



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

LAURA MENDONÇA DE PAULA

**COMPARAÇÃO DA ESTABILIDADE DE EMULSÕES DE HIDROQUINONA 4%
ARMAZENADAS EM EMBALAGEM COMUM E EM EMBALAGEM A VÁCUO**

BRASÍLIA, DF
2015

LAURA MENDONÇA DE PAULA

**COMPARAÇÃO DA ESTABILIDADE DE EMULSÕES DE HIDROQUINONA 4%
ARMAZENADAS EM EMBALAGEM COMUM E EM EMBALAGEM A VÁCUO**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Alves Arede

BRASÍLIA, DF

2015

LAURA MENDONÇA DE PAULA

**COMPARAÇÃO DA ESTABILIDADE DE EMULSÕES DE HIDROQUINONA 4%
ARMAZENADAS EM EMBALAGEM COMUM E EM EMBALAGEM A VÁCUO**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Camila Alves Arede
(FCE/ Universidade de Brasília)

Prof. Dr. Livia Cristina Lira de Sá Barreto
(FCE/ Universidade de Brasília)

Prof. Me. Breno Noronha Matos
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Regilaine e Leonardo, que sempre me apoiaram e me incentivaram por toda a minha vida, ao meu irmão que está sempre ao meu lado, e a todos os meus familiares e amigos que mesmo estando longe sempre se fizeram presentes e acreditaram em mim.

Agradeço aos grandes amigos que fiz durante essa jornada, principalmente a Andressa, Jennifer, Vick e Renato, que sempre estiveram ao meu lado, e me deram apoio nos momentos mais difíceis. A todos os anos de encontros, desencontros, tropeços e experiências que esse ambiente me proporcionou, me tornando uma pessoa melhor e mais madura.

A minha orientadora Profa. Dra. Camila Areda, que foi sempre muito atenciosa, e que além de ser uma grande profissional, se mostra como uma grande pessoa. A Prof. Dr. Daniela Orsi pela ajuda na realização dos testes microbiológicos sempre com muita dedicação, a Prof. Dr. Izabel da Silva que não hesitou em me auxiliar nas análises estatísticas de dados, se mostrando mais uma vez a excelente educadora que é, e a todos os docentes que estiveram presentes durante a minha formação e contribuíram com conhecimento, profissionalismo, paciência e determinação.

A Prof. Dra. Livia Barreto e ao Prof. Me. Breno Matos, membros da banca examinadora por aceitarem o convite e estarem dispostos a contribuir com o meu trabalho.

Agradeço aos funcionários da faculdade que contribuem para o ambiente maravilhoso que temos, e aos técnicos de laboratório e estagiários no auxílio e paciência durante o período em que realizei minhas análises.

Por fim agradeço a todos que estiveram ao meu lado seja nos momentos acadêmicos ou sociais, sempre contribuindo com o meu crescimento pessoal e profissional, pois são as relações interpessoais que dão significado e continuidade a vida.

RESUMO

A hidroquinona é um dos despigmentantes cutâneos mais utilizados para tratar hiperpigmentações. É um componente que sofre oxidação com muita facilidade quando exposto à luz ou oxigênio, induzindo a instabilidade de suas emulsões e causando prejuízo estético e de eficácia a formulação. Uma das maneiras de impedir que a sua estabilidade seja alterada é utilizando embalagens para armazenamento que contenham o mínimo possível de ar interno, e impossibilitem a passagem de luz. A embalagem com sistema de armazenamento a vácuo reduz a quantidade de oxigênio no seu interior, podendo ser mais eficaz que embalagens comuns com tampa rosqueável para o envase de cremes contendo hidroquinona. Esse estudo visou comparar a estabilidade de duas emulsões de hidroquinona 4%, uma armazenada em embalagens plásticas com tampa rosqueável, e outra em embalagens com armazenamento a vácuo, ambas opacas, durante 90 dias, acondicionando-as em temperatura ambiente, em refrigerador (4°C) e em câmara climática (45°C), e analisando suas condições físicas, físico-químicas e microbiológicas por meio de ensaios como, estresse térmico, análise organoléptica, determinação de pH, teste de centrifugação, espalhabilidade e análise microbiológica. Nenhuma das duas emulsões apresentou separação de fases no teste de estresse térmico ou de centrifugação, nem crescimento de microrganismos, porém ambas apresentaram redução de pH, e apenas a emulsão da embalagem comum apresentou escurecimento da emulsão. Após comparação dos resultados verificou-se que a emulsão armazenada em pote com tampa rosqueável apresenta mais índices de instabilidade do que a emulsão armazenada nas embalagens a vácuo.

Palavras-Chave: Estabilidade, Emulsões, Hidroquinona, Despigmentante.

ABSTRACT

Hydroquinone is a skin-bleaching agent used to treat cutaneous hyperpigmentation. It is a component, which suffers oxidation very easily when exposed to light or oxygen, leading to instability of their emulsions, and causing aesthetic and effectiveness damage of the formulation. One way to prevent the alteration of its stability is the use of containers for storage containing a minimum of indoor air, and makes impossible the passage of light. The vacuum packaging storage system reduces the amount of oxygen present inside, and may be more effective than common packaging to store creams containing hydroquinone. The purpose of this study was to compare the stability of two emulsions hydroquinone 4% which one was stored in plastic containers with screw cap, and another one in vacuum storage containers, both of them opaque, for 90 days. The samples were stored at room temperature, in a refrigerator (4 °C), and in a climatic chamber (45 °C), and were analyzed their physical, physical-chemical and microbiological stability using tests as heat stress, sensory analysis, pH determination, centrifuge test, spreadability and microbiological analysis. Neither emulsions showed instability in the heat stress test, or centrifugation, or growth of microorganisms, but both showed pH reduction, and only the emulsion of the common package presented darkening of the emulsion. The results showed that the emulsion stored in jars with screw cap was unstable compared to emulsion stored in vacuum packaging.

Key words: Estability, Emulsions, Hydroquinone, skin-bleaching.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Emulsão A contendo hidroquinona 4% após 90 dias.....	29
Figura 2 – Gráfico com a variação de pH das Emulsões A e B durante o período de análises incubadas em diferentes condições.....	31
Figura 3 – Variação percentual do pH das emulsões A e B em relação a análise inicial.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da análise organoléptica das emulsões de hidroquinona 4% submetidas a diferentes condições de armazenamento.....	29
Tabela 2 – Valores comparativos de pH entre as emulsões de hidroquinona 4% A e B.....	33
Tabela 3 – Resultados dos testes de centrifugação das emulsões de hidroquinona 4% submetidas a diferentes condições de armazenamentos.....	35
Tabela 4 – Valores comparativos do Índice de Espalhabilidade entre as emulsões de hidroquinona 4% A e B.....	36
Tabela 5 – Resultados das análises microbiológicas das emulsões de hidroquinona 4% submetidas a diferentes condições de armazenamentos.....	38

LISTA DE SIGLAS

BPM - Boas Práticas de Manipulação

PA - Princípio Ativo

PCA – Ágar Caseína Soja

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

SD – Sabouraud-dextrose

SPSS - *Statistical Package for Social Science*

TA – Temperatura Ambiente

TC – Temperatura da Câmara Climática

TG – Temperatura da Geladeira

UFC - Unidade Formadora de Colônia

UV - Ultra Violeta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Medicamentos Manipulados	12
1.2. Emulsões	13
1.3. Hiperpigmentação Cutânea	14
1.4. Creme de Hidroquinona	15
1.5. Embalagens	17
2. JUSTIFICATIVA	19
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo Geral	20
3.2. Objetivos Específicos.....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. Equipamentos	21
4.2. Reagentes	21
4.3. Procedimentos	22
4.3.1. Análise de Rótulo e Embalagens.....	22
4.3.2. Estresse Térmico.....	22
4.3.3. Análise de Estabilidade Acelerada	22
4.3.3.1. Avaliação Organoléptica.....	23
4.3.3.2. Avaliação Físico-química	23
4.3.3.2.1. Determinação de pH.....	23
4.3.3.2.2. Teste de Centrifugação	23
4.3.3.2.3. Espalhabilidade	23

4.3.4. Análise Microbiológica	24
4.3.5. Análise Estatística	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1. Análise de Rótulo e Embalagem	26
5.2. Estresse Térmico	27
5.3. Análise de Estabilidade Acelerada.....	27
5.3.1. Avaliação Organoléptica.....	27
5.3.2. Avaliação Fisico-Química	30
5.3.2.1. Determinação de pH.....	30
5.3.2.2. Teste de Centrifugação	35
5.3.2.3. Espalhabilidade	35
5.4. Análise Microbiológica	37
6. CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

1.1. Medicamentos Manipulados

A procura por farmácias de manipulação tem crescido ao longo do tempo, tendo em vista que oferecem serviços individualizados, ajustando doses e a quantidade dos produtos comercializados de acordo com a necessidade do paciente, principalmente para pacientes pediátricos, geriátricos, com enfermidades que precisam de ajuste de dose, ou de associações que não existem no mercado, e com preços geralmente mais baixos que dos produtos industrializados (MANZOTTI; FELIPE, 2013; LEAL, 2007; POMBAL; BARATA; OLIVEIRA, 2010). Apesar das vantagens apresentadas, a qualidade dos produtos manipulados é questionada, pois existem registros de desvios de qualidade de produtos manipulados que levaram a óbito, e podem ocorrer devido a diversos fatores como a não qualificação de profissionais, e a falta de controle de insumos e das técnicas utilizadas (MELO, 2013).

