

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

**FORMULAÇÃO DE ESFOLIANTE FACIAL À BASE DE ARGILA E AVALIAÇÃO
DA EFICÁCIA POR MÉTODOS HISTOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS**

Rafaella Moreno Barros

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Juliana de Souza Alencar Falcão

Cuité-PB

2014

Rafaella Moreno Barros

**FORMULAÇÃO DE ESFOLIANTE FACIAL À BASE DE ARGILA E AVALIAÇÃO
DA EFICÁCIA POR MÉTODOS HISTOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CES, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Juliana de Souza Alencar Falcão

Cuité-PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

B277f Barros, Rafaella Moreno.

Formulação de esfoliante facial à base de argila e avaliação da eficácia por métodos histológicos e bioquímicos. / Rafaella Moreno Barros. – Cuité: CES, 2014.

62 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientadora: Juliana de Souza Alencar Falcão.

1. Histologia. 2. Esfoliante facial. 3. Argila. I. Título.

CDU 611.018

RAFAELLA MORENO BARROS

**FORMULAÇÃO DE ESFOLIANTE FACIAL À BASE DE ARGILA E AVALIAÇÃO
DA EFICÁCIA POR MÉTODOS HISTOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CES, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Juliana de Souza Alencar Falcão (Orientadora)

Prof^ª. Dr^ª. Carina Scanoni Maia

Prof. Dr. Márcio Ferrari

À minha mãe, Maria do Socorro Moreno, meu maior e melhor exemplo de força, garra e determinação. À memória de Manoel Moreno e Carmelina Maria (avós maternos) e Francisco Domingos de Barros (avô paterno), muita saudade e amor envolvido

AGRADECIMENTOS

Segundo Antístenes (440-365 a.C.), a gratidão é a memória do coração. O meu é muito grato e cheio de felicidade ao ter ao meu lado pessoas tão especiais.

À Deus e aos meus anjos de luz por sempre iluminarem e protegerem meu caminho.

À minha mãe, Maria do Socorro Moreno, que mesmo diante de momentos tão difíceis, nunca perdeu a fé em Deus, a fé na vida! Se mil vidas eu tiver, em todas elas pedirei a Deus para ser sua filha. Nunca me deixou sozinha. Obrigada por todo apoio e amor que você tem por mim. Amor verdadeiro e puro!

À minha única irmã, Fabyola Moreno, que desde criança me passou ótimos exemplos de como devemos ser. Profissional competente no que faz, sempre consegue dar o melhor de si e nos enche de orgulho! Irei seguir seus passos.

Aos demais familiares (tios, primos, avós), que souberam compreender minha distância e ausência em alguns momentos importantes. Sempre me deram força para continuar!

À minha orientadora, prof^a. Dr^a. Juliana de Souza Alencar Falcão, por me dar asas e me impulsionar a voar! Não tenho palavras para descrever o quanto sou grata por tudo que me ensinastes, por todos os desafios propostos, pela confiança em mim depositada para realização desse trabalho e pelas palavras de incentivo. Quando crescer, quero ser igual a você!

À Farmacêutica Maria da Glória Batista, que não mediu esforços e tempo para contribuir com o desenvolvimento desse projeto. É um exemplo de pessoa e profissional a ser seguido. Humildade e competência em tudo que faz! Busca sempre ajudar, tem prazer em compartilhar seus conhecimentos com o próximo. Levarei você comigo!

À prof^a. Dr^a. Carina Scanoni Maia, que abraçou esse trabalho e me recebeu com muita atenção quando fui pedir ajuda. Fui mais longe do que imaginei graças ao seu apoio.

À prof^a. Dr^a. Maria José Vieira Fonseca (USP/Ribeirão Preto), mesmo sem me conhecer, através de e-mails, me ajudou compartilhando conhecimentos e artigos os quais foram essenciais para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao prof. Dr. Wellington Sabino Adriano, por disponibilizar ajudar, tirando dúvidas e colaborando com a realização da pesquisa.

Aos demais professores do curso de Bacharelado em Farmácia da UFCG/campus Cuité-PB, em especial ao prof. Dr. Renner Souza Leite, o qual fui sua orientanda em projetos de pesquisa e extensão por quatro anos. Colhemos bons frutos nessa parceria e criamos um

forte laço de amizade. Obrigada pela confiança e por nunca me deixar desanimar. Além de professor, foi meu amigo e meu pai! Devo muito a você!

Ao prof. Dr. Anderson Scardua Oliveira (Psicologia/UFCG), meu primeiro orientador na UFCG/CES, pela confiança, paciência e apoio na realização do meu primeiro trabalho de pesquisa na cidade de Cuité-PB. Sou grata por todos os ensinamentos e por ter me feito evoluir como aluna de graduação. Fiquei pronta e com força para os próximos desafios que iriam surgir. Sou sua fã nº 1!

À prof^a. Dr^a. Sayonara Maria Lia Fook (Farmácia/UEPB), minha orientadora antes de ingressar na vida acadêmica (Pibic-Jr), cheguei nas suas mãos uma sementinha e com muito zelo, carinho e atenção você me fez crescer. És meu espelho como profissional Farmacêutica. Muito obrigada por ter me preparado da melhor maneira possível! Agradeço as amigas construídas no CEATOX - Campina Grande (2006/2007) em especial Isabel Oliveira, Isabel Rabelo e Fagner Neves. Mesmo distantes, me ajudaram com palavras de apoio e material para estudos. Foi uma experiência única! Sempre tenho vocês comigo!

À minha amiga irmã, Eriana Marcela. Foram cinco anos dividindo o mesmo teto, segredos, sonhos, medos, enfim, dividimos uma vida! Difícil encontrar gente boa e de confiança para morar, e Deus me presenteou você. Obrigada pelos momentos compartilhados. Foram alegrias e tristezas que jamais irei esquecer. Ganhei uma amiga e uma família. Agradeço aos seus pais (Maurício e Edneuda) e irmãs (Érica e Emanuela) por terem me adotado. Que Deus abençoe vocês!

À Jéssica Pessoa, pelos três anos dividindo casa. Foram momentos únicos! Aprendi muito durante o tempo que você morou com a gente (Eriana e eu). Sempre levantou meu astral quando eu estava me sentindo na pior. Sabia o que dizer e como dizer.

À Arianne Lopes, Júlia Nunes, Vanessa Domingos e Leandro Silva pela amizade construída durante a graduação. Passamos por situações inesquecíveis! Como diz o ditado: Coisas que até Deus duvida! Vocês foram responsáveis por ter tornado minha época de graduação os anos mais lindos que vivi até hoje. Sucesso a todos!

À Farmacêutica e ex colega de graduação, Saionara Lenarda e sua família por terem me hospedado em sua casa durante os primeiros quatro meses de curso quando eu não tinha conseguido local para morar.

Ao Farmacêutico e ex colega de graduação, Rodrigo Dias Alves (Bobzona), pela amizade e apoio durante todo o curso. Por me alegrar e ajudar em todos os momentos.

Aos amigos da turma 2009.1/2013.2 do curso de Farmácia UFCG, em especial a Jean Pablo Peres, o mais estranho de todos. Meu grande amigo! Obrigada por todo incentivo,

noites estudando juntos, livros e filmes “arretados”, presentes surpresa, abraços e palavras sinceras. Você é o cara! Inteligência de mundo. Admiro-te! De você recebi os melhores conselhos que um amigo pode dar a outro.

À colega de curso Natália Ferreira, melhor companheira de estágio que alguém pode ter. Uma pessoa iluminada que trás sempre Deus no coração e em suas palavras. Você se tornou especial em pouco tempo de convivência. Sei que nossa amizade vai crescer!

Aos amigos Olanda Maria, Jamilly Nóbrega, Ayonara Leal e Flávio José, mesmo longe e não podendo compartilhar momentos juntos nossa amizade não foi abalada. Obrigada pela compreensão.

À todos os funcionários da UFCG/CES, técnicos de laboratório, técnicos administrativos, serviços gerais, biblioteca, recepcionistas do blocos, porteiros, enfim, todos responsáveis por manterem funcionando o ambiente no qual fiz minha graduação. O CES irá comigo pra onde eu for!

GRATIDÃO!

Vencerás

“Não desanimes.

Persiste mais um tanto.

Não cultives pessimismo.

Centraliza-te no bem a fazer.

Esquece as sugestões do medo destrutivo.

Segue adiante, mesmo varando a sombra dos próprios erros.

Avança ainda que seja por entre lágrimas.

Trabalha constantemente.

Edifica sempre.

Não consintas que o gelo do desencanto te entorpeça o coração.

Não te impressiones nas dificuldades.

Convence-te de que a vitória espiritual é construção para o dia-a-dia.

Não desistas da paciência.

Não creias em realizações sem esforço.

Silêncio para a injúria

Olvido para o mal.

Perdão às ofensas.

Recorda que os agressores são doentes.

*Não permitas que os irmãos desequilibrados te destruam o trabalho ou te apaguem a
esperança.*

Não menosprezes o dever que a consciência te impõe.

*Se te enganaste em algum trecho do caminho, reajusta a própria visão e procura o rumo
certo.*

Não contes vantagens nem fracassos.

Não dramatizes provações ou problemas.

Conserva o hábito da oração para quem se te faz a luz na vida íntima.

Resguarda-te em Deus e persevera no trabalho que Deus te confiou.

Ama sempre, fazendo pelos outros o melhor que possas realizar.

Age auxiliando.

Serve sem apego.

E assim vencerás.”

Emmanuel

RESUMO

A pele é o principal órgão de comunicação com o meio externo. Além das funções de relação e proteção, a boa aparência estética é tida como de grande importância nas relações sociais, com isso, uma grande variedade de novos métodos, produtos e tratamentos que assegurem uma pele saudável estão disponíveis no mercado de beleza. Os cosméticos esfoliantes são um deles, os quais possuem função de remover as células da superfície cutânea, condicionando-a e rejuvenescendo-a. A argila, um mineral muito utilizado na indústria farmacêutica e cosmética, é um exemplo de matéria prima empregada em formulações esfoliantes. O presente estudo teve como objetivo desenvolver um esfoliante na forma cosmética sabonete líquido à base de diferentes tipos de argila e avaliar a eficácia por métodos histológicos e bioquímicos. Foram adotados três tipos de argilas (branca, verde e vermelha) e realizada a caracterização físico-química da matéria prima através da análise granulométrica, estrutura física utilizando microscopia óptica, densidade aparente compactada, perda por dessecação e resíduo por incineração. As formulações de sabonete líquido foram desenvolvidas e os parâmetros viscosidade e pH foram analisados através de metodologia específica. Adotou-se pele da orelha de porco (quadrantes de 2 cm²) para realização do estudo de eficácia histológico, como também, produto cosmético esfoliante da marca Mary Kay® como padrão. O estudo de eficácia foi dividido em dois métodos: Método da leitura histológica pela microscopia óptica e método de quantificação de proteínas (utilizando kit reagente de proteínas totais). Após a análise granulométrica, foi adotada a argila da faixa de 100 mesh, sem partículas grosseiras e granulometria homogênea. Na microscopia constatou-se similaridade de estrutura física e aspecto amorfo dos 3 tipos de argila. A perda por dessecação foi inferior a 1%, representando baixo teor de água nas argilas. O teor de cinzas apresentou-se diferente (argila branca 14,3%, verde 17,7% e vermelha 7%). A densidade das argilas branca, verde e vermelha foi 1,01, 0,84 e 1,04 g/mL, respectivamente. Os problemas de sedimentação das argilas e diminuição da viscosidade dos sabonetes, oriundos das características de cada material, foram solucionados ajustando a viscosidade com sepigel®. De acordo com os testes de eficácia histológicos observou-se que o esfoliante de argila branca e a base para sabonete líquido esfoliante não apresentaram ação esfoliativa no estrato córneo, enquanto que os esfoliantes de argila verde e vermelha apresentaram esfoliação semelhante ao produto comercial Mary Kay®, marca de qualidade reconhecida. Quanto à análise de proteínas totais, o esfoliante comercial promoveu 72% de perda de proteínas, o de argila verde 63,7% e o de argila vermelha 67%. O esfoliante de argila branca e a base para sabonete líquido esfoliante promoveram perda de 37,4%, atribuídas à limpeza da região. Tais resultados foram condizentes nos dois métodos empregados e elegeram os esfoliantes de argila verde e vermelha como similares ao esfoliante padrão adotado, podendo ser utilizados para a finalidade proposta em substituição a outros produtos comerciais, pois além de serem comprovadamente eficazes, são classificados como cosméticos verdes, apresentando, assim, alto valor agregado.

Palavras – chave: Esfoliante facial. Argila. Histologia. Quantificação protéica.

ABSTRACT

The skin is the main organ of communication with the external medium. Besides the functions of relationship and protection, aesthetic appeal is considered of great importance in social relationships, thus, a variety of new methods, products and treatments that ensure a healthy skin are available in the beauty market. The exfoliating cosmetic is one, which has a function to remove cells from the skin surface, conditioning them and rejuvenating it. The clay, a mineral widely used in pharmaceutical and cosmetic industry is one example of raw material used in exfoliating formulations. This study aimed to develop an exfoliating body wash in the cosmetic form the basis of different types of clay and evaluate effectiveness by histological and biochemical methods. Three types of clays (white, green and red) were adopted and performed physicochemical characterization of raw material through the sieve analysis, physical structure using optical microscopy by incineration residue, compacted apparent density, and loss on drying. The liquid soap formulations were developed and the viscosity and pH parameters were analyzed using a specific methodology. The adopted pig ear skin (quadrant 2 cm²) for carrying out the histological study efficacy, but also peeling of the mary cosmetic product Kay® as standard. The efficacy study was divided into two methods: Method for reading optical and histological quantification method for proteins (kit reagent using total protein) microscopy. After sieve analysis, we adopted the clay range 100 mesh without coarse particles and homogeneous particle size. Microscopically similarity amorphous physical structure and appearance of the 3 types of argila. A loss on drying was found to be less than 1%, representing a low water content in the clay. The ash content presented differently (white clay 14.3% 17.7% Green and red 7%). The density of the white, green and red clay was 1.01, 0.84 and 1.04 g / ml, respectively. The problems of sedimentation of clays and decreased viscosity of soaps, derived from characteristics of each material were solved by adjusting the viscosity sepigel®. According to the histological test of efficacy was observed that the white clay and exfoliating the basis of liquid soap scrub exfoliative action not present in the stratum corneum, whereas the red and green exfoliating clay exfoliation were similar to the commercial product Mary Kay® , recognized mark of quality. As the analysis of total proteins, exfoliating commercial promoted 72% loss of protein, 63.7% of green clay and red clay 67%. The exfoliating white clay and the basis for exfoliating body wash promoted loss of 37.4%, attributed to the cleanliness of the area. These results were consistent in the two methods and elected exfoliating green and red as similar to the pattern adopted exfoliating clay can be used for the purpose proposed to replace other commercial product, as well as being proven effective, are classified as green cosmetics , thus presenting high added value.

