UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico

Fernanda Frota de Andrade

Ribeirão Preto
2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientada: Fernanda Frota de Andrade

Orientador: Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho

Ribeirão Preto

2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Andrade, Fernanda Frota

Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico. Ribeirão Preto, 2008.

115 p. : il. ; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Rocha Filho, Pedro Alves da.

1. Cristal líquido. 2. Emulsão. 3. Óleo de andiroba. 4. Atividade cosmética. 5. Avaliação sensorial. 6. Propriedades físico-químicas

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernanda Frota de Andrade

Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____Assinatura:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____Assinatura:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____Assinatura:_____

Dedicatórias

Dedico esta dissertação as pessoas mais importantes da minha vida: aos meus pais, Dorival e Maria do Carmo, e aos meus irmãos Marcos Paulo e Lissandra pelo incentivo, apoio incondicional e por permitir que tudo isso fosse possível.

Ao meu noivo Rafael, pelo companheirismo, paciência, amor, e por ter sido meu grande incentivador na busca desse sonho. Sem seu apoio essa jornada certamente teria sido muito mais difícil.

"O tempo não volta atrás, portanto, plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe mande flores"

Willian Shakespeare

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pela proteção, força e paz interior, que me encorajaram nos momentos em que tudo parecia impossível e infindáveis, e ainda nos períodos solitários, dando-me certeza de que eu não estava só.

Ao meu querido amigo e orientador, **Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho**, por ter me recebido e aberto a porta de seu laboratório com tanto carinho, paciência e amizade; pela sua meticulosa orientação que foi de grande valia durante todo o desenvolvimento desse trabalho e pelos ensinamentos que tanto me fizeram crescer, profissionalmente e pessoalmente, os quais certamente irão me acompanhar daqui pra frente.

Aos meus amigos de laboratório: **Daniela**, **Gilsane** e **Jacqueline** por tudo o que vocês me ensinaram dando a oportunidade de acompanhar e ajudar em parte do desenvolvimento de seus trabalhos e pela amizade; **Bianca**, **Kauê**, **Maria Fernanda**, e **Mônica** pela amizade sincera, apoio, por terem dividido comigo suas experiências, pelas boas risadas nos momentos de cansaço, nos cafezinhos e nas pizzas, pelas discussões informais sobre nosso trabalho que muito contribuíram para meu crescimento científico; **Anne**, **Ana Paula, Mateus** e **Raquel**, estagiários e amigos do laboratório, meu muito obrigada pela ajuda; **Cinthia** que considero uma irmã e a quem serei eternamente grata pela amizade, companheirismo, conselhos, pelos debates científicos até altas horas, pela troca de experiências, pela força nos momentos mais difíceis dessa jornada que só você sabe o que passei para estar aqui hoje; **Gabriela** que em pouco tempo tornou-se uma grande amiga agradeço por ter estado presente na reta final desse trabalho me apoiando e me escutando sempre; **“Land”** a quem não tenho palavras para agradecer todo ensinamento fornecido com tanta humildade, carinho e paciência, e por toda a “co-orientação” que recebi mesmo já não estando presente em nosso laboratório. Em fim, a todos vocês meus amigos, agradeço do fundo do meu coração por tudo, principalmente pela amizade que carregarei comigo sempre! *Vocês são de mais...!*

Aos amigos do Cel Lep®: **Cinthia**, **Cláudia**, **Carol**, **Bob**, **Rogério**, **Guilhermo**, **Maiana**, **Nilva**, **Virgínia**, **Ana Carolina**, **Cleber** e **Caio** por todos esses anos de amizade, descontração e aprendizado, saibam que as aulas de inglês não será mais a mesma sem vocês.

Aos funcionários da FCFRP/USP em especial aos técnicos: **Eduardo, Toninho, Franklin** e **Zé Maria** pelo apoio, cooperação e amizade.

Ao **Prof. Dr. Wanderley Pereira de Oliveira**, da FCFRP/USP, por disponibilizar seu laboratório para a realização do estudo do comportamento reológico e discussão dos resultados deste trabalho.

As funcionarias da SPG (Secretaria de Pós-Graduação) **Rosana, Ana Lúcia, Eleni** e **Carlos** pelo auxilio sempre que solicitado.

Aos membros das bancas de qualificação de mestrado pela valiosa contribuição e colaboração para que esse trabalho de pesquisa fosse realizado com êxito.

As empresas Croda do Brasil e Dow Corning® que gentilmente forneceram matérias-primas para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos docentes do Departamento de Ciências Farmacêuticas da FCFRP/USP, pelo conhecimento científico adquirido.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta fase da minha vida e contribuíram para a concretização deste trabalho, cujos nomes não figuram neste texto, mas estão presentes na memória e principalmente no coração!

Muito Obrigada!!!

Resumo

RESUMO

ANDRADE, F. F. **Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A a base de óleo de andiroba e éster fosfórico.** 2008. 115f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Nesta pesquisa emulsões O/A contendo cristais líquidos (CL) foram desenvolvidas a partir da técnica do diagrama ternário, utilizando óleo de andiroba e uma base auto-emulsionante aniônica constituída de éster fosfórico (Crodafos CES®), como sistema tensoativo. Foram obtidas dispersões com diferentes aspectos, classificadas como instáveis, cerosa e emulsões estáveis. A formulação constituída de 10,0 % óleo de andiroba, 10,0 % Crodafos CES® e 80,0 % de água foi selecionada para dar seqüência a pesquisa, devido a estabilidade e viscosidade aparente adequadas. Devido a aeração, foi adicionado à formulação o silicone *PEG-12 Dimethicone* e para analisar a influência desse silicone na formação de cristais líquidos das emulsões, desenvolvemos um diagrama ternário contendo *PEG-12 Dimethicone*, Crodafos CES® e água onde as emulsões apresentaram melhor fluidez. À formulação com óleo de andiroba selecionada foi adicionada concentrações crescentes de silicone para avaliação da interação deste com o produto obtido. Foram utilizados como parâmetros para a avaliação os testes preliminares de estabilidade, teste de estabilidade acelerada (TEA), comportamento reológico e valores de potencial zeta. Em seguida, estudou-se o comportamento das emulsões durante a evaporação utilizando-se diagrama de fases e testes de evaporação. Três formulações foram submetidas ao estudo de avaliação da atividade cosmética *in vivo*. Para isto foram empregadas as formulações com CL, e avaliadas a influência sobre os parâmetros de hidratação, oleosidade e pH cutâneos, e também avaliação sensorial. Os resultados sugeriram uma correlação entre ambos os diagramas, onde a taxa de componentes das formulações que apresentaram CL foi similar especialmente associado à concentração de Crodafos CES® sugerindo que o silicone foi efetivo na diminuição da viscosidade das emulsões. Todas as emulsões apresentaram-se estáveis nos testes de estabilidade e foram classificadas como fluido pseudo-plástico e tixotrópicos, características estas relacionadas a formação de CL do tipo lamelar. Durante a evaporação das emulsões houve a manutenção dos CL, porém seu tipo variou em função da diminuição de água no sistema demonstrando a transição de fases dependente da concentração do solvente. Através dos testes *in vivo*, as emulsões de óleo de andiroba contendo CL promoveram a hidratação da pele independente da adição do silicone, de acordo com o teste de hidratação em curto prazo; não alteraram estatisticamente a oleosidade cutânea, não deixando assim a pele com aspecto gorduroso; alteraram os valores de pH cutâneo devido ao baixo valor encontrado nas emulsões, porém sem provocar nenhum tipo de irritação à pele; e na avaliação sensorial, a formulação sem silicone foi a melhor aceita.

Palavras-chave: Cristal líquido; emulsão; óleo de andiroba; atividade cosmética; avaliação sensorial; propriedades físico-químicas.

Abstract

ABSTRACT

ANDRADE, F. F. **Development and evaluation of Liquid Crystals obtained in O/W emulsions based on andiroba oil and phosphoric ester.** 2008. 115f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

In this researche, O/W emulsions containing liquid crystals were developed using the phase diagram technique, employing andiroba oil and a cripto-anionic self-emulsifying base constituted of phosphoric ester (Crodafos CES®), as surfactant system. Dispersions were obtained with different aspects, being classified as unstable, with wax aspect and stable emulsions. The formulation constituted of 10% andiroba oil, 10% Crodafos CES® and 80% water was selected due stability and appropriated apparent viscosity, to give sequence this research. Trying to improve the macroscopic characteristics, reducing the aeration and viscosity, the silicon PEG-12 Dimethicone was added to the formulation. To analyze the influence of that silicon in the formation of liquid crystals on emulsions, a ternary phase diagram was developed containing PEG-12 Dimethicone, Crodafos CES® and water. The results were similar with that obtained with the andiroba oil; however the emulsion with silicon presented better fluidity. In selected formulation was an added growing concentrations of silicon in order to evaluate their interaction in the final product. Preliminary and accelerate stability tests, rheological behavior, values of zeta potential were used as evaluation parameters. Afterwards, it was studied the behavior of the emulsions during evaporation, being used phase diagrams and evaporation test. Three formulations were submitted to the study of cosmetic activity *in vivo*. For this evaluation the formulations with liquid crystal, with or without silicon, parameters, such as hydration, oiliness and cutaneous pH values, and also sensorial evaluation, were used. Results suggested a correlation between both diagrams, where the rate of components of the formulations that presented lamellar liquid crystalline phases was similar, especially associated with Crodafos CES® concentration. It suggests that silicon used in the study was effective in decreasing the viscosity of the emulsions, also maintaining the formation of lamellar phases when compared to formulations of the diagram containing andiroba oil. All the emulsions were stable in the stability tests and they were classified as pseudoplastic fluid and tixotropic, characteristic these related the formation of liquid crystalline phases of the type lamellar. During evaporation of the emulsions, liquid crystals were maintained, however their type varied in function of the decreasing of water rate in system, demonstrating that phase transition is dependent to solvent concentration. Through the *in vivo* test, emulsions with andiroba oil containing liquid crystal promoted skin hydration independently of the silicon addition, according to hydration test in a short period (kinetic test); the emulsions did not changed cutaneous oiliness, not leaving skin with greasy aspect; they altered cutaneous pH values due low value found in emulsions, however any irritation was showed in the skin; and in the sensorial evaluation, the formulation without addition of the silicon was better accepted by the volunteers.

Keywords: Liquid crystal, emulsion, andiroba oil, cosmetic activity; sensorial evaluation; physical-chemical properties.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema das diversas camadas da pele. 07
Figura 2: Esquema da renovação celular. (1) camada basal; (2) camada espinhosa; (3) Camada granular; e (4) camada córnea. 09
Figura 3: Diferentes estágios da desestabilização de emulsões 16
Figura 4: Representação esquemática das mesofases cristalinas liotrópicas: (A) fase lamelar, (B) fase hexagonal, e (C) fase cúbica. 18
Figura 5: Estrutura do Poli(dimetilsiloxano) 23
Figura 6: Esquema do diagrama ternário de fases..... 31
Figura 7: Diagrama de fases da evaporação de água da emulsão. 38
Figura 8: Lâmina para aplicação das emulsões do teste de evaporação..... 39
Figura 9: Locais demarcados para a aplicação das amostras do teste de atividade cosmética *in vivo*..... 40
Figura 10: Esquema do diagrama de fases 1 contendo óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada; onde: SF = separação de fases; AC = aspecto de cera; CL = cristal líquido; ● = emulsão escolhida..... 46
Figura 11: Diagrama de fases 2 contendo *PEG-12 Dimethicone* (Fluid 193®), Crodafos CES® e água destilada, onde: SF = separação de fases; AC = aspecto de cera; CL = cristal líquido; ● = emulsão escolhida 46
Figura 12: Fotomicrografias com e sem luz polarizada (campos A e B respectivamente) das formulações após 24 horas (aumento 200x). 51
Figura 13: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações após 24 horas (campos A) e após 150 dias (campos B) (aumento 200x)..... 52
Figura 14: Valores dos índices de fluxo e consistência (cP). 54
Figura 15: Perfil reológico da emulsão AndC (curva superior ▲▼) e da emulsão AndCS5 (curva inferior ■ ●) após 24 horas. 54
Figura 16: Valores do potencial zeta. 56
Figura 17: Esquema explicativo dos valores de potencial zeta em uma emulsão do tipo O/A contendo cristal líquido do tipo lamelar (CLL), onde: 1= estrutura CLL, 2 = fase aquosa externa contendo íons, 3 = fase aquosa interna entre a estrutura de CLL e o glóbulo de óleo; 4 = glóbulo de óleo; ↷ = transporte dos íons da região de água livre externa para região aquosa interna ao redor dos glóbulos 57

Figura 18: Fotomicrografias sob luz polarizada da formulação AndC após 7, 15 e 30 dias em temperatura ambiente (campos A, B e C respectivamente), em geladeira (campos D, E e F respectivamente) e em estufa (campos G, H e I respectivamente) (aumento 200x). 65
Figura 19: Fotomicrografias sob luz polarizada da formulação AndCS1 após 7, 15 e 30 dias em temperatura ambiente (campos A, B e C respectivamente), em geladeira (campos D, E e F respectivamente) e em estufa (campos G, H e I respectivamente) (aumento 200x). 66
Figura 20: Fotomicrografias sob luz polarizada da formulação AndCS5 após 7, 15 e 30 dias em temperatura ambiente (campos A, B e C respectivamente), em geladeira (campos D, E e F respectivamente) e em estufa (campos G, H e I respectivamente) (aumento 200x). 67
Figura 21: Reograma da formulação AndC durante armazenagem em temperatura ambiente (TA). 70
Figura 22: Reograma da formulação AndC durante armazenagem em geladeira (GEL). 70
Figura 23: Reograma da formulação AndC durante armazenagem em estufa (EST). 70
Figura 24: Reograma da formulação AndCS1 durante armazenagem em temperatura ambiente (TA). 70
Figura 25: Reograma da formulação AndCS1 durante armazenagem em geladeira (GEL). 70
Figura 26: Reograma da formulação AndCS1 durante armazenagem em estufa (EST). 70
Figura 27: Reograma da formulação AndCS5 durante armazenagem em temperatura ambiente (TA). 71
Figura 28: Reograma da formulação AndCS5 durante armazenagem em geladeira (GEL). 71
Figura 29: Reograma da formulação AndCS5 durante armazenagem em estufa (EST). 71
Figura 30: Reograma das formulações durante ciclo gela-degela (CGD). 71

Figura 31: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 antes do processo de evaporação (campos A, B e C respectivamente), e após 20,0 % (p/p) de evaporação (campos D, E e F respectivamente). 79
Figura 32: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 após 40,0 % (p/p) de evaporação (campos A, B e C respectivamente), e após 60,0 % (p/p) de evaporação (campos D, E e F respectivamente). 80
Figura 33: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 após 80,0 % (p/p) de evaporação (campos A, B e C respectivamente). 81
Figura 34: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 90,0 e 80,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 89,0 e 79,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 85,0 e 75,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação. 86
Figura 35: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 70,0 e 60,0% de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 68,5 e 58,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 64,5 e 54,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação. 87
Figura 36: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 50,0 e 40,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 47,5 e 37,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 43,5 e 33,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação. 88
Figura 37: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 30,0 e 20,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 26,5 e 16,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 22,5 e 12,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação. 89