Para garantir a segurança e qualidade dos medicamentos manipulados foram determinadas as Boas Práticas de Manipulação (BPM), que estão descritas na RDC 67/2007, e fazem parte da garantia de qualidade dos insumos farmacêuticos e dos medicamentos manipulados (BRASIL, 2012; SHIMABUKU *et al.*, 2009). As BPM consistem de condições mínimas para a avaliação da prescrição, manipulação, conservação de produtos magistrais e controle de aquisição de matérias primas e embalagens (BRASIL, 2012). Dentre essas condições mínimas estão, o conhecimento científico, técnico e a capacitação do farmacêutico, que se relacionam diretamente com o controle de matérias primas, equipamentos, técnicas de preparo, armazenamento de insumos e produtos, documentação e dispensação (BRASIL, 2012).

O emprego da legislação melhora a qualidade dos produtos magistrais uma vez que exige, por exemplo, maior controle dos espaços físicos das farmácias de manipulação, dos insumos farmacêuticos e de seus fornecedores, porém não determina parâmetros objetivos para o controle de qualidade (MELO, 2013). Para garantir a qualidade destes produtos deve haver o controle de todos os processos, que vão desde a obtenção da matéria prima até a dispensação do produto acabado (MELO, 2013).

Em alguns estudos as emulsões estão entre as formas farmacêuticas mais prescritas em farmácias de manipulação (RIBEIRO,2014, MIGUEL *et al.*, 2002).

1.2. Emulsões

As emulsões foram descobertas por volta do ano de 1925, e são compostas por líquidos imiscíveis, onde um se dispersa no outro em forma de pequenas gotas, geralmente contêm uma fase oleosa e outra aquosa, que necessitam da adição de um agente emulsionante para que haja a redução da tensão interfacial de suas partículas evitando a separação de fases (MAHMOOD; AKHTAR, 2013; FRANGE; GARCIA, 2009; BALBINOT; AGNES, 2012). São muito utilizadas para a incorporação de fármacos de uso tópico, pois podem carrear vários princípios ativos e são de fácil utilização (PIANOVSKI *et al.*, 2008; PERARO, 2001).

O desafio na formulação de emulsões é o de monitorar a qualidade e a estabilidade durante e após a sua fabricação, para prever o seu comportamento pelo prazo de validade determinado, pois mesmo com a adição de tensoativos, utilizados para diminuir a tensão superficial entre as moléculas favorecendo a formação de partículas menores e mais homogêneas, as emulsões são termodinamicamente instáveis, podendo apresentar separação de fases (ALMEIDA, 2012). Estas formulações devem permanecer estáveis mesmo passando por diversas situações as quais são submetidas ao longo do tempo, como a agitação durante o transporte e variações de temperatura e umidade, até o fim da sua validade (ALMEIDA, 2012; FRANGE; GARCIA, 2009; BELTRAMI *et al.*, 2008; BARZOTTO *et al.*, 2009).

A instabilidade de uma emulsão é apresentada principalmente nas formas de floculação, coalescência e cremação (FRANGE; GARCIA, 2009; BABY *et al.*; 2008). A floculação aparece com a formação de grumos maiores na formulação, mas que não ocasionam a separação de fases, como na coalescência, onde as unidades se juntam em partículas grandes e dispersas, já a cremação acontece quando uma das fases tem densidade maior ou menor que a outra, e assim se concentra no fundo ou na superfície da emulsão (FRANGE; GARCIA, 2009). A instabilidade das emulsões é indicada também pelas variações de suas características físico-químicas, e podem levar a inativação do princípio ativo (PA) (FRANGE; GARCIA, 2009; BABY *et al.*; 2008).

Para determinar a estabilidade das emulsões podem ser realizados testes preliminares logo que são produzidas, tais testes permitem a avaliação do seu comportamento durante sua vida útil determinada, e estudos após a sua comercialização (BALBINOT; AGNES, 2012). Um modo de realizar esses testes é fazendo a análise da estabilidade acelerada, a qual determina o tempo de uso estabelecido para um produto, sendo que neste período ele deve permanecer com as suas características principalmente de qualidade, eficácia e segurança de acordo com as suas condições de armazenagem, sua composição, embalagem em que é envazado, entre outros, mesmo sendo exposto a várias condições extremas (BABY *et al.*; 2008; LANGE; HEBERLÉ; MILÃO, 2009).

Durante o período de análise de estabilidade acelerada são realizadas análises físicas e físico-químicas que podem indicar com mais rapidez a instabilidade das emulsões. Podem aparecer instabilidades químicas, que levam a alteração da concentração do PA, e sua inativação, e instabilidades físicas, que afetam a aceitação do consumidor, quando ocorre a mudança de fatores como cor, odor e textura do produto, mesmo que ele seja estável quimicamente (BRASIL, 2012; FRANGE; GARCIA, 2009).

As alterações físicas das emulsões podem ser ocasionadas devido a exposição a altas temperaturas, que pode também, degradar os tensoativos, além de favorecer o crescimento microbiano e a incompatibilidade dos componentes da formulação, dentre outros aspectos que podem influenciar na estabilidade do produto (PERARO, 2001; POMBAL, 2010). Realizar avaliações químicas e físico-químicas ao longo do preparo e vida útil da formulação permite aprimorar escolhas para permitir mais estabilidade ao sistema emulsionado (BABY *et al.*; 2008).

Um dos produtos mais produzidos nas farmácias de manipulação são as emulsões de hidroquinona, as quais são utilizadas para tratamentos tópicos, e podem ter incorporados vários fármacos (SHIMABUKU *et al.*, 2009).

1.3. Hiperpigmentação Cutânea

A hiperpigmentação causa manchas escuras na pele e acontece quando há um erro na produção de melanina que resulta na sua produção excessiva, ou pelo número aumentado de melanócitos (MENDONÇA, 2014; BALBINOT; AGNES,

2012). Pode ocorrer devido a fatores externos como a exposição ao sol ou ao uso de fármacos, ou fatores intrínsecos como a idade, função hormonal e alergias (KATO; SOUZA; GOMES, 2010; GONCHOROSKI; CÔRREA, 2005; GARCÍA *et al.*, 2007). Dependendo da sua localização e extensão podem desencadear problemas psicológicos e de autoestima devido a condições estéticas (MENDONÇA, 2014; GARDONI *et al.*, 2004).

A melanina é o pigmento que determina a cor da pele e dos cabelos (MENDONÇA, 2014). Ela é sintetizada e armazenada no citoplasma dos melanócitos por uma enzima chamada tirosinase, que age sobre a tirosina, e é ativada após a exposição a raios UV (MENDONÇA, 2014; GARDONI *et al.*, 2004). Na maioria das vezes as pessoas possuem o mesmo número de melanócitos, mas a diferença no grau de atividade das enzimas induz as diferentes cores de pele (MENDONÇA, 2014; GARDONI *et al.*, 2004).

A hidroquinona é um dos despigmentantes cutâneos mais indicados, porém, sabe-se que pode causar efeitos colaterais como dermatite de contato, leucoderma e oncronose, costuma ser utilizada nas concentrações de 2% a 10%, tem como mecanismo de ação a inibição da tirosinase, e consequente a redução da síntese de melanina (GARDONI *et al.*, 2004; BALBINOT; AGNES, 2012).

1.4. Creme de Hidroquinona

A hidroquinona é usada com função despigmentante para clareamento de peles hiperpigmentadas (FRASSON; CANSSI, 2008). É um dos despigmentantes cutâneos mais utilizados, sendo encontrados produtos de venda livre com concentrações de até 2% de hidroquinona, mas podendo ser utilizadas concentrações de 2 a 10%, sendo que em concentrações maiores apresenta-se irritante. Concentrações de até 5% são recomendadas para uso no rosto, e de 6% a 10% para uso no corpo (MENDONÇA, 2014; FRASSON; CANSSI, 2008). Os resultados do uso da hidroquinona aparecem geralmente após um mês de uso (MANZOTTI; FELIPE, 2013).