Keywords: Facial scrub. Clay. Histology. Protein quantification

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do sistema tegumentar.....	19
Figura 2 - Esfoliante à base de argila branca (P2, P5 e P7), verde (P1, P4 e P8), vermelha (P3, P6 e P9) e formulação placebo (P10, P11 e P12) sem Sepigel. N=3.....	48
Figura 3 - Esfoliante de argila branca, verde e vermelha.....	48
Figura 4 - Orelha de porco coletadas após abate no matadouro público.....	50
Figura 5 - Quadrante 2 cm ² adotado para o estudo.....	50
Figura 6 - Cortes em solução de formaldeído 10%.....	51
Figura 7 - Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE) (Aumento 400X)- tempo 0: A. Pele tratada com sabonete líquido placebo; B. Pele tratada esfoliante de argila branca; C. Pele tratada com esfoliante comercial Mary; D. Pele tratada com esfoliante de argila verde; E. Pele tratada com esfoliante de argila vermelha.....	52
Figura 8 - Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE) (Aumento 400X)- tempo 7 dias: A. Pele tratada com esfoliante comercial; B. Pele tratada com esfoliante de argila verde; C. Pele tratada com esfoliante de argila vermelha.....	53
Figura 9 - Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE)(Aumento 400X)- tempo 15 dias: A. Pele tratada com esfoliante comercial; B. Pele tratada com esfoliante de argila verde; C. Pele tratada com esfoliante de argila vermelha.....	53
Figura 10 - Curva de calibração de proteínas totais pelo método de Biureto a 550 nm.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Produtos e total de cortes de pele de orelha de porco para avaliação histológica.....	41
Tabela 2: Análise granulométrica das argilas.....	44
Tabela 3: Densidade compactada das argilas.....	45
Tabela 4: Massa de argila após 2 horas de estufa.....	46
Tabela 5: Massa perdida da argila após incineração.....	47
Tabela 6: Viscosidade e pH das bases após adição da argila.....	49
Tabela 7: Perda de proteínas totais.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CMC – Celulose microcristalina

Cv – Coeficiente de variância

LESS – Lauril éter sulfato de sódio

Md – Média

pH – Potencial hidrogeniônico

qsp – Quantidade suficiente para

RDC – Resolução da diretoria colegiada

rpm – Rotação por minuto

SBDC – Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica

T0 – Tempo zero

T7 – Tempo sete dias

T15 – Tempo 14 dias

LISTA DE SIMBOLOS

% - Porcentagem

°C - Graus Celsius

® - Marca registrada

λ - Comprimento de onda

± - Mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1 Características gerais da pele	18
2.2 Características celulares e histológicas.....	18
2.2.1 Epiderme.....	19
2.2.2 Junção dermoepidérmica.....	22
2.2.3 Derme.....	23
2.2.4 Hipoderme.....	23
2.3 Tipos de pele.....	24
2.4 Tipos de pele de acordo com a classificação de Baumann.....	25
2.5 Pele suína para realização do método histológico e bioquímico....	25
2.6 Esfoliação.....	25
2.6.1 Esfoliantes.....	26
2.7 Legislação.....	27
2.8 Argila.....	27
2.8.1 Composição.....	27
2.4.2 Aplicação da argila na cosmetologia.....	28
2.8.2.1 <i>Argila branca</i>	30
2.8.2.2 <i>Argila verde</i>	31
2.8.2.3 <i>Argila vermelha</i>	31
2.8.3 Cosméticos esfoliantes à base de argila.....	31
2.5 Forma cosmética sabonete líquido esfoliante.....	32
2.5.1 Sabonete líquido.....	32
2.6 Estudo da eficácia da forma cosmética esfoliante.....	33
3 OBJETIVOS.....	35
3.1 Objetivo geral.....	35
3.2 Objetivos específicos.....	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 Material.....	36
4.1.1 Substâncias e reagentes.....	36

4.1.2 Equipamentos.....	36
4.1.3 Vidrarias e utensílios diversos.....	37
4.1.4 Local da coleta.....	38
4.2 Metodologia.....	38
4.2.1 Controle de qualidade físico-químico da argila.....	38
4.2.1.1 <i>Análise granulométrica.....</i>	38
4.2.1.2 <i>Microscopia óptica.....</i>	38
4.2.1.3 <i>Densidade compactada.....</i>	39
4.2.1.4 <i>Perda por dessecação.....</i>	39
4.2.1.5 <i>Resíduo por incineração.....</i>	39
4.2.2 Desenvolvimento da formulação.....	40
4.2.2.1 <i>Viscosidade e pH.....</i>	40
4.2.3 Estudo da eficácia.....	40
4.2.3.1 <i>Método da leitura pela microscopia óptica.....</i>	41
4.2.3.2 <i>Método de quantificação de proteínas totais pelo método de Biureto..</i>	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 Controle de qualidade físico químico da argila.....	44
5.1.1 <i>Análise granulométrica.....</i>	44
5.1.2 <i>Microscopia óptica.....</i>	45
5.1.3 <i>Densidade compactada.....</i>	45
5.1.4 <i>Perda por dessecação.....</i>	46
5.1.5 <i>Resíduo por incineração.....</i>	47
5.2 Desenvolvimento da formulação.....	47
5.2.1 <i>Viscosidade e pH.....</i>	48
5.3 Estudo da eficácia.....	49
5.3.1 <i>Método da leitura pela microscopia óptica.....</i>	49
5.3.1.1 <i>Preparo do material para avaliação histológica.....</i>	49
5.3.1.2 <i>Leitura das lâminas.....</i>	51
5.4 Método de quantificação de proteínas totais pelo método de Biureto..	54
6 CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

Cosméticos esfoliantes são compostos por partículas sólidas de uso tópico e podem ser classificados de acordo com seu modo de ação e agentes utilizados, sendo esfoliantes do tipo mecânico (grau 1) ou químico (grau 2), segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 4 de 30 de janeiro de 2014.

A esfoliação é um procedimento que auxilia na renovação celular da pele, pois consiste em retirar células da superfície que estão repletas de queratina com baixo conteúdo hídrico sem vitalidade. A remoção desta camada além de eliminar impurezas e facilitar a permeação de ativos, devolve a pele seu aspecto natural, melhorando sua textura e uniformidade, tendo como resultado melhor aparência da pele. As substâncias abrasivas mais empregadas na esfoliação mecânicas são: argila, sílica, semente de apricot, arroz, microesferas de jojoba, entre outros. Os ativos químicos mais utilizados são: ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico e ácido salicílico (CAREGNATTO; GARCIA; FRANÇA, 2011).

A argila, um mineral muito utilizado na indústria farmacêutica e cosmética, é um exemplo de matéria prima empregada em formulações esfoliantes. Muito comercializada e aplicada como máscara facial, cada tipo de argila irá possuir uma ação específica, pois a quantidade de oligominerais presente é quem vai diferenciar sua função e finalidade. No entanto, a eficácia da argila como esfoliante pode também ser influenciada pela forma cosmética desenvolvida. Fatores como ponto de fusão, granulometria, pH, minerais e técnica de preparo podem influenciar nas propriedades de limpeza da pele, hidratação, remoção de células mortas e restauração (EVELINE, 2010; AMORIM; PIAZZA, 2012).

Os benefícios mais conhecidos relacionados aos cosméticos à base de argila são a purificação e remineralização da pele, ação tensora, anticaspas, cicatrizante e eficácia no combate a oleosidade da pele. Esses benefícios podem ser relacionados a produtos para o corpo, para o cabelo e para os cremes faciais, bem como para os produtos de higiene pessoal em geral (VALENZUELA, et al., 2009).

Podemos incorporar argilas em diversas formulações cosméticas, por exemplo, nos sabonetes líquidos. De acordo com Garcia et al (2009), os sabonetes líquidos apresentam como principal característica o fato de terem entre 45% a 60% de tensoativos, podem ser produtos transparentes ou perolados. Esse tipo de formulação vem tomando lugar nas prateleiras de perfumaria e, principalmente, nas linhas de cosméticos já tradicionais do mercado brasileiro.

Observa-se atualmente que o consumidor tem se tornado cada vez mais exigente e criterioso com a qualidade dos produtos que utiliza. É crescente a sua preocupação em fazer uso de produtos menos agressivos, principalmente os de origem natural (GARCIA, et al.; 2009).

Diante desse contexto, o presente estudo propõe desenvolver um esfoliante na forma cosmética sabonete líquido à base de diferentes tipos de argila e avaliar a eficácia do produto final por métodos histológicos e bioquímicos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Características gerais da pele

A pele, maior órgão do corpo humano, considerado um dos órgãos mais complexos e juntamente com as estruturas anexas, tais como, os pêlos, as unhas e as glândulas formam o sistema tegumentar. Compreende cerca de 20% do peso corporal e torna-se o principal órgão de comunicação com o meio externo. Além da aparência estética, a pele possui outras funções, sendo as duas principais a de relação e a de proteção. A função de relação é psicossocial, no qual é um órgão sensorial, que está diretamente relacionada com o sistema nervoso central e o sistema imunitário. Enquanto que, a função de proteção está relacionada com inúmeros fatores, por exemplo: Informação sensorial, pois contém receptores sensoriais capazes de identificar o calor, o frio, o tato, a pressão e a dor; Informação imunitária, reconhecimento de características antigênicas pelas células de *Langerhans*, células do sistema imunitário; Homeostasia, controle e regulação da temperatura; Função de barreira, atuando de dentro para fora impede a perda excessiva de água, já de fora pra dentro evita entrada de microrganismos e barreira mecânica contra traumatismos; Produção de vitamina D quando exposta à luz ultravioleta (UV); Saída de pequenas quantidades de produtos de excreção; Absorção e eliminação de substâncias químicas (FERNANDES, 2012; CAREGNATTO; GARCIA; FRANÇA, 2011).

2.2 Características celulares e histológicas

De acordo com a Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica (SBCD), em cada polegada quadrada de pele existem 19 milhões de células, 625 glândulas sudoríparas e 19 mil células nervosas.

A pele é composta pela epiderme, de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, e pela derme, de tecido conjuntivo. Sustentando a pele e unindo os órgãos, há a hipoderme (ou tela subcutânea) de tecido adiposo. A pele apresenta diferenças segundo a sua localização. A palma das mãos e a planta dos pés, que sofrem um atrito maior, possuem uma epiderme com mais do que 5mm, constituída por várias camadas celulares e por uma camada superficial de queratina bastante espessa. Esse tipo de pele foi denominado pele grossa (ou espessa). Não possui pêlos e glândulas sebáceas, mas as glândulas sudoríparas são abundantes. A pele do restante do corpo tem uma epiderme de 1 a 2 mm, com poucas camadas celulares e uma

camada de queratina delgada, designada pele fina (ou delgada) (figura 1) (MONTANARI, 2013).

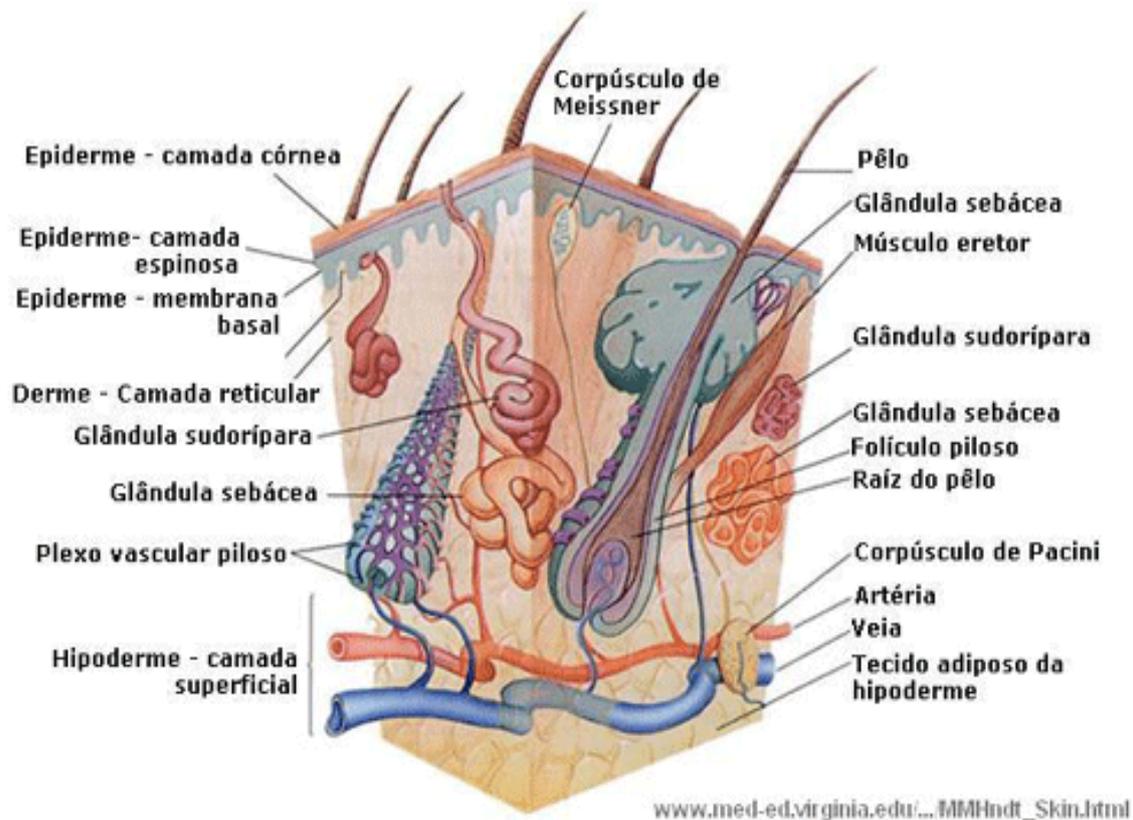


Figura 1: Estrutura do sistema tegumentar
 Fonte: <http://lct.nutes.ufrj.br/toxicologia/mII.pele.htm>

2.2.1 Epiderme

É a primeira camada, sendo visível a olho nu e envolve todo o corpo. É avascular, derivada da ectoderme, exerce funções essenciais, como controle do fluxo sanguíneo, proteção do corpo contra danos externos, evita a saída de água e origina os anexos cutâneos: unhas, pêlos, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas. As glândulas sudoríparas se dividem em dois tipos: écrinas e apócrinas e, além de produzirem o suor, ajudam a regular a temperatura corporal. Distribuídas por todo o corpo, as glândulas écrinas produzem o suor e o eliminam diretamente na pele, enquanto as glândulas apócrinas se concentram nas regiões das axilas, genitais e mamilos. Elas são as causadoras do odor característico do suor. Já as glândulas sebáceas são responsáveis pela oleosidade da pele. Concentram-se em maior número no rosto, no couro cabeludo e porção superior do tronco. Por fim, os poros são orifícios formados a partir da abertura dos folículos pilosebáceos e das glândulas sudoríparas.