Figura 38: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 10,0 e 0,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 5,5 e 0,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 1,5 e 0,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação..... 90
Figura 39: Gráfico da hidratação da pele através das voluntárias de acordo com o tratamento. 92
Figura 40: Gráfico da oleosidade cutânea das voluntárias de acordo com o tratamento. 94
Figura 41: Gráfico dos valores de pH cutâneo das voluntárias de acordo com o tratamento. 95
Figura 42: Avaliação sensorial das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5..... 97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Limite de especificações da matéria-prima óleo de andiroba, proveniente do informe técnico fornecido Croda do Brasil. 28
Tabela 2: Limite de especificações da matéria-prima Crodafos CES®, proveniente do informe técnico fornecido Croda do Brasil. 29
Tabela 3: Limite de especificações da matéria-prima Fluid 193®, proveniente do informe técnico fornecido Dow Corning®. 30
Tabela 4: Composição das formulações adicionadas ou não de silicone. 31
Tabela 5: Concentração das emulsões manipuladas para o teste de evaporação..... 38
Tabela 6: Variação da concentração dos componentes da região CL dos diagramas ternários 1 e 2. 47
Tabela 7: Composição das formulações adicionadas ou não de silicone. 48
Tabela 8: Resultados dos testes preliminares de estabilidade das emulsões. 50
Tabela 9: Valores de pH após 24 horas, 7, 15 e 30 dias, e ciclo gela-degela. 61
Tabela 10: Estresse térmico após 24 horas, 7, 15 e 30 dias, e ciclo gela-degela. 63
Tabela 11: Resultados do teste de comportamento reológico das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5. 73
Tabela 12: Valores do potencial zeta..... 76
Tabela 13: Testes preliminares das formulações obtidas pelo diagrama de evaporação..... 84

LISTA DE ABREVIATURAS

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
UV	Ultra Violeta
EC	Estrato córneo
O/A	Óleo em água
A/O	Água em óleo
EO	Polioxietileno
CTFA	Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
EPI	Emulsion Phase Inversion
G	Gravidade
SF	Separação de fases
CL	Cristal líquido
AC	Aspecto de cera
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
N	Normal
LM	Levemente modificado
M	Modificado
UR	Umidade relativa
T	Temperatura
AndC	Amostra composta por óleo de andiroba e Crodafos CES® e água destilada
AndCS1	Amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES® e 1,0 % de silicone
AndCS2	Amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 2,0 % de silicone
AndCS3	Amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 3,0 % de silicone
AndCS4	Amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 4,0 % de silicone
AndCS5	Amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 5,0 % de silicone
TEA	Testes de Estabilidade Acelerada

UA	Unidade arbitrária
TA	Temperatura ambiente
GEL	Geladeira
EST	Estufa
CGD	Ciclo gela-degela
CLL	Cristal líquido lamelar

Sumário

SUMÁRIO

Resumo i
Abstract ii
Lista de figuras iii
Lista de tabelas vii
Lista de abreviaturas viii

1. INTRODUÇÃO 02

2. REVISÃO DA LITERATURA 06
2.1 Pele 06
2.1.1 Epiderme 07
2.1.2 Derme 09
2.1.3 Hipoderme 11
2.2 Pele e produtos cosméticos 11
2.3 Emulsões 13
2.4 Cristais líquidos 17
2.5 Óleo de andiroba 21
2.6 Silicone 22

3. OBJETIVOS 26
3.1 Objetivos gerais 26
3.2 Objetivos específicos 26

4. MATERIAL E MÉTODOS 28
4.1 MATERIAL 28
4.1.1 Fase oleosa 28
4.1.2 Tensoativos 28
4.1.3 Fase aquosa 29
4.1.4 Aditivo 29
4.2 MÉTODOS 30
4.2.1 Desenvolvimento da emulsão 30
4.2.1.1 Obtenção da emulsão 30

4.2.1.2 Determinação das concentrações de fase oleosa/ aquosa/ tensoativos através do diagrama ternário de fases 30
4.2.1.3 Incorporação do aditivo 31
4.2.1.4 Análise macroscópica das formulações 32
4.2.1.5 Análise microscópica das formulações 32
4.2.1.6. Determinação do tipo de emulsão 32
4.2.1.7 Testes preliminares de estabilidade da emulsão 33
4.2.1.7.1 Teste de centrifugação 33
4.2.1.7.2 Estresse térmico 34
4.2.1.8 Determinação do valor de Ph 34
4.2.1.9 Determinação da condutividade elétrica 34
4.2.1.10 Determinação da viscosidade e comportamento reológico 35
4.2.1.11 Determinação do potencial zeta 35
4.2.1.12 Testes de estabilidade acelerada (TEA) 36
4.2.1.13 Estudo da alteração das fases líquido-cristalinas durante a evaporação da emulsão 37
4.2.1.13.1 Diagrama de fases 37
4.2.1.13.2 Teste de evaporação 38
4.2.2 Avaliação in vivo da hidratação, oleosidade e valor de pH cutâneo 39
4.2.2.1 Teste de atividade hidratante 41
4.2.2.2 Determinação da oleosidade cutânea 42
4.2.2.3 Teste do valor de pH cutâneo 42
4.2.2.4 Avaliação sensorial 43
4.2.2.5 Análise estatística dos resultados 43

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
5.1 Determinações das concentrações de fases oleosa/ aquosa/ tensoativo através do diagrama ternário 45
5.2 Testes de estabilidade preliminar 48
5.2.1 Identificação das fases mesomórficas 50
5.2.2 Determinação do comportamento reológico das amostras após 24 horas, 15 e 150 dias 53
5.2.3 Determinação do potencial zeta 55
5.3 Testes de estabilidade acelerada (TEA) 58

5.3.1 Testes de caracterização (valor de pH, estresse térmico, centrifugação e microscopia) 59
A – Avaliação do pH 59
B – Estresse térmico 61
C – Centrifugação 63
D – Avaliação microscópica 64
5.3.2 Teste do comportamento reológico após 24 horas, 7, 15 e 30 dias 68
5.3.3 Potencial Zeta após 24 horas, 7, 15 e 30 dias 74
5.3.4 Teste de evaporação 77
5.3.5 Diagrama de evaporação 81
5.4 Avaliação in vivo da hidratação, oleosidade e valor de pH cutâneo 91
5.4.1 Teste de atividade hidratante 91
5.4.2 Teste de oleosidade cutânea 93
5.4.3 Teste dos valores de pH cutâneo 94
5.4.4 Avaliação sensorial 95

6. CONCLUSÕES 99

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA 102

APÊNDICES

ANEXOS

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A combinação entre o desejo do consumidor e o desenvolvimento das tecnologias cosmética e farmacêutica acarretou no surgimento de novos sistemas com propriedades específicas e capazes de veicular ativos com perfil diferenciado de liberação otimizada com aplicação em diferentes áreas. As preparações emulsionadas cosméticas para o cuidado da pele constituem um grupo particular no qual diferenciam-se as emulsões contendo cristais líquidos, emulsões múltiplas e mais recentemente, as nanoemulsões.

Emulsões são sistemas heterogêneos termodinamicamente instáveis constituídos de um líquido imiscível disperso em outro na forma de gotículas ou glóbulos. Em geral são compostas por três fases: fase aquosa, oleosa e emulsificante. Nessa terceira fase encontram-se as bases auto-emulsionantes que foram desenvolvidas no início do século XX e são muito empregadas no preparo de emulsões estáveis. Além de proporcionar atividades adicionais como propriedades hidratantes (Gonçalves, 2000), algumas bases auto-emulsionantes apresentam inúmeras vantagens por permitirem facilidade na obtenção de cremes e loções estáveis.

Dentre os vários sistemas complexos de transporte e liberação de ativos na superfície cutânea e através dela, existem as emulsões com cristais líquidos. Os cristais líquidos representam uma terceira fase na emulsão, pois não podem ser definidos como fase interna ou externa. Este tipo de sistema pode ser encontrado em muitas emulsões sendo facilmente detectado através de microscopia sob luz polarizada devido a propriedade de birrefringência (Friberg *et al*., 1987).

De acordo com Cioca, Calvo (1990) os cristais líquidos possuem diversas aplicações tanto em formulações cosméticas quanto farmacêuticas. Em função da microestrutura, são capazes de promover o encapsulamento de princípios ativos, permitindo a liberação sustentada dos mesmos, bem como, a proteção de fármacos foto e termossensíveis além de aumentar a estabilidade destes sistemas ao diminuir a coalescência e alterar a viscosidade (Nesseem, 2001).

O propósito principal do produto cosmético é proteção e prolongamento da jovialidade do tecido cutâneo. O fator chave na demanda por ações benéficas desses produtos na pele não é encontrado apenas na formulação original, mas também nas diferentes estruturas possíveis de se formarem durante a evaporação de água e/ou outros compostos voláteis. Tradicionalmente, os estudos da literatura estão centralizados nas estruturas originais da dispersão, e não naquelas formadas durante a evaporação do produto, simulando o seu uso pelo consumidor. Por essa razão, há uma grande busca no sentido de se explicar a ação das formulações na pele pelo tamanho e forma dos glóbulos e partículas originalmente dispersadas (Al-Bawab, 2006; Santos, *et al*, 2006; Bergamaschi *et al*, 2008).

Contudo, os desafios que um formulador tem ao trabalhar com emulsões são basicamente três: (1) obtenção de sistemas dispersos estáveis, (2) avaliação das características físico-químicas do sistema, e (3) a presença de cristais líquidos que, além de efeito cosmético desejável, contribui para a estabilização da dispersão.

Sendo assim, nesta pesquisa desenvolvemos emulsões O/A contendo cristais líquidos utilizando óleo de andiroba e base auto-emulsionante à base de éster fosfórico, a partir do método de diagrama ternário de fases; e avaliamos os diferentes fatores que podem influenciar na formação das fases líquido-cristalinas e na estabilidade da emulsão. Na seqüência realizamos o estudo da atividade

cosmética e o comportamento das emulsões com cristais líquidos após aplicação na pele.

Por conseguinte, esse estudo é de grande importância no desenvolvimento de novos produtos cosméticos uma vez que cresce a procura por bases auto-emulsionantes contendo cristais líquidos, tanto pela indústria cosmética quanto na farmácia magistral, com o intuito de se obter produtos cosméticos e/ou dermatológicos estáveis e com propriedades específicas.

Revisão da Literatura

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pele

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, constituindo 16 % do peso corporal. Além de revestir a superfície externa do corpo, protegendo-o, são lhe atribuídas outras funções como controle da temperatura corporal, exploração sensorial do ambiente, aparência estética, barreira contra absorção excessiva da radiação ultravioleta (UV), síntese de vitamina D, barreira contra absorção e eliminação de substâncias químicas, prevenção da evaporação excessiva de água que causaria a desidratação da pele em primeira instância e na seqüência de todo o organismo, exercendo desse modo uma função de barreira (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006; Cheng *et al.*, 2007; Cravello, 2007; Iyer *et al.*, 2007).

A espessura da pele varia dependendo da área do corpo, sendo mais espessa em regiões sujeitas a pressões e atritos constantes. Pode ainda, ser classificada como pilosa (onde existe a presença de folículos pilosos) que reveste a maior parte do corpo; glabra, nas palmas das mãos e plantas dos pés; e orificial, localizada entre a pele pilosa e as mucosas (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006).

É considerada órgão de revestimento complexo e heterogêneo, composto essencialmente de três grandes camadas de tecidos: uma superior – a epiderme; uma camada intermediária – a derme; e uma camada profunda – a hipoderme (Figura 1) (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006; Iyer *et al.*, 2007).

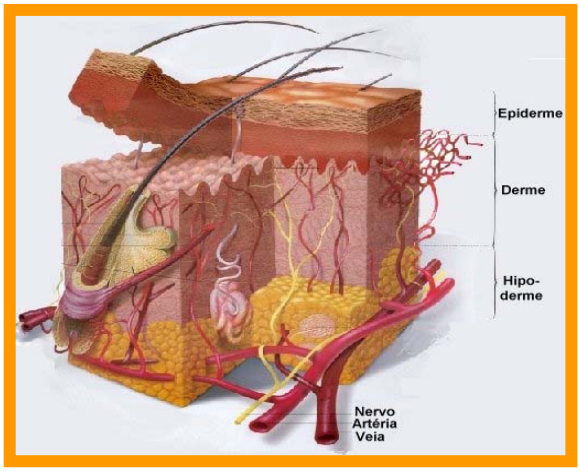

Figura 1: Esquema das diversas camadas da pele.

2.1.1 Epiderme

A epiderme é uma complexa estrutura constituída de diferentes camadas formadas pelos queratinócitos, as células epiteliais estratificadas que sofrem diferenciação à medida que se deslocam da camada basal para a superfície da pele. Em um sistema dinâmico essas camadas estão em constante renovação, desde sua junção com a derme até a superfície cutânea, onde ocorre descamação permanente de numerosas camadas de células queratinizadas, anucleadas e sem organelas, chamadas de corneócitos (Figura 2). O período de tempo para que todo esse evento ocorra é cerca de 30 dias (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006).

As camadas que formam a epiderme são denominadas (do meio externo para o interno) como: córnea, granulosa, espinhosa e basal; uma quinta camada, a lúcida, é encontrada entre as camadas córnea e granulosa na palma das mãos e sola dos pés (pele espessa), ao contrário das demais regiões do corpo onde a pele é fina (pele delgada).

Descrevemos a seguir algumas características destas diferentes camadas:

- Camada córnea: a mais externa da epiderme é resultado do processo de diferenciação celular. Os corneócitos que formam essa região da epiderme são células anucleadas poligonais e planas com cerca de 1 µm de espessura e 40 µm de largura, variando o diâmetro e área superficial dependendo da região do corpo, sexo e idade. Embora muito fino, o estrato córneo comporta-se como eficiente barreira, protegendo o corpo da desidratação. Os lipídeos disponíveis no estrato córneo formam membranas lamelares intercelulares que retêm água, conservando a superfície da pele saudável e macia (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006; Cheng *et al.*, 2007; Cravello, 2007; Iyer *et al.*, 2007). Além dos queratinócitos outras células epiteliais como as de Langerhans, Células de Merkel e os melanócitos estão presentes nessa região (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006).
- Camada granulosa: tem a espessura de duas ou três camadas de células carregadas em grânulos de queratohialina e situa-se entre a camada córnea e a camada espinhosa. Esta região da epiderme é responsável pela formação da bicamada de lipídeos presente entre as fileiras de células corneificadas que formam a camada córnea. Esta bicamada de estrutura lamelar tem a finalidade de prevenir a desidratação das camadas subjacentes da epiderme, formar barreira e oferecer resistência à absorção percutânea, além de atuar como “cimento”, fixando as células queratinizadas umas às outras, impedindo o seu desprendimento.
- Camada espinhosa: acima da camada basal sendo formada por várias fileiras de células que, na medida em que avançam em direção à superfície da epiderme permanecem ligadas pelos desmossomas.

- Camada basal: é a partir desta que se originam as demais camadas que formam a epiderme, e onde se encontram as células em etapas de divisão. As células recém produzidas migram em direção às camadas superiores da epiderme, sofrendo modificações graduais na forma e na composição química até se tornarem anucleadas (na camada córnea), com a finalidade de substituir as que descamaram. Durante este processo, da camada basal para o estrato córneo, os queratinócitos (células mais abundantes da epiderme) sintetizam proteínas e lipídeos em grande quantidade. Este é o chamado ciclo de queratinização, ou corneificação, que consiste na transformação de células epiteliais em células córneas, mortas onde a queratina ocupa todo o espaço intracelular sendo envolvida por substâncias químicas derivadas do processo de modificação celular.

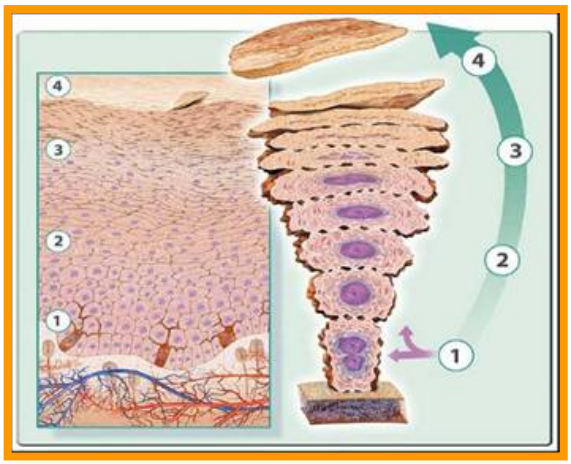

Figura 2: Esquema da renovação celular: (1) camada basal; (2) camada espinhosa; (3) Camada granular; e (4) camada córnea.