Para exercer sua função a hidroquinona reduz a síntese de melanina, uma substância endógena que induz a coloração da pele (ZANIN *et al.*, 2001). Sua estrutura química inibe a enzima tirosinase, a qual oxida a tirosina 3,4-

dihidroxfenilalanina formando as pigmentações, pois compete com a tirosina e impede sua ação (CALAÇA; STETS; NAGATA, 2011; NICOLETTI; COSTA; COSME, 2009; KATO; SOUZA; GOMES, 2010).

A hidroquinona, além de inibir a ação da tirosinase, faz com que haja a degradação dos melanossomas, pois impede a formação das membranas dos melanócitos, interferindo na síntese de RNA e DNA, os produtos provindos de sua oxidação podem ser citotóxicos causando lesões irreversíveis às membranas dos melanócitos, impedindo assim a produção de novas células e induzindo sua destruição (GARDONI et al., 2004; GONCHOROSKI; CÔRREA, 2005). É a característica citotóxica supracitada que pode levar a apresentação de efeitos irritantes na pele (GONCHOROSKI; CÔRREA, 2005).

A ação da hidroquinona é reversível, pois com a suspensão do uso pode haver o repovoamento dos melanócitos quando ocorre morte celular, e a reativação da enzima (GARDONI et al., 2004).

Quando pura, ela se apresenta em forma de cristais brancos que são solúveis em água, metanol e éter e apresentam uma faixa de pH de 4 a 7 (ENGUITA; LEITÃO, 2013). É facilmente oxidada na presença de íons metálicos, pH alto, grande exposição a oxigênio e a luz, e por isso devem ser usados agentes antioxidantes em sua formulação, além de manter a faixa de pH ideal. Deve-se evitar o contato do fármaco com o ar e a sua exposição a luz, escolhendo a embalagem correta (GARCÍA et al., 2007; GONCHOROSKI; CÔRREA, 2005; KATO; SOUZA; GOMES, 2010).

Para a produção de uma emulsão de hidroquinona deve ser escolhida a base correta, e o seu caráter aniônico faz com que seja compatível com bases também aniônicas, tornando a base lanette um ótimo veículo (BALBINOT; AGNES, 2012). Sua facilidade de sofrer oxidação torna suas emulsões instáveis, e para retardar a degradação do fármaco e mudanças na formulação, as embalagens de armazenamento devem apresentar a menor superfície de contato possível, e é recomendado que sejam armazenadas em geladeira para reduzir a velocidade das reações de oxidação e estender o seu tempo de estabilidade (KATO; SOUZA; GOMES, 2010; SHIMABUKU et al., 2009).

O creme de hidroquinona é um produto fabricado em pequena escala, o que dificulta seu controle de qualidade, pois seus métodos de quantificação são caros, realizados geralmente por métodos cromatográficos (CALAÇA; STETS; NAGATA, 2011). Por isso, é importante o uso de medidas preventivas para evitar a degradação da hidroquinona, como o uso de embalagens apropriadas (BRAGA; PERES, 2010).

1.5. Embalagens

Segundo a Farmacopeia Brasileira, embalagem é o refratário utilizado para armazenar medicamentos, cosméticos, insumos farmacêuticos, entre outros, seguindo as condições de armazenamento estabelecidas na literatura para cada um (BRASIL, 2010).

Podem-se determinar algumas funções básicas das embalagens como a contenção, a qual visa o armazenamento do produto levando em consideração as suas necessidades para manter o produto preservado; a proteção, que envolve a proteção contra fatores que possam interferir no produto, como manipulação, transporte, estocagem e condições externas de temperatura e umidade; a comunicação, que leva em consideração a atração do cliente pelo produto e as informações necessárias sobre este, presentes na embalagem; e a utilidade, que leva em conta a facilidade do manuseio da embalagem para abertura e fechamento, transporte e estocagem (AVELAR; GOMES; SOUZA, 2004).

A embalagem final de um produto deve ser escolhida com base em vários fatores que cumpram os requisitos mínimos de acordo com o produto e o mercado, como a função, proteção, aparência e custo agregados (AVELAR; GOMES; SOUZA, 2004). Deve manter a segurança do produto, protegendo o conteúdo contra interferências físicas com relação a movimentação do transporte e distribuição, e contra a influência dos fatores externos, como luz, umidade e exposição aos gases atmosféricos, para garantir a estabilidade da formulação, e a eficácia do fármaco, além de apresentar um meio versátil e atrativo de uso (CARREIRA, 2009; JAIME *et al.*, 2011; KATO; SOUZA; GOMES, 2010).

Embalagens com o sistema de fechamento com tampa rosqueável são muito utilizadas para produtos farmacêuticos, porém sua qualidade é questionada, pois

está ligada ao torque de fechamento das tampas (JAIME *et al.*, 2012). Apresentam pontos negativos quando resultam na dificuldade de abrir os frascos quando há um torque excessivo, porém, um torque menor pode permitir a entrada de gases e umidade no recipiente, o que interfere na estabilidade do produto (JAIME *et al.*, 2012). Para melhorar a aceitação do cliente, e a qualidade de vida útil do seu conteúdo, as embalagens comuns estão sendo substituídas por embalagens denominadas inteligentes, as quais podem mudar as condições do armazenamento do produto e aumentar a sua vida útil, mantendo sua qualidade e segurança, e atraindo mais os consumidores (BRAGA; PERES, 2010). Elas podem conter sistemas absorvedores que retiram compostos que possam afetar a estabilidade do produto, como gases ou umidade (BRAGA; PERES, 2010).

Produtos como a hidroquinona são sensíveis ao oxigênio, o qual pode levar a mudanças nas características organolépticas das emulsões, assim, podem-se aplicar métodos que retiram o oxigênio presente dentro do espaço livre das embalagens, como no armazenamento a vácuo, porém sabe-se que esse método mantém cerca de 2% a 3% de oxigênio na embalagem, o que pode ser suficiente para causar tais alterações, além de ser um método mais caro (BRAGA; PERES, 2010).

2. JUSTIFICATIVA

A hidroquinona é instável quimicamente, e sofre oxidação com facilidade quando exposta a luz, a umidade e ao ar, o que leva ao escurecimento da emulsão, e a perda de sua função (FRASSON; CANSSI, 2008; KATO; SOUZA; GOMES, 2010). Para evitar essas alterações, é importante que sejam utilizados agentes antioxidantes compatíveis com a formulação, e também embalagens que diminuam a exposição a luz, e o contato com o ar (FRASSON; CANSSI, 2008).

Para verificar a qualidade e a segurança das emulsões de hidroquinona, são necessários testes de estabilidade com o objetivo de garantir que o produto é estável durante sua vida útil, e nas condições em que é comercializada (FRASSON; CANSSI, 2008; ZANIN *et al.*, 2001).

Logo, as análises realizadas permitirão avaliar a qualidade e a segurança de produtos armazenados em duas embalagens diferentes, em potes com tampa rosqueável e embalagens com sistema a vácuo, comparando a eficácia das mesmas para manter as características das emulsões.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Comparar a estabilidade de emulsões de hidroquinona 4% armazenadas em embalagens com tampa de rosqueável, e embalagens com sistema a vácuo.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a estabilidade acelerada de emulsões de hidroquinona 4% por meio de análises dos seguintes parâmetros:
 - Características organolépticas das emulsões;
 - Estabilidade microbiológica das emulsões;
 - Estabilidade físico-química das emulsões (análises de pH, espalhabilidade e centrifugação).
- Comparar a estabilidade de emulsões de hidroquinona 4% armazenadas em embalagens com tampa de rosqueável, e em embalagens com sistema a vácuo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Equipamentos

Foram listados a seguir os equipamentos utilizados para realizar as análises de estabilidade da emulsão:

- Autoclave vertical marca Phoenix Luterco®, modelo AV. Analógica;
- Balança analítica marca Marte®, modelo AY220 e balança semi-analítica marca Weblaorsp, modelo S303;
- Banho-maria marca Solab®, modelo SL 155/22;
- Câmara climática marca Nova Ética®;
- Chapa de agitação e aquecimento marca Logen®, modelo LS61-220;
- Ebulidor elétrico mergulhão, marca Cherubino®, 2000V;
- Equipamento de fluxo unidirecional marca VECO®, modelo CFLV09;
- Estufa marca Nova Ética®, modelo 402 – 3D;
- Freezer marca Electrolux®, modelo H300;
- Medidor de pH digital marca GEHAKA®, modelo PG1800;
- Micro centrífuga marca HETTICH®, modelo MIKRO 200R;
- Micropipetas com escalas de 100 -1000µl e 1- 5ml, marca Lasany®.

4.2. Reagentes

Para a realização das análises microbiológicas foram utilizados os seguintes reagentes:

- Ágar Sabouraud Dextrosado marca Prodimol Biotecnologia;
- Meio de cultura peptona de carne bacteriológica marca ISO FAR;
- Plate Count Agar marca HIMEDIA;

- Twin 80 marca ISOFAR.

