



Cristiana Filipa Serra Matos

Licenciada em Bioquímica

Desenvolvimento de uma emulsão hidratante corporal biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Bioquímica

Orientador: Eng. Ricardo Calado Spencer

Co-orientadora: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte, Professora
Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Dr. José Ricardo Ramos Franco Tavares

Arguente: Prof. Dr^a Helena Margarida de Oliveira Marques Ribeiro

Vogal: Eng. Ricardo Calado Spencer



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2019



Cristiana Filipa Serra Matos

Licenciada em Bioquímica

Desenvolvimento de uma emulsão hidratante corporal biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Bioquímica

Orientador: Eng. Ricardo Calado Spencer

Co-orientadora: Maria Paula Amaro de Castilho Duarte, Professora
Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Dr. José Ricardo Ramos Franco Tavares

Arguente: Prof. Dr^a Helena Margarida de Oliveira Marques Ribeiro

Vogal: Eng. Ricardo Calado Spencer

Copyright © Cristiana Filipa Serra Matos, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que me acompanharam ao longo desta fase e que de certa forma contribuíram para que a realização deste trabalho fosse possível.

Ao Engenheiro Ricardo Spencer quero agradecer imenso a oportunidade em poder trabalhar num projeto tão interessante, pelos conselhos e pela confiança durante todo o estágio, que possibilitaram a realização deste trabalho.

Um muito obrigada à Professora Maria Paula Duarte, por ter aceite ser minha co-orientadora, por todos os ensinamentos na área de microbiologia, por todo o trabalho, tempo e dedicação que demonstrou neste trabalho.

Quero agradecer imenso à equipa Unibio, em particular à Márcia Alves por toda a amizade e conselhos que muito contribuíram para a minha aprendizagem.

Gostaria de agradecer ao Professor Ricardo Franco por me ter criado a oportunidade de realizar o estágio na empresa Unibio.

Agradeço ao meu namorado, por todo o apoio, paciência e motivação para a conclusão desta etapa.

Um grande obrigado ao meu irmão e cunhada, por estarem sempre presentes na minha vida e por me ajudarem sempre em tudo.

Por fim, agradeço imenso aos meus pais, por todo o esforço que têm feito por mim, pelo apoio incondicional e por acreditarem sempre em mim.

Resumo

O mercado biológico está a tornar-se uma tendência, pois a sociedade cada vez mais preocupa-se com a sua saúde e com o meio ambiente, e isso, reflete-se até nas escolhas dos produtos de higiene pessoal. Assim, de forma a responder às necessidades dos consumidores de cosméticos biológicos, desenvolveu-se na empresa Unibio, uma emulsão hidratante corporal biológica, destinada a todos os tipos de peles e que obedece ao padrão COSMOS de certificação de cosmética biológica. A emulsão desenvolvida possui como principal ingrediente diferenciador a bolota, que é ainda não é muito explorado. No entanto, sabe-se que possui propriedades potenciais antioxidantes.

Ao longo da formulação existiram vários desafios de forma obter um creme corporal bem aceite pelos consumidores e que se encontrasse num patamar próximo de produtos concorrentes. Neste contexto foi necessário testar vários ingredientes e otimizar vários procedimentos, de forma a obter um produto com boa textura, aparência, hidratação, espalhabilidade e sem deixar um efeito de oleosidade na pele. Quando se obteve um creme corporal com as características pretendidas à escala laboratorial, alterou-se para uma produção em maior escala, onde foi necessário alterar os tempos de homogeneização.

Para avaliação da estabilidade do produto, realizaram-se duas formulações com diferentes percentagens de conservante, tendo-se efetuado testes de estabilidade acelerada durante um período de 28 dias. Desta forma, foram avaliadas alterações da aparência, cheiro, pH, cor e viscosidade. Adicionalmente realizaram-se testes de centrifugação, ciclos de congelamento/descongelamento, testes para avaliação da qualidade microbiológica e da eficácia antimicrobiana do produto. A formulação final desenvolvida mostrou-se segura do ponto de vista microbiológico, bem aceite pelos avaliadores e estável durante o período em que decorreu o ensaio.

Palavras chave: Emulsão O/A; Hidratante; Bolota; Certificação Biológica; Estabilidade

Abstract

The organic market is becoming a trend, since society is increasingly concerned with preserving its health and the environment, and this is also reflected in the choices of personal hygiene products. In order to meet the needs of consumers of organic cosmetics, was developed at the company Unibio, an organic body moisturizing emulsion for all skin types and which complies with the COSMOS standard for organic cosmetics certification. The emulsion developed has as its main differentiating ingredient the acorn, a fruit not much explored, however, is known to have potential antioxidant properties.

During the formulation there were several challenges in obtaining a body cream that was well accepted by consumers and which was close to competing products, in this context it was necessary to test several ingredients and optimize various procedures in order to obtain a product with good texture, appearance, hydration, spreadability, without leaving a greasy effect on the skin. When a body cream with the desired characteristics at the laboratory scale was obtained, it changed to a larger scale production, where it was necessary to change the homogenization times.

To evaluate the product stability, two formulations with different preservative percentages were made, having performed accelerated stability tests over a period of 28 days. In this way, appearance changes, smell, pH, colour and viscosity were evaluated. Adiccionally, centrifugation tests, freeze/unfreeze cycles were realized and also tests to evaluate the microbiological quality and antimicrobial efficacy of the product. The final formulation developed was microbiologically safe, well accepted by the evaluators and stable over the period during which the tests.

Key words: Emulsion O/W; Moisturizer; Acorn; Organic Certificate; Stability

Índice

1. Introdução.....	3
1.1. Constituição da pele	3
1.1.1. Epiderme	3
1.1.2. Derme	7
1.1.3. Hipoderme	7
1.2. Funções e mecanismos da barreira epidérmica (BE).....	8
1.2.1. Fator de Hidratação Natural	8
1.2.2. Lípidos do estrato córneo	8
1.3. Influência do pH na pele	9
1.4. Tipos de peles.....	10
1.4.1. Pele normal.....	10
1.4.2. Pele seca	10
1.4.3. Pele oleosa.....	10
1.4.4. Pele sensível	10
1.5. Características de uma emulsão hidratante.....	11
1.5.1. Certificações requeridas para o desenvolvimento de uma emulsão biológica.....	12
1.5.2. Constituição de uma emulsão hidratante biológica	14
1.6. Avaliação da estabilidade de emulsões cosméticas	30
2. Objetivo do trabalho	35
3. Materiais e Métodos	39
3.1. Materiais.....	39
3.1.1. Ingredientes das formulações	39
3.1.2. Estirpes de microrganismos.....	41
3.1.3. Reagentes e meios de cultura	42
3.1.4. Equipamentos	42
3.2. Desenvolvimento da emulsão.....	43
3.2.1. Desenvolvimento da emulsão hidratante corporal à escala laboratorial.....	43
3.2.2. Aumento da escala de produção	45
3.3. Métodos de teste	46
3.3.1. Avaliação do grau de homogeneidade e aroma da emulsão	46
3.3.2. Viscosidade durante a formulação.....	46
3.3.3. Determinação e ajuste de pH.....	47
3.3.4. Avaliação sensorial.....	47
3.3.5. Análise através de sonda de luz polarizada	48
3.4. Testes de Estabilidade Acelerada	48
3.4.1. Avaliação das características organoléticas.....	49

3.4.2.	Ensaio de centrifugação.....	49
3.4.3.	Medições colorimétricas.....	49
3.4.4.	Avaliação da viscosidade das fórmulas finais	49
3.4.5.	Avaliação da Contaminação Microbiológica	50
3.5.	Ciclos de congelamento e descongelamento	51
3.6.	Ensaio de Eficácia de Conservantes (EEC).....	51
4.	Resultados e Discussão.....	55
4.1.	Desenvolvimento da emulsão hidratante.....	55
4.1.1.	Estabelecimento de uma base de formulação estável.....	55
4.1.2.	Incorporação de ingredientes ativos no creme	58
4.1.3.	Avaliação de alternativas ao emulsificante.....	61
4.1.4.	Introdução de ingredientes alternativos aos silicones.....	63
4.1.5.	Escolha dos ingredientes diferenciadores.....	65
4.1.6.	Melhoramento do produto	70
4.1.7.	Aumento da escala de produção	72
4.1.8.	Avaliação das características gerais das formulações em desenvolvimento	79
4.2.	Formulação Final.....	80
4.2.1.	Avaliação do nível de descamação após a aplicação do creme	82
4.2.2.	Testes de Estabilidade	85
5.	Conclusão e proposta de trabalhos futuros.....	95
6.	Referências Bibliográficas	99

Índice de Figuras

Figura 1.1: Representação da estrutura básica da pele humana. ⁸ (Adaptação)	3
Figura 1.2: Estrutura geral da Epiderme. ¹⁰ (Adaptação)	5
Figura 1.3: Organização lipídica do estrato córneo. ¹²	6
Figura 1.4: Estrutura do estrato córneo danificado. ¹ (Adaptação).....	8
Figura 1.5: Etiquetas representativas do padrão COSMOS. ³⁶	13
Figura 1.6: Categorias dos ingredientes de certificação COSMOS. ³³	13
Figura 1.7: Emulsão óleo-em-água (O/A) consistindo numa fase oleosa, fase aquosa e moléculas de emulsionante em torno das gotículas de óleo. ¹ (Adaptação).....	15
Figura 1.8: Mecanismos de instabilidade mais comuns, presentes nas emulsões. ⁴⁷ (Adaptação).....	16
Figura 1.9: Constituição morfológica da bolota, fruto do género <i>Quercus</i> . ¹⁰⁰	28
Figura 3.1: Diagrama de blocos ilustrativo do procedimento experimental de preparação da emulsão.	45
Figura 4.1: Aspeto visual da Amostra 1.	56
Figura 4.2: Aspeto visual das Amostras 3 e 5, respetivamente.	57
Figura 4.3: Aspeto visual das Amostras 6, 7 e 8, respetivamente.	59
Figura 4.4: Aspeto visual das Amostras 9 e 10, respetivamente.	61
Figura 4.5 - Aspeto visual das Amostras 11, 12 e 13, respetivamente.	63
Figura 4.6: Aspeto visual das Amostras 14 e 15, respetivamente.	64
Figura 4.7: Aspeto visual da Amostra 16.	66
Figura 4.8: Aspeto visual das Amostras 17, 18 e 19, respetivamente.	66
Figura 4.9: Avaliação sensorial das formulações sem manteigas vegetais (Amostra 17), com manteiga de karité (Amostra 18) e com manteiga de cacau (Amostra 19).	68
Figura 4.10: Aspeto visual das Amostras 20 e 21, respetivamente.	70
Figura 4.11: Aspeto visual das Amostras 22 e 23, respetivamente.	70
Figura 4.12: Avaliação sensorial das Amostras 24 e 25.....	72
Figura 4.13: Aspeto visual das Amostras 31, 32 e 33, respetivamente.	77
Figura 4.14: Gráfico de avaliação sensorial das Amostras 27, 31 e 33, dadas a testar a diferentes avaliadores.....	78
Figura 4.15: Aspeto visual das amostras 16, 19 e 26, respetivamente, após mais de 30 dias de formulação.	80
Figura 4.16: Recipiente final da emulsão desenvolvida, utilizado na realização dos testes de estabilidade.	80
Figura 4.17: Gráfico de avaliação da formulação final (FT1) e de formulações de produtos concorrentes (A e B).....	82
Figura 4.18: Aspeto das amostras após realização dos testes de centrifugação ao 14º dia de armazenamento.....	86
Figura 4.19: Aspeto das emulsões FT 2 e FT 3, respetivamente, após ciclos congelamento/descongelamento.....	88

Índice de Tabelas

Tabela 1.1: Composição de ácidos gordos do óleo de brócolo. ⁷³	22
Tabela 1.2: Estruturas químicas das moléculas humectantes. ⁴	23
Tabela 1.3: Composição química da bolota. ¹⁰³	29
Tabela 1.4: Critérios de avaliação para o Ensaio de eficácia de conservantes. ¹⁰⁷	31
Tabela 3.1: Matérias-primas utilizadas em cada fase das diferentes formulações. Fase A – Fase aquosa; Fase B – Fase oleosa; Fase C – Fase fria (≈ 45°C).....	39
Tabela 3.2: Conservante e óleos essenciais utilizados nas formulações, que permitem conservar e formar os aromas das formulações. Fase D – Fase fria (Tambiente).	41
Tabela 3.3: Estirpes de referência utilizadas nos Ensaio de Eficácia de Conservantes.	41
Tabela 3.4: Reagentes e meios de cultura utilizados nos testes microbiológicos.....	42
Tabela 3.5: Equipamento utilizado no presente trabalho.	42
Tabela 3.6: Primeiro tempo de homogeneização (minutos) à temperatura ambiente (velocidade máxima do homogeneizador).	44
Tabela 3.7: Segundo tempo de homogeneização (minutos) testados à temperatura ambiente (velocidade mínima do homogeneizador).....	45
Tabela 3.8: Tempos de homogeneização em função da escala de produção, para o equipamento BAMIX.	46
Tabela 3.9: Tempos de homogeneização em função da escala, para o equipamento TEKNO STAMAP.	46
Tabela 3.10: Escala de avaliação da viscosidade das amostras de creme produzidas.	47
Tabela 3.11: Parâmetros avaliados sensorialmente e respetiva escala de avaliação.	48
Tabela 3.12: Condições de crescimento dos microrganismos contaminantes do creme. ¹¹²⁻¹¹⁵	51
Tabela 3.13: Condições de crescimento para os microrganismos indicados pela norma ISO 11930:2012. ¹⁰⁷	52
Tabela 4.1: Formulação da Amostra 1. Componentes de cada fase e respetivos valores de concentração (%), resultantes da normalização da faixa de valores fornecida no Anexo A.	55
Tabela 4.2: Formulações das amostras revelantes para obtenção de uma reologia aceitável.....	56
Tabela 4.3: Formulações das amostras relevantes após a introdução de ingredientes ativos.	58
Tabela 4.4: Formulações das amostras relevantes após a introdução do conservante e do <i>Heptyl Undecylenate</i>	60
Tabela 4.5: Formulações das amostras relevantes após a introdução do novo emulsionante.	62
Tabela 4.6: Formulações das amostras relevantes após a introdução de alternativas aos silicones.	64
Tabela 4.7: Amostra 16 após a introdução de <i>Quercus fruit extract</i>	65
Tabela 4.8: Formulações das amostras na ausência e presença de manteigas vegetais.....	67
Tabela 4.9: Formulações das amostras relevantes para avaliação do efeito da quantidade de emulsionante e infusão de bolota.....	69
Tabela 4.10: Formulações das amostras relevantes após incorporação dos emolientes: <i>Isoamyl myristate</i> e óleo de jojoba (<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>).	71
Tabela 4.11: Formulações das amostras relevantes na otimização do procedimento após aumento de escala de produção.....	73
Tabela 4.12: Formulações das amostras relevantes, na otimização de diferentes condições após introdução de um novo homogeneizador.	74
Tabela 4.13: Efeito da utilização de diferentes lâminas da BAMIX na textura da emulsão.	75
Tabela 4.14: Formulações das amostras relevantes após introdução de agentes quelantes.	76
Tabela 4.15: Formulações que se apresentaram mais relevantes para definir o aroma da formulação final.	77
Tabela 4.16: Resultados da avaliação da viscosidade, homogeneidade e da estabilidade das formulações.	79
Tabela 4.17: Formulações teste (FT) com diferentes percentagens de conservante, para avaliação da estabilidade físico-química e microbiológica.	81
Tabela 4.18: Análise do nível de descamação em comparação com um produto concorrente.....	83

Tabela 4.19: Determinação experimental da cor (coordenadas L^* , a^* e b^*), os valores apresentados correspondem à média e desvio padrão.....	85
Tabela 4.20: Variações da cor das formulações FT2 e FT3 em cada semana, tendo como referência as formulações referentes ao tempo t_0	86
Tabela 4.21: Resultados de pH, viscosidade e resultados do teste de centrifugação conforme as diferentes condições de armazenamento, durante um período de 28 dias. S/A: Sem Alteração.....	87
Tabela 4.22: Resultados ciclos de congelamento/descongelamento. S/A: Sem Alteração; L/A: Ligeira Alteração; C/A: Com Alteração.	88
Tabela 4.23: Limite de aceitabilidade para cosméticos que não se destinem a crianças com menos de 3 anos ou a ser aplicado na zona dos olhos ou em membranas mucosas. ¹²⁷	89
Tabela 4.24: Resultados da análise dos cosméticos realizada imediatamente após a sua inoculação com os diferentes microrganismos (t_0).	90
Tabela 4.25: Resultados da redução logarítmica, para a formulação com uma maior quantidade de conservante (FT 2).....	90
Tabela 4.26: Resultados da redução logarítmica, para a formulação com uma menor quantidade de conservante (FT 3).....	90

Lista de Siglas e Acrónimos

Aw	Atividade da água
A/O	Água-em-Óleo
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BE	Barreira Epidérmica
BHA	Butil-hidroxianisol
BHT	Butil-hidroxitolueno
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EC	Estrato Córneo
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EEC	Ensaio de Eficácia de Conservantes
FHN	Fator de Hidratação Natural
GLA	Ácido gama-linolénico
OGM	Organismos Geneticamente Modificados
INCI	<i>International Nomenclature of Cosmetics Ingredients</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
O/A	Óleo-em-Água
PTEA	Perda Transepidérmica de Água
PCA	Pirrolidona Carboxilato
PCR	Pós Consumo Reciclado
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
PEDA	Polietileno de Alta Densidade
PEG	Polietilenoglicol
SDA	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
TSA	<i>Trypticase Soy Agar</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
UV	Ultravioleta

Capítulo 1.

Introdução

1. Introdução

1.1. Constituição da pele

A pele é muitas vezes referida como membrana cutânea, mas por definição é um órgão complexo formado por vários tipos de células, tecido epitelial, tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos, bem como os apêndices (unhas, pelos e glândulas).^{1,2} A pele é contínua com as membranas mucosas revestindo toda a superfície do corpo.³ Num adulto, representa cerca de 15% do peso corporal total.³ Além do seu principal papel de proteção, a pele também assegura muitas outras funções importantes, como a permeação, o metabolismo e a termorregulação.⁴

A pele é composta basicamente por duas camadas principais, a epiderme e a derme. Sob a derme, existe ainda outra camada, a hipoderme (Figura 1.1).¹

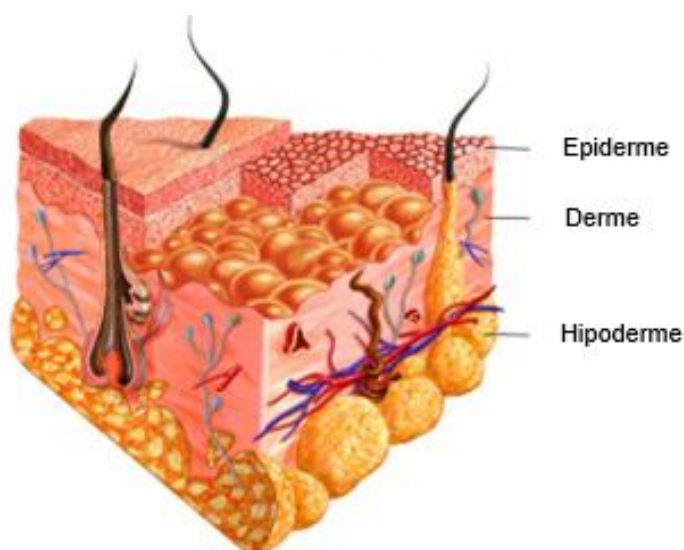


Figura 1.1: Representação da estrutura básica da pele humana.⁸ (Adaptação)

1.1.1. Epiderme

A epiderme é considerada a camada mais externa da pele, que funciona como uma camada protetora contra influências externas.¹ A sua principal função é produzir o estrato córneo, protetor e semipermeável que permite a vida terrestre (fora do meio aquático) ao funcionar como uma barreira contra a perda de água.⁵

1.1.1.1. Células da epiderme

Os queratinócitos são os tipos de células mais cruciais na epiderme, produzem uma proteína fibrosa chamada queratina, que fornece à epiderme propriedades protetoras.² Os queratinócitos, encontram-se mitoticamente ativos e ligam-se uns aos outros através de desmossomas, fixando-se à membrana basal por hemi-desmossomas, de modo a ancorar a epiderme a esta membrana.⁶ Os queratinócitos formam-se nas camadas mais inferiores (estrato basal) da epiderme por mitose e são gradualmente empurrados para o exterior em direção à superfície da pele (estrato córneo). Todo o

processo, desde o nascimento destas células até à “descamação” das células corneóцитas, possui uma duração de 3 a 4 semanas.⁴ Durante esta migração, os queratinócitos mudam a morfologia e o conteúdo celular, enchem-se de queratina, comprimem-se e acabam por morrer. Assim, a camada externa da pele é composta por células mortas e milhões de queratinócitos mortos que são excretados todos os dias.^{2,4} O objetivo desta especialização celular progressiva, é preparar os queratinócitos para a fase final de diferenciação, ou seja, a cornificação, que produz a barreira de água, o estrato córneo.⁷

A epiderme é também composta por outros tipos de células, incluindo melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Os melanócitos são responsáveis pela produção do pigmento melanina (pigmento que confere cor à pele), e a sua transferência para os queratinócitos. Os melanócitos são células dendríticas, e extensões destas células (melanossomos) entram em contato com os queratinócitos, sem formar junções celulares. As partículas de melanina agrupam-se e absorvem os raios ultravioletas (UV) quando passam para camadas superiores da epiderme, acabando assim por formar uma capa protetora sobre os queratinócitos. O aumento da exposição à luz ultravioleta, estimula um aumento na melanogénese e um aumento correspondente na transferência dos melanossomos para os queratinócitos.^{1,3}

As células de Langerhans constituem cerca de 2-4% do total de células na epiderme. São células em forma de estrela com longos “tentáculos” que se estendem em redor dos queratinócitos vizinhos e desempenham um papel importante no sistema imunológico do corpo. Por meio de recetores especializados na membrana celular, as células de Langerhans reconhecem as moléculas invasoras, transmitem a informação ao sistema linfático, e o corpo é capaz de construir uma resposta imunológica defensiva ao material estranho. Por último, as células de Merkel tendem a ficar perto das terminações nervosas sensoriais no estrato basal, que funcionam como recetores de toque.^{1,8,9}

1.1.1.2. Estratos constituintes da Epiderme

A epiderme corresponde à parte superior da pele que é continuamente renovada. Encontra-se organizada em quatro ou cinco camadas, conhecidas por estratos. O caráter das células dentro de cada um desses estratos é bastante distinto (Figura 1.2).^{1,10}

A camada epidérmica mais profunda é o estrato basal. Este estrato encontra-se unido à derme e é constituído essencialmente por uma única fila de células, em constante divisão celular. À medida que novas células se formam, as mais antigas são empurradas para a superfície da pele. Não existe irrigação sanguínea direta para a epiderme, de modo que todos os nutrientes que alimentam as células derivam da derme. As células da camada basal, são as únicas a receber “nutrição”, à medida que as células se movem para longe dessa camada, elas começam a “morrer”. Algumas células basais, são compostas pelos melanócitos e por células Merkel, encontradas em abundância em áreas como os lábios e as pontas dos dedos.

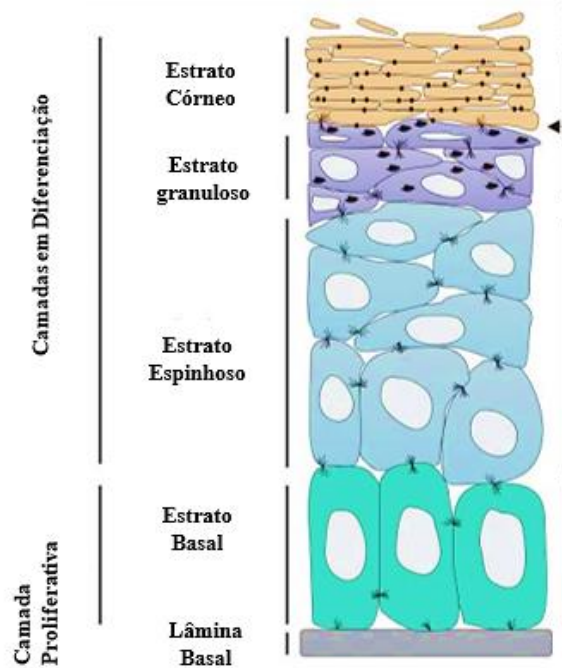


Figura 1.2: Estrutura geral da Epiderme.¹⁰ (Adaptação)

O estrato espinhoso é formado por várias camadas de queratinócitos provenientes do estrato basal, com grânulos dispersos de melanina e células de Langerhan, sendo esta camada responsável pela proteção contra possíveis organismos estranhos e por produzir e reter a humidade.^{1,2,8}

O estrato granuloso consiste em três a cinco camadas de queratinócitos comprimidos que começam a morrer e acabam por perder o núcleo. Conforme já referido, as células morrem porque encontram-se muito longe dos capilares dérmicos e não conseguem obter nutrientes. À medida que se vão movendo mais para cima, em direção à camada superior da pele, as células do estrato granuloso, começam a tornar-se achatadas. Nesta camada, os queratinócitos produzem corpos lamelares (grânulos), que liberam lípidos e proteínas no espaço intercelular. Estes compostos, criam um envelope lipídico hidrofóbico, que cria a função de barreira da pele. A proteína filagrina é, também, produzida pelas células do estrato granuloso.^{1,2,8}

O estrato córneo, representa a camada mais externa da pele. Este estrato diferencia-se por ser constituído por células anucleadas e não viáveis, conhecidas por corneócitos.¹¹ A integridade do estrato córneo depende da coesão proporcionada por estruturas de proteínas intercelulares especializadas denominadas de desmossomas. No entanto, no estrato córneo essas estruturas são modificadas especificamente e passam a ser denominadas de corneodesmossomas.⁷ Assim, os componentes mais importantes que contribuem para a coesão intercelular dos corneócitos são os corneodesmossomas e os lípidios. Estruturalmente, o estrato córneo pode ser comparado a uma parede de tijolos, que consistem nos corneócitos mortos, cheios de queratina e fortemente compactados, unidos por uma argamassa, que consiste no material lipídico complexo no qual os corneócitos se encontram incorporados. A matriz lipídica dos corneócitos, é disposta em múltiplas camadas formando as lamelas lipídicas (Figura 1.3).^{7,12}

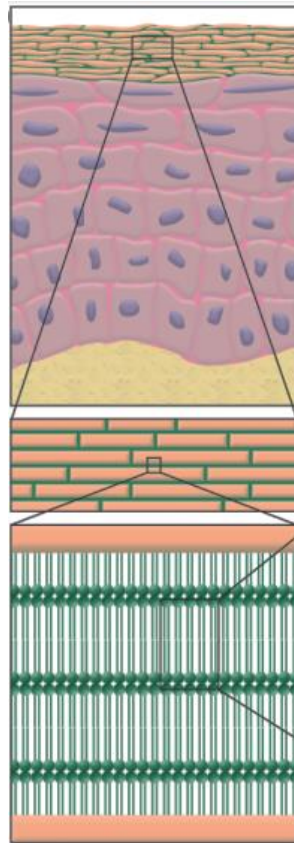


Figura 1.3: Organização lipídica do estrato córneo.¹²

A organização dos corneócitos e dos lipídios, permite que a pele resista à perda transepidérmica de água (PTEA), que descreve a quantidade total de água perdida pela pele por difusão passiva através da epiderme, e evita que entidades microbianas e químicas estranhas entrem no corpo.^{1,4} A membrana lipídica lamelar intercelular, impermeabiliza a epiderme, evita a desidratação e fornece permeabilidade à humidade necessária ao EC.