2.1.2 Derme

A derme, ou córium é um tecido resistente e elástico que nutre a epiderme e protege o corpo contra lesões mecânicas, com espessura variável (1 a 4 mm) conforme a região do corpo. É dividida em duas regiões, uma que se encontra em

contato direto com a epiderme, a derme papilar, e outra logo abaixo, a derme reticular.

Nesta camada da pele estão presentes as raízes dos pêlos, glândulas, terminações nervosas, vasos sangüíneos e alguns tipos de células.

O principal componente da derme é o colágeno: proteína sintetizada pelos fibroblastos na forma de um precursor, o procolágeno. Este uma vez no meio extracelular, sofre ação enzimática, dando origem a unidades de tropocolágenos (ricos em aminoácidos lisina e prolina) que se polimerizam formando as fibras de colágeno (ricas em hidroxilisina e hidroxiprolina), propriamente ditas.

A elastina é uma proteína parecida com o colágeno, porém com a presença de aminoácidos como desmosina e isodesmosina. É formada pela interação de proteínas, retas, muito ramificadas e muito resistentes. São espessas na derme profunda e finas na reticular que exercem função de complementar às fibras de colágeno. As fibras elásticas permitem extensa deformação da pele, que retorna passivamente ao estado original quando cessada a força aplicada (funcionam como uma mola ou elástico).

A aparência da derme tem o aspecto de gel, rico em glicosaminoglicanas (macromoléculas com notável capacidade de retenção de água), a substância fundamental onde os ácidos hilalurônico e condroitinsulfúrico são os principais constituintes. O ácido hialurônico é um polímero hidrossolúvel de elevada massa molecular que, quando hidrolisado pela enzima hialuronidase, diminui a viscosidade da substância fundamental da derme, podendo ser interessante para fins medicamentosos, já que a difusão de fármacos é facilitada em meios menos viscosos (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006).

2.1.3 Hipoderme

A hipoderme, ou panículo adiposo apresenta espessura variável e é a camada mais profunda da pele. Constitui-se de células denominadas adipócitos, separadas entre si por um interstício seroso que contém ácidos polissacarídicos que atuam como lubrificantes. A vascularização do tecido adiposo é grande, nutrindo todo o conjunto de adipócitos.

Outras estruturas presentes na hipoderme são os septos conjuntivos interlobulares que se projetam na profundidade da derme inserindo-se nas fáscias musculares e no periósteo.

Funcionalmente, a hipoderme, além de depósito nutritivo de reserva, participa no isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo ao pressionamento e traumatismo externos e facilita a motilidade da pele em relação às estruturas adjacentes (Leonardi, 2004; Ribeiro, 2006).

2.2 Pele e produtos cosméticos

A pele é um órgão importante que mantém a homeostase do corpo humano através da proteção aos estímulos ambientais agressivos. As funções do estrato córneo (EC) como camada mais externa da pele, incluem a proteção da pele e barreira contra a perda de água e substâncias hidrossolúveis para o meio ambiente (Cheng *et al.*, 2007).

Produtos cosméticos especialmente os hidratantes, são recomendados para melhorar a aparência da superfície aumentando a hidratação do EC e melhorar as propriedades físico-químicas da pele, tornando-a úmida, lisa e macia. Esse aspecto de superfície lisa pode ser observado imediatamente após aplicação de um produto

hidratante ou emoliente, como resultado do preenchimento dos espaços entre as células e a pele parcialmente descamada (Kin *et al.*, 2007).

Um produto cosmético com ação hidratante pode ser constituído de polióis, óleos, lipídeos, material aquoso, tensoativos e outros. Os polióis possuem ação umectante mantendo o conteúdo hídrico do EC, já os óleos têm ação emoliente e promovem a oclusão da superfície da pele hidratando-a por diminuição da evaporação da água cutânea. Quando ocorre retenção de material hídrico, o fator fisiológico é normalmente regulado prevenindo o ressecamento da mesma. Polióis e óleos contribuem na hidratação e suavidade da pele, conseqüentemente as indústrias cosméticas têm usado esta associação em seus produtos devido a suas propriedades diversas, porém sinérgicas (Kin *et al.*, 2007).

Formulações cosméticas emulsionadas recomendadas para cuidados com a pele constituem um grupo particular entre as emulsões. Devem apresentar aparência agradável preservando suas características durante a armazenagem, promover sensorial agradável durante a aplicação e, o mais importante, proporcionar os efeitos indicados e de longa duração às propriedades da pele (Al-Bawad, 2006; Kin *et al.*, 2007).

O conhecimento da formulação original é fundamental para a indicação dos benefícios que a mesma pode proporcionar à pele e também as mudanças estruturais que ocorrem durante o uso do produto pelo consumidor, como por exemplo, evaporação do conteúdo hídrico ou mesmo de substâncias voláteis devem ser conhecidas pelo formulador. Vários estudos foram realizados para relacionar o tamanho e forma dos glóbulos da dispersão e a ação pretendida sobre a pele (Al-Bawad, 2006; Cheng *et al.*, 2007).

De acordo com Santos e colaboradores (2006), após aplicação de uma formulação cosmética, componentes voláteis e água começam a evaporar e, em sua maioria, perdem estes constituintes em até 30 minutos. Conseqüentemente, o resíduo dos componentes voláteis que permanecessem após esta evaporação determina a atividade das estruturas formadas. Portanto, a compreensão do comportamento após a aplicação da emulsão contendo cristal líquido é muito importante para melhor entendimento das estruturas formadas e qual influência essas irão exercer na atividade biológica e eventual liberação de ativos veiculados no sistema.

2.3 Emulsões

Emulsões são sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis, definidos como uma mistura íntima de dois líquidos imiscíveis, um dos quais está disperso no outro na forma de gotículas ou glóbulos (Friberg *et al.*, 1988; Wasan, 2007). Na terminologia das emulsões, a fase dispersa é conhecida como fase interna ou descontínua e o meio dispersante como fase externa ou contínua (Leonardi, 2004; Wasan, 2007).

De acordo com a hidrofilia ou lipofilia da fase dispersante, estes sistemas classificam-se em óleo em água (O/A) que têm fase interna oleosa e fase externa aquosa, ou água em óleo (A/O) que têm fase interna aquosa e fase externa oleosa. As emulsões mais adequadas para uso tópico, geralmente, são as do tipo O/A devido a seu aspecto menos oleoso durante e após a aplicação (Morrison; 2002; Marti-Mestres, 2002; Leonardi, 2004).

As emulsões são compostas por três fases: fase aquosa, oleosa e emulsificante. Nessa terceira fase encontram-se as bases auto-emulsionantes que

foram desenvolvidas no início do século XX e são muito empregadas no preparo de emulsões estáveis, sendo composta de dois tipos distintos de ingredientes: tensoativos, que correspondem aos componentes minoritários (geralmente 10 partes de matéria graxa para 1 parte de tensoativo), e material graxo, que é também anfifílico (parcialmente hidrofílico e parcialmente lipofílico), porém, fracamente hidrofílico e por isso incapaz de formar emulsões isoladamente. O material graxo é freqüentemente denominado de emulsificante auxiliar, ou secundário, ou co-emulsificante. Sua principal função é auxiliar no controle da viscosidade da emulsão (Leonardi, 2004).

Os benefícios do uso dessas bases são: redução ou eliminação da seleção do componente emulsificante adequado; curto tempo de pré-formulação para definir as porcentagens relativas dos componentes; flexibilidade às mudanças quantitativas da formulação com aditivos dentro de extensos parâmetros; simplificar a formulação; proporcionar uma estabilidade reológica por longo período; facilitar a manipulação da formulação; e para que os produtos finais já atinjam as qualidades desejadas durante a pré-formulação (Gonçalves, 2000; Masson, 2006).

Segundo Gonçalves (2000) algumas bases auto-emulsionantes ainda possuem atividades adicionais tais como, fornecer a emulsão base propriedades hidratantes que são observadas mesmo quando a formulação não possui ativos hidratantes específicos. Sem ignorar o tamanho das partículas, isso deve ocorrer devido ao caráter não iônico dessas preparações o que permite melhor penetração da água constituinte das camadas do estrato córneo.

As propriedades físico-químicas destes componentes influenciam o processo de obtenção, o tipo e a estabilidade do sistema, assim como o comportamento de fases da dispersão (Bouchama *et al.*, 2003; Sajjadi *et al.*, 2003).

Emulsões são sistemas estabilizados cineticamente pela adição de agentes tensoativos capazes de diminuir a tensão interfacial do sistema pela formação de um filme interfacial com propriedades estéricas e eletrostáticas em torno dos glóbulos da fase interna (Jeong *et al.*, 2001; Morrison, 2002; Leonardi, 2004; Capek, 2004). Os agentes tensoativos ou emulsificantes são moléculas com características anfifílicas que adsorvem-se na interface entre a fase dispersa e a dispersante durante o processo de emulsificação e podem prontamente prevenir fenômenos como floculação, coalescência e conseqüentemente, separação de fases.

Segundo Al-Bawab (2006) a explicação para estes fenômenos é encontrada nos fatos de que a desestabilização de uma emulsão é um processo de multi-estágios e que o mecanismo de estabilização é diferente para cada processo. A etapa inicial de desestabilização do sistema é a floculação na qual as gotículas da fase interna se aglomeram fracamente (Figura 3, A→B). A estabilização relativa a esta etapa pode ser obtida através do aumento da distância entre os glóbulos por ação de forças repulsivas ou por alteração na reologia da fase contínua para retardar o movimento das gotículas (Al-Bawab, 2006). A etapa seguinte do processo total é a coalescência (Figura 3, B→C). O filme interfacial entre os glóbulos floculados se rompe e um glóbulo maior é formado. Nesta etapa, a reologia do meio é menos importante já que as partículas estão em contato íntimo e agora a estrutura da camada interfacial é extremamente predominante. Uma alternativa possível é a adição de eletrólitos que reduzem a repulsão entre as moléculas dos tensoativos da camada interfacial. Isto faz com que a lateral do glóbulo torne-se mais densa e a estabilidade é melhorada por aumento da rigidez da interface (Al-Bawab, 2006). Em paralelo e seguindo os dois primeiros fenômenos está o transporte gravitacional dos glóbulos chamado de sedimentação ou cremeação, o qual é dependente da

densidade relativa entre a fase dispersa e a fase contínua (Figura 3, C→D). Este processo é importante para glóbulos de macroemulsão (maiores que 600 nm); já para nano e microemulsões o fenômeno predominante é o movimento browniano o que contrapõe o transporte gravitacional mantendo a homogeneidade de distribuição dos glóbulos pela fase contínua. Uma série de emulsões de fragrâncias oferece exemplo ilustrativo da importância da diferença de densidade para macrosistemas. A cremeação ou sedimentação conduz a uma camada de emulsão mais concentrada, floculada ou não, tendo como resultado a coalescência aumentada. Finalmente, a coalescência fica completa e uma separação de fases acontece (Figura 3, E).

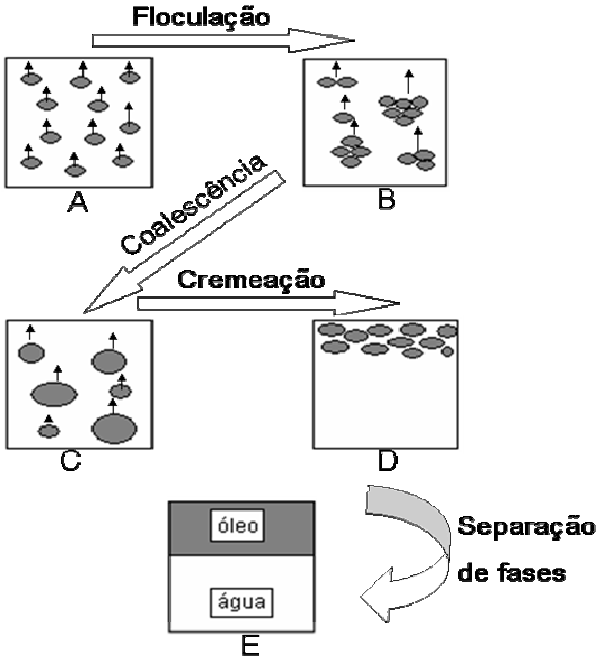

Figura 3: Diferentes estágios da desestabilização de emulsões (Al-Bawab, 2006).

Pensando que diferentes aplicações requerem estabilização contra diferentes passos da desestabilização, o formulador tem que decidir qual passo é essencial para escolher o emulsificante ideal para seu produto cosmético (Al-Bawab, 2006).

Os desafios que um formulador tem ao trabalhar com emulsões são basicamente três: (1) obtenção de sistemas dispersos estáveis, (2) avaliação das

características físico-químicas do sistema, e (3) a presença de cristais líquidos que além de desejável contribui para a estabilização da dispersão.

2.4 Cristais líquidos

Os cristais líquidos são conhecidos desde 1889, quando Lehmann descreveu a existência de um estado intermediário da matéria entre o sólido e o líquido. Em 1922, G. Friedel usou o termo “estado mesomórfico” (*mesos* = intermediário, *morphé* = forma) e, portanto, os cristais líquidos são também denominados como fases mesomórficas, mesomórficas cristalina ou para-cristalinas, apresentando propriedades e características de sólidos e líquidos (Tyle, 1989; Santos *et al*., 2005).

São caracterizados por possuírem a ordem estrutural das moléculas fortemente reduzida, mas mantendo tanto a ordem orientacional, com capacidade de movimento rotacional e translacional característicos de líquidos, quanto a orientação e interação entre as moléculas características de sólidos cristalinos.

Os cristais líquidos são classificados em duas grandes categorias, os termotrópicos e os liotrópicos:

- termotrópicos é a classe onde o estado líquido-cristalino se forma através da variação da temperatura a que a substância é submetida, ou seja, quantidade de energia disponível para as moléculas se organizarem. Portanto, se formam a uma dada temperatura e por isto são pouco estáveis. São classificados em duas categorias: nemáticos cujas moléculas se organizam de forma paralela, e os esméticos cujas moléculas encontram-se de forma estratificada mantendo-se em camadas (Tyle, 1989).
- Liotrópicos é a classe onde o estado se forma quando certos componentes, geralmente substâncias anfifílicas são tratados com alguns solventes como,

por exemplo, a água. A formação de cristais líquidos depende da natureza hidrofílica ou lipofílica da substância. Estes cristais são fortemente birrefringentes e a natureza física apresenta-se de forma variada. Dentre as mesofases liotrópicas as mais importantes e comumente observadas são: a lamelar ou “neat phase”, a hexagonal ou “middle phase”, a fase cúbica e ainda soluções micelares isotrópicas aquosas ou não (Figura 4) (Tyle, 1989).

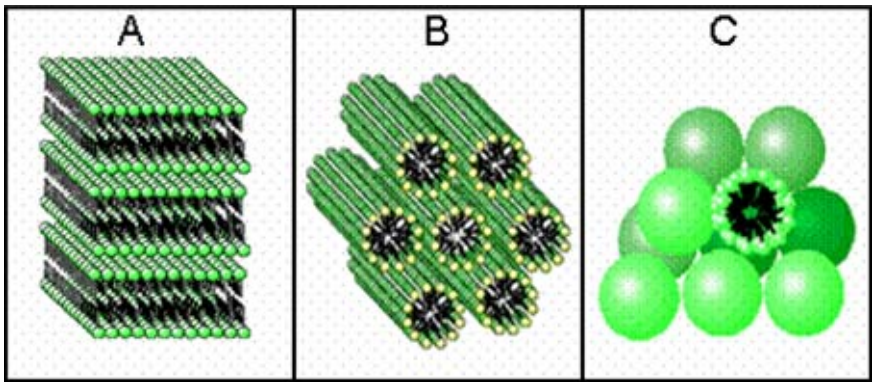

Figura 4: Representação esquemática das mesofases cristalinas liotrópicas: (A) fase lamelar, (B) fase hexagonal, e (C) fase cúbica.