4.3. Amostras

- Formulação A – emulsão manipulada de hidroquinona 4% armazenada em embalagem plástica com tampa rosqueável;
- Formulação B – emulsão manipulada de hidroquinona 4% armazenada em embalagem com sistema à vácuo.

4.4. Procedimentos

As emulsões de hidroquinona a 4% foram obtidas em duas farmácias de manipulação distintas, sendo que foram identificadas como “Emulsão A”, e “Emulsão B” para preservar a identidade dos estabelecimentos.

A Emulsão A foi recebida armazenada em pote branco, opaco e com tampa rosqueável, dividida em volumes de 500g pela própria farmácia, já a Emulsão B foi entregue pela farmácia dividida e armazenada em embalagens de 50g com fechamento a vácuo. Portanto, para permitir a avaliação da estabilidade acelerada das amostras, a Emulsão A foi transferida para embalagens menores com capacidade de 30g de material plástico branco e opaco com fechamento de rosqueável para que pudesse ser armazenada em diferentes condições e pelo período de estudo de 90 dias.

4.4.1. Análise de Rótulo e Embalagens

As embalagens contendo emulsões de hidroquinona 4% foram analisadas quanto a sua integridade e seus rótulos. Verificou-se se os rótulos continham as informações necessárias estabelecidas na RDC 67/2007 (BRASIL, 2007).

4.4.2. Estresse Térmico

Em triplicata, 5g de cada uma das emulsões A e B foram submetidas, em banho-maria, a um intervalo de temperatura de 40 a 80°C, progredindo 10°C a cada 30 minutos, e quando reestabelecidas à temperatura ambiente foram analisadas quanto as suas características macroscópicas, aspecto, cor e odor (BABY *et al.*; 2008).

4.4.3. Análise de Estabilidade Acelerada

As embalagens contendo as emulsões A e B foram distribuídas em três condições distintas, câmara climática ajustada à temperatura de 45°C e umidade de 70%, refrigerador com temperatura de 4°C, e temperatura ambiente pelos intervalos de tempo de 0, 1, 7, 15, 30, 60 e 90 dias (BRASIL, 2004). Durante esse período a Emulsão A foi armazenada em potes plásticos de cor branca, opaco e com tampa rosqueável, e a Emulsão B em embalagens brancas e opacas com sistema a vácuo., e ao final de cada intervalo as amostras foram avaliadas quanto aos seus aspectos organolépticos, físico-químicos e microbiológicos.

4.4.3.1. Avaliação Organoléptica

As amostras submetidas a cada condição foram avaliadas quanto a alterações de cor, odor e aspecto espalhando-se uma pequena quantidade da emulsão em vidro relógio após cada intervalo de tempo determinado para análise de estabilidade acelerada.

4.4.3.2. Avaliação Físico-química

4.4.3.2.1. Determinação de pH

O pH das emulsões foi determinado com o auxílio de um pHmetro digital após a diluição das emulsões na proporção de 1:10, diluindo 4g do creme em 40mL de água destilada (BABY *et al.*; 2008). Os valores de pH das amostras foram obtidos após o final de cada intervalo de tempo determinado, e em triplicata para cada condição de temperatura a que foram expostos.

4.4.3.2.2. Teste de Centrifugação

Após transferir cerca de 1,75 ml das emulsões para *ependorfs* foi realizado o teste de centrifugação utilizando micro centrífuga nas condições de 3000 rpm (25°C) por 30 minutos, e observadas alterações como cremeação, floculação ou coalescência.

4.4.3.2.3. Espalhabilidade

A espalhabilidade foi determinada utilizando o método de Knorst, o qual determina a espalhabilidade de um produto utilizando placas de vidro sobre papel

milimetrado e um foco de luz. É utilizada uma placa de vidro como base, e sobre ele coloca-se uma outra placa com um orifício central no qual é adicionada a emulsão, que é nivelada com o auxílio de uma espátula, em seguida retira-se a placa e sobre a amostra são colocadas novas placas com pesos conhecidos, com o intervalo de 1 minuto, e entre os intervalos mede-se o diâmetro atingido com o auxílio do papel milimetrado. A espalhabilidade é demonstrada em função do peso que é colocado sobre a amostra (BORGHETTI; KNORST, 2006).

Foram utilizadas 5 placas com os pesos conhecidos sendo elas P1= 302,08g, P2= 300,37g, P3= 300,05g, P4= 302,28g e P5= 301,00g. O diâmetro foi medido em duas direções opostas a fim de obter uma média da área atingida e tornar possível a aplicação da equação $E_i = d^2 \times \pi / 4$, onde E_i = índice de espalhabilidade e d = diâmetro médio (BORGHETTI; KNORST, 2006).

4.4.4. Análise Microbiológica

Para realizar a avaliação microbiológica foi preparada água peptonada 0,1% adicionada de Twin 80 e meios de cultura ágar caseína-soja (PCA) para determinação de bactérias, e ágar sabouraud-dextrose (SD) para determinação de fungos, os quais foram autoclavados para que fossem obtidas soluções estéreis, juntamente com os materiais a serem utilizados, como placas de vidro, espátulas e ponteiras.

As emulsões foram diluídas em água peptonada na proporção de 1:10, sendo transferidos 10g em 90mL, que em seguida foram submetidas a agitação para melhor homogeneização.

As placas foram semeadas pelo método em profundidade, onde foi aplicado 1000 microlitros da emulsão na concentração de 1:10 no fundo da placa, e em seguida adicionado cerca de 20 ml do meio de cultura. Após a semeadura as placas de PCA e SD foram acondicionadas respectivamente a 36°C por 3 dias, e a 25°C por 7 dias, antes da contagem total de colônias.

O método empregado foi o de contagem em placa, onde se toma a média aritmética de cada placa e calcula-se o número de unidades formadoras de colônia presentes, por grama do produto.

4.4.5. Análise Estatística

Para análise dos dados de pH e espalhabilidade dos cremes A e B, nos diferentes tempos e temperaturas de incubação, foi analisada inicialmente a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk. Verificado que os pressupostos de normalidade estavam ausentes, adotou-se o teste H de Kruskal-Wallis ou U de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% e os programas estatísticos utilizados foram o *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 20.0 e o Graph Prism versão 5.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para determinar a estabilidade de cosméticos foi publicado pela Anvisa um guia de estabilidade contendo testes e que podem ser seguidos, porém parâmetros para a realização deles não são estabelecidos oficialmente, ficando a critério do profissional, dependendo do seu objetivo e de sua formulação (PIANOVSKI *et al.*, 2008).

A estabilidade de um produto pode ser alterada devido a diversos fatores, que podem ser extrínsecos ou intrínsecos da sua formulação. Alterações de temperatura, exposição à luz, umidade, vibração, microrganismos ou a escolha da embalagem incorreta são fatores externos que podem influenciar na estabilidade desses produtos, assim a incompatibilidade dos componentes da formulação entre si, ou com a embalagem (BRASIL, 2004).

A realização destes estudos tem como objetivo garantir a qualidade, eficácia e segurança dos produtos manipulados durante sua vida útil (BORGHETTI; KNORST, 2006).

5.1. Análise de Rótulo e Embalagem

A RDC 67/ 2007 dispõe sobre as boas praticas de manipulação, e aborda como os produtos magistrais devem ser rotulados (BRASIL, 2007).

Dentre outras especificações, os rótulos devem conter a data de manipulação, data de validade, os componentes da formulação e suas quantidades, e advertências que possam auxiliar no armazenamento correto do produto quando necessário (BRASIL, 2000).

Os dois cremes de hidroquinona foram adquiridos em farmácias de manipulação diferentes, sendo que o primeiro, identificado como Emulsão A, era armazenado em pote plástico com tampa rosqueável, e o segundo, identificado como Emulsão B, era armazenado em embalagem com sistema a vácuo, todas as embalagens adquiridas estavam íntegras e eram opacas para impedir a passagem de luz, tendo em vista que a hidroquinona pode sofrer oxidação devido a exposição à luz (FRASSON; CANSSI, 2008). Kato, Souza e Gomes (2010), relatam que o armazenamento de cremes de hidroquinona em bisnagas metálicas é eficaz por

diminuir a área de contato do produto com o ar, o que se pode esperar também da embalagem com sistema de armazenamento a vácuo, que tem a sua quantidade de ar interna reduzida.

As embalagens dos dois produtos estavam rotuladas com informações como a data de manipulação e o prazo de validade de 90 dias, assim como em análises de emulsões de hidroquinona apresentados por Manzotti e Felipe (2013), mas nenhuma apresentou os componentes de sua formulação, ou qualquer advertência para armazenamento, sendo que geralmente os cremes de hidroquinona devem ser acondicionados em geladeira, para manter a sua estabilidade (SHIMABUKU *et al.*, 2009).

Apenas as embalagens contendo a Emulsão A continham a informação de que a hidroquinona teria sido incorporada a uma base lanette, informação que foi obtida sobre a Emulsão B apenas entrando em contato com a farmácia de manipulação.