A epiderme é composta por epitélio plano estratificado e é constituída pelos estratos celulares: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (BENY, 2010; SBCD, 2014).

A mais importante dessas células é o queratinócito, presentes em cerca de 90% na pele, migram de camadas mais profundas da epiderme para a superfície e, nesse processo de migração e diferenciação, perdem o núcleo e vão se tornando progressivamente mais achatados até se transformarem nas células anucleadas e ricas em queratina da superfície da pele. A coesão entre os queratinócitos confere resistência e impermeabilidade à pele (BENY, 2013).

Os melanócitos, que perfazem cerca de 5% das células epidérmicas e são a sede da síntese de melanina, principal pigmento da pele, responsável pela absorção e radiação ultravioleta. Situados nas camadas mais profundas da epiderme (basal e espinhosa), os melanócitos têm um citoplasma globuloso, com núcleo central, e emitem prolongamentos dendríticos para a superfície da epiderme. Os melanócitos transferem melanina para os queratinócitos através desses prolongamentos, determinando a cor da pele (BENY, 2013).

As células de Langerhans, que correspondem a 3-6% das células epidérmicas. São células móveis e dendríticas (ramificadas), localizadas entre os queratinócitos, em toda a epiderme, porém mais freqüentes na camada espinhosa. São responsáveis pela imunovigilância cutânea, atuando como mediadores da imunidade celular (BENY, 2000; BENY, 2013; SBCD, 2014).

Células de Merkel são células epiteliais modificadas, encontradas na camada basal, em áreas onde a percepção sensorial é aguçada, como lábios, mãos e ponta dos dedos. Parecem ser receptores táteis, pois estão frequentemente em contato com terminações sensoriais, originando um complexo conhecido como disco tátil capilar (BENY, 2013).

De acordo com a morfologia dos queratinócitos e seu arranjo em relação aos outros tipos celulares, as camadas da epiderme são definidas como: Estrato córneo, estrato lúcido, camada granulosa, camada espinhosa e a camada basal ou germinativa (BENY, 2013).

- *Estrato córneo*

É a camada mais superficial da pele. Consiste de várias (5-10) fileiras de células achatadas, mortas, sem núcleo nem organelas, com membrana celular bem espessa e citoplasma cheio de queratina. As fileiras mais superficiais se apresentam em processo de descamação contínua (capa descamativa). Exerce ação protetora, constituindo uma barreira

que impede a entrada de microrganismos e de agentes tóxicos no organismo, além de reter água e eletrólitos (BENY, 2013).

- *Estrato lúcido*

É encontrado somente nas regiões onde a camada córnea é espessa, tais como palma das mãos e planta dos pés. É a região mais profunda da camada córnea e aparece em microscopia óptica como uma faixa espessa e, mais acidófila e compacta que o restante (BENY, 2000).

- *Camada granulosa*

É o resultado do nivelamento das duas ou três camadas superiores do corpo mucoso. As pontes desmossômicas são bem evidentes e em seu interior aparecem granulações de queratina. Estas três camadas: basal, espinhosa e granulosa, constituem em conjunto, o chamado corpo mucoso de Malpighi. O limite inferior desse conjunto é irregular, pois possui prolongamentos digitiformes chamadas “cristas interpapilares” que se estendem até a derme (BENY, 2000).

- *Camada espinhosa*

É constituída por várias fileiras de células poliédricas, unidas entre si por junções denominados desmossomas. Os desmossomas são espessamentos da membrana celular e se unem entre si pelo espessamento do cimento intercelular. Entre as células espinhosas encontram-se algumas células especiais, aurófilas, chamadas células de Langerhans, que seriam histiócitos epidérmicos. Possuem organela “em forma de pá” chamada “grão de Langerhans”, similares aos dentritos dos melanócitos, mas sem melanina. As células de Langerhans intervêm como mediadores na imunidade celular. Apresentam em sua superfície receptores específicos para a IgE (imunoglobulina E) que captam diferentes antígenos exteriores (pólen e outros inalantes) (BENY, 2000).

- *Camada basal ou germinativa*

É a camada mais profunda e é formada por uma fileira de células cilíndricas dispostas perpendicularmente (queratinócitos basais). É uma barreira permeável que dá suporte à epiderme e estabelece a união com derme. Por reprodução continuada dá origem às camadas epidérmicas restantes (queratinócitos, células espinhosas e células granulosas) mediante um processo de queratinização normal que culmina na camada córnea. Entre os queratinócitos basais se encontram outras células que formam a melanina (os melanócitos). Os grãos de melanina são transferidos através das prolongações celulares (dendritas) para os queratinócitos, o pigmento é eliminado a medida que ocorre a queratinização através do estrato córneo da epiderme e da camada córnea dos pêlos; além do que é captado em parte pelos melanóforos dérmicos (BENY, 2000).

2.2.2 Junção Dermoepidérmica

A zona de membrana basal ou junção dermoepidérmica é uma região onde a epiderme e a derme têm sido objetos frequentes de estudo. Sobressaem suas funções de ancoragem e adesão, bem como seu importante papel na nutrição da epiderme, visto que esta não tem vasos e depende da passagem de nutrientes e de água através da membrana basal. A junção dermoepidérmica engloba desde a membrana inferior do queratinócito basal até a derme superficial. Além da membrana celular dos queratinócitos basais, com desmossomos e filamentos de ancoragem, a membrana basal apresenta três regiões distintas: lâmina lúcida, lâmina densa e sublâmina densa (BENY, 2013).

A lâmina lúcida é a porção superior, cujos componentes principais são a laminina, a fibronectina e o colágeno XVII. Está em contato direto com a membrana plasmática das células basais, sendo atravessada por filamentos de ancoragem que partem dos desmossomos dessas células e se inserem na lâmina densa. Logo abaixo, a lâmina densa forma o estrato principal na membrana basal e é formada principalmente pelo colágeno IV e por proteoglicanas. A sublâmina densa contém estruturas de ancoragem ao tecido conjuntivo da derme, as fibrilas de ancoragem, cujo componente principal é o colágeno VII. Essas estruturas fixam a epiderme, conferindo-lhes resistência mecânica (BENY, 2013).

2.2.3 Derme

Os componentes de origem mesodérmica da derme são constituídos por tecidos conjuntivos, vasos e nervos. Há também os componentes de origem ectodérmica, constituída por pró-colágenos, glucoproteínas não-colagênicas, fibrilas e microfibrilas de sustentação. Em seu interior se alojam glândulas sebáceas e sudoríparas (originadas na epiderme), pêlos e músculos. Está disposta como uma armação formada em sua maioria por fibras elásticas, as quais conferem elasticidade e firmeza à pele. Além de fibras de riticulina (pré-colágeno ou colágeno imaturo) justapostas às membranas basais e perivasculares. É subdividida na derme papilar, que corresponde às papilas dérmicas e é constituída por tecido conjuntivo frouxo, e na derme reticular, a maior parte da derme, de tecido conjuntivo denso não modelado. Encontram-se, também, escassos elementos celulares: histiócitos, fibroblastos, fibrócitos, mastócitos, melanóforos, etc (BENY, 2000; SBCD, 2014; MONTANARI, 2013).

A derme contém os anexos cutâneos, os vasos sanguíneos e linfáticos, os nervos e as terminações de neurônios sensoriais, que podem ser livres ou encapsuladas. As terminações nervosas livres circundam os folículos pilosos e funcionam como mecanorreceptores. As terminações nervosas encapsuladas formam os corpúsculos sensoriais. Existem dois corpúsculos frequentemente encontrados, os corpúsculos de Meissner e de Vater-Pacini. Os corpúsculos de Meissner são receptores táteis e estão nas papilas dérmicas, especialmente nos dedos das mãos e dos pés. Apresentam-se como estruturas alongadas, constituídas pelo axônio disposto em espiral e envolto pelas células de Schwann. Já os corpúsculos de Vater-Pacini, situam-se na derme profunda e na hipoderme das palmas das mãos e das plantas dos pés. Possuem formato esférico, com a terminação nervosa no centro, envolvida por várias lamelas celulares contínuas ao endoneuro. Nos cortes histológicos, lembra uma cebola cortada. Possuem capacidade de detectar pressão e vibrações (MONTANARI, 2013).

2.2.4 Hipoderme

A hipoderme, também chamada de tecido subcutâneo, é formada por tecido conjuntivo frouxo e, dependendo do estado nutricional do organismo e da região anatômica, apresenta uma camada variável de tecido gorduroso disposto em grandes lóbulos, o panículo adiposo. Essa camada possibilita o deslizamento da pele sobre estruturas na qual esta se apoia, proporcionando proteção a pele contra choques mecânicos e funciona como isolante térmico

(proteção contra o frio). Sendo rica em células que armazenam gordura (adipócitos), a hipoderme funciona também como reserva energética (BENY, 2013).

2.3 Tipos de peles

De acordo com a Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica (SBCD, 2014), cada pessoa tem um tipo de pele, resultante da combinação de três fatores: A quantidade de água, que interfere na elasticidade da pele; A quantidade de lipídeos, interferindo na nutrição e suavidade; Nível de sensibilidade, o qual determina a resistência da pele. Desse modo, pode-se classificar a pele nos tipos: Normal, seca, oleosa e mista.

- *Pele normal*

Tem poros pouco visíveis e aspecto rosado. Há uma quantidade ideal de água e lipídios, que resulta em uma pele sem imperfeições com um nível adequado de sensibilidade. Aparecimento de rugas variável, mais intenso na região dos olhos.

- *Pele seca*

Em função da genética, das variações hormonais ou de fatores externos como vento ou radiação solar, tem poros praticamente invisíveis e nenhuma luminosidade, além de ser áspera e, não raro, apresentar manchas vermelhas. Maior tendência ao aparecimento de rugas. Uma pele extremamente seca pode descamar, principalmente nas costas da mão e no lado exterior dos braços, antebraços e pernas.

- *Pele oleosa*

Apresenta aspecto lustroso ou engordurado, poros dilatados e, ocasionalmente, espinhas. A oleosidade varia de um dia para o outro, e é causada pela hiperatividade das glândulas sebáceas, que produzem mais sebo do que o necessário em decorrência da entrada na puberdade, alterações hormonais, estresse, uso de certos medicamentos e exposição ao calor ou humidade excessiva. As glândulas oleíferas produzem lipídios em excesso, e podem fazer com que a pele deste tipo deixe resquícios de óleo nas pontas dos dedos. Menor tendência ao aparecimento de rugas e linhas de expressão.

- *Pele mista*

Apresenta normalmente poros dilatados no nariz, testa e mento, tendo uma oleosidade mais intensa nesta área e leve tendência a formar comedões (zona T). Na região das bochechas, há pele normal ou seca, com aparecimento de rugas variável.

2.4 Tipos de pele de acordo com a classificação de Baumann

Elaborado por Leslie Baumann, médica americana, chefe do Centro de Dermatologia Cosmética da Universidade de Miami, é um sistema bem completo de estudo da pele, a qual foi analisada em diferentes aspectos, resultando em até 16 tipos diferentes.

Depois de pesquisar 1400 pacientes durante oito anos, foi desenvolvido o Sistema Baumann de classificação dos tipos de pele que resulta da combinação de diferentes características da pele, levando em consideração os seguintes parâmetros: hidratação da pele (pele oleosa ou seca); sensibilidade da pele (sensível ou resistente); pigmentação da pele (pigmentada ou não pigmentada); e envelhecimento da pele (pele enrugada ou firme) (KOZ; ARIZA; SIMÕES, 2010).

2.5 Pele suína para realização dos métodos histológicos e bioquímicos

Para realização de testes histológicos, a pele suína é o modelo de membrana animal mais aceito, em substituição a pele humana. O uso da pele da orelha do porco para estudos *Ex vivo* é recomendado devido a semelhança fisiológica e histológica à pele humana, como também, sua biodisponibilidade. Propriedades como a espessura da epiderme, sua composição lipídica e a permeabilidade a diversos compostos possuem semelhança significativa que aproxima a pele suína da humana (SARTORELLI et al., 2000; SEKKAT et al., 2002; GODIN & TOUITOU, 2007; BOUDRY et al., 2008).

2.6 Esfoliação

A esfoliação é também conhecida em francês como gommage, raspagem da pele ou peeling, do verbo em inglês *to peel* (esfoliar). Consiste em retirar impurezas e células queratinizadas da superfície cutânea, afinando e uniformizando a camada córnea para facilitar a aplicação e a absorção de cosméticos complementares obtendo-se uma pele com aparência

mais saudável com melhoria da aparência estética, principalmente nas desordens de pigmentação, queratose actínea e rugas finas (CAREGNATO; GARCIA; FRANÇA, 2011).

2.6.1 Esfoliantes

Diversas técnicas vem sendo empregadas para aplicar na cosmetologia dos esfoliantes. Os Peelings Mecânicos (dermoabrasão), por exemplo, podemos citar a Microdermoabrasão também chamada de Peeling de Cristal, que, de acordo com Barba e Ribeiro (2009), o processo consiste na aplicação direta sobre a pele, de um equipamento mecânico gerador de pressão negativa e pressão positiva simultâneas, em que são utilizados microgrânulos de óxido de alumínio (100 a 140 micras), quimicamente inertes, jateados pela pressão positiva sobre a superfície cutânea numa velocidade passível de controle, provocando erosão nas camadas da epiderme, sendo ao mesmo tempo sugados pela pressão negativa os resquícios dos microcristais e células córneas em disjunção.