A identificação desses cristais pode ser realizada através de várias técnicas físico-químicas como difração de raios-X, ressonância magnética nuclear, calorimetria e a reologia. Porém, a técnica mais utilizada é a microscopia sob luz polarizada (Tyle, 1989; Park *et al*., 2001).

Dentre as vantagens atribuídas à utilização dos cristais líquidos em cosméticos pode-se destacar: a aparência visual, pois certos cristais exibem uma propriedade denominada termocromismo; os componentes ativos incorporados em matrizes de cristais líquidos ou mesmo em formulações que os contenham têm certa proteção à foto e termodegradação; promoção do aumento de retenção de água no

estrato córneo proporcionando aumento na hidratação cutânea (Masson *et al.*, 2005; Santos *et al*., 2006).

Considerando as propriedades apresentadas acima, a de maior importância na tecnologia de cosméticos é a manutenção da hidratação cutânea com aplicação de produtos cosméticos contendo cristais líquidos, já que os mesmos contribuem na diminuição da perda de água transepidérmica, além da propriedade de promover liberação prolongada dos ativos e estabilizar emulsões (Santos *et al.*, 2004). Hoje, já é conhecido que alguns lipídeos do espaço intercelular, como as ceramidas, assumem a forma de estruturas lamelares contribuindo, desta forma, na hidratação cutânea (Moore *et al*., 1999).

Com base nestas descobertas procura-se desenvolver produtos para cuidado da pele contendo estruturas lipídicas que possam promover a formação de cristais líquidos (Iwai *et al*., 1998). Outra função que merece destaque é a contribuição destes na estabilidade de emulsões, pois estruturas lamelares podem formar camadas protetoras ao redor dos glóbulos prevenindo a coalescência (Brinon *et al*., 1998).

Emulsões tradicionais são compostas de gotículas de água dispersas em um óleo isotrópico ou gotículas de óleo isotrópico dispersas em água. As gotículas da emulsão são estabilizadas contra coalescência através de moléculas de tensoativos na interface óleo-água. Interações e estruturas de emulsões em geral são isotrópicas. Se pequenas gotículas são suspensas em um óleo líquido cristalino, resulta em uma nova composição de materiais e o comportamento dessas gotículas reflete no arranjo estrutural do cristal líquido. Interações anisotrópicas entre as partículas acontecem como resultado das distorções elásticas das estruturas dos cristais líquidos. Estes conduzem a novas estruturas coloidais que são de interesse

como exemplos de estruturas de liberação controlada; também são de importância prática para controlar a estabilidade e as estruturas de partículas coloidais (Loudet, J-C., 2002).

Segundo Tyle (1989), Friberg calculou em 95 % de redução da energia de van der Waals disponível para coalescência quando fases lamelares estão presentes. Estas propriedades significam que a coalescência é inibida devido à intensidade fraca da força de direcionamento e a natureza ordenada do cristal líquido que atua como barreira mecânica. Friberg mostrou também que a estabilidade das emulsões em longo prazo é dependente do método de dispersão do tensoativo. Quando agregados de fases líquido-cristalinas são observados, a emulsão demonstra ser mais estável do que emulsões contendo concentrações menores do tensoativo onde nenhuma birrefringência é observada. Calculou-se aumento no tempo de coalescência por um fator (2000) na presença de cristais líquidos. Estas fases desempenham função importante nas propriedades físicas das emulsões tal como comportamento reológico, condutividade elétrica e estabilidade (Santos, 2006).

Os tensoativos hidrofílicos formam uma estrutura organizada própria ou cristal líquido em água, onde a curvatura da camada do tensoativo é convexa em relação à água (curvatura positiva); já tensoativos lipofílicos adquirem um tipo reverso com curvatura negativa. Os tipos ou formas dessas estruturas são altamente dependentes das propriedades hidrófila e lipófila do tensoativo e, da correlação entre a estrutura química dos tensoativos e a forma de agregados (Kunieda *et al.*, 2001).

As fases líquido-cristalinas liotrópicas baseadas no próprio arranjo do tensoativo em meio aquoso são estudadas não apenas pelo interesse de seu fundamento, mas também pelas suas aplicações práticas incluindo cosméticos, fármacos e tecnologia de dispersões. Muitos tipos de tensoativos iônicos, não-

iônicos e aniônicos podem ordenar-se como cristal líquido liotrópico tridimensional incluindo cúbico, lamelar, e hexagonal em altas concentrações de tensoativo (Imura *et al*.; 2007).

2.5 Óleo de andiroba

Óleos vegetais são um dos constituintes mais usados nas emulsões cosméticas, devido às propriedades como baixa viscosidade e baixo peso molecular, sendo menos oclusivos que os óleos minerais, permitindo certa permeação de água para dentro da barreira da fase oleosa, com boa penetração cutânea e capacidade de liberação dos agentes ativos (Ferrari *et al.*, 2003; Morais *et al.*, 2005).

A família Meliacea abrange muitas plantas que dão origem a uma valiosa madeira e que tem um extenso uso na etnomedicina. Essa família é distinguida pela ocorrência de substâncias características chamadas limonóides. Estas substâncias possuem ampla atividade biológica, particularmente ação inseticida (Ambrozin *et al.*, 2006).

O termo andiroba provém da língua indígena ("*landi*" = óleo e "*rob*" = amargo) e denominam as árvores do gênero *Carapa* que é composto por duas espécies *Carapa procera* e *Carapa guyanensis* que pertencem à mesma família que o mogno (*Meliaceae*). A primeira espécie ocorre na África e América do Sul, enquanto que a segunda, *C. guyanensis* ocorre da América Central até o norte da América do Sul. No Brasil as duas espécies ocorrem principalmente no estado do Amazonas e são conhecidas popularmente como andiroba, carapinha e iandiroba (Ferrari *et al.*, 2003; Silva, 2005; Ambrozin *et al.*, 2006).

A andiroba é uma árvore de grande porte (atinge 30 m de altura), apresenta flores com odor e sabor característicos, e castanhas de cor marrom onde está

contido o óleo. Inicia a frutificação 10 anos após o plantio, durante os meses de março a abril, com cada fruto contendo de 4 a 6 sementes. Uma árvore de andiroba é capaz de produzir de 180 a 200 kg/ano de sementes que contêm, aproximadamente, 60 % de óleo em massa (Silva, 2005).

As sementes de *Carapa* são muito oleaginosas e o óleo é de grande interesse na área farmacêutica e cosmética sendo empregado no tratamento de várias dermatoses, fabricação de sabonetes e velas. O óleo de andiroba é rico em ácidos graxos como ácidos oléico, palmítico, esteárico e linoleico, juntos com 2-5 % de material insaponificável. Em adição, diversos componentes da *Carapa guyanensis* foram isolados como limonóides, terpenóides, esteróides, cumarinas, flavonóides e glicerídeos (Ambrozin *et al.*, 2006).

O óleo que é extraído das sementes possui cor amarelo-claro, solidifica em temperaturas inferiores a 25 °C com consistência parecida com a da vaselina, tem sabor amargo, e rancifica rapidamente após extração das sementes (Silva, 2005). Entretanto, dentre suas propriedades pode-se destacar a atividade cicatrizante, repelente de insetos, antiinflamatória e anti-reumática (Marti-Mestres, 2002; Ferrari *et al.*, 2003; Ambrozin *et al.*, 2006).

2.6 Silicone

Historicamente, os silicones eram usados em sistemas não aquosos, como molde de agentes de liberação e espumas de poliuretanos. Mais recentemente despertou-se grande interesse em sua utilização em meio aquoso, como por exemplo, na propagação de sistemas aquosos em superfícies hidrofóbicas. Em ambos os meios, derivados de silicone têm demonstrado excelente desempenho

como agente tensoativo com ação em superfícies líquido-líquido e/ou líquido-sólido reduzindo a tensão superficial (Somasundaran *et al.*, 2007).

Silicone é um grupo de pequenas moléculas de tensoativos poliméricos que possui aplicações variáveis devido às propriedades particulares: são muito ativos na superfície devido à fraca energia de coesão das cadeias lipofílicas, os grupos poli(dimetilsiloxano), os quais consistem de muitos grupos metila (Kunieda *et al.*, 2001a).

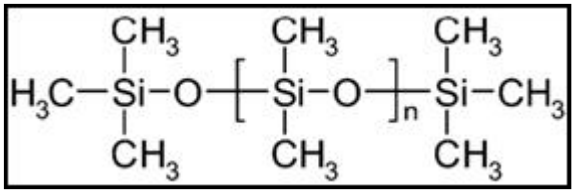

Figura 5: Estrutura do Poli(dimetilsiloxano) (Somasundaran *et al.*, 2007).

Algumas de suas várias aplicações são como agente de espalhabilidade, molhante, emulsificante e em produtos de cuidados da pele (Kunieda *et al.*, 2001a; Hill, 2002).

Os silicones diferem-se consideravelmente de suas contrapartes orgânicas devido à força de atração intermolecular fraca. Estruturalmente são caracterizados por: (1) ângulo de ligação do Si–O–Si que são maiores do que os ângulos de ligação de C–O–C; (2) o grau de ligação Si–O que é maior do que aquele das ligações C–O–C ou C–C; (3) melhor liberdade de rotação ao redor da ligação Si–O quando comparado com a ligação C–C e (4) liberdade rotacional de grupos metila os quais podem orientar a direção da interface e também resultar em volume “livre” das cadeias poliméricas (Somasundaran *et al.*, 2007).

Silicones de diferentes estruturas são amplamente usados na indústria devido à inocuidade, alta flexibilidade em reações de cadeia e baixa tensão superficial. Por

exemplo, emulsões baseadas em silicones têm sido preparadas para uso na indústria farmacêutica e/ou cosmética (Barrère *et al.*, 2001). Tensoativos com estruturas derivadas de silicone (chamados de “silicone tensoativo”) também são muito utilizados no campo industrial devido à estabilidade térmica, propriedades como resistência à ação dos raios ultravioleta entre outras (Nagatani *et al.*, 2001; Hill, 2002).

No caso de “silicones tensoativos” não-iônicos, a forma da curvatura muda de negativa para positiva com o aumento do comprimento da cadeia hidrofílica, por exemplo, na cadeia de polioxietileno (EO) a repulsão entre os grupos hidrofílicos cresce há uma extensão da cadeia de EO a uma temperatura constante (Kunieda *et al*., 2001a).

Randal M. Hill (2002) preparou uma emulsão água-em-silicone/óleo usando um silicone como tensoativo e uma mistura de dois tensoativos derivados de silicones poliéter. Os autores evidenciaram que a fase formada pelo tensoativo orienta-se para a interface óleo/água e por meio disto estabiliza a emulsão. Se correto, esse poderia ser um novo mecanismo para estabilização de emulsões.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

- Desenvolver emulsões O/A contendo cristais líquidos utilizando óleo de andiroba e tensoativo aniônico a base de éster fosfórico, a partir de diagrama ternário de fases;
- Avaliar diferentes fatores que podem influenciar na formação das fases líquido-cristalinas e na estabilidade da emulsão;
- Avaliar a atividade cosmética da emulsão obtida, com e sem aditivos.

3.2 Objetivos específicos

- Formular emulsões O/A a partir do método do diagrama ternário de fases contendo óleo de andiroba e base auto-emulsionante;
- Analisar e identificar estruturas líquido-cristalinas;
- Estudar a função dos cristais líquidos na formulação;
- Avaliar a influência da adição de silicone (*PEG-12 Dimethicone*) sobre a formação de cristal líquido e atividades cosméticas;
- Avaliar a estabilidade e características físico-químicas das emulsões;
- Caracterizar as emulsões por reologia;
- Estudar o comportamento das emulsões com cristais líquidos após aplicação na pele;
- Estudar a atividade hidratante e a influência sobre os valores de pH e oleosidade cutânea das emulsões contendo óleo de andiroba e cristais líquidos, com ou sem aditivo;
- Avaliar o sensorial das emulsões com e sem aditivo.

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Fase oleosa

Óleo de andiroba: extraído da árvore de andiroba (*Carapa guyanensis* - Meliaceae), com grau de pureza farmacêutico (Croda do Brasil). Denominado pelo CTFA como *Carapa Guaianensis Oil*, conforme recebido pelo fornecedor.

Tabela 1: Limite de especificações da matéria-prima óleo de andiroba, proveniente do informe técnico fornecido pela Croda do Brasil.

Limite de Especificação				
Característica	**Inferior**	**Superior**	**Valor**	**Unidade**
Aparência	Líquido com cristalização		De acordo	-
Cor	0	8	5	Gardner
Odor	Característico		De acordo	-
Índice de acidez	0,00	50,00	27,46	mgKOH
Índice de iodo	50,00	80,00	64,20	gI_2/100g
Índice de saponificação	190,00	210,00	194,51	mgKOH
Umidade	0,00	1,00	0,71	%
Índice de refração	1,4600	1,4800	1,4639	Group prop
Índice de peróxido	0,00	20,00	5,11	Meq02/kg
Contagem total de bactérias	Máx 500 CFU/G		De acordo	-
Fungos e leveduras	Máx 500 CFU/G		De acordo	-
Patogênicos	Ausente		De acordo	-

4.1.2 Tensoativos

Foi utilizado Crodafos CES® (Croda do Brasil) denominado pelo CTFA como *Cetearyl Alcohol (and) Dicetyl Phosphate (and) Ceteth-10 Phosphate*. É uma cera

auto-emulsionante base fosfato otimizada, constituída de ésteres complexos de ácido fosfórico e álcool cetoestearílico, que em sistemas óleo/água (O/A), formam emulsões extremamente estáveis. É considerado “cripto-aniônico”, devido aos grupos fosfato serem protegidos por cadeias alquílicas (informe técnico – Croda do Brasil).

Tabela 2: Limite de especificações da matéria-prima Crodafos CES®, proveniente do informe técnico fornecido pela Croda do Brasil.

Limite de Especificação				
Característica	**Inferior**	**Superior**	**Valor**	**Unidade**
Cor	Branco	-	De acordo	-
Odor	Característico	-	De acordo	-
Índice de acidez	28,00	38,00	33,50	mgKOH
Aparência	Sólido ceroso	-	De acordo	-

4.1.3 Fase aquosa

A fase aquosa foi constituída de água recém destilada.

4.1.4 Aditivo

Foi utilizado o derivado de silicone Fluid 193® (Dow Corning®). É um copolímero de silicone glicol (CTFA: *Dimethicone Copolyol*; INCI: *PEG-12 Dimethicone*) utilizado como auxiliar em formulações cosméticas atuando como agente emulsificante, redutor da tensão superficial, agente umectante, emoliente e formador de espuma. É líquido à temperatura ambiente, solúvel em água, etanol e sistemas hidroalcoólicos; hidroliticamente estáveis (informe técnico - Dow Corning®).

Tabela 3: Limite de especificações da matéria-prima Fluid 193®, proveniente do informe técnico fornecido pela Dow Corning®.

Especificações	
Forma física	Líquido
Propriedades especiais	Solúvel em água, álcool e sistemas hidroalcoólicos, hidroliticamente estáveis
Viscosidade à 25 °C, sC	465
Ponto de fulgor (copo fechado), °C	149
Densidade a 25 °C	1,070
Ponto de solubilidade inversa (0,1 %), °C	73
HLB calculado	12,45
Média do ponto de névoa, 1 % silicone destilado em água, °C	84

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Desenvolvimento da emulsão

4.2.1.1 Obtenção da emulsão

A emulsão foi obtida através do método de EPI (*Emulsion Phase Inversion*) de acordo com Morais *et al.* (2006). A fase aquosa foi aquecida a 75 ± 2 °C e vertida sobre a fase oleosa, constituída de óleo de andiroba e Crodafos CES®, também aquecida à mesma temperatura para fusão e homogeneização do material graxo. A emulsão foi mantida sob agitação constante (agitador mecânico Fisaton-Mod. 713) a 600 rpm até atingir temperatura ambiente (25 ± 3 °C).