Os corneócitos, além da queratina, possuem uma mistura de compostos higroscópicos, capazes de ligar uma quantidade substancial de água, e coletivamente referidos como o fator de hidratação natural (FHN), que constituem cerca de 10% do peso seco destas células.^{1,7} Conforme já referido, à medida que os queratinócitos se movem para o estrato córneo (onde se tornam corneócitos), eles produzem as proteínas filagrina e queratina. Se o teor de água da pele for reduzido, a filagrina é decomposta em compostos higroscópicos (FHN), para controlar a pressão osmótica da célula.⁸ A pele deve retardar a ativação deste processo, até que o corneócito se tenha fortalecido e a célula tenha migrado para as regiões mais externas do estrato córneo. O controlo deste processo enzimático final, garante que o FHN seja produzido quando e onde for necessário para manter a flexibilidade do tecido e a atividade das enzimas descamativas, sem causar dano tecidual. A conversão de filagrina em FHN ocorre apenas dentro de uma faixa estreita de atividade de água (A_w) entre 0,7 e 0,95.⁷

Para que ocorra a descamação efetiva, os corneodesmossomas devem ser degradados, um processo catalisado por serina-proteases, presentes no espaço intercelular e facilitado por mudanças na composição lipídica. As forças coesivas que mantêm os corneócitos juntos, são progressivamente degradadas, para permitir o desprendimento das células na superfície da pele. A disponibilidade de água é que controla a corneodesmólise. Assim, a manutenção do teor de água do estrato córneo, é essencial, não apenas para as propriedades mecânicas do tecido, mas também é vital para reações enzimáticas específicas, que facilitam a descamação normal e ordenada. Os processos enzimáticos, são dependentes da capacidade do tecido conseguir reter a água contra a ação de dessecação do meio ambiente, qualidade dependente da integridade dos lípidos da barreira intercelular e da produção normal de FHN dentro do EC.⁷

1.1.2.Derme

A derme encontra-se abaixo da epiderme e funciona como um sistema integrado de tecido conjuntivo fibroso, filamentosos e amorfo, que acomoda apêndices derivados da epiderme, como fibroblastos, macrófagos e mastócitos. A derme serve de estrutura de suporte para a epiderme, fornecendo nutrientes e oxigênio através dos capilares sanguíneos. Ao contrário da epiderme, a derme não sofre uma sequência óbvia de diferenciação, mas a sua estrutura e organização dos componentes do tecido conjuntivo são previsíveis de maneira dependente da profundidade.^{3,9}

A derme fornece à pele, firmeza e flexibilidade e ajuda o corpo a manter a temperatura. Esta camada contém nervos, tornando-se responsável pelas sensações de toque, dor, calor ou frio.^{8,9} Dentro e associados a essa matriz estão dois tipos de fibras: as fibras de colagénio, que possuem grande resistência e conferem à pele a sua força, e a elastina, que é responsável pela elasticidade da pele. Caso estas fibras sejam danificadas, a pele fica com uma aparência solta, fina e enrugada. Além disso, o colagénio desempenha um papel muito importante na cicatrização de feridas.¹ Os componentes da derme sofrem rotatividade e remodelação na pele normal, em caso de processos patológicos e em resposta a estímulos externos.³

1.1.3.Hipoderme

Abaixo da derme encontra-se uma camada responsável pela reserva de gordura, designada como "subcutânea" ou hipoderme. A hipoderme é constituída principalmente por adipócitos com grande quantidade de triacilgliceróis, histiócitos e mastócitos. A inervação e vascularização deste tecido, variam de acordo com os locais anatómicos. Esta camada da pele oferece proteção contra o frio e permite o amortecimento para proteção dos órgãos vitais, contra possíveis traumas. Além disso, a gordura serve como um depósito de energia para o corpo e define os seus contornos.^{1,4,13}

1.2. Funções e mecanismos da barreira epidérmica (BE)

De um modo geral, toda a epiderme contribui para estabelecer a BE, no entanto, as principais atividades de manutenção e reparação da barreira ocorrem dentro do EC. A barreira epidérmica possui diversas funções, como a manutenção do teor de água, prevenção e respostas à invasão por microrganismos e antigénios, redução dos efeitos da exposição à radiação UV e minimização dos efeitos do stress oxidativo.¹⁴

1.2.1. Fator de Hidratação Natural

O FHN desempenha um papel essencial na manutenção da hidratação da BE, funciona como humectante natural, permitindo que as camadas mais externas do estrato córneo retenham água, prevenindo, assim, a ação de dessecação do ambiente.^{1,4}

Os fatores de hidratação natural são solúveis em água, e por isso, podem ser removidos por lavagem, se não forem protegidos pelo envelope lipídico cornificado que consiste numa rede proteica e lipídica. Caso o FHN seja perdido dos corneócitos, a pele fica seca e escamosa. Na pele saudável, o EC é impenetrável a corpos estranhos e a perda de água é evitada ao máximo. Assim, quando a pele se desidrata, os corneócitos encolhem (Figura 1.4), causando danos entre eles, permitindo a penetração de organismos externos, que desencadeiam uma resposta inflamatória local, além de outros danos à pele.¹

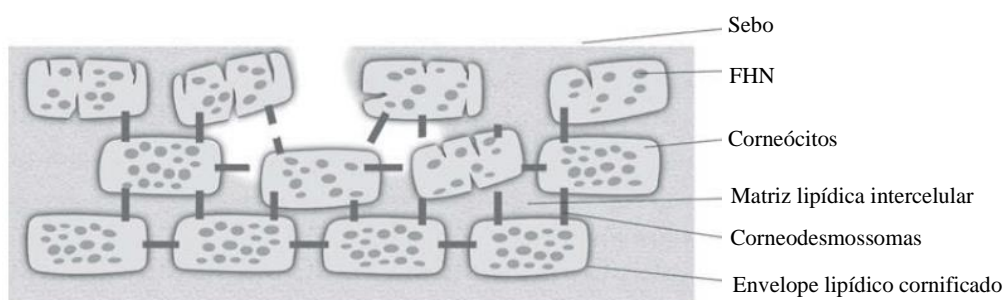


Figura 1.4: Estrutura do estrato córneo danificado.¹ (Adaptação)

1.2.2. Lípidos do estrato córneo

Os lípidos do estrato córneo desempenham um papel muito importante na manutenção da hidratação da pele, são compostos por aproximadamente 40% a 50% de ceramidas, 20% a 25% de colesterol, 15% a 25% de ácidos gordos e 5% a 10% de sulfato de colesterol. Todos estes lípidos são sintetizados pelos queratinócitos da epiderme e armazenados nas vesículas secretoras dos corpos lamelares ou na membrana plasmática das células, aguardando mobilização para formar as lamelas lipídicas durante a cornificação. Além disso, a síntese de cada um dos lípidos é necessária para a homeostase normal da BE.^{4,7,15}

Importa referir que, alterações na composição dos lípidos do estrato córneo, influenciam muito a perda da ordem lamelar, potenciando, também, sintomas de doenças inflamatórias da pele como é o

caso da dermatite atópica.^{4,16} As lamelas lipídicas altamente organizadas que circundam os corneócitos são um elemento estrutural essencial, projetado para reter a água dentro do estrato córneo. Cada ceramida contribui de forma específica para a organização e coesão do estrato córneo e para a integridade da barreira. Deste modo, os lípidos do estrato córneo, desempenham, assim, um papel essencial na estruturação e manutenção da função de barreira de permeabilidade à água na pele.^{4,7,8}

1.3. Influência do pH na pele

A pele humana possui um pH ácido, variando entre os valores de 4 a 6, enquanto que o interior do corpo mantém um pH quase neutro. Existe, assim, um gradiente de pH entre o EC pertencente à epiderme e a derme subjacente. Inicialmente, pensava-se que esta diferença de pH servia como um mecanismo de defesa contra organismos invasores. No entanto, atualmente, sabe-se que é mais do que isso, existem várias enzimas envolvidas na síntese e manutenção da barreira cutânea que são muito afetadas pelo pH. Assim, o estrato córneo revela-se uma estrutura dinâmica na qual muitas reações enzimáticas são cuidadosamente reguladas, de forma, a garantir a sua plena funcionalidade.⁷

O pH do EC e o pH da pele, não só influenciam a homeostase da barreira, mas também afetam a integridade, coesão e descamação do EC. Foi demonstrado, que o pH elevado é responsável pelo aumento da atividade de serina-proteases, que estão envolvidas na descamação e degradação de corneodeossomas, como referido anteriormente. Na pele dos idosos observou-se um aumento do pH e uma redução da capacidade de tamponamento. A homeostase, apresenta um papel muito importante na permeabilidade da barreira, esta só se encontra em condições quando confere à pele a capacidade de resistir a insultos externos e reter a hidratação.¹⁷ A formação da membrana lipídica intercelular entre os corneócitos e sua relação direta com o estabelecimento de um gradiente de água adequado, fornecem a base para um ótimo funcionamento enzimático e estabelecimento do pH ácido adequado dentro do EC.¹⁴

A pele humana é continuamente habitada por muitas bactérias e fungos diferentes. Esta flora normal da pele apresenta um crescimento ótimo a pH ácido, enquanto que, pelo contrário, as bactérias patogénicas, desenvolvem-se melhor a valores de pH neutros.^{1,17} Caso a flora residente seja perturbada, os microrganismos patogénicos podem colonizar, proliferar e produzir doenças. O pH da pele influencia vários parâmetros, incluindo a homeostase da barreira, integridade do EC e coesão, bem como os mecanismos de defesa bacteriana. O aumento do pH leva à redução da descamação, a pele fica seca e escamosa, fornecendo o ambiente ideal para o crescimento de bactérias patogénicas. É essencial, portanto, manter o pH ácido da pele.¹

1.4.Tipos de peles

Os tipos de pele possuem várias classificações, mas o mais usual é diferenciar entre pele normal, oleosa, seca e sensível. Deve-se referenciar que o tipo de pele de uma pessoa não é constante, ou seja, pode mudar com o tempo, por influência de vários fatores internos, como estado de hidratação, teor de lipídios, pH, capacidade de ligação à humidade, bem como alguns fatores externos, como luz UV, vento, temperatura e humidade. Esta classificação é frequentemente utilizada na seleção de cosméticos.¹

1.4.1.Pele normal

A pele normal é considerada equilibrada, possui poros finos, é suave e o sangue é bem suprimido. Além disso, não possui ou tem apenas algumas imperfeições, sem sensibilidade severa e uma aparência radiante.^{1,4} Na pele normal, o processo de descamação é cuidadosamente controlado para assegurar a coesão e integridade do EC e, portanto, que a espessura do tecido seja mantida.⁷

1.4.2.Pele seca

A maioria das pessoas sofre de pele seca de tempos em tempos, devido a vários fatores ambientais, como humidade relativa baixa, clima frio e luz solar, além do contato repetido com água, tensoativos e inúmeras doenças de pele ou deficiências nutricionais. Pode ser caracterizada como escamosa e áspera, o que pode levar a sintomas de comichão. Além disso, geralmente surgem manchas vermelhas e pode possuir menos elasticidade.^{1,4} Além de fatores externos, as condições de pele seca, também poderão advir da degradação dos corneodesmossomas, levando à formação de partículas escamosas visíveis na superfície da pele. A não degradação dessas estruturas reflete, a diminuição da atividade hidrolítica das enzimas.⁷

1.4.3.Pele oleosa

A pele oleosa é comum, afetando homens e mulheres, começa pouco antes da puberdade. A oleosidade é uma característica deste tipo de pele, revelando-se mais visível na testa, nariz e queixo, contribuindo a maior parte das vezes para o desenvolvimento de acne.^{4,18} Existem vários fatores que podem contribuir para a pele oleosa, incluindo herança genética, alterações hormonais, dieta, stresse e agentes externos (como cosméticos, produtos químicos, luz UV). A pele oleosa resulta de uma hiperatividade das glândulas sebáceas levando a uma produção excessiva de sebo transbordando na pele, dando-lhe uma aparência oleosa e brilhante característica.⁴

1.4.4.Pele sensível

O maior desafio de tratamento para o dermatologista é a pele sensível, pode apresentar alterações externas visíveis, facilmente reconhecidas pelo dermatologista, ou sinais invisíveis com sintomas marcantes.¹⁹

A pele sensível é uma condição dermatológica complexa, definida por sintomas sensoriais anormais, por exemplo, formigamento, fricção, queimaduras, e associa-se também a dor ou prurido por vários produtos químicos (por exemplo, cosméticos e detergentes), fatores físicos (por exemplo, luz UV,

calor, frio e vento), microrganismos, fatores psicológicos e hormonas. Acredita-se, que seja um tipo de pele específico, semelhante à pele oleosa ou seca. No entanto, é mais uma condição, uma vez que as peles normal, oleosa, seca e mista, também podem ser sensíveis a vários fatores.²⁰

A pele sensível é uma condição de hiper-reatividade cutânea, em que ocorre uma alteração da barreira cutânea, permitindo que potenciais irritantes e microrganismos penetrem na pele e gerem uma reação inflamatória.¹ As substâncias conhecidas por desencadear uma resposta de irritação na pele sensível incluem o ácido benzoico, o ácido cinâmico, o lauril sulfato de sódio, o ácido láctico, o propilenoglicol, a ureia e o ácido sórbico. Assim, é importante, que os produtos cosméticos da pele sejam avaliados clinicamente sob condições normais de uso e na população alvo a que se destinam, antes da aprovação para uso.²⁰ As três causas mais comuns de pele sensível facial induzida por defeito da barreira epidérmica, são eczema, dermatite atópica e rosácea. Estas três doenças ilustram bem os três componentes da pele sensível, que incluem rutura da barreira, hiper-reatividade imunológica e resposta neurossensorial aumentada.¹⁹

1.5.Características de uma emulsão hidratante

Os cremes são os sistemas mais utilizados como hidratantes. O tratamento com uma emulsão hidratante visa manter a integridade da pele e o bem-estar, proporcionando uma aparência saudável. Os consumidores recorrem a emulsões hidratantes, principalmente quando sentem uma impressão de secura, assim como mudanças visíveis de ressecamento na pele, dando origem a uma pele desconfortável, dolorosa, assim como possíveis picadas e prurido. Os consumidores também procuram este tipo de cosmético com o objetivo de manter o bom estado da pele, para efetuar mudanças na aparência da pele, proteção e para correção do odor corporal.^{21,22}

Um hidratante de qualidade deve apresentar as seguintes características: deve ser fácil de espalhar; possuir uma sensação agradável durante a aplicação; não deve deixar a pele oleosa após aplicação; não deve ser comedogénico e deve ser bem tolerado na pele (não alergénico).¹ Contudo, o objetivo de uma emulsão hidratante, passa principalmente por alterar a função da barreira e o estado de hidratação da pele, fornecendo alguma forma de barreira temporária, dando tempo para o reparo do EC danificado. Após a aplicação de uma emulsão hidratante, o teor de água no EC é aumentado, devido ao preenchimento dos espaços da pele parcialmente descamados. De forma que a pele fica, assim, menos suscetível a ataques por substâncias nocivas e impede o desenvolvimento de doenças, como o eczema.^{21,23-25}

Os hidratantes são recomendados para uso em pele normal para prevenir o aparecimento da secura.²¹ Estes produtos, fornecem uma camada oclusiva na superfície da pele com o objetivo de reduzir a PTEA, aumentar a hidratação da pele e promover a recuperação da barreira da pele danificada.¹⁶ Os hidratantes, também, atuam de forma a reduzir o atrito da pele, fornecendo água diretamente à pele, a

partir da fase aquosa e aumentando a oclusão.²⁶ Como referido anteriormente, o contato repetitivo e excessivo com produtos de limpeza de pele contendo tensioativos agressivos, ou com baixas temperaturas, vento e ar húmido, pode tornar-se muito ressecante e irritante para a pele. Desta forma, os ingredientes utilizados neste tipo de produtos, fornecem os FHNs perdidos dos corneócitos, reabastecem a pele com lipídios intercelulares e formam uma camada protetora sobre a pele.¹

1.5.1. Certificações requeridas para o desenvolvimento de uma emulsão biológica

O interesse por produtos sustentáveis, tem aumentado ano após ano. Todo o processo desde a escolha dos produtos até à produção, possui um grande impacto sobre o meio ambiente. Detetou-se em água residual e potável, produtos químicos sintéticos, devido ao consumo excessivo destes produtos, principalmente nos produtos cosméticos. Os tensioativos, são um dos ingredientes com maior impacto ambiental, em consequência das quantidades utilizadas. A crescente consciencialização dos consumidores sobre os perigos das substâncias químicas sintéticas faz, também, cada vez mais as pessoas optarem por um estilo de vida mais saudável e por eleger produtos biológicos, para a sua higiene pessoal.^{4,27-29}

Em Portugal, a INFARMED é a entidade reguladora dos setores dos medicamentos e produtos de saúde nomeadamente cosméticos. Independentemente, de se tratar de um cosmético “convencional” ou de um cosmético biológico, por cada produto que entra no mercado, o responsável tem de garantir o cumprimento do Regulamento (CE) n.º 1223/2009, que zela por garantir que o produto em causa não apresenta risco para a saúde do consumidor.³⁰

Na cosmética biológica não existem regulamentações específicas, as certificações independentes são a única forma de assegurar ao consumidor final a integridade do produto e pureza de todo o processo de transformação, da matéria-prima até à formulação final do produto, incluindo a forma como são obtidos os extratos dos ingredientes biológicos, à manipulação e conservação do produto. Não são permitidos produtos de síntese considerados nocivos, como por exemplo alguns parabens, o fenoxietanol e o lauril sulfato de sódio.³¹

A pesquisa, o desenvolvimento e a produção de cosméticos biológicos são sustentados pelo nascimento de uma variedade de rótulos de certificação, que ajudam o consumidor a encontrar o caminho que indica os processos orgânicos de produção.³² Existem diversas organizações privadas que desenvolveram programas de certificação, que é, assim, coberta de maneiras diferentes de acordo com o padrão eligido.⁴

No mercado, existem padrões que são específicos para produtos biológicos (USDA-NOP, NSF305, OASIS). Outros são específicos para produtos biológicos e naturais (COSMOS, NATRUE, UNITIS). Em 2002, cinco principais certificadoras europeias (BDIH (Alemanha), Cosmebio (França), Ecocert (França), Greenlife SAS (França), ICEA (Itália) e Soil Association (Grã-Bretanha)), envolvidas

em normas de cosméticos biológicos e naturais concordaram em cooperar no desenvolvimento de um padrão único e harmonizado, o padrão COSMOS (Figura 1.5).³³⁻³⁵



Figura 1.5: Etiquetas representativas do padrão COSMOS.³⁶

O padrão COSMOS segue os seguintes princípios, respeitando sempre a biodiversidade e o meio ambiente:^{33,34}

- Utilização de produtos provenientes da agricultura biológica;
- Utilização dos recursos naturais de forma responsável;
- Processamento e fabricação, limpos e que respeitem a saúde humana e o meio ambiente;
- Integração e desenvolvimento do conceito de "Química Verde".

A origem e processamento de ingredientes, descreve cinco categorias, os seus requisitos de origem e como eles podem ou não ser tratados, encontra-se representado na Figura 1.6.³³

Água
"Obedecer a padrões higiénicos".
Minerais e ingredientes de origem mineral
"Devem ser de origem natural ou podem ser modificados com reações químicas simples".
Agro-ingredientes processados fisicamente
"Podem ser de origem vegetal, animal ou microbiana, mas são proibidos Organismos Geneticamente Modificados (OGM), espécies criticamente ameaçadas e apenas se podem utilizar produtos derivados de animais (que não fazem parte deste)."
Agro-ingredientes quimicamente processados
"Os processamentos químicos devem respeitar os princípios da Química Verde, ingredientes que obedeçam a limitações rigorosas de toxicidade e biodegradabilidade".
Outros ingredientes
"Exceções de conservantes, alguns ingredientes derivados da petroquímica podem ser temporariamente permitidos".

Figura 1.6: Categorias dos ingredientes de certificação COSMOS.³³

A norma COSMOS abrange dois níveis para os produtos finais, os produtos cosméticos sob certificação biológica e os produtos cosméticos sob certificação natural. A certificação “*COSMOS ORGANIC*”, exige que 95% ou mais dos agro-ingredientes fisicamente processados da formulação sejam biológicos, com certificado de extração ou matérias-primas que sigam padrões rígidos de produção, extração, purificação e processamento. As matérias-primas e extração devem ser obtidas através de culturas certificadas, sendo fundamental que sejam biodegradáveis e que preservem as características químicas mais naturais. Desta forma, o produto final deverá possuir no mínimo, 20% de ingredientes biológicos e 10% de minerais para obter a certificação biológica segundo a norma COSMOS.^{27,28,34}

No entanto, na indústria cosmética biológica além das exigências das certificadoras de cosmética biológica, surgem também mais complicações ao formular. Os ingredientes sintéticos, de certa forma, são desenvolvidos para eliminar limitações associadas aos ingredientes naturais. Exemplos dessas limitações podem ser os fenômenos de cristalização, formação de cores indesejadas e incompatibilidades entre ingredientes.³⁷ O principal desafio no desenvolvimento de formulações naturais passa por alcançar perfis sensoriais agradáveis, compatibilidade com sistema de conservação aceites numa ampla faixa de pH, boa estabilidade de armazenamento e custos razoáveis com uma seleção limitada de matérias-primas aceitáveis.³⁸

Os consumidores de cosmética biológica dão especial importância à composição, origem e benefícios dos ingredientes constituintes do produto. Procuram produtos que sejam seguros para sua saúde, livres de produtos químicos agressivos. De facto, cada vez surgem mais alergias e irritações na pele devido ao uso de conservantes sintéticos, corantes e estabilizadores, que ainda não foram totalmente testados a longo prazo, pelas suas consequências na saúde dos consumidores. Os consumidores estão cada vez mais, a procurar produtos mais naturais, tendo como principal motivação a proteção da saúde, mas sendo também motivados pela proteção do meio ambiente.^{39,40}

1.5.2. Constituição de uma emulsão hidratante biológica

Os cosméticos biológicos, precisam de conter matérias-primas de origem biológica, não podendo possuir matérias-primas sintéticas ou semi-sintéticas nas formulações, a não ser algumas exceções. No entanto, podem possuir matérias-primas derivadas de produtos naturais, com processos permitidos.^{28,34}

Uma emulsão cosmética, possui padrões estéticos para completar, como a textura, consistência, aplicabilidade, cor e fragrância. Cada vez mais os consumidores procuram emulsões hidratantes de rápida absorção, que não deixem uma sensação pegajosa ou oleosa na pele. Assim, formular tendo em conta todos estes padrões torna-se complexo, consistindo em vários componentes. Cada ingrediente

desempenha um papel nas propriedades da emulsão, tornando importante o entendimento das suas propriedades individuais, bem como as possíveis interações entre ingredientes.^{41,42}

1.5.2.1. Emulsionante

Uma emulsão consiste numa dispersão de um líquido em outro líquido imiscível, um dos quais é disperso no outro na forma de gotículas. Esta junção torna-se possível, devido à presença de um composto anfifílico, denominado por emulsionante, tanto possui afinidade para a fase aquosa como para a fase oleosa. A adição deste composto à mistura, permite que as gotículas permaneçam estáveis retardando a separação de fases.^{37,43} Um emulsionante, é assim, considerado um agente ativo de superfície, podendo acumular-se em diferentes interfaces e diminuir a tensão superficial presente entre ambas as fases.⁴⁴ Sendo que posteriormente, é necessário inserir energia na forma de agitação, com intuito de provocar a fragmentação de gotículas grandes em pequenas partículas com uma restrita distribuição de tamanho. A energia inserida na mistura de ambas as fases, afeta as características e a estabilidade do sistema emulsificado.⁴⁵

As emulsões constituídas por um óleo disperso numa solução aquosa são designadas pelo símbolo “O/A” (óleo-em-água) e as emulsões constituídas de gotículas aquosas dispersas num óleo são designadas por “A/O” (água-em-óleo).³⁷ No caso de uma emulsão O/A, as moléculas de emulsionante revestem a superfície das gotículas de óleo, tornando-as mais miscíveis com a água e impedindo que flutuem para a superfície (Figura 1.7), organizam-se com as caudas hidrofóbicas na fase do óleo (interna) e as cabeças hidrofílicas na fase da água (externa).¹

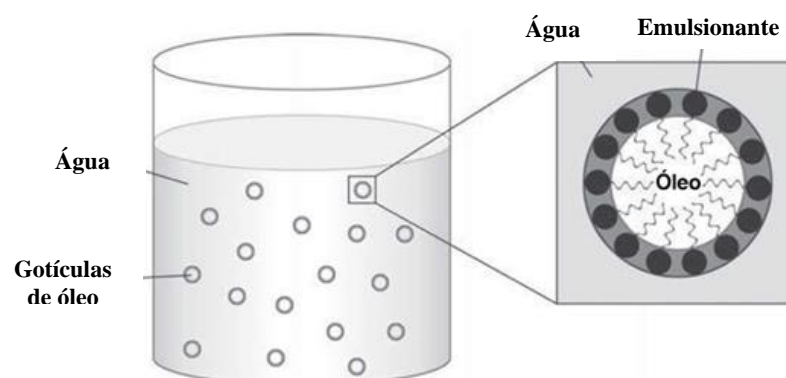


Figura 1.7: Emulsão óleo-em-água (O/A) consistindo numa fase oleosa, fase aquosa e moléculas de emulsionante em torno das gotículas de óleo.¹ (Adaptação)

As emulsões O/A são as mais comumente formuladas. Este tipo de emulsão tende a fornecer uma sensação menos oleosa à pele, e além disso, possui um menor custo de formulação por possuir maior quantidade de água.¹

Em geral, assume-se que todas as emulsões são termodinamicamente instáveis, mas no entanto sofrem instabilidades diferentes (Figura 1.8), como é o caso da formação de creme, sedimentação,

floculação, coalescência, maturação de *Ostwald* e inversão de fases.⁴⁶ Por vezes, estes mecanismos de instabilidade podem-se inter-relacionar e podem ser considerados reversíveis ou irreversíveis. Na separação gravitacional as gotículas movem-se para cima (formação de creme), porque possuem uma densidade menor que o líquido da fase externa, ou para baixo (sedimentação) porque possuem uma densidade maior do que o líquido circundante. Tanto o processo de formação de creme como a sedimentação, são reversíveis pela agitação. A floculação é o processo pelo qual duas ou mais gotículas juntam-se para formar um agregado, no qual cada uma das gotículas iniciais mantém a integridade individual. A coalescência ocorre quando, duas ou mais gotículas se fundem para formar uma única gotícula maior. O amadurecimento de *Ostwald* é o processo pelo qual as gotículas maiores crescem à custa de gotículas menores. Já a inversão de fases, ocorre quando uma emulsão de O/A altera-se para uma emulsão de A/O, ou vice-versa.^{1,46,47}

A origem destes fenómenos, pode dever-se ao tamanho médio das partículas e à distribuição das mesmas, ao estado de agregação das gotículas, ao pH, à entrada de energia durante a emulsificação, à pressão osmótica, à viscosidade e à presença de aditivos.⁴⁶

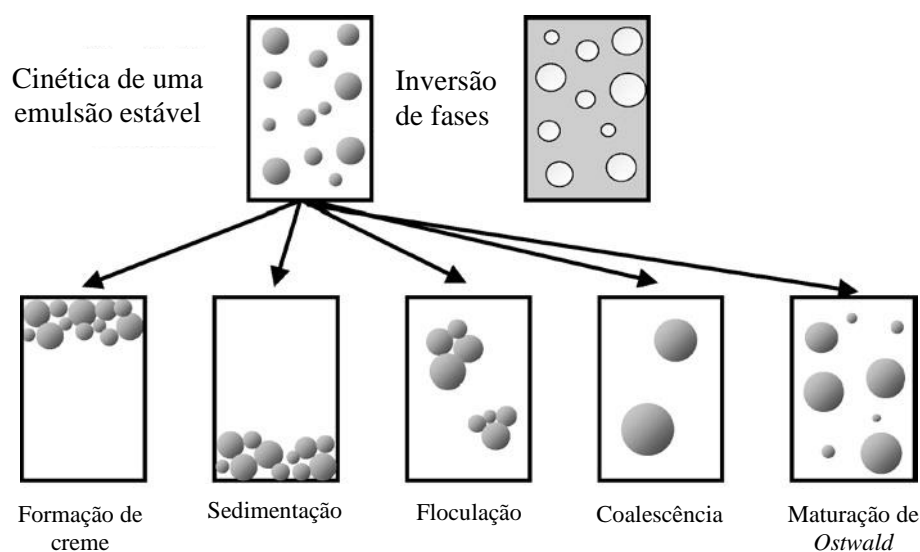


Figura 1.8: Mecanismos de instabilidade mais comuns, presentes nas emulsões.⁴⁷ (Adaptação)

Os agentes emulsionantes mais utilizados são iónicos (aniónicos ou catiónicos) ou não iónicos. Dentro destes dois, os não iónicos produzem um efeito menos irritante para a pele.²¹ Nem todos os emulsionantes agem da mesma forma. Na realidade, estes compostos, possuem propriedades diferentes que determinam o tipo de emulsão que estabelecem, devido à sua estrutura química única.^{1,37} Cada vez mais, estão a realizar-se estudos para encontrar novos grupos de compostos que possam substituir os agentes ativos de superfície produzidos por síntese química, devido à sua elevada toxicidade ambiental e dificuldade de degradação no meio ambiente. Os emulsionantes sintéticos são produzidos por reações químicas, a partir de recursos não renováveis, principalmente do petróleo, gás natural ou carvão,

enquanto que na produção dos emulsionantes naturais nenhuma síntese orgânica deve estar envolvida em nenhuma etapa do processo sendo sintetizados a partir de substratos naturais, como óleos vegetais, gorduras animais, açúcares e proteínas. Entre os emulsionantes naturais existentes, os que são baseados em açúcares apresentam ser uma alternativa potencial a agentes ativos de superfície, uma vez que são produzidos a partir de materiais renováveis. A sua origem natural faz com que sejam ecologicamente corretos, biodegradáveis e não agressivos para o consumidor.⁴⁴

Emulsionantes com certificação COSMOS:

INCI: *Polyglyceryl-3 Distearate; Glyceryl Stearate Citrate*

Emulsionante não iônico, isento de polietilenoglicol (PEG), totalmente baseado em matérias-primas renováveis, que possui a capacidade de formar cremes e loções O/A estáveis, sem necessidade de espessantes. Este emulsionante pode aumentar a viscosidade de uma emulsão cosmética, formando estruturas lamelares, juntamente com intensificadores de consistência. Apresenta-se adequado para formular com todos os tipos de óleos, a um pH compreendido entre 3,5 a 8,5.⁴⁸

INCI: *Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearate*

Emulsionante não iônico, isento de PEG, baseado em matérias-primas naturais renováveis. Este emulsionante é adequado para a formulação de cremes e loções O/A, permite a formação de emulsões estáveis a um pH compreendido entre 4,5 a 8,5, tendo já sido confirmada a sua alta compatibilidade com eletrólitos e o efeito de suavidade que deixa na pele.^{49,50}

INCI: *Cetearyl Alcohol*

O álcool cetearílico, é um derivado de matérias-primas de origem vegetal, de fontes renováveis. Este álcool apresenta propriedades emolientes, emulsionantes e, principalmente de consistência em produtos cosméticos. O álcool cetearílico aumenta a viscosidade e confere “corpo” às emulsões, atuando, principalmente, como um co-emulsionante, diminuindo assim a quantidade de tensoativo necessária para formar uma emulsão estável.⁵¹

1.5.2.2. Agentes espessantes

Os agentes espessantes, oferecem a possibilidade de alterar a viscosidade de um produto, mas também de melhorar as propriedades reológicas de estabilidade e a sensação ao aplicar na pele.^{1,52} A sua principal função é ajudar a manter a estabilidade e o prazo de validade das emulsões, ou, mais simplesmente, manter o produto estável, evitando a sua separação.⁵² Os espessantes funcionam, assim, através da ligação à água por absorção, inchaço ou repulsão eletrostática. Geralmente, recomenda-se o uso de combinações de espessantes que funcionam por mecanismos diferentes, a fim de atingir a eficiência de espessamento.⁵³

Os espessantes naturais mais utilizados, são coloides hidrofílicos, conhecidos por gomas, que formam dispersões com a água, aumentam a viscosidade da fase contínua e aumentam a hidratação da

camada ao redor da partícula suspensa através da ligação de hidrogênio e interação molecular. As gomas estabilizam as emulsões de O/A, formando uma forte película multi-molecular em redor de cada gotícula de óleo, retardando assim a coalescência por barreira hidrofílica entre as fases.⁵⁴

Espessantes autorizados pela norma COSMOS:

INCI: *Xanthan Gum*

Esta goma é um polissacarídeo totalmente natural, produzido pelas bactérias *Xanthomonas campestris*, através da fermentação da glucose.⁵⁵ É a goma mais popular nas indústrias cosméticas, possuindo propriedades sinérgicas em mistura com outros hidrocolóides. A goma xantana permite que a viscosidade das emulsões, permaneça quase constante quando se altera a temperatura de formulação.⁵⁶

INCI: *Acacia Senegal Gum; Xanthan Gum*

Este tipo de espessante é obtido usando um processo de fabricação sustentável, no qual a goma acácia reveste a goma xantana. As proporções de ambas as gomas foram otimizadas para um excelente equilíbrio entre desempenho e textura. Este polímero estabilizador de espessamento natural, dissolve-se rapidamente em água para produzir géis aquosos, não aderentes e não pegajosos, fornecendo uma sensação de pele macia, não-pegajosa e sensação de hidratação.⁵⁷

