a estabilidade deste tipo de formulação são suas propriedades físicas (MOSTEFA *et al.* 2006). Alterações nas propriedades reológicas indicam sinais precoces de possíveis instabilidades nas formulações.

A viscosidade pode ser definida com a medida da resistência para fluir, ou espessamento, de uma substância. Para que uma substância flua é necessário aplicar sobre ela uma tensão em uma unidade de área, denominada na reologia de tensão de cisalhamento, esta, por sua vez depende da resistência interna da

substância, ou seja, de sua viscosidade (RIBEIRO *et al.* 1999; LAHOUD *et al.* 2010, SCHRAMM, 2006). Em relação à viscosidade podemos dividir os fluidos em duas classes: fluidos Newtonianos e fluidos não Newtonianos (DARR, 1979). Os fluidos Newtonianos possuem sempre o mesmo valor de viscosidade, sendo a velocidade de cisalhamento diretamente proporcional à tensão de cisalhamento aplicada (LAHOUD *et al.* 2010; SCHRAMM, 2006).

A maioria dos fluidos farmacêuticos pertence à classe dos fluidos não Newtonianos, onde a viscosidade não é uma constante e depende de outros fatores como natureza das substâncias, forma do preparo e tempo de repouso ou de agitação (FERREIRA 2008; AULTON 2005; LAHOUD *et al.* 2010).

Dentro dessa classificação existem ainda os comportamentos: pseudoplástico ou tixotrópico, quando a viscosidade diminui com o cisalhamento e dilatante ou reopético, quando a viscosidade aumenta com o cisalhamento. As emulsões são sistemas dque geralmente apresentam comportamento tixotrópico, pois ocorre uma diminuição da viscosidade conforme uma tensão por unidade de área é aplicada. No reograma da substância com esse tipo de comportamento há formação da área de histerese que surge quando uma tensão crescente é aplicada em uma substância, por determinado tempo, e depois essa tensão cessa gradualmente e a substância não se recupera totalmente. A tixotropia corresponde aos valores da área de histerese, representando o índice de ruptura dessa substância. Essa característica está relacionada a uma recuperação lenta da organização e consistência do material, perdidos durante o cisalhamento (NETZ 2002; LAHOUD *et al.* 2010; SCHRAMM, 2006). A área de histerese tem fundamental importância na liberação de fármacos ou ativos, pois sua ausência torna inviável o uso da forma farmacêutica para fins terapêuticos ou cosméticos, com a necessidade de liberação.

1.1.5 ATIVOS NATURAIS EM COSMÉTICOS

A flora brasileira possui uma biodiversidade incrível, o que permite a obtenção de vários princípios ativos importantes para a área da saúde e também para a área de cosméticos. São conhecidos inúmeros exemplos da utilização de plantas para fins medicinais ou em cuidados pessoais. A dedaleira, *Digitalis purpurea* L., é um bom exemplo de planta usada na medicina. Seu princípio ativo faz parte de um grupo com importante função terapêutica, os glicosídeos cardiotônicos. Ele foi isolado e identificado, sendo lançado no mercado sob a forma farmacêutica adequada (FOGLIO et al. 2006). Existem diversos cosméticos no mercado contendo derivados de plantas, podendo ser um óleo essencial ou um extrato do vegetal. A presença de derivados vegetais em um produto cosmético muitas vezes estimula sua comercialização, porque cria a ilusão no consumidor de ser um “produto natural” livre de contra indicações ou reações desagradáveis.

De acordo com ISAAC *et al.* (2008), nas últimas duas décadas, a indústria cosmética tem lançado produtos contendo ingredientes naturais, mas as definições, ainda, são ambíguas ou incertas. Uma corrente define natural como a substância que vem de uma fonte vegetal renovável e que não seja derivado nem de outra forma quimicamente modificada ou alterada. Outra definição, mais ampla, considera natural a substância ou seus derivados sintéticos de origem natural, o que poderia englobar todas as matérias-primas, uma vez que podem ser reduzidas a uma origem ou outra, entre os reinos animal, mineral ou vegetal.

Um fitocosmético deve passar por todas as etapas de pesquisa: projeto, criação e desenvolvimento incluindo os testes de estabilidade para assegurar a sua estabilidade durante a vida de prateleira, ou seja, durante sua validade. A reologia adquiriu, na última década, posição permanente nos testes de avaliação de

estabilidade, uma vez que as características reológicas são propriedades importantes a serem consideradas na produção, estocagem, eficácia e qualidade de produtos de uso tópico. Além de ensaios habitualmente feitos, a determinação do comportamento reológico da formulação ajuda na avaliação da natureza físico-química do veículo, de tal maneira que torna possível detectar sinais precoces de instabilidade física, possibilitando o controle de qualidade dos constituintes, das formulações teste e do produto final (ISAAC *et al.* 2008).

O uso de plantas medicinais ocorre desde a Antigüidade, mas tem se tornado popular no mundo atual. No Brasil, a Fitoterapia é bastante utilizada, embora não se conheça, oficialmente, a porcentagem da população que faz uso desta terapia enquanto que nos Estados Unidos, 50% da população a utiliza (BREVOORT, 1998; CALIXTO, 2000).

Apesar de não existirem dados oficiais a respeito do uso popular de fitoterápicos, é de conhecimento público o aproveitamento de recursos naturais pelas populações, seja no domínio urbano, seja no rural. Um dado importante diz respeito ao empirismo em que se baseia a Fitoterapia, cuja aplicação normalmente é baseada em conhecimentos acumulados, resultantes diretamente da relação dos indivíduos com o meio ambiente (CASTELLUCCI, 2000).

No Brasil, o cultivo controlado de plantas medicinais é praticamente inexistente, sendo que as espécies de interesse medicinal são coletadas por mateiros que, na maioria das vezes, não sabem identificar a espécie vegetal nem a época ideal para a coleta (BACCHI, 1996). Além disso, é comum espécies distintas serem confundidas e empregadas para um mesmo fim terapêutico, embora possam ser diferenciadas morfologicamente (OLIVEIRA, 2000).

1.1.6 *Achillea millefolium* L.

Algumas plantas contendo óleos essenciais podem apresentar atividade antiinflamatória. A camomila (*Matricaria chamomilla*), por exemplo, apresenta óleo essencial bruto de coloração azul devido a presença de sesquiterpenos, tais como o azuleno e principalmente matricina e matricarina (BÉZANGER-BEAUQUESNE et al. 1975; COSTA, 1994a,b), e possui atividade antiinflamatória.

Uma outra planta com composição química semelhante à camomila, *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) é uma planta perfeitamente adaptada no Brasil, conhecida como “mil-folhas” “novalgina”, “mil-em-rama”, “erva-de-carpinteiro”, “milefólio”, “atroveran”, “erva-de-cortaduras”, “erva-dos-carreiros”, “aquiléia” e “macelão”. É usada popularmente, devido às suas ações antiinflamatória e adstringente que se devem, principalmente, à presença do azuleno (TESKE e TRENTINI, 1997), que é um dos principais componentes do óleo essencial bruto (HAGGAG et al. 1975). Como também apresenta azuleno (de coloração azul-escura) deve apresentar o mesmo tipo de atividade da camomila. Porém, também é relatada a presença de flavonóides (apigenina, luteolina e seus glicosídeos, artemetina, rutina), taninos, aminoácidos, açúcares, mucilagens, resinas, alcalóides (aquileína), cumarinas, heterosídeo cianogenético, betaínas, ácido clorogênico, vitamina C, ácidos salicílico e caféico, ácidos graxos, minerais: P e K, fitosterol (β -sitosteros e acetato de β -sitosterol), lactonas sesquiterpênicas (TESKE e TRENTINI, 1997).