4.2.1.2 Determinação das concentrações de fases oleosa/ aquosa/ tensoativos através do diagrama ternário de fases

Foi construído um diagrama ternário, variando inicialmente as concentrações de 10 em 10 % (p/p) obtendo-se assim 36 formulações para cada sistema proposto (Figura 6). Após a delimitação das regiões dos diferentes sistemas encontrados,

repetiu-se o diagrama na região de estabilidade, variando as concentrações dos componentes da formulação de 5,0 em 5,0 % (p/p).

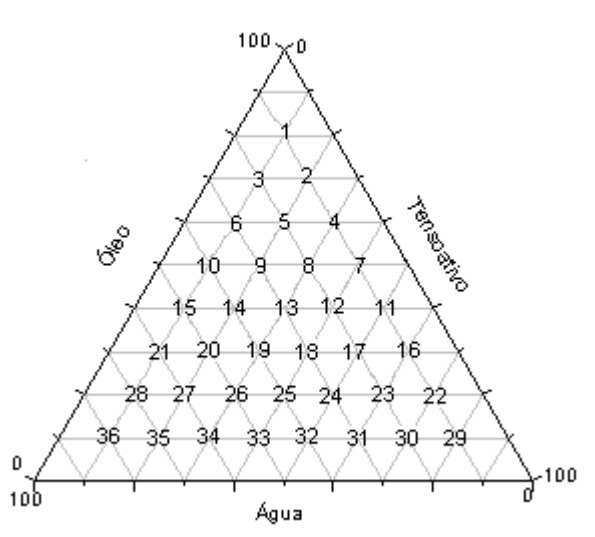

Figura 6: Esquema do diagrama ternário de fases.

4.2.1.3 Incorporação do aditivo

O aditivo foi incorporado no sistema de acordo com suas características de solubilidade. O silicone *PEG-12 Dimethicone* (Fluid 193®) foi adicionado à fase aquosa e sua massa descontada da água.

Tabela 4: Composição das formulações adicionadas ou não de silicone.

Amostras	Óleo de andiroba (%)	Crodafos CES® (%)	*PEG-12 Dimethicone* (%)	Água recém destilada (%)
AndC	10	10	---	80
AndCS1	10	10	**1**	79
AndCS2	10	10	**2**	78
AndCS3	10	10	**3**	77
AndCS4	10	10	**4**	76
AndCS5	10	10	**5**	75

Legenda: AndC = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada; AndCS1 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 1,0 % de silicone; AndCS2 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 2,0 % de silicone; AndCS3 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 3,0 % de silicone; AndCS4 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 4,0 % de silicone; AndCS5 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 5,0 % de silicone.

4.2.1.4 Análise macroscópica das formulações

A análise macroscópica foi realizada vinte e quatro horas após o preparo das amostras (estabilidade intrínseca) de acordo com Roland *et al.* (2003). Foram observadas as características organolépticas e a homogeneidade das formulações indicando prováveis processos de instabilidade (Ferrari *et al.,* 2003). As emulsões macroscopicamente estáveis foram submetidas a análise microscópica e testes preliminares de estabilidade.

4.2.1.5 Análise microscópica das formulações

Uma pequena quantidade das formulações foi colocada sobre uma lâmina de vidro, cobrindo-a com uma lamínula, e em seguida submetida à análise microscópica (Microscópio Olympus BX-50). Foi avaliada a homogeneidade da dispersão e, com auxílio de polarização, observada a presença de áreas de anisotropia. Somente as emulsões que apresentaram anisotropia foram selecionadas para prosseguir o estudo. O aspecto microscópico das estruturas anisotrópicas foi utilizado para a caracterização do tipo de fase líquido-cristalina presente, conforme descrito em Tyle, 1989.

4.2.1.6. Determinação do tipo de emulsão

Para avaliação do tipo de emulsão (A/O ou O/A) foi utilizado o teste de diluição que consiste na determinação da solubilidade da fase externa da emulsão em dois solventes, água ou óleo mineral (Davis, 1977; Prista *et al*., 1996). Foram adicionados 3,0 g (Balança eletrônica - Marte, Mod. AS 2000) da emulsão em um tubo de ensaio contendo 7,0 mL de água destilada. Com o auxílio de um “mixer” de

tubos (Phoenix-Mod. AP 56) a mistura foi homogeneizada e o aspecto avaliado (Massaro *et al*., 2003).

Foi utilizado o seguinte critério para classificação do tipo de emulsão:

Emulsão O/A = quando a mistura apresentou-se com aspecto homogêneo;

Emulsão A/O = quando a mistura apresentou-se com aspecto não homogêneo, com aparência de mistura coagulada.

Para confirmar os resultados foi elaborada uma contra prova adicionando-se 3,0 g da emulsão a 7,0 mL de vaselina líquida e realizado o mesmo protocolo, porém com critérios de classificação opostos.

4.2.1.7 Testes preliminares de estabilidade da emulsão

As emulsões classificadas como macroscopicamente estáveis, após vinte e quatro horas de sua manipulação foram submetidas aos testes preliminares de estabilidade: centrifugação e estresse térmico.

4.2.1.7.1 Teste de centrifugação

Em tubo de ensaio cônico graduado para centrífuga foram adicionados 5,0 g de cada amostra e submetidas a ciclos de 1000, 2500 e 3500 rpm correspondentes a 70, 440 e 863 G respectivamente (Fanem Ltda - Mod 206 R, Excelsa BABY II-440 watts) permanecendo durante quinze minutos em cada rotação à temperatura ambiente (Ribeiro *et al*., 1996; Ferrari *et al.*, 2003; Masson *et al*., 2005). Após cada ciclo as amostras foram analisadas para observação da manutenção da homogeneidade ou presença de sinais de separação de fases.

4.2.1.7.2 Estresse térmico

As emulsões testes acondicionadas em frascos plásticos de polietileno fechados foram submetidas ao aquecimento em banho termoestabilizado (Nova Técnica Ltda-Mod. 281 NT) na faixa de temperatura de 40 ± 2 a 80 ± 2 °C. O aumento de temperatura foi programado de 5 em 5 °C, mantendo-se por trinta minutos em cada temperatura (Braconi *et al*., 1995). As leituras foram realizadas imediatamente antes de cada aumento de temperatura.

Para os testes de análise macroscópica, centrifugação e estresse térmico a seguinte nomenclatura foi empregada para classificá-los (Ribeiro *et al.,* 1996):

N = Normal, sem alteração;

LM = Levemente Modificado;

M = Modificado.

4.2.1.8 Determinação do valor de pH

Em um tubo de ensaio foram adicionados 1,0 g da emulsão e 9,0 g de água recém destilada. Com auxílio do “mixer” de tubos a amostra foi homogeneizada e o valor do pH foi determinado inserindo o eletrodo (Analion pH-metro-Mod. PM608) na solução da amostra (Davis, 1977). Este teste foi realizado em duplicata.

4.2.1.9 Determinação da condutividade elétrica

Utilizando o condutivímetro (DIGIMED Mod. CD-20) aferido com solução padrão de KCl 0,1 N, foi avaliada a condutividade elétrica das emulsões à temperatura de 25 ± 2 °C inserindo o eletrodo diretamente na amostra (Prista *et al*., 1996; Davis, 1997). Este teste foi realizado em duplicata.

4.2.1.10 Determinação da viscosidade e comportamento reológico

A determinação da viscosidade e comportamento reológico foi realizada em um Reômetro (Brookfield LVDV III), operando o *software* Rheocalc, utilizando o *spindle* SC-25 e adaptador para pequenas amostras. As medidas foram feitas empregando-se valores crescentes de velocidade de rotação para obter-se a curva ascendente e o procedimento foi repetido no sentido inverso com valores decrescentes de velocidade para obter-se a curva descendente.

A integração numérica das curvas do reograma foi realizada pelo *software* Microcal™ Origin™ versão 6.0 e a área entre as curvas ascendente e descendente foram obtidas para o cálculo da área de histerese.

A avaliação das amostras foi realizada no 1°, 7º, 15º e 30° dias.

Com valores obtidos de viscosidade aparente, e de acordo com a lei de Ostwald (equação 1), foram determinados os valores dos índices de consistência e de fluxo (Rodrigues, 1999).

$$\delta = K \cdot D^n \qquad \text{(equação 1)}$$

Onde:

δ= tensão de cisalhamento;

D= gradiente de cisalhamento;

K= índice de consistência;

n = índice de fluxo.

4.2.1.11 Determinação do potencial zeta

Foi determinada a mobilidade eletroforética e a partir desta o valor de potencial zeta utilizando o DELSA 440 SX (Coulter Eletronics, MA, USA). Este

sistema analisa a mobilidade de partículas e colóides (0,02 a 30,0 µm de diâmetro) em dispersões líquidas utilizando medições independentes e simultâneas com laser Doppler em quatro ângulos diferentes (8,9, 17,6, 26,3, 35,2°).

As amostras foram diluídas em água destilada até concentração adequada para realização da análise no equipamento, e em seguida introduzida na célula de leitura prosseguindo com a determinação dos valores de potencial zeta e granulometria.

4.2.1.12 Testes de estabilidade acelerada (TEA)

As amostras que foram consideradas estáveis pelos testes preliminares, foram submetidas ao teste de estabilidade acelerada. Cinqüenta gramas de cada uma delas foram acondicionadas em frascos plásticos de polietileno e mantidas em diferentes condições de temperatura por trinta dias. As condições foram (Ribeiro *et al*., 1996; Ferrari *et al.*, 1998):

- Temperatura ambiente (25 ± 3 °C);
- Geladeira (Clímax - Mod. RC 240 litros, temperatura de 4 ± 2 °C);
- Estufa (Estufa Fanem Ltda - Mod. 002CB, temperatura de 45 ± 2 °C).

As amostras foram analisadas nos 1°, 7°, 15° e 30° dias de permanência em cada condição, sendo o 1° dia correspondente a 24 horas após o preparo das formulações. Os testes utilizados para avaliação da estabilidade foram: macroscopia, microscopia sob luz polarizada, potencial zeta e reologia.

Simultaneamente, as amostras foram submetidas ao Ciclo gela-degela: onde as amostras foram mantidas a 4 ± 2 °C por 24 horas e na seqüência a 45 ± 2 °C por 24 horas completando assim um ciclo. As leituras foram realizadas antes do início do teste e ao término do 1º e 6° ciclo (12° dia).

Para classificação das amostras foram utilizados os mesmos parâmetros empregados e descritos no item 4.2.1.7.

4.2.1.13 Estudo da alteração das fases líquido-cristalinas durante a evaporação da emulsão

A avaliação do efeito da evaporação da emulsão sobre as fases líquido-cristalinas foi realizada a partir de dois métodos: estudo do diagrama de fases e evaporação da emulsão final pronta de acordo com metodologia preconizada por Santos *et al*. (2006).

4.2.1.13.1 Diagrama de fases

Através do diagrama de fases pode-se simular o comportamento da emulsão durante a evaporação. Várias dispersões foram manipuladas com a proporção entre os componentes determinada por uma reta no diagrama de fases (Figura 7). Para a simulação da evaporação, a proporção entre óleo e tensoativo foi mantida fixa variando-se a quantidade de água, simulando assim, a diminuição gradativa do conteúdo aquoso da emulsão considerando-se que os outros componentes da formulação não evaporam nas condições normais de armazenamento e uso.

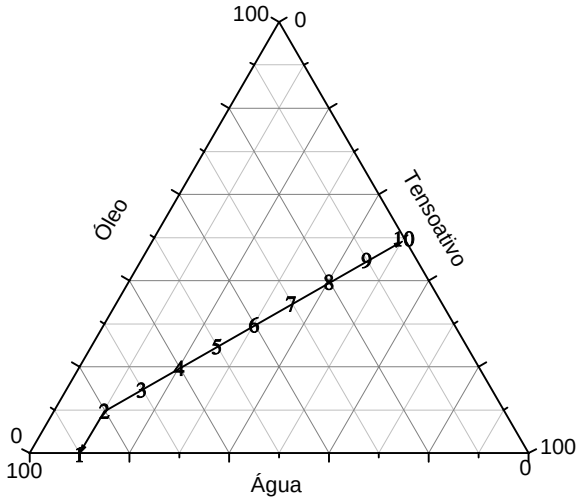

Figura 7: Diagrama de fases da evaporação de água da emulsão.

As diferentes formulações foram manipuladas de acordo com a técnica previamente descrita no item 4.2.1.1. As dispersões obtidas foram submetidas às análises macroscópicas, microscópica, tipo de emulsão e testes preliminares de estabilidade.

4.2.1.13.2 Teste de evaporação

Foram manipuladas emulsões com as seguintes proporções entre os componentes (Tabela 5):

Tabela 5: Concentração das emulsões manipuladas para o teste de evaporação.

Amostras	Óleo de andiroba (%)	Crodafos CES® (%)	Fluid 193® (%)	Água recém destilada (%)
AndC	10	10	---	80
AndCS1	10	10	1	79
AndCS5	10	10	5	75

Legenda: AndC = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada; AndCS1 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 1,0 % de silicone; AndCS5 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 5,0 % de silicone.

As emulsões manipuladas foram colocadas sobre uma lâmina de microscópio em uma área delimitada (± 2,5 cm²) por duas lamínulas (Figura 8). As amostras foram espalhadas uniformemente para atingir a espessura das lamínulas (0,02 mm), visando à formação de uma película delgada e homogênea permitindo uma evaporação uniforme da água.

Figura 8: Lâmina para aplicação das emulsões do teste de evaporação (Santos, 2006).

As lâminas com as amostras foram colocadas em uma balança de determinação de umidade e perda de massa (Mettler-Mod. P160N), previamente tarada e submetidas ao aquecimento à temperatura de 70 °C através de lâmpada de infravermelho. As amostras foram recolhidas a cada 10,0 % de perda de massa para a avaliação microscópica do resíduo, sendo que para cada ponto foi preparada uma nova lâmina, evitando variações devido a retirada de amostra e interrupção do aquecimento.

4.2.2 Avaliação *in vivo* da hidratação, oleosidade e valor de pH cutâneo

Após a devida aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP – Protocolo nº 85 (Anexo A), a avaliação da atividade cutânea das emulsões com cristais líquidos foi realizada em sala climatizada com umidade relativa e temperatura, controladas (UR: 60 ± 3 %; T: 22 ± 2 °C). Participaram do estudo como voluntárias 15 mulheres brancas, sadias, com idade entre 18 e 25 anos, sem histórico de reações alérgicas a produtos cosméticos e com a pele do

antebraço íntegra. O local de aplicação das amostras foi lavado com sabão neutro antes do início do experimento, permanecendo as voluntárias na sala de teste por 15 minutos para aclimatação. Posteriormente as emulsões foram aplicadas, massageando-se com movimentos suaves e circulares até que não permanecessem resíduos na pele. Durante a realização do teste as voluntárias foram mantidas em repouso na sala.

O antebraço foi dividido em três regiões (Figura 9) onde as formulações teste foram aplicadas aleatoriamente, variando-se entre as regiões de aplicação entre as voluntárias.