Entretanto, existem processos mecânicos que não necessariamente utilizam equipamentos e materiais sofisticados. A eficácia e desconforto da esfoliação pode variar dependendo do tamanho do grânulo utilizado, concentração do esfoliante e a pressão empregada para realizar a abrasão, nesse processo, as células superficiais são arrastadas por meio de substâncias abrasivas. As argilas são materiais empregados nesse tipo de peeling, as quais, de acordo com pesquisadores, citados por Valenti (2010), por serem de origem natural, terrosa e composta por um complexo de aluminossilicatados, de dimensões microscópicas e formatos laminares e alterando-se com moléculas de água e outros elementos, dão características próprias que explicam suas inigualáveis propriedades terapêuticas, relacionadas à ação filtradora de trocas calóricas e iônicas.

Na pele, existe uma voltagem transcutânea que é conhecida como bateria da pele. Essa propriedade é importante no mecanismo de ação das argilas, considerando que o estrato córneo é negativo em relação à derme com uma diferença de potencial média de 23 mV. Sendo assim, uma corrente iônica gerada do polo negativo para o positivo, ou seja, da epiderme para a derme facilita o carregamento de compostos por difusão. Para aumentar esta absorção, a pele deve estar hidratada, a fim de que os íons atravessem a camada córnea mais facilmente em direção à derme. A camada córnea hidratada e em contato com os geominais torna-se uma reserva iônica, pronta para fornecer os íons necessários para o restabelecimento do equilíbrio hidroeletrolítico (VALENTI, 2010).

2.7 Legislação

De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 4, de 30 de janeiro de 2014, que define e classificam os produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, estes produtos são divididos em dois grupos: Grau 1, que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares, cuja comprovação não seja inicialmente necessária e não requeiram informações detalhadas quanto ao seu modo de usar e suas restrições de uso, devido às características intrínsecas do produto; e Grau 2, que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso. Assim, os esfoliantes de aplicação facial estão inseridos nesses dois grupos de risco, os de ação mecânica (peeling mecânicos) grupo 1 e os de ação química (peeling químico) no grupo 2.

2.8 Argila

2.8.1 Composição

Dentre os recursos naturais minerais, a argila apresenta-se como matéria prima empregada em vários setores há muitos anos, dentre eles, na indústria cosmética. É uma rocha constituída essencialmente por um grupo de minerais que recebe o nome de argilominerais, sendo assim, são silicatos de Al, Fe e Mg hidratados, apresentando estrutura cristalina em camadas (filossilicatos), constituído com folhas contínuas de tetraedros SiO_4 , ordenados de forma hexagonal, condensados com folhas octaédricas de hidróxidos de metais tri e divalentes, em que, a maioria com fração de dimensões na faixa de 1 a 100 nm (faixa nanométrica) (COELHO; SANTOS, 2007).

As argilas puras não existem na natureza, a não ser quando isoladas em laboratório e as propriedades da cada argila se traduzem no efeito de cada um de seus componentes. Formadas por mesclas de muitos minerais, dos quais alguns deles podem ser predominantes, e de acordo com o local de extração, a constituição pode sofrer variações. Porém, esta diferenciação entre os tipos de argilas não modificam suas principais atuações, promovendo a ação absorvente, cicatrizante e anti-séptica. Com adição de água e agitação, os grãos podem ser desfeitos e desse modo, pode-se obter dispersões coloidais, como também, por apresentarem a possibilidade de modificação química, esse material permite o desenvolvimento do seu uso para diversos tipos de aplicações tecnológicas, agregando valor a

esse abundante recurso natural. Os minerais encontrados nas argilas funcionam como potencializadores de determinados efeitos, conforme a sua concentração (PEREIRA; RODRIGUES; VALENZUELA DIAZ, 2007; DÁRIO 2008; TEIXEIRA-NETO; TEIXEIRA-NETO, 2009).

De acordo com Ribeiro (2010) citado por Amorim e Piazza (2012), os tipos de classificação básica das argilas são provenientes da decomposição de milhões de anos, das rochas feldspáticas e rochas sedimentares. Muito abundantes na costa terrestre, essas rochas formam a caulinita material básico das argilas, que são classificadas em duas categorias: primárias, secundárias ou sedimentos. As primárias são pouco atacadas pelos agentes atmosféricos, possuem partículas mais grossas e coloração mais clara, pouco plástica e contém uma grande pureza com alto nível de fusão, como por exemplo, o caulim. Já as secundárias ou sedimentos são as mais finas ou plásticas, podem conter impurezas que são agregadas ao se misturarem com outras matérias orgânicas.

2.8.2 Aplicação da argila na cosmetologia

Desde os tempos antigos, os humanos já empregavam a argila em diferentes atividades, como por exemplo, na fabricação de objetos, como também para uso medicinal. Os egípcios acreditavam que a mesma era nada mais que barro, além de ser um dos melhores remédios que existia na natureza. As máscaras argilosas são as preparações cosméticas mais antigas utilizadas no tratamento de beleza e foi na Grécia que ocorreu o surgimento para essa finalidade. Pópea, mulher de Nero, desenvolveu máscara facial para conservar a delicadeza da pele contra o sol e as agressões diárias (ZANGUE et al., 2007; SILVA, 2011).

Atualmente, as argilas naturais ou modificadas são utilizadas como princípios ativos em cosméticos, na forma de máscaras faciais, devido a sua alta capacidade de adsorção de substâncias como gorduras e toxinas e a sua reologia nos sistemas fluídos, como estabilizante de emulsões e suspensões, e carreadoras de moléculas orgânicas, como também, podem ser utilizadas em formulações de uso capilar. É excelente carreadora de outros ativos misturados a ele, principalmente em nanocosméticos, pois possui formato octaédrico. Indicadas em processos antiinflamatórios, acnes, furúnculos, úlceras, dentre outros. São comercializados na forma farmacêutica creme e pós, deve ser macios, secar rapidamente após a aplicação e possuir boa adesão cutânea, apresentando-se dermatologicamente inócuos e não tóxicos, assim, irá alcançar o objetivo de melhorar a aparência da pele. Assim, são biominerais capazes de doar propriedades específicas a um determinado produto, seja como excipiente ou

como substância ativa, resultando em benéfico à saúde das pessoas (VALENZUELA; CASSAROTTE, 2009; DÁRIO, 2008; TEIXEIRA-NETO; TEXEIRA-NETO, 2009; PENAFERREIRA et al., 2011; SILVA et. al., 2013).

Em estudo realizado por Silva et. al.; (2012), apresenta as áreas de maior aplicabilidade industrial e tecnológica das argilas e o número total de patentes encontradas em cada base de dados pesquisada. A área que detém o maior número de patentes depositadas é a de processos com 41681 patentes, seguida pela biotecnologia, alimentação, medicina, farmacêutica, cerâmica e cosmética. Assim, observa-se que a área de cosméticos vem sendo explorada e que há grandes oportunidades de pesquisa com os argilominerais neste setor. As pesquisas científicas de 1984 até metade da década passada na área de cosméticos envolvendo argilas foram baixas, tendo uma reação a partir de então, onde se verifica que em 2010 a produção de artigos científicos relacionado a argilas chegou a 15 publicações. Isso possivelmente pode estar relacionado às políticas econômicas e de incentivo a pesquisa dos países de maior empenho nesta área. Foram encontrados cento e trinta e nove patentes com o código A61K8, que se referem a patentes que fazem de uso das argilas em composições de hidratantes, máscaras faciais, cremes, dentre outras. A argila do tipo atapulgita - paligorskita (“palygorskite”) é mais utilizada em preparações cosméticas, sendo a de maior produção no mundo ocidental: cerca de 1 milhão de tonelada por ano.

Os principais tipos de argilas utilizadas em formulações cosméticas encontradas tanto nos artigos como nas patentes são a paligorskita e sepiolita (em preparações líquidas) juntamente com a caulinita, esmectita, e talco, devido à alta capacidade de troca catiônica, de superfície e adsorção. Verificou-se que o uso da argila do tipo vermiculita não foi explorado para finalidades cosméticas, sendo que foi citada em alguns documentos de patentes como opção de uso para tal finalidade. Nesse sentido de acordo com o estudo, acredita-se que devido às propriedades tecnológicas da vermiculita, esta é um bom material a ser aplicado em formulações cosméticas, tanto natural ou quimicamente modificada. É importante lembrar que existem alguns requisitos primordiais para que uma argila seja usada em preparações farmacêuticas e cosméticas. Em especial destacam-se a granulometria, o grau de pureza mineral, a quantidade de água adsorvida, composição química e contaminação microbiológica (SILVA et al., 2012).

Dentre os filossilicatos, apenas a caulinita, o talco, as esmectitas e as argilas fibrosas são utilizadas em aplicações farmacêuticas e/ou cosméticas. Bentonitas, por exemplo, são usadas para estabilizar emulsões óleo em água em produtos cremosos. Sua função é permanecer entre as duas fases da emulsão como um protetor. As argilas são usadas como

agentes reológicos nesse tipo de emulsão, principalmente porque podem ser molhadas por ambas as fases líquidas. Elas agem desse modo, como uma barreira física que previne a coalescência das gotas de líquido da emulsão, impedindo a separação de fases (TEIXEIRA-NETO; TEIXEIRA-NETO, 2009). De acordo com Zangue et. al. (2007), mesmo sendo aplicadas como excipientes ou como substâncias ativas, as argilas devem preencher um número de exigências relativas à segurança e a estabilidade, devendo apresentar principalmente a inocuidade química e microbiológica.

2.8.2.1 *Argila branca*

A argila branca, conhecida como Caulim, é constituída principalmente por caulinita (silicato de alumínio hidratado), a qual contém baixo teor de ferro e granulometria fina. Sua composição mineralógica qualitativa corresponde a uma mistura de quartzo e caolinita, e como oligoelementos Alumínio e Silício. Propriedades como a alvura, a brancura, a viscosidade e a abrasividade podem ser afetadas pela presença de outros minerais na sua composição, como por exemplo, quartzo, cristobalita e alunita. Tanto a alvura quanto a brancura podem ser determinadas por processos utilizando espectrofotômetros. Para uso comercial, o padrão do tamanho da partícula utilizada é de 2 μm . O diâmetro das partículas e a sua forma de distribuição são fatores importantes no controle das muitas propriedades físicas do caulim. Na estética, melhora a circulação sanguínea e promove ação antisséptica, sendo de alta excelência no controle do processo acneico, clareamento e no tônus geral da pele (AMORIM; PIAZZA, 2012; LUZ et. al, 2008).

O intenso uso de caulim em produtos cosméticos ocorre em pós-compactos para face (face pake) e em máscaras faciais (face masks) destinados a limpar a pele humana. O efeito adstringente e de aquecimento resultante da aplicação desses produtos produz sensação revigorante, e, ao mesmo tempo, o caulim adsorve os materiais gordurosos e remove a poeira aderida à pele. O teor de caulim nesse tipo de máscara facial não deve exceder 5% em massa, para evitar a diminuição demasiada da resistência mecânica da camada da máscara. O caulim também é adicionado por causa de sua cor branca, visando melhorar ou controlar as cores de outros componentes das máscaras faciais. Em pós-prensados, como os pós-compactos, teores maiores de caulim podem ser usados, devido à necessidade desses produtos de maior adesão à pele (SANTOS et al., 2009).

2.8.2.2 *Argila verde*

A argila verde, a mais tradicional das argilas, conhecida como Montmorilonita é rica em oligoelementos do tipo óxido de ferro, silício e zinco. Possui na composição mineralógica qualitativa uma mistura de quartzo, esmectita, illita e caolonita. Oferece atividade sebo-reguladora (adstringente) e purificadora, pois desinfiltra o interstício celular. Desse modo, na estética facial, é utilizada em peles oleosas, como também acneicas. Na estética corporal, é utilizada para promover tensionamento, a qual melhora a flacidez tissular, auxiliando no combate da celulite. Pode-se também empregar como atividade desintoxicante e cicatrizante (AMORIM; PIAZZA, 2012).

2.8.2.3 *Argila vermelha*

Atapulgita, a argila vermelha, possui composição mineralógica qualitativa que corresponde a uma mistura de quartzo, esmectita, illita e coalinita. Óxido de ferro e cobre são os oligominerais presentes. Na estética facial, tem ação reguladora do fluxo sanguíneo e vascular, garantindo conforto e suavidade para peles sensíveis ou acometidas por telangiectasias e rosácea. Já na corporal, aplica-se para obter efeitos anti-flacidez, como também ativar a microcirculação. Apresenta propriedades físico-químicas que lhe adéquam aos vários usos industriais. Quando ativada tem uma capacidade de adsorção de 5 a 8 vezes maior para alcalóides (estricnina e quinina), bactérias e toxinas, justificando assim o seu uso na composição de produtos farmacêuticos (LUZ; ALMEIDA, 2008; AMORIM; PIAZZA, 2012).

2.8.3 Cosméticos esfoliantes à base de argila

Existe uma diversidade de produtos de beleza esfoliantes contendo argila na formulação, sendo comercializadas nos diferentes tipos, por exemplo: branca, amarela, verde, vermelha, roxa, preta e rosa. Podendo ser encontrados na forma pó e em cosméticos, como: cremes, sabonetes sólidos e líquidos, xampu e condicionadores, entre outros.

Empresas nacionais e internacionais de cosméticos utilizam essa matéria prima em seus produtos: Lâncome® (Máscara Mineral Purificante), Premier Cosméticos® (Lama Corporal do Mar Morto), O Boticário® (Gommage Esfoliante -Nativa Spar/Argiloterapia), Natura Cosméticos® (Máscara Purificante Facial - Ekos); Vita Derme® (Máscara facial),

Derma Clean® (Sabonete Esfoliante Argila), Corpo Dourado Cosmética® (Esfoliante Corporal de Argila), Health Hair®(Xampu de Argila), entre outras.

