

Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações fitocosméticas de uso tópico contendo óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel. Myrtaceae)

Development and evaluation of the physicochemical stability of phytocosmetics formulation for topical use containing Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia* Cheel. Myrtaceae)

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1352>

Leão, Júlia^{1*}; Klafke, Arlete Teresinha¹; Soares, Jocelene¹.

¹Universidade de Santa Cruz do Sul, Departamento de Ciências da Vida. Rua Independência, 2293, Campus Universitário, CEP 96815-900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

*Correspondência: juulialeao@gmail.com.

Resumo

Fitocosméticos são cosméticos que contêm substâncias de origem vegetal como seu princípio ativo, como o óleo essencial de Melaleuca (OEM). A incorporação de óleos essenciais em formas farmacêuticas é um desafio farmacotécnico devido à sua volatilidade, oxidação e estabilidade. Tem-se por objetivo desenvolver e avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos de formulações fitocosméticas (emulsão óleo/água e oleogel) de uso tópico contendo OEM. A composição do OEM foi caracterizada através de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS) do OEM puro e extraído das formulações após testes de estabilidade. As formulações desenvolvidas foram submetidas a testes físico-químicos, de estabilidade e microbiológicos. A emulsão apresentou sinais de instabilidade e variação de pH significativas após submissão aos testes de estabilidade por ciclo gela-degela ($p=0,003$) e acelerada (TEA) ($p=0,02$), separando de fases ao final do estudo. O oleogel não apresentou variações significativas em suas características organolépticas e pH ($p>0,05$). Ambas atenderam aos critérios de aprovação para avaliação microbiológica. Obteve-se teor superior a 30% do marcador do OEM, terpinen-4-ol, conforme a ISO-4730, para a amostra do OEM puro e, após, extraído das formulações submetidas aos TEA. Conclui-se que foi possível desenvolver formulações fitocosméticas minimalistas de uso tópico utilizando componentes de fonte natural ou orgânica certificada.

Palavras-chave: Óleo essencial de Melaleuca. Análise físico-química. Fitocosmético. Oleogel. Emulsão.

Abstract

Phytocosmetics can be defined as a cosmetic that contains natural ingredients of plant origin such as an essential oil, like Tea Tree Oil (TTO). Incorporation of essential oils in cosmetics is a pharmacotechnical challenge due their volatility, oxidation, and stability. These project aims to develop and evaluate physicochemical and microbiological aspects of phytocosmetics (oil/water emulsion and oil gel) for topical use containing TTO. TTO composition was characterized by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) of pure TTO and TTO extracted from the formulations after stability tests. Both formulations were submitted to physicochemical, stability and microbiological tests. Emulsion showed signs of instability and significant pH variation after submission to freezing-unfreezing cycle ($p=0,003$) and accelerated stability ($p=0,02$), and in the end of the study turned to phases separation. Oil gel remained stable, without significant variations in its organoleptic characteristic and pH ($p>0,05$). The emulsion and oil gel have been approved on microbiological tests. A content higher than 30% of TTO marker, terpinen-4-ol, was obtain for pure TTO and TTO after extracted from the formulations submitted to stability tests, according to ISO-4730. Therefore, it was possible to develop minimalist phytocosmetics for topical use using components from natural or certified organic sources.

Keywords: Tea tree oil. Physicochemycal analysis. Phytocosmetic. Oil gel. Emulsion.

Introdução

Nas últimas décadas observou-se uma mudança de hábitos pelos consumidores, que estão cada vez mais preocupados com: a sua saúde e a do planeta, adeptos a um estilo de vida mais sustentável e; interessados em produtos cosméticos de origem natural, com fórmulas minimalistas; que não contenham ativos de fontes não renováveis e; que também não sejam testados em animais. Para isso, a indústria cosmética vem se adaptando e ampliando seus investimentos para atender às expectativas deste consumidor^[1,2].

Segundo levantamento da consultoria *Grand View Research*, o setor de cosméticos naturais deve atingir um faturamento de US\$ 25 bilhões até 2025 em todo o mundo e no Brasil, esses produtos devem ter um crescimento entre 5-10% nos próximos 5 anos^[3]. Os cosméticos que seguem esses novos conceitos de sustentabilidade podem ser denominados fitocosméticos, cosméticos naturais ou orgânicos. Os fitocosméticos são cosméticos que contêm substâncias de origem vegetal como seu princípio ativo, sendo este um extrato, um óleo essencial (OE), que será responsável pela atividade do cosmético^[4]. A classificação de cosméticos naturais ou orgânicos é um pouco mais criteriosa, pois devem seguir as diretrizes de agências regulamentadoras privadas que possuem critérios de avaliação internacionais como a NATRUE (*The International Natural and Organic Cosmetics Association*) e a COSMOS-standard (*Cosmetic Organic and Natural Standard*)^[5].

Os óleos essenciais (OE) são produtos do metabolismo secundário de plantas e podem ser obtidos de qualquer parte da planta (folha, flor, raiz, casca, fruto, semente) através de diferentes técnicas de extração. Estas moléculas são frágeis e voláteis, portanto a superexposição à luz, temperatura e oxigênio podem degradar esses óleos, levando à perda de suas propriedades terapêuticas. A sua composição química depende de diversos fatores como clima, estação do ano, período da colheita e técnica de extração utilizada e são moléculas bastante diversificadas, compostas por terpenos, sesquiterpenos, álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos entre outros^[6-9].