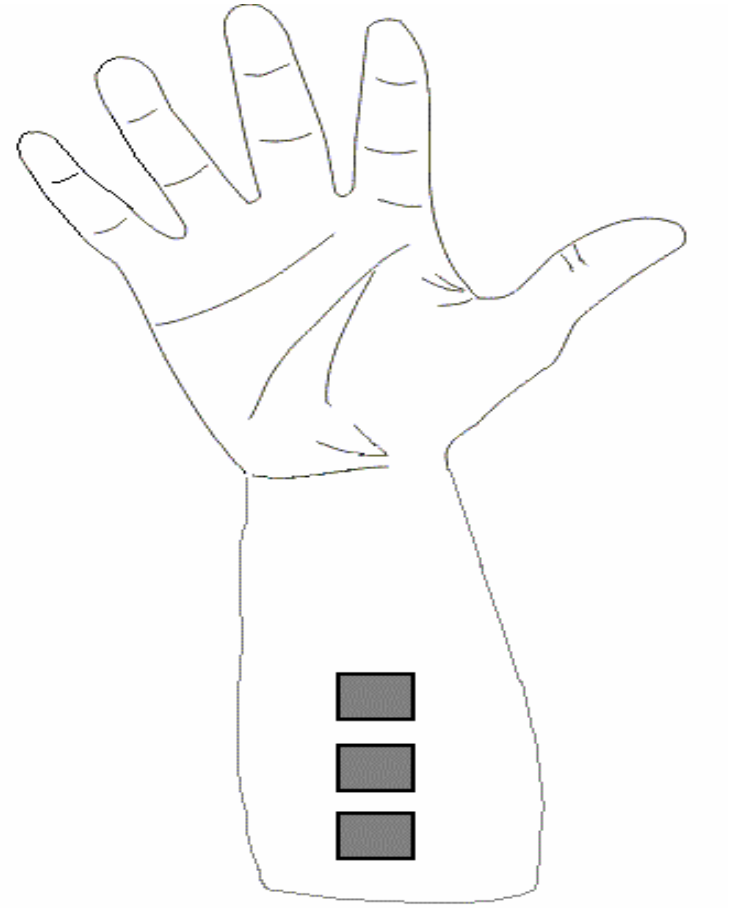

Figura 9: Locais demarcados para a aplicação das amostras do teste de atividade cosmética *in vivo* (Santos, 2006).

4.2.2.1 Teste de atividade hidratante

Foi utilizado para a avaliação da hidratação cutânea o equipamento Corneometer CM 820 (COURAGE + KHAZAKA), que mede a capacitância da pele. Este método baseia-se no fato de que as constantes dielétricas da água e de outras substâncias são variáveis. Um capacitor reage a alterações da quantidade de água, expressando o resultado em Unidades Arbitrárias - UA, utilizado para definição do grau de hidratação da pele. A leitura indica o grau de hidratação cutânea antes e após a aplicação do produto.

Para avaliação do efeito hidratante, foram realizadas três leituras de cada região e calculada a hidratação relativa (HR%) que consiste na variação percentual entre a capacitância mensurada em função do tempo. Para isso foi utilizada a seguinte fórmula matemática:

$$\mathbf{HR}\,\% = \frac{100\,\mathbf{M_p}}{\mathbf{M_c}} \qquad \text{(equação 3)}$$

Onde:

HR% = Hidratação relativa;

Mp = Média da capacitância das leituras das regiões de aplicação de produto;

Mc = Média da capacitância das leituras da região controle.

As leituras foram feitas em intervalos de 30 minutos até completar o período de 150 minutos. Entre as leituras, a sonda do equipamento foi limpa delicadamente com papel, pressionando o sensor até que o valor lido fosse zero.

4.2.2.2 Determinação da oleosidade cutânea

O equipamento Sebumeter SM 810 mede a oleosidade cutânea baseado na fotometria de uma fita plástica especial inserida em um cassete que se torna transparente na presença de lipídeos, medindo indiretamente o volume de secreção sebácea das glândulas e das diferenças resultantes de cada tipo de pele.

A leitura foi realizada aplicando sobre a área teste a fita pressionando por 30 segundos, em seguida a mesma foi inserida no equipamento que fez a leitura fotométrica da transparência. Este dado foi convertido pelo aparelho sendo o resultado expresso em µg de sebo por cm^2.

4.2.2.3 Teste do valor de pH cutâneo

A avaliação do valor do pH cutâneo pôde ser realizada diretamente na superfície da pele que possui características muito similares a soluções aquosas devido às suas excreções e hidratação. Para isto, foi utilizado o equipamento *Skin-pH-meter* PH 900 (COURAGE + KHAZAKA) que mensura o valor do pH cutâneo por eletroquímica através de um eletrodo adaptado a leituras de superfícies como a da pele.

Foram realizadas três leituras dos valores de pH cutâneo das regiões em cada intervalo de tempo. A partir das médias foram calculadas as variações percentuais relativas entre as regiões de aplicação dos produtos e a região controle. As leituras foram realizadas em intervalos de 30 minutos até completar o período de 150 minutos. No intervalo das leituras o eletrodo foi lavado com água destilada e seco levemente com papel.

A avaliação da hidratação e valor do pH cutâneo foram feitos de acordo com o protocolo proposto por Maruno (1998).

4.2.2.4 Avaliação sensorial

Neste estudo as voluntárias aplicaram uma quantidade padronizada (200 mg) das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 em regiões distintas na porção inferior média dos antebraços, e em seguida receberam um questionário (Apêndice D) de avaliação sensorial no qual constavam perguntas relacionadas a toque e pegajosidade, espalhabilidade, sensação imediata e sensação após 5 minutos da aplicação (Camargo Junior, 2006).

4.2.2.5 Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos nos testes de estabilidade acelerada, tais como valor de pH, comportamento reológico e potencial zeta; avaliação *in vivo* da hidratação, oleosidade e valor de pH cutâneo e avaliação sensorial foram submetidos a análise estatística para detecção de diferença significativa entre os resultados obtidos em cada tempo e condição a que foram submetidas as formulações. Foi feita a análise de variância one-way ANOVA (Software SigmaStat 3.5) em nível de significância de 95 %.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinações das concentrações de fases oleosa/ aquosa/ tensoativo através do diagrama ternário

As formulações foram preparadas de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.1 e avaliadas macro e microscopicamente, logo após manipulação e vinte quatro horas do preparo, e também analisada macroscopicamente após centrifugação.

No Apêndice A, encontram-se a composição dos trinta e seis pontos iniciais do diagrama ternário. Com os resultados do estudo do diagrama de fases pudemos observar áreas de formação de emulsões estáveis entre os pontos 33 a 36, e áreas com dispersões estáveis com aspecto de cera entre os pontos 29 a 32. As outras formulações obtidas foram classificadas como dispersões instáveis, pois apresentaram separação de fases. As emulsões macroscopicamente estáveis sem aspecto ceroso foram submetidas à análise microscópica após 24 horas, revelando a formação de cristais líquidos, identificados como lamelares. Estas foram escolhidas pois levou-se em consideração o tipo de aplicação proposta para as emulsões desenvolvidas, o que é inviabilizada pela alta viscosidade.

A formulação de número 36 foi considerada a mais adequada quando comparada às formulações de números 33 a 35 que apresentaram macroscopicamente maior consistência e microscopicamente glóbulos com tamanho, distribuição e formação de cristais líquidos heterogêneos.

Para que fosse possível determinar a proporção mais próxima de onde ocorrem os sinais de instabilidade e a separação de fases, foi preciso estreitar as concentrações do diagrama ternário dos três componentes em 5,0 %. Esse estreitamento foi feito apenas na região da área estável contendo cristal líquido, para

melhor elucidação da região estável, e assim originou-se as formulações de números 37 a 57 representadas no Apêndice B.

Na análise das formulações obtidas com o estreitamento do diagrama ternário observou-se a formação de glóbulos múltiplos em algumas formulações, associados a presença de fases líquido-cristalinas e tanto estas como as demais emulsões simples apresentaram-se altamente viscosas e instáveis. O resultado final do diagrama de fases está demonstrado na Figura 10.

A formação dos glóbulos múltiplos foi considerada como um tipo de instabilidade do sistema. O processo empregado para obtenção das emulsões baseia-se na inversão de fases, o que porventura pode levar a transições incompletas, caracterizadas pela formação de emulsão dupla (Morais *et al.*, 2006). Este método pode levar a produtos estáveis, porém não pode ser aplicado para o sistema emulsionado em estudo.

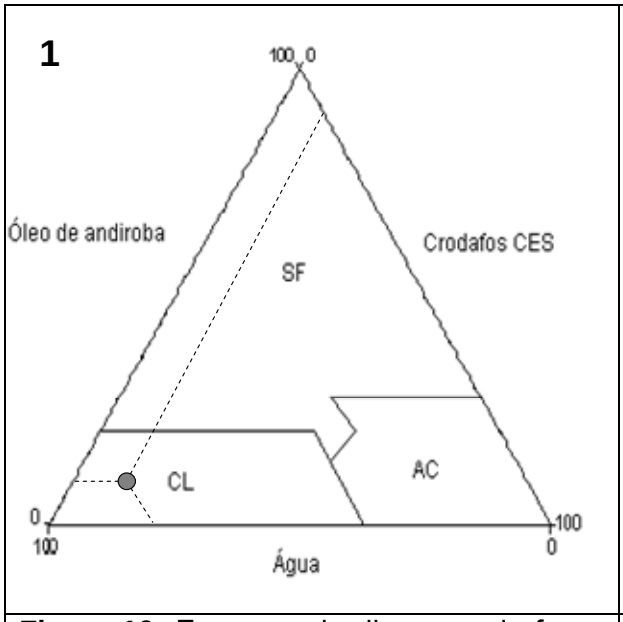

Figura 10: Esquema do diagrama de fases 1 contendo óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada; onde: SF = separação de fases; AC = aspecto de cera; CL = cristal líquido; ● = emulsão escolhida.

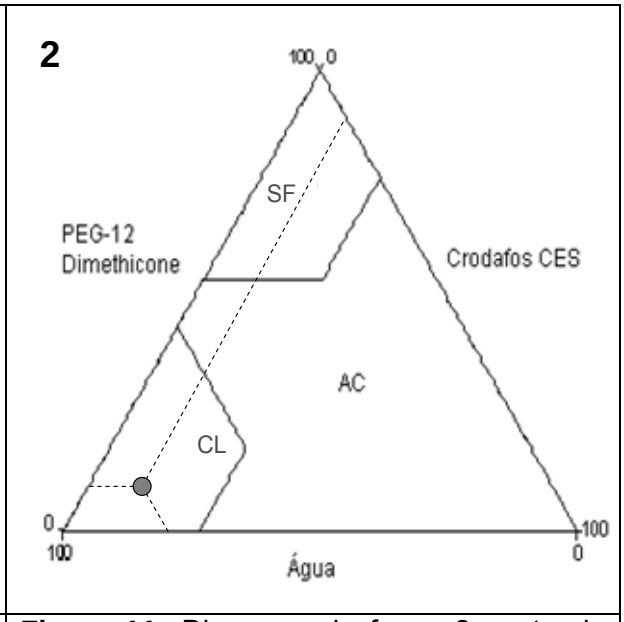

Figura 11: Diagrama de fases 2 contendo *PEG-12 Dimethicone* (Fluid 193®), Crodafos CES® e água destilada, onde: SF = separação de fases; AC = aspecto de cera; CL = cristal líquido; ● = emulsão escolhida

A formulação de número 36 do diagrama ternário contendo óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada (Figura 9 ●) foi selecionada para dar seqüência a pesquisa devido à intensa presença de cristais líquidos lamelares, às características e estabilidade física apresentadas, e menor viscosidade aparente.

Apesar disto, esta formulação ainda apresentou características indesejáveis como aeração e cremosidade. Pensando nisto, foi produzido outro diagrama trocando o óleo de andiroba por *PEG-12 Dimethicone* (Figura 11).

Comparando-se então os dois diagramas (Figuras 10 [1] e 11 [2]) observamos que as regiões que apresentaram SF, AC e CL são semelhantes, porém em diferentes proporções onde para o diagrama 1, contendo óleo de andiroba, obteve-se uma extensa região com SF e uma região menor com AC enquanto que, no diagrama 2, contendo silicone, o oposto foi observado (Andrade *et al.*, 2007).

Esses resultados sugerem uma correlação entre ambos os diagramas, onde a variação da concentração de componentes das formulações que apresentaram fases líquido-cristalinas lamelares foi similar (Tabela 6).

Tabela 6: Variação da concentração dos componentes da região CL dos diagramas ternários 1 e 2 (Figuras 10 e 11).

Componentes	**Taxa dos componentes (%)**	
	Diagrama ternário 1 (com óleo de andiroba)	**Diagrama ternário 2** (com *PEG-12 Dimethicone*)
Óleo de andiroba	≥ 5 ≤ 15	_____
Crofafos CES®	≥ 5 ≤ 40	≥ 5 ≤ 25
Água destilada	≥ 55 ≤ 90	≥ 60 ≤ 90
PEG-12 Dimethicone	_____	≥ 10 ≤ 30

Após análise comparativa dos diagramas ternários foi possível observar que a substituição do óleo de andiroba pelo *PEG-12 Dimethicone* não interferiu na formação de estruturas líquido-cristalinas como mostra a Figura 11 (campo CL ●).

Sendo assim decidiu-se prosseguir os estudos escolhendo a formulação contendo óleo de andiroba 10,0 % (p/p), Crodafos CES® 10,0 % (p/p) e água destilada 80,0 % (p/p) e a esta foi adicionado silicone em diferentes concentrações (1,0 a 5,0 %) como mostra Tabela 7, a fim de verificar a influência do mesmo e a possibilidade de melhora nas características do sistema (Andrade *et al.*, 2007).

Tabela 7: Composição das formulações adicionadas ou não de silicone.

Amostras	Óleo de andiroba (%)	Crodafos CES® (%)	*PEG-12 Dimethicone* (%)	Água recém destilada (%)
AndC	10	10	---	80
AndCS1	10	10	1	79
AndCS2	10	10	2	78
AndCS3	10	10	3	77
AndCS4	10	10	4	76
AndCS5	10	10	5	75

Legenda: AndC = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada; AndCS1 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 1,0 % de silicone; AndCS2 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 2,0 % de silicone; AndCS3 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 3,0 % de silicone; AndCS4 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 4,0 % de silicone; AndCS5 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 5,0 % de silicone.

Estas formulações foram submetidas aos testes preliminares de estabilidade: centrifugação, teste de diluição, estresse térmico, identificação das fases mesomórficas, determinação do valor de pH e condutividade elétrica.

5.2 Testes de estabilidade preliminar

O estudo de estabilidade preliminar não tem a finalidade de estimar a vida útil do produto, e sim auxiliar na triagem das formulações (ANVISA, 2004).

De acordo com os resultados preliminares (Tabela 8) as formulações foram classificadas como emulsão do tipo O/A, e não apresentaram separação de fases no

teste de centrifugação. A centrifugação acelera a desestabilização simulando o período de validade do produto. Segundo Latreille e Paquin (2006), se a estabilidade é diretamente proporcional à força gravitacional, o comportamento em longo prazo das emulsões pode ser estimado pela centrifugação em velocidades moderadas. Existe consenso científico de que o tempo de validade de um produto cosmético em condições normais de estocagem possa ser rapidamente prevista pela observação da separação da fase dispersa devido à cremeação ou coalescência quando a emulsão é submetida à centrifugação. Portanto, nossos resultados mostraram que as emulsões apresentaram-se fisicamente estáveis conforme literatura (Masson *et al.*, 2005).

As formulações AndC e AndCS5 apresentaram maior resistência à separação de fases com o aumento da temperatura durante o teste de estresse térmico (modificação total a 75 °C), enquanto as formulações AndCS1, AndCS2, AndCS3 e AndCS4, apresentaram-se modificadas a temperatura de 65 °C. Esta separação de fases com o aumento da temperatura pode ser associada ao mecanismo de estabilização das emulsões, pois sistemas que se baseiam na formação de cristais líquidos possuem maior sensibilidade a altos valores de temperatura devido a transição de fases destas estruturas (Santos; Rocha Filho, 2007).

Tabela 8: Resultados dos testes preliminares de estabilidade das emulsões.