2.5 Forma cosmética sabonete líquido esfoliante

2.5.1 Sabonete líquido

As principais formas com que os sabonetes são apresentados são: sólidos, líquidos ou pastosos. Cada um deles tem uma finalidade específica. A função dos sabonetes líquidos é de promover a limpeza da pele, por meio da eliminação de resíduos e material graxo, suor, poeira, células mortas, microorganismos e resíduos cosméticos. Como todo produto cosmético, a formulação deve ser agradável no aspecto e aplicação, com viscosidade adequada, produzir espuma suficiente e não ser irritante para olhos e pele, entre outros (FARIA et al., 2012).

De acordo com Mercadante & Assumpção (2010), existem sabonetes chamados sintéticos, que são aqueles produzidos a partir de compostos previamente processados a partir do petróleo ou de plantas. E os naturais, produzidos por reação direta entre óleos e um álcali. Entre as vantagens de se produzir sabonetes líquidos sintéticos podem-se citar:

- *Controle do pH*: permitem fácil controle do seu pH para que fique próximo ao da pele humana, neutro ou mesmo básico.
- *Viscosidade*: podem-se obter sabonetes bastante líquidos, densos ou na forma de gel.
- *Aditivos*: Os aditivos, como extratos glicólicos, essências e corantes, entre outros, são facilmente incorporados.
- *Custo*: o custo da matéria prima para a fabricação de sabonetes líquidos sintéticos é relativamente barato.
- *Preparo*: o processo de produção dos sabonetes líquidos sintéticos é fácil e rápido.

Entre as vantagens de se produzir sabonetes líquidos naturais podem-se citar:

- *Textura*: os sabonetes líquidos naturais apresentam textura inigualável.
- *Ressecamento*: naturalmente mantêm a umidade da pele sem causar ressecamentos.
- *Viscosidade*: apresentam uma viscosidade intensa e adequada ao uso sem a necessidade de se acrescenta sair.
- *Custo*: o custo de produção é mais baixo que o do sabonete líquido sintético.

- *Valor*: o processo de produção dos sabonetes líquidos naturais não é fácil nem rápido, contudo agrega mais valor ao produto final.

O principal motivador para a produção de sabonetes líquidos sintéticos ou naturais consiste em atingir um mercado crescente destes produtos, além da facilidade e diversidade de seu uso, melhor condições de preservação após iniciando seu uso e maiores condições de higiene quando o produto for utilizado coletivamente (MERCADANTE; ASSUMPÇÃO, 2010).

A maioria das formulações de sabonetes líquidos contém os seguintes tipos de ingredientes: Tensoativo primário (espuma, limpeza); Tensoativo secundário-opcional (estabilização da espuma, reduz a irritação); Doador de viscosidade (controla a viscosidade); Corante-opcional (colorir); Opacificantes-opcional (perolizante); Conservantes (conservação); Agente sequestrante ou quelante (estabilizar cor/perfume, aumentar eficácia do sistema conservante); Fragrância (perfumar); Agentes suspensores e espessantes (evitar a sedimentação dos ingredientes insolúveis incorporados nos sabonetes líquidos); Ingrediente ativo- opcional (atividade terapêutica ou cosmética) e água (veículo) (FERREIRA, 2010).

2.6 Estudo da eficácia da forma cosmética esfoliante

Para comprovar a eficácia dos produtos cosméticos, alguns ensaios são feitos em empresas por profissionais habilitados. São utilizados modelos sintéticos (*In Vitro*), como também, em pequenos casos, modelos animais (*In Vivo*).

Segundo matéria divulgada na revista *Cosmetics&Toiletries* (2014), o governador do Estado de São Paulo, Geraldo Alckmin, sancionou no dia 23 de janeiro, o projeto de lei que proíbe a utilização de animais em testes nas indústrias de cosméticos, perfumes e produtos de higiene pessoal. Para Jadir Nunes (Sociedade Brasileira de Métodos Alternativos à experimentação animal - SBMAIt), um dos destaques dessa nova lei é a possibilidade de métodos alternativos sejam mais e melhor utilizados, como acontece na Europa, outro ponto será o aumento de empresas de tecnologia em investir na criação de laboratórios que venham realizar testes *in vitro* para comprovar a eficácia dos produtos cosméticos.

Os esfoliantes faciais não possuem metodologia *ex vivo* definida que comprove sua eficácia. No entanto, métodos alternativos podem ainda ser desenvolvidos baseados na fisiologia e histologia da pele. De acordo com Molinaro (2010), a histologia estuda as células no contexto da estrutura tecidual e a inter-relação delas com os constituintes da matriz extracelular. Os procedimentos utilizados para se obterem amostras de tecido ou preparos

histológicos retirados de um organismo para exame microscópio incluem: coleta do material, fixação, clivagem, processamento, inclusão, microtomia (corte) e coloração.

A pele possui como componente principal a queratina, onde esta pode ser doseada por métodos histológicos e bioquímicos. Um exemplo de uma técnica de doseamento de proteínas é o método de Biureto. De acordo com estudos citados por Zaia, Zaia e Lichtig (1998), a técnica do biureto é um método espectrofotométrico utilizado para determinação de proteínas totais. O método baseia-se na reação do reativo do biureto, que é constituído de uma mistura de cobre e hidróxido de sódio comum complexante que estabiliza o cobre em solução, sendo otartarato de sódio. O cobre, em meio alcalino, reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica. O produto de absorção apresenta duas bandas de absorção, uma em 270 nm e outra em 540nm. Apesar da banda da região de 270 aumentar em seis vezes a sensibilidade do método biureto, a banda na região de 540 nm é a mais utilizada para fins analíticos, porque diversas substâncias, normalmente presentes na maioria dos meios analisados, absorvem na região de 270 nm causando muita interferência no método.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver esfoliante facial à base de argila e avaliação da eficácia por métodos histológicos e bioquímicos.

3.2 Objetivos específicos

- Controle de qualidade físico-químico das argilas;
- Desenvolver um sabonete líquido esfoliante facial à base de argila;
- Avaliar a eficácia do produto manipulado através da observação de cortes histológicos e a quantificação de proteínas totais da pele de orelha de porco.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Substâncias e reagentes

- Albumina de Mayer
- Álcool etílico
- Argila Branca (Caulim);
- Argila Verde (Montmorilonita);
- Argila Vermelha (Atapulgita);
- Água deionizada;
- Anfótero (Cocoamidopropilbetaína) - (Codossal Ltda);
- Amida 80% (Dietanolamida de ácidos graxos de coco) - (Codossal Ltda);
- Carbômero (Carbopol®) - (Codossal Ltda);
- Celulose Microcristalina (CMC) - (Codossal Ltda)
- Formol 37% - (Impex)
- Hematoxilina-Eosina (HE)
- Kit reagente proteínas totais - (Biotécnica)
- Lauril Éter Sulfato de Sódio (LESS)- (Codossal Ltda);
- Metilparabeno (Nipagin) - (Codossal Ltda);
- Orelhas de porco;
- Parafina;
- Propilenoglicol - (Codossal Ltda);
- Sepigel - (Chemyunion);
- Solução tampão para formol 10%;
- Trietanolamina - (Codossal Ltda);
- Esfoliante - (Mary Kay®)
- Xilol

4.1.2 - Equipamentos

- Agitador eletromagnético BerTel®;
- Balança Analítica - (Bioprecisa FA-2104N)

- Dessecador
- Estufa - (Biopar, S80ST);
- Espectrofotômetro UV/VIS - (Biospectro SP-220);
- Microscópio - (Physis)
- Microscópio Olympus BX-49
- Microscópio Olympus BX-50
- MicrotômoMinot (Leica RM 2035)
- Mufla (Biothec)
- pHmetro - (Quimis Q400MT);
- Viscosímetro Rotativo Analógico - (QuimisQ-860A21)

4.1.3 Vidrarias e utensílios diversos

- Almofariz e pistilo;
- Barbeador descartável - (Bic®)
- Bastões de vidro;
- Béqueres de 50, 250, 600 mL;
- Cubetas de Quartzo;
- Cadinhos de porcelana;
- Cálice graduado;
- Conta gotas;
- Copo plástico 40 mL - (Plastilânia)
- Erlenmeyers 100 e 500mL;
- Espátulas de inox;
- Faca
- Filtro de papel;
- Lâminas;
- Lâminas de barbear - (Bic®);
- Lamínulas;
- Provetas de 50 mL;
- Seringas de 20 mL;
- Vidro relógio

4.1.4 Local de coleta

As argilas foram coletadas no início do mês março de 2014, na praia dos Carneiros localizada na cidade de Tamandaré (latitude 08° 45' 35" S e longitude: 35° 06' 17" W), litoral sul do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

4.2 Metodologia

4.2.1 Controle de qualidade físico-químico da argila

Para o controle físico-químico da argila, foram analisados os parâmetros: granulometria; estrutura física através da microscopia óptica; densidade compactada; perda por dessecação e resíduo por incineração, todos descritos na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

4.2.1.1 Análise granulométrica

Foram separados cinco tamises de mesh (200, 160, 100, 80 e 48) e abertura de malhas (75, 106, 150, 180 e 300 mm) distintas. Assim, os tamises foram organizados do mesh de maior número, para o de menor, formando uma coluna de peneiração.

No tamis de mesh 200, foi adicionado 25 gramas (g) de argila, o agitador eletromagnético foi programado para executar a separação granulométrica no tempo de 15 minutos. Ao final, foi realizada a medida da massa retida em cada tamis de acordo com a equação: $\% \text{ Retida pelo tamis} = P1/P2 \times 100$ (P1 = massa retido no tamis; P2 = massa total).

Como forma de padronização foi escolhida uma granulometria única para os três tipos de argila.

4.2.1.2 Microscopia óptica

Após a escolha da granulometria, foram realizadas análises através de microscopia óptica, sendo observadas as estruturas físicas dos grãos. Para esse estudo, utilizou-se microscópio marca Physise objetiva10x.

4.2.1.3 Densidade aparente compactada

Uma proveta de 10 ml foi previamente pesada, e posteriormente, preenchida com argila e submetida a 20 batidas em uma superfície plana, com intervalo de 2 segundos entre cada batida. Desse modo, foram realizadas as leituras dos volumes obtidos após os impactos sofridos. Os ensaios foram feitos em triplicata. A densidade foi obtida com os dados de volume e massa. A massa da proveta vazia (M_{pv}) subtraída da massa da proveta cheia (M_{pc}) resulta na massa da amostra. Para determinar densidade aparente (D_{ap}), divide-se a massa da amostra (gramas) pelo volume da proveta (V_p) (mL), de acordo com a fórmula descrita a seguir: (POLITI, 2009)

$$D_{ap} = M_{pc} - M_{pv} / V_p$$

4.2.1.4 Perda por dessecação

Foi efetuada conforme descrito na Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010). Utilizou-se 2g da argila, colocados em cadinhos previamente tarados e posteriormente, levados a estufa em temperatura de 105°C por duas horas. Após esse tempo, os cadinhos foram levados para esfriamento em dessecador por 30 minutos, e assim, a massa foi medida. Feito isso, os cadinhos foram colocados novamente em estufa, repetindo o processo até obtenção da massa constante (2 repetições/2 horas cada totalizando 6 horas). Os resultados foram expressos em perda de massa percentual. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.2.1.5 Resíduo por incineração

Cadinhos de porcelana foram calcinados em mufla a 450° C por 30 minutos, resfriados em dessecador (15 minutos) e suas massas determinadas em balança analítica. Em cada cadinho foram adicionadas cerca de 3,0 g de argila e sua massa foi novamente medida sendo incineradas em bico de Bussen por cinco minutos e, posteriormente, submetidas à calcinação em mufla à temperatura de 450°C por duas horas. Foram deixados em dessecador para arrefecimento (15 minutos), com pesagem final realizada, concluindo a segunda etapa do processo. O resultado foi expresso em porcentagem em massa de cinza na argila (% m/m) e representa a média de três determinações (POLITI, 2009).

4.2.2 Desenvolvimento da formulação

Foram selecionadas cinco amostras de argila branca, cada uma possuindo granulometria específica e em quantidades semelhantes e adicionou-se nas bases dos sabonetes líquidos formulados, observando o melhor comportamento para uma formulação cosmética, sendo adotada a granulometria 100 Mesh e 150 μ m de abertura.

A formulação foi dividida em três fases e calculou-se a quantidade necessária de material para um qsp de 10 mL. O ensaio foi realizado em triplicata.

- *Fase 1:* Dispersou-se a argila (10%) em propilenoglicol (20%), e posteriormente, foi adicionado o Nipagin (0,15%).
- *Fase 2:* Foi utilizado Carbopol (7,2%) e Celulose Microcristalina-CMC (64,75%). Em um béquer, adicionou-se água e CMC, levando ao agitador, acrescentou-se o Carbopol aos poucos e o pH foi ajustado com trietanolamina (aproximadamente 13 gotas).
- *Fase 3:* Nessa etapa, utilizou-se LESS (20%), anfótero (5%) e a amida 80 (3%). Misturou-se o LESS e o anfótero, homogeneizou e acrescentou-se a amida.

Com as três fases desenvolvidas, foi misturada a fase 3 na 2. Homogeneizou-se e foi acrescentada a argila previamente solubilizada em propilenoglicol. Para acerto q da viscosidade foi utilizado 3% de sepiigel®.

4.2.2.1 Viscosidade e pH

A viscosidade foi obtida utilizando viscosímetro rotativo analógico com velocidade de rotação de 30 rpm e Spindle n° 4. O pH foi determinado pelo método potenciométrico utilizando pHmetro calibrado. Os experimentos foram realizados em triplicada.

4.2.3 Estudo da eficácia

O estudo da eficácia foi realizado através de metodologia desenvolvida para aplicar nesse estudo. Sendo dividido em duas partes:

4.2.3.1 Método da leitura pela microscopia óptica

- *Preparo do material para avaliação histológica*

Para estudo histológico foram obtidas 06 (seis) orelhas de porcos em abatedouro público situado no município de Massaranduba-PB. Após 1h de abatido, as orelhas retiradas foram raspadas com lâminas de barbear e divididas em quadrantes de 2cm² com 4 mm de espessura, totalizando 16 cortes, sendo um de região íntegra (branco - sem produtos) e os demais (15 cortes) divididos em 3 grupos (tempo de aplicação). Assim, foram adotados 5 tipos de produtos para a realização dos testes, conforme descritos na tabela 1.