Um OE com potencial aplicação em produtos fitocosméticos é o óleo essencial de Melaleuca (*Myrtaceae Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel) (OEM), extraído das folhas de uma árvore nativa australiana, pertencente à família das mirtáceas (*Myrtaceae*), que possui propriedade antimicrobiana e antifúngica e pode ser empregado no tratamento de infecções e inflamações cutâneas^[10]. O principal componente do OEM é o *terpinen-4-ol*, da classe dos terpenos, sendo o marcador deste óleo, responsável por suas propriedades medicinais. O segundo componente mais relevante do OEM é o *1,8-cineol*, considerado irritante para a pele em concentrações superiores a 15%. Além disso, o OEM possui capacidade de permear a pele e é também um composto que favorece a permeação de outros ativos^[11].

Entretanto, a incorporação de óleos essenciais em formas farmacêuticas ainda é um desafio farmacotécnico devido à sua volatilidade, solubilidade, oxidação e estabilidade. Além disso, a adição de OE em formulações pode gerar diversas incompatibilidades com os componentes da formulação, resultando em instabilidades físico-químicas. Nesse contexto, as formulações semissólidas são as mais adequadas para a incorporação de óleos essenciais, sendo as mais utilizadas para uso tópico as emulsões e os géis.

Emulsões são dispersões coloidais em que um líquido está disperso finamente em uma fase contínua líquida na qual é imiscível, sendo classificadas em óleo em água (O/A) quando a fase oleosa está dispersa na fase aquosa e água em óleo (A/O), quando a fase aquosa está dispersa na fase oleosa. As emulsões não se formam espontaneamente, é necessária aplicação de energia mecânica e o uso de um tensoativo para gerar um aumento da área superficial e diminuição da tensão interfacial entre as moléculas^[12]. Entretanto, existem diversos desafios no desenvolvimento de emulsões, como a obtenção de sistemas dispersos estáveis, a avaliação das características físico-químicas do sistema e a presença de cristais líquidos^[13]. O aumento da estabilidade das emulsões pode ser obtido com um tensoativo formador de cristais líquidos, pois estes estabilizam emulsões pela formação de multicamadas ao redor das gotículas da emulsão, formando uma fase líquida cristalina na interface dessas gotículas, atuando como uma barreira reológica contra a coalescência. Além disso, os cristais líquidos possuem capacidade de manutenção da hidratação cutânea, pois sua estrutura multilamelar, muito similar a estrutura da pele, pode atuar como modulador específico para a retenção de água no estrato córneo, promovendo hidratação da pele^[14].

Os géis podem ser classificados utilizando diversos critérios, como a classificação segundo a natureza da fase coloidal (inorgânico ou orgânico), quanto ao número de fases (monofásico e bifásico) e quanto a natureza da fase líquida (comportamento frente à água) em hidrogel e oleogel. Os oleogéis possuem alto teor de lipídios, benéfico para a proteção da pele, sendo muito aplicados em sistemas transdérmicos, bases tópicas e preparações destinadas à absorção percutânea^[15]. Esta forma farmacêutica pode ser produzida com diferentes tipos de óleos nos quais podem transportar compostos lipofílicos, sendo uma de suas características mais interessantes a capacidade de apresentar um comportamento semelhante ao de gel, mesmo usando baixas quantidades de agentes gelificadores, como o *Glyceryl Behenate*, um espessante de fase oleosa Ecocertificado^[16,17].

Assim, o objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos de formulações fitocosméticas de uso tópico contendo óleo essencial de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e determinar a viabilidade da incorporação do OEM na obtenção de formas farmacêuticas semissólidas (emulsão O/A e oleogel) para uso tópico.

Materiais e Métodos

Desenvolvimento das formulações

Foram desenvolvidas duas formulações preliminares de emulsão O/A e de oleogel, a fim de selecionar a de melhor aspecto sensorial através de critério pessoal. As formulações foram desenvolvidas de forma minimalista, com componentes de origem natural ou orgânica certificada.

Para a emulsão O/A foram testadas duas concentrações diferentes do tensoativo não-iônico Ecocertificado *Cetearyl Olivatate (and) Sorbitan Olivatate* nas concentrações de 5% (formulação 1E) e 7% (formulação 2E), compondo a fase oleosa da emulsão. Utilizou-se água purificada como veículo, compondo a fase aquosa da emulsão. A emulsão O/A foi desenvolvida pela técnica de inversão de fases, empregando agitação mecânica. Após atingir a temperatura ambiente, foi adicionado o OEM na concentração de 3%; como antioxidantes o *Tocopheryl Acetate*, para a fase oleosa, e *L-ascorbic Acid*, para a fase aquosa; e como conservante foi utilizada a associação de *Glycerin (and) Caprylyl Glycol (and) Caprylhydroxamic Acid* que segue o conceito de *preservative free*, sendo uma alternativa aos sistemas conservantes tradicionais.