Amostras	Centrifugação (rpm)		Solubilidade da Emulsão		Estresse Térmico (°C)					Cristais líquidos
	2500	3500	Óleo	Água	55	60	65	70	75	
AndC	N	N	-	+	N	N	LM	LM	**M**	+
AndCS1	N	N	-	+	N	N	**M**	**M**	**M**	+
AndCS2	N	N	-	+	N	LM	**M**	**M**	**M**	+
AndCS3	N	N	-	+	N	LM	**M**	**M**	**M**	+
AnndCS4	N	N	-	+	N	LM	**M**	**M**	**M**	+
AndCS5	N	N	-	+	N	N	LM	LM	**M**	+

Legenda: AndC = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES® e água destilada; AndCS1 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 1,0 % de silicone; AndCS2 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 2,0 % de silicone; AndCS3 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 3,0 % de silicone; AndCS4 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 4,0 % de silicone; AndCS5 = amostra composta por óleo de andiroba, Crodafos CES®, água destilada e 5,0 % de silicone; N= normal; LM = levemente modificado; M = modificação total; - = insolúvel, + = solúvel e/ou presença de cristal líquido.

Os valores de pH para todas as formulações apresentaram-se com caráter ácido e observou-se aumento nos valores da condutividade elétrica com a adição de silicone. Esse aumento pode estar associado à existência de maior quantidade de água livre nos sistemas, considerando que o silicone empregado não apresenta cargas iônicas que justificaria o aumento da condutividade da fase externa. Segundo Kirhonen *et al*. (2001), o aumento de água livre está relacionado com a diminuição da consistência, o que observamos macroscopicamente nas formulações acrescidas de silicone, o qual pode ter interagido com o tensoativo levando a diminuição da formação de espuma e possivelmente na extinção das fases lamelares obtidas.

5.2.1 Identificação das fases mesomórficas

As fotomicrografias das emulsões mostraram a presença de estruturas líquido-cristalinas do tipo lamelar (Figura 12). A adição de *PEG-12 Dimethicone* não alterou o aspecto microscópico das fases líquido-cristalinas das formulações AndCS1, AndCS2, AndCS3, AndCS4 e AndCS5.

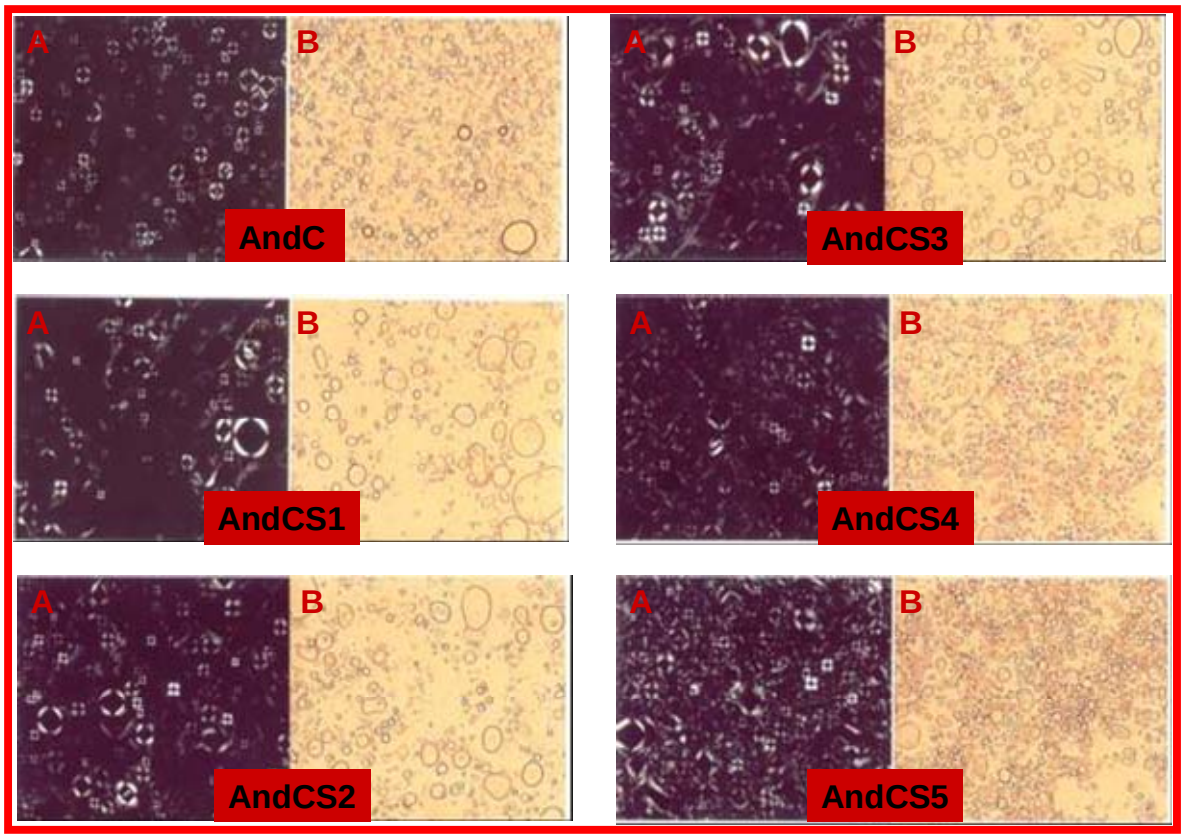

Figura 12: Fotomicrografias com e sem luz polarizada (campos A e B respectivamente) das formulações após 24 horas (aumento 200x).

Após 150 dias foi observado que nas emulsões com silicone, a fase líquido-cristalina foi menos alterada do que a emulsão sem o mesmo (Figura 13). Alguns derivados de silicone têm atividades superficiais significativas devido a frágil energia de coesão das cadeias lipofílicas, grupos poli(dimetilsiloxano), os quais consistem de muitos grupos metila que reduzem a tensão superficial. Copolímeros de silicone formam diferentes estruturas organizadas quando em solução ou quando se fundem dependendo da concentração utilizada de cada copolímero. No caso da cadeia de poli(dimetilsiloxano) que é muito flexível no estado líquido à temperatura ambiente, copolímeros poli(oxietileno)-poli(dimetilsiloxano) são formados originando cristais líquidos em água ou em óleo. Estas estruturas poderiam ter sido formadas com o

tempo preservando os cristais líquidos nas formulações que o contém (Kunieda *et al.*, 2001a; 2001b).

De acordo com Somasundaran *et al.* (2007), enquanto silicones iônicos são utilizados como modificadores das propriedades reológicas (aumento da viscosidade) das formulações de produtos cosméticos, os silicones não-iônicos e aniônicos (*PEG-12 Dimethicone*) provocam diminuição da viscosidade. Diminuição essa constatada mais adiante com o estudo do comportamento reológico.

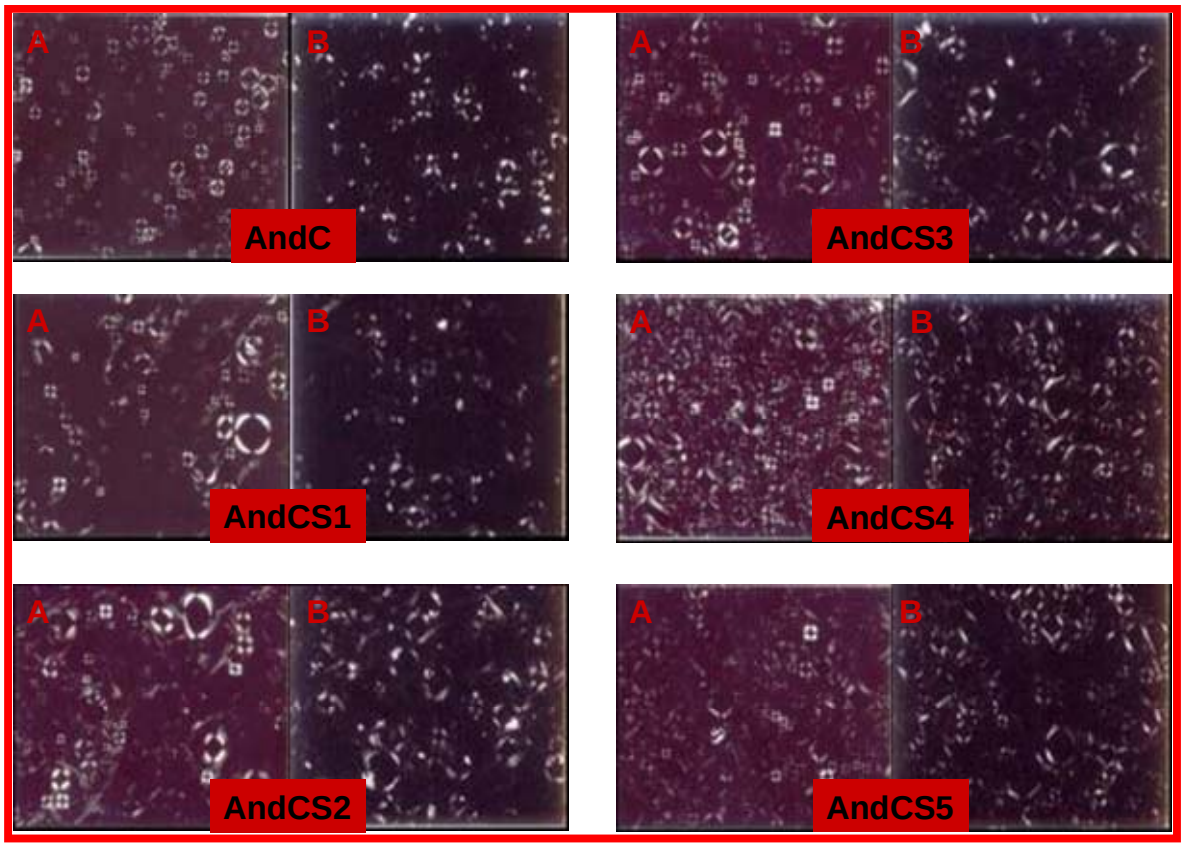

Figura 13: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações após 24 horas (campos A) e após 150 dias (campos B) (aumento 200x).

Entretanto, nas amostras acrescidas de silicone, observou-se macroscopicamente diminuição significativa da aeração da emulsão inerente a atividade do *PEG-12 Dimethicone*, que pela diminuição da tensão interfacial evita a incorporação de ar e formação de espuma, assim como indiretamente, ocasiona

diminuição no tamanho dos cristais líquidos formados estabilizando as dispersões obtidas e que foi constatado pelo aumento da condutividade das amostras.

5.2.2 Determinação do comportamento reológico das amostras após 24 horas, 15 e 150 dias

De acordo com a análise do comportamento reológico (Figura 15), todas as emulsões apresentaram fluxo pseudoplástico mostrado pelos valores do índice de fluxo entre 0,1 e 1,0, e resultados do rendimento do índice de consistência (Figura 14). As emulsões com *PEG-12 Dimethicone* possuem menor viscosidade aparente do que aquela com ausência do mesmo. Esta é uma característica importante, pois não houve mudança no tipo de comportamento reológico das formulações estudas, assim, a adição de silicone também pode ser usada como agente controlador de viscosidade.

Quinze dias após o preparo, todas as formulações apresentaram aumento nos valores de viscosidade. Esse resultado pode sugerir que o sistema emulsionante aumenta a organização das estruturas microscópicas em função do tempo. De acordo com Tyle (1989), as emulsões que apresentam formação de cristal líquido após fabricação, apresentam aumento na viscosidade em função do tempo, o que foi observado nas emulsões analisadas (Eccleston *et al.*, 1990). O sistema apresenta maior estabilidade, o que pode ser causada pela organização da microestrutura da emulsão e pela presença das fases líquido-cristalinas, evitando a movimentação dos glóbulos e diminuindo a ação das forças de van der Waals que poderiam ocasionar a separação de fases (Tyle, 1989; Eccleston *et al.*, 1990). Após 150 dias as emulsões apresentaram pequena diminuição nos valores de viscosidades em relação ao período de 15 dias.

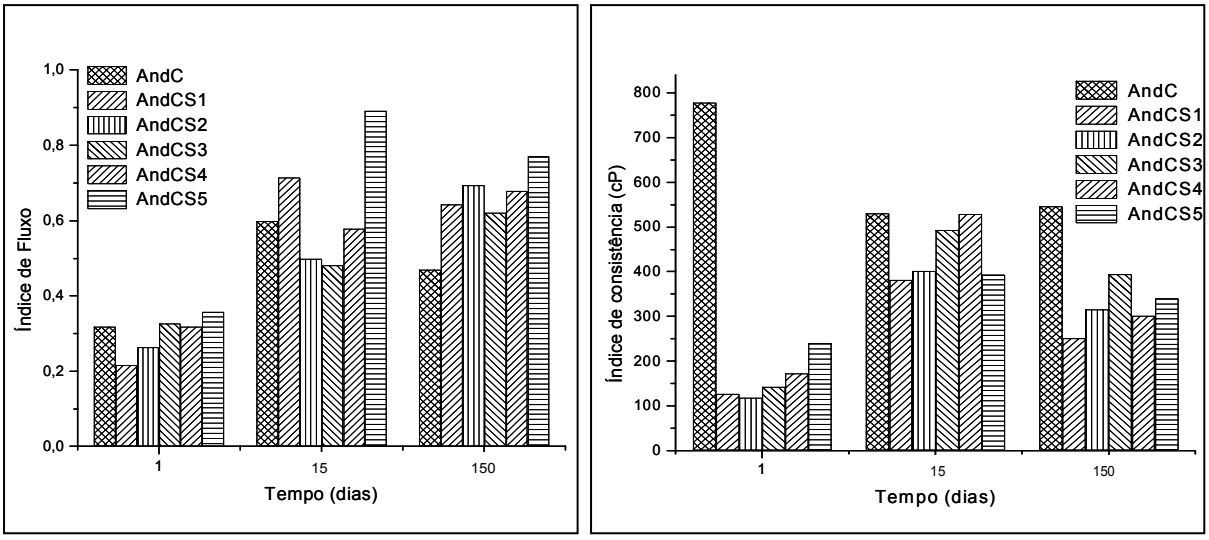

Figura 14: Valores dos índices de fluxo e consistência (cP).

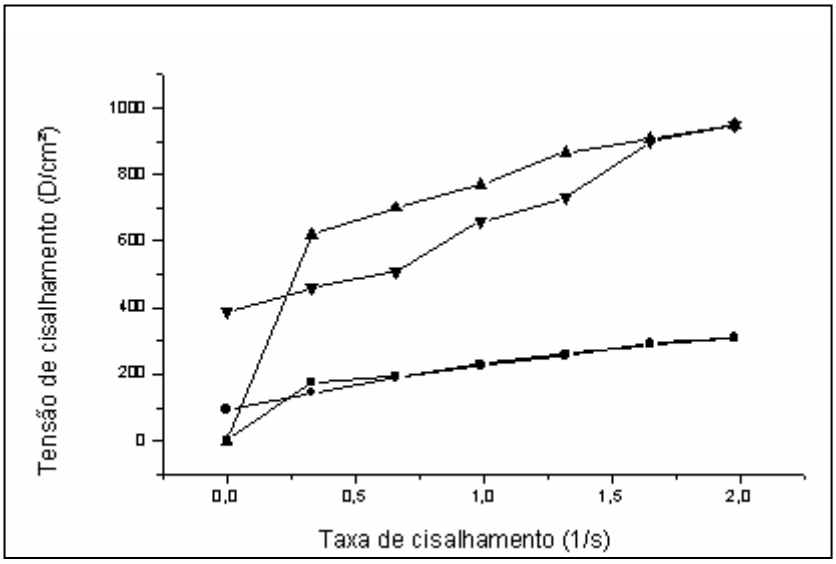

Figura 15: Perfil reológico da emulsão AndC (curva superior ▲▼) e da emulsão AndCS5 (curva inferior ■ ●) após 24 horas.

5.2.3 Determinação do potencial zeta

A teoria DLVO, (em homenagem aos seus autores Derjaguin, Landaw, Vervey e Overbeek) que descreve a estabilidade de sistemas dispersos através de dois potenciais independentes, se baseia no equilíbrio entre as forças de repulsão eletrostática da camada dupla (positiva) e as de atração tipo van der Waals (negativa). A energia potencial total é a carga líquida, resultado da diferença entre os potenciais negativo e positivo. O ponto de máxima energia de repulsão (onde há o predomínio máximo do potencial de repulsão/positivo) é denominado barreira energética e o valor desta barreira indica a estabilidade do sistema (Lieberman *et al*., 1988).