Tabela 1: Produtos e total de cortes de pele de orelha de porco para avaliação histológica

PRODUTO	CORTES DE PELE DA ORELHA DE PORCO			TOTAL
	Grupo I Tempo 0	Grupo II Tempo 7 dias	Grupo III Tempo 14 dias	
Base sabonete líquido (controle)	1	1	1	3
Esfoliante comercial Mary Kay	1	1	1	3
Esfoliante de argila branca	1	1	1	3
Esfoliante de argila verde	1	1	1	3
Esfoliante de argila vermelha	1	1	1	3
TOTAL	5	5	5	15

Fonte: Dados da pesquisa

Os 15 cortes foram submetidos à esfoliação por 5 minutos, com os produtos citados. Após a aplicação de cada produto, os cortes do grupo I foram depositados em solução de formaldeído 10% para fixação. Os demais foram levados a refrigeração para as aplicações posteriores.

Foi realizada uma segunda esfoliação nos 10 cortes refrigerados, após 7 dias da primeira. Cada esfoliação durou 5 minutos e também foi feita com os cinco diferentes produtos discriminados anteriormente. Cinco cortes foram depositados em solução de formaldeído 10%. Os outros foram levados a refrigeração para a última aplicação.

Foi realizada a terceira esfoliação nos 5 cortes restantes após 14 dias da primeira. Os cortes deste grupo receberam, portanto, três esfoliações antes de serem depositadas em formaldeído 10%.

É importante ressaltar que para os procedimentos do grupo II e III, as orelhas foram conservadas por 7 e 14 dias, respectivamente, em refrigerador, em embalagens plásticas com temperatura ajustada para 6°C (BRASIL, 2010).

Todas as amostras foram encaminhadas para análises histológicas.

- *Preparo das lâminas*

Após a fixação em formaldeído 10% por, no mínimo, 48 h, cada espécime foi inicialmente desidratado em álcool etílico (concentrações crescentes), diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. A seguir, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustado para 5 µm.

Os cortes assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37°C, durante 24h, para secagem e colagem. Em sequência, os cortes foram submetidos às técnicas de coloração pela Hematoxilina - Eosina (H. E.) e analisados em microscópio óptico de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

Os procedimentos histológicos foram realizados em parceria, no Laboratório do Programa de Pós Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco.

4.2.3.2 Método de quantificação de proteínas totais pelo método de Biureto

Para esse método, utilizou-se o Kit reagente de proteínas totais (solução padrão proteínas totais 5,0 g/dL e reagente de Biureto) da marca Biotécnica.

Foi construído o gráfico da linearidade (concentração da solução x absorbância), através da média de três curvas de calibração utilizando 30, 60, 90, 120, 150 e 180 µL da solução padrão de proteínas totais (5,0 g/dL ou 50 mg.mL⁻¹) em 3 mL de Biureto, resultando em concentrações de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 mg.mL⁻¹. Após o tempo de 20 minutos, foi iniciada a leitura em espectrofotômetro visível no comprimento de onda (λ) de 550 nm, especificado no kit.

A partir da equação da reta obtida por regressão linear, realizou-se o doseamento de proteínas totais na pele de orelha de porco. As absorbâncias foram observadas antes e depois de promover ação mecânica com o produto testado (Sabonete líquido base, esfoliante comercial Mary Kay, esfoliante de argila branca, esfoliante de argila verde, esfoliante de argila vermelha). As peles utilizadas tiveram os pelos retirados com auxílio de barbeador descartável, cortados com lâmina, adotando um quadrante com 1g de massa. Após 5 minutos de esfoliação do corte, com movimentos padronizados, o mesmo foi dividido em 4 fragmentos para aumentar sua superfície de contato e adicionou-se 6 mL de Biureto, deixando agir por 20 minutos, porém, a cada 2 minutos, o conteúdo era homogeneizado levemente. Completado o tempo, a parte sólida foi separada do líquido utilizando papel filtro e levada à leitura no espectrofotômetro em 550 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Controle de qualidade físico-químico da argila

Para determinar certas propriedades físico-químicas fundamentais da argila, foi necessário realizar alguns controles de qualidade, tais como: análise granulométrica, microscopia óptica, densidade compactada, perda por dessecação e resíduo por incineração. Essas análises foram essenciais para o desenvolvimento do esfoliante à base de argila.

5.1.1 Análise granulométrica

Os resultados granulométricos foram satisfatórios para otimizar o desenvolvimento da formulação, onde foi adotada a granulometria de mesh 100 e abertura 150 mm.

Os resultados da análise granulométrica estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Análise granulométrica das argilas

Sistema Mesh (#)	Abertura da peneira (mm)	Massa retida Argila Branca		Massa retida A. Verde		Massa retida A. Vermelha		Média g	DP (±)
		g	%	g	%	g	%		
200	75	20,65	82,6	13,5	54	9,5	38	14,55	5,65
160	106	0,85	3,4	1,75	7	2	8	1,53	0,60
100	150	1,95	7,8	5,8	23,2	7,3	29,2	5,02	2,76
80	180	0,8	3,2	2	8	4	16	2,27	1,62
48 (fundo)	300	0,75	3	1,95	7,8	2,2	8,8	1,63	0,78
Total		25 g	100%	25 g	100%	25 g	100%	25 g	

Fonte: Dados a pesquisa

De acordo com os dados descritos na tabela, pode-se observar que mais da metade do material (14,55g) encontra-se retido numa faixa granulométrica de 200 mesh e cerca de 1,63g encontra-se na menor faixa (mesh 48). Verifica-se que 20% (5,02 g) de massa da argila ficaram retidas no tamis mesh 100, granulometria intermediária entre os tamanhos de partícula maiores e menores. Desse modo, procurando um material sem a presença de partículas grosseiras, que possua uma granulometria homogênea, e proporcione bons resultados ao ser empregado na formulação, foi adotada a argila da faixa granulométrica 100 mesh.

5.1.2 Microscopia óptica

Após a adoção da faixa granulométrica pode-se observar, através de microscopia óptica, a organização estrutural das partículas. Os três tipos de argilas apresentaram similaridade quanto à estrutura física, possuindo grãos com um aspecto amorfo.

Em estudo realizado por Silva, Alves & Barbosa (2011), a microscopia óptica foi utilizada para caracterizar a morfologia e analisar o grau de expansão da argila e dos sistemas estudados. As micrografias ópticas da matriz polimérica e sistemas contendo atapulgita natural com teores de 3 e 5% apresentam a presença de partículas de argila bem dispersas na matriz e com tamanhos variados, indicando uma boa dispersão durante a preparação.

Entretanto, segundo Castro (2008) em mineralogia óptica e petrografia, utiliza-se lâmina delgada. Tal técnica requer amostras de material pedológico adequadamente coletados, previamente impregnadas com resinas, finamente cortadas e colocadas em lâminas delgadas similares às petrográficas, podendo ser produzidas também em tamanho médio ou mamute. Como técnica de análise microscópica, os constituintes sólidos são identificados por suas propriedades ópticas, admitindo-se também o uso de reagentes auxiliares na sua observação.

A técnica adotada para o estudo foi simples, sem adição de reagentes e utilizando lâminas de microscopia. Contudo, a técnica permite observar a organização física e as diferenças e similaridades entre o material avaliado.

5.1.3 - Densidade compactada

A tabela 3 apresenta os valores da densidade compactada das argilas (g/mL) calculados de acordo com a equação específica.

Tabela 3: Densidade compactada das argilas

Amostras	Provetta vazia (g)	Provetta cheia (g)	Vol. após compactação (mL)	Densidade (g/mL) Média ± DP
Argila Branca	17,26	26,02 ± 0,12	8,6 ± 0,10	1,01 ± 0,01
Argila Verde	17,31	24,41 ± 0,08	8,43 ± 0,06	0,84 ± 0,01
Argila Vermelha	17,52	25,94 ± 0,60	8,53 ± 0,06	1,04 ± 0,02

Fonte: Dados da pesquisa

A avaliação da densidade é de extrema importância antes de formular um produto. Juntamente com a viscosidade, irão interferir na velocidade de sedimentação das partículas sólidas.

A velocidade em que as partículas em uma suspensão sedimentam está relacionada ao tamanho e densidade das partículas e à viscosidade do meio da suspensão. O movimento browniano pode exercer um efeito significativo, bem como a ausência ou presença de floculação no sistema (GENNARO, 2000).

Em 1850, G.G Stokes determinou três fatores que afetam a velocidade final de partículas caindo através de um fluido, definindo uma fórmula conhecida por “Lei de Stokes”. Os fatores são: Diâmetro da partícula; Diferença de densidade entre a partícula e o fluido; Viscosidade do fluido. A velocidade final de sedimentação de uma partícula em fluido é proporcional ao quadrado do diâmetro da partícula. Fatores válidos para partículas com diâmetros entre 0,2 mm ou 200µm (limite inferior da areia grossa) e 0,2 µm (limite inferior da argila grossa) (COOPER; USP).

A velocidade de sedimentação é reduzida através da diminuição do tamanho da partícula. Por isso, foi padronizado uma granulometria ao ser observado nos testes que as de diâmetros maiores sedimentavam e as mais finas ficavam retidas na superfície.

5.1.4 Perda por dessecação

Após as pesagens, pode-se calcular a média da massa perdida (umidade), a partir de uma massa inicial de 2 g de argila. Os resultados estão descritos na tabela 4.

Tabela 4: Massa de argila após 2 horas de estufa

Amostras	Massa do cadinho vazio	Massa da argila	Massa Total	Massa após 6 horas de estufa	Massa perdida (g)	
	g	g	g	g	g	%
Argila Branca	20,7	2,00	22,70	22,54	0,16 ± 0,001	0,70
Argila Verde	24,87	2,01	26,88	26,70	0,18 ± 0,001	0,67
Argila Vermelha	23,46	2,00	25,46	25,35	0,11 ± 0,001	0,43

Fonte: Dados da pesquisa

Observa-se que, mesmo após 6 horas de ensaio, a perda de massa é pequena não ultrapassando 1%. Desse modo, os três tipos de argila possuíam um baixo teor de água, não dificultando e interferindo nos ensaios. Como possui comportamento pseudoplástico, ao

adicionar água a argila ganha forma e volume, assim, para a formulação adotada e materiais empregados, foi preferível trabalhar com argila seca.

5.1.5 Resíduo por incineração

A tabela 5 representa os valores obtidos no ensaio do teste de resíduo por incineração (cinzas totais). Foram realizados testes em triplicata e os valores estão descritos em média.

Tabela 5: Massa perdida da argila após incineração

Amostra	Massa da argila (g)	Massa cinzas (g)	Teor de cinzas (%)
Argila Branca	3,00	0,43 ± 0,015	14,3
Argila Verde	3,00	0,53 ± 0,021	17,7
Argila Vermelha	3,00	0,21 ± 0,011	7

Fonte: Dados da pesquisa

De acordo com os dados, o teor de cinza dos 3 tipos de argila apresentaram diferenças. A argila branca teve 14,3% da massa diminuída, a verde 17,7%, enquanto que a vermelha apresentou a menor perda com apenas 7%. Tais resultados apontam a existência de impurezas nas matérias primas estudadas.

A determinação do teor de cinzas totais permite a verificação de impurezas inorgânicas não-voláteis. Cinzas totais incluem aquelas derivadas de tecido vegetal (cinzas fisiológicas) e derivadas de materiais estranhos, especialmente areia e terra aderente à superfície do material (cinzas não fisiológicas) (BRASIL, 2010).

Não foi encontrado na literatura valores de teor de cinzas totais para argilas branca, verde e vermelha. Assim, os dados realizados nesse ensaio tornam-se importantes no processo de padronização.

5.2 Desenvolvimento da formulação

Foi adotado propilenoglicol para dispersão do material sólido porque ao utilizar água, observou-se que, ao passar das horas, a argila apresentava aspecto ressecado, fato que iria prejudicar o resultado final da formulação. As formulações manipuladas podem ser visualizadas na figura 2.

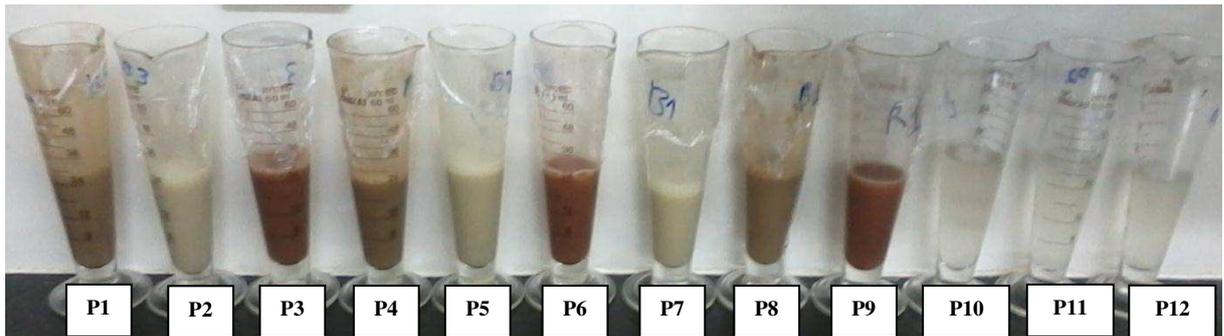


Figura 2: Esfoliante à base de argila branca (P2, P5 e P7), verde (P1, P4 e P8), vermelha (P3, P6 e P9) e formulação placebo (P10, P11 e P12) sem Sepigel. N=3.

Fonte: Imagens da pesquisa

Após 24 horas, observou-se que as argilas sedimentavam, promovendo um aspecto indesejável ao produto, especialmente a argila vermelha pela maior densidade em relação água. Desse modo, foi acrescentado o agente de viscosidade Sepigel® (3%), uma vez que, ao aumentar a viscosidade do sistema a sedimentação será diminuída.

5.2.1 Viscosidade e pH

Os resultados apresentados na tabela 6 demonstram os valores da viscosidade e pH das formulações prontas para serem utilizadas no estudo (figura 3).



Figura 3: Esfoliantede argila branca, verde e vermelha

Fonte: Imagens da pesquisa

O Carbopol, quando disperso em água, umecta e forma uma dispersão aquosa (resina/água) com valor de pH na faixa de 2,8-3,2. Neste estado pré-dissolvido a molécula de

Carbopol está extremamente envelada e sua capacidade espessante é limitada. Para obter o espessamento é necessária a neutralização com bases inorgânicas, como hidróxido de sódio ou aminas de baixo peso molecular como, por exemplo, a Trietanolamina, utilizada nesse estudo.