Para o oleogel, foram desenvolvidas duas formulações variando apenas a concentração do agente gelificante, o *Glyceryl Behenate*, utilizando 10% (oleogel 1O) e 15% (oleogel 2O). Como veículo utilizou-se o óleo de abacate que foi aquecido junto ao *Glyceryl Behenate* até sua incorporação. Após atingir temperatura ambiente, foi adicionado o OEM na concentração de 3%, como antioxidante foi utilizado o *Tocopheryl Acetate* e como conservante a mesma associação de ativos utilizada na emulsão. Ainda foi adicionado 1% de *Aluminum Starch (and) Octenylsuccinate* como agente redutor da pegajosidade e brilho da pele, também Ecocertificado.

Testes de estabilidade

As formulações desenvolvidas foram inicialmente submetidas ao teste de estabilidade preliminar por centrifugação, após 24 horas do seu preparo. Foram pesadas 10 g de amostra em balança semi-analítica, adicionadas em um tubo de ensaio cônico graduado e centrifugadas a 3000 rpm durante 30 minutos. A análise foi realizada em triplicata e avaliada quanto às suas características organolépticas e comparadas a uma amostra controle para estudo comparativo^[18]. As amostras que não apresentaram qualquer sinal de instabilidade foram escolhidas para os estudos de estabilidade preliminar por ciclo gela-degela e estabilidade acelerada. Para o teste no ciclo gela-degela foram adotados ciclos de 24 horas (24 horas a 38-42°C, e 24 horas a 2-6°C, equivalente a um ciclo), durante 12 dias, completando 6 ciclos.

Para o estudo de estabilidade acelerada as amostras foram submetidas à condição de 37,0 ± 2,0°C em estufa e as avaliações foram realizadas 24 h após o preparo e no 7°, 15°, 30°, 60° dias. Os parâmetros avaliados foram: características organolépticas (aspecto, cor, odor) e valor de pH nos dias 7, 15, 30 e 60 de estudo em comparação com uma amostra controle, acondicionada em temperatura ambiente^[18]. A avaliação microbiológica foi realizada no tempo zero e no 60° dia do estudo de estabilidade acelerada,

assim como a caracterização do OEM extraído das formulações após teste de estabilidade acelerada e do OEM puro.

Testes físico-químicos e microbiológicos

As formulações desenvolvidas e aprovadas após 24 horas do preparo foram avaliadas quanto as suas características organolépticas (cor, odor, aspecto) e a homogeneidade das formulações identificando possíveis processos de instabilidade, tais como coalescência e cremeação. Para avaliação das características organolépticas foram empregadas as seguintes nomenclaturas, para classificá-las quanto ao aspecto: normal ou sem alteração (1); levemente separado (2); levemente precipitado ou turvo (3); separado (4); precipitado ou turvo (5). Quanto a cor e o odor: normal (1); levemente modificada (2); modificada (3) e; intensamente modificada (4)^[18].

O pH foi determinado com o auxílio de um pHmetro previamente calibrado. O valor do pH foi determinado inserindo o eletrodo diretamente na amostra diluída a 10% em água purificada, a análise foi realizada em triplicata.

As amostras foram submetidas aos testes de contagem de microrganismos totais, leveduras e bolores logo após a preparação da formulação (t=0) e depois de 60 dias (t=60) de estudo de estabilidade acelerada. Para aprovação, espera-se valores menores que 1×10^2 unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) para bactérias aeróbias e de 1×10^1 UFC/g para fungos e leveduras^[19].

Caracterização do OEM puro e extraído após teste de estabilidade acelerada

Realizou-se a análise da composição do OEM puro antes de ser adicionado às formulações através de CG/MS. Para a operação do cromatógrafo a gás utilizou-se coluna capilar ZB-5MS (5% dimetilpolisiloxano) e dimensões (60 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 μ m). As condições analíticas foram: gás de arraste: hélio, fluxo da coluna, mL min⁻¹ : 1,0, volume de injeção μ L: 1,0, modo de injeção: *split pulsado* (1:20), programação da temperatura do forno: 60°C – 1 min, 4°C/min. até 200°C - 1 min, 5°C/min até 270°C, tempo total: 60 minutos; temperatura da fonte de ionização: 230°C, temperatura do detector: 150°C, modo de aquisição, m/z: *Scan* 35-500. O teste foi conduzido com 0,5% da amostra do OEM, diluído em diclorometano. O cálculo do percentual relativo de cada substância identificada na amostra é realizado com base na área de cada pico do cromatograma, sendo o somatório das áreas considerado 100%.

Para a extração do OEM das formulações desenvolvidas foi utilizada a metodologia proposta por Camargo^[20], utilizando água purificada como solvente de extração e levando as amostras adicionando a um balão de fundo redondo, acoplado a manta aquecedora e conectado ao *Clevenger*. O tempo de experimento foi padronizado em 3 horas. A mesma metodologia utilizada para a caracterização do OEM puro foi utilizada para caracterizar o OEM extraído após o teste de estabilidade acelerada. Foi adicionado sulfato de sódio anidro para total remoção de água das amostras de OEM extraídas das formulações, que foram armazenadas em geladeira e protegidas da luz.

Análise estatística

Para a avaliação do pH foi aplicado teste estatístico de hipótese (Teste T), onde os resultados serão considerados significativos quando a probabilidade for inferior a 5% ($p < 0,05$) com intervalo de confiança de 95%. A avaliação estatística dos resultados foi realizada através do Excel®.