5.2. Estresse Térmico

Nenhuma amostra apresentou instabilidade nas análises macroscópicas realizadas após serem submetidas ao estresse térmico, sendo assim consideradas satisfatórias para prosseguir com os próximos testes.

5.3. Análise de Estabilidade Acelerada

A análise de estabilidade acelerada é realizada com a intenção de prever o comportamento do produto durante o seu prazo de validade, expondo-o a diferentes condições de temperatura, e a situações extremas para identificar possíveis instabilidades da formulação (ALMEIDA, 2012).

5.3.1. Avaliação Organoléptica

A estabilidade física define a manutenção de características como cor, odor e aspecto da formulação, que podem ser alteradas com a mudança de temperatura e modo e tempo de armazenagem, por exemplo (BARZOTTO *et al.*, 2009). Algumas alterações podem influenciar características físico-químicas, como alteração de pH, oxidação, ou hidrólise, as quais podem inativar o PA, e causar alterações de cor e odor e aspecto (BARZOTTO *et al.*, 2009).

As amostras de emulsão de hidroquinona foram observadas quanto a sua coloração, aspecto e odor nos períodos de 0,1, 7, 15, 30, 60, e 90 dias. Desde o início das análises a Emulsão A se mostrou com um aspecto mais consistente que a Emulsão B, e essa diferença se manteve durante todo o período mesmo que as duas emulsões tenham sido preparadas com base aniônica, e essa diferença com relação a consistência das emulsões pode ser observada também nos estudos de Manzotti e Felipe (2013).

Os produtos da oxidação da hidroquinona contém coloração amarelada, e com o tempo ficam marrom, o que confere a formulação um aspecto desagradável, e a perda de sua função, já que o processo oxidativo deveria ocorrer apenas após sua aplicação na pele (BALBINOT; AGNES, 2012; FRASSON; CANSSI, 2008).

As emulsões A e B se apresentaram com coloração branca no início das análises, e apenas a amostra da Emulsão A acondicionada a 45°C apresentou mudança na sua coloração após o período de 90 dias. O creme em questão apresentou uma coloração marrom em uma pequena área como mostra a figura 2, onde também pode-se observar que as amostras mantidas em temperatura ambiente e a 4°C continuaram com a sua cor inicial. As amostras do creme B não apresentaram mudanças em sua coloração. O estudo de Kato, Souza e Gomes (2010) também apresentou resultados com emulsões estáveis quando expostas a temperatura ambiente e refrigerada, porém foi realizado por um período de apenas 45 dias, logo as emulsões analisadas neste trabalho foram capazes de manter a sua estabilidade por um período ainda maior nestas condições.

A oxidação da hidroquinona ocorre com mais facilidade quando ela é armazenada em potes em que a superfície de contato com o ar, e a exposição a luz é maior, como no caso da Emulsão A, que era armazenada em pote plástico com tampa rosqueável (FRASSON; CANSSI, 2008). Já a Emulsão B, armazenada em embalagem a vácuo tem o seu contato com oxigênio reduzido, o que pode ter impedido que o processo de oxidação ocorresse na mesma velocidade da Emulsão A quando expostas as mesmas condições.

O aumento da temperatura pode acelerar as reações químicas como a oxidação, o que justifica que apenas amostras expostas a temperatura mais alta, de 45°C, tenham sofrido tal alteração, mas outros fatores como o pH também podem

favorecer o processo oxidativo (BRASIL, 2012).

Figura 1: Emulsão A contendo hidroquinona 4% após 90 dias.



1 - Armazenada em temperatura ambiente(TA); 2 - Armazenada em geladeira (TG); 3 - Armazenada em câmara climática (TC).

Fonte: própria autora, 2015.

Nenhuma amostra apresentou alterações de odor, mantendo seu odor característico desde sua obtenção, como pode ser visto na tabela 1.

Tabela 1 - Resultados da análise organoléptica das emulsões de hidroquinona 4% submetidas a diferentes condições de armazenamento.

Dia experimental	Tratamento	Características Organolépticas		
		Cor	Odor	Aparência
0	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	N/A	N/A	N/A
	TG-B	N/A	N/A	N/A
	TC-A	N/A	N/A	N/A
	TC-B	N/A	N/A	N/A
1	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-B	Branca	Característico	Homogêneo

Fonte: própria autora, 2015.

Tabela 1 - Continuação

Dia experimental	Tratamento	Características Organolépticas		
		Cor	Odor	Aparência
7	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-B	Branca	Característico	Homogêneo
15	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-B	Branca	Característico	Homogêneo
30	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-B	Branca	Característico	Homogêneo
60	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-B	Branca	Característico	Homogêneo
90	TA-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TA-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-A	Branca	Característico	Homogêneo
	TG-B	Branca	Característico	Homogêneo
	TC-A	Marrom	Característico	Homogêneo
	TC-B	Branca	Característico	Homogêneo

Fonte: própria autora, 2015.

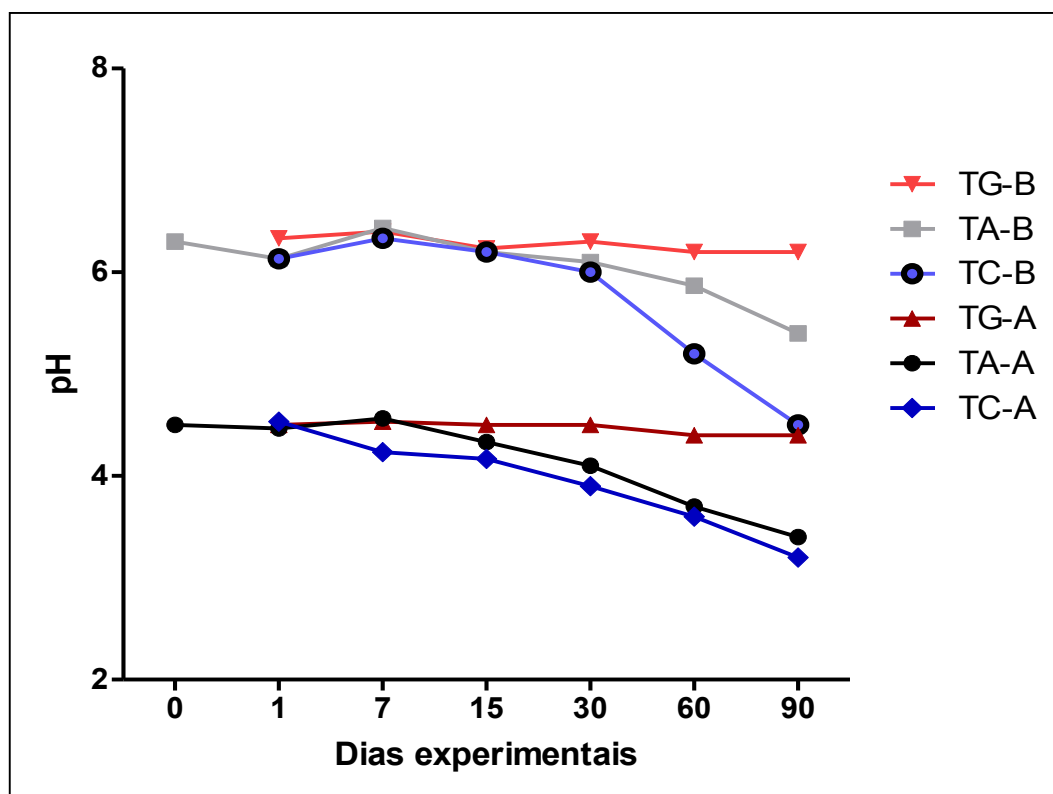
5.3.2. Avaliação Físico-química

5.3.2.1. Determinação de pH

A pele funciona como fator de proteção contra agentes externos, porém acaba sendo uma barreira que dificulta a ação de medicamentos ou cosméticos de uso tópico (BABY *et al.*; 2008). Para permitir a penetração dos princípios ativos na

pele deve ser realizado um estudo sobre as características físico-químicas dos ativos, que devem ser compatíveis com a da pele (BABY *et al.*; 2008).

Figura 2 – Gráfico com a variação de pH das Emulsões A e B durante o período de análises incubadas em diferentes condições.