1.5.2.3. **Emolientes**

Os emolientes são uma das classes mais importantes de ingredientes utilizados nas formulações de cuidados pessoais. Para além dos seus efeitos hidratantes e protetores, também, são particularmente utilizados para ajustar a consistência e a sensação na pele das fórmulas cosméticas.⁵⁸ Os emolientes diminuem o coeficiente de atrito das emulsões, devido às suas propriedades lubrificantes, conseguem assim melhorar o desempenho de espalhamento, sendo esta uma das características sensoriais mais avaliadas durante a aplicação de uma emulsão, pelos consumidores.⁵⁹ Os cremes contêm emolientes para preencherem os espaços vazios entre os corneócitos e substituírem os lipídios intercelulares perdidos do EC, neste contexto fornecem à pele uma aparência mais lisa, mais elástica e lubrificada, além de conferir uma sensação de conforto agradável.⁶⁰ Estes ingredientes conseguem corrigir a disfunção da barreira da pele, devido à capacidade de permanecerem na superfície prevenindo o ressecamento e impedindo a penetração de alergénios na epiderme.^{42,61}

O termo emoliente refere-se a uma grande gama de substâncias que se diferenciam de acordo com a estrutura química, entre elas destacam-se os ésteres, os silicones, os óleos vegetais, os álcoois gordos, os óleos minerais e os hidrocarbonetos sintéticos. Cada grupo fornece uma ampla gama de propriedades sensoriais, físico-químicas e funcionais. Dependendo da família emoliente, essas variações estruturais podem ser relativas ao comprimento da cadeia, ao grau de polimerização, à presença de ramificação ou de estrutura cíclica, ao grau de insaturação e à presença ou substituição de grupos funcionais.⁵⁸

Os emolientes sintéticos, consideram-se mais nocivos e oclusivos, porque revestem a pele e não permitem que esta respire, podendo causar irritação, como é o caso da vaselina, forma uma camada na superfície da pele, conseguindo reduzir a perda de água em mais de 98%.⁶² Alguns emolientes sintéticos podem-se mesmo acumular no fígado e nos gânglios linfáticos, além de não serem biodegradáveis, causando um impacto ambiental negativo.⁶³

Os emolientes naturais, são metabolizados pelas próprias enzimas da pele e absorvidos, também, são facilmente biodegradáveis e de qualidade comestível.⁶³ Como é o caso dos óleos vegetais, estes óleos são constituídos maioritariamente por ésteres de glicerol com ácidos gordos, sendo denominados de triacilgliceróis, que representam 95 a 98% de todos os óleos. A restante percentagem, compreende matéria insaponificável, consistindo em fosfolipídios, esteróis, vitaminas, entre outros. Uma molécula de glicerol contém dois grupos, um álcool primário e um álcool secundário, que podem estar ligados a um, dois ou até três ácidos gordos. A representação variada destes ácidos em uma molécula de glicerol, influencia as propriedades físicas e sensoriais dos óleos.⁶⁴ Para a seleção do emoliente a utilizar na formulação, é necessário ter em consideração, por exemplo, que os óleos de cadeia mais longa (maior número de carbonos) tendem a se sentir mais pesados na pele. Já os óleos que possuem altos graus de insaturação geralmente tendem a ser menos estáveis em relação à oxidação.³⁷

INCI: *Olea Europaea Fruit Oil*

O azeite é altamente compatível com a acidez da pele, é rico em substâncias bioativas, como esqualeno, fitoesterol e tocoferol, bem como em vitaminas (A e E) e ácidos gordos, como os ácidos oleico, linoleico e linolénico, que possuem efeitos calmantes e protetores sobre a pele. Além disso, os antioxidantes presentes no azeite são capazes de eliminar os radicais livres e proporcionar proteção adequada contra a peroxidação lipídica.⁶⁵

INCI: *Cocos Nucifera Oil*

O óleo de coco é uma das fontes mais ricas em ácido láurico, que normalmente encontra-se presente no sebo humano para ajudar a manter o equilíbrio no microbioma mucocutâneo.⁶⁶ Este óleo é constituído por mais ácidos gordos, como o ácido mirístico, o ácido palmítico, o ácido caprílico, o ácido cáprico, o ácido oleico, o ácido linoleico e o ácido esteárico. O óleo de coco possui um efeito hidratante, com propriedades oclusivas e emolientes que melhoram a função de barreira, além de apresentar propriedades antibacterianas.^{56,67} Aplicações de óleo de coco virgem demonstraram ser eficazes a melhorar a função da barreira epidérmica, proporcionando uma epitelização mais rápida.⁶⁷

INCI: *Simmondsia Chinensis Seed Oil*

O óleo de jojoba é conhecido como uma cera líquida. Não é um triacilglicerol, mas contém mais de 90% de ésteres de ácidos gordos insaturados de longa cadeia, com álcoois gordos insaturados.³⁷ Os ésteres líquidos do óleo de jojoba proporcionam estabilidade oxidativa superior e excelente capacidade emoliente e de hidratação efetiva ao cabelo e à pele. O sebo humano e o óleo de jojoba,

apresentam uma grande semelhança. Este óleo proporciona suavidade, proteção e ajuda a pele a manter a humidade, possui um fator natural de proteção solar de 4 e revela-se adequado para todos os tipos de pele.^{55,68} O alto teor de ésteres de cera, torna o óleo de jojoba uma boa opção para a reparação das barreiras cutâneas danificadas, como acontece nos casos de dermatite seborreica e dermatite eczematosa. O óleo de jojoba possui, também, propriedades anti-inflamatórias comprovadas, com usos potenciais em uma variedade de condições da pele, incluindo infeções.⁶⁷

INCI: *Carthamus Tinctorius Seed Oil*

O óleo de cártamo possui grande quantidade de ácido linoleico (70%), ácido oleico (10%), e menor quantidade de ácido esteárico. O ácido linoleico é um dos três lípidos fisiológicos essenciais na barreira do EC, fornecendo efeitos antimicrobianos e anti-inflamatórios.⁶⁶ Estudos farmacológicos demonstraram que os extratos de cártamo tinham várias funções fisiológicas, como anti-coagulação, vasodilatação, anti-oxidação, inibição da produção de melanina, imunossupressão e atividade antitumoral.⁶⁷ Na medicina tradicional, o extrato de cártamo é utilizado para tratar uma variedade de dermatites, incluindo a dermatite atópica.⁶⁶

INCI: *Vitis Vinifera Seed Oil*

A principal característica do óleo de grainha de uva é o seu alto conteúdo de ácidos gordos insaturados, particularmente os ácidos linoleico e oleico, compostos fenólicos, como o resveratrol e vitamina E que contribui para a sua atividade antioxidante. Além disso, os fitoesteróis presentes na constituição deste óleo, podem modular mediadores pró-inflamatórios.^{39,67} A grainha de uva consegue proteger o ácido desoxirribonucleico (DNA) contra a oxidação de forma mais eficaz que as vitaminas C e E e estabilizar o colagénio e a elastina inibindo as metaloproteinases da matriz, conseguindo assim, melhorar a pele envelhecida e proteger a pele contra possíveis danos.⁶⁹

INCI: *Helianthus Annuus Seed Oil*

O óleo de girassol apresenta um alto nível de ácido linoleico e ácidos gordos essenciais, da família ómega 6. Este óleo é de fácil espalhamento e é absorvido de forma relativamente rápida pela pele. O óleo de girassol pode ser usado por todos os tipos de pele, mas por ser um óleo seco, é mais adequado para a pele oleosa.⁵⁵

INCI: *Cannabis Sativa Seed Oil*

O óleo de semente de cânhamo é rico em ácido gama-linolénico (GLA), possui também uma composição equilibrada de 3:1 de ácidos gordos ómega 6 e 3, respetivamente. A presença particular de GLA, ajuda a melhorar as condições da pele, como eczema, psoríase e acne. O óleo de cânhamo considera-se um óleo muito seco e suave, tornando-se excelente tanto para a hidratação de pele normal, como da pele oleosa.⁵⁵

INCI: *Theobroma Cacao Seed Butter*

O cacau possui constituintes bioativos que exibem efeitos farmacológicos na redução dos processos inflamatórios, apresentando grande potencial não só para o tratamento de doenças de pele, mas também para a sua prevenção. Em particular, os antioxidantes encontrados no cacau, protegem a pele, neutralizando o stresse oxidativo, um dos principais fatores do envelhecimento prematuro da pele.⁷⁰ A manteiga de cacau, uma gordura natural derivada do cacau, tem propriedades hidratantes e é comumente usada em muitas culturas, por se acreditar que a sua aplicação na pele ajuda a prevenir o desenvolvimento de estrias.⁶⁹

1.5.2.4.Ceras

As ceras são sólidas à temperatura ambiente, são constituídas principalmente por ésteres de ácidos gordos com álcoois gordos, esteróis, terpenóides, ou combinação destes. O peso molecular das ceras, tende a ser mais alto, devido a terem uma maior saturação, e conseqüentemente, maior rigidez da estrutura. Para formular com as ceras, é importante ter em consideração as composições, para prever a compatibilidade com os outros ingredientes.³⁷ As ceras são consideradas ingredientes multifuncionais, conseguem melhorar a textura dos cosméticos, aumentar a sua viscosidade, estabilidade e ponto de fusão. As ceras de origem vegetal são derivadas de folhas, cascas e frutos de diferentes plantas ou são separadas de óleos vegetais por desparafinação, num processo que envolve a separação física, não envolvendo reações químicas.⁵⁶

INCI: *Copernicia Cerifera Wax*

A cera de carnaúba é conhecida por ser a cera vegetal mais dura, com maior ponto de fusão, situado entre os 83 e 86 °C, é composta principalmente de ésteres de ácidos gordos (C18-C30), e possui uma quantidade significativa de álcoois gordos livres entre 30 a 34 carbonos. A função desta cera passa por conferir dureza e aumentar a viscosidade das formulações cosméticas.^{37,56,71}

1.5.2.5.Alternativas aos silicones

Os silicones são usados em todos os tipos de produtos de cuidados da pele devido, principalmente, às suas propriedades sensoriais, visto possuírem alta capacidade de espalhamento quando comparados aos emolientes biológicos. Quando misturados com óleos vegetais, os silicones melhoram a capacidade de dispersão dos óleos e diminuem a sensação de pele gordurosa e pesada, diminuindo a tensão superficial. Os silicones voláteis, proporcionam uma leve lubricidade, uma textura leve e boa distribuição do produto na aplicação, sem deixar nenhum efeito residual.⁴ No entanto, estes produtos, são tóxicos, persistentes e podem bioacumular-se em organismos aquáticos, podendo ainda interferir com a função hormonal humana, comprometendo a fertilidade.⁷² Existem diversas alternativas aos silicones tendo em conta a norma COSMOS sendo, algumas delas, descritas em seguida.

INCI: *Brassica Oleracea Italica Seed Oil*

O óleo de semente de brócolo, encontra-se entre os ingredientes mais puramente naturais que são comparáveis aos silicões, no entanto, não fornece a mesma sensação que um silicone, porque trata-se de um ingrediente oleoso.⁷³ O óleo de brócolo revela-se um óleo leve, prensado a frio, com excelente efeito de cuidado para a pele e cabelo. Este óleo é extraído das sementes de brócolos e, devido à sua estrutura química, possui propriedades de proteção da barreira da pele, tornando o óleo particularmente adequado para o cuidado da pele seca, madura e irritada.⁷⁴ O seu perfil único de ácidos gordos, responsável pelas suas propriedades, encontra-se representado na Tabela 1.1.

Tabela 1.1: Composição de ácidos gordos do óleo de brócolo.⁷³

Ácidos gordos	Percentagem (%)
Ácido oleico	13,3%
Ácido linoleico	11,2%
Ácido linolénico	10,9%
Ácido palmítico	3,4%
Ácido esteárico	0,78%

INCI: *Caprylic/Capric Triglyceride*

O óleo de coco pode ser fracionado num processo em que são removidos vários ácidos gordos, deixando para trás 53-55% de ácido gordo caprílico e 36-47% de ácido cáprico. A principal razão para usar o óleo de coco fracionado é a hidratação que oferece, uma vez que consegue entrar na pele e hidratar, fornecendo a qualquer fórmula para uma sensação muito leve.⁷⁵

INCI: *Isoamyl Laurate; Isoamyl Cocoate*

Emoliente de base vegetal feito a partir de fontes naturais renováveis, a partir do açúcar e do coco. Possui um comportamento volátil superior, tornando-se a substituição ideal para silicões voláteis. Ao contrário dos silicões, é livre de toxicidade e respeita o meio ambiente. Reduz o efeito de sabão que se cria devido à presença de grandes quantidades de ceras ou de algum álcool gordo. Emulsões com grande quantidade de óleos vegetais, manteigas ou ceras, na maioria das vezes possuem uma espalhabilidade desagradável, neste contexto, este emoliente apresenta-se como uma alternativa para melhorar esse problema, eliminando também o efeito de pegajosidade.⁷⁶

INCI: *Heptyl Undecylenate*

Trata-se de um emoliente extremamente leve e seco adequado para produtos naturais, é 100% vegetal derivado do óleo de mamona. Este emoliente revela-se uma excelente alternativa natural aos fluidos sintéticos, como ciclometicona e óleos minerais, ideal para combinar com óleos naturais para reduzir a oleosidade.⁷³

1.5.2.6. Humectantes

Os humectantes são ingredientes higroscópicos que conseguem aumentar o conteúdo de água no EC, melhoram a PTEA, aumentam a absorção de água da derme para a epiderme ou absorvem água do ambiente externo.¹ Os humectantes diferem na capacidade de ligação à água, assim como na capacidade de penetrar e influenciar o grau de hidratação da pele.²¹ Estes ingredientes servem para substituir os FHNs que foram perdidos da pele.¹ A combinação com ingredientes oclusivos ajuda ainda mais a melhorar a função e a hidratação da barreira epidérmica.⁷⁷

INCI: *Panthenol*

O pantenol ou dexpanthenol (Tabela 1.2), corresponde ao álcool do ácido pantoténico, revela-se essencial para a função epitelial normal. Devido às suas propriedades higroscópicas, age como um hidratante, melhorando a hidratação do estrato córneo, reduzindo a PTEA e mantendo a maciez e a elasticidade da pele. Este álcool consegue acelerar a regeneração celular devido a conseguir ativar a proliferação dos fibroblastos, revela-se, assim o ingrediente ideal para tratar queimaduras, acne e feridas que necessitam de cicatrizar mais rapidamente. O pantenol também possui função antibacteriana e reduz efeitos prejudiciais da exposição ao sol.^{55,78} Este ingrediente é sensível a temperaturas superiores a 70°C, por ocorrer racemização parcial e clivagem à aminopropanol.⁷⁹

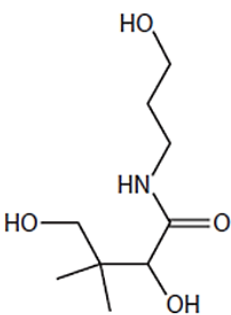
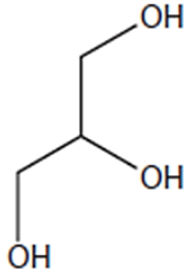
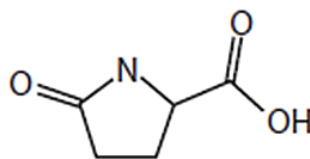
INCI: *Glycerin*

A glicerina trata-se de um álcool líquido, incolor, inodoro e higroscópico, que possui na sua constituição três grupos hidroxilo hidrofílicos (Tabela 1.2) responsáveis pela sua higroscopicidade. A glicerina é usada para cuidados com a pele, como humectante e protetor, conseguindo não só atrair água, mas também modular a composição da fase dos lípidos do estrato córneo.⁴

INCI: *Sodium PCA*

A pirrolidona carboxilato (PCA) de sódio (Tabela 1.2) é um humectante natural derivado do ácido L-glutâmico, conhecido por ser abundante na pele humana como componente do FHN, correspondendo a aproximadamente 2% em peso do EC. Este humectante possui um poder hidratante superior ao da glicerina, sorbitol e propanodiol.^{21,73}

Tabela 1.2: Estruturas químicas das moléculas humectantes.⁴

Pantenol	Glicerina	PCA
		

1.5.2.7. Agentes quelantes

Os agentes quelantes conseguem aumentar a eficácia dos antioxidantes, reagindo com íons metálicos. Em particular, os agentes quelantes conseguem bloquear o ferro necessário para o metabolismo e crescimento microbiano.

A forma quelato possui poucas propriedades do íon livre e, por essa razão, os agentes quelantes são frequentemente descritos como “removedores” de íons da solução. A estabilidade do quelato, depende do íon metálico envolvido e também do pH.²¹ O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é o agente quelante mais popular e é usado em vários campos industriais. Existem vários relatos sobre a sua biodegradabilidade, mas é indicado como um produto químico que provavelmente não será removido durante o tratamento biológico das águas residuais, mesmo após exposição prolongada.⁸⁰

INCI: Sodium phytate, Aqua, Alcohol

O *sodium phytate, aqua, alcohol* é um agente quelante natural, aprovado e em conformidade com o padrão COSMOS. Normalmente, este agente quelante é utilizado em conjugação com antioxidantes, como o tocoferol com o intuito de proteger certos ingredientes, como é o caso dos óleos insaturados ou componentes de fragrâncias.⁸¹

INCI: Trisodium Ethylenediamine Disuccinate

Este agente quelante é conhecido por poder complexar com uma série de íons metálicos numa ampla gama de pH. A quelação máxima ocorre aproximadamente em torno de pH 7. Este agente é muito seletivo em relação a metais de transição problemáticos, como os íons cobre e ferro, torna-se ideal para formulações de cuidados pessoais. O *trisodium ethylenediamine disuccinate* potencia, também o efeito do conservante utilizado na formulação, revelando-se, assim, mais uma alternativa ecológica para o agente quelante EDTA.⁸²

1.5.2.8. Antioxidantes e vitaminas

Os antioxidantes impedem a oxidação de componentes sensíveis, como é o caso das gorduras, óleos e manteigas, cuja a deterioração oxidativa pode originar a mudança de cor e formação de odores.¹ As vitaminas e antioxidantes em cosméticos podem proteger e corrigir os danos, neutralizando os radicais livres. Além disso, algumas vitaminas podem ser benéficas para a pele, potenciando a estimulação da produção de colagénio, refinamento da queratinização e exercendo efeitos anti-inflamatórios.⁸³ Normalmente os antioxidantes mais utilizados são os antioxidantes sintéticos butil-hidroxitolueno (BHT) e o butil-hidroxianisol (BHA), devido à sua estabilidade durante os processos de fabricação. No entanto, já foram descritos casos de reações alérgicas na pele, carcinogenicidade e desregulação endócrina causadas por estes ingredientes.³⁵

As plantas constituem uma alternativa aos antioxidantes sintéticos. Diversos estudos apoiam que, as plantas, são capazes de exercer efeitos protetores contra o stresse oxidativo em sistemas

biológicos, constituindo uma importante fonte de antioxidantes. Por exemplo, as folhas do chá preto e verde, usam-se há muito tempo entre as populações ocidentais e asiáticas, como uma fonte importante de antioxidantes potencialmente protetores para a saúde.⁸⁴ Os extratos de plantas podem também ser uma fonte de vitaminas antioxidantes como é o caso das vitaminas C e E.

INCI: *Tocopherol*

A vitamina E é considerada essencial para a estabilização de membranas biológicas, particularmente aquelas que contêm grandes quantidades de ácidos gordos polinsaturados. Os lípidos da membrana celular da pele estão sob ataque constante dos radicais livres formados tanto no decurso de reações biológicas normais como, em particular, por vários fatores externos.⁸⁵ A vitamina E é o termo coletivo para tocoferóis e tocotrienóis, derivados do 6-cromanol por substituição com uma cadeia lateral isoprenóide saturada (tocoferóis) ou parcialmente insaturada (tocotrienóis). O α -tocoferol é o homólogo mais ativo biologicamente, possuindo fortes propriedades redutoras, conseguindo, assim, eliminar radicais livres e outras espécies oxidativas.⁸⁶

1.5.2.9.Fragrâncias

Fragrâncias são compostos naturais ou sintéticos, com um cheiro característico que são adicionados aos produtos cosméticos para criar uma impressão estética de forma a tornar o produto mais atraente para o consumidor, devido ao cheiro agradável. Estes componentes podem ser utilizados para mascarar o cheiro natural dos ingredientes, sem adicionar qualquer cheiro característico, ou para proporcionar um aroma agradável.¹

No entanto, as fragrâncias sintéticas são responsáveis pela causa mais frequente de alergias em cosméticos, incluindo produtos para higiene pessoal. Muitos dos ingredientes de fragrâncias são irritantes, podendo causar dores de cabeça severas e sintomas de asma.^{55,72,87} Normalmente, as fragrâncias são mencionadas no rótulo pela palavra “*parfum*” ou “aroma”, em vez dos ingredientes se encontrarem rotulados individualmente, não existindo, assim, a divulgação da composição, tornando-se impossível para os consumidores conhecer a origem deste tipo de ingredientes potencialmente problemáticos.³⁵

Alternativas naturais as fragrâncias sintéticas

Os óleos essenciais são compostos naturais voláteis, caracterizados por um forte odor, que têm sido desde sempre utilizados para fins médicos e cosméticos. Estes óleos resultam do metabolismo secundário das plantas e podem formar-se em todas as partes das mesmas. Os óleos essenciais apresentam uma ampla gama de propriedades, desde efeitos bactericidas, viricidas, fungicidas, antiparasitários, inseticidas, analgésicos, sedativos, anti-inflamatórios e anestésicos locais. As atividades biológicas apresentadas pelos óleos essenciais revelam-se muito importantes em cosmética, pois podem ajudar a aliviar muitas condições da pele, principalmente os danos oxidativos e processos de envelhecimento.³⁷

Os óleos essenciais podem ser extraídos por vários métodos, sendo a escolha do método a aplicar normalmente dependente do material botânico utilizado e determinante para a qualidade do óleo essencial. Os óleos podem ser extraídos, entre outras técnicas, por prensagem a frio, por destilação direta ou por arrastamento de vapor.^{37,88} A parte aquosa resultante da destilação, o hidrolato, contém gotículas de óleo e outros metabolitos da planta que normalmente estão ausentes no óleo essencial, podendo, assim, apresentar algumas das atividades biológicas dos óleos essenciais.⁸⁹

Óleo essencial de tangerina (INCI: *Citrus reticulata blanco oil*)

O óleo essencial de tangerina ou mandarina é prensado a frio para evitar a perda de componentes voláteis. Este óleo possui um aroma agradável e refrescante sendo muito utilizado em perfumes e cosméticos. A sua composição química diferencia-se por possuir um alto teor de D-limoneno, um composto com reconhecidas propriedades antioxidantes, permitindo assim eliminar possíveis radicais livres. O óleo de tangerina é bem conhecido pelas suas ações antibacterianas e antifúngicas de amplo espectro.^{37,90}

Óleo essencial de Erva Príncipe (INCI: *Cymbopogon flexuosus oil*)

O óleo essencial de erva príncipe é muito utilizado em indústrias de alimentos, cosméticos, fármacos e inseticidas. Este óleo tem demonstrado possuir capacidade antimicrobiana e antifúngica, sendo mais potente que muitos fungicidas sintéticos. Para além destas propriedades, este óleo, também apresenta importantes propriedades antioxidantes e repelentes que podem ser interessantes em formulações.⁹¹

Óleo essencial de Litsea (INCI: *Litsea cubeba fruit oil*)

O óleo essencial aromático de Litsea é extraído dos frutos frescos de *Litsea cubeba*. É um óleo utilizado como intensificador de odor na indústria alimentar, de cosméticos e em cigarros, como matéria-prima na produção de citral, das vitaminas A, E e K, ionona, metil-ionona e perfumes, e, ainda, como agente antimicrobiano e inseticida.⁹²

1.5.2.10. Conservantes

Os cosméticos, como qualquer produto que contenha água e compostos orgânicos/inorgânicos, exigem preservação contra a contaminação microbiana para garantir a segurança do consumidor e aumentar o seu prazo de validade. São incluídos conservantes nas formulações para eliminar ou inibir o crescimento de microrganismos, que podem ser introduzidos durante o uso ou durante a fabricação. O conservante ideal deve ter um amplo espectro de atividade, deve ser estável, não volátil, ativo a diferentes valores de pH, inerte, estável à radiação UV, incolor, inodoro, barato e não irritante. Geralmente nenhum conservante único atende a todos os requisitos, assim, o normal é usar várias substâncias para explorar fenómenos sinérgicos e aumentar o espectro de ação. De referir que a eficácia do sistema conservante é muito influenciada pelo pH e pelos outros ingredientes da formulação.^{21,93}

O desenvolvimento de microrganismos pode causar alterações no aroma, cor e consistência dos produtos, podendo levar à separação de fases ou ao aparecimento de sedimentos em soluções. Os conservantes utilizados nos cosméticos devem garantir a ausência de contaminações durante as fases de produção e embalagem, bem como durante todo o tempo de uso.⁹⁴

O uso de elevadas concentrações de conservante é mais efetivo do ponto de vista de preservação sendo, no entanto, as concentrações mais elevadas podem levar a problemas de toxicidade para os consumidores. Na realidade, em conjunto com as fragrâncias, os conservantes estão entre as causas mais comuns do aparecimento de dermatites de contacto. Por outro lado, a utilização de concentrações muito baixas pode levar ao desenvolvimento de fenómenos de resistência microbiana.^{95,96} Atualmente, os parabens são os conservantes mais preocupantes. Estes compostos penetram facilmente na pele e são suspeitos de interferir com a função hormonal.⁷² Na União Europeia, a lista de conservantes naturais certificados é muito limitada em comparação com a lista de conservantes convencionais oficialmente permitidos pela lei: oito contra 57 conservantes.⁹⁷

Os conservantes autorizados pela norma COSMOS, restringem-se apenas ao ácido benzoico (e seus sais), álcool benzílico, ácido salicílico (e seus sais), ácido sórbico (e seus sais) e por último o ácido desidroacético (e seus sais).³⁴

INCI: Aqua, Sodium Benzoate, Potassium Sorbate

Este sistema de conservação é aprovado pela norma COSMOS, sendo livre de compostos halogenados, solventes orgânicos e compostos orgânicos voláteis. O sistema possui efeito bactericida e fungicida, eficaz a valores de pH inferiores a 5,5, sendo totalmente eficaz tanto em sistemas iónicos, como não-iónicos, revelando-se solúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos polares.⁹⁸

1.5.2.11. Extratos Botânicos

Os extratos botânicos são reconhecidos como os ingredientes que permitem oferecer benefícios por poderem exercer ações anti-inflamatória e/ou antioxidante. As plantas começaram a destacar-se, devido à presença de diversos compostos fenólicos, dos quais se destacam os flavonoides e os ácidos fenólicos e derivados, que são os responsáveis pelas propriedades anteriormente mencionadas. A ação anti-inflamatória permite acalmar a pele, reduzindo a comichão e a vermelhidão. Por exemplo, à camomila são atribuídas propriedades bactericidas e fungicidas, e ainda, ação emoliente e anti-inflamatória. Os extratos desta planta são fortemente recomendados para pele sensível, sendo amplamente aplicados em formulações cosméticas.⁵⁶ Já a alfazema é conhecida pelas suas propriedades revitalizantes e relaxantes, podendo ser aplicada diretamente em todos os tipos de pele, exercendo uma ação de tonificação e de hidratação, aliviando os estados de stress.⁸⁹ Por outro lado, no extrato de soja são encontradas isoflavonas, benéficas para peles mais maduras e secas.¹⁹

Uma das plantas mais conhecidas e utilizadas é a aloé vera, da qual já se identificaram 75 componentes potencialmente ativos. Esta planta é utilizada para diversos fins na dermatologia devido ao seu efeito hidratante e de anti-envelhecimento, apresentando também, propriedades anti-inflamatórias e regenerativas, potenciando o aumento da produção de colagénio nas zonas danificadas.⁹⁹ Plantas que possuem elevados teores de taninos, como é o caso da sálvia, castanha-da-índia e o *Quercus lusitanica*, conferem adstringência e contribuem para a firmeza da pele.¹⁹

A pele contém vários antioxidantes, como o ácido ascórbico, a vitamina E, o ubiquinol e o ácido úrico. Quando ocorrem condições de stresse oxidativo, os níveis destas substâncias na pele ficam muito afetados e o tratamento tópico com antioxidantes pode, portanto, ser muito benéfico.²¹ Neste contexto, os extratos de plantas ricos em polifenóis estão a tornar-se muito procurados em produtos tópicos devido às suas propriedades antioxidantes.

1.5.2.12. Bolota

O género *Quercus* pertence à família Fagaceae. As plantas deste género, comumente, conhecidas por carvalhos, são um importante grupo de árvores de folha caduca ou persistente, predominantes em climas tropicais ou temperados, como é o caso de Portugal que possui uma ampla área com carvalhos que são utilizados para diversos fins. No entanto, os seus frutos, as bolotas, são pouco valorizados, sendo utilizados, principalmente, na alimentação animal. Porém nos tempos passados, as bolotas já foram consideradas como um alimento de primeira necessidade.¹⁰⁰

A bolota é constituída pelo pericarpo (casca) que protege a semente (Figura 1.9). Por sua vez a semente é composta por uma espécie de membrana aveludada e pelo embrião, onde se acumulam as reservas energéticas. Apesar da maioria das espécies serem comestíveis, algumas contêm elevados teores de taninos, responsáveis pelo sabor amargo e adstringência dos frutos. A síntese destes compostos serve como mecanismo de defesa da planta contra os predadores.

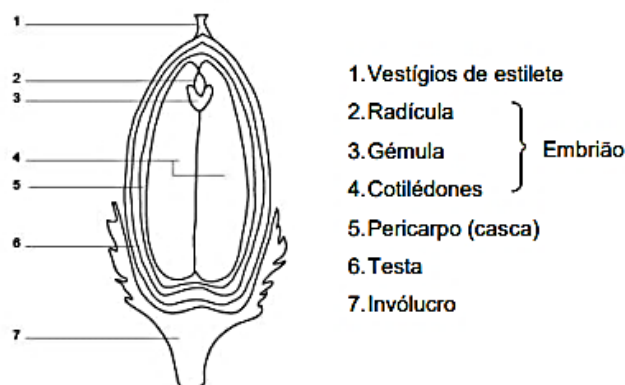


Figura 1.9: Constituição morfológica da bolota, fruto do género *Quercus*.¹⁰⁰

A cozedura revela-se o procedimento adequado para diminuir a concentração de taninos, promovendo a sua hidrólise e, conseqüentemente, eliminando as suas propriedades adstringentes. Segundo estudos, este procedimento não altera as propriedades sensoriais e nutricionais das bolotas, pelo contrário melhora as suas propriedades, a biodisponibilidade de nutrientes e o tempo de conservação. A influência do tratamento térmico, também não afeta o teor de polifenóis totais, como o ácido gálico, compostos azotados e macro e microelementos.^{100,101} Os compostos presentes na bolota, podem proporcionar benefícios para a saúde humana, sendo reconhecidos alguns efeitos biológicos, tais como efeito anti-carcinogénico, anti-mutagénico e antienvhecimento. A bolota, ou apenas a sua casca, já foram, aplicadas no tratamento de algumas doenças dermatológicas crónicas, como é o caso da periodontite.¹⁰⁰⁻¹⁰²

A bolota além de economicamente rentável, revela-se uma fonte natural com elevado valor nutricional e riqueza em compostos bioativos. A composição química da bolota inclui hidratos de carbono, lípidos, proteínas e aminoácidos, que resultam do metabolismo primário do fruto, bem como, substâncias de reserva e metabolitos secundários (Tabela 1.3).¹⁰⁰

Tabela 1.3: Composição química da bolota.¹⁰³

Compostos	Quantidade
Água	30-40 (%)
Hidratos de Carbono	60-70 (%)
Lípidos	5-10 (%)
Proteínas	4-8 (%)
Taninos	0,5 – 9 (%)
Cálcio	0,070 – 0,140 (%)
Potássio	0,60-0,80 (%)
Fósforo	0,080 – 0,110 (%)
Magnésio	0,040 (%)
Ferro	40 (mg/kg)
Vitamina C	550 (mg/kg)
Vitamina E	600-2000 (mg/kg)
Vitamina A	180 (U.I.)