Segundo FERREIRA (2010), a quantidade aproximada de Trietanolamina necessária para neutralizar é a mesma quantidade do Carbopol empregado na formulação. Entretanto, foi adicionado cerca de 13 à 25 gotas. Pois, as três bases formuladas, mesmo contendo a mesma quantidade de matéria prima, apresentaram comportamento de viscosidade distintos. Assim, cada uma recebeu quantidades diferentes de Trietanolamina até atingir parâmetros semelhantes.

O pH da pele é levemente ácido (4,6-5,8), que contribui para que ocorra proteção bacteriana e fungicida na superfície. Entretanto, foi adotado uma faixa de pH neutro (próximo de 7,0) para a formulação desenvolvida, pois é importante que não seja prejudicial ao usuário, já que vai sofrer uma pequena irritação ao utilizar produto esfoliante, diminuindo assim as agressões cutâneas.

Tabela 6: Viscosidade e pH das bases após adição da argila

Amostra	Parâmetros	
	pH	Viscosidade
Esfoliante de argila branca	7,82 ± 0,049	3123,3 ± 40,4
Esfoliante de argila verde	7,83 ± 0,017	3150 ± 50,0
Esfoliantede argila vermelha	7,40 ± 0,038	3333,3 ± 57,7

Fonte: Dados da pesquisa

5.3 Estudo da eficácia

5.3.1 Método da leitura pela microscopia óptica

5.3.1.1 Preparo do material para avaliação histológica

As orelhas de porco e os quadrantes utilizados no trabalho podem ser visualizados nas figuras 4 e 5.



Figura 4: Orelha de porco coletadas após abate no matadouro público
Fonte: Imagens da pesquisa



Figura 5: Quadrante 2 cm² adotado para o estudo.
Fonte: Imagens da pesquisa

Após a aplicação dos sabonetes líquidos desenvolvidos, os cortes foram depositados em solução de formaldeído 10% para fixação em pequenas embalagens plásticas com cores diferentes conforme a divisão em grupos (figura 6).



Figura 6: Cortes em solução de formaldeído 10%

Fonte: Imagens da pesquisa

5.3.1.2 *Leitura das lâminas*

Resultados descritos de acordo com a análise histológica:

- *Tempo 0*

Após a primeira aplicação dos produtos testados, conforme evidenciado na figura 7, a pele tratada com sabonete líquido base para esfoliante apresenta estrato córneo (Ec) da epiderme de aparência uniforme e sem alterações visíveis. A pele tratada com esfoliante de argila branca mostra estrato córneo nas mesmas condições anteriores: aparência uniforme e sem alterações visíveis.

O estrato córneo (Ec) da epiderme tratado com esfoliante Mary Kay evidencia espaçamentos entre os filamentos de queratina. O estrato córneo esfoliado com esfoliante de argila verde exibe leve afastamento entre os filamentos de queratina e o tratado com esfoliante de argila vermelha expõe espaçamentos entre os filamentos de queratina semelhantes ao provocado pelo esfoliante comercial (figura 7).

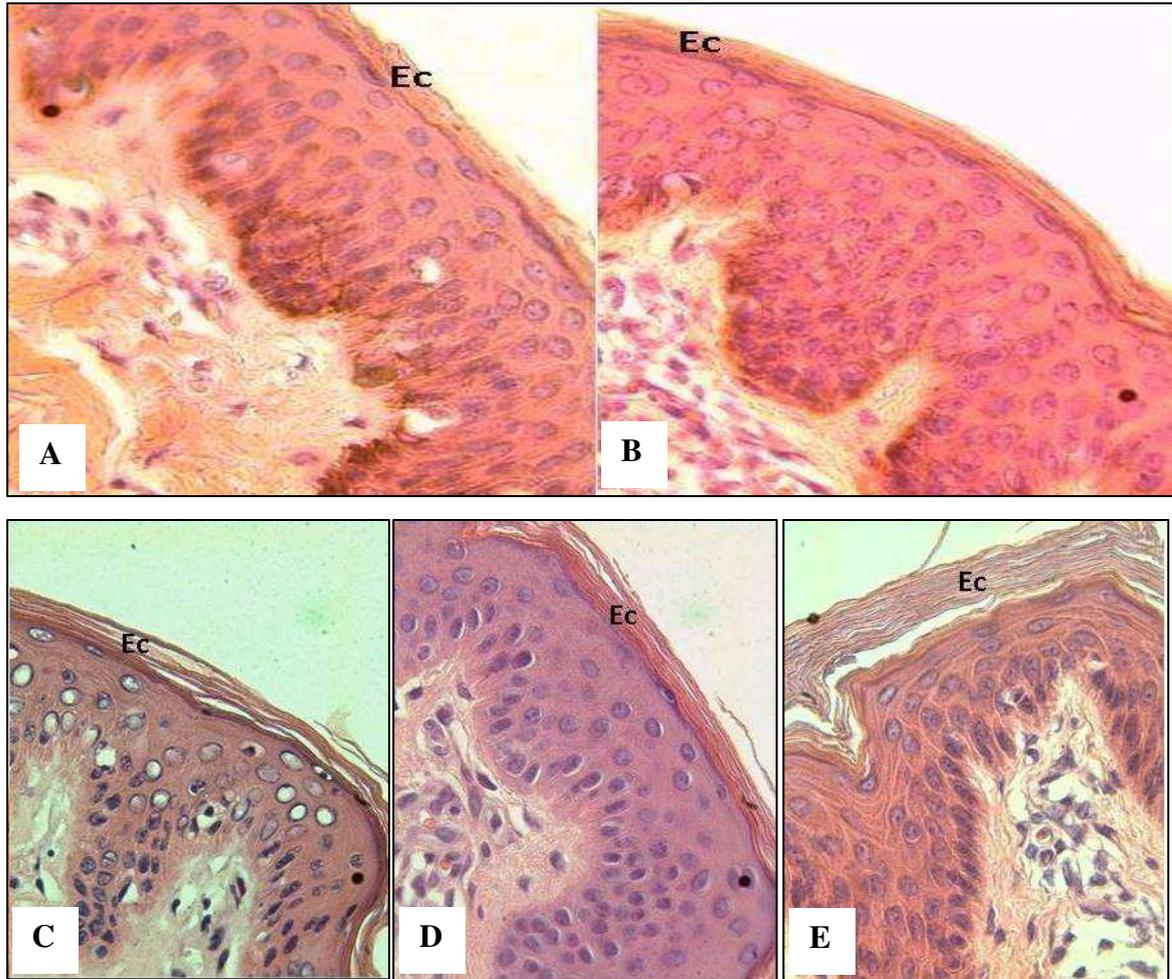


Figura 7: Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE) (Aumento 400X)- tempo 0: **A.** Pele tratada com sabonete líquido placebo; **B.** Pele tratada esfoliante de argila branca; **C.** Pele tratada com esfoliante comercial Mary Kay; **D.** Pele tratada com esfoliante de argila verde; **E.** Pele tratada com esfoliante de argila vermelha

- *Tempo 7 dias*

A figura 8A mostra o estrato córneo (Ec) da epiderme apresentando grandes espaçamentos entre os filamentos de queratina quando aplicado o esfoliante comercial pela segunda vez, no tempo 7. De maneira semelhante, os grandes espaçamentos também podem ser observados após a esfoliação com o esfoliante de argila verde (Figura 8B). Quando o estrato córneo foi tratado com o esfoliante de argila vermelha (Figura 8C), o resultado foi análogo aos anteriores, porém, com áreas mais delgadas (seta).

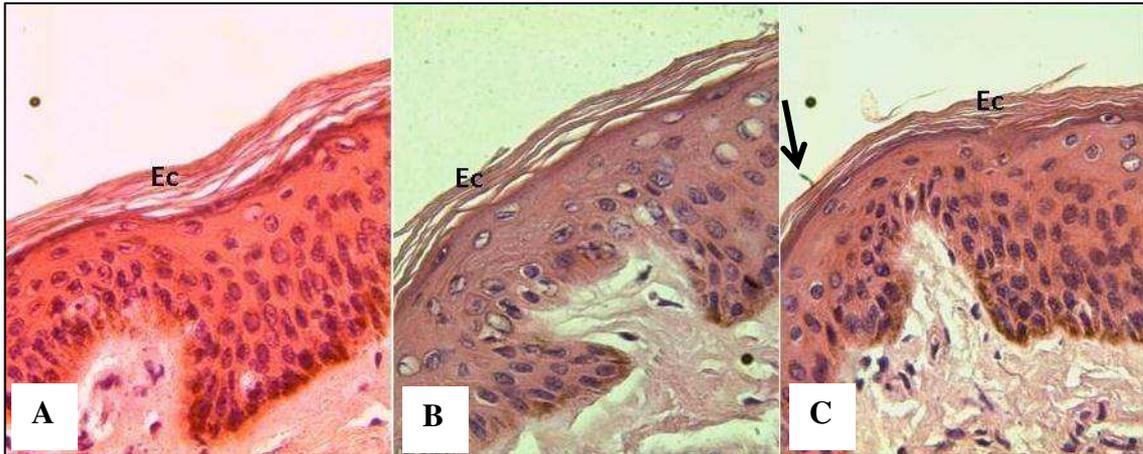


Figura 8: Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE)(Aumento 400X) – tempo 7 dias: **A.** Pele tratada com esfoliante comercial; **B.** Pele tratada com esfoliante de argila verde; **C.** Pele tratada com esfoliante de argila vermelha

- *Tempo 14 dias*

Após a terceira aplicação dos esfoliantes (grupo III – 14 dias), o estrato córneo da epiderme tratada com esfoliante comercial apresentou-se visivelmente delgada e com células ainda nucleadas próximas ao mesmo (figura 9A; seta). A epiderme esfoliada com esfoliante de argila verde exibiu grandes áreas de espaçamentos entre os filamentos de queratina (Figura 9B) e a pele com aplicação do esfoliante de argila vermelha demonstra espaçamentos entre os filamentos de queratina semelhantes ao provocado pelo esfoliante de argila verde (Figura 9C).

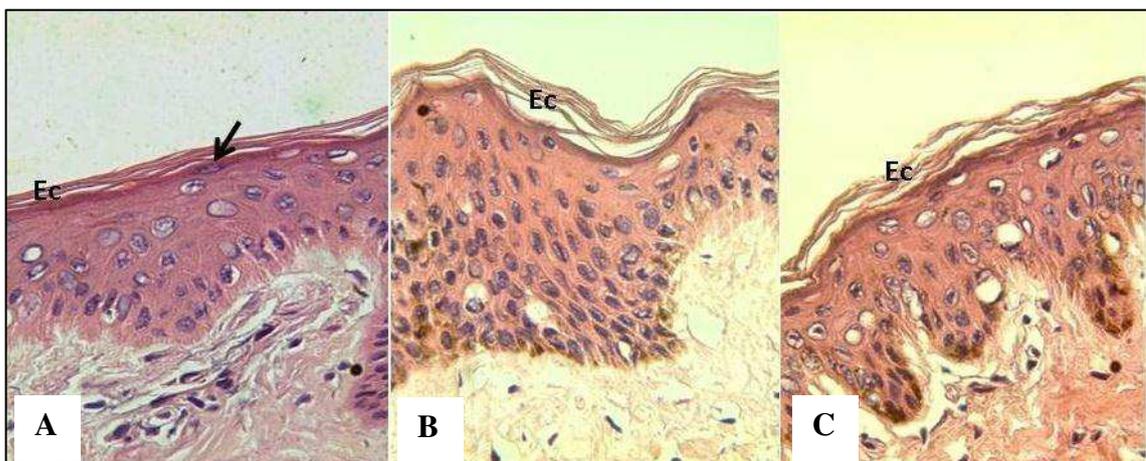


Figura 9: Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE)(Aumento 400X) – tempo 14 dias -**A.** Pele tratada com esfoliante comercial; **B.** Pele tratada com esfoliante de argila verde; **C.** Pele tratada com esfoliante de argila vermelha.

Os resultados evidenciaram uma melhor ação no tempo de 14 dias do esfoliante comercial Mary Kay®, pois acarretou, inicialmente (tempo zero e sete dias), afastamento dos filamentos de queratina e posteriormente, adelgaçamento do estrato córneo. Em comparação com o esfoliante de argila verde no tempo de sete dias, o esfoliante de argila vermelha apresentou espaçamentos mais visíveis e áreas de adelgaçamento no estrato córneo sugerindo uma ação mais esfoliante num período mais curto. No entanto, no tempo de 14 dias, ambas as argilas apresentam efeitos semelhantes.

É importante ressaltar que a pele com base para esfoliante e o esfoliante de argila branca nos tempos zero, 7 e 14 dias não apresentaram alterações visíveis no estrato córneo. Como o sabonete líquido base não apresentava nenhum ativo esfoliante, era esperado que não promovesse nenhuma alteração no estrato córneo, apenas limpeza da região. Já para o esfoliante de argila branca acreditava-se em algum tipo de esfoliação, porém, dados da literatura classificam este tipo de argila como facilitadora da circulação sanguínea e promotora de ação antisséptica, sendo de alta excelência no controle do processo acneico, clareamento e no tônus geral da pele (AMORIM; PIAZZA, 2012), embora muitos produtos comerciais prometam a ação esfoliante, a qual não foi confirmada nesse trabalho.

5.4 Método de quantificação de proteínas totais pelo método de Biureto

A equação da reta utilizada para a análise dos resultados através de estudos de regressão linear, analisando-se as concentrações de proteínas totais e suas respectivas leituras foi: $y = 0,2935x - 0,0086$, onde x é a concentração de proteínas totais em mg.mL^{-1} e y a absorbância do espectro. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9989, indicando uma regressão linear significativa ($p < 0,0001$) e linearidade aceitável na faixa estudada, uma vez que, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser 0,99 (BRASIL, 2003).

Sendo assim, é possível visualizar graficamente na figura 10, a curva padrão de proteínas totais pelo método de Biureto.