Vários trabalhos vêm sendo realizados para comprovar diferentes atividades biológicas de *A. millefolium*. Lopes et al. (2003) avaliaram a atividade imunológica de extratos e óleo essencial bruto preparados a partir de suas folhas. Marona et al. (2003) realizaram a investigação de atividade sobre a motilidade intestinal de camundongos com extrato etanólico de folhas de *Achillea millefolium* L. (“mil-

folhas”). Jorge *et al.* (1999) avaliaram a atividade antimicrobiana de *Achillea millefolium*. Diante das atividades que vem sendo comprovadas surgem muitas tentativas de se elaborar preparações farmacêuticas com esta planta (IHA *et al.* 2003).

1.2 OBJETIVOS

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a estabilidade de emulsão O/A não iônica base e após a incorporação de óleo essencial de *Achillea millefolium* para posterior avaliação da atividade antiirritante *in vivo*.

2. DESENVOLVIMENTO

MATERIAL e MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Equipamentos

Balança analítica (GEHAKA, BG 2000); peagômetro (GEHAKA, PG1800); reômetro (HAAKE modelo RS-1); centrífuga (FANEM-BABY, modelo 208); estufa (FABBE-PRIMAR, modelo 219); geladeira (CONSUL, modelo 218 I), espectrofotômetro UV/Vis (Hitachi U-2001).

2.1.2 Vidrarias Diversas

Béqueres; bagueta de vidro; tubos de ensaio; balão volumétrico.

2.1.3 Outros Acessórios

Espátulas de metal; termômetro; fonte de aquecimento; pipetadores automáticos com volume variável de 10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL (Eppendorf).

2.2 MÉTODOS

2.2.1. PREPARO DA EMULSÃO

A emulsão do tipo O/A foi preparada com os componentes da Tabela 1, de acordo com técnica usual de preparação de emulsões. As fases, aquosa e oleosa, foram aquecidas até 70° C. A fase aquosa foi transferida sobre a oleosa, para a emulsificação, em constante agitação, até o resfriamento.

Tabela 1. Composição percentual (m/m) da formulação proposta.

Matérias primas (INCI name)	% p/p
Cetearyl Alcohol	2,00
Shea Wax	0,50
Carbomer (Dispersão a 2%)	10,00
C12-25 acid PEG-8 ester	2,00
Cetyl lactate	0,80
Diisopropyl adipate	1,00
Octyl stearate	0,60
BHT	0,20
Propylene Glycol	4,00
Methylparaben	0,18
Propylparaben	0,20
Imidazolidinyl Urea	0,10
Dissodium EDTA	0,02
Trietanolamine q.s.	pH 6,0
Aqua q.s.p.	100,00

2.2.2 TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO

Em tubo de ensaio para centrífuga, cônico, graduado, de 10 g de capacidade, foram pesados, em balança semi-analítica, cerca de 5 g da amostra a ser analisada, os quais foram submetidos a rotações crescentes de 980, 1800 e 3000 rpm, em

centrífuga, durante quinze minutos em cada rotação, à temperatura ambiente (IDSON, 1988; 1993a; 1993b; RIEGER, 1996; ISAAC *et al.* 2008). A cada quinze minutos, as amostras eram observadas de modo a se determinar o valor da rotação onde as fases separavam ou não. A não separação de fases não garante a estabilidade, somente indica que o produto pode ser submetido, sem necessidade de reformulação, aos testes de estabilidade (ISAAC *et al.* 2008).

2.2.3 TESTE DE ESTABILIDADE

Para os testes a seguir, dois quilogramas de amostra foram preparados e divididos em recipientes de plástico com tampa com capacidade de 50 gramas (respeitando-se um terço de espaço para possíveis trocas gasosas (BRASIL, 2004; ISAAC *et al.* 2008) e submetidos as condições dos testes da seguinte forma:

- A: Amostras colocadas em estufa a 45°C.
- B: Amostras colocadas em refrigerador a 5 °C.
- C: Amostras colocadas em freezer a -5°C.
- D: Amostras expostas à radiação luminosa em temperatura ambiente.
- E: Amostras mantidas em temperatura ambiente.
- F: Amostras submetidas aos ciclos de congelamento e descongelamento.

As emulsões foram avaliadas através dos testes de estabilidade, preconizados na literatura, segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2004; ISAAC *et al.* 2008). Todos os testes foram realizados em triplicata.

As emulsões foram estocadas em refrigerador a 5 °C; em temperatura ambiente e expostas a luz; em estufa termostatizada a 45 °C e a -5 °C no freezer; e submetida a ciclos de congelamento e descongelamento por um período de 90 dias.

As amostras foram submetidas à avaliação macroscópica e do pH durante 15 dias seguidos. O comportamento reológico e a avaliação em espectrofotômetro UV/Vis foram determinados somente nos dias 1, 7 e 14 (estabilidade preliminar). Passados os 15 dias da estabilidade preliminar, os testes foram realizados em períodos maiores, dando sequência ao teste de estabilidade acelerada, nos dias 21, 30, 60 e 90 de vida de prateleira. Para a realização dos testes de estabilidade as amostras eram retiradas das condições de estresse com antecedência para que a temperatura atingisse a temperatura ambiente.

2.2.4 Estabilidade Preliminar

No teste de estabilidade preliminar, as amostras são submetidas a condições extremas de temperatura e os ensaios em relação aos vários parâmetros realizados conforme a forma cosmética estudada (ISAAC *et al.* 2008). Esse teste teve a duração de 15 dias, sendo a primeira avaliação realizada no tempo um, que corresponde a 24 após a manipulação e/ou produção, para que o produto possa adquirir viscosidade e consistência final, após sua maturação. As outras avaliações foram realizadas diariamente, durante toda a duração do teste. Alguns dos parâmetros analisados para cada amostra foram: aspecto, cor, odor, pH, e foram apresentados como a média aritmética dos valores obtidos dos testes realizados em triplicata (ISAAC *et al.* 2008).

2.2.5 ESTRESSE TÉRMICO

Uma parte das embalagens de 50 g contendo a emulsão, foram colocadas em temperaturas extremas como 45°C, 5°C, -5°C e ciclos de congelamento e descongelamento, passando diretamente da temperatura de 45°C para a -5°C

diariamente, durante 15 dias e depois somente em intervalos, nos dias 21, 30, 60 e 90.

2.2.6 ASPECTO

A amostra foi analisada, em relação à amostra padrão, a fim de avaliar as características macroscópicas para verificação de sinais de instabilidade. A não ocorrência de separação de fases, de precipitação, de turvação, é indicativa de estabilidade da amostra ensaiada. A amostra vai ser descrita como normal, sem alteração; levemente separada, precipitada, turva; separada, precipitada, turva.