Resultados e Discussão

Desenvolvimento das formulações

A formulação 2E apresentou aspecto consistente, com alguns grumos, de coloração branca brilhosa e sensorial menos agradável na pele apresentando resistência na espalhabilidade em comparação a formulação 1E, que apresentou coloração branca brilhosa, aspecto fluido e sem grumos, sensorial aveludado na pele e boa espalhabilidade, odor característico do OEM e sem sinais de instabilidade como separação de fases ou cremeação.

Para o oleogel, a formulação 2O apresentou um aspecto semelhante a uma manteiga, odor característico do OEM, sensorial oleoso e menor espalhabilidade em comparação a formulação 1O, apresentando coloração verde opaco, aspecto de gel, boa espalhabilidade, sensorial oleoso, rastro de brilho na pele e odor característico do OEM. A **FIGURA 1** mostra a emulsão O/A 1E e o oleogel 1O escolhidos para seguirem com os testes de estabilidade.

FIGURA 1: Emulsão O/A 1E (A) e oleogel 1O(B) 24 horas após preparo.



Fonte: autora.

Testes de estabilidade

Após submissão ao teste de estabilidade preliminar por centrifugação nenhuma formulação apresentou sinais de instabilidade física, como separação de fases ou cremeação, permanecendo com as mesmas características iniciais.

O estudo de estabilidade preliminar por ciclo gela-degela submete a amostra a condições distintas de temperatura, ocorrendo uma alteração de temperatura periódica até o período final do estudo^[18]. As formulações submetidas a seis ciclos de congelamento e descongelamento foram avaliados quando suas características organolépticas e pH apresentados na **TABELA 1**.

TABELA 1: Resultados da estabilidade preliminar no ciclo gela-degela.

Emulsão 1E						
	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Ciclo 6
pH n=3	5,11 ±0,34*	4,56 ±0,34*	4,36 ±0,34*	4,18 ±0,34*	4,30 ±0,34*	4,27 ±0,34*
Aspecto	1	1	2	3	3	3
Cor	1	1	2	3	3	3
Odor	1	1	2	3	3	3
Oleogel 1O						
pH n=3	5,45 ±0,17**	5,47 ±0,17**	5,50 ±0,17**	5,39 ±0,17**	5,17 ±0,17**	5,08 ±0,17**
Aspecto	1	1	1	1	1	1
Cor	1	1	1	1	2	2
Odor	1	1	1	1	1	1

*p<0,05 comparado à formulação controle em temperatura ambiente. **não diferem significativamente (p>0,05) em relação à formulação controle em temperatura ambiente. Aspecto: normal ou sem alteração (1); levemente separado (2), levemente precipitado ou turvo (3), separado (4), precipitado ou turvo (5); Cor e odor: normal (1), levemente modificada (2), modificada (3) e intensamente modificada (4).

A emulsão 1E apresentou sinais de instabilidade a partir do terceiro ciclo de congelamento e descongelamento, inicialmente apresentou leve mudança na coloração, odor e aspecto e, ao fim do estudo, apresentou-se claramente modificada A B em comparação a uma amostra controle armazenada em temperatura ambiente, com coloração amarelada, odor modificado, apresentou também perda da viscosidade e aparência levemente precipitada.

O oleogel 1O apresentou características organolépticas normais até o quarto ciclo e nos ciclos 5 e 6 apresentou leve modificação na coloração, para um verde um pouco mais brilhoso em comparação à amostra controle.

Não houve variação significativa de pH para o oleogel 1O (p=0,06), porém, para a emulsão 1E houve uma variação significativa de pH durante o período de estudo (p=0,003). O pH é um parâmetro muito relevante, pois uma alteração significativa de seu valor pode sugerir modificações químicas dos componentes presentes na formulação ou crescimento bacteriano, podendo comprometer a qualidade do produto final. Em formulações compostas por óleos vegetais, uma diminuição no valor do pH pode ser decorrente da hidrólise dos ésteres de ácidos graxos, que geram ácidos graxos livres, que reduzem o pH das formulações^[21,22].

As amostras submetidas ao estudo de estabilidade acelerada foram avaliadas quanto suas características organolépticas e pH em comparação a uma amostra controle, os dados obtidos estão apresentados na **TABELA 2**, a seguir:

TABELA 2: Resultados da estabilidade acelerada.

Emulsão 1E					
Tempo	24 horas	7 dias	15 dias	30 dias	60 dias
pH (n=3)	5,19 ±0,52*	4,03 ±0,52*	3,92 ±0,52*	4,01 ±0,52*	4,21 ±0,52*
Aspecto	1	2	3	4	4
Cor	1	2	3	3	3
Odor	1	2	2	3	3
Oleogel 1O					
pH (n=3)	5,45 ±0,24**	5,48 ±0,24**	5,46 ±0,24**	4,96 ±0,24**	5,10 ±0,24**
Aspecto	1	1	1	1	1
Cor	1	1	1	1	2
Odor	1	1	1	1	1

* $p < 0,05$ comparado à formulação controle em temperatura ambiente. **não diferem significativamente ($p > 0,05$) em relação à formulação controle em temperatura ambiente. Aspecto: normal ou sem alteração (1); levemente separado (2), levemente precipitado ou turvo (3), separado (4), precipitado ou turvo (5); Cor e odor: normal (1), levemente modificada (2), modificada (3) e intensamente modificada (4).