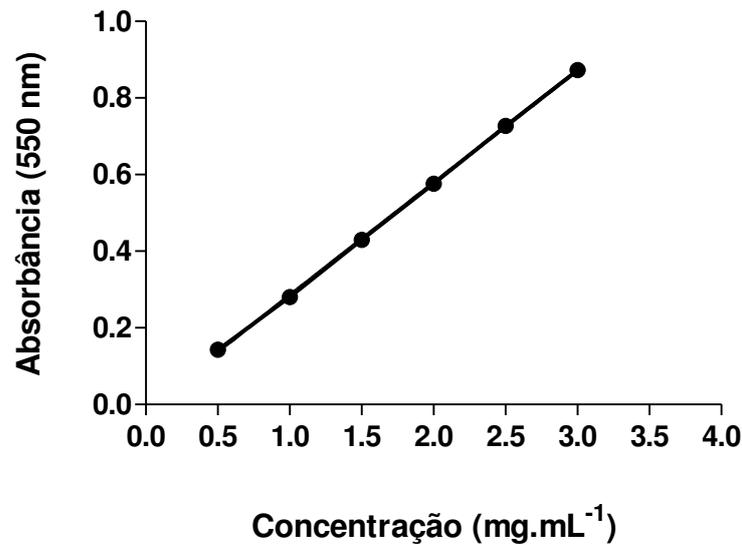


Figura 10: Curva de calibração de proteínas totais pelo método de Biureto a 550 nm

Após obtenção da equação da reta, a perda de proteínas totais dos cortes de orelha de porco antes e depois da esfoliação com os produtos testados, foi calculada e pode ser visualizada na tabela 7. Esses resultados referem-se ao tempo 0.

Tabela 7: Perda de proteínas totais

Cortes (1g)	Proteínas totais	Perda de proteínas
Sem esfoliante	0,91 mg.mL ⁻¹	Branco
Esfoliante Mary Kay®	0,26 mg.mL ⁻¹	72%
Esfoliante placebo	0,57 mg.mL ⁻¹	37,4%
Esfoliante de argila branca	0,57 mg.mL ⁻¹	37,4%
Esfoliantede argila verde	0,33 mg.mL ⁻¹	63,7%
Esfoliante de argila vermelha	0,30 mg.mL ⁻¹	67,0%

Fonte: Dados da pesquisa

O corte de orelha sem esfoliação representa 100% de proteínas totais, ou seja, para cada 1 g de massa de orelha 0,91 mg.mL⁻¹ é referente as proteínas presentes. Quando um corte de mesma massa foi esfoliado com o esfoliante comercial Mary Kay, ocorreu uma perda significativa de proteínas totais (72%), bem como com o esfoliante de argila verde (63,7%) e de argila vermelha (67,0%). Esses resultados são condizentes com a análise histológica que demonstrou uma eficácia semelhante entre os esfoliantes citados, evidenciado por modificações na camada de queratina presente no estrato córneo. Os cortes esfoliados com a base para sabonete líquido (placebo) e esfoliante de argila branca apresentaram uma perda

menos significativa em relação aos demais (37,4%), que pode ser oriunda da ação de limpeza e não de esfoliação, conforme resultados também confirmados pela histologia, nos quais, não houve nenhuma agitação na camada de queratina do estrato córneo da pele.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados no trabalho, concluiu-se que:

- Os controles de qualidade das argilas permitiram escolher a granulometria mais apropriada para a inclusão nos sabonetes líquidos e conhecer o teor de umidade e cinzas das amostras;
- Durante o desenvolvimento dos sabonetes líquidos, os problemas de sedimentação das argilas e viscosidade dos produtos foram solucionados com sepigel®;
- Os sabonetes líquidos formulados apresentaram pH e viscosidade satisfatórias;
- O método através da análise histológica dos cortes de orelha de porco mostrou-se adequado para a avaliação da eficácia esfoliante testados.
- O estudo de eficácia dos esfoliantes revelou que o produto comercial adotado nesse estudo apresentou melhor ação esfoliante em todos os tempos estudados. Em comparação com a argila verde no tempo de 7 dias, a argila vermelha apresentou espaçamentos mais visíveis e áreas de adelgaçamento no estrato córneo sugerindo uma ação mais esfoliante num período mais curto. No entanto, no tempo de 14 dias, ambas as argilas apresentam efeitos semelhantes. A argila branca não apresentou ação esfoliante, pois o sabonete líquido não promoveu nenhuma alteração do estrato córneo.
- As proteínas totais dos cortes de orelha de porco foram quantificadas em espectrofotometria pelo método de Biureto e a perda de proteínas após a esfoliação pode ser determinada. O esfoliante comercial promoveu uma perda de 72% de proteínas totais semelhante à dos esfoliantes de argila verde e vermelha 63,7 e 67,0%, respectivamente, resultados condizentes com o método de eficácia histológico, no tempo 0. O esfoliante de argila branca e a base para sabonete líquido resultaram em perdas idênticas de proteínas totais (37,4%), que podem ser atribuídas a limpeza do local, uma vez que, na análise histológica, não promoveram nenhuma alteração no estrato córneo da epiderme.

Os esfoliantes de argila verde e vermelha apresentaram esfoliação semelhante ao produto comercial de marca de qualidade reconhecida. Portanto, podem ser utilizados para a finalidade proposta em substituição a outros produtos comerciais, pois além de serem comprovadamente eficazes, os esfoliantes de argila verde e vermelha são classificados como cosméticos verde, apresentando, assim, alto valor agregado.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, Monthana Imai de; PIAZZA, Fátima Cecília Poletto. Uso das argilas na estética facial e corporal. 13p. **Pesquisa (pós-graduação)**. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí-SC, 2012.
- BARBA, Juliane; RIBEIRO, Elisiê Rossi. Efeito da Microdermoabrasão no envelhecimento facial. **Revista Inspirar**, v. 1, n. 1, p. 6-9, 2009.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 4**, de 30 de janeiro de 2014. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 20/02/2014.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira, 5. ed. - volume 1 - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 524 p. 2010.
- BENY, Mariana G. Fisiologia da Pele. **Cosmetics&Toiletries**, v. 12, n. 2, p. 44-50, 2000.
- BENY, Mariana G. Histologia e Fisiologia da pele. **Cosmetics&Toiletries**, v. 25, n. 2, p. 34-40, 2013.
- BOUDRY, Isabelle; et. al. Percutaneous penetration and absorption of parathion using human and pig skin models in vitro and human skin grafted onto nude mouse skin model in vivo. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n. 5, p. 645-657, 2008.
- CAREGNATTO, Bianca Daniele; GARCIA, Giselle Albino; FRANÇA, Ana Júlia Von Borell Du Vernay. **Estudo comparativo entre esfoliante químico e enzimático no processo de esfoliação facial**. 22p. Projeto (Iniciação Científica). Universidade do Vale do Itajaí-UNIVALI, Curso superior de Tecnologia em Cosmetologia Estética, campus Balneário Camboriú - SC, 2011.
- CASTRO, Selma Simões. Micromorfologia de solos: Bases para descrição de lâminas delgadas. **UNICAMP/UFG**. Campinas/Goiânia: fevereiro/2008.
- COELHO, Antônio C. Vieira; SANTOS, Pêrsio de Souza. Argilas especiais: o que são, caracterização e propriedades. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 146-152, 2007.

COOPER, Miguel. Física do Solo: Granulometria e textura do solo. **USP**. Disponível em: <http://disciplinas.stoa.usp.br>; Acesso em: 19/07/2014.

DÁRIO, Giordana Maciel. **Avaliação cicatrizante de formulação contendo argila medicinal sobre feridas cutâneas em ratos**. Trabalho acadêmico de (pós graduação) - Universidade do Extremo Sul Catarinense. Criciúma, 2008.

ESPAÇO EMPRESARIAL. Vigora em SP lei que proíbe testes em animais. **Cosmetics&Toiletries**, v. 26, n. 1, p. 10, 2014.

EVELINE, Cláudia. Máscaras: as estrelas na cosmetologia. **Bel Col**, São Paulo, n. 52, p. 22-24, 2010.

FARIA, Andreia Bonuzzi de.; et al. Desenvolvimento e avaliação de produtos cosméticos para higiene capilar contendo tensoativos “não-sulfatados”. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, ed. 4º, v. 33, p 521-527.

FERNANDES, Adriana Isabel Palhares. **Cuidados dermocosméticos para uma pele saudável: aconselhamento farmacêuticos casos mais comuns**. 124p. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade do Algarve - Faculdade de Ciências e Tecnologia. Portugal, 2012.

FERREIRA, Anderson de Oliveira. Guia Prático de Farmácia Magistral. **Pharma Books**, ed. 4º, v. 1, c. 6, p 302, 2010.

GARCIA, Carla Cristina, et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de melaleuca. **Rev. Bras. Farm.**, ed. 90, v. 3, p. 236-240, 2009.

GENNARO, Alfonso R.; et al. Remington - A ciência e a prática da farmácia. **Guanabara Koogan**, ed. 20, p. 330. Rio de Janeiro, 2000.

GODIN, Biana; TOUITOU, Elka. Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 1152-1161, 2007.

GUERRA, Fernando Marcos Rosa Maia. et al. Aplicabilidade dos *peelings* químicos em tratamentos faciais – Estudo de revisão. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research - BJSCR**, v. 4, n. 3, p. 33-36, Set-Nov, 2013.

KOS, Jeanny Franciela; ARIZA, Deborah; SIMÕES, Naudimar Di Pietro. **Utilização do questionário de Baumann para classificação de tipos de pele na cidade de Ivaí-PR**. 32p. Trabalho de Conclusão (Pós Graduação Fisioterapia Dermato Funcional). Universidade Estadual do Norte do Paraná - Instituto Brasileiro de Therapias e Ensino. Curitiba, 2010.

LUZ, Adão Benvindo; ALMEIDA, Salvador Luiz M. Argila - Atapulgita e Sepiolita. **Rochas e Minerais Industriais/CETEM**, ed. 2º, c. 10, p. 233-238. Rio de Janeiro, 2008.

LUZ, Adão Benvindo da. et al. Argila - Caulim. **Rochas e Minerais Industriais/CETEM**, ed. 2º, c. 12, p. 255-294. Rio de Janeiro, 2008.

MOLINARO, Etelcia Moraes. et al. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde, v. 2, **EPSJV; IOC**. Rio de Janeiro, 2010.

MONTANARI, Tatiana. Histologia: Texto, atlas e roteiro de aulas práticas [recurso eletrônico]. **Ed. do Autor**, 2.ed.- Porto Alegre, 2013.

PENA-FERREIRA, Maria Rosa; et al. Desenvolvimento de formulações contendo argila esmectítica e areia carbonatada biogênica da ilha Porto Santo para aplicação em máscaras de limpeza e branqueadoras. **Anales de Hidrología Médica**, v. 4, p. 57-66. Porto-Potugal, 2009.

PEREIRA, Kleber R. de O.; RODRIGUES, Meyre G. F.; VALENZUELA DIAZ, Francisco Rolando. Síntese e caracterização de argilas organofílicas: comparação no uso de dois métodos. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2, n. 2, p 01-08, 2007.

POLITI, Flávio Augusto Sanches. **Estudos Farmacognósticos e avaliação de atividades biológicas de extratos obtidos das cascas pulverizadas de *Endopleurauchi* (HUBER) CUATREC. (HUMIRIACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 144p. Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Araraquara- São Paulo, 2009.

SANTOS, P. Souza; et al. Argilas e Argilominerais em produtos cosméticos: Caulim. **Cosmetics&Toiletries**, v. 21, nº. 6, p. 46-52, 2009.

SARTORELLI, P. et al. Percutaneous penetration studies for risk assessment. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 8, p. 133-152, 2000.

SEKKAT, Nabila, KALIA, Yogeshvar N.; GUY, Richard. Biophysical study of porcine ear skin *In Vitro* and its comparasion to human skin *In Vivo*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n°. 11, p. 2376-2381, 2002.

SILVA, Joana Sofia Dantas Leite Silva. **Aplicação Dermocsmética de Geoprodutos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 55p. Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde. Porto-Portugal, 2011.

SILVA, Luna Clara dos Santos; ALVES, Tatianny Soares; BARBOSA, Renata. Utilização de argilas do piauí no desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos com matrizes termofixas. **XX Seminário de Iniciação Científica e III seminário em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação**, p. 1-3 , 2011. Disponível em: <<http://www.ufpi.br/20sic/Documentos/RESUMOS/Modalidade/Exatas>> Acesso em: 23/07/2014.

SILVA, Rogério. Almiro Oliveira. et al. Argilas na cosmetologia: prospecção tecnológica baseada em patentes e artigos. **Revista GEINTEC**, v. 2, n. 2, p. 174-186, 2012.

SILVA, Rogério. Almiro Oliveira. et al. Potencial tecnológico das argilas na cosmetologia. **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 3, p. 267-274, 2013.

SOCIEDADE Brasileira de Cirurgia Dermatológica (SBCD) - **Fisiologia da Pele**. Disponível em: <http://www.sbcd.org.br/pagina/1615>. Acesso em: 19/04/2014.

SOCIEDADE Brasileira de Cirurgia Dermatológica (SBCD) - **Tipos de Pele**. Disponível em: <http://www.sbcd.org.br/pagina/1586>. Acesso em: 19/04/2014.

TEIXEIRA-NETO, Érico; TEIXEIRA-NETO, Ângela Albuquerque. Modificação química de argilas: desafios científicos e tecnológicos para obtenção de novos produtos com maior valor agregado. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 809-817, 2009.

VALENZUELA, Maria das Graças da Silva; CASSAROTTE, Ana Rachel Bernardes et al. **Caracterização de argilas funcionais para cosméticos**. Trabalho acadêmico (graduação) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

VALENTI, Dinalva M. Zanesco. et al. Avaliação da histoquímica do colágeno no tecido cutâneo após a utilização tópica de argilas em ratos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano 8, n° 23. Janeiro/Março 2010.

VELASCO, Maria Valéria Robles. et al. Rejuvenescimento da pele por *peeling* químico: enfoque no *peeling* de fenol. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 79, n. 1, p. 91-99. Rio de Janeiro, jan./fev, 2004.

ZAGUE, Vivian. et al. Argilas: Natureza nas máscaras faciais. **Cosmetics&Toiletries**, v. 19, n. 4, p. 64-66, 2007.

ZAIA, Dimas A. M.; ZAIA, Cássia Thaís B. V.; LICHTIG, Jaim. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova**, v. 6, n. 21, p. 787-792, 1998.