Conforme anteriormente referido, a bolota diferencia-se por possuir altos níveis de compostos fenólicos, particularmente de taninos hidrolisáveis e seus precursores: ácido gálico e elágico. Estudos demonstraram que estes compostos podem exercer um papel importante na redução dos riscos ou sintomas de doenças cardiovasculares, infeções microbianas, doenças inflamatórias, entre outras. Sabe-se que os taninos inibem *in vitro* a peroxidação de lípidos e a atividade de enzimas oxidativas como as lipooxigenases, demonstrando a sua capacidade de eliminar radicais hidroxilo. Os taninos, também, afetam o crescimento microbiano através de vários mecanismos, como inibição das enzimas microbianas extracelulares, privação dos substratos necessários para o crescimento microbiano ou pela ação direta

sobre o metabolismo microbiano, através da inibição da fosforilação oxidativa. Assim, devido à sua riqueza em taninos, a bolota torna-se um possível medicamento para combater doenças de pele, como o eczema, sendo, geralmente bem tolerada e não causando irritação.^{100,101,103}

1.6.Avaliação da estabilidade de emulsões cosméticas

A estabilidade de uma emulsão cosmética refere-se à capacidade que esta apresenta para resistir a mudanças nas suas propriedades físico-químicas ao longo do tempo. Para avaliar esta estabilidade, e garantir que os principais atributos permanecem dentro das diretrizes aceitáveis, torna-se necessário definir processos de avaliação de um produto. Revela-se, assim, importante estabelecer os atributos críticos do produto, como a cor, odor, textura, etc., medir como eles mudam com o tempo e definir que grau de mudança é considerado aceitável. Da mesma forma, caso ocorra alguma alteração, é também necessário identificar os mecanismos físicos-químicos dominantes, pois será importante para determinar qual a estratégia mais adequada para melhorar a estabilidade do produto.^{47,85}

A estabilidade dos cosméticos deve ser avaliada após embalamento na embalagem final do creme, uma vez que esta pode afetar diretamente a estabilidade do produto, devido a interações que podem ocorrer, como por exemplo a adsorção de constituintes do produto no recipiente.¹⁰⁴

A estabilidade dos cosméticos pode ser fortemente condicionada pela temperatura. Assim, as temperaturas elevadas aceleram as reações físico-químicas, gerando alterações na atividade dos componentes, viscosidade, aparência, cor e odor do produto. Por outro lado, as baixas temperaturas aceleram possíveis reações físicas, podendo originar turbidez, precipitação e cristalização.¹⁰⁵

Nos testes de estabilidade acelerados, os produtos são sujeitos a condições de temperatura elevadas e/ou reduzidas de modo a acelerar a sua possível degradação. Este tipo de ensaios fornece uma indicação precoce sobre o prazo de validade dos produtos, permitindo, assim, diminuir o tempo de desenvolvimento.¹⁰⁶

Um dos possíveis riscos associados ao uso de cosméticos é o microbiológico. O crescimento de bactérias em cosméticos pode alterar as propriedades físicas do produto e causar sérios danos à saúde do consumidor, devido à produção de endotoxinas ou metabolitos nocivos.⁹³ A contaminação microbiológica pode ocorrer em qualquer estágio da vida do produto, desde a produção até ao uso pelo consumidor. Uma das possíveis fontes de contaminação é a presença de impurezas nas matérias-primas ou o uso de compostos mais vulneráveis à proliferação bacteriana. Para além da escolha das matérias-primas e dos cuidados durante a produção, a qualidade dos recipientes para embalagem, assim como as etapas de armazenamento e transporte podem afetar a qualidade dos cosméticos.⁹³ Assim, as especificações microbiológicas de matérias-primas e dos produtos cosméticos finais, juntamente com os resultados do Ensaio de Eficácia de Conservantes (EEC) tornaram-se elementos obrigatórios do Relatório de Segurança do Produto Cosmético, de acordo com a legislação cosmética da União Europeia.⁹⁷

O ensaio de eficácia de conservantes foi desenvolvido para avaliar a eficácia antimicrobiana dos conservantes, que podem ser introduzidos no produto, durante ou após o processo de fabrico. Diversos testes foram recomendados por diferentes laboratórios, mas este teste é o método mais adotado pelos regulamentos internacionais.²²

A avaliação da conservação de uma formulação cosmética, seguindo a norma ISO 11930:2012, baseia-se em inocular nos produtos, estirpes específicas de microrganismos, nomeadamente de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), leveduras (*Candida albicans*) e fungos filamentosos (*Aspergillus brasiliensis*). Posteriormente, o número de microrganismos sobreviventes, é medido em intervalos definidos durante um período de 28 dias. Para cada tempo, o valor da redução logarítmica é calculado e comparado com os valores mínimos requeridos para os critérios de avaliação A ou B, indicados na Tabela 1.4.¹⁰⁷

Tabela 1.4: Critérios de avaliação para o Ensaio de eficácia de conservantes.¹⁰⁷

Microrganismos	Bactérias (<i>S.aureus</i> ; <i>E.coli</i> ; <i>P.aeruginosa</i>)			Levedura (<i>C.albicans</i>)			Fungo (<i>A.brasiliensis</i>)	
	T7	T14	T28	T7	T14	T28	T14	T28
Tempo de amostragem								
Critério A	≥3	≥3 ^a	≥3 ^a	≥1	≥1 ^a	≥1 ^a	≥0 ^b	≥1 ^a
Critério B	Não realizado	≥3	≥3 ^a	Não realizado	≥1	≥1 ^a	≥0	≥0 ^a

^a NA: sem aumento da contagem em relação ao tempo anterior.

^b $Rx=0$ quando $\log N_0 = \log N_x$ (sem aumento da contagem inicial).

A redução de microrganismos viáveis (Rx) é calculada através da equação 1.1, subtraindo-se o valor log do número médio de microrganismos viáveis em cada período de amostragem (Nx), a partir do valor logarítmico do número de microrganismos inoculados no tempo inicial ($N0$).⁹⁷

$$Rx = \log N0 - \log Nx \quad (1.1)$$

Capítulo 2.

Objetivos

2. Objetivo do trabalho

A Unibio é uma empresa portuguesa de cosmética biológica, sendo a Unii (*Organic Skin Food*) a marca dos seus produtos. A filosofia da Unibio passa por utilizar ingredientes provenientes da agricultura biológica, colocando de parte os químicos potencialmente agressivos para a pele. Existe uma grande preocupação ecológica por parte desta empresa, que vai desde a escolha dos ingredientes, que seguem uma série de critérios, até à escolha das embalagens.

Neste contexto, o estágio realizado na Unibio, no âmbito da presente Dissertação de Mestrado, visou o desenvolvimento de uma emulsão hidratante corporal biológica, que respeitasse todos os tipos de peles, que contivesse extratos botânicos da flora portuguesa e que obedecesse à norma europeia de certificação de cosmética biológica (COSMOS). Dentro dos extratos botânicos optou-se por utilizar a bolota como ingrediente português e diferenciador do produto.

Para concretizar este objetivo tornou-se necessário:

1. Formular à escala laboratorial, até se conseguir obter uma base de formação estável, em que não ocorresse separação de fases e que apresentasse boa textura e aspeto.
2. Aumentar a escala de produção da formulação selecionada.
3. Avaliar a estabilidade do cosmético desenvolvido, em termos físico-químicos e microbiológicos.

Capítulo 3.

Materiais e Métodos

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais

3.1.1. Ingredientes das formulações

Os ingredientes utilizados durante o desenvolvimento da emulsão hidratante encontram-se apresentados na Tabela 3.1, a formulação é constituída por diferentes fases (fase aquosa, fase oleosa e fase fria). Para cada um deles é indicado o nome de acordo com a *International Nomenclature of Cosmetics Ingredients* (INCI), a função e o estado físico à temperatura ambiente.

Tabela 3.1: Matérias-primas utilizadas em cada fase das diferentes formulações. Fase A – Fase aquosa; Fase B – Fase oleosa; Fase C – Fase fria ($\approx 45^{\circ}\text{C}$).

Fase	Nome Comum	Nome INCI	Função	Estado Físico
A	Água destilada	<i>Aqua</i>	Solvente	Líquido
	Aloe vera	<i>Aloe barbadensis leaf juice powder</i>	Extrato botânico	Sólido (pó)
	Bolota	<i>Quercus fruit extract</i>	Extrato botânico	Sólido (pó)
-	-	<i>Polyglyceryl-3 distearate; Glyceryl stearate citrate</i>	Emulsionante	Sólido (pellets)
-	-	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	Emulsionante	Sólido (pellets)
	Álcool cetearílico	<i>Cetearyl alcohol</i>	Co-emulsionante	Sólido (pellets)
B	Óleo de borragem	<i>Borago officinalis seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de grainha de uva	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de jojoba	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de semente de cânhamo	<i>Cannabis sativa (hemp) seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de brócolo	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de macadâmia	<i>Macadamia ternifolia seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de semente de alperce	<i>Prunus armeniaca kernel oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de cártamo	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de coco	<i>Cocos nucifera oil</i>	Emoliente	Sólido
	Óleo de girassol	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	Emoliente	Líquido
	Óleo de prímula	<i>Oenothera biennis seed oil</i>	Emoliente	Líquido
Azeite	<i>Olea europaea fruit oil</i>	Emoliente	Líquido	

Tabela 3.1: Matérias-primas utilizadas em cada fase das diferentes formulações. Fase A – Fase aquosa; Fase B – Fase oleosa; Fase C – Fase fria ($\approx 45^{\circ}\text{C}$). (Continuação)

Fase	Nome Comum	Nome INCI	Função	Estado Físico
B	-	<i>Isoamyl laurate, isoamyl cocoate</i>	Emoliente alternativo ao silicone	Líquido
	Óleo de coco fracionado	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	Emoliente alternativo ao silicone	Líquido
	-	<i>Heptyl undecylenate</i>	Emoliente alternativo ao silicone	Líquido
	Cera de carnaúba	<i>Copernicia cerifera wax</i>	Agente de consistência	Sólido (pó)
	Manteiga de cacau	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	Emoliente	Sólido
	Manteiga de karité	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	Emoliente	Sólido
	Hidrolato de esteva	<i>Cistus ladaniferus distillate water</i>	Extrato botânico	Líquido
	Hidrolato de lavanda	<i>Lavandula angustifolia flower water</i>	Extrato botânico	Líquido
	Hidrolato de camomila	<i>Chamomilla recutita flower water</i>	Extrato botânico	Líquido
	Hidrolato de rosa	<i>Rosa damascena distillate</i>	Extrato botânico	Líquido
C	Pantenol	<i>Panthenol</i>	Humectante	Líquido
	Glicerina	<i>Glycerin</i>	Humectante	Líquido
	-	<i>Sodium PCA</i>	Humectante	Líquido
	-	<i>Xanthan gum</i>	Espessante	Sólido (pó)
	-	<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>	Espessante	Sólido (pó)
	Tocoferol	<i>Tocopherol</i>	Antioxidante	Líquido
	Ácido cítrico (solução aquosa a 50%)	<i>Citric acid</i>	Modificador de pH	Sólido (pó)
	-	<i>Sodium phytate; aqua; alcohol</i>	Agente quelante	Líquido
	-	<i>Trisodium ethylenediamine disuccinate</i>	Agente quelante	Líquido

O conservante e os óleos essenciais utilizados, com os respectivos nomes INCI, encontram-se apresentados na Tabela 3.2. Foi criada a fase D, devido a estas duas classes de ingredientes serem muito sensíveis à temperatura, assim são adicionadas a uma temperatura próxima da ambiente.

Tabela 3.2: Conservante e óleos essenciais utilizados nas formulações, que permitem conservar e formar os aromas das formulações.
Fase D – Fase fria (Tambiente).

Fase	Componentes	Nome INCI	Estado físico
D	Conservante	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	Líquido
	Óleo essencial de tangerina	<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de litsea	<i>Litsea cubeba oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de alecrim	<i>Rosmarinus officinalis leaf oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de erva-príncipe	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de laranja doce	<i>Citrus aurantium dulcis peel oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de gerânio	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de limão	<i>Citrus limon peel oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de canela	<i>Cinnamomum zeylanicum oil</i>	Líquido
	Óleo essencial de lavanda	<i>Lavandula angustifolia oil</i>	Líquido
	Fragrância de chocolate	-	Líquido

3.1.2. Estirpes de microrganismos

As estirpes microbianas de referência utilizadas no ensaio de eficácia de conservantes encontram-se na Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Estirpes de referência utilizadas nos Ensaio de Eficácia de Conservantes.

Microrganismos padrão	
Bactérias	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 9739)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)
Levedura	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)
Fungo filamentoso	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)

3.1.3.Reagentes e meios de cultura

Na Tabela 3.4 encontram-se os reagentes e meios de cultura utilizados nas análises microbiológicas efetuadas aos cosméticos.

Tabela 3.4: Reagentes e meios de cultura utilizados nos testes microbiológicos.

Meios de cultura	Fornecedor	Referência
<i>Sabouraud Dextrose Chloramphenicol Agar</i> (SDCA)	Biokar Diagnostics	BM17208
<i>Cetrimide Agar</i>	Biokar Diagnostics	BK049
<i>Mannitol Salt Agar</i>	Biokar Diagnostics	BK030
<i>MacConkey Agar</i>	BD Diagnostic Systems	212123
<i>Tryptone-Salt Broth</i>	Biokar diagnostics	BK014
<i>Eugon LT 100 Broth</i>	Biokar diagnostics	BK137
<i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	Biokar diagnostics	BK095
<i>Sabouraud Dextrose Agar</i> (SDA)	Biokar Diagnostics	BK025
<i>Trypticase Soy Agar</i> (TSA)	Biokar Diagnostics	BK047
<i>Tween-80</i>	BioChemica	A1390

3.1.4.Equipamentos

A Tabela 3.5 mostra os equipamentos utilizados em todas as etapas da presente dissertação.

Tabela 3.5: Equipamento utilizado no presente trabalho.

Equipamento	Marca
Balanças Analíticas	Denver (TR-203)
	NAHITA (Série 5062)
Placa de Aquecimento	Tristar, (IK 6178)
Banho Termostático	ARBO (Lab WB12)
Termômetros	INFRARED (DT8380)
	GH ZEAL LTD
Agitador	NAHITA (Mechanical rod stirrer 682/2)
Agitador vortex	VWR (444-2790)
Misturador	NORPRO (Mini mixer)
Homogeneizadores	Kai Blendia (Handy Food Processor)
	BAMIX (Gastro 350w Pro-3)
	TEKNO STAMAP (C-line 10/20)

Tabela 3.5: Equipamento utilizado no presente trabalho. (Continuação)

Equipamento	Marca
Camara USB com filtros de polarização	Visioscope (PC 35)
Medidor de pH	HANNA (HI 2210)
	METTLER TOLEDO (Five Easy F20)
Colorímetro	KONICA MINOLTA (CR - 410)
Centrifuga	Sigma (4K15)
Viscosímetro	Brookfield (HADV – II)
Camara de fluxo laminar	STERIL - VBH (11649)
Autoclave	DARLAB (K-400)
Estufas	Memmert (BM 500)
	Memmert (B 50)
Densímetro	Grant Bio (DEN-1B)

3.2.Desenvolvimento da emulsão

3.2.1.Desenvolvimento da emulsão hidratante corporal à escala laboratorial (100 g)

Primeiramente, começou-se por preparar a infusão de bolota. Para tal, colocou-se a quantidade de água destilada necessária num recipiente resistente ao calor e recorrendo a uma placa de aquecimento levou-se até fervura. Assim que água começou a ferver, introduziu-se a quantidade necessária de bolota, aguardaram-se 3 minutos e filtrou-se a infusão obtida para outro recipiente.

Posteriormente, passou-se à preparação da fase aquosa (fase A). Para tal juntaram-se os pesos certos de água destilada e da infusão de bolota anteriormente preparada. Numa fase seguinte preparou-se a fase oleosa (fase B). Para a preparação desta fase, começou-se por pesar o emulsionante e, seguidamente, foram-se adicionando os restantes ingredientes desta fase, pesados separadamente. Após as duas fases estarem preparadas, procedeu-se ao aquecimento de ambas, em recipientes separados, num banho termostaticado a uma temperatura compreendida entre 75 e 80°C. Nos procedimentos iniciais, outras temperaturas foram testadas (60–85°C). A água do banho teve de se encontrar ao mesmo nível que o conteúdo dos recipientes contendo as fases, para assegurar que o conteúdo de ambas permanecesse na temperatura desejada. Assim, que as duas fases atingiram a mesma temperatura ($\pm 3^\circ\text{C}$ de diferença), adicionou-se rapidamente a fase oleosa à fase aquosa dentro do banho. Seguidamente, efetuou-se a homogeneização da mistura fora do banho durante 2,5 minutos, na velocidade máxima do homogeneizador. Nos procedimentos iniciais, foram também testados mais tempos de homogeneização referenciados na Tabela 3.6. Após a homogeneização, agitou-se a mistura manualmente com uma vareta até atingir uma temperatura de aproximadamente $45\pm 3^\circ\text{C}$.

Tabela 3.6: Primeiro tempo de homogeneização (minutos) à temperatura ambiente (velocidade máxima do homogeneizador).

Formulação	Tempo de homogeneização (min.)
Amostra 1; Amostra 31; Amostra 32; Amostra 33	4,5
Amostra 27; Amostra 30	4
Amostra 28; Amostra 29	3,5
Amostra 2; Amostra 13; Amostra 14;	3
Amostra 9; Amostra 11	2,75
Amostra 6	2,25
Amostra 4; Amostra 22; Amostra 23; Amostra 25	2

Como alternativa ao procedimento adotado, foram testadas outras possibilidades tais como:

- Efetuar a mistura (fase A e B) fora do banho com agitação manual (Amostra 1; Amostra 2; Amostra 3; Amostra 5; Amostra 23; Amostra 29);
- Repor a água evaporada da fase aquosa (fase A) antes de efetuar a mistura da fase oleosa com a fase aquosa (Amostra 30, Amostra 33);
- Testou-se a inserção de um passo de agitação à pré-emulsão (fase A e B) com agitação mecânica durante 0,67 minutos (Amostra 4; Amostra 28).

Numa última fase, procedeu-se à preparação da fase fria (fase C e D). Começou-se por pesar a glicerina e a goma espessante e, seguidamente, com a ajuda de um misturador, dispersou-se a goma espessante (*Xanthan gum*) na glicerina. Pesaram-se os restantes ingredientes da fase C, e juntaram-se à dispersão já preparada. Quando a pré-emulsão (fase A e B), se encontrava a uma temperatura próxima de 45°C, adicionou-se a fase C e homogeneizou-se de novo a mistura por mais 1 minuto (velocidade mínima do homogeneizador). Na junção da fase C à pré-emulsão, foram também, testados outros tempos de homogeneização referenciados na Tabela 3.7. Nesta fase, foi ainda testado outro procedimento alternativo, que consistiu na introdução de agitação mecânica (15 minutos), ao fim de adicionar a fase C (Amostra 8). Deixou-se para último, o conservante e os óleos essenciais (fase D), por serem muito sensíveis à temperatura, apenas adicionaram-se à formulação quando atingiu a temperatura ambiente. O pH final da formulação, foi sempre medido e sempre que necessário, ajustado através da adição de ácido cítrico. Para ilustrar o processo de fabricação desenvolvido, foi criado um diagrama de blocos representando na Figura 3.1.

Tabela 3.7: Segundo tempo de homogeneização (minutos) testados à temperatura ambiente (velocidade mínima do homogeneizador).

Formulação	Tempo de homogeneização (min.)
Amostra 27	2
Amostra 13	1,75
Amostra 2; Amostra 12; Amostra 15; Amostra 16; Amostra 17; Amostra 18; Amostra 19; Amostra 20; Amostra 21; Amostra 24; Amostra 28; Amostra 29; Amostra 31, Amostra 32; Amostra 33	1,5
Amostra 9; Amostra 10; Amostra 11	1,25
Amostra 25	0,67

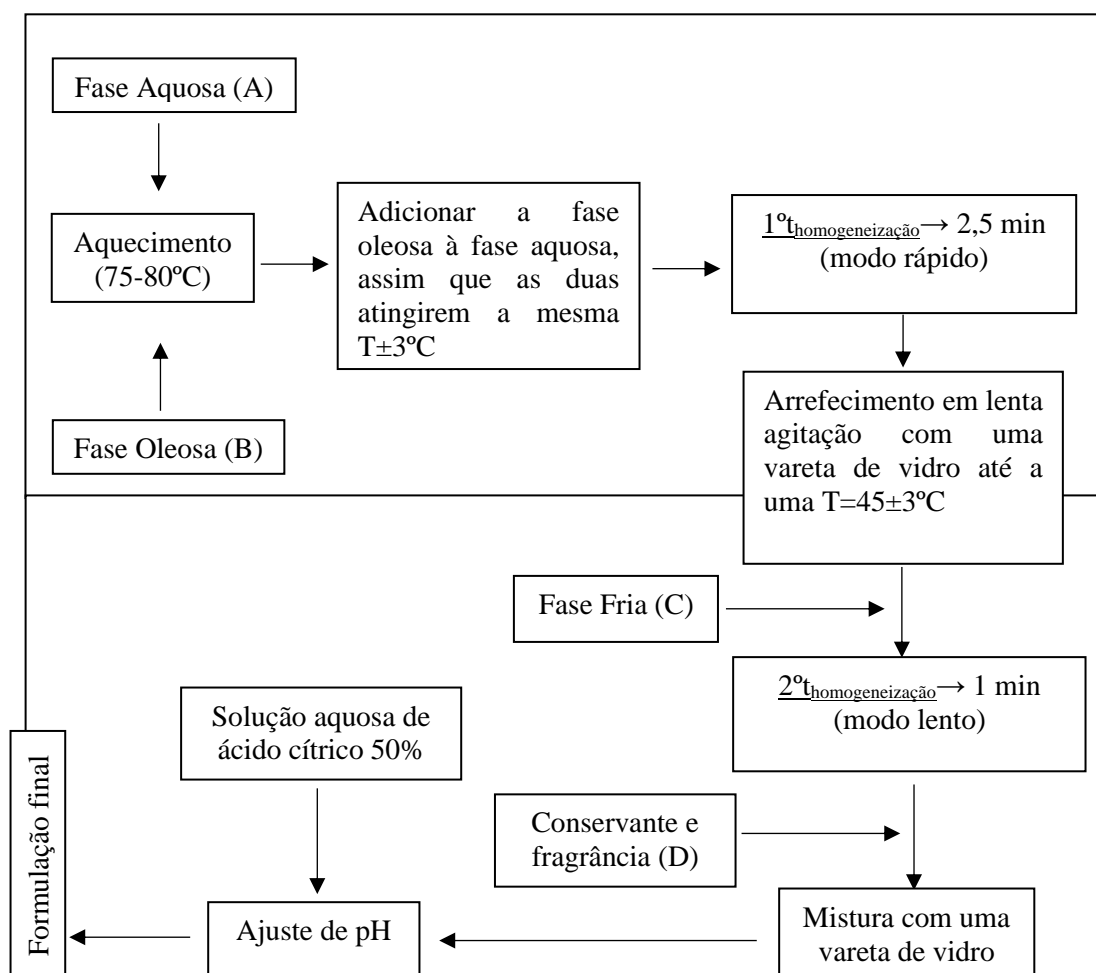


Figura 3.1: Diagrama de blocos ilustrativo do procedimento experimental para a preparação de 100g de emulsão com o equipamento Kai Blendia e BAMIX.

3.2.2. Aumento da escala de produção

O aumento de escala foi realizado seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. A partir de 150 g de creme, já foi necessário alterar os tempos de homogeneização (Tabela 3.8).

Tabela 3.8: Tempos de homogeneização em função da escala de produção, para o equipamento BAMIX.

Escala de produção	1º Tempo de homogeneização (min.)	2º Tempo de homogeneização (min.)
150 – 200g	4,5	1,5
>200 – 1000g	5,5	2,5

A quantidade máxima de material produzido foi de 3000 g, com o equipamento TEKNO STAMAP, onde mantiveram-se os tempos de homogeneização utilizados na escala de 150 a 200 g do equipamento BAMIX (Tabela 3.9). Em relação à mistura de fases, efetuaram-se na velocidade mínima do equipamento.

Tabela 3.9: Tempos de homogeneização em função da escala, para o equipamento TEKNO STAMAP.

Escala de produção	1º Tempo de homogeneização (min.)	2º Tempo de homogeneização (min.)
3000 g	4,5	1,5

3.3.Métodos de teste

3.3.1.Avaliação do grau de homogeneidade e aroma da emulsão

Ao longo do desenvolvimento, avaliou-se, por observação, o grau de homogeneidade e o aroma das várias amostras formuladas, 24 horas após terminar o processo de formulação. Na avaliação do grau de homogeneidade, as amostras foram classificadas de acordo com uma escala onde (●) correspondia à **máxima inomogeneidade** (completa separação de fases) e (●●●●) a uma emulsão **completamente homogénea**.

O aroma das formulações foi variando de acordo com a escolha do óleo essencial. Na fase final do desenvolvimento, efetuou-se a conjugação de diferentes óleos essenciais para construir o aroma da formulação final. Os aromas foram classificados de acordo com a mesma escala onde (●) correspondia a um aroma muito desagradável e (●●●●) correspondia a um aroma muito agradável.

3.3.2.Viscosidade durante a formulação

A viscosidade é uma variável que caracteriza um sistema em seu aspeto reológico. A avaliação deste parâmetro, fornece assim, uma indicação do comportamento do produto ao longo de um período de tempo.¹⁰⁵

Pelo facto, de não existir viscosímetro no laboratório da empresa, recorreu-se a um método alternativo para avaliar a viscosidade das amostras por comparação com produtos padrão (Anexo C). Este teste foi realizado mexendo as amostras e os padrões em recipientes iguais (23,50 g de produto) e

à mesma temperatura com uma vareta, para avaliar a resistência ao movimento da vareta. A viscosidade foi sempre avaliada após terem passado 24 horas do final da formulação, visto que a emulsão recém preparada leva um determinado tempo até atingir a viscosidade final.⁴³ Ao fim da avaliação de viscosidade de alguns produtos concorrentes existentes no mercado, definiu-se uma escala semi-quantitativa representada na Tabela 3.10, onde o 0 corresponde à mínima viscosidade e 10 à viscosidade máxima.

Tabela 3.10: Escala de avaliação da viscosidade das amostras de creme produzidas.

Escala	0	2	4	6	8	10
Características	Sem viscosidade	Sem viscosidade aparente	Creme pouco viscoso que flui	Creme de viscosidade intermedia	Creme viscoso que não flui com facilidade	Creme muito viscoso, que não flui
	viscosidade da água	glicerina	A	B	C	D

3.3.3. Determinação e ajuste de pH

Ao longo do desenvolvimento do produto, foi sempre necessário determinar o pH da formulação, após a adição da fase D. Para o efeito realizou-se uma diluição 1:10 e mediu-se o pH da solução. Pretendia-se manter o pH das formulações entre 4-6, como indicado em 1.3, e quando necessário, efetuou-se a correção do pH. Esta correção consistiu na adição de ácido cítrico a 50% para efetuar a redução do pH.

3.3.4. Avaliação sensorial

Sempre que possível foram dadas amostras do mesmo produto a mais do que uma pessoa, de forma a obter uma opinião mais concreta do desempenho da emulsão. Nesta avaliação era efetuado um questionário, contendo os parâmetros e a escala de avaliação representada na Tabela 3.11. O valor de cada parâmetro na escala de avaliação correspondeu à média das respostas obtidas. A maioria das vezes, as emulsões foram avaliadas por um painel de avaliação composto por membros da equipa de desenvolvimento de novos produtos da empresa Unibio.

Tabela 3.11: Parâmetros avaliados sensorialmente e respetiva escala de avaliação.

Antes da aplicação do creme	Aroma	1 (desagradável) → 10 (agradável)
	Intensidade do aroma	1 (pouco intenso) → 10 (muito intenso)
	Cor	1 (desagradável) → 10 (agradável)
	Intensidade da cor	1 (pouco intenso) → 10 (muito intenso)
	Aparência da textura	1 (textura pastosa) → 10 (textura cremosa)
Sensação ao aplicar o creme	Espalhabilidade	1 (péssima espalhabilidade) → 10 (ótima espalhabilidade)
	Boa absorção	1 (péssima absorção) → 10 (ótima absorção)
	Sem sensação de oleosidade	1 (muita oleosidade) → 10 (sem oleosidade)
	Sem sensação de pegajosidade	1 (muita pegajosidade) → 10 (sem pegajosidade)
	Sensação após a aplicação do creme	Hidratação
Suavidade		1 (pele áspera) → 10 (pele suave)
Brilho na pele		1 (brilho excessivo) → 10 (brilho agradável)
Bem tolerado		1 (mal tolerado na pele) → 10 (bem tolerado)

3.3.5. Análise através de sonda de luz polarizada

Para determinar o nível de descamação recorreu-se a uma sonda de luz polarizada, cujo o método de adesão permite recolher os corneócitos (flocos de células mortas). Assim, o número, tamanho e espessura dos corneócitos recolhidos indicam o nível de descamação/ hidratação do estrato córneo.

O indivíduo portador de pele seca (mulher com 24 anos), foi instruído a não usar nenhum produto cosmético 24 horas antes da experiência, exceto produtos de limpeza. Os cremes foram aplicados na zona da perna inferior ao joelho (canela), aplicando-se na perna esquerda a loção concorrente (A) e na perna direita a emulsão desenvolvida. As formulações foram aplicadas na superfície da pele com uma leve massagem por aproximadamente 15 segundos.