2.2.7 COR

A colorimetria foi realizada pela comparação visual, sob condições de luz branca, e espectrofotométrica, pela análise na região espectral do visível, da cor da amostra com a cor da amostra padrão, armazenada nas mesmas condições e embalagem que a amostra ensaiada. A comparação visual da cor da amostra ensaiada com a cor da amostra padrão foi realizada na amostra acondicionada em frascos iguais para os testes. A fonte de luz empregada foi a luz branca, natural.

A análise espectrofotométrica das amostras foi feita solubilizando-se 0,01 g das amostras em 10 mL de solução de álcool isopropílico/clorofórmio na proporção 1/1 e submetendo-as à análise em espectrofotômetro.

Efeitos hiperacrômico e hipocrômico, referentes à intensidade da banda e efeitos batocrômico ou hipsocrômico, referentes à variação no comprimento de onda relativo à máxima absorção, são indicativos de alteração na intensidade da cor ou mesmo modificação da coloração e, portanto, indicativos de instabilidade. A amostra

foi classificada, em relação à cor em: normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; ou intensamente modificada (ISAAC *et al.* 2008).

2.2.8 ODOR

O odor da amostra ensaiada foi comparado ao odor da amostra padrão, diretamente através do olfato. A amostra foi classificada, em relação ao odor em: normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; ou intensamente modificada (BRASIL, 2007; ISAAC *et al.* 2008).

2.2.9 pH

A determinação do pH foi realizada na dispersão aquosa a 10% (p/p) da amostra ensaiada em água recém destilada, usando peagômetro digital, marca GEHAKA, PG1800, pela diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na amostra em estudo (BRASIL, 2004). O eletrodo era inserido diretamente na dispersão aquosa (DAVIS *et al.*, 1977, ISAAC, 1998, F. Bras IV) e valores mantidos entre 5,5 e 6,5, compatíveis com o pH cutâneo, foram usados como critério no teste de estabilidade (ISAAC *et al.*, 2008).

2.2.10 VISCOSIDADE

É a expressão da resistência de um material à sua deformação ou escoamento, ou seja, a viscosidade expressa o deslocamento de parte das moléculas do material analisado sobre moléculas vizinhas (F. Bras IV). Segundo a quarta edição da Farmacopéia Brasileira, a propriedade oposta da viscosidade é denominada fluidez; assim, é possível dizer que a viscosidade é a resistência ao fluxo (ISAAC *et al.* 2008).

A viscosidade depende das características físico-químicas e das condições de temperatura do material (BRASIL, 2007). A unidade fundamental da medida de viscosidade é o mPa.s. É, por definição, a força, em dinas, necessária ao deslocamento de camada plana do material, com área de 1 cm^2 , sobre outra camada idêntica, paralela e distanciada da primeira em 1 cm, à velocidade de 1 cm/s (F. Bras IV; ISAAC *et al.* 2008).

A viscosidade foi determinada em reômetro Haake, modelo Rheostress 1 utilizando um sensor adequado (cone-placa C35/2°Ti) e os dados analisados pelo software Rheowin 3. Com este equipamento obteve – se a viscosidade aparente das amostras a fim de classificar os sistemas em Newtonianos ou não-Newtonianos, isto é, que apresentam e não apresentam viscosidades constantes sob qualquer condição.

2.2.11 DETERMINAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO

As emulsões tiveram seu comportamento reológico avaliado em reômetro Haake, modelo Rheostress 1 utilizando sensor, cone-placa C35/2°Ti e os dados foram analisados pelo software Rheowin 3. A temperatura usada para todos os testes foi 32°C, pois corresponde à temperatura da superfície da pele. Foram realizados os ensaios de fluência e relaxação, curva de fluxo, varredura de tensão e varredura de frequência, analisando o comportamento reológico completo das emulsões, determinando se as amostras apresentam comportamento Newtoniano ou não-Newtoniano. Foram avaliados também os comportamentos elásticos e viscosos das amostras e, com isso, foi possível determinar se a amostra é mais viscosa ou mais elástica, e o quanto recupera de sua forma elástica depois de ser submetida à tensão de cisalhamento (RIBEIRO *et al.* 2002). Os testes reológicos de varredura de

tensão e varredura de frequência foram realizados para analisar a viscosidade dinâmica (η) e o módulo elástico (G') e o módulo viscoso (G'').

2.2.12. Obtenção do óleo essencial de *Achillea millefolium*

As folhas da *Achillea millefolium* foram submetidas ao processo de hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado (WASICK, 1963), para obtenção do óleo essencial.

O óleo essencial obtido foi submetido à CCDC, juntamente com o padrão comercial (azuleno), usando-se sílica-gel como fase fixa e benzeno e acetato de etila (95:5), como fase móvel. O revelador empregado foi p-dimetilaminobenzaldeído, ácido acético glacial, ácido fosfórico e água destilada, na seguintes proporções: 0,25g; 45 mL; 5mL e 45 mL.

2.2.13. Espectrofotometria no Ultravioleta-visível

Uma solução etanólica contendo 10 $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial obtido foi submetido à espectrofotometria no ultravioleta visível. Uma solução de azuleno comercial, na mesma concentração e submetida às mesmas condições da amostra, foi utilizada como padrão.

2.2.14. Incorporação do óleo essencial de *Achillea millefolium* no creme

O óleo essencial de *Achillea millefolium* foi incorporado na emulsão desenvolvida, nas proporções de: 0,010; 0,025; 0,050; 0,075 e 0,100%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PREPARO DA EMULSÃO

A formulação inicialmente proposta precisou ser modificada em função de não ter a estabilidade desejada, resultando na composição apresentada no item 2.2.1.

3.2 TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO

O teste de centrifugação é o primeiro a ser realizado após a maturação da amostra. Inicialmente a formulação apresentava instabilidade frente ao teste inicial de centrifugação, problema que foi corrigido com a adição de dispersão de Carbopol® (2%) totalizando 10% do peso da amostra. O Carbopol® é um polímero bastante conhecido que contribui para a estabilidade da emulsão principalmente em altas temperaturas. A resina Carbopol® constitui uma família de polímeros hidrossolúveis que são empregados para espessar dispersões e melhorar a estabilidade das emulsões. Após a incorporação do Carbopol®, a amostra submetida ao teste de centrifugação não sofreu separação de fases, sendo considerada estável e possibilitando a continuação dos testes de estabilidade preliminar e acelerada. O C12-25 acid PEG-8 ester usualmente é incorporado em emulsões na concentração de 8 a 10% conferindo estabilidade a elas. Neste estudo, foram propostas emulsões com menor concentração de Xalifin 15®, com a finalidade de reduzir custos com a produção, pois essa matéria prima não é de baixo custo, sem negligenciar a estabilidade do sistema.

3.3 ESTRESSE TÉRMICO

Durante o experimento, não foram observadas alterações significativas nas amostras submetidas à temperaturas de estresse e ao ciclo de congelamento-descongelamento. Logo que eram retiradas das condições as amostras apresentavam alterações quanto à viscosidade e aparência, mas conforme atingiam a temperatura ambiente, tornavam-se uniformes novamente.