A emulsão apresentou sinais de instabilidade na primeira semana do estudo, com uma leve alteração na coloração, aspecto e odor. Após 30 dias de estudo houve a separação de fases da emulsão. Ao fim do estudo a formulação estava totalmente modificada, com coloração amarelada, duas fases distintas e com o odor do óleo essencial de melaleuca modificado. Segundo a ANVISA^[18], uma emulsão é considerada estável quando não apresenta, no período de 30 dias, processos de cremação intensa ou separação de fases em temperatura de aproximadamente 40°C. O oleogel permaneceu estável durante todo o período do estudo, com uma leve alteração na coloração ao final de 60 dias de estudo, a coloração verde parecia menos intensa em comparação à amostra controle.

Os valores de pH foram significativamente alterados para a emulsão ($p = 0,02$), indicando ocorrência de reações químicas como hidrólise ou oxidação, ou até mesmo crescimento bacteriano. Os valores de pH não sofreram alteração significativa para o oleogel ($p = 0,073$). A alteração nos valores de pH pode ser causada por hidrólise dos componentes do óleo essencial. Flores *et al.*^[23] em seu estudo verificaram uma diminuição do pH de nanoemulsões contendo OEM após 60 dias de armazenamento e atribuem este efeito ao maior contato do óleo com a fase aquosa das formulações, conduzindo a degradação de alguns de seus componentes. Paines *et al.*^[24] desenvolveram hidrogéis a partir de nanoemulsão associadas ao OEM também obtiveram uma diminuição do pH após 30 dias de armazenamento a temperatura ambiente.

A separação de fases de uma emulsão pode ocorrer por diversos fatores, como a elevação da temperatura, que aumenta a quantidade de choques moleculares e acelera a separação das fases e também pela quantidade insuficiente de agente emulsionante^[25]. O tensoativo utilizado nas emulsões é de caráter não-iônico, formador de cristais líquidos biomiméticos à pele. A formação de cristais líquidos aumenta a estabilidade das emulsões pela formação de multicamadas ao redor das gotículas da emulsão, formando uma fase líquida cristalina na interface dessas gotículas, atuando como uma barreira reológica contra a

coalescência^[14]. Porém, na concentração de 5% pode não ter sido eficaz na garantia da estabilidade da emulsão, devido à alta concentração de fase aquosa da formulação. Uma alternativa seria o uso de co-tensoativos, que reduzem de forma adicional a tensão interfacial necessária para garantir a estabilidade termodinâmica de uma emulsão^[26].

O oleogel permaneceu estável durante todo o período do estudo, sem sinais de separação de fases. O agente gelificante utilizado se posiciona entre a fase oleosa aumentando a viscosidade dos óleos. Os cristais formados pelo ativo formam uma rede que bloqueia o movimento das moléculas nos óleos, por causa deste mecanismo de ação é possível apenas desenvolver géis opacos com o *Glyceril Behenate*. Além disso, o alto teor de ácidos graxos monoinsaturados presentes no óleo de abacate garante uma boa estabilidade térmica, relacionada à capacidade antioxidante do óleo de abacate torna este uma boa alternativa para fins cosméticos, pois é fundamental a garantia da estabilidade mediante variações de temperatura, uma vez que nenhum produto pode ser isolado do seu meio ambiente^[27].

Na avaliação microbiológica, as formulações apresentaram resultados menores que 1×10^2 UFC/g para bactérias aeróbias e de 1×10^1 UFC/g para fungos e leveduras, tanto na análise inicial como após 60 dias de estudo^[19].

Sendo assim, o conservante utilizado no estudo demonstrou-se eficaz na conservação das formulações. O sistema conservante utilizado atua como biostático e fungistático, composto pelo ácido caprilhidroxâmico, um aminoácido derivado do coco que funciona como conservante, o caprililglicol que age contra bactérias gram positivas e negativas, fungos e leveduras e a glicerina, que em concentração acima de 20% também atua como conservante. Além de atuar em ampla faixa de pH este conservante segue o conceito de *preservative free*, sendo uma alternativa aos sistemas conservantes tradicionais, como os parabenos. Além disso, o OEM também apresenta ação antimicrobiana, favorecendo a conservação das formulações desenvolvidas^[28].