3.4. Testes de Estabilidade Acelerada

No final do processo de desenvolvimento foram selecionadas duas formulações finais que foram submetidas a testes de estabilidade acelerada. Para tal, as formulações cosméticas desenvolvidas foram embaladas na sua embalagem final (225 g de creme por embalagem) e armazenadas às temperaturas de $25,0 \pm 2,0$ °C, $40,0 \pm 2,0$ °C e $5,0 \pm 2,0$ °C, durante 4 semanas.

Um dia após o embalamento e ao fim de 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento nas diferentes condições de temperatura, as formulações cosméticas foram inspecionadas quanto às suas características organolépticas, pH, cor, estabilidade (ensaio de centrifugação) e contaminação microbiológica. No início e no final do ensaio foi ainda realizada uma determinação da viscosidade das emulsões. Foram igualmente avaliadas as próprias embalagens no sentido de se detetarem possíveis alterações.

3.4.1. Avaliação das características organolépticas

A cada 8 dias, as formulações cosméticas foram inspecionadas de forma a avaliar as suas características organolépticas. Nesta análise, as amostras foram avaliadas em relação ao seu aroma, coloração, grau de homogeneidade (separação de fases) e textura.

3.4.2. Ensaio de centrifugação

Os testes de centrifugação têm como objetivo produzir tensão na amostra, simulando um aumento da força de gravidade e aumentando a mobilidade das partículas, antecipando assim possíveis instabilidades. Essas mudanças podem aparecer na forma de precipitação, separação de fases, coalescência, entre outras.¹⁰⁵

Para realização deste ensaio, pesaram-se 10 g de cada amostra para tubos de centrífuga e centrifugou-se a 5000 rpm e a 25 °C, durante 10 minutos. No final da centrifugação as amostras foram analisadas visualmente para deteção de precipitados ou de separação de fases.¹⁰⁸

3.4.3. Medições colorimétricas

A cor das amostras foi medida usando um colorímetro instrumental, que foi calibrado usando um padrão de cor branca com valores tridimensionais definidos. O instrumento fornece a cor das amostras em termos do sistema de espaço de cores L^* , a^* e b^* . Neste espaço de cor, L^* representa a luminosidade, e a^* e b^* são coordenadas da cor: onde $+a$ vai em direção a vermelho, $-a$ vai em direção a verde, $+b$ vai em direção a amarelo e $-b$ vai em direção a azul. A variação de cor, entre duas amostras foi determinada usando a equação (1.2).¹⁰⁹

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (1.2)$$

Onde ΔE representa a diferença de cor total entre a cor medida coordenadas L^* , a^* e b^* de uma emulsão de teste e a emulsão de controlo.

3.4.4. Avaliação da viscosidade das fórmulas finais

A viscosidade das amostras foi avaliada 24 horas após a formulação e no final das 4 semanas de armazenamento às diferentes temperaturas. A viscosidade foi determinada recorrendo a um viscosímetro

Brookfield (HADV – II). A agulha nº6 foi a selecionada e o equipamento foi calibrado para uma rotação a 20 rpm. As medições foram realizadas à temperatura ambiente (25 °C).

3.4.5.Avaliação da Contaminação Microbiológica

As análises microbiológicas revelam-se fundamentais, principalmente se houver presença de água e componentes orgânicos numa formulação, que favoreça o crescimento de microrganismos. Em alguns casos, pode mesmo afetar a estrutura e influenciar a estabilidade do produto. Os ensaios microbiológicos permitem, também, verificar se foi feita a escolha adequada do sistema de conservação.¹⁰⁵

As análises microbiológicas realizadas, efetuaram-se sempre dentro de uma câmara de fluxo laminar de modo a garantir as condições de esterilidade. Os meios de cultura necessários foram esterilizados em autoclave a 122 °C durante 15 minutos. Todo o material que entrou em contacto direto com as amostras também se encontrava esterilizado.

3.4.5.1.Contagem de bolores e leveduras (Método ISO 16212:2008)

Suspendeu-se 1 g de creme em 9 mL de meio de enriquecimento (Eugon), agitou-se bem a mistura para dispersar por completo e plaqueou-se o total de 1 mL em meio SDCA, previamente preparado, e efetuou-se o espalhamento. As placas foram incubadas a (25±2) °C durante 5 dias e apenas se efetuou a contagem das placas que continham entre 15 a 150 colónias.¹¹⁰

3.4.5.2.Contagem de aeróbios mesófilos (Método ISO 21149:2006)

Suspendeu-se 1 g de creme em 9 mL de meio de enriquecimento (Eugon), agitou-se bem a mistura para dispersar por completo e plaqueou-se o volume total de 1 mL em meio TSA, previamente preparado, e efetuou-se o espalhamento. As placas foram incubadas a (32,5±2,5) °C durante 72 horas e apenas se efetuou a contagem das placas entre 30 e 300 colónias.¹¹¹

3.4.5.3.Pesquisa de Microrganismos Específicos

Em primeiro lugar, efetuou-se uma suspensão inicial (1g de creme + 9 mL de meio de enriquecimento Eugon), dispersou-se bem a mistura e incubou-se a suspensão inicial a (32,5±2,5) °C por pelo menos 20 horas (máximo 72 horas). Seguidamente, com uma ança, plaqueou-se a mistura no meio adequado, conforme o microrganismo (Tabela 3.12). Por último, colocou-se a placa na estufa durante o tempo e temperatura adequada, para o crescimento de cada microrganismo. No final do tempo de incubação as placas foram observadas para deteção e enumeração das colónias características de cada microrganismo pesquisado.^{112–115}

Tabela 3.12: Condições de crescimento dos microrganismos contaminantes do creme.¹¹²⁻¹¹⁵

Microrganismos pesquisados	Meio de cultura	Temperatura de crescimento	Tempo de crescimento	Aspetto das colónias características	Método
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Cetrimide agar</i>	(32,5±2,5) °C	24 a 48 horas	Colónias com pigmentos verde-amarelo	ISO 22717:2006
<i>Escherichia coli</i>	<i>MacConkey agar</i>	(32,5±2,5) °C	24 a 48 horas	Colónias rosas a vermelhas com precipitado	ISO 21150:2006
<i>Candida albicans</i>	SDCA	(32,5±2,5) °C	24 a 48 horas	Colónias brancas a bege, com um aspeto cremoso e convexo	ISO 18416:2007
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Chapman agar</i>	(32,5±2,5) °C	24 a 48 horas	Colónias negras e brilhantes, cercadas por zonas claras (2-5 mm)	ISO 22718:2006

3.5.Ciclos de congelamento e descongelamento

O objetivo deste ensaio é o de revelar problemas de uma forma mais rápida. Exemplos de problemas que podem ser detetados neste ensaio são a degradação ou quebra das embalagens, a separação de fases no produto ou a cristalização de ingredientes. Não existe uma norma para a realização deste teste. No entanto, é comum a realização de pelo menos três ciclos para produtos contendo água.¹¹⁶ Assim, para a realização deste ensaio realizaram-se 3 ciclos de 24 horas, tendo as amostras sido armazenadas durante 12 horas a uma temperatura de aproximadamente -18 °C e durante 12 horas à temperatura ambiente (≈ 25 °C). No final dos três ciclos, avaliou-se o pH, cor, estabilidade (ensaio de centrifugação) e características organoléticas das amostras testadas, comparativamente com a amostra original. Foi igualmente avaliada a integridade da embalagem.

3.6.Ensaio de Eficácia de Conservantes (EEC)

O ensaio de eficácia dos conservantes foi realizado de acordo com a norma ISO 11930 destinada a produtos cosméticos.

Primeiramente, efetuou-se a suspensão inicial dos microrganismos em solução diluente (*tryptone-salt broth*). Para tal, os microrganismos foram inoculados em placas de Petri contendo meio TSA (*P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*) ou meio SDA (*C. albicans*) e as placas foram incubadas durante 24 ou 48 horas (*C. albicans*). A suspensão inicial para a realização dos ensaios foi preparada a partir destas placas, transferindo-se, com o auxílio de uma ansa, colónias para um tubo contendo 3,0 mL de *tryptone-salt broth*. A turbidez da suspensão de microrganismos foi ajustada a cerca de 0,5 na escala de McFarland, o que corresponde a uma densidade celular de 1×10^8 UFC/mL, no caso das bactérias ou 1×10^6 UFC/mL no caso da levedura. As suspensões assim preparadas foram de seguida diluídas (1:10) em *tryptone-salt broth*. Para o fungo filamentosos procedeu-se de uma forma diferente. Assim, neste

caso, retiraram-se esporos de uma placa de Petri com 5 dias de crescimento em meio PDA, para um tubo contendo uma solução 0,05 % (v/v) de *tween-80* (polisorbato-80), de modo a facilitar a dispersão dos esporos, até se obter uma suspensão com uma concentração de 1×10^7 esporos/mL.

Posteriormente, inoculou-se em cada recipiente contendo 20 g de emulsão, 200 μ L de cada uma das 5 suspensões microbianas e efetuou-se bem a mistura. As emulsões foram analisadas imediatamente após a contaminação e ao longo de 28 dias de armazenamento à temperatura de $22,5 \pm 2,5$ °C. Foi igualmente preparada uma amostra à qual não se efetuou nenhuma contaminação para funcionar como controlo negativo.

Para análise das amostras, pesou-se 1 g de cada creme já contaminado para um novo frasco estéril, juntou-se 9 mL do agente neutralizante (Eugon), agitou-se a mistura com o auxílio do vortex até garantir a máxima homogeneização e aguardaram-se 30 minutos. Seguidamente, efetuaram-se 5 diluições seriadas (1:10) em *tryptone-salt broth*, tendo cada uma destas diluições sido plaqueada em placas de Petri contendo os meios de cultura adequados (Tabela 3.13). Finalmente, as placas foram colocadas em estufas e incubadas de acordo com as temperaturas e tempos de incubação indicados para o crescimento de cada microrganismo (Tabela 3.13). No final de período de incubação o número de colónias em cada placa foi registado, tendo-se apenas contabilizado as placas com um número de colónias entre 30 e 300, no caso das bactérias e da levedura, e entre 15 e 150, no caso do fungo filamentoso.

Tabela 3.13: Condições de crescimento para os microrganismos indicados pela norma ISO 11930:2012.¹⁰⁷

	Microrganismos	Meios de cultura	Temperatura de incubação	Tempo de incubação
Bactérias	<i>S. aureus</i>	<i>Tryptic Soy Agar</i> (TSA)	$(32,5 \pm 2,5)$ °C	2 a 3 dias
	<i>P. aeruginosa</i>			
	<i>E. coli</i>			
Levedura	<i>C. albicans</i>	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i> (SDA)	$(32,5 \pm 2,5)$ °C	
Fungo	<i>A. brasiliensis</i>	<i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	$(22,5 \pm 2,5)$ °C	3 a 5 dias

Capítulo 4.

Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

4.1. Desenvolvimento da emulsão hidratante

4.1.1. Estabelecimento de uma base de formulação estável

A etapa inicial baseou-se no desenvolvimento de uma base de formulação estável, ou seja, que contivesse uma textura adequada a um creme hidratante corporal, com o mínimo desempenho de hidratação para posterior aperfeiçoamento e que cumprisse os requisitos mínimos de estabilidade, sem alterações no aroma, cor e sem separação de fases. Múltiplos ingredientes e condições experimentais foram testadas para obter melhorias entre cada formulação. Em todas as formulações, efetuou-se uma recolha de informação sobre o aroma, foram testadas várias conjugações dos óleos essenciais ao longo do desenvolvimento, que foram relevantes para chegar ao aroma da formulação final.

Deve-se referenciar que o produto cosmético desenvolvido, será produzido e colocado no mercado. Por esse motivo, é absolutamente fundamental assegurar a confidencialidade das formulações. Todas as tabelas apresentadas nos resultados com as quantidades dos ingredientes utilizados, resultam de uma normalização da faixa de valores fornecida no Anexo A.

Começou-se por definir uma formulação básica hidratante, representada na Tabela 4.1, tendo como referência formulações encontradas na literatura e também a análise da lista de ingredientes de produtos encontrados no mercado.^{55,117,118} O procedimento experimental inicial foi elaborado com base na ficha técnica do emulsionante testado.^{48,55}

Tabela 4.1: Formulação da Amostra 1. Componentes de cada fase e respetivos valores de concentração (%), resultantes da normalização da faixa de valores fornecida no Anexo A.

Fase	Componentes (INCI)	Amostra 1
A	<i>Aqua</i>	63,88
	<i>Aloe barbadensis leaf juice powder</i>	80,00
	<i>Polyglyceryl-3 distearate; glyceryl stearate citrate</i>	70,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	100,00
B	<i>Cocos nucifera oil</i>	60,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	60,00
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	50,00
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	83,33
C	<i>Citrus ladaniferus distillate water</i>	50,00
	<i>Panthenol</i>	40,00
	<i>Tocopherol</i>	50,00
	<i>Glycerin</i>	40,00
	<i>Xanthan gum</i>	40,00

Passadas 24 horas, efetuou-se a avaliação do creme, a formulação resultou numa emulsão homogênea. No entanto, ficou demasiado espessa e com uma textura pastosa (Figura 4.1). Ao aplicar na pele, gerava um efeito de branqueamento, que apresentava dificuldades na espalhabilidade e absorção na pele. De acordo com a literatura, o efeito espesso advém dos ingredientes gordurosos mais sólidos testados, como era o caso do álcool cetearílico (*Cetearyl alcohol*), óleo de coco (*Cocos nucifera oil*) e manteiga de karité (*Butyrospermum parkii butter*), a função destes ingredientes, passa também, por fornecer maior consistência à emulsão. Sem estas gorduras sólidas a maioria dos cremes possuiria uma aparência muito líquida.⁵⁵ O tempo de homogeneização também pode ter influência na reologia do produto. Neste contexto, tendo em consideração todos estes parâmetros, desenvolveram-se novas formulações para chegar à viscosidade pretendida (Tabela 4.2).



Figura 4.1: Aspeto visual da Amostra 1.

Tabela 4.2: Formulações das amostras revelantes para obtenção de uma reologia aceitável.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras			
		2	3	4	5
A	<i>Aqua</i>	80,13	80,38	81,06	80,75
	<i>Polyglyceryl-3 distearate; glyceryl stearate citrate</i>	70,00	70,00	60,00	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	50,00	50,00	50,00	50,00
B	<i>Cocos nucifera oil</i>	60,00	60,00	60,00	60,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	60,00
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	50,00	50,00	50,00	50,00
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	83,33	83,33	83,33	83,33
	<i>Chamomilla recutita flower water</i>	50,00	-	-	-
	<i>Lavandula angustifolia flower water</i>	-	50,00	-	-
	<i>Aqua</i>	-	-	50,00	50,00
C	<i>Panthenol</i>	40,00	40,00	40,00	40,00
	<i>Tocopherol</i>	50,00	50,00	50,00	50,00
	<i>Glycerin</i>	40,00	40,00	40,00	40,00
C	<i>Xanthan gum</i>	40,00	20,00	15,00	-
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	-	-	-	80,00

Estas formulações foram o início do desenvolvimento do creme hidratante corporal. Na Amostra 2, diminuiu-se a concentração de *Cetearyl alcohol* para metade (Tabela 4.2) em comparação com a formulação anterior (Amostra 1), verificou-se que não afetou muito a textura do creme, a emulsão continuou com efeito pastoso (espesso), que apresentava dificuldades em ser absorvida e gerava o efeito de branqueamento, tal como na emulsão anterior.

De modo a compreender a influência do espessante na estabilidade e viscosidade da emulsão, na formulação da Amostra 3 reduziu-se a concentração de *Xanthan gum* para metade. Com esta alteração obteve-se um produto estável e homogéneo, com uma textura menos espessa que as formulações anteriores (Figura 4.2), verificando assim que a quantidade da goma espessante possui uma grande influência na viscosidade do creme, como seria esperado.⁵⁴

Na Amostra 4, testou-se a influência do emulsionante, reduziu-se ligeiramente a sua quantidade na formulação, assim como se reduziu ligeiramente a quantidade de goma espessante (Tabela 4.2). No entanto, a viscosidade não baixou, pelo contrário aumentou, o que não era esperado porque a maioria dos agentes ativos de superfície, como é o caso do emulsionante, possui efeitos marcantes na viscosidade da fase em que são dissolvidos ou dispersos.¹¹⁹ No entanto, o facto da viscosidade ter aumentado, pode também, ter resultado da inserção de um passo de agitação mecânica durante a mistura da fase oleosa com a fase aquosa. De referir, que o efeito de branqueamento, continuou a ser um problema, não sendo influenciado pelo aumento da percentagem de emulsionante.



Figura 4.2: Aspeto visual das Amostras 3 e 5, respetivamente.

Na formulação da Amostra 5, retirou-se por completo a goma espessante (*Xanthan gum*). Em comparação com as formulações anteriores, resultou numa emulsão com muito menor viscosidade, em que ao espalhar já não se verificava o efeito de branqueamento. Como o único ingrediente alterado foi o espessante, este resultado, levou, assim, a ponderar que fosse esta goma o ingrediente responsável tanto pela elevada viscosidade da emulsão, como pelo efeito sabão (branqueamento) que se gerava ao espalhar o creme. No entanto, apesar de ter resultado em uma emulsão visualmente estável (Figura 4.2), existia falta de consistência na textura. Os ingredientes espessantes, exercem mais do que um papel na formulação. A longo prazo podem fornecer estabilidade à emulsão, por exemplo, permitem que esta

permaneça praticamente constante quando se altera a temperatura. Os espessantes conseguem neutralizar um processo de emulsificação que falhe, ajudam a unir ingredientes ativos e estabilizam o processo de emulsificação.⁵⁵ Por isso a sua presença pode tornar-se importante a longo prazo.

4.1.2. Incorporação de ingredientes ativos no creme

O passo seguinte do progresso da formulação, consistiu na introdução de ingredientes ativos no creme (Tabela 4.3), com o intuito de melhorar a espalhabilidade, hidratação e absorção. Nesta fase, foi introduzido o humectante (*Sodium PCA*), o emoliente *Isoamyl laurate*, *isoamyl cocoate* um ingrediente alternativo aos silicões e também foram testados os efeitos de outros óleos vegetais nas formulações (*Vitis vinifera seed oil*, *Macadamia ternifolia seed oil* e *Borago officinalis seed oil*). Os óleos vegetais apresentam diferentes constituições, pelo que cada um oferece diferentes propriedades na pele. Sendo importante estudar o efeito de vários óleos, para obter o melhor equilíbrio possível.

Tabela 4.3: Formulações das amostras relevantes após a introdução de ingredientes ativos.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras		
		6	7	8
A	<i>Aqua</i>	75,75	73,38	56,75
	<i>Aloe barbadensis leaf juice powder</i>	-	-	80,00
	<i>Polyglyceryl-3 distearate; glyceryl stearate citrate</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Isoamyl laurate, isoamyl cocoate</i>	40,00	20,00	-
	<i>Cetearyl alcohol</i>	50,00	25,00	25,00
	<i>Cocos nucifera oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	60,00	50,00	50,00
B	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	50,00	50,00	70,00
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	50,00	60,00	60,00
	<i>Macadamia ternifolia seed oil</i>	-	60,00	60,00
	<i>Borago officinalis seed oil</i>	-	50,00	50,00
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	66,67	-	50,00
C	<i>Aqua</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Glycerin</i>	40,00	40,00	40,00
	<i>Panthenol</i>	30,00	30,00	30,00
	<i>Tocopherol</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Sodium PCA</i>	25,00	25,00	30,00
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	40,00	-	-
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	40,00	30,00	-
	<i>Lavandula angustifolia oil</i>	-	30,00	-

Na Amostra 6, com a introdução de diferentes ingredientes ativos, resultou, ao contrário do que era pretendido, num produto com demasiada viscosidade, com uma textura e aspeto desadequados (Figura 4.3). Além dos ingredientes introduzidos, o tempo de aquecimento da fase oleosa e da fase

aquosa foi de aproximadamente 1 hora, com isto pode ter ocorrido evaporação da fase aquosa, o que pode ter estado na origem da textura demasiado pastosa. Ao aplicar na pele, o creme deixava um grande efeito de oleosidade/ brilho que resultou da elevada percentagem que foi incorporada de *Isoamyl laurate*, *Isoamyl cocoate*. De forma a contrariar o efeito da formulação anterior, na Amostra 7, efetuaram-se as seguintes alterações de modo a conseguir obter uma melhor reologia:

- Reduziu-se para metade a quantidade de *Isoamyl laurate*, *Isoamyl cocoate* e de *Cetearyl alcohol*;
- Reduziu-se o óleo de girassol (*Helianthus annuus seed oil*) e incorporou-se óleo de borragem (*Borago officinalis seed oil*) e óleo de macadâmia (*Macadamia ternifolia seed oil*);
- Retirou-se a manteiga de karité (*Butyrospermum parkii butter*), como referido anteriormente, ingredientes com altos pontos de fusão são responsáveis pelo aumento da viscosidade;
- Aumentou-se a quantidade de óleo de grainha de uva (*Vitis vinifera seed oil*).

Com estas alterações, o produto resultante (Amostra 7), melhorou ligeiramente a espalhabilidade em relação às formulações anteriores e ficou com uma melhor textura, com um aspeto mais atrativo, como se pode verificar na Figura 4.3. Este bom desempenho, resultou da combinação de uma grande quantidade de óleos vegetais, onde se reduziu a quantidade de óleos sólidos e incorporou-se maiores quantidades de óleos líquidos.²³ No entanto, a viscosidade ainda se encontrava um pouco elevada e ao aplicar na pele continuava a deixar uma sensação muito oleosa, apesar de fornecer boa hidratação.



Figura 4.3: Aspeto visual das Amostras 6, 7 e 8, respetivamente.

Na Amostra 8, testou-se outro procedimento experimental, inseriu-se agitação mecânica durante 15 minutos, após adição da fase C, de forma a avaliar o efeito da agitação na textura da emulsão. Nesta formulação já não se incorporou o *Isoamyl laurate*, *Isoamyl cocoate*, introduziu-se novamente a manteiga de karité, mas em menor quantidade, e aumentou-se a quantidade de óleo de jojoba (*Simmondsia chinensis seed oil*). O resultado foi uma emulsão com uma textura cremosa (Figura 4.3), com melhor aspeto, melhor espalhabilidade e sem deixar tanta oleosidade na pele. No entanto, este procedimento não pôde ser adotado porque passado uma semana da formulação, começaram a surgir sinais de instabilidade, como o aparecimento de uma camada de óleo na superfície do creme, fenómeno conhecido por formação de creme (referido no capítulo 1.5.2.1), que ocorre devido aos óleos apresentarem uma densidade menor que a da fase aquosa, assim, à medida que gotículas maiores sobem

e se concentram, começam a surgir na superfície do creme. Contudo, este fenómeno é reversível por agitação.¹²⁰

Com o objetivo de obter uma emulsão que contivesse um aspeto mais cremoso, sem recorrer a mudanças no procedimento e de forma que se mantivesse estável, para podermos avaliar a sua evolução ao longo do tempo, efetuaram-se as seguintes alterações à formulação da Amostra 8:

- Incorporou-se uma nova goma espessante (*Acacia Senegal gum*; *xanthan gum*);
- Alterou-se o óleo de borragem (*Borago officinalis seed oil*) por óleo de semente de alperce (*Prunus armeniaca kernel oil*), uma vez que o óleo de semente de alperce fornece uma sensação mais leve e penetra na pele a uma velocidade ligeiramente mais rápida;¹²¹
- E pela primeira vez, introduziu-se conservante na formulação, de forma a poder avaliar a estabilidade da formulação a longo prazo.

O conservante introduzido (*Aqua*, *sodium benzoate*, *potassium sorbate*), exerce efeito de preservação nos produtos, desde que o pH seja inferior a 5,5. Por isso no final da formulação, foi necessário ajustar o pH com ácido cítrico (Tabela 4.4), de forma a conseguir obter um pH final inferior a 5,5.

Tabela 4.4: Formulações das amostras relevantes após a introdução do conservante e do *Heptyl Undecylenate*.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras	
		9	10
A	<i>Aqua</i>	68,38	66,56
	<i>Polyglyceryl-3 distearate</i> ; <i>glyceryl stearate citrate</i>	60,00	60,00
	<i>Ceteryl alcohol</i>	25,00	25,00
	<i>Heptyl undecylenate</i>	-	40,00
	<i>Cocos nuciferus oil</i>	60,00	60,00
	<i>Helianthus annus seed oil</i>	60,00	60,00
B	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	70,00	70,00
	<i>Prunus armeniaca kernel oil</i>	60,00	50,00
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00
	<i>Macadamia ternifolia seed oil</i>	60,00	60,00
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	50,00	50,00
	<i>Chamomilla recutita flower water</i>	50,00	50,00
C	<i>Glycerin</i>	40,00	40,00
	<i>Panthenol</i>	30,00	30,00
	<i>Tocopherol</i>	50,00	50,00
	<i>Acacia senegal gum</i> ; <i>xanthan gum</i>	30,00	30,00
	<i>Sodium PCA</i>	35,00	35,00
	<i>Citric acid</i> (solução aquosa a 50%)	10,00	5,00
D	<i>Aqua</i> , <i>sodium benzoate</i> , <i>potassium sorbate</i>	66,67	66,67
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	40,00	40,00

A Amostra 9, com as alterações efetuadas melhorou a textura, ficou mais cremosa, com melhor absorção e razoável espalhabilidade. No entanto, continuava o efeito de oleosidade, deixava a pele com um brilho excessivo. O conservante foi o último ingrediente a ser adicionado, e notou-se que ao incluí-lo, o creme ficou com uma consistência ligeiramente mais fluída, o que levou a ponderar que podia possuir alguma influência na viscosidade do produto. De facto, existem conservantes que interagem com componentes da formulação, por exemplo, com os emulsionantes, e podem mesmo alterar a viscosidade e na pior das hipóteses podem potenciar a separação de fases da emulsão.⁸⁵ Assim, foi necessário ter em atenção algum sinal de instabilidade.

De forma a contrariar o efeito de oleosidade que tinha ocorrido na formulação anterior, uma vez que a emulsão hidratante se destina a consumidores com pele normal, e, por isso, não se pretende que deixe a pele oleosa, testou-se o emoliente *Heptyl undecylenate*. Este ingrediente, foi incorporado na formulação da Amostra 10 e consiste num emoliente alternativo aos silicones. Segundo indicações do fornecedor, este ingrediente proporciona uma sensação mais seca e de menor oleosidade e ao mesmo tempo melhora a espalhabilidade.¹²² De facto, o resultado foi muito favorável, pois, a emulsão ficou ligeiramente mais fluída (Figura 4.4), com melhor espalhabilidade e sem deixar oleosidade ou pegajosidade na pele. No entanto, o *Heptyl undecylenate* tem como desvantagem ser dispendioso, sendo que foi colocada um pouco de parte a opção de o utilizar na formulação. A conjugação do hidrolato de camomila com o óleo essencial de gerânio, não se encontrava equilibrado e apresentava um aroma demasiado forte.



Figura 4.4: Aspeto visual das Amostras 9 e 10, respetivamente.

4.1.3. Avaliação de alternativas ao emulsionante

Na fase do desenvolvimento de um produto, é limitativo ficar dependente de um único ingrediente para uma dada função. Assim, experimentou-se um novo emulsionante (*Polyglyceryl-3 methylglucose distearate*), uma das opções disponíveis no laboratório da empresa. Para verificar qual dos dois emulsionantes possuía melhor desempenho, formulou-se uma emulsão muito semelhante com a Amostra 9, a Amostra 11 cuja a formulação encontra-se representada na Tabela 4.5. O pH ideal para uma formulação estável, tem de se situar na gama de pH compreendida entre 4,5 até 8,5.⁵⁰

Tabela 4.5: Formulações das amostras relevantes após a introdução do novo emulsionante.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras		
		11	12	13
A	<i>Aqua</i>	68,70	69,21	69,06
	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	25,00	40,00	40,00
	<i>Cocos nucifera oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	60,00	50,00	60,00
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	70,00	70,00	70,00
B	<i>Prunus armeniaca kernel oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00	70,00
	<i>Macadamia ternifolia seed oil</i>	60,00	60,00	-
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Copernicia cerifera wax</i>	-	-	40,00
C	<i>Chamomilla recutita flower water</i>	50,00	-	-
	<i>Rosa damascena distillate</i>	-	50,00	50,00
	<i>Glycerin</i>	40,00	40,00	40,00
	<i>Panthenol</i>	30,00	30,00	30,00
	<i>Tocopherol</i>	25,00	25,00	25,00
	<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>	30,00	20,00	20,00
	<i>Sodium PCA</i>	40,00	40,00	50,00
	<i>Citric Acid (solução aquosa a 50%)</i>	18,00	18,00	10,00
	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67	66,67
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	20,00	30,00	30,00
D	<i>Citrus limon peel oil</i>	16,00	-	-
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	16,00	-	-

A Amostra 11 resultou numa emulsão com a textura muito mais fluída, tornando-se muito mais atrativa, quando comparada com a Amostra 9. O primeiro emulsionante, além de tornar as emulsões mais viscosas, também provocava excesso de oleosidade na pele. No entanto, a Amostra 11 possuía muito pouca viscosidade, semelhante a uma loção e não a um creme (como era pretendido). Ao espalhar na pele criava um ligeiro efeito de branqueamento, assim, de modo a diminuir este efeito e a atingir a viscosidade ambicionada na formulação seguinte (Amostra 12), aumentou-se a percentagem de *Cetearyl alcohol* de forma a dar mais consistência ao creme e diminuiu-se a quantidade de goma espessante. De facto, o resultado foi muito positivo (Figura 4.5), a Amostra 12 apresentou muito potencial, devido à sua textura, hidratação e ao aroma proveniente do hidrolato de rosa e gerânio que foram muito bem aceites pelo painel de avaliação. Em relação ao efeito de branqueamento, atenuou moderadamente, apesar de estar muito próxima da textura pretendida e viscosidade, a espalhabilidade e o brilho na pele, continuavam a falhar na formulação.



Figura 4.5 - Aspeto visual das Amostras 11, 12 e 13, respetivamente.