3.4 ESTABILIDADE PRELIMINAR E ACELERADA DAS EMULSÕES

O aspecto, a cor, o odor e o pH foram avaliados diariamente durante a estabilidade preliminar. Quanto ao aspecto, não foi observada separação de fases, turvação e precipitação, sendo a amostra considerada sem alterações.

A cor foi observada sob luz branca a olho nu e não foram observadas alterações. A emulsão se manteve branca e opaca. Além disso, as amostras foram submetidas à leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 259 nm e a média dos valores obtidos é mostrada na Figura 1.

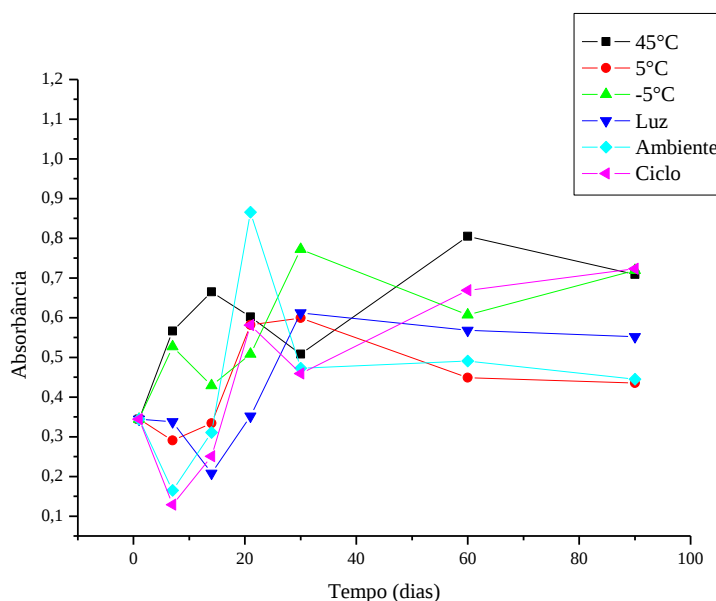


Figura 1: Média dos valores de absorbância da emulsão durante os 90 dias do teste de estabilidade.

Embora todas as leituras tenham apresentado obediência à Lei de Lambert Beer (valores de absorbância entre 0,2 e 0,8) houve uma alteração nas diferentes condições e tempo de análise, não comprometedora da estabilidade do óleo essencial, entretanto, estudos mais aprofundados necessitam ser realizados.

O odor foi avaliado diretamente pelo olfato e não foram observadas alterações em relação à amostra recém preparada.

Por definição, o pH é o logaritmo negativo da concentração molar de íons hidrogênio e corresponde à acidez ou alcalinidade de uma solução. É determinado pela diferença de potencial entre dois eletrodos, o de referência e o de medida, imersos na amostra a ser analisada e depende da atividade dos íons de hidrogênio na solução (BRASIL, 2007).

O pH foi medido diariamente e a média dos valores se mantiveram entre 5,5 e 6,5 conforme a Tabela 2. Estes valores de pH são compatíveis com a pele. Essa faixa de pH é usada como um critério indicando estabilidade das formulações, pois a degradação de alguns componentes e reações químicas que possam ter ocorrido durante o teste podem modificar o pH, indicando instabilidade (BRASIL, 2007; ISAAC *et al*, 2008).

Tabela 2: Média dos valores de pH nos tempos pré estabelecidos das amostras armazenadas nas diferentes condições de estresse.

Dias	45°C	5°C	-5°C	Estresse luminoso	Ambiente	Ciclo
1	5,96	6,13	5,86	6,08	6,07	6,1
2	6,09	6,09	5,87	6,1	6,05	6,11
3	6,16	6,05	5,96	6,12	6,05	6,13
4	5,94	6,07	5,98	6,04	6,1	5,98
5	5,84	6,06	6,01	6	6,03	5,79
6	5,87	6,02	5,94	6,07	6,04	5,9
7	5,95	6,03	5,95	6,02	6,03	6,02
8	5,98	6,04	5,9	6,04	6	5,94
9	5,86	5,97	5,99	5,87	5,88	5,89
10	6,04	6,04	5,88	5,97	5,91	5,98
11	5,78	5,86	5,94	5,91	5,93	5,9
12	5,6	5,8	5,93	5,88	6,06	5,89
13	5,65	6,1	6,02	6,06	6,1	5,96
14	5,72	6,05	6,04	6,08	6,07	5,98
21	5,77	6,05	6,02	6,07	6,1	5,95
30	5,83	6,12	6,2	6,17	6,08	5,69
60	5,6	5,85	5,87	6,06	6,05	5,68
90	5,57	6,03	6,04	6,01	6,03	5,6

Média	5,845	6,02	5,96667	6,03056	6,03222	5,91611
Desvio padrão	0,17304	0,09286	0,08353	0,08055	0,06431	0,14721

Dando continuidade ao teste de estabilidade, as amostras foram mantidas nas condições em que estavam, no entanto, as avaliações passaram a ser feitas não mais diariamente e sim, nos dias 21, 30, 60 e 90, como já foi mostrado na tabela do pH.

3.5 VISCOSIDADE

A viscosidade esta diretamente relacionada com a natureza dos componentes da formulação, sendo a medida da resistência para fluir. Quanto mais viscoso for um fluido, maior sua dificuldade para escoar (DARR,1979; LAHOUD *et al.* 2010). Os valores de viscosidade aparente (η) obtidos mantiveram-se entre 1,15 e 0,4 como mostra a Figura 2. Este parâmetro é denominado viscosidade aparente mínima e pode ser observado através de um ensaio dinâmico como a curva de fluxo, onde a amostra é submetida a um aumento gradual de cisalhamento e, em seguida, a uma redução gradual. A viscosidade aparente é chamada de mínima, pois é determinada no ponto de cisalhamento máximo do ensaio (100 s^{-1}) (CHIARI, 2011).

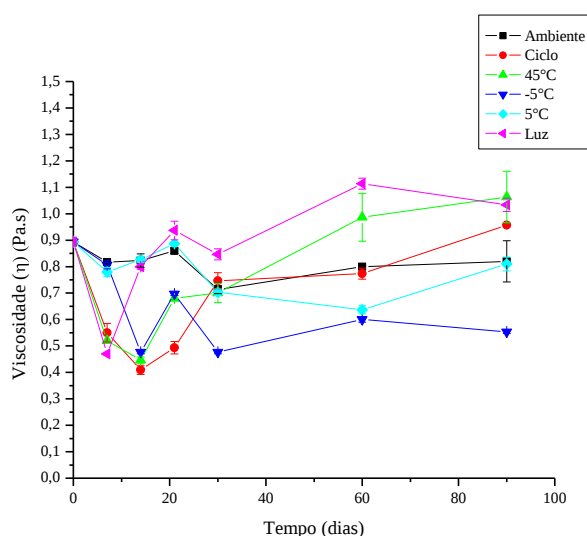


Figura 2: Valores de viscosidade aparente mínima (taxa de cisalhamento = 100s^{-1}) da emulsão submetida às condições de estresse no armazenamento durante 90 dias.