Caracterização do OEM puro e após teste de estabilidade acelerada

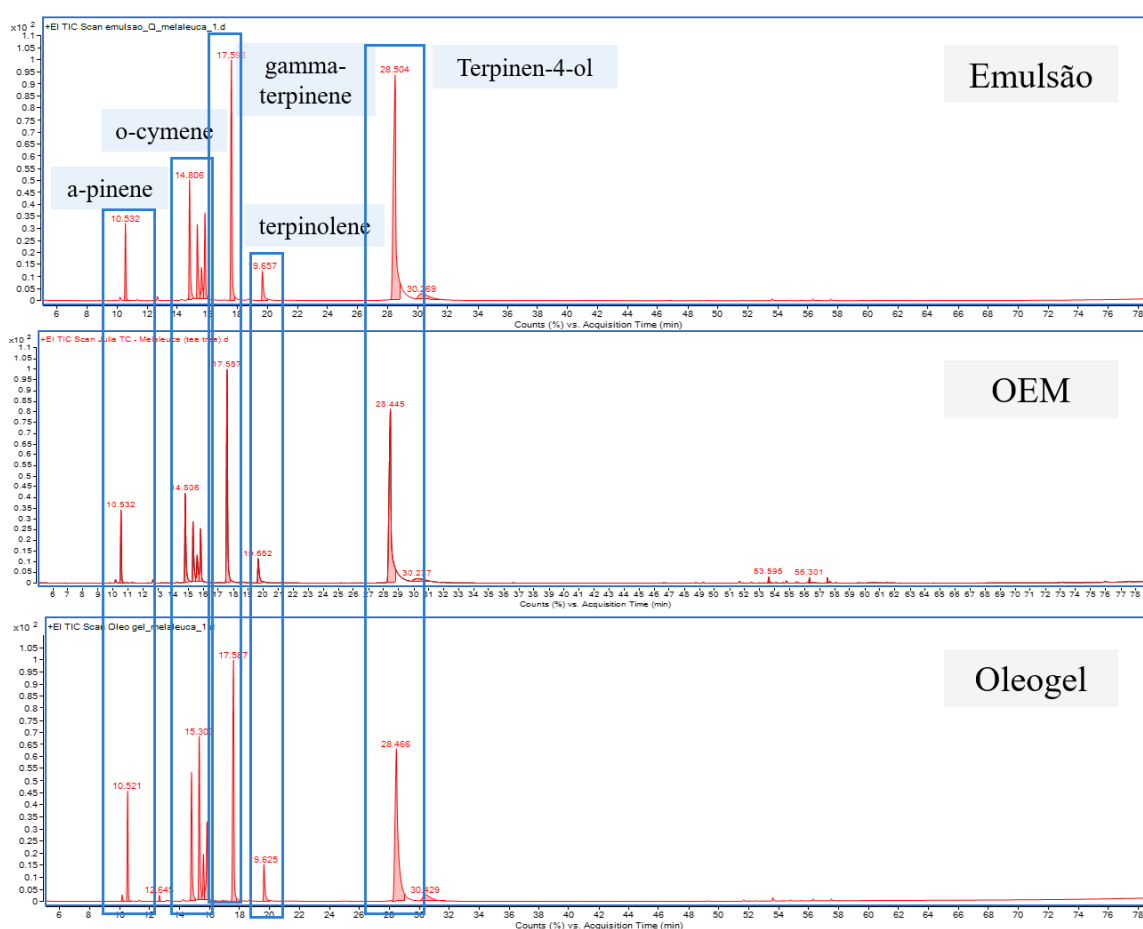
Após 3 horas de extração foi possível recuperar cerca de 3 mL do OEM do oleogel e cerca de 4 mL do OEM da emulsão. O produto extraído foi armazenado em balões volumétricos de 5 mL e enrolados com papel alumínio para não sofrerem interferência da luz ambiente e, em seguida, realizada a quantificação e identificação dos componentes majoritários através de CG/MS. Na **TABELA 3** encontram-se os resultados em percentual relativo obtidos da amostra do OEM puro antes de ser adicionado às formulações e após teste de estabilidade acelerada.

TABELA 3: Identificação percentual das substâncias obtidas no OEM puro e nas formulações 1E e 1O após teste de estabilidade acelerada.

Tempo de retenção, min.	Nome da substância	CAS	Percentual relativo, %			
			OEM	Oleogel 1O	Emulsão 1E	ISO-4730 ^[29]
10,53	<i>α-Pinene</i>	80-56-8	6,89	7,79	5,62	1 a 6
15,32	<i>o-Cymene*</i>	527-84-4	8,86	15,41	8,14	0,5 a 8%
15,6	<i>D-Limonene</i>	5989-27-5	4,45	4,14	3,03	0 a 1,5
15,83	<i>1,8-Cineol</i>	470-82-6	5,84	6,06	7,32	Traço a 15
17,59	<i>γ-Terpinene</i>	99-85-4	28,16	24,68	24,21	10 a 28
19,65	<i>Terpinolene</i>	586-62-9	4,08	4,08	3,67	1,5 a 5
28,44	<i>Terpinen-4-ol</i>	20126-76-5	42,72	37,84	48,01	30 a 48

***isômero *p*-Cymene**

Conforme preconizado na ISO-4730^[29], o marcador do OEM é o *terpinen-4-ol*, da classe dos terpenos, deve apresentar um teor mínimo de 30%. Este teor foi obtido em todas as amostras analisadas. O segundo componente majoritário do OEM é o γ -*Terpinene*, presente nas concentrações de 10% a 28%. Outro componente relevante é o *1,8-cineol*, que não deve estar em concentrações acima de 15%, este componente nestas condições é considerado irritante para a pele. Sevik *et al.*^[30] avaliaram a composição química do OEM em seu estudo e encontraram como componentes majoritários o α -*pinene* (21,64%), γ -*Terpinene* (21,09%), *terpinen-4-ol* (17,31%), *limonene* (9,37%) e *o*-*cymene* (6,54%). A **FIGURA 2** apresenta o perfil cromatográfico do OEM puro e após extraído das amostras após TEA.

FIGURA 2: Perfil cromatográfico do OEM puro e extraído das amostras após TEA.

Fonte: dados da pesquisa.