Pretendia-se encontrar um novo ingrediente que conseguisse “neutralizar” o brilho. Assim, na formulação da Amostra 13 testou-se um novo ingrediente, a cera de Carnaúba (Tabela 4.5). O resultado foi uma emulsão com pouco brilho na pele, mas que, no entanto, revelou-se espessa (Figura 4.5) e na pele deixava uma sensação pegajosa, com péssima espalhabilidade. Tal efeito, pode não ter resultado apenas da cera de carnaúba, mas também de uma possível evaporação da fase aquosa, pois ambas as fases tiveram de atingir uma temperatura acima de 80°C, de forma a conseguir fundir a cera de carnaúba. A partir desta experiência, deixou-se de utilizar o hidrolato de rosa por ser um ingrediente dispendioso e continuou-se a testar com o hidrolato de camomila. Estes dois hidrolatos possuem um efeito semelhante, fornecendo ambos propriedades calmantes e relaxantes para a pele.⁵⁶

4.1.4. Introdução de ingredientes alternativos aos silicões

Para melhorar a espalhabilidade da Amostra 13, recorreu-se ao óleo de brócolo (*Brassica oleracea italica seed oil*) para tentar substituir o efeito dos silicões. Testou-se, também, um procedimento alternativo para tentar evitar a evaporação da fase aquosa e substituiu-se o óleo de macadâmia (*Macadamia ternifolia seed oil*) e o óleo de alperce (*Prunus armeniaca kernel oil*), pelo azeite (*Olea europaea fruit oil*). O azeite, além de ser um excelente hidratante, é um ingrediente português, tornando-se uma excelente alternativa para um ingrediente diferenciador do produto.

Na Amostra 14, tentou fundir-se a cera de carnaúba à parte, mas não foi bem-sucedida a experiência, ao tentar introduzir a cera de carnaúba fundida dentro da fase oleosa, esta solidificava de imediato e, por isso, apenas se conseguiu transferir uma quantidade muito pequena. Além disso, foi, igualmente, necessário atingir uma temperatura elevada, para conseguir fundir a pequena quantidade que se conseguiu transferir, ocorrendo novamente evaporação da fase aquosa, resultando numa emulsão com demasiada viscosidade (Figura 4.6), semelhante à Amostra 13. A cera de carnaúba, acabou por ser excluída da lista de ingredientes da formulação derivado à dificuldade processual que apresentava e à elevada viscosidade que fornecia às emulsões, apesar de retirar o efeito de oleosidade/ brilho que ficava na pele.

Tabela 4.6: Formulações das amostras relevantes após a introdução de alternativas aos silicones.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras	
		14	15
A	Aqua	73,50	74,01
	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	25,00	50,00
	<i>Caprylic/capric triglyceride</i>	-	60,00
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	100,00	50,00
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	66,67	66,67
	<i>Oenothera biennis seed oil</i>	-	50,00
B	<i>Cocos nuciferus oil</i>	60,00	-
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	-
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	60,00	60,00
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	50,00	66,67
	<i>Copernicia cerifera wax</i>	10,00	-
	<i>Chamomilla recutita flower water</i>	50,00	50,00
C	<i>Glycerin</i>	40,00	40,00
	<i>Panthenol</i>	30,00	30,00
	<i>Tocopherol</i>	25,00	25,00
	<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>	20,00	20,00
D	<i>Sodium PCA</i>	40,00	45,00
	<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>	10,00	10,00
	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	20,00	18,00



Figura 4.6: Aspeto visual das Amostras 14 e 15, respetivamente.

Na formulação da Amostra 15 representada na Tabela 4.6, além do óleo de brócolo e do azeite, incorporou-se óleo de coco fracionado (*Caprylic/capric triglyceride*), que se torna muito menos oleoso que o óleo de coco puro e ao mesmo tempo consegue melhorar a espalhabilidade, por apresentar propriedades semelhantes aos silicones. Também substituiu-se o óleo de girassol por óleo de prímula (*oenothera biennis seed oil*), uma vez que permite um efeito de absorção mais rápido, tornando-se quase

seco na pele.¹²¹ O resultado foi uma emulsão com bom potencial (Figura 4.6), que além de apresentar melhor espalhabilidade e absorção, não deixava muito efeito de brilho na pele. Em relação ao aroma encontrava-se agradável e equilibrado.

4.1.5. Escolha dos ingredientes diferenciadores

Na alimentação já se retira partido dos compostos potenciais presentes na bolota (*Quercus fruit extract*), no entanto, esta ainda é pouco explorada em cosmética. Contudo, sabe-se que a bolota possui uma forte atividade antioxidante, que poderá ser benéfica para proteção da pele. Neste contexto, selecionou-se a bolota como ingrediente diferenciador do produto, pelas suas propriedades antioxidantes e por cumprir com o potencial de *marketing*, uma vez que este ingrediente ainda pouco explorado neste ramo. Introduziram-se, assim, dois ingredientes portugueses (Tabela 4.7), a bolota e o azeite.

Tabela 4.7: Amostra 16 após a introdução de *Quercus fruit extract*.

Fases	Componentes (INCI)	Amostra 16
A	<i>Aqua</i>	49,01
	<i>Quercus fruit extract</i>	66,67
	[]	74,32
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	50,00
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	60,00
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	50,00
	<i>Olea europaea oil</i>	66,67
	<i>Oenothera biennis seed oil</i>	50,00
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	60,00
	<i>Vitis vinefera seed oil</i>	60,00
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	66,67
	<i>Chamomilla recutita flower water</i>	50,00
C	<i>Glycerin</i>	40,00
	<i>Panthenol</i>	30,00
	<i>Tocopherol</i>	25,00
	<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>	20,00
	<i>Sodium PCA</i>	45,00
	<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>	9,00
	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67
D	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	10,00

A incorporação de infusão de bolota na formulação da Amostra 16, resultou numa emulsão muito semelhante à Amostra 15 (constituição semelhante). A infusão de bolota não influenciou a viscosidade do produto (Figura 4.7), apenas interferiu com a cor e com o aroma. De referenciar que a

cor, é um parâmetro muito importante para o consumidor, tornando o produto mais atrativo e aumentando a sua aceitação.³⁷



Figura 4.7: Aspeto visual da Amostra 16.

Segundo a opinião de um avaliador especializado, a Amostra 16, apesar de possuir uma menor quantidade de óleos vegetais, tornava-se mais oleosa que a Amostra 12, sugerindo que, muito possivelmente não se estava a utilizar a melhor conjugação de óleos, visto que diferentes óleos, penetram em taxas diferentes na pele. Quanto mais saturado for um óleo, mais lenta será sua penetração na pele.¹²¹

Nas formulações seguintes testou-se o efeito de diferentes óleos vegetais. Assim, retirou-se o óleo de jojoba e prímula e incorporou-se óleo de cânhamo (*Cannabis sativa seed oil*), óleo de cártamo (*Carthamus tinctorius seed oil*) e manteiga de cacau (*Theobroma cacao seed butter*). Nestas formulações, também, foram avaliadas diferentes concentrações de bolota (Tabela 4.8).

Na Figura 4.8, é possível visualizar o aumento da cor resultante do aumento da concentração de bolota (Tabela 4.8). Dentro das diferentes concentrações de bolota que foram testadas, apenas se verificou novamente que alterava o aroma e a cor. As duas concentrações mais baixas, foram as que se destacaram mais visualmente, por se tornarem cores mais suaves, descartando a concentração mais alta testada (Amostra 18).



Figura 4.8: Aspeto visual das Amostras 17, 18 e 19, respetivamente.

Tabela 4.8: Formulações das amostras na ausência e presença de manteigas vegetais.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras		
		17	18	19
A	<i>Aqua</i>	49,89	47,39	47,26
	<i>Quercus fruit extract</i>	66,67	66,67	66,67
	[]	49,86	100,00	24,89
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	40,00	40,00	40,00
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Vitis vinefera seed oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	33,33	33,33	33,33
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	25,00	25,00	25,00
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	-	-	66,67
	<i>Butyrospermum parkii butter</i>	-	66,67	-
	C	<i>Aqua</i>	50,00	50,00
<i>Panthenol</i>		30,00	30,00	30,00
<i>Tocopherol</i>		25,00	25,00	25,00
<i>Glycerin</i>		40,00	40,00	40,00
<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>		20,00	20,00	20,00
<i>Sodium PCA</i>		45,00	45,00	45,00
<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>		9,00	9,00	13,00
D	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67	66,67
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	-	-	16,00
	<i>Citrus aurantium dulcis peel oil</i>	20,00	-	-
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	-	10,00	-
	<i>Litsea cubeba oil</i>	-	10,00	16,00

A partir de determinado momento, os mínimos estavam cumpridos e foi necessário avaliar mais profundamente cada um dos cremes, variando apenas um ou dois ingredientes. Começaram-se a realizar questionários aos avaliadores, de forma a conseguir perceber o que mais procuravam numa emulsão hidratante corporal.

Numa primeira fase avaliou-se a influência das manteigas vegetais (Figura 4.9).

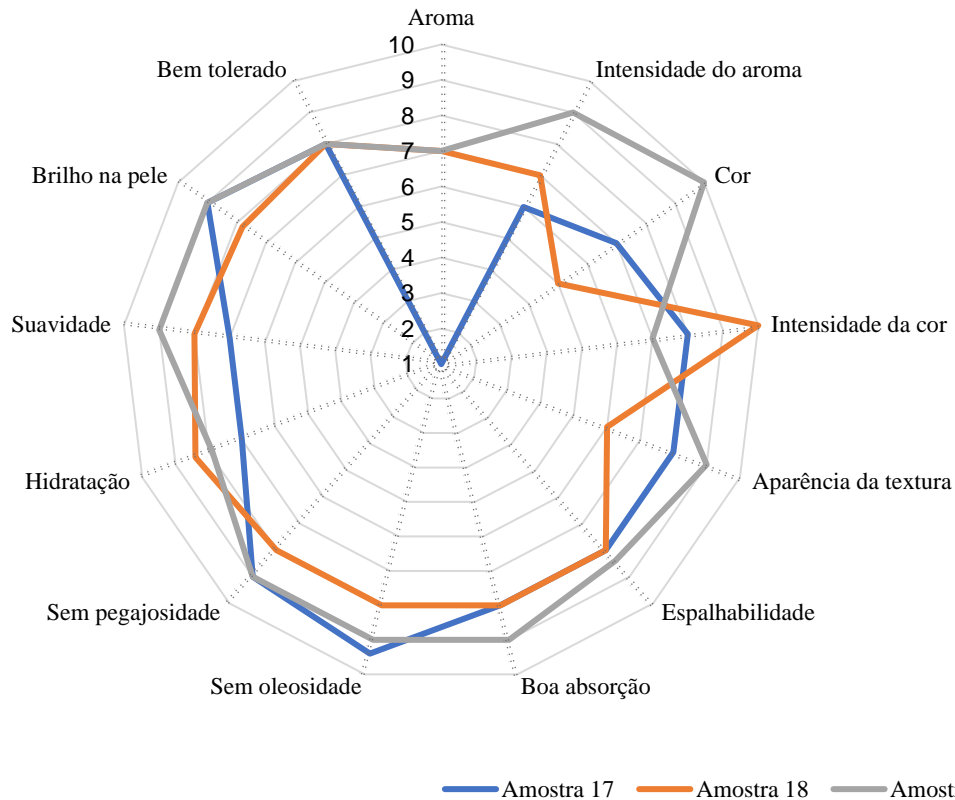


Figura 4.9: Avaliação sensorial das formulações sem manteigas vegetais (Amostra 17), com manteiga de karité (Amostra 18) e com manteiga de cacau (Amostra 19).

Segundo a avaliação dos avaliadores (Figura 4.9), das três formulações, a que mais se destacou foi a Amostra 19, devido à sua excelente textura (Figura 4.8), que se diferenciou das restantes formulações pela presença da manteiga de cacau. Este ingrediente além de fornecer uma boa textura, deixa a pele hidratada, sem deixar oleosidade, ao contrário do que acontecia com as formulações que possuíam manteiga de karité (Amostra 18). A manteiga de cacau não acrescentou tanta viscosidade como a manteiga de karité, criando um efeito semelhante à primeira formulação que não continha manteigas (Amostra 17).

De referenciar que a Amostra 17, apesar de não ter manteigas na sua lista de ingredientes, forneceu hidratação (não tão intensa como as Amostras 18 e 19), sem deixar efeito de oleosidade, devido ao óleo de cânhamo e cártamo serem absorvidos rapidamente na pele, principalmente o óleo de cânhamo.¹²¹ Dentro dos ingredientes testados, selecionou-se a manteiga de cacau, o óleo de cânhamo e cártamo para a formulação final, descartou-se a manteiga de karité.

Seguidamente, testou-se o efeito da quantidade de emulsionante e infusão de bolota na formulação (Tabela 4.9), de forma a conseguir encontrar o melhor equilíbrio entre os ingredientes.

Tabela 4.9: Formulações das amostras relevantes para avaliação do efeito da quantidade de emulsionante e infusão de bolota.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras				
		20	21	22	23	
A	<i>Aqua</i>	48,56	46,68	59,78	34,78	
	<i>Quercus fruit extract</i>	66,67	66,67	33,33	100,00	
	[]	24,89	100,00	30,37	30,37	
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	40,00	70,00	60,00	60,00	
	<i>Cetearyl alcohol</i>	40,00	40,00	40,00	40,00	
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	50,00	50,00	50,00	50,00	
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00	50,00	50,00	
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	60,00	
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	60,00	
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	60,00	
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	33,33	33,33	33,33	33,33	
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	25,00	25,00	25,00	25,00	
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	66,67	66,67	66,67	66,67	
	C	<i>Aqua</i>	50,00	50,00	50,00	50,00
		<i>Panthenol</i>	30,00	30,00	30,00	30,00
<i>Tocopherol</i>		25,00	25,00	25,00	25,00	
<i>Glycerin</i>		40,00	40,00	40,00	40,00	
<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>		20,00	15,00	15,00	15,00	
<i>Sodium PCA</i>		45,00	45,00	45,00	45,00	
<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>		10,00	11,00	13,00	13,00	
D	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67	66,67	66,67	
	<i>Cinnamomum zeylanicum oil</i>	30,00	20,00	20,00	20,00	
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	-	20,00	20,00	20,00	

Nas Amostras 20 e 21, conseguiu-se verificar bem o efeito do emulsionante e da variação de cor consoante o aumento da concentração de bolota (Figura 4.10).

Quanto maior a percentagem de emulsionante, mais viscosa se tornou a emulsão. Segundo a lei de Stokes, o aumento da viscosidade neutraliza as mudanças na emulsão resultantes de diferenças na gravidade específica das duas fases.³⁷ Apesar de uma percentagem mais alta fornecer mais viscosidade ao creme, também é importante para dar estabilidade, recorrendo assim a uma maior percentagem para o desenvolvimento do creme. Na Amostra 20, verificou-se a existência de pigmentos, resultantes da inadequada filtração da infusão da bolota.



Figura 4.10: Aspeto visual das Amostras 20 e 21, respetivamente.

Em relação às Amostras 22 e 23, utilizaram-se diferentes percentagens de infusão de bolota, tendo-se verificado, que não interferiam com a viscosidade do creme, nem com a estabilidade (Figura 4.11). Com efeito, ambas as formulações apresentaram uma viscosidade muito semelhante, como verificado anteriormente. Com a variação da quantidade de infusão de bolota apenas se verificou uma alteração da cor, tendo a Amostra 22, que possuía menor quantidade de infusão de bolota (Tabela 4.9), apresentado uma cor muito mais clara.



Figura 4.11: Aspeto visual das Amostras 22 e 23, respetivamente.

4.1.6. **Melhoramento do produto**

Segundo o painel de avaliação sensorial referido anteriormente (Figura 4.8) para a base de formulação estabelecida, o que falhava mais era a espalhabilidade, a hidratação e o aroma. Neste contexto, para tentar melhorar a espalhabilidade, testou-se, na formulação da Amostra 24, um novo emoliente, o *Isopropyl myristate* (Tabela 4.10). Trata-se de um emoliente sintético substituto dos óleos naturais, conhecido por possuir excelentes propriedades de dispersão e ser absorvido facilmente na pele. Este emoliente também pode ser utilizado como um co-solvente, com propriedades de aumento da penetração de ingredientes ativos na pele.¹²³ A Amostra 24, resultou numa emulsão com muito melhor

espalhabilidade e absorção. No entanto, voltou a obter-se o efeito de brilho na pele que não ia ao encontro dos objetivos da formulação. Desta forma, excluiu-se a utilização deste ingrediente.

Tabela 4.10: Formulações das amostras relevantes após incorporação dos emolientes: *Isoamyl myristate* e óleo de jojoba (*Simmondsia chinensis seed oil*).

Fases	Componentes (INCI)	Amostras	
		24	25
A	<i>Aqua</i>	42,91	44,15
	<i>Quercus fruit extract</i>	66,67	66,67
	[]	24,89	30,37
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	40,00	57,50
	<i>Isopropyl myristate</i>	100,00	-
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	-	50,00
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	60,00	50,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	60,00	70,00
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	60,00	50,00
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	33,33	33,33
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	25,00	-
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	66,67	66,67
	C	<i>Aqua</i>	50,00
<i>Panthenol</i>		30,00	30,00
<i>Tocopherol</i>		25,00	25,00
<i>Glycerin</i>		40,00	40,00
<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>		15,00	15,00
<i>Sodium PCA</i>		45,00	50,00
<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>		12,00	13,00
D	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67
	<i>Cinnamomum zeylanicum oil</i>	20,00	30,00
	<i>Pelargonium graveolens oil</i>	20,00	20,00

Numa nova formulação (Amostra 25, Tabela 4.10), introduziu-se novamente o óleo de jojoba (*Simmondsia chinensis seed oil*) com intuito de perceber se a sua presença conseguia melhorar a hidratação ou a espalhabilidade, devido à sua constituição diferenciadora (possui alto conteúdo em ésteres de cera).⁶⁷ Nesta formulação (Amostra 25), conseguiu-se melhorar a hidratação e a espalhabilidade, como pretendido, sem a necessidade de incorporar ingredientes mais sintéticos como era o caso do *Isopropyl myristate*. No entanto, nesta formulação, não só se incorporou óleo de jojoba, como se alteraram as percentagens dos óleos vegetais utilizados até ao momento e aumentou-se a quantidade de álcool cetearílico de forma a dar mais consistência ao creme.

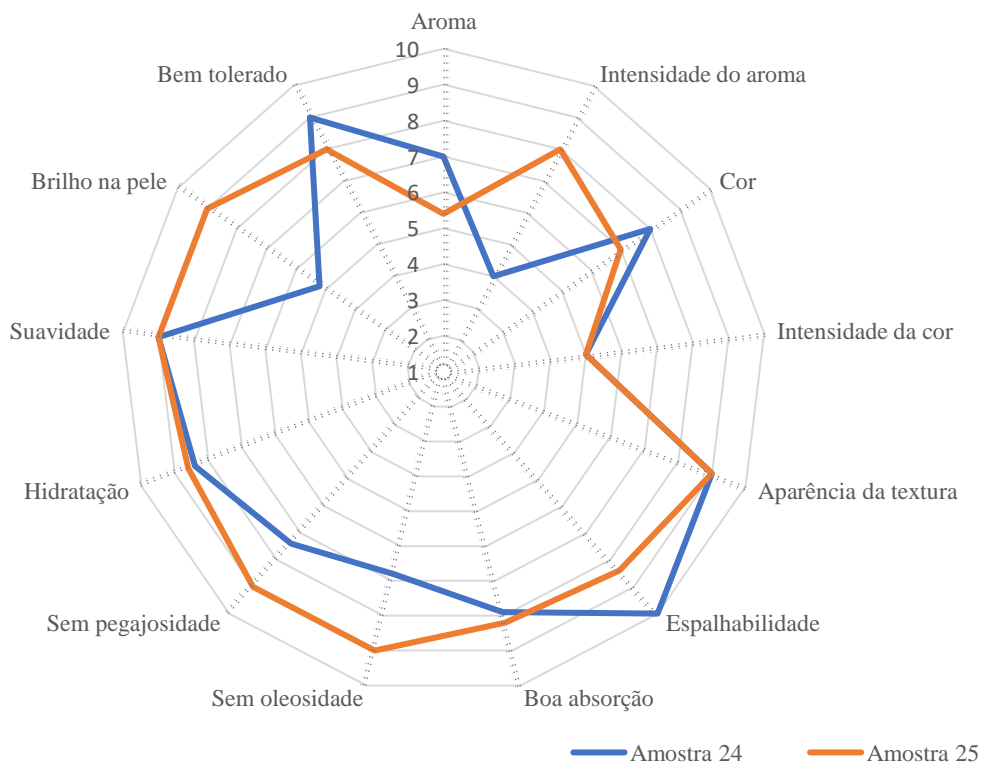


Figura 4.12: Avaliação sensorial das Amostras 24 e 25.

Segundo uma avaliação realizada pelos avaliadores, a Amostra 25 foi muito bem aceita (Figura 4.12), principalmente pela hidratação que fornecia sem deixar efeito de oleosidade e pegajosidade na pele (como deixava a Amostra 24). Terminou-se assim por definir esta formulação como referência. Contudo, continuava a falhar o aroma, segundo a opinião dos avaliadores, assim como ocorreram casos de irritação na pele do rosto.

4.1.7. Aumento da escala de produção

Depois de todos os alvos terem sido praticamente alcançados para uma produção em pequena escala do creme, foi necessário aumentar a escala para um processo de maior produção. Como resultado, a escala foi aumentada gradativamente e os ajustes necessários foram realizados. Gradualmente maiores quantidades foram produzidas, até um máximo de 3000 g de creme.

Inicialmente começaram por produzir-se 300 g (Amostra 26), mantendo-se as condições de formulação utilizadas para formular à escala laboratorial (100 g de creme). Já na formulação da Amostra 27, para a produção de 300 g de creme, foi necessário ajustar os tempos de homogeneização.

Na Amostra 26, conseguiu-se obter a textura pretendida, no entanto, passado uma semana começaram a surgir sinais de instabilidade, surgindo uma camada de óleo na superfície do creme (processo de formação de creme).

Na amostra 27, manteve-se visualmente estável e homogênea. Além de terem sido aumentados os tempos de homogeneização, aumentou-se a concentração de ácido cítrico (Tabela 4.11). O ácido

cítrico, funciona como modificador de pH e agente quelante, que estabiliza os cosméticos e evita a sua deterioração por meio de captura de possíveis iões metálicos.¹ O aroma desta emulsão (laranja doce e erva príncipe) foi muito bem aceite pela maioria dos avaliadores.

Tabela 4.11: Formulações das amostras relevantes na otimização do procedimento após aumento de escala de produção.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras		
		26	27	
A	<i>Aqua</i>	43,59	44,31	
	<i>Quercus fruit extract</i>	66,67	66,67	
	[]	30,37	46,68	
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00	
	<i>Cetearyl alcohol</i>	50,00	45,00	
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	50,00	40,00	
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	50,00	50,00	
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00	
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	70,00	70,00	
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	50,00	50,00	
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00	
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	40,00	33,33	
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	35,00	25,00	
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	66,67	66,67	
	C	<i>Aqua</i>	50,00	50,00
		<i>Panthenol</i>	30,00	30,00
<i>Tocopherol</i>		25,00	25,00	
<i>Glycerin</i>		40,00	40,00	
<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>		20,00	20,00	
<i>Sodium PCA</i>		50,00	45,00	
<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>		13,00	35,00	
D	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67	
	<i>Citrus aurantium dulcis peel oil</i>	*	20,00	
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	*	20,00	

*Foram testados vários aromas.

Ambas as formulações não foram apenas importantes para otimizar os procedimentos de aumento de produção, como também, foram otimizadas as percentagens de óleo de brócolo, azeite e jojoba. Na Amostra 26, verificou-se que uma ligeira subida de ambos os óleos, já deixava marcas de oleosidade na pele. Já a Amostra 27 encontrava-se equilibrada, com boa hidratação e sem efeito de oleosidade.

Pelo facto de ter ocorrido uma avaria com o homogeneizador (Kai Blendia), a empresa substituiu-o por um aparelho semelhante, a BAMIX. Deste modo, foi necessário testar se era possível produzir emulsões estáveis, utilizando as mesmas condições do antigo homogeneizador.

Tabela 4.12: Formulações das amostras relevantes, na otimização de diferentes condições após introdução de um novo homogeneizador.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras			
		28	29	30	
A	<i>Aqua</i>	37,76	37,76	37,43	
	<i>Quercus fruit extract</i>	83,33	83,33	83,33	
	[]	46,68	46,68	53,79	
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Cetearyl alcohol</i>	45,00	45,00	45,00	
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	50,00	50,00	50,00	
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00	50,00	
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	70,00	70,00	70,00	
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	33,33	33,33	33,33	
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	25,00	25,00	25,00	
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	40,00	40,00	40,00	
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	66,67	66,67	66,67	
	C	<i>Aqua</i>	50,00	50,00	50,00
		<i>Panthenol</i>	30,00	30,00	30,00
<i>Tocopherol</i>		25,00	25,00	25,00	
<i>Glycerin</i>		40,00	40,00	40,00	
<i>Acacia senegal gum; xanthan gum</i>		-	20,00	-	
<i>Xanthan gum</i>		20,00	-	20,00	
<i>Sodium PCA</i>		45,00	45,00	45,00	
<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>		28,00	28,00	28,00	
D	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67	66,67	
	<i>Litsea cubeba oil</i>	*	-	24,00	
	<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	*	-	16,00	
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	*	-	16,00	

*Foram testados vários aromas.

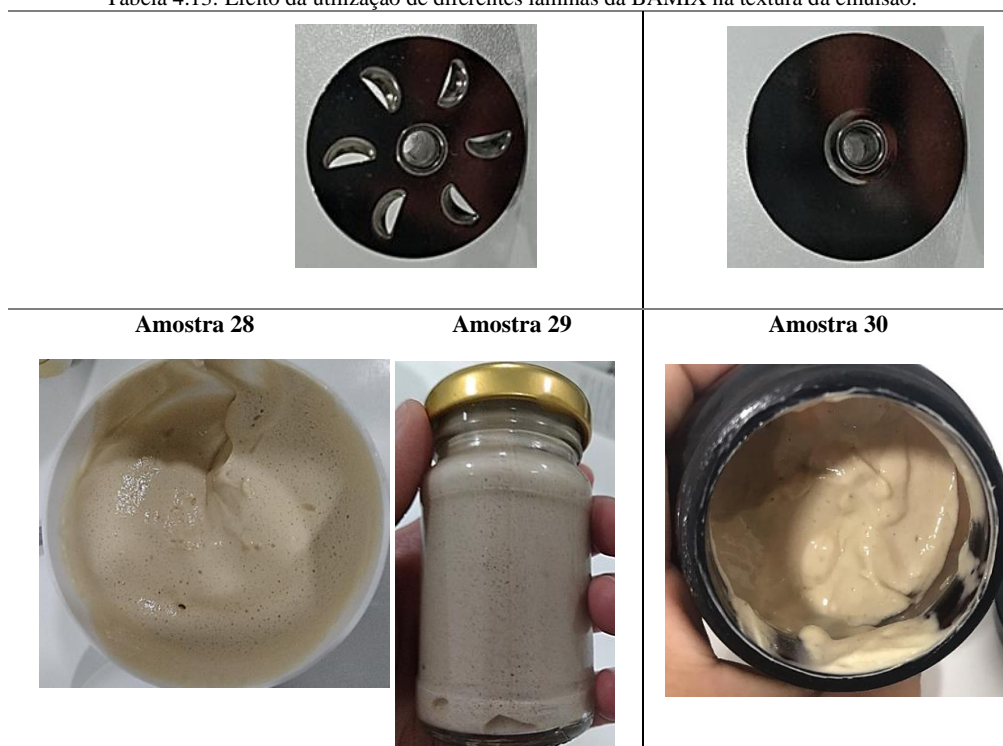
As Amostras 28 e 29 (Tabela 4.12), apesar de terem sido produzidas através de um procedimento diferente, apresentaram-se estáveis e homogêneas. Testou-se de novo, nestas formulações, se a sinergia de gomas *Acacia senegal gum; Xanthan gum*, poderia ser substituída apenas pela *Xanthan gum*, por ser opção mais económica e mais fácil de obter. As Amostras 28 e 29 apresentavam uma textura e aspeto muito semelhante, não colocando nenhum impedimento para a utilização somente da *Xanthan gum* com o emulsionante escolhido para a formulação final.

O novo equipamento alterava um pouco a textura das formulações, apesar de aparentarem ser emulsões homogêneas, criavam um efeito semelhante a musse. Chegou-se assim à conclusão que durante a homogeneização realizada com o novo equipamento deveria ocorrer muita incorporação de ar

no creme. A presença de bolhas de ar em emulsões cosméticas não faz apenas parecer que a textura está mais espessa, como também, pode afetar a estabilidade da emulsão através da adsorção das moléculas de emulsionante, nas interfaces dos líquidos. As bolhas de ar “aprisionadas” num creme, podem também estimular o crescimento microbiano ou a oxidação indesejável.¹²⁴

Para evitar a incorporação de bolhas de ar, na formulação da Amostra 30, testou-se outra lâmina da BAMIX e foi possível obter a textura pretendida, sem a incorporação de ar como estava a ocorrer para as formulações anteriores (Tabela 4.13).

Tabela 4.13: Efeito da utilização de diferentes lâminas da BAMIX na textura da emulsão.



Desde que se começou a incorporar a infusão de bolota e, principalmente, desde que se começaram a produzir quantidades maiores, os cremes não apresentavam estabilidade por muito tempo. Neste contexto, pensou-se que algum constituinte da bolota poderia estar a interferir com a estabilidade da emulsão, pelo que se testou o efeito de mais agentes quelantes, para além do ácido cítrico.

Os agentes quelantes testados (Tabela 4.14), na Amostra 31 (*Sodium phytate; aqua; alcohol*) e na Amostra 32 (*Trisodium ethylenediamine disuccinate*), não apresentaram nenhum efeito aparente nas formulações. No entanto, a longo prazo não ocorreu separação de fases, apenas começaram a surgir algumas bolhas de ar (Figura 4.13). Já na Amostra 33, ficou com uma textura mais fluída e passado algum tempo, surgiu o aparecimento de uma camada de óleo na superfície do creme. Uma vez que a Amostra 33 foi produzida para 300 g e as Amostras 31 e 32 foram produzidas apenas para 200 g, concluiu-se que os tempos de homogeneização não se adequaram a uma produção superior a 200 g. De forma a resolver a instabilidade verificada, estes tempos foram aumentados nas formulações seguintes.

No final, com a introdução de agentes quelantes e com o aumento dos tempos de homogeneização foi possível obter emulsões aparentemente estáveis.

Tabela 4.14: Formulações das amostras relevantes após introdução de agentes quelantes.

Fases	Componentes (INCI)	Amostras		
		31	32	33
A	<i>Aqua</i>	37,46	37,59	37,18
	<i>Quercus fruit extract</i>	83,33	83,33	83,33
	[]	53,79	53,79	60,23
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Cetearyl alcohol</i>	45,00	45,00	45,00
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	70,00	70,00	70,00
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00	60,00
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	33,33	33,33	33,33
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	25,00	25,00	25,00
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	40,00	40,00	40,00
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	66,67	66,67	66,67
	<i>Aqua</i>	50,00	50,00	50,00
	<i>Panthenol</i>	30,00	30,00	30,00
	<i>Tocopherol</i>	25,00	25,00	25,00
<i>Glycerin</i>	40,00	40,00	40,00	
C	<i>Xanthan gum</i>	20,00	20,00	20,00
	<i>Sodium PCA</i>	45,00	45,00	45,00
	<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>	28,00	28,00	28,00
	<i>Sodium phytate; aqua; alcohol</i>	20,00	-	30,00
	<i>Trisodium ethylenediamine disuccinate</i>	-	30,00	-
	<i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i>	66,67	66,67	66,67
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	8,00	*	8,00
D	<i>Litsea cubeba oil</i>	8,00	*	18,00
	<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	18,00	*	40,00

*Foram testados vários aromas.