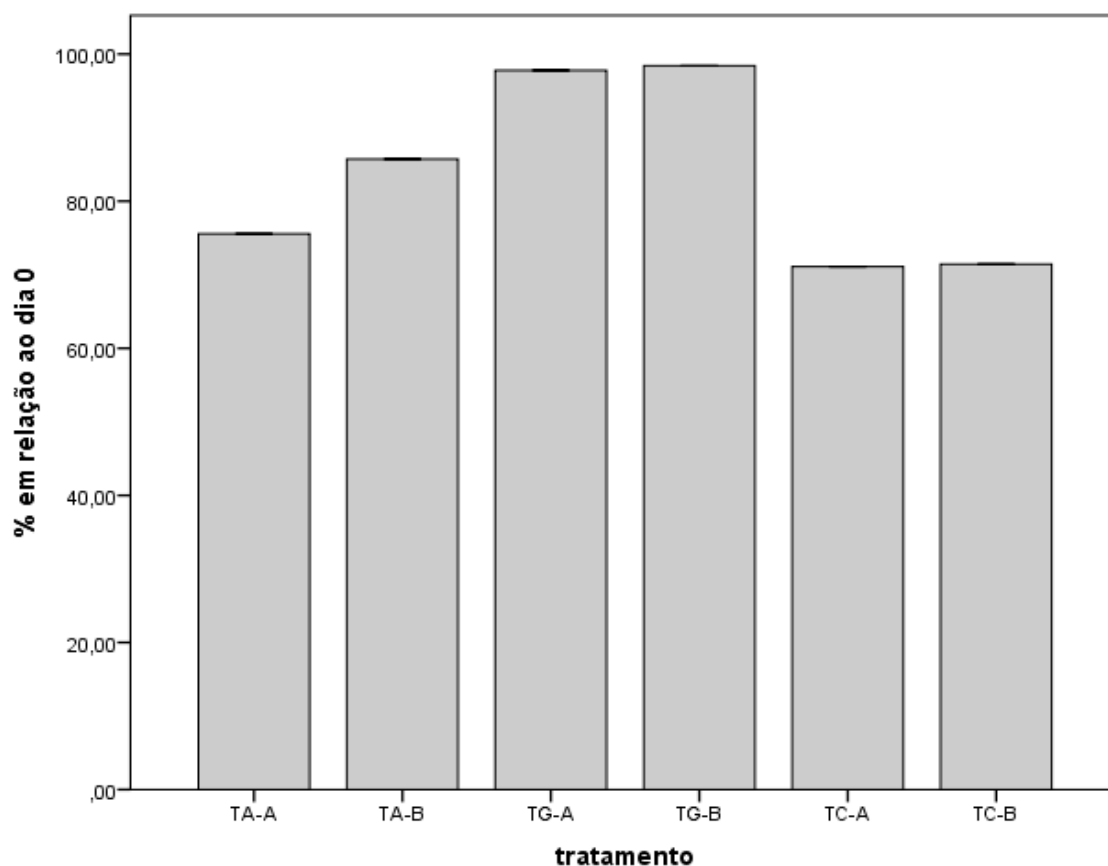
Temperatura Ambiente (TA), Geladeira 4°C(TG), e Câmara Climática 45°C (TC).
Fonte: própria autora, 2015.

Na Figura 2 pode ser observado que o comportamento do pH de ambas as emulsões nas condições de temperatura ambiente (TA), e temperatura de câmara climática (TC) é de queda durante o tempo de análise, sendo que o pH da Emulsão B é sempre superior aos valores de pH da Emulsão A. Tanto os valores de pH de A, quanto de B passam a ser diferentes estatisticamente dos seus respectivos valores de geladeira (TG) nas análises do dia 30, e no creme A a amostra sob as condições TA e TC se tornam significativamente diferentes entre si apenas no último dia de análise (D90), enquanto no creme B isso acontece no dia 60.

Pode-se perceber também que a exposição das amostras A e B a TG manteve os valores próximos aos iniciais (D0) até o último dia de análise, demonstrando que armazenar as emulsões em geladeira mantém o seu pH mais estável como discutido por SHIMABUKU(2009).

Analisou-se também a variação do pH ao final das análises em relação ao pH inicial, que pode ser visualizado na figura 3.

Figura 3 – Variação percentual do pH das emulsões A e B em relação a análise inicial.



Fonte: própria autora, 2015.

A Emulsão A exposta a temperatura ambiente obteve uma variação percentual maior de pH que a Emulsão B na mesma condição durante todo o período do estudo, enquanto que as emulsões A e B expostas a TG e TC obtiveram variações aproximadas como pode ser visto na figura 3.

Comparando os valores de pH de A e B (tabela 2) submetidas as mesmas exposições de temperatura, e nos mesmos dias experimentais, eles se mostram com diferenças significativas em todas as análises (* $P < 0,05$), como pode ser visto na tabela 1, que também demonstra que em todos os dias de análises, todas as amostras se mostraram diferentes.

Tabela 2 – Valores comparativos de pH entre as emulsões de hidroquinona 4% A e B.

Dia experimental	Tratamento	pH		N	P #	P §
		Média	Erro padrão			
0	TA-A	4,50	0,00	3	0,025*	0,025*
	TA-B	6,30	0,00	3		
	TG-A			0		
	TG-B			0	N/A	
	TC-A			0		
	TC-B			0	N/A	
1	TA-A	4,47	,07	3	0,043*	0,011*
	TA-B	6,13	,03	3		
	TG-A	4,50	0,00	3	0,034*	
	TG-B	6,33	,07	3		
	TC-A	4,53	,03	3	0,043*	
	TC-B	6,13	,03	3		
7	TA-A	4,57	,07	3	0,043*	0,007*
	TA-B	6,43	,03	3		
	TG-A	4,53	,03	3	0,034*	
	TG-B	6,40	0,00	3		
	TC-A	4,23	,03	3	0,043*	
	TC-B	6,33	,03	3		
15	TA-A	4,33	,07	3	0,034*	0,006*
	TA-B	6,20	0,00	3		
	TG-A	4,50	0,00	3	0,034*	
	TG-B	6,23	,03	3		
	TC-A	4,17	,03	3	0,034*	
	TC-B	6,20	0,00	3		
30	TA-A	4,10	0,00	3	0,025*	0,004*
	TA-B	6,10	0,00	3		
	TG-A	4,50	0,00	3	0,025*	
	TG-B	6,30	0,00	3		
	TC-A	3,90	0,00	3	0,025*	
	TC-B	6,00	0,00	3		

comparação entre o creme A e o creme B, no dado dia experimental e temperatura de incubação, Teste H de Kruskal-Wallis.

§ comparação entre todos os tratamentos e cremes num dado dia experimental, Teste U de Mann-Whitney.

*P<0,05

N/A: não se aplica.

Fonte: próprio autora, 2015.

Tabela 2 – Continuação

Dia experimental	Tratamento	pH		N	P #	P \$
		Média	Erro padrão			
60	TA-A	3,70	0,00	3	0,034*	0,005*
	TA-B	5,87	,03	3		
	TG-A	4,40	0,00	3	0,025*	
	TG-B	6,20	0,00	3		
	TC-A	3,60	0,00	3	0,025*	
	TC-B	5,20	0,00	3		
90	TA-A	3,40	0,00	3	0,025*	0,004*
	TA-B	5,40	0,00	3		
	TG-A	4,40	0,00	3	0,025*	
	TG-B	6,20	0,00	3		
	TC-A	3,20	0,00	3	0,025*	
	TC-B	4,50	0,00	3		

comparação entre o creme A e o creme B, no dado dia experimental e temperatura de incubação, Teste H de Kruskal-Wallis.

\$ comparação entre todos os tratamentos e cremes num dado dia experimental, Teste U de Mann-Whitney.

*P<0,05

N/A: não se aplica.

Fonte: próprio autora, 2015.

O pH é um dos fatores que interferem na estabilidade das preparações e deve ser ajustado de acordo com a faixa de pH em que o PA se mantém estável, pois pode interferir na sua eficácia induzindo degradação (FRANGE; GARCIA, 2009; POMBAL, 2010).

Na literatura são relatados como pH ideal da hidroquinona valores entre 3 e 7 (BALBINOT; AGNES, 2012; KATO; SOUZA; GOMES, 2010; ENGUITA; LEITÃO, 2013), que devem ser ajustados para um valor mais próximo ao pH da pele, que pode variar entre 4,2 a 6, para melhorar a permeação do fármaco (BALBINOT; AGNES, 2012; RODRIGUES, 2013).

Os produtos analisados apresentaram inicialmente o pH dentro da faixa encontrada na literatura, porém ao final do estudo as amostras da Emulsão A submetidas a temperatura ambiente e câmara climática apresentam pH abaixo do valor compatível com a permeação cutânea, o que pode interferir na eficácia do tratamento.

A oxidação da hidroquinona ocorre geralmente em pH alcalino, portanto o manipulado deve manter seu pH dentro da faixa de 4 a 6, o que é compatível com o pH da pele (MANZOTTI; FELIPE, 2013).

5.3.2.2. Teste de Centrifugação

Os testes de centrifugação tornam possível a verificação da instabilidade por meio da presença ou ausência de mudanças físicas no produto, como cremeação, e coalescência, que ocorrem devido ao aumento da agitação entre as partículas com o aumento da força da gravidade gerada (FRANGE; GARCIA, 2009).