É possível verificar a presença do composto *o*-*cymene* nas três amostras do OEM. O *o*-*cymene* é um dos isômeros do *p*-*cymene*, que é um dos componentes do OEM padronizados pela ISO-4730^[29]. Devido à relação estrutural dentro de um mesmo grupo químico, os terpenos, os componentes do OEM são conhecidos por se converterem facilmente uns nos outros, por reações de oxidação, isomerização, ciclização ou desidrogenação, desencadeadas enzimaticamente ou quimicamente. Como os terpenos são voláteis e termolábeis, podem ser facilmente oxidados e hidrolisados, dependendo de sua respectiva estrutura^[9].

O armazenamento prolongado do OEM altera as concentrações de seus componentes, aumentando os níveis de *p-cymene* e diminuindo os níveis de *terpinene*. *α-terpineno*, *γ-terpinoleno* e *γ-terpinol* na degradação resultam em *terpinen-4-ol* por hidrólise e *p-cimeno* por oxidação. Pode-se perceber que, na amostra de OEM extraída do oleogel, houve um aumento na concentração de *o-cymene* e diminuição da concentração do *γ-terpinene*. A concentração de *p-cimeno*, que aumenta com a oxidação, é um bom indicador de degradação oxidativa do OEM^[11]. Para o OEM extraído da emulsão, pode-se perceber uma diminuição da concentração de *γ-terpinene* e um aumento na concentração de *terpinen-4-ol*, onde a possível hidrólise deste composto pode estar relacionada com a redução dos valores de pH observados nesta formulação durante o estudo de estabilidade acelerada.

Conclusão

Pode-se concluir que foi possível incorporar o OEM em diferentes formas farmacêuticas semissólidas para uso tópico, porém a submissão das formulações aos testes de estabilidade acelerada e estabilidade preliminar por ciclo gela-degela alteraram significativamente as características organolépticas e o pH da emulsão, que devido a sua alta concentração de fase aquosa favoreceu também o processo de hidrólise do OEM, alterando sua composição. A identificação e quantificação dos componentes do OEM comprovam a qualidade do OEM utilizado no estudo que se apresentou de acordo com a ISO-4730 quando analisados por GC/MS. O método utilizado para extração do OEM das formulações após estudo de estabilidade acelerada foi eficaz e capaz de recuperar o OEM. Os resultados obtidos mostraram-se promissores para o desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas utilizando matérias-primas de origem natural ou orgânica certificada, de forma minimalista, com a incorporação do OEM.

Referências

1. Fonseca-Santos B, Antonio Corrêa M, Chorilli M. Sustainability, natural and organic cosmetics: Consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. **Brazilian J Pharm Sci**. 2015; 51(1): 17-26. [<https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100002>].
2. Instituto Biodinâmico Certificações. **Diretrizes orgânico e natural para produtos cosméticos e higiene pessoal e ingredientes certificados como natural e orgânico**. 6ª ed. 52p. Disponível em: [https://www.ibd.com.br/wp-content/uploads/2019/10/8_1_2_C_Diretrizes_IBD_Cosmeticos_17102019_V.pdf]. Acesso em: 22 nov. 2020.
3. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC). **Cosméticos verdes devem crescer 10% nos próximos anos**. 2019. Disponível em: [<https://abihpec.org.br/cosmeticos-verdes-devem-crescer-10-nos-proximos-anos/>]. Acesso em: 22 nov. 2020.
4. Souza RP, Holanda JNP, Sousa LRB, Oliveira D, Souza DCP, Sousa RWR. Pharmacotechnical development and quality control of a cryotherapy gel based on ginger extract, menthol and caffeine. **RSD**. 2020Apr.19; 9(6): e110963513. [<https://doi.org/10.33448/rsd-v9i6.3513>].
5. Lyrio ES, Ferreira GG, Zuqui SN, Silva AG. Plant resources in biocosmetic: a new concept on beauty, health, and sustainability. **Nat line**. 2011; 9: 47-51. [http://www.naturezonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/10_lyrioesetal_4751.pdf].
6. Morais SMDE, Cunha FA, Solon E, Cavalcanti B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. **Infarma**. 2005; 17(3/4): 80-3. ISSN 2318-9312. [<http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=285>]