Houve um aumento na viscosidade das amostras mantidas em estufa à $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ e em luz branca artificial. Esse aumento pode ser explicado devido à perda de água. As amostras que tiveram maior variação com relação à viscosidade foram às submetidas aos ciclos de congelamento e descongelamento e mantidas em freezer à $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Essas variações bruscas de temperatura ocasionaram mudanças, mas não desestruturaram totalmente a emulsão, o que comprova sua estabilidade frente a temperaturas extremas.

3.6 COMPORTAMENTO REOLÓGICO

O comportamento reológico de uma substância fornece informações precoces sobre sua estabilidade e tem fundamental importância industrial, pois orienta no processo de produção mais adequado, ou seja, na escolha dos componentes, maquinário e até mesmo o material de embalagem. Os reogramas apresentados nas Figuras 3 e 4 demonstram que não existe proporcionalidade entre os valores das tensões de cisalhamento e das taxas de cisalhamento, apontando o comportamento

não-Newtoniano da emulsão avaliada (MILAN *et al.* 2007; CHIARI, 2011). O mesmo reograma também caracteriza essa formulação como tixotrópica, característica desejável para produtos de aplicação tópica, em que após o cisalhamento a resistência para fluir diminui, demonstrando a facilidade de aplicação da emulsão (MORAIS *et al.* 2005; CHIARI, 2011).

Além disso, a emulsão apresenta uma área entre as curvas ascendente e descendente, ou seja, após ter sofrido o cisalhamento crescente ($0-100\text{s}^{-1}$) e em seguida a redução gradual deste cisalhamento, até que cessasse, não foi observada uma recuperação total da estrutura da emulsão (CHIARI, 2011). Ainda, de acordo com as Figuras 3 e 4, podemos observar a diminuição, mas não o desaparecimento da área de histerese após os 90 dias de teste de estabilidade, conforme Tabela 3. Isso indica estabilidade da formulação frente às condições de estresse a que foi submetida e também garante a liberação de ativos.

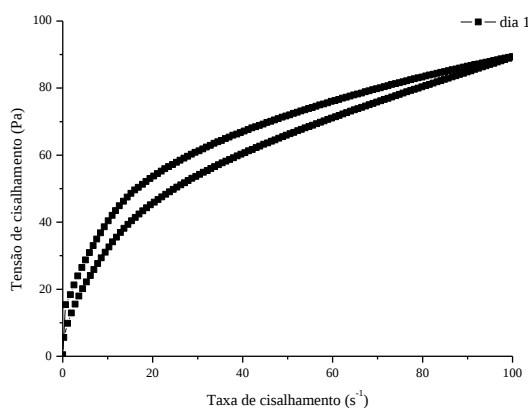


Figura 3: Curva de fluxo no dia 1

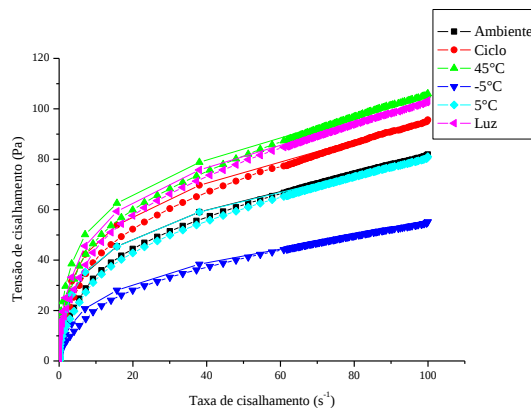


Figura 4: Curva de fluxo no dia 90.

Tabela 3: Média dos valores de tixotropia das amostras armazenadas nos tempos pré estabelecidos nas diferentes condições de estresse.

Condições						
dia	45°C	5°C	-5°C	Estresse luminoso	Ambiente	Ciclo
1	531,00	531,00	531,00	531,00	531,00	531,00
7	25,68	570,50	246,50	557,50	605,90	172,10
14	48,30	225,60	63,32	190,00	223,90	94,06
21	110,20	299,10	164,50	219,00	116,30	53,58
30	132,80	471,50	209,80	222,50	192,70	197,00
60	365,40	314,50	169,70	342,00	208,50	137,80
90	331,90	333,40	133,60	279,90	214,00	288,70
Média	220,754	392,228	216,917	334,557	298,90	210,605
Desvio	190,298	131,188	150,047	151,736	188,744	160,187

Em geral, observa-se uma diminuição dos valores de tixotropia em todas as amostras, mas ela não deixa de existir. A manutenção da área de histerese é importante quando se deseja uma formulação com a capacidade de liberar ativos.

Em seguida, foram feitos os ensaios de varredura de tensão, onde a frequência se mantém constante e a tensão de cisalhamento varia de 0-100 Pa. Neste teste é possível a identificação da região viscoelástica linear, para obtenção de intervalos de tensão de cisalhamento onde as amostras podem ser submetidas sem prejudicar as suas estruturas e, também, tensões suficientes para promover o escoamento dos produtos (CHIARI, 2011). As Figuras 5 e 6 abaixo também comparam a varredura de tensão no dia 1 e no dia 90 após os testes de estabilidade.

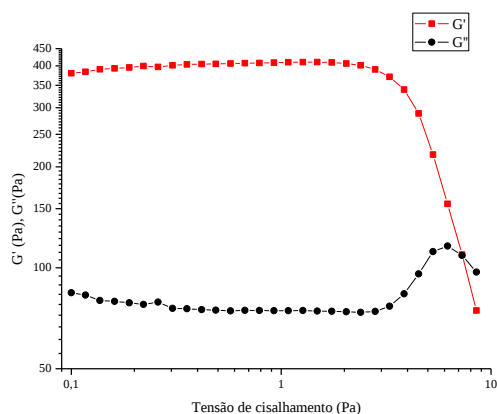


Figura 5: Varredura de tensão no dia 1.

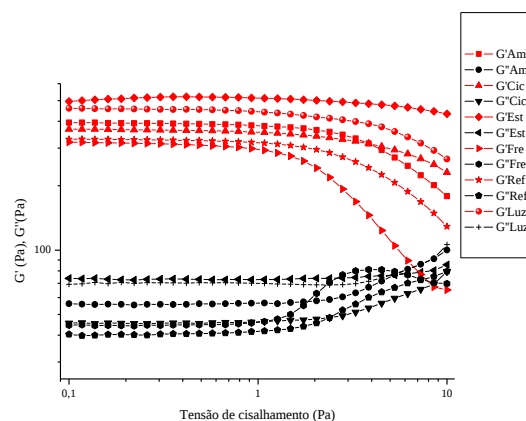


Figura 6: Varredura de tensão no dia 90.

As Figuras 5 e 6 demonstram que, mesmo após as condições de estresse à que foi submetida a amostra, ela se manteve estável e com sua característica viscoelástica semelhante à inicial. Uma pequena variação na resistência quando aplicada uma tensão crescente foi observada após os 90 dias, mas a amostra recém preparada e a que foi submetida ao teste de estabilidade suportam tensões de até 1 Pa, sem sofrer instabilidade.