As amostras analisadas foram submetidas à centrifugação em micro centrífuga nas condições de 3.000 rpm, 25 °C, por 30 minutos, e assim como os resultados apresentado nas análises de Kato, Souza e Gomes (2010) se mostraram estáveis pois não apresentaram nenhum tipo de alteração, em nenhuma das condições a quais foram submetidas dentro do período das análises, como mostra a tabela 3.

Tabela 3 – Resultados dos testes de centrifugação das emulsões de hidroquinona 4% submetidas a diferentes condições de armazenamentos.

Dia Experimental	Teste de Centrifugação					
	TA – A	TA - B	TG - A	TG - B	TC - A	TC - B
D0	E	E	E	E	E	E
D1	E	E	E	E	E	E
D7	E	E	E	E	E	E
D15	E	E	E	E	E	E
D30	E	E	E	E	E	E
D60	E	E	E	E	E	E
D90	E	E	E	E	E	E

Fonte: própria autora, 2015.

5.3.2.3. Espalhabilidade

A espalhabilidade é um fator relacionado a aplicação de produtos de uso tópico, que é determinada pela capacidade de um produto expandir sobre uma superfície após sua aplicação, e está relacionada com a aceitação do usuário (BORGHETTI; KNORST, 2006).

Foram obtidos os índices de espalhabilidade das emulsões A e B em intervalos pré-determinados durante um período de 90 dias, e com amostras de cada emulsão submetidas a diferentes temperaturas. Esses resultados foram comparados para determinar a diferença entre os dois cremes.

Tabela 4 – Valores comparativos do Índice de Espalhabilidade entre as emulsões de hidroquinona 4% A e B.

Dia experimental	tratamento	Espalhabilidade			
		Média	Erro padrão	N	P#
0	TA-A	4228,91	458,27	3	0,046*
	TA-B	2955,58	80,83	3	
	TG-A			0	
	TG-B			0	N/A
	TC-A			0	
	TC-B			0	N/A
1	TA-A	4231,59	255,50	3	0,05
	TA-B	3152,46	116,51	3	
	TG-A	4266,87	453,30	3	0,05
	TG-B	3319,49	88,42	3	
	TC-A	4341,81	135,15	3	0,043*
	TC-B	3885,23	18,39	3	
7	TA-A	4421,14	170,05	3	0,05
	TA-B	3352,73	45,17	3	
	TG-A	4582,14	232,25	3	0,05
	TG-B	3406,21	123,44	3	
	TC-A	4359,55	58,32	3	0,046*
	TC-B	3849,37	83,59	3	
15	TA-A	4479,06	136,95	3	0,05
	TA-B	3596,47	46,95	3	
	TG-A	4224,26	69,43	3	0,05
	TG-B	3794,85	94,55	3	
	TC-A	4437,57	19,70	3	0,043*
	TC-B	3812,06	36,39	3	

comparação entre o creme A e o creme B, no dado dia experimental e temperatura de incubação, Teste H de Kruskal-Wallis.

*P<0,05

N/A: não se aplica.

Fonte: própria autora, 2015.

Tabela 4 – Continuação

Dia experimental	tratamento	Espalhabilidade			
		Média	Erro padrão	N	P [#]
30	TA-A	4207,44	155,62	3	0,05
	TA-B	3442,99	177,76	3	
	TG-A	3993,03	341,12	3	0,513
	TG-B	3579,65	91,83	3	
	TC-A	4217,92	342,25	3	0,275
	TC-B	3831,37	97,07	3	
60	TA-A	3871,29	188,39	3	0,658
	TA-B	4045,59	311,86	3	
	TG-A	2380,54	149,66	3	0,046*
	TG-B	4262,88	77,49	3	
	TC-A	3691,76	411,45	3	0,827
	TC-B	3567,02	524,16	3	
90	TA-A	3830,32	36,65	3	0,507
	TA-B	4193,37	254,62	3	
	TG-A	4459,49	141,37	3	0,825
	TG-B	4519,38	160,22	3	
	TC-A	3006,83	154,12	3	0,077
	TC-B	3655,31	204,05	3	

comparação entre o creme A e o creme B, no dado dia experimental e temperatura de incubação, Teste H de Kruskal-Wallis.

*P<0,05

N/A: não se aplica.

Fonte: própria autora, 2015.

A espalhabilidade das emulsões A e B foram significativamente diferentes quando expostas a câmara climática até o dia experimental 15 (tabela 4), enquanto apenas a análise inicial das emulsões, e as amostras acondicionadas sob refrigeração no dia experimental 60, também apresentaram diferenças significativas de espalhabilidade. Todas as outras análises não indicaram diferenças estatísticas.

Logo a armazenagem em embalagens diferentes não interfere no comportamento da emulsão de hidroquinona 4% quanto ao seu índice de espalhabilidade.

5.4. Análise Microbiológica

Deve-se calcular o número de unidades formadoras de colônia presentes, por grama do produto, que no caso de emulsões tem um valor máximo aceitável de 20

UFC (Unidades Formadoras de Colônia) de bactérias aeróbias, e 20 UFC de fungos e leveduras, porém as emulsões não apresentaram crescimento microbiano ou de fungos e leveduras em nenhum dos testes realizados durante todo o período de 90 dias, como pode-se ver na tabela 5 (BRASIL, 2010).

A contaminação microbiana de emulsões pode trazer diversos problemas, como a instabilidade da formulação induzida por substâncias produzidas por bactérias e fungos, e mudança de aspecto, além de poder causar irritação e infecções em seus usuários. Por estes motivos é importante a aplicação das boas práticas de fabricação, assegurando a qualidade, a eficácia e a segurança do produto, mantendo os parâmetros aceitáveis de microrganismos (BRASIL, 2004).

O estudo realizado por Carvalho, Martini e Michelin (2011), também não apresentou crescimento microbiológico em protetores solares manipulados, os quais não haviam informações sobre a utilização de conservantes em sua formulação, como nos cremes de hidroquinona, e o não crescimento de microrganismos pode ser resultado da inibição por um conservante, o que não anula a possibilidade de contaminação.

Tabela 5 – Resultados das análises microbiológicas das emulsões de hidroquinona 4% submetidas a diferentes condições de armazenamentos.

Dia experimental	Tratamento	Análise Microbiológica	
		Bactérias UFC/g	Fungos e leveduras UFC/g
0	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	N/A	N/A
	TG-B	N/A	N/A
	TC-A	N/A	N/A
	TC-B	N/A	N/A
1	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	< 20	< 20
	TG-B	< 20	< 20
	TC-A	< 20	< 20
	TC-B	< 20	< 20

Fonte: própria autora, 2015.

Tabela 5 – Continuação

Dia experimental	Tratamento	Análise Microbiológica	
		Bactérias UFC/g	Fungos e leveduras UFC/g
7	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	< 20	< 20
	TG-B	< 20	< 20
	TC-A	< 20	< 20
	TC-B	< 20	< 20
15	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	< 20	< 20
	TG-B	< 20	< 20
	TC-A	< 20	< 20
	TC-B	< 20	< 20
30	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	< 20	< 20
	TG-B	< 20	< 20
	TC-A	< 20	< 20
	TC-B	< 20	< 20
60	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	< 20	< 20
	TG-B	< 20	< 20
	TC-A	< 20	< 20
	TC-B	< 20	< 20
90	TA-A	< 20	< 20
	TA-B	< 20	< 20
	TG-A	< 20	< 20
	TG-B	< 20	< 20
	TC-A	< 20	< 20
	TC-B	< 20	< 20

Fonte: própria autora, 2015.

6. CONCLUSÃO

As análises das emulsões A e B contendo hidroquinona 4%, realizadas no período de 90 dias permitiriam a comparação dos seguintes pontos a respeito dos produtos:

Ambas as emulsões apresentaram problemas com relação a sua rotulagem, que não atendia a resolução 67/2007, onde é estabelecido que no rótulo de produtos magistrais deve conter os componentes da formulação, assim como sua quantidade;

Nenhuma das emulsões respondeu negativamente aos testes de estresse térmico ou centrifugação com alterações físicas da emulsão, e apenas as amostras expostas a temperatura de 45°C indicaram diferença em seus índices de espalhabilidade. Mas ambas apresentaram redução de pH quando armazenadas fora do refrigerador, demonstrando instabilidade físico-química, e a necessidade de adicionar uma advertência a respeito de seu acondicionamento ao rótulo, independente da embalagem utilizada.

A Emulsão B, que é armazenada em embalagem com sistema a vácuo apresentou menores índices de instabilidade, tendo em vista que não sofreu instabilidades físicas, como a mudança de coloração que ocorreu na Emulsão A, e seu pH se manteve dentro da faixa de pH ideal da hidroquinona, e compatível com o pH cutâneo, diferente do pH da Emulsão A.