7. Pazyar N, Yaghoobi R, Bagherani N, Kazerouni A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. **Int J Dermatol**. 2013; 52(7): 784-90. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2012.05654.x>].
8. Carvalho IT, Estevinho BN, Santos L. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - A review. **Int J Cosmet Sci**. 2016; 38(2): 109-19. [<https://doi.org/10.1111/ics.12232>]
9. Yadav E, Kumar S, Mahant S, Khatkar S, Rao R. Tea tree oil: a promising essential oil. **J Essent Oil Res**. 2017; 29(3): 201-13. [<http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2016.1232665>]
10. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clin Microbiol Rev**. 2006; 19(1): 50-62. [<https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>].
11. Vieira TR, Barbosa LCA, Maltha CRA, Paula VF, Nascimento EA. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Quim Nova**. 2004; 27(4): 536-9. [<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400004>].
12. Kale SN, Deore SL. Emulsion micro emulsion and nano emulsion: A review. **Syst Rev Pharm**. 2016; 8(1): 39-47. [<https://www.sysrevpharm.org/articles/emulsion-micro-emulsion-and-nano-emulsion-a-review.pdf>].
13. Andrade FF. **Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico**. 151p. Ribeirão Preto; 2008. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas] - Universidade de São Paulo (USP). [<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-02102008-163152/pt-br.php>].
14. Nesseem DI. Formulation and evaluation of itraconazole via liquid crystal for topical delivery system. **J Pharm Biomed Anal**. 2001; 26(3): 387-99. [[https://doi.org/10.1016/s0731-7085\(01\)00414-9](https://doi.org/10.1016/s0731-7085(01)00414-9)].
15. Kasparaviciene G, Kalveniene Z, Pavilionis A, Marksiene R, Dauksiene J, Bernatoniene J. Formulation and Characterization of Potential Antifungal Oleogel with Essential Oil of Thyme. **Evidence-based Compl Altern Med**. 2018; 2018. [<https://doi.org/10.1155/2018/9431819>].
16. Patel AR, Schatteman D, Vos WH, Lesaffer A, Dewettinck K. Preparation and rheological characterization of shellac oleogels and oleogel-based emulsions. **J Colloid Interface Sci**. 2013; 411(2013): 114-21. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2013.08.039>].
17. Martins AJ, Silva P, Maciel F, Pastrana LM, Cunha RL, Cerqueira MA *et al*. Hybrid gels: Influence of oleogel/hydrogel ratio on rheological and textural properties. **Food Res Int**. 2019; 116(October): 1298-305. [<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.019>].
18. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. 1ª ed. Brasília: ANVISA, 2004, 52p. [<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view>].
19. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. Brasília. 2010; vol. 2. 546p. [<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8000json-file-1>].
20. Camargo MFP de. **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá (*Passiflora edulis*) e óleo essencial de lavanda (*Lavandula officinalis*) e avaliação da atividade anti-inflamatória tópica**. 119p. Ribeirão Preto; 2008. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas] - Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto; 2008. [<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-06062008-164634/pt-br.php>].
21. Martini E. **Nanoemulsões catiônicas como sistemas de liberação de oligonucleotídeos: formulação e caracterização físico-química**. 114p. Porto Alegre; 2005. Dissertação de Mestrado

[Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. [\[https://lume.ufrgs.br/handle/10183/7360\]](https://lume.ufrgs.br/handle/10183/7360).

22. Masmoudi H, Dréau Y Le, Piccerelle P, Kister J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **Int J Pharm.** 2005; 289(1-2): 117-31. [\[https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.10.020\]](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.10.020).

23. Flores FC, Ribeiro RF, Ourique AF, Rolim CMB, Bona SC, Pohlmann AR *et al.* Nanostructured systems containing an essential oil: Protection against volatilization. **Quim Nova.** 2011; 34(6): 968-72. [\[https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600010\]](https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600010).

24. Paines TC, Lima JA, Weber J, Flores FC, Silva CDB. Desenvolvimento tecnológico de hidrogéis a partir de nanoemulsão contendo clotrimazol em associação com o óleo de melaleuca. **Ciênc Nat.** 2016; 37: 106. [\[https://doi.org/10.5902/2179-460X19738\]](https://doi.org/10.5902/2179-460X19738).

25. Franzol A, Rezende MC. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros.** 2015; 25: 1-9. [\[https://doi.org/10.1590/0104-1428.1669\]](https://doi.org/10.1590/0104-1428.1669).

26. Cotrim ACM. **Correlação entre a estabilidade termodinâmica e o comportamento reológico em materiais microemulsionados.** 74p. Barra do Garças. 2015. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais] - Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Barra do Garças. 2015. [\[https://ri.ufmt.br/handle/1/1451?locale=pt_BR\]](https://ri.ufmt.br/handle/1/1451?locale=pt_BR).

27. Forero-Doria O, García MF, Vergara CE, Guzman L. Thermal analysis and antioxidant activity of oil extracted from pulp of ripe avocados. **J Therm Anal Calorim.** 2017; 130(2): 959-66. [\[https://doi.org/10.1007/s10973-017-6488-9\]](https://doi.org/10.1007/s10973-017-6488-9).

28. Engenharia das Essências. Spectrastat. Disponível em: [\[https://engenhariadasessencias.com.br/loja/materias-primas/100-conservante-preservative-free-spectrastat.html\]](https://engenhariadasessencias.com.br/loja/materias-primas/100-conservante-preservative-free-spectrastat.html). Acesso em: 7 Jun. 2020.

29. International Organization for Standardization (ISO). **ISO 4730:2004, Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (tea tree oil).** Geneva, Switzerland; 1996. [\[https://www.iso.org/standard/37033.html\]](https://www.iso.org/standard/37033.html).

30. Sevik R, Akarca G, Kilinc M, Ascioğlu Ç. Chemical composition of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) (Maiden & Betche) cheel essential oil and its antifungal effect on foodborne molds isolated from meat products. **J Essent Oil Bear Plants.** 2021; 24(3): 561-70. [\[https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1942232\]](https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1942232).

Histórico do artigo | Submissão: 11/10/2021 | **Aceite:** 28/04/2022 | **Publicação:** 20/12/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Leão J, Klafke AT, Soares J. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações fitocosméticas de uso tópico contendo óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel. Myrtaceae). **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2022; 16(4): 443-455. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1352>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