A varredura de frequência apresentada nas Figuras 7 e 8 confirma a viscoelasticidade das amostras, apresentando módulo elástico (G') superior ao viscoso (G''). Isto é uma característica desejável para uma emulsão, indicando maior estabilidade deste produto.

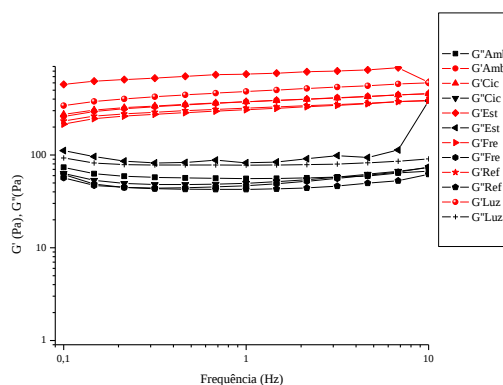
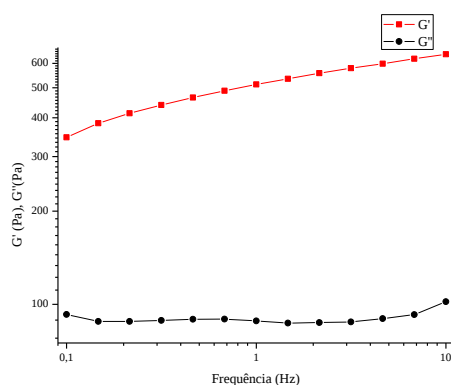


Figura 7: Varredura de frequência dia 1. Figura 8: Varredura de frequência dia 90.

O ensaio de fluência e relaxação representado pelas Figuras 9 e 10 confirma que a amostra permanece viscoelástica mesmo após as condições de estresse. Classificar um fluido como viscoelástico significa que ele apresenta características semelhantes às de um líquido e de um sólido, simultaneamente (BARRY & WARBUNTON, 1968). Essa característica é importante para a área cosmética, uma vez que flui mas recupera sua estrutura (CHIARI, 2011).

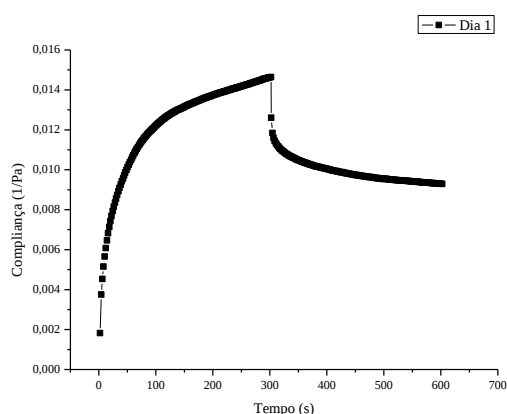


Figura 9: Ensaio de fluência e relaxação no dia 1.

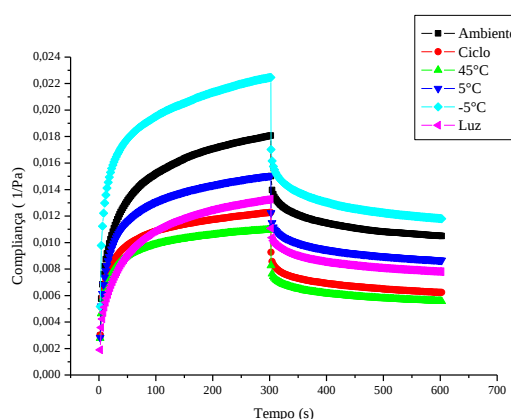


Figura 10: Ensaio de fluência e relaxação no dia 90.

Neste teste, foi possível avaliar a compliance (J). Quanto mais alta, mais facilmente sofrerá deformação por uma tensão aplicada (SCHRAMM, 2006). Segundo as Figuras 9 e 10, podemos observar o aumento da compliance da amostra submetida à -5 °C, isso pode estar relacionado com uma diminuição da viscosidade. E uma diminuição da compliance da amostra mantida em estufa a 45 °C, indicando um aumento na viscosidade, devido talvez à uma perda de água da formulação.

3.7. Obtenção do óleo essencial de *Achillea millefolium*

O óleo foi obtido das folhas de *Achillea millefolium*, com rendimento de 0,8%, correspondendo a um rendimento esperado, uma vez que na literatura constam rendimentos variando de 0,3 a 1,0% (KOKKALOU, 1992; MOCKUTE 2003).

3.7.1. Cromatografia em Camada Delgada Comparativa

A Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC) do óleo essencial de *Achillea millefolium* foi realizada para comparação com dados da literatura. De acordo com WAGNER et al. (1984), o azuleno apresenta $R_f = 0,95$ e cor vermelha quando revelado por Vanilina Sulfúrica. Os resultados obtidos na realização da CCDC mostraram a presença do marcador no óleo essencial bruto de *Achillea millefolium* obtido, conforme pode ser visualizado na Figura 11.

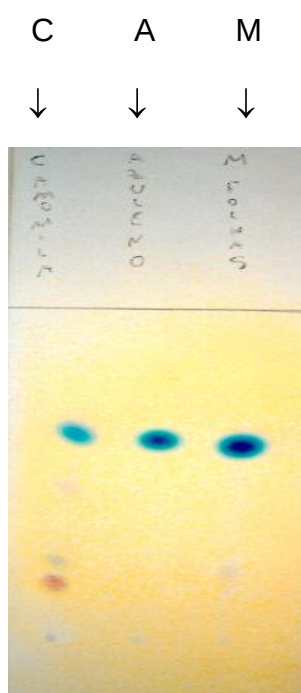


Figura 11. Cromatografia em Camada Delgada Comparativa do óleo essencial bruto de *Matricaria chamomilla* (C), padrão comercial azuleno (A) e *Achillea millefolium* (M).

3.7.2. Espectrofotometria no ultravioleta visível

O espectro no ultravioleta visível do óleo essencial obtido de *Achillea millefolium* e do padrão comercial azuleno, mostram absorção no comprimento de onda de 601 nm, como mostram as Figuras 12 e 13.

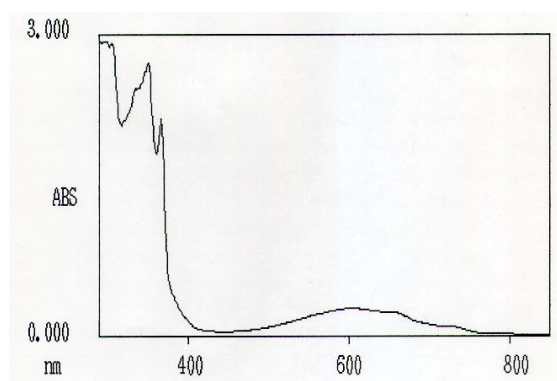


Figura 12. Espectro na região visível do óleo essencial obtido da *Achillea millefolium*.