Testou-se a formulação da Amostra 33 num equipamento com maior potência (TEKNO STAMAP) onde se produziram 3000g. Com o mesmo procedimento e com as mesmas condições experimentais foi possível obter um creme visualmente estável, sem ocorrer o fenómeno de “formação de creme” referido anteriormente. A emulsificação é dependente da duração, da temperatura e da velocidade de agitação. Emulsões estáveis podem ser produzidas ajustando estes fatores corretamente.²³ Devido ao facto da BAMIX não conseguir atingir velocidades tão elevadas, foi necessário aumentar os tempos de homogeneização.



Figura 4.13: Aspeto visual das Amostras 31, 32 e 33, respetivamente.

Quando se aumentou a escala, passaram a testar-se diferentes aromas para cada 50 g de creme produzido. As formulações que mais contribuíram para a escolha do aroma, encontram-se representadas na Tabela 4.15, assim como, a seleção dos óleos essenciais e percentagem testada.

Tabela 4.15: Formulações que se apresentaram mais relevantes para definir o aroma da formulação final.

Formulação	Aromas	Óleos Essenciais (INCI)	%	Avaliação	
				Aroma	Intensidade
Amostra 26	I	<i>Litsea cubeba oil</i>	20,00	●●●	●●●
	II	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	20,00	●●●	●●●
	III	<i>Rosmarinus officinalis leaf oil</i>	20,00	●	●
Amostra 28	I	<i>Lavandula angustifolia oil</i>	20,00		
		<i>Pelargonium graveolens oil</i>	30,00	●	●●●●
		<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	40,00		
	II	<i>Litsea cubeba oil</i>	40,00	●●	●●●●
		<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	40,00		
	III	<i>Citrus aurantium dulcis peel oil</i>	40,00		
		<i>Pelargonium graveolens oil</i>	40,00	●●●●	●●●
	IV	Fragrância de chocolate (nome comum)	60,00	●●●●	●●
Amostra 32	I	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	30,00		
		<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	30,00	●●●●	●●●
		<i>Litsea cubeba oil</i>	16,00		
	II	<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	30,00	●●●●●	●●●
<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>		10,00			

O forte aroma libertado pela infusão de bolota (semelhante a café), dificultou a afinação do aroma final, uma vez que foi difícil de neutralizar com a adição dos óleos essenciais. Assim, testaram-

se fragrâncias sintéticas que foram muito bem aceites entre os avaliadores, no entanto, a utilização de fragrâncias sintéticas não se encontram de acordo com a filosofia da empresa.

Os consumidores procuram aromas frutados para os hidratantes corporais, informação que foi obtida através de uma sondagem realizada a alguns membros da equipa da empresa Unibio e Organii. Neste contexto, testaram-se várias alternativas, com óleo essencial de laranja doce (*Citrus aurantium dulcis peel oil*), erva príncipe (*Cymbopogon flexuosus oil*), tangerina (*Citrus reticulata Blanco oil*) e litsea (*Litsea cubeba oil*) de forma a conseguir obter o aroma frutado. A melhor conjugação, ou seja, a que mais agradou à maioria dos avaliadores, foi o aroma resultante dos óleos essenciais de tangerina, litsea e erva príncipe. As percentagens de cada um destes óleos teve também de ser ajustada de forma ao aroma não ficar demasiado intenso e também a não causar irritações na pele.

Com efeito, nas avaliações sensoriais que foram sendo realizadas às formulações ao longo do processo de desenvolvimento, verificou-se que o creme causava irritação na pele da cara de indivíduos com pele sensível. Esta irritação poderia resultar da quantidade de conservante utilizada, como apenas se efetuaram os testes microbiológicos para as formulações finais, utilizou-se sempre uma quantidade elevada de conservante ao longo do processo de desenvolvimento. Os óleos essenciais utilizados também poderiam ter estado na origem das irritações verificadas. De uma forma geral, as propriedades das Amostras 31 e 33 (Figura 4.14), agradaram aos avaliadores.

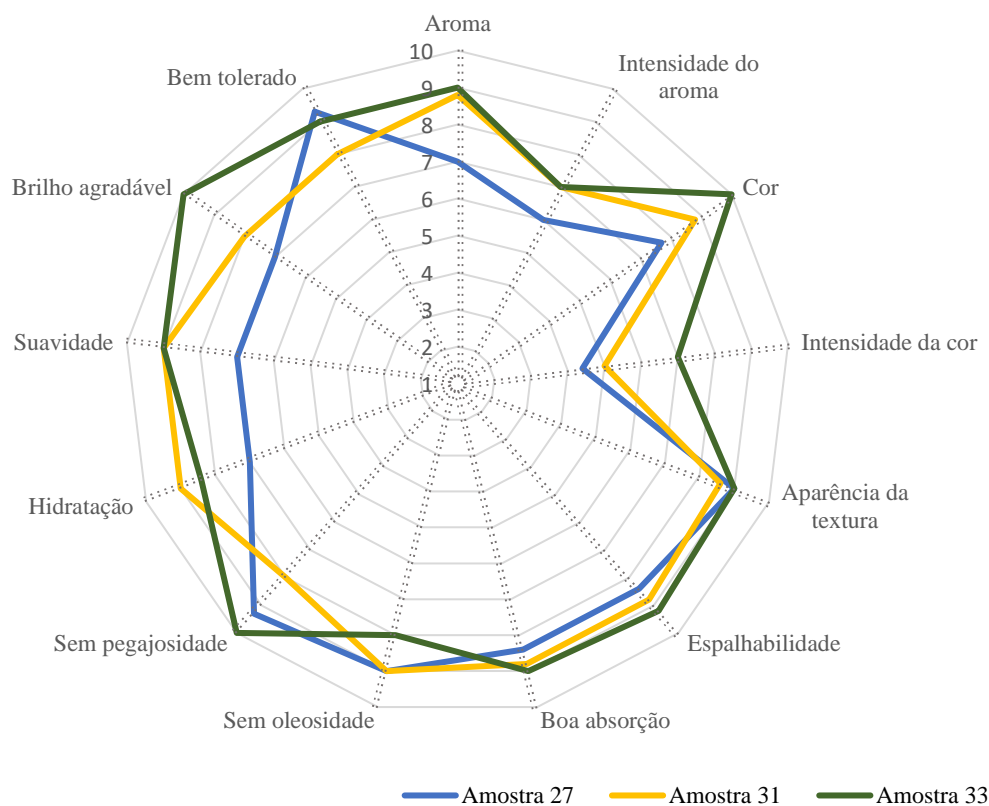


Figura 4.14: Gráfico de avaliação sensorial das Amostras 27, 31 e 33, dadas a testar a diferentes avaliadores.

As Amostras 31 e 33 destacaram-se, abrangendo vários requisitos em comum, a nível de absorção, espalhabilidade, aroma, suavidade e hidratação. No entanto, os ingredientes são praticamente os mesmos da Amostra 27, apenas se inseriram agentes quelantes, o homogeneizador foi alterado, inseriu-se a *Xanthan gum* como agente espessante e otimizou-se a percentagem de alguns ingredientes. Estas quatro variáveis estão na origem destas diferenças. O aroma, revelou-se muito importante para os avaliadores, sendo que esse parâmetro apenas conseguiu atingir boas classificações nas últimas formulações.

4.1.8. Avaliação das características gerais das formulações em desenvolvimento

Na Tabela 4.16 representam-se os resultados da avaliação visual da homogeneidade, da estabilidade e viscosidade das formulações, de acordo com as escalas definidas anteriormente.

Tabela 4.16: Resultados da avaliação da viscosidade, homogeneidade e da estabilidade das formulações.

Formulação	Viscosidade	Homogeneidade	Estabilidade	Observações
Amostra 9	10	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 10	10	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 11	5	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 12	7	●●●●	●●●●	Formação de bolhas de ar
Amostra 13	10	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 14	10	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 15	8	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 16	8	●●	●●	Formação de creme
Amostra 17	7	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 18	8	●●●	●●●	Formação de creme
Amostra 19	6	●●●	●●●	Formação de creme
Amostra 20	4	●●●	●●●	Formação de creme
Amostra 21	7	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 22	8	●●●	●●●	Formação de creme
Amostra 23	8	●●●	●●●	Formação de creme
Amostra 24	8	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 25	7	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 26	7	●●●	●●●	Formação de creme
Amostra 27	6	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 28	7	●●●●	●●●●	Formação de bolhas de ar
Amostra 29	7	●●●●	●●●●	Formação de bolhas de ar
Amostra 30	6	●●●●●	●●●●●	✓
Amostra 31	6	●●●●	●●●●	Formação de bolhas de ar
Amostra 32	6	●●●●	●●●●	Formação de bolhas de ar
Amostra 33	5	●●●	●●●	Formação de creme

Por norma, as emulsões demonstravam-se estáveis e homogéneas. No entanto, foi inserido um passo de agitação manual com uma vareta de vidro, passado algum tempo de terem sido realizadas com

intuito de perceber se estavam realmente estáveis. Na maioria das formulações que continham infusão de bolota (52,63%), surgiu no dia seguinte uma camada de óleo na superfície dos cremes (Figura 4.15). Já as formulações que não continham infusão de bolota, mantiveram-se homogêneas e aparentemente estáveis, o que levou a ponderar que a infusão de bolota deveria estar a provocar algum tipo de instabilidade na emulsão, possivelmente devido à sua constituição.



Figura 4.15: Aspeto visual das amostras 16, 19 e 26, respetivamente, após mais de 30 dias de formulação.

4.2. Formulação Final

Foram realizadas três formulações finais (Tabela 4.17), uma com a percentagem de conservante utilizada ao longo do desenvolvimento (FT 1) e outras duas formulações (FT 2 e FT 3) com menores quantidades de conservante. O objetivo destas formulações foi diminuir a percentagem de conservante a utilizar e para isso foi necessário realizar testes de estabilidade acelerada e, principalmente, testes microbiológicos.



Figura 4.16: Recipiente final da emulsão desenvolvida, utilizado na realização dos testes de estabilidade.

As formulações finais foram embaladas no recipiente final (Figura 4.16), este recipiente é feito à base de polietileno de alta densidade (PEAD) a partir de plástico 100% PCR (pós-consumo reciclado), não produzindo impacto ambiental, enquadrando-se, também, dentro dos materiais aprovados pela norma COSMOS.

Tabela 4.17: Formulações teste (FT) com diferentes percentagens de conservante, para avaliação da estabilidade físico-química e microbiológica.

Fases	Componentes (INCI)	FT1	FT2	FT 3	
A	<i>Aqua</i>	36,61	36,92	37,24	
	<i>Quercus fruit extract</i>	83,33	83,33	83,33	
	[]	53,79	53,79	53,79	
B	<i>Polyglyceryl-3 methylglucose distearate</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Cetearyl alcohol</i>	45,00	45,00	45,00	
	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Helianthus annuus seed oil</i>	50,00	50,00	50,00	
	<i>Cannabis sativa seed oil</i>	70,00	70,00	70,00	
	<i>Carthamus tinctorius seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Vitis vinifera seed oil</i>	60,00	60,00	60,00	
	<i>Olea europaea fruit oil</i>	33,33	33,33	33,33	
	<i>Brassica oleracea italica seed oil</i>	25,00	25,00	25,00	
	<i>Simmondsia chinensis seed oil</i>	40,00	40,00	40,00	
	<i>Theobroma cacao seed butter</i>	66,67	66,67	66,67	
	C	<i>Aqua</i>	50,00	50,00	50,00
		<i>Panthenol</i>	30,00	30,00	30,00
<i>Tocopherol</i>		25,00	25,00	25,00	
<i>Glycerin</i>		40,00	40,00	40,00	
<i>Sodium PCA</i>		45,00	45,00	45,00	
<i>Xanthan gum</i>		20,00	20,00	20,00	
<i>Citric acid (solução aquosa a 50%)</i>		28,00	28,00	28,00	
<i>Sodium phytate; aqua; alcohol</i>		30,00	30,00	30,00	
D	<u><i>Aqua, sodium benzoate, potassium sorbate</i></u>	<u>66,67</u>	<u>50,00</u>	<u>33,33</u>	
	<i>Litsea cubeba oil</i>	16,00	16,00	16,00	
	<i>Citrus reticulata blanco oil</i>	30,00	30,00	30,00	
	<i>Cymbopogon flexuosus oil</i>	10,00	10,00	10,00	

Por fim, tendo em conta as características obtidas para as formulações finais, optou-se por comparar essas características com as de outros cremes biológicos de referência (Anexo C), que obedecem ao mesmo padrão biológico. Foram, assim, selecionados dois cremes de referência, designados por A e B, utilizados como controlo para avaliar os diferentes parâmetros do creme produzido neste trabalho (FT 1) (Figura 4.17).

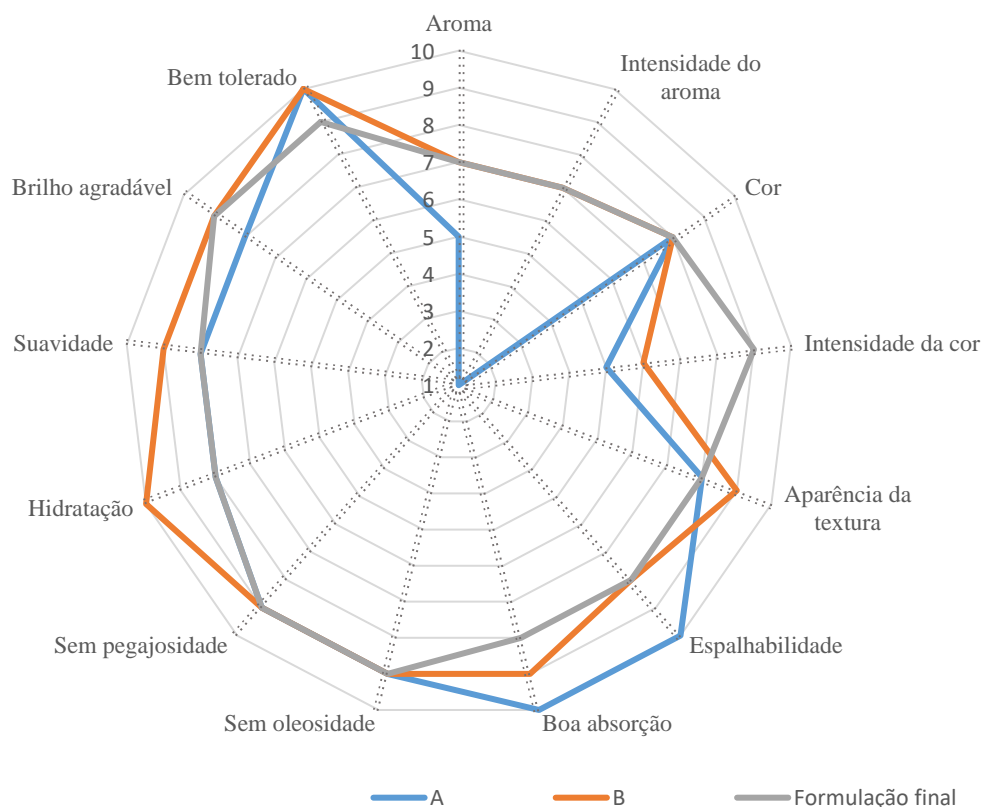


Figura 4.17: Gráfico de avaliação da formulação final (FT1) e de formulações de produtos concorrentes (A e B).

De um modo geral, a formulação final obteve resultados muito positivos quando comparada com os produtos comerciais concorrentes. O seu desempenho, apresentou mais semelhanças com o creme hidratante B, a nível de brilho agradável na pele, boa absorção, espalhabilidade, aroma e intensidade do aroma. Em relação à loção hidratante A, a emulsão desenvolvida conseguiu acompanhá-la a nível de hidratação, suavidade e aparência da textura.

A formulação final encontra-se num patamar próximo dos produtos de referência, sendo que as diferenças mais negativas (1 nível abaixo), foi em relação à absorção e à tolerância na pele. Ambos apresentaram em comum um efeito na pele sem oleosidade, sem pegajosidade e uma cor apelativa.

4.2.1. Avaliação do nível de descamação após a aplicação do creme

Recorrendo a uma sonda de luz polarizada, referida em 3.3.5, avaliou-se o nível de descamação da pele, durante aproximadamente 3 dias. Esta análise foi também realizada com a loção hidratante A, para efetuar uma comparação com um produto comercial concorrente (Tabela 4.18). Onde t_0 , corresponde aos momentos em que o indivíduo avaliado utilizou produtos de limpeza, e seguidamente, de novo, foi medido o nível de descamação e procedeu-se à aplicação do creme.

Tabela 4.18: Análise do nível de descamação em comparação com um produto concorrente.

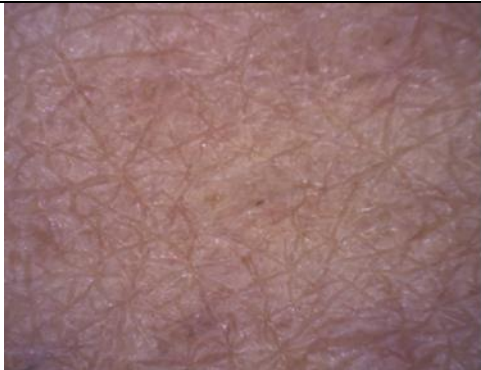

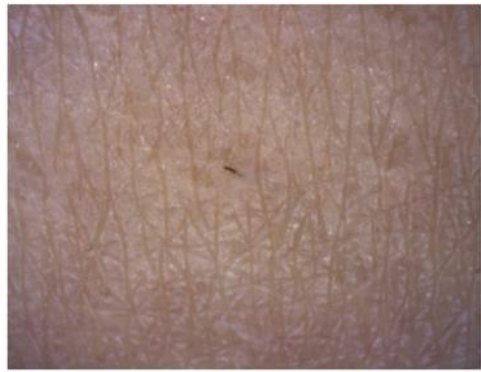





Tempo de ação do creme (horas)	Formulação Final (FT 1)	Loção hidratante concorrente (A)
t₀	Descamação = 13,7	Descamação = 16,48
24 horas		
	Descamação = 7,68	Descamação = 9,13
t₀	Descamação = 4,84	Descamação = 7,96
24 horas		
	Descamação = 11,00	Descamação = 12,74
t₀	-	-
8 horas		
	Descamação = 0,41	Descamação = 5,06

Tabela 4.18: Análise do nível de descamação em comparação com um produto concorrente. (Continuação)

Tempo de ação do creme (horas)	Fornumalão Final (FT 1)	Loção hidratante concorrente (A)
t₀	Descamação = 14,52	Descamação = 10,99
12 horas		
	Descamação = 2,09	Descamação = 1,74

Pelos resultados representados na Tabela 4.18, podemos verificar que a emulsão hidratante corporal biológica desenvolvida, apresenta um efeito hidratante muito semelhante com a loção hidratante da marca concorrente A. No entanto, a emulsão desenvolvida apresenta um efeito de hidratação mais rápido de atuação (primeiras 8 horas), que se vai perdendo ao longo do tempo. Já a loção da marca A apresenta um efeito gradual, onde se verifica que com a frequente aplicabilidade, consegue quase extinguir o nível de descamação. Isto deve-se a ambos os produtos possuírem diferentes ingredientes, potenciando, assim, diferentes efeitos.

De um modo geral, podemos concluir que o creme hidratante desenvolvido, consegue acompanhar um produto concorrente que se encontra muito bem posicionado no mercado de cosmética biológica, cumprindo a sua finalidade de hidratação/redução do nível de descamação.

4.2.2. Testes de Estabilidade

4.2.2.1. Testes de estabilidade acelerada

As formulações finais com diferentes percentagens de conservante (FT 2 e FT 3) foram embaladas no recipiente final (225 g de creme) e expostas a diferentes condições de armazenamento. O armazenamento foi realizado a temperaturas mais altas de forma a permitir acelerar processos de envelhecimento e fornecer uma indicação antecipada da vida útil do produto.⁸⁵

Durante as diferentes condições de armazenamento (5, 25, 40 °C), não se verificaram alterações nas embalagens dos produtos. Da mesma forma, ambas as formulações não apresentaram alterações na textura, no aroma e não ocorreu separação de fases, fornecendo fortes evidências para a estabilidade das emulsões. No entanto, quando se efetuaram análises mais específicas, como determinação das coordenadas da cor, verificou-se que ocorriam ligeiras alterações, registadas na Tabela 4.19, não visíveis para o olho humano.

Na formulação com maior percentagem de conservante (FT 2) não houve produto suficiente para o ensaio a 5°C, no entanto, este ensaio foi realizado para a formulação FT 3, contudo apenas houve quantidade suficiente para analisar ao 28º dia.

Tabela 4.19: Determinação experimental da cor (coordenadas L^* , a^* e b^*), os valores apresentados correspondem à média e desvio padrão.

Coordenadas da cor	Tempo (dias)	FT 2		FT 3		
		25±2°C	40±2°C	25±2°C	40±2°C	5±2°C
L^*	t0	64,59±0,14		70,17±0,31		
	8	65,1±0,15	64,64±0,31	71,04±0,19	69,61±0,27	-
	14	65,7±0,21	65,59±0,09	71,38±0,16	69,79±0,04	-
	21	66,01±0,13	62,97±0,31	70,73±0,73	70,47±0,13	-
	28	65,36±0,14	62,81±0,12	69,94±0,40	69,38±0,25	67,89±0,16
a^*	t0	2,36±0,02		1,57±0,01		
	8	2,34±0,02	2,40±0,03	1,66±0,03	1,66±0,02	-
	14	2,32±0,06	2,46±0,03	1,65±0,01	1,70±0,01	-
	21	2,27±0,03	2,49±0,02	1,64±0,04	1,76±0,02	-
	28	2,18±0,04	2,63±0,03	1,59±0,03	1,75±0,05	1,52±0,02
b^*	t0	15,03±0,05		14,13±0,06		
	8	15,11±0,11	15,15±0,02	14,66±0,60	14,05±0,67	-
	14	15,23±0,03	15,31±0,07	14,20±0,01	14,03±0,05	-
	21	14,97±0,13	15,06±0,02	14,15±0,02	14,12±0,11	-
	28	14,80±0,02	14,96±0,01	13,87±0,05	14,01±0,09	13,76±0,06

Os valores das coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*), dos cremes no tempo t0 e depois de serem expostos a várias condições de armazenamento (5°C, 25°C e 40°C) durante um período de 28 dias, mostram a ocorrência de algumas oscilações, parecendo haver uma tendência para uma diminuição especialmente dos valores de L^* (escurecimento) e de b^* (diminuição do tom amarelo). Para poder ter

uma melhor percepção das mudanças de cor em relação à amostra inicial, calculou-se a variação de cor em cada semana, para cada condição de armazenamento, recorrendo à equação referida no capítulo 3.4.3 (Tabela 4.20).

Tabela 4.20: Variações da cor das formulações FT2 e FT3 em cada semana, tendo como referência as formulações referentes ao tempo t0.

Variação da cor	Tempo	FT 2		FT 3		
		25±2°C	40±2°C	25±2°C	40±2°C	5±2°C
ΔE	8 dias	0,52	0,14	1,02	0,57	-
	14 dias	1,13	1,04	1,21	0,41	-
	21 dias	1,42	1,63	0,56	0,36	-
	28 dias	0,82	1,80	0,35	0,82	2,31

Como se pode verificar na Tabela 4.20, a maior oscilação de cor verificou-se para a formulação FT 3, na temperatura de armazenamento a 5°C, o que não era esperado pois nesta condição as reações são retardadas.¹¹⁶ No entanto, os valores de ΔE nunca passaram de 3 durante o período experimental, indicando assim que as alterações de cor verificadas não são visíveis a olho nu.¹²⁵

Todas as semanas, durante um período de 28 dias, foram realizados testes de centrifugação aos diferentes cremes, armazenados nas diferentes condições. Estes ensaios mostraram sempre estabilidade das amostras, uma vez que nunca se detetaram separações de fase ou ocorrência de precipitados nas amostras após centrifugação (Figura 4.18; Tabela 4.21).



Figura 4.18: Aspeto das amostras após realização dos testes de centrifugação ao 14º dia de armazenamento.

Como referido anteriormente, o pH da pele situa-se entre 4 e 6, desta forma uma emulsão hidratante deve possuir um pH dentro deste intervalo. No entanto, como o sistema conservante só é eficaz num pH inferior a 5,5 e o emulsionante só se encontra estável num pH superior a 4,5, restringiu-se, assim, o intervalo de variação de pH do creme hidratante de 4,5 a 5,5.

Tabela 4.21: Resultados de pH, viscosidade e resultados do teste de centrifugação conforme as diferentes condições de armazenamento, durante um período de 28 dias. S/A: Sem Alteração.

dias	pH			Centrifugação			Viscosidade (cP)			
	25±2°C	40±2°C	5±2°C	25±2°C	40±2°C	5±2°C	25±2°C	40±2°C	5±2°C	
FT 2	0	4,60±0,02			S/A			18 600		
	8	4,71±0,02	4,69±0,02	-	S/A	S/A	-	-	-	
	14	4,72±0,02	4,72±0,02	-	S/A	S/A	-	-	-	
	21	4,73±0,02	4,70±0,02	-	S/A	S/A	-	-	-	
	28	4,73±0,02	4,72±0,02	-	S/A	S/A	-	19200	16000	-
FT 3	0	4,50±0,02			S/A			20000		
	8	4,54±0,02	4,58±0,02	-	S/A	S/A	-	-	-	
	14	4,50±0,02	4,62±0,02	-	S/A	S/A	-	-	-	
	21	4,48±0,02	4,61±0,02	-	S/A	S/A	-	-	-	
	28	4,52±0,02	4,61±0,02	4,49±0,02	S/A	S/A	S/A	21000	18000	19600

Analisando os dados obtidos (Tabela 4.21) verificou-se que o pH da formulação FT 2, em ambas as temperaturas de armazenamento, aumentou ligeiramente ao longo dos 28 dias. O mesmo sucedeu para a formulação FT 3, à temperatura de armazenamento de 40 °C. No entanto, apesar da ligeira subida de pH, este continuou dentro do intervalo considerado aceitável de forma a evitar o risco de irritação na pele, assim como de instabilidade dos ingredientes.

No final dos 28 dias de armazenamento, verificou-se um ligeiro aumento da viscosidade para ambas as formulações quando armazenadas à temperatura de 25 °C e uma ligeira descida da viscosidade para ambas as formulações quando armazenadas à temperatura de 40 °C (Tabela 4.21). A formulação FT 3, armazenada a 5 °C praticamente não apresentou alterações na viscosidade. Os resultados consideram-se coerentes, uma vez que é aceitável existirem ligeiras alterações da viscosidade, por exemplo, a exposição a uma temperatura mais elevada pode levar a uma quebra das forças intermoleculares entre as moléculas e a uma diminuição da viscosidade.¹²⁶ No entanto, seria importante prolongar o tempo dos testes de estabilidade acelerada, de forma a verificar se as pequenas oscilações não se agravavam, levando a alterações significativas na viscosidade dos cremes.

4.2.2.2. Teste de congelamento/descongelamento e integridade da embalagem

As formulações testes, foram submetidas a 3 ciclos de congelamento/descongelamento no recipiente final para observar a integridade do recipiente e para observar possíveis alterações no aspeto dos cremes (Tabela 4.22).

Tabela 4.22: Resultados ciclos de congelamento/descongelamento. S/A: Sem Alteração; L/A: Ligeira Alteração; C/A: Com Alteração.

	Aspetto do creme	Alterações no recipiente	pH	Alterações de cor (ΔE)	Centrifugação
FT 2	S/A	S/A	4,72 \pm 0,02	0,31	S/A
FT 3	L/A	S/A	4,71 \pm 0,02	0,87	S/A

Ao fim dos três ciclos de 12 horas de congelamento/descongelamento, a formulação FT 2, com maior percentagem de conservante, não apresentou nenhuma alteração nem no aspeto do creme e nem da embalagem. Em relação à cor a mudança foi mínima, sendo o pH o único parâmetro que se alterou de 4,60 para 4,72, no entanto, esta variação também não comprometeu o desempenho do cosmético.

A formulação FT 3, com menor percentagem de conservante também não apresentou nenhuma alteração na embalagem. Contudo, esta formulação apresentou ligeiras alterações na textura e inícios de instabilidade (formação de creme) logo após o primeiro ciclo de congelamento/descongelamento. No entanto, após agitação do frasco e realização dos restantes 2 ciclos de congelamento/descongelamento, o produto mostrou-se estável como indicado na Figura 4.19.



Figura 4.19: Aspetto das emulsões FT 2 e FT 3, respetivamente, após ciclos congelamento/descongelamento.

Tal como verificado na formulação FT 2, a formulação FT 3 também apresentou uma ligeira alteração da cor e uma subida de pH, de 4,50 para 4,71, continuando, contudo, dentro do intervalo estipulado como estável.

Os testes de centrifugação realizados com ambas as formulações no final dos 3 ciclos de congelação/descongelação, mostraram ausência de separação de fases após a centrifugação. Assim, o ensaio de congelação/descongelação efetuado permitiu verificar a estabilidade das duas formulações.

4.2.2.3. Testes de contaminação microbiológica

A contaminação microbiana constitui uma ameaça à segurança do consumidor e à imagem de *marketing* dos produtos cosméticos. Assim revela-se essencial avaliar a estabilidade microbiológica dos produtos de forma a garantir a sua segurança.¹⁰⁴ A estabilidade microbiológica das formulações após

formulação e ao longo do armazenamento nas diferentes condições de temperatura, foi avaliada todas as semanas, durante um período de 28 dias.

A avaliação da qualidade microbiológica das amostras foi efetuada de acordo com as *Guidelines on Microbiological Quality of the Finished Cosmetic Product*.¹²⁷ Assim, foram avaliados seis parâmetros distintos cujos limites de aceitabilidade se encontram detalhados na Tabela 4.23.