Na análise do potencial zeta foi verificado que todas as formulações apresentaram valores negativos entre $|33,0|$ e $|70,0|$ mV (Figura 16). Nesta faixa de valores estão classificadas as emulsões com grande estabilidade física. De acordo com Roland *et al.* (2003) emulsões com valores de potencial zeta superiores a 40,0, em módulo, possuem forças repulsivas maiores do que as atrativas entre os glóbulos. Quanto maior esse valor, melhor a estabilidade eletrostática no sistema disperso.

Após 15 dias, observou-se que os valores do potencial zeta diminuíram influenciando o mecanismo eletrostático. Não foram observados sinais de instabilidade nas emulsões, provavelmente em conseqüência do aumento na organização das fases líquido-cristalinas, refletida pelo aumento da viscosidade. Apesar deste efeito negativo sobre os valores de potencial zeta, a formação das fases líquido-cristalinas equilibra a estabilidade das emulsões devido a atuação sobre o componente estérico de estabilização (Andrade *et al.*, 2007).

Quando os resultados do comportamento reológico e do potencial zeta são comparados, pode-se observar comportamento divergente durante o período do teste. Após 15 dias, as amostras tiveram aumento da viscosidade e diminuição dos valores de potencial zeta, após 150 dias, as amostras apresentaram diminuição da viscosidade e aumento dos valores de potencial zeta (em módulo). Supomos que a inversão em ambos os parâmetros poderia estar associada ao aumento de água livre no sistema, sendo esta intimamente relacionada com a estruturação das fases líquido-cristalinas na fase externa da emulsão (Gao *et al.*, 2004; Santos; Rocha Filho, 2007).

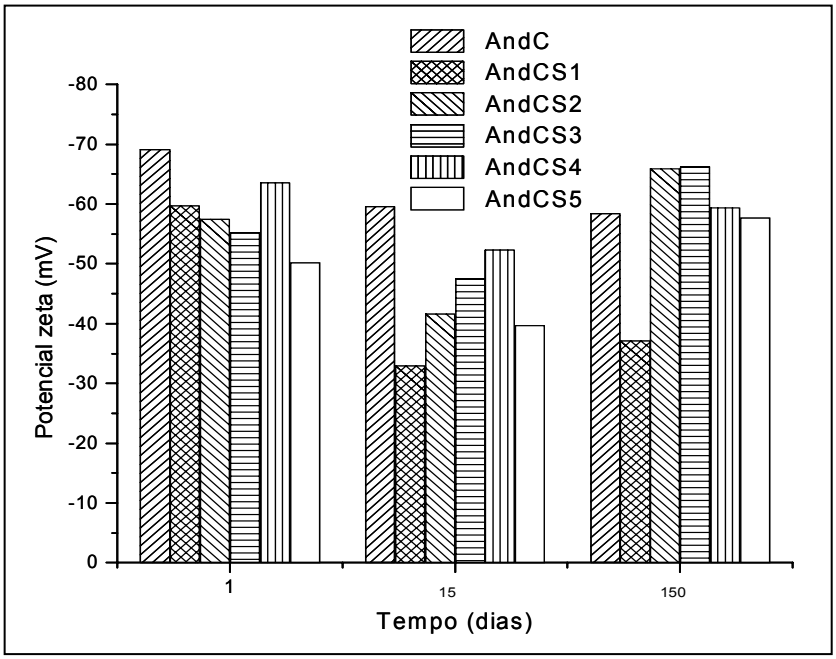

Figura 16: Valores do potencial zeta.

Quando as mesofases líquido-cristalinas aumentam a organização, expandem a estrutura, podendo produzir uma rede organizada em direção a fase aquosa externa. Essa fase é intumescida pela água e conseqüentemente diminui a quantidade de água livre na fase aquosa externa (Santos, 2006). Os valores de

viscosidade das formulações podem estar associados com a expansão da rede de fase líquido-cristalina.

Por outro lado, os valores de potencial zeta dependem dos íons dispersos na região de água livre, fora da estrutura do cristal líquido, para serem transportados para a região aquosa interna ao redor dos glóbulos (Figura 17). Ambos os resultados demonstraram que as mudanças nas fases líquido-cristalinas ocorreram devido a organização microscópica no período do teste.

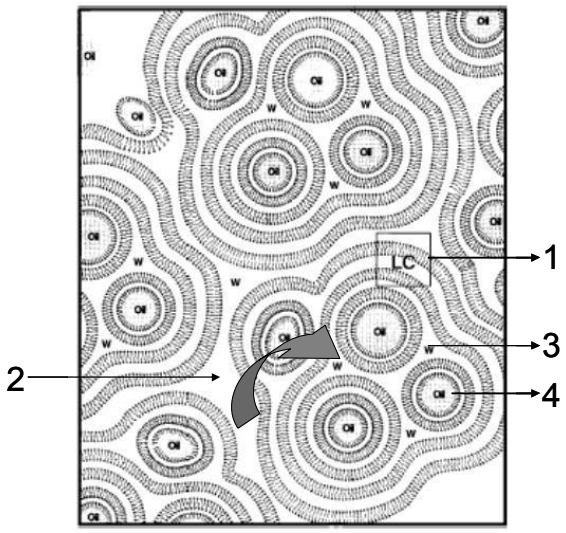

Figura 17: Esquema explicativo dos valores de potencial zeta em uma emulsão do tipo O/A contendo cristal líquido do tipo lamelar (CLL), onde: 1= estrutura CLL, 2 = fase aquosa externa contendo íons, 3 = fase aquosa interna entre a estrutura de CLL e o glóbulo de óleo; 4 = glóbulo de óleo; = transporte dos íons da região de água livre externa para região aquosa interna ao redor dos glóbulos (adaptado de Engels; Rybinski, 1998).

Os resultados mostraram que a formulação AndC constituída apenas pela base auto-emulsionante é capaz de formar cristal líquido lamelar, sendo provavelmente, responsável pela alta estabilidade das emulsões obtidas. Nesse estudo preliminar, o silicone não alterou a aparência microscópica da fase lamelar, além de preservar a estrutura cristalina durante o período do teste.

5.3 Testes de estabilidade acelerada (TEA)

As formulações de produtos cosméticos e produtos para cuidado pessoal devem apresentar características básicas, como estabilidade física por no mínimo de 2 a 3 anos sob as mais variadas condições; manter a consistência adequada para produzir boa sensação sobre a pele e espalhar-se durante a aplicação, e liberar os ingredientes ativos de maneira constante ou de forma conhecida. Portanto, é necessária a realização do teste acelerado de armazenagem para a previsão da estabilidade física de longo prazo da formulação, bem como da mudança de consistência com o tempo (Tadros *et al.*, 2007).

A maioria dos testes de previsão baseia-se em condições extremas de armazenamento do produto, onde se submete a formulação às alterações de temperatura e à centrifugação. Se considerarmos as mudanças na estrutura cristalina das formulações que podem ocorrer em valores críticos de temperatura poderá acontecer separação de fases do produto. Segundo Tadros *et al.* (2007), a avaliação reológica realizada nas primeiras semanas de desenvolvimento do produto poderá ser mais útil e com previsão mais segura sobre a estabilidade do sistema.

Para a realização do estudo do TEA foram selecionadas três formulações (AndC, AndCS1 e AndCS5), pois com as mesmas pudemos avaliar as diferenças entre a formulação sem silicone e as formulações com baixa (1,0 %) e alta (5,0 %) concentração de *PEG-12 Dimethicone*. As formulações foram submetidas a diferentes condições de armazenamento tais como temperatura ambiente – TA (25 ± 3 °C), geladeira – GEL (4 ± 2 °C), estufa – EST (45 ± 2 °C), e ciclo gela-degela – CGD, durante 30 dias.

Para os testes realizados a seguir foram preparadas duplicatas das formulações estudadas.

5.3.1 Testes de caracterização (valor de pH, estresse térmico, centrifugação e microscopia)

A – Avaliação do pH

O valor do pH é um importante parâmetro de monitoramento da estabilidade das emulsões, pois alterações neste parâmetro indicam a ocorrência de reações químicas que podem comprometer a qualidade do produto final. No caso de emulsões formuladas com óleos vegetais, uma diminuição no valor do pH pode ser decorrente da hidrólise dos ésteres de ácidos graxos, gerando ácidos graxos livres.

Estes reduzem o valor do pH das formulações, podendo portanto indicar a estabilidade das emulsões frente a diferentes condições de armazenagem. Além disso, o pH final das emulsões pode exercer influencia na extensão de ionização dos componentes da interface (Martini, 2005).

Os valores das médias aritméticas e de seus respectivos desvios padrão encontram-se na Tabela 9, assim como as diferenças estatísticas no nível de significância de 5,0 % (α = 5). Inicialmente observou-se que, independente das condições de temperatura de armazenagem, os valores de pH das amostras acrescidas de silicone foram sempre menores do que a amostra sem o mesmo, porém todas as formulações mantiveram-se acídicas com valores entre 2,2 e 3,5. Essa acidez pode ter ocorrido devido a possível hidrólise dos ésteres de ácidos graxos presentes no óleo de andiroba.

Principalmente após 15 dias de análise, observou-se diminuição significativa dos valores de pH para todas as formulações, que caíram da casa dos 3,0 para 2,2, fato este não observado após o 30° dia de análise. Devido à grande proximidade nos valores analisados após o 15° dia nas diferentes condições de armazenamento duas

hipóteses podem ser consideradas: o decréscimo observado pode ser devido à formação de ácidos graxos livres nas amostras e/ou falha instrumental.

Levando em consideração as duas hipóteses exposta, a análise estatística foi realizada de duas maneiras diferentes, onde uma das análises foi feita considerando os valores das leituras do 15° dia de experimento (Tabela 9) e a outra análise foi realizada desconsiderando os valores de pH obtidos no 15° dia do estudo.

Considerando a leitura do 15° dia, observou-se que os valores de pH das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 apresentaram diferença estatística significativa quando comparada nos diferentes dias à temperatura ambiente ($p = 0,038$; $p = 0,038$, $p = 0,010$ respectivamente), e apresentaram diferença estatística significativa quando comparou-se o primeiro dia (24 horas TA) com os diferentes dias em estufa ($p = 0,010$ para ambas). A formulação AndC ainda apresentou diferença comparando-se o primeiro dia (24 horas) com os diferentes dias em geladeira ($p = 0,038$).

Desconsiderando a leitura do 15° dia, observou-se que os valores de pH de todas as formulações mantidas tanto a TA, GEL e EST quanto no CGD, não apresentaram diferença estatística no nível de significância de 5,0 % ($\alpha = 5$). Esses valores se assemelham com os encontrados durante o teste de estabilidade preliminar.

Tabela 9: Valores de pH após 24 horas, 7, 15 e 30 dias, e ciclo gela-degela.

Condições	Tempo (dias)	Valores de pH		
		AndC	AndCS1	AndCS5
TA	1	3,2±0,0 [a b]	3,0±0,0 [a b]	3,0±0,0 [a b]
	7	3,2±0,0 [a]	3,0±0,0 [a]	2,9±0,0 [a]
	15	2,6±0,1 [a]	2,3±0,0 [a]	2,3±0,0 [a]
	30	3,4±0,0 [a]	3,2±0,0 [a]	3,2±0,0 [a]
GEL	7	3,3±0,1 [b]	3,0±0,0	3,0±0,1
	15	2,4±0,0 [b]	2,2±0,1	2,2±0,1
	30	3,4±0,0 [b]	3,3±0,0	3,2±0,0
EST	7	3,0±0,1 [b]	2,8±0,0 [b]	2,9±0,0 [b]
	15	2,5±0,1 [b]	2,3±0,2 [b]	2,3±0,2 [b]
	30	3,5±0,0 [b]	3,3±0,0 [b]	3,4±0,0 [b]
CGD	1°	3,1±0,0	2,8±0,0	2,8±0,0
	6°	2,6±0,0	2,4±0,0	2,4±0,0

Legenda: TA = temperatura ambiente, EST = estufa, GEL = geladeira; CGD = ciclo gela-degela;
[a] = apresenta diferença estatística (α = 0,05) nos diferentes dias à temperatura ambiente;
[b] = apresenta diferença estatística (α = 0,05) comparando o 1° dia (TA) e os diferentes dias em outra condição.

B – Estresse térmico

Segundo Tadros *et al.* (2007) o estresse térmico não é considerado por alguns autores um teste preciso para estabilidade acelerada, pois ao se submeter uma formulação a altos valores de temperatura, assume-se que a manteremos por três meses a 50 °C, isso significaria dois anos de exposição a temperatura ambiente. Porém de acordo com Ferrari (2002), as emulsões que não apresentarem modificações após o teste de estresse térmico serão potencialmente estáveis no teste de estabilidade acelerada e de longo prazo.

A separação de fases poderá ocorrer pelo aumento da energia cinética, e conseqüentemente, aumento dos choques entre as gotículas da emulsão, reduzindo proporcionalmente o tempo para a ocorrência de processos como floculação e coalescência.

Outro fator que justifica a ocorrência de separação de fases após o aquecimento é a temperatura de transição dos cristais líquidos. Segundo Friberg (1988) existe um valor de temperatura no qual ocorre a transição de fases de cristal líquido para líquido isotrópico, e é denominado de temperatura de transição sendo dependente da estrutura molecular do anfifílico e conseqüentemente de seu ponto de fusão.

Com o aquecimento dos produtos este processo de transição poderá ocorrer, e como conseqüência a extinção da fase de cristal líquido caso exista. De acordo com a Tabela 10, observamos que, como já visto nos testes preliminares, as formulações apresentaram o mesmo comportamento após 24 horas no estresse térmico. Após 30 dias as formulações estudadas, com exceção da AndC em EST, mantiveram-se estáveis à temperatura de 60 °C, sendo observada modificação total a partir de 65 °C para as formulações AndC e AndCS1, enquanto a AndCS5 apresentou modificação total a partir de 65 °C apenas quando armazenada em GEL.

Durante o ciclo gela-degela, as formulações AndCS1 e AndCS5 apresentaram leve modificação a 65 °C e modificação total a 75 °C, já AndC apresentou modificação total a partir de 70 °C.

Tabela 10: Estresse térmico após 24 horas, 7, 15 e 30 dias, e ciclo gela-degela.

Formulações	Temperatura (°C)	Estresse térmico											
		TA				GEL			EST			CGD	
		24 h	7 dias	15 dias	30 dias	7 dias	15 dias	30 dias	7 dias	15 dias	30 dias	1° ciclo	6° ciclo
AndC	**60**	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	N	N
	65	LM	LM	LM	**M**	LM	LM	**M**	LM	LM	**M**	LM	LM
	70	LM	LM	LM	**M**	LM	LM	**M**	LM	LM	**M**	**M**	**M**
	75	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**
AndCS1	**60**	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	65	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	LM	LM
	70	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	LM	LM
	75	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**
AndCS5	**60**	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	65	LM	LM	LM	LM	LM	LM	**M**	LM	LM	LM	LM	LM
	70	LM	LM	LM	**M**	LM	LM	**M**	LM	LM	**M**	LM	LM
	75	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**

Legenda: TA = temperatura ambiente, EST = estufa, GEL = geladeira; CGD = ciclo gela-degela; N = normal; LM = levemente modificado e M = Modificação total.

C – Centrifugação

Tadros *et al.* (2007) afirmaram que nos testes de centrifugação os produtos são submetidos a uma força de gravidade elevada acarretando no processo de coalescência que não ocorre em condições normais de gravidade. No entanto, a partir do momento que mesmo submetida a uma força elevada de gravidade e, as formulações não sofrerem alterações, poder-se-ia afirmar que as mesmas seriam estáveis por um longo período de tempo. Porém, de acordo com os