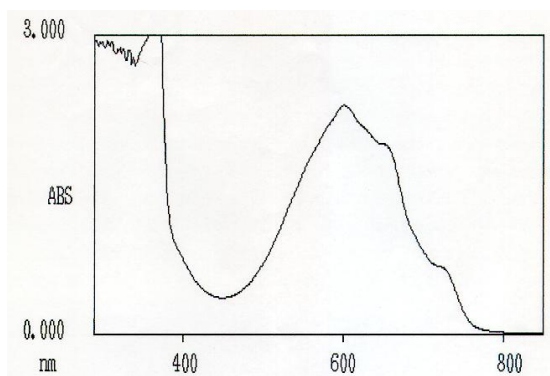


Figura 13. Espectro na região visível do padrão comercial azuleno.

Em função do espectro no ultravioleta visível do óleo essencial obtido da *Achillea millefolium*, na concentração de 10 µg/mL, correspondendo à concentração de 0,10% de óleo essencial incorporado no creme, ter apresentado baixa absorbância, não foi possível obter os espectros dos valores inferiores incorporados nos cremes.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir, nas condições ensaiadas, que a formulação proposta contendo C12-25 acid PEG-8 éster é estável sob o ponto de vista de centrifugação, pois não ocorreu separação de fases; é estável sob o ponto de vista do pH, pois não houve alteração fora do intervalo do pH cutâneo e, além disso, não houve variação maior que 20%, valor limitado pelo nosso grupo de pesquisa, para aceitar o intervalo de variação do pH. Em relação à reologia, houve uma alteração dos parâmetros, como aumento de tensão para fluir e alteração da fluência (maior J) com o estresse térmico; entretanto, não representam instabilidade da preparação.

Pode-se afirmar que uma emulsão com estas características e propriedades, é capaz de receber um ativo e de acordo com os testes, liberá-lo. Essa informação poderá ser confirmada com testes de liberação.

Como permaneceu estável no ensaio de estabilidade acelerada, de 90 dias, a formulação pode ser considerada estável e pode ser empregada como base cosmética para incorporação de ativos.

A incorporação de óleo essencial na emulsão, na concentração proposta, não é possível, pois não foram detectadas concentrações representadas pela absorbância nas condições ensaiadas. Como a extração é de baixo rendimento, outra metodologia mais sensível deve ser proposta para identificação, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), pois acrescentar maiores concentrações ficaria inviável do ponto de vista comercial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I. F.; BAHIA, M. F. Reologia: interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. *Cosmet. & Toiletries*, v. 15, n. 3, p.96-100, 2003.

ANVISA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**, 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia_series.htm. Acesso em: Ago. 2011.

AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

ATWOOD, D.; FLORENCE, A. T. *Surfactants Systems: Their Chemistry, Pharmacy and Biology*. Chapman and Hall, London. 1985.

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

BACCHI, E. M. Controle de Qualidade de Fitoterápicos. In: Di Stasi, L.C. (org.) “Plantas Medicinais: arte e ciência, um guia de estudo interdisciplinar”, ed. UNESP, São Paulo, 169-185, 1996.

BARATA, E. A. F. *A Cosmetologia: princípios básicos*. 1ª ed. São Paulo: Editora Tecnopress, 2002.

BARRY, B. W. *Dermatological formulations*. New York: Marcel Dekker, 1993.

BARRY, B.W. Rheology of dermatological vehicles. In: *Dermatological formulations*. New York: Marcel Dekker, 1993, p. 351-439.

BARRY, B.W.; Warburton, B. Some rheological aspects of cosmetics. **J. Soc. Cosmetic Chem.**, v.19, p.725-744, 1968.

BATISTUZZO, J. A. O. Formulário Médico Farmacêutico. 3ªed. São Paulo: Pharmabooks, 2006

BECKER, J. R. Crude Oil Waxes, Emulsions and Asphaltenes, Pennwell Books, Tulsa, USA, 1997.

BENITA, S., ed Submicron emulsion in drug targeting and delivery, Harwood Academic: Amsterdam, 1998.

BEZANGER-BEAUQUESNE, L., PINKAS, M., TORCK, M. “Les plantes dans la therapeutique moderne”, ed. Maloine S.A. Éditeur, Paris, **49**, 1975.

BONTORIM, G. Estudo de Estabilidade de emulsão cosmética utilizando reologia e técnicas convencionais de análise. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

BRASIL, Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: Núcleo de Assessoramento em Comunicação Social e Institucional, v.1, p.12-19, 26,27, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, DF: ANVISA, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2007/guia_cosmetico.pdf>. Acesso em: 11 set. 2011.

BREUER, M.M. Cosmetics emulsions. In: BECHER, P. (ed.) *Encyclopedia of emulsions technology*. New York: Marcel Dekker, 1985. v.2, p.385-424.

BREVOORT, P. *Herbal Gram.*, **44**, 33-46 (1998).

CALIXTO, J. B. Biopirataria. *Ciência Hoje*, **28**, 36-43 (2000).

CAPEK, I. Degradation of kinetically – stable o/w emulsions, *Adv. Col. Interf. Sci.*, Amsterdam, v. 107, p. 125 – 155, 2004.

CASTELLUCCI, S., Lima, M. I. S., Nordi, N., Marques, J. G. W. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, **3**, 51-60 (2000).

CHIARI, B. G.; Desenvolvimento, avaliação da eficácia e segurança de fitocosmético contendo extrato de *Psidium guajava* L. Tese de mestrado p.151 Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, 2011.

Costa, A. F. "Farmacognosia", ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **I**, 361-364, 457-46, 1994a.

Costa, A. F. "Farmacognosia", ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **III**, 293,492, 1994b.

DARR, A. Tecnologia Farmacêutica. Berlim: Aníbia, 1979. 366p.

DAVIS, H.M. Analysis of creams and lotion. In: Newburguer's manual of cosmetic analysis. Washington: Association of Official Analytical Chemists, Senzel, ed. AJ., p.32, 1977.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4ºed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FERREIRA, A. O. Guia Prático de farmácia Magistral: volume 1.3. Ed. São Paulo : Pharmabooks, 2008. 409p.

FERREIRA, A. O. Guia Prático de farmácia Magistral: volume 2. 3. Ed. São Paulo : Pharmabooks, 2008. 829p.

FLORENCE, A.T.; WHITEHILL, D. The formulation and stability of multiple emulsions. *Int. J.Pharm.* 1982 (11): 277-308.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, M. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. - Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar-Divisão de Fitoquímica, CPQBA/UNICAMP Construindo a história

dos produtos naturais#7, outubro, 2006. Acesso em:

http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_04_7.pdf

GREGOLIN, M.T., CHIARI, B.G., RIBEIRO, H.M., ISAAC, V.L.B. Caracterization of gels by rheology. Journal of Dispersion Science technology, 2010, in press.

HAGGAG, M. Y., VERZAR – PETRI, G., SHALABY, A. S. *Planta Med.*, **27** (1975).

HOSMANI, A. H. Carbopol and its pharmaceutical significance: a review. Pharmainfo.net – Pharmaceutical information for you. 2006. Disponível em: <
<http://www.pharmainfo.net/reviews/carbopol-and-its-pharmaceutical-significance-review>>. Acesso em: 19/09/2011.

HUNTER, R. J. Introduction to Modern Colloid Science. Oxford University Press, New York. 1992.