Outras instabilidades organolépticas não foram encontradas em nenhum dos cremes, assim como não houve crescimento microbiológico, o que pode indicar o uso de estabilizantes e conservantes. No estudo de Nicoletti, Costa e Cosme (2009), emulsões contendo uma associação de hidroquinona 4% e ácido kójico 2% mantiveram sua coloração com a adição do estabilizante metabissulfito de sódio, por exemplo.

Logo, análises mostraram que ambos os cremes são instáveis, tendo em vista que apresentaram variações em seus parâmetros, mas apenas a Emulsão A, que é armazenada em pote plástico com tampa rosqueável, obteve resultados fora dos padrões aceitáveis. Ambas as emulsões se apresentaram mais estáveis quando acondicionadas sob refrigeração, apontando que o armazenamento desse tipo de

produto em geladeira durante o seu período de uso é uma alternativa para mantê-los dentro de seus padrões originais, com eficácia e segurança.

Pode-se concluir então que o uso de uma embalagem a vácuo proporciona maior estabilidade a emulsões de hidroquinona 4%, o que pode ocorrer devido a limitação quanto a exposição ao oxigênio. Porém as diferenças de pH iniciais das formulações também podem ser o motivo de suas diferenças de estabilidade, tendo em vista que o pH da Emulsão B sempre esteve acima do pH da Emulsão A, apesar de estar dentro da faixa de pH ideal da hidroquinona, e portanto a sua redução pode não ter afetado tanto as suas características.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, T. C. A. **Avaliação da estabilidade de emulsões concentradas em bebidas**. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- AVELAR, A. C. M.; GOMES, B.J.L.; SOUZA, C.G. Análise da tomada de decisão para aquisição de moldes na indústria de embalagens plásticas nos setores farmacêutico e cosméticos. In: **XXIV Encontro Nacional de Engenharia de Produção**, 2004, Florianópolis. Anais do ENEGEP 2004, 2004.
- BABY, A. R. *et al.* Estabilidade e estudo de penetração cutânea in vitro da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, vol. 44, n. 2, p 233 – 248, 2008.
- BALBINOT, F.; AGNES, E. J. **Avaliação da estabilidade físico-química de emulsões contendo associação de ácido glicólico e hidroquinona**. 2012. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.
- BARZOTTO, I. L. M. *et al.* Estabilidade de emulsões frente a diferentes técnicas de homogeneização e resfriamento. **Visão Acadêmica**, Curitiba, vol. 10, n. 2, p 36 – 42, 2009.
- BELTRAMI, M. C. *et al.* Estudos de estabilidade acelerada de emulsões manipuladas contendo antiviral Aciclovir. **Visão Acadêmica**, Curitiba, vol. 9, n. 2, p 13 – 23, 2008.
- BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, vol. 42, n. 4, p 531 – 537, 2006.
- BRAGA, L. R.; PERES, L. Novas tendências em embalagens para alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa Processamento de Alimentos**, Curitiba, vol. 28, n. 1, p 69 – 74, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. Brasília, vol.1, 546p., 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional Da Farmacopéia Brasileira**. 2ª Ed. Brasília, DF: ANVISA, 224p., 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, DF: ANVISA, 2004. 52p. (Séries Temáticas. Qualidade, vol.1).

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias. **Diário Oficial da União, Brasília, DF, 08 out 2007. Seção 1.**

CALAÇA, G. N.; STETS, S.; NAGATA, N. Determinação simultânea de Ácido Kójico e Hidroquinona por espectrofotometria visível e calibração multivariada. **Química Nova**, São Paulo, vol. 34., n. 4, p 630 – 635, 2011.

CARREIRA, M. S. C. **Desenvolvimento de uma ferramenta para o acondicionamento de medicamentos na indústria farmacêutica**. 2009. 117 f. Dissertação (Mestre em Engenharia e Gestão Industrial) – Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2009.

CARVALHO, L. L.; MARTINI, P. C.; MICHELIN, D. C. Avaliação da qualidade microbiológica de filtros solares manipulados em forma de gel. **Revista Brasileira de Farmácia**, vol. 42, n. 2, p 314 – 317, 2011.

ENGUITA, F. J.; LEITÃO, A. L. Hydroquinone: environmental pollution, toxicity, and microbial answers. **BioMed Research International**, vol. 2013, ID 542168, 14f. 2013.

FRANGE, R. C. C.; GARCIA, M. T. J. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/ água: avaliação de estabilidade física. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicada**, vol. 30, n. 3, p 263 – 271, 2009.

FRASSON, A. P. Z.; CANSSI, C. M. Análise da qualidade de cremes com Hidroquinona 2% manipulados no município de Ijuí/RS. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicada**, vol. 29, n. 2, p 197 – 201, 2008.

GARCÍA, P. L. *et al.* Determination of optimum wavelength and derivate order in spectrophotometry for quantitation of hydroquinone in creams. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 43, n. 3, p 397 – 404, 2007.

GARDONI, B. L. K. *et al.* Avaliação clínica e morfológica da ação da Hidroquinona e do Ácido Fítico como agentes despigmentantes. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, Buenos Aires, vol. 23, n. 3, p 297 – 303, 2004.

GONCHOROSKI, D. D.; CÔRREA, G. M. Tratamento de hiperpigmentação pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. **Infarma**, vol. 17, n. 3/4, p 84 – 88, 2005.

JAIME, S. B. M. *et al.* Avaliação da influência de microfissuras superficiais em frascos de vidro tipo I para produtos farmacêuticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, vol. 32, n. 1, p 95 – 104, 2011.

JAIME, S. B. M. *et al.* Influência da velocidade no torque de remoção de tampas plásticas rosqueáveis para produtos farmacêuticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, vol. 33, n. 2, p 245 – 253, 2012.

KATO, F. P.; SOUZA, M. S.; GOMES, A. J. P. S. Verificação do prazo de validade de cremes contendo Hidroquinona preparados magistralmente: evidências do processo de oxidação. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, vol. 31, n. 2, p 199 – 203, 2010.

LANGE, M. K.; HEBERLÉ, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 45, n. 1, p 145 – 151, jan./mar., 2009.

LEAL, L. B. **Estudo de fármacos e medicamentos manipulados em farmácias magistrais utilizados no tratamento de doenças reumatológicas**. 2007. 254 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

MAHMOOD, T.; AKHTAR, N. Stability of a Cosmetic Multiple Emulsion Loaded with Green Tea Extract. **The Scientific World Journal**, vol. 2013, ID 153695, 7 f., 2013.

MANZOTTI, L. R.; FELIPE, D. F. Avaliação da qualidade de formulações contendo hidroquinona manipuladas em farmácias de Maringá-PR. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 6, n. 3, p 379 – 385, 2013.

MELO, F. P. S. **Avaliação da qualidade dos medicamentos Omeprazol e Fluoxetina manipulados em algumas farmácias magistrais de Belo Horizonte**. 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais) – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte, 2013.

MENDONÇA, C. M. S. **Estudo de compatibilidade e estabilidade térmica do ácido retinóico, hidroquinona e excipientes por análise térmica**. 2014. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

MIGUEL, M. D. *et al.* O cotidiano das farmácias de manipulação. **Revista Visão Acadêmica**, v. 3, n. 2, p 103 – 108, 2002.

NICOLETTI, M. A.; COSTA E. P.; COSME, K. Z. Alteração de coloração de formulações contendo hidroquinona em presença de estabilizante, como parâmetro indicativo de instabilidade em emulsões. **Revista Saúde**, vol. 3, n. 1, p 16 – 22, 2009.

PERARO, A. C. **Estabilidade física e metodologia analítica para formulações farmacêuticas contendo cetoconazol**. 2001. 128 f. Dissertação (Mestrado e Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PIANOVSKI, A. R. *et al.* Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 2, 2008.

POMBAL, R.; BARATA, P.; OLIVEIRA, R. Estabilidade dos Medicamentos Manipulados. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, n. 7, p 330 – 341, 2010.

POMBAL, R. S. L. **Estabilidade e controlo de qualidade dos medicamentos manipulados**. 2010. 36 f. Monografia (Licenciatura em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2010.

RIBEIRO, A. M. R. F. **Análise da prescrição de manipulados farmacêuticos na região do Porto**. 2014. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014.

RODRIGUES, L. M. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsões óleo/água (O/A) a base de óleos vegetais para prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão**. 2013. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SCHEEREN, C. **Motivação do médico dermatologista em optar, no momento da prescrição, pelo medicamento manipulado ou industrializado**. 2009. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (Especialista de Gestão em Saúde) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SHIMABUKU, P. S. *et al.* Avaliação da qualidade de cremes dermatológicos manipulados na cidade de Marília, SP. **Colloquium Vitae**, vol. 1, n. 1, p 30 – 37, 2009.

ZANIN S. M. W. *et al.* Parâmetros físicos no estudo da estabilidade das emulsões. **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba, vol. 2, n. 2, p 47 – 58, 2001.