Tabela 4.23: Limite de aceitabilidade para cosméticos que não se destinem a crianças com menos de 3 anos ou a ser aplicado na zona dos olhos ou em membranas mucosas.¹²⁷

Microrganismos	Limite de aceitabilidade
Microrganismos aeróbios mesófilos viáveis totais (bactérias + leveduras + fungos filamentosos)	$\leq 1 \times 10^3$ UFC por g ou mL
Deteção de <i>S. aureus</i>	Ausência em 1 g ou 1 mL
Deteção de <i>E. coli</i>	Ausência em 1 g ou 1 mL
Deteção de <i>P. aeruginosa</i>	Ausência em 1 g ou 1 mL
Deteção de <i>C. albicans</i>	Ausência em 1 g ou 1 mL

Após o período de incubação, as placas foram retiradas e verificadas quanto ao crescimento microbiano. Não foi observado crescimento microbiano em nenhuma condição de armazenamento, tanto para a formulação FT 2, como para a formulação FT 3. O conservante evitou a contaminação microbiológica até na menor percentagem testada (FT 3). Assim, todas as formulações cosméticas foram de excelente qualidade microbiológica, o que facilitou um ensaio de eficácia de conservante confiável.

Os excelentes resultados obtidos podem ter como base para além do sistema conservante, os óleos essenciais utilizados na formulação, estes são conhecidos por possuírem atividades antioxidantes e antimicrobianas e também a escolha de um recipiente fechado, que evita a exposição do cosmético.^{37,88} Com efeito, quanto mais aberto for o recipiente, maior será a exposição do cosmético a fatores de contaminação, incluindo ao ambiente doméstico e à pele dos consumidores, e maior a probabilidade de o produto ser contaminado e maior o risco potencial para o consumidor.¹²⁷

4.2.2.4. Ensaio de eficácia do conservante

Este ensaio consistiu na inoculação de microrganismos específicos, em condições controladas de forma a avaliar o desempenho do conservante escolhido. Este ensaio foi, igualmente, realizado com a finalidade de avaliar a possibilidade de se diminuir a quantidade de conservante adicionada na formulação, sem comprometer a segurança do produto.

Na Tabela 4.24 encontram-se representados os resultados obtidos na contagem dos microrganismos, efetuada imediatamente após a inoculação do cosmético (t_0), e que representa o nível de contaminação inicial.

Tabela 4.24: Resultados da análise dos cosméticos realizada imediatamente após a sua inoculação com os diferentes microrganismos (t0).

Microrganismos		FT 2 Log UFC/g	FT 3 Log UFC/g
Bactérias	<i>P. aeruginosa</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
	<i>S. aureus</i>	5,3 ± 0,1	5,2 ± 0,1
	<i>E. coli</i>	5,1 ± 0,2	5,1 ± 0,0
Levedura	<i>C. albicans</i>	4,1 ± 0,2	4,0 ± 0,0
Fungo filamentoso	<i>A. brasiliensis</i>	4,3 ± 0,2	4,5 ± 0,3

Os resultados obtidos mostram que os valores de contaminação inicial de ambas as formulações se encontram dentro dos limites estipulados pela Norma ISO 11930 (2012).¹⁰⁷

As amostras foram analisadas nos dias 7, 14, 21 e 28, no caso das bactérias e leveduras, e 14 e 28, no caso do fungo. Em todos os ensaios realizados, ou seja, em ambas as formulações e para todos os microrganismos, o número de UFC reduziu-se para < 2 LogUFC/g (ausência de colónias em todas as diluições testadas), logo a partir do dia 7, no caso das bactérias e leveduras, e do dia 14, no caso do fungo filamentoso, não tendo nunca sido verificado crescimento microbiológico até ao final do ensaio.

Com estes valores foi possível determinar o valor da redução logarítmica dos microrganismos, subtraindo-se o valor do logaritmo do número médio de microrganismos viáveis, em cada período de amostragem (7, 14 e 28 dias), ao valor logarítmico do número de microrganismos inoculado no tempo t0 (Tabelas 4.25 e 4.26).

Tabela 4.25: Resultados da redução logarítmica, para a formulação com uma maior quantidade de conservante (FT 2).

Microrganismos		T7	T14	T21	T28
Bactérias	<i>P.aeruginosa</i>	> 4	> 4	> 4	> 4
	<i>S.aureus</i>	>3	>3	>3	>3
	<i>E.coli</i>	>3	>3	>3	>3
Levedura	<i>C.albicans</i>	>2	>2	>2	>2
Fungo filamentoso	<i>A.brasiliensis</i>	-	>2	-	>2

Tabela 4.26: Resultados da redução logarítmica, para a formulação com uma menor quantidade de conservante (FT 3).

Microrganismos		T7	T14	T21	T28
Bactérias	<i>P.aeruginosa</i>	> 4	> 4	> 4	> 4
	<i>S.aureus</i>	>3	>3	>3	>3
	<i>E.coli</i>	>3	>3	>3	>3
Levedura	<i>C.albicans</i>	>2	>2	>2	>2
Fungo filamentoso	<i>A.brasiliensis</i>	-	>3	-	>3

Os valores de redução logarítmica obtidos, foram comparados com os valores mínimos exigidos para os critérios de avaliação A ou B, conforme estabelecido pela norma ISO 11930¹⁰⁷, referidos anteriormente no capítulo 1.6. Desta forma, foi possível observar que ambas as formulações cumprem o critério A da Norma ISO 11930¹⁰⁷, uma vez que, ao fim de 7 dias, no caso das bactérias e da levedura, e de 14 dias no caso do fungo filamentosos, já se verificava uma redução do número total de microrganismos de 2 ou mais ciclos logarítmicos, não se tendo verificado crescimento microbiano até ao final do ensaio (28 dias). O cumprimento do Critério A, significa que o risco microbiológico é considerado tolerável, e que ambas as formulações estão protegidas contra a proliferação microbiana.

O facto da formulação com menor percentagem de conservante (FT 3) ter também obedecido ao critério A, e, portanto, ter demonstrado ser eficaz na eliminação dos microrganismos inoculados, é um resultado bastante interessante, uma vez que quanto mais baixa for a quantidade de conservante, menor a probabilidade deste poder causar toxicidade ao consumidor.²²

Capítulo 5.

Conclusões e Perspetivas futuras

5. Conclusão e proposta de trabalhos futuros

A formulação hidratante corporal biológica desenvolvida tentou ir ao encontro das características que os consumidores mais procuram nos cosméticos convencionais, utilizando, no entanto, ingredientes de origem biológica, evitando ao máximo ingredientes agressivos, visando a obtenção de um produto mais amigável ao ambiente, com uma menor probabilidade de causar danos aos consumidores e que incorporasse a bolota como ingrediente diferenciador do produto, por ser um produto português, pelas suas propriedades antioxidantes e por cumprir com o potencial de *marketing*, uma vez que este ingrediente ainda é pouco explorado neste ramo.

As preocupações ambientais estenderam-se à embalagem tendo esta sido feita a partir de plástico reciclado.

Ao longo do desenvolvimento existiram vários passos críticos, como a seleção das matérias primas, nomeadamente a escolha do emulsionante, dos óleos vegetais e manteigas, e a seleção da concentração mais adequada da infusão de bolota a incorporar, ou a otimização dos tempos de homogeneização e da temperatura de mistura das fases.

A formulação final obtida, obedeceu a todos os parâmetros pretendidos, apresentando uma boa textura, absorção rápida, boa espalhabilidade, sem oleosidade e com um aroma frutado, que agradou à maioria dos avaliadores. A eficácia de hidratação, também, foi constatada pelos avaliadores e por uma sonda de luz polarizada, que demonstrou que a emulsão desenvolvida conseguiu atingir níveis de hidratação semelhantes aos de uma loção hidratante concorrente.

A formulação final demonstrou ser estável durante 28 dias de armazenamento a 25 °C e 40 °C e a 5 °C, ou seja, ao longo do armazenamento não ocorreu separação de fases, nem se verificaram acentuadas oscilações de pH, cor ou viscosidade. A formulação final apresentou-se ainda segura do ponto de vista microbiológico, mesmo com a menor concentração de conservante testada. Com efeito, os resultados obtidos mostraram que o risco microbiológico desta formulação é considerado tolerável, e que esta se encontra protegida contra a proliferação microbiana. Estes resultados permitem concluir que é possível diminuir para metade a percentagem de conservante, tornando o produto menos agressivo para o consumidor, sem comprometer a sua segurança microbiológica. Durante o desenvolvimento da emulsão hidratante utilizou-se sempre o dobro da concentração de FT 3, o que pode ter estado na origem de algumas irritações na pele de consumidores com pele sensível.

Apesar da formulação final se ter mostrado estável durante os 28 dias, de forma a garantir estabilidade do produto cosmético, dever-se-á prolongar o período de armazenamento do cosmético durante 6 meses a uma temperatura entre 37 °C a 45 °C¹²⁰, devendo os ensaios ser repetidos no final deste tempo, quando se aumentar mais a escala de produção e no final do prazo de validade que irá ser estipulado para o produto.¹²⁸

Capítulo 6.

Referências bibliográficas

6. Referências Bibliográficas

1. Baki, G. & Kenneth S., A. *Introduction To Cosmetic Formulation and Technology*. Wiley (John Wiley & Sons, Inc, 2015). doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2
2. Light, D. *Your Body How it works Cell, Tissues and Skin*. (Chelsea House Publishers, 2004).
3. Kolarsick, P. A. J., Kolarsick, M. A. & Goodwin, C. Anatomy and Physiology of the Skin. *J. Dermatol. Nurses. Assoc.* 3, 203–213 (2011).
4. Barel, A. O., Paye, M. & Maibach, H. I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology (Fourth Edition)*. (CRC Press, 2014). doi:10.1001/archderm.138.9.1262-a
5. Madison, K. C. Barrier function of the skin: ‘La Raison d’Être’ of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 121, 231–241 (2003).
6. Mendes, M. S. Impact of formulation and process variables, in technological features of dosage forms for skin delivery. (Dissertação para obtenção do grau de mestre em Tecnologias do Medicamento da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2016).
7. Harding, C. ., Watkinson, A., Rawlings, A. . & Scott, I. . Dry skin, moisturization and corneodesmolysis. *Int. J. Cosmet. Sci.* 22, 21–52 (2000).
8. Advanced Skin Science. *Course: Advanced Diploma in Organic Cosmetic Science* Available at: <https://moodle.formulabotanica.com/course/view.php?id=3#section-1>. (Accessed: 18th December 2018)
9. Montagna, W. & Ebling, J. G. Human skin. *Encyclopædia Britannica* (2016). Available at: <https://www.britannica.com/science/human-skin>.
10. Denecker, G., Ovaere, P., Vandenabeele, P. & Declercq, W. Caspase-14 reveals its secrets. *J. Cell Biol.* 180, 451 (2008).
11. Jonca, N., Caubet, C., Guerrin, M., Simon, M. & Serre, G. Corneodesmosin: Structure, Function and Involvement in Pathophysiology. *Open Dermatol. J.* 4, 36–45 (2010).
12. Berkers, T., Visscher, D., Gooris, G. & Bouwstra, J. Degree of Skin Barrier Disruption Affects Lipid Organization in Regenerated Stratum Corneum. *Acta Derm. Venereol.* 98, 421–427 (2018).
13. McGrath, J. A. & Uitto, J. Anatomy and Organization of Human Skin. in *Rook’s Textbook of Dermatology: Eighth Edition* 1, 34–86 (2010).
14. Rosso, J. Del, Zeichner, J., Alexis, A., Cohen, D. & Berson, D. Understanding the Epidermal Barrier in Healthy and Compromised Skin: Clinically Relevant Information for the Dermatology Practitioner: Proceedings of an Expert Panel Roundtable Meeting. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 9, (2016).
15. Ansari, N. *et al.* Skin penetration enhancement in novel drug delivery. *WORLD J. Pharm. Pharm. Sci.* 7, 254–271 (2018).
16. Roure, R., Lanctin, M., Nollent, V. & Bertin, C. Methods to assess the protective efficacy of emollients against climatic and chemical aggressors. *Dermatol. Res. Pract.* 2012, 1–5 (2012).
17. Ali, S. & Yosipovitch, G. Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Derm. Venereol.* 93, 261–267 (2013).
18. Sakuma, T. H. & Maibach, H. I. Oily skin: an overview. *Skin Pharmacol. Physiol.* 25, 227–35 (2012).
19. Draelos, Z. D. & Thaman, L. *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. (Taylor & Francis Group, 2005).
20. Nisbet, S. J. Skin acceptability of a cosmetic moisturizer formulation in female subjects with sensitive skin. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 11, 213–217 (2018).

21. Loden, M. The clinical benefit of moisturizers. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* 19, 672–688 (2005).
22. Halla, N. *et al.* Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. *Molecules* 23, 1571 (2018).
23. Iwata, H. & Shimada, K. *Formulas, ingredients and production of cosmetics: Technology of Skin- and Hair-Care Products in Japan.* (Springer, 2013). doi:10.1007/978-4-431-54061-8
24. Wan, D. C., Wong, V. W., Longaker, M. T., Yang, G. P. & Wei, F. C. Moisturizing different racial skin types. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 7, 25–32 (2014).
25. Wang, Y., Li, J., Shang, Y. & Zeng, X. Study on the development of wax emulsion with liquid crystal structure and its moisturizing and frictional interactions with skin. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 171, 335–342 (2018).
26. Kraft, J. N. *et al.* Moisturizers: What They Are and a Practical Approach to Product Selection. *Skin Therapy Lett.* 10, (2005).
27. Silva, R. Os critérios regulamentares destinados aos produtos cosmeticos sustentáveis. (Dissertação para obtenção do grau de mestre em Regulamentação e Avaliação do Medicamento e Produtos de Saúde, na Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, 2017).
28. Fonseca-Santos, B. *et al.* Sustainability, natural and organic cosmetics: consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 51, 17–26 (2015).
29. Ghazali, E., Soon, P. C., Mutum, D. S. & Nguyen, B. Health and cosmetics: Investigating consumers' values for buying organic personal care products. *J. Retail. Consum. Serv.* 39, 154–163 (2017).
30. Cosméticos - INFARMED, I.P. Available at: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/cosmeticos>. (Accessed: 2nd February 2019)
31. Organii - FAQs. Available at: <http://organii.com/pt-pt/faqs/>. (Accessed: 2nd February 2019)
32. Cervellon, M.-C., Rinaldi, M.-J. & Wernerfelt, A.-S. How Green is Green? Consumers' understanding of green cosmetics and their certifications. in *Proceedings of 10 th International Marketing Trends Conference* (2011).
33. O padrão COSMOS - COSMOS-standard. Available at: <https://cosmos-standard.org/the-cosmos-standard/>. (Accessed: 3rd February 2019)
34. COSMOS-standard Cosmetics Organic and Natural Standard. 0–45 (2019).
35. Bom, S., Jorge, J., Ribeiro, H. M. & Marto, J. A step forward on sustainability in the cosmetics industry: A review. *J. Clean. Prod.* 225, 270–290 (2019).
36. ECOCERT recebe COSMOS: Labiocos. Available at: <https://www.labiocos.com/get-ready-for-the-new-natural-cosmetic-standard-ecocert-gets-cosmosprivate-labelnatural-cosmetics/>. (Accessed: 29th August 2019)
37. Kirk-Othmer. *Chemical Technology of Cosmetics.* (JohnWiley & Sons, Inc, 2013).
38. Jha, D. B., Meyer, D. J. & Polak, G. Integrating Natural, Sustainable and Performance Characteristics in Personal Care Products. *SÖFW J.* 136, 36–44 (2010).
39. Glampedaki, P. & Dutschk, V. Stability studies of cosmetic emulsions prepared from natural products such as wine, grape seed oil and mastic resin. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 460, 306–311 (2014).
40. Mars, M.-C. & Depardon, K. Les cosmétiques biologiques : exploration d'une consommation alternative et résistante. *13 Journées de Recherche en Marketing de Bourgogne* (2008).
41. Rahate, A. R. & Nagarkar, J. M. Emulsification of Vegetable Oils using a Blend of Nonionic Surfactants for Cosmetic Applications. *J. Dispers. Sci. Technol.* 28, 1077–1080 (2007).

42. Terescenco, D., Picard, C., Clemenceau, F., Grisel, M. & Savary, G. Influence of the emollient structure on the properties of cosmetic emulsion containing lamellar liquid crystals. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 536, 10–19 (2018).
43. Santos, F. Emulsões múltiplas: formulação, caracterização, estabilidade e aplicações. (Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, 2011).
44. Mako, D. & Zdziennicka, A. Sugar-based surfactants as alternative to synthetic ones. *Ann. UMCS, Chem.* 70, 161–168 (2015).
45. Realdon, N., Perin, F., Morpurgo, M. & Ragazzi, E. Influence of processing conditions in the manufacture of O/W creams: I. Effect on dispersion grade and rheological characteristics. *Farm.* 57, 341–347 (2002).
46. Kowalska, M., Ziomek, M. & Żbikowska, A. Stability of cosmetic emulsion containing different amount of hemp oil. *Int. J. Cosmet. Sci.* 37, 408–416 (2015).
47. McClements, D. J. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 47, 611–649 (2007).
48. Evonik Nutrition & Care GmbH. dermofeel® NC- Technical Information. 5 (2018).
49. Personal Care - Catalog of products. *Evonik Industries* 42 (2018).
50. Technical Information - TEGO Care 450. *Evonik Nutrition & Care GmbH* (2015). Available at: <https://glenncorp.com/wp-content/uploads/2013/11/Tego-Care-450.-TDS.-05.01.153.pdf>. (Accessed: 11th March 2019)
51. Rowe, R., Sheskey, P. & Owen, S. *Handbook of Pharmaceutical Excipients. The pain stethoscope: A clinician's guide to measuring pain* (Pharmaceutical Press, 2006). doi:10.1007/978-1-908517-43-2
52. Laba, D. How Do I Thicken my Cosmetic Formula? *Cosmetics and Toiletries* (2001).
53. Best water-based thickeners for personal care product formulation. Available at: <https://knowledge.ulprospector.com/8100/pcc-best-water-based-thickeners/>. (Accessed: 19th February 2019)
54. Goswami, S. & Naik, S. Natural gums and its pharmaceutical application. *J. Sci. Innov. Res. JSIR* 3, 112–121 (2014).
55. Borseth, K. *The aromantic Guide to making your own Natural Skin, Hair and Body Care products*. (Aromantic Ltd, 2011).
56. Ingredients Directory. *Formula Botanica* (2019). Available at: [https://moodle.formulabotanica.com/pluginfile.php/519/mod_label/intro/Ingredients Directory 2019.pdf](https://moodle.formulabotanica.com/pluginfile.php/519/mod_label/intro/Ingredients%20Directory%202019.pdf). (Accessed: 6th March 2019)
57. SEPPIC™ SOLAGUM AX | Thickening-Stabilizing-Texturizing Polymer. Available at: <https://www.seppic.com/solagum-ax>. (Accessed: 13th March 2019)
58. Douguet, M. *et al.* Spreading properties of cosmetic emollients: Use of synthetic skin surface to elucidate structural effect. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 154, 307–314 (2017).
59. Gore, E., Picard, C. & Savary, G. Spreading behavior of cosmetic emulsions: Impact of the oil phase. *Biotribology* 16, 17–24 (2018).
60. Parente, M., Gámbaro, A. & Solana, G. Study of sensory properties of emollients used in cosmetics and their correlation with physicochemical properties. *J. Cosmet. Sci.* 56, 175–182 (2005).
61. Simpson, E. L. *et al.* Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *J. Allergy Clin. Immunol.* 134, 818–823 (2014).

62. Rawlings, A. V., Canestrari, D. A. & Dobkowski, B. Moisturizer technology versus clinical performance. *Dermatol. Ther.* 17, 49–56 (2004).
63. Chenery, N. Organic Cosmetics for Natural Beauty! *Org. Nat. Living* (2004).
64. Pavlačková, J. *et al.* Stability and in vivo efficiency of natural cosmetic emulsion systems with the addition of vegetable oils. *J. Pharm. Sci* 54, 17693 (2018).
65. Smaoui, S. *et al.* Cosmetic emulsion from virgin olive oil: Formulation and bio-physical evaluation. *AFRICAN J. Biotechnol.* 11, (2012).
66. Thornfeldt, C. R. Therapeutic herbs confirmed by evidence-based medicine. *Clin. Dermatol.* 36, 289–298 (2018).
67. Lin, T. K., Zhong, L. & Santiago, J. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *Int. J. Mol. Sci.* 19, (2017).
68. Rabasco Alvarez, A. M. & González Rodríguez, M. L. Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations. *Grasas y Aceites* 51, 74–96 (2000).
69. Osman, H. *et al.* Cocoa butter lotion for prevention of striae gravidarum: a double-blind, randomised and placebo-controlled trial. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* 115, 1138–1142 (2008).
70. Scapagnini, G. *et al.* Cocoa Bioactive Compounds: Significance and Potential for the Maintenance of Skin Health. *Nutrients* 6, 3202–3213 (2014).
71. Liebert, M. Final Report on the Safety Assessment of Candelilla Wax, Carnauba Wax, Japan Wax, and Beeswax. *J. Am. Coll. Toxicol.* 3, (1984).
72. N.J., O., C.A., U., U.E., E., O.K., O. & C.M., N. Possible Health Implications Associated with Cosmetics: A Review. *Sci. J. Public Heal.* 3, 58 (2015).
73. Organic Conditioning Ingredients. *Course: Diploma in Organic Haircare Formulation* Available at: <https://moodle.formulabotanica.com/course/view.php?id=31#section-9>. (Accessed: 16th April 2019)
74. Broccoli Seed Oil | Active Agents | myrto-naturalcosmetics. Available at: <https://www.myrto-naturalcosmetics.de/shop/en/active-agents/broccoli-seed-oil>. (Accessed: 30th April 2019)
75. Fractionated coconut oil – Point of Interest. Available at: <https://swiftcraftymonkey.blog/fractionated-coconut-oil/>. (Accessed: 28th March 2019)
76. GOSULIN IL- Natural solution without compromises! *Gova Ingredients* Available at: www.gova-ingredients.com. (Accessed: 14th March 2019)
77. Purnamawati, S., Indrastuti, N., Danarti, R. & Saefudin, T. The Role of Moisturizers in Addressing Various Kinds of Dermatitis: A Review. *Clin. Med. Res.* 15, 75–87 (2017).
78. Ebner, F., Heller, A., Rippke, F. & Tausch, I. Topical Use of Dexpanthenol in Skin Disorders. *Am. J. Clin. Dermatol.* 3, 427–433 (2002).
79. Infinity.pharma. D-PANTENOL. *Hidratante/ Umectante* Available at: <https://infinitypharma.com.br/uploads/insumos/pdf/d/d-pantenol.pdf>. (Accessed: 17th July 2019)
80. Takahashi, R., Fujimoto, N., Suzuki, M. & Endo, T. Biodegradabilities of Ethylenediamine-N,N'-disuccinic Acid (EDDS) and Other Chelating Agents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61, 1957–1959 (1997).
81. dermofeel ® PA-3. *Product Information* Available at: <http://www.lucasmeyercosmetics.com/mailling/pdf/DermofeelPA-3-ProductInformation.pdf>. (Accessed: 18th April 2019)
82. innospec. Biodegradable Chelant. *Natrlquest E30* Available at:

- http://www.innospecinc.com/assets/_files/documents/may_08/cm__1210345005_Natrlquest_E30.pdf. (Accessed: 19th April 2019)
83. Lupo, M. P. Antioxidants and vitamins in cosmetics. *Clin. Dermatol.* 19, 467–73 (2001).
 84. Gediya, S. K., Mistry, R. B., Patel, U. K., Blessy, M. & Jain, H. N. *Herbal Plants: Used as a cosmetics*. *J. Nat. Prod. Plant Resour* 1, (2011).
 85. Barel, A. O., Paye, M. & Maibach, H. I. *Handbook of Cosmetic Science and Tecnology*. (Marcel Dekker, Inc., 2001).
 86. Lambert, W. E. & De Leenheer, A. P. VITAMINS|Fat-Soluble: Thin-Layer (Planar) Chromatography. *Encyclopedia of Separation Science* 4437–4443 (2000). doi:10.1016/B0-12-226770-2/04011-4
 87. Yazar, K., Johnsson, S., Lind, M.-L., Boman, A. & Lidén, C. Preservatives and fragrances in selected consumer-available cosmetics and detergents. *Contact Dermatitis* 64, 265–272 (2011).
 88. Tongnuanchan, P. & Benjakul, S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *J. Food Sci.* 79, R1231–R1249 (2014).
 89. Kunicka-Styczyńska, A. *et al.* Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels. *Lett. Appl. Microbiol.* 60, 27–32 (2015).
 90. Dosoky, N. S. & Setzer, W. N. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. *Int. J. Mol. Sci.* 19, (2018).
 91. Noriega, P. Biological activity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf and its Potential Cosmetic Activities. *Int. J. Phytocosmetics Nat. Ingredients* 3, 7 (2016).
 92. Wang, Y., Jiang, Z.-T. & Li, R. Complexation and molecular microcapsules of *Litsea cubeba* essential oil with β -cyclodextrin and its derivatives. *Eur. Food Res. Technol.* 228, 865–873 (2009).
 93. Giorgio, A. *et al.* Microbiological Stability of Cosmetics by using Challenge Test Procedure. *J. Pure Appl. Microbiol.* 12, 23–28 (2018).
 94. Kunicka-Styczyńska, A., Sikora, M. & Kalemba, D. Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems. *J. Appl. Microbiol.* 107, 1903–1911 (2009).
 95. Yim, E., Nole, B., MD, K. & Tosti, A. Contact Dermatitis Caused by Preservatives. *Dermatitis* 25, 215–231 (2014).
 96. Heleno, S. *et al.* Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. *Molecules* 23, 1571 (2018).
 97. Kočevar Glavač, N. & Lunder, M. Preservative efficacy of selected antimicrobials of natural origin in a cosmetic emulsion. *Int. J. Cosmet. Sci.* 40, 276–284 (2018).
 98. euxyl® K 712 - Preservative for cosmetics & toiletries. *Schülke* Available at: www.schuelke.com. (Accessed: 1st May 2019)
 99. Surjushe, A., Vasani, R. & Saple, D. G. Aloe vera: a short review. *Indian J. Dermatol.* 53, 163–6 (2008).
 100. Pacheco, A. Análise nutricional, físico-química e atividade antioxidante de frutos de *Quercus* sp. visando a sua valorização. (Dissertação para obtenção do grau de mestre em Mestre em Controlo da Qualidade Especialidade em Água e Alimentos na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 2015).
 101. Vinha, A. F., Barreira, J. C. M., Costa, A. S. G. & Oliveira, M. B. P. P. A New Age for *Quercus* spp. Fruits: Review on Nutritional and Phytochemical Composition and Related Biological Activities of Acorns. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 15, 947–981 (2016).
 102. Aslani, A., Ghannadi, A. & Najafi, H. Design, formulation and evaluation of a mucoadhesive gel

- from *Quercus brantii* L. and *coriandrum sativum* L. as periodontal drug delivery. *Adv. Biomed. Res.* 2, (2013).
103. Costas, C. *Manual de Cozinha com Bolota para a Era Pós Petrolífera*. (5livros, 2018).
 104. Bouranen, A. Determination of the stability of cosmetic formulations with incorporation of natural products. (Dissertação para obtenção do grau de mestre em Engenharia Biotecnológica na escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, 2017).
 105. ANVISA. *Cosmetic Products Stability Guide. Quality in Cosmetics Series 1*, (2004).
 106. Bajaj, S., Sakhuja, N. & Singla, D. Stability Testing of Pharmaceutical Products. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2012, 129–138
 107. ‘Cosmetics -- Microbiology -- Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product’. in *International Standart - ISO 11930* (2012).
 108. Smaoui, S., Ben Hlima, H., Ben Chobba, I. & Kadri, A. Development and stability studies of sunscreen cream formulations containing three photo-protective filters. *Arab. J. Chem.* 10, S1216–S1222 (2017).
 109. Chan, C. K. Y., Zeeb, B., McClements, D. J. & Weiss, J. Impact of laccase on the colour stability of structured oil-in-water emulsions. *Food Res. Int.* 97, 223–230 (2017).
 110. Cosmetics-Microbiology-Enumeration of yeast and mould. in *International Standart - ISO 16212* (2008).
 111. Cosmetics-Microbiology-Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria. in *International Standart - ISO 21149* (2006).
 112. Cosmetics-Microbiology-Detection of *Staphylococcus aureus*. in *International Standart - ISO 22718* (2006).
 113. Cosmetics-Microbiology-Detection of *Pseudomonas aeruginosa*. in *International Standart - ISO 22717* (2006).
 114. Cosmetics-Microbiology-Detection of *Candida albicans*. in *International Standart - ISO 18416* (2007).
 115. Cosmetics-Microbiology-Detection of *Escherichia coli*. in *International Standart - ISO 21150* (2006).
 116. CCST M3: Choosing the right stability test. *Formula Botanica* Available at: <https://formulabotanica.com/certificate-in-cosmetic-stability-testing/>. (Accessed: 16th July 2019)
 117. Lotions: Facial moisturizers (updated) – Point of Interest. Available at: <https://swiftcraftymonkey.blog/lotions-facial-moisturizers/>. (Accessed: 12th November 2018)
 118. Moisturizer - How To Make Natural Moisturizer - Skin Care - Body Care. Available at: <https://www.newdirectionsaromatics.com/blog/articles/natural-moisturizers.html>. (Accessed: 12th November 2018)
 119. Joe Lin, T. Effect of Initial Surfactant Locations on the Viscosity of Emulsions. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 19, 683–697 (1968).
 120. *Emulsion Stability and Testing. Particle Sciences - Technical Brief 2*, (2011).
 121. Carrier Oils Handbook. *Diploma in Organic Skincare Formulation* 1–22 (2016). Available at: <https://moodle.formulabotanica.com/course/view.php?id=11#section-10>. (Accessed: 16th February 2019)
 122. Shop Skinchakra | LexFeel® Natural | purchase here. Available at: <https://shop.skinchakra.eu/en/Cosmetic-Lab/Cosmetic-ingredients-A-Z/LexFeel-Natural.html>. (Accessed: 20th March 2019)

123. Vadgama, R. N., Odaneth, A. A. & Lali, A. M. Green synthesis of isopropyl myristate in novel single phase medium Part I: Batch optimization studies. *Biotechnol. Reports* 8, 133–137 (2015).
124. Joe Lin, T. Mechanisms and Control of Gas Bubble Formation in Cosmetics. *I. Soc. Costttel. Chem* 22, 323–337 (1971).
125. Torbica, A. *et al.* Nutritional, rheological, and sensory evaluation of tomato ketchup with increased content of natural fibres made from fresh tomato pomace. *Food Bioprod. Process.* 98, 299–309 (2016).
126. Hemmingsen, P. V., Silset, A., Hannisdal, A. & Sjöblom, J. Emulsions of Heavy Crude Oils. I: Influence of Viscosity, Temperature, and Dilution. *J. Dispers. Sci. Technol.* 26, 615–627 (2005).
127. Revision of the SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety). in *Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation (9th revision)* 151 (2016).
128. ICH Topic Q 6 A - Specifications: Test Producers and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. in *European Medicines Agency* (2000).