IHA, S. M., MIGLIATO, K. F., URBAN, M. C. C., CORRÊA, M. A., RANGEL, V. L. B. I., MARONA, H. R. N. In: XV Congresso de Iniciação Científica da UNESP. ANAIS (abstract CD) (2003).

ISAAC, V.L.B.; CEFALI L.C.; CHIARI, B.G.; OLIVEIRA, C.C.L.G.; SALGADO H.R.N.; CORRÊA, M.A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

ISAAC, VLB. Desenvolvimento, estabilidade e liberação in vitro de preparações lipolíticas. Tese de Doutorado. 132p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP. 1998.

IPELE <http://www.ipele.com.br/formulacoes/dactive.asp?cod=513> Acesso em: 29 abril 2008.

IDSON, B. Stability testing of emulsions, I. Drug & Cosmetics Industry, v. 151, n.1, p.27-28,30, 1993a.

IDSON, B. Stability testing of emulsions, II. Drug & Cosmetics Industry, v. 151, n.2, p.38, 40, 42-43, 72, 1993b.

INESSCENTS

http://www.inesscents.com/store/error_message.php?access_denied&id=33&xid=71d1853cc4959748ce1e7c8f70886dee> Acesso em: 29/08/2011.

JORGE, L. I. F., PREGNOLATTO, B. P., CHICOUREL, E. L., ZAMAROLLI, L. A, GRACIANO, R. A. S. *Rev. Ciênc. Farm.*, **20**, 449-458 (1999).

KOKKALOU,E.; KOKKINI, S.; HANLIDOU, E. **Volatile Constituents of *Achillea millefolium* in Relation to their Intraspecific Variation** *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 20, No. 7, pp. 665-670, 1992.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A. & KANIG, J.L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.1. p.211-221.

LAHOUD, M. H; CAMPOS, R. Aspectos teóricos relacionados à reologia farmacêutica. Visão Acadêmica, Curitiba, v.11, n.1, 2010.

LOPES, F. C. M., MOREIRA, R. R. D., SANTOS, L. E., PLACERES, M. P., CARLOS, I. Z. *Rev. Bras. de Farmacognosia*, **13**, 11-13, (2003).

MARONA, H. R. N., LUCCHESI, M. B. B., MOREIRA, R. R. D. In: IV Simpósio Brasileiro de Farmacognosia. ANAIS (abstract CD) (2003).

MASSON, D. S. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico – química de emulsões O/A quanto a variação de umectantes e a adição de ativos despigmentantes. Ribeirão Preto, 2005. Dissertação (Mestrado) 163p. – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

MILAN, A.L.K.; MILÃO, D.; SOUTO, A.A.; CORTE, T.W.F. Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 43, n. 4, p.649-657, 2007.

MOCKUTE, D.; JUDZENTIENE, A. Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* growing wild in Lithuania. Institute of Chemistry, A. Gostauto 9, LT-2600, Vilnius, Lithuania, 2003.

MORAIS, G.G.; SANTOS, O.D.H.; MASSON, D.S.; OLIVEIRA, W.P.; ROCHA FILHO, P.A. Development of O/W emulsions with annatto oil (*Bixa orellana*) containing liquid crystal. **J. Dispers. Sci. Technol.**, v.26, n.5, p.591-596, 2005.

MOSTEFA, M.N. et al. Determination of optimal cream formulation from long-term stability investigation using a surface response modelling. *J. Cosmet. Sci.*, New York, v. 28, n. 3, p. 211-218, 2006.

NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. Fundamentos de Físico-Química: uma abordagem conceitual para as Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre: Artmed, 2002.

NOVEON, Polymers for Personal Care. Polímeros Carbopol. Disponível em: <www.personalcare.noveon.com/Foreign/tds253.pdf>. Acesso em: 14/09/2011.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CHAIMOVICH, H, Effect of exadecyltrimethylammonium bromide based microemulsions on the rate of decomposition of the beta – lactam antibiotic cephaclor. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v86, p.616 – 620, 1997.

OLIVEIRA, A. F. M., XAVIER, H. S., SILVA, N. H., ANDRADE, L. H. C. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, **3**, 37-41 (2000).

OLIVEIRA L.C, BLOISE MI. Extratos e óleos naturais vegetais funcionais. *Cosmet Toilet* 1995; 7(2):30-7.

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.

PIANOVSKI, A. R; VILELA, A. F. G; SILVA, A. A. S.; LIMA, C.G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M.; Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* vol.44 no.2 São Paulo Apr./June 2008

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. Técnica Farmacêutica e farmácia Galênica. Ed. 3. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1981; p. 179-210, 1125-128.

PRISTA, L.N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. Tecnologia Farmacêutica. 5ª ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1995. v. 2. p. 599. 655.

PRISTA, L. V. N.; MORGADO, R. M. R.; LOBO, J. M. S. Tecnologia farmacêutica. 6ª ed. Lisboa: Foundation Calouste Gulbenkian,, 1 vol, 2003.

PROENÇA, K. S.; ROMA, R. M.; GONÇALVES, M. M.; CHAUD, M. V.; OLIVEIRA, R. V. M.; VILA, M. M. D.C. Avaliação da estabilidade de cremes empregando diferentes agentes de consistência. *Rev. Bras. Farm.*, 87(3): 74-77, 2006.

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, p. 1-40. 2001.

RIBEIRO, H.M.; MORAIS, J.A.; ECCLESTON, G.M. Structure and rheology of semisolid O/W creams containing cetyl alcohol/ non-ionic surfactant mixed emulsifier

and different polymers. International Journal of Cosmetic Science, v. 26, n.2, p. 47-59, 2004.

RIBEIRO, H. M. Teorias de estabilidade de emulsões cosméticas. Cosmetic & Toiletries (edição em português) 14(4): 88-90, 2002.

RIEGER, M. Teste de estabilidade para macroemulsões. Cosmetics & Toiletries (edição em português) 8(5):47-53, 1996.

RORIZ, M. A. L. Estudo de estabilidade de emulsões cosméticas através de técnicas convencionais e reologia. [Trabalho de conclusão de curso] São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2010.

SATHAMPA

DATCH

PETRÓLEO

<<http://www.sthampadatch.com.br/content/produtos/default.php?idCat=1&idProd=10&lit=true&PHPSESSID=71d37fe8e5e0df7b86d328881b3cec30>> Acesso em: 16 setembro 2011.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria**: fundamentos teóricos e práticos. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2006.

SILVA, E. C.; SOARES, I. C. Tecnologia das emulsões. Cosmetics & Toiletries (edição em português) São Paulo, v.8, n.5, p. 37 – 46, 1996.

TESKE, M., TRENTINI, A. M. M. “Herbarium compêndio de fitoterapia”, ed. Herbarium, Curitiba, 217-219, 1997.

ZANON, A. B.; Aspectos teóricos e práticos sobre a avaliação da estabilidade de emulsões manipuladas em farmácia. [Trabalho de Conclusão de Curso] Rio Grande do Sul, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - FACULDADE DE FARMÁCIA, 2010.

WASICKY, R. *Rev. Farm. Bioquímica*, **1**, 88-91 (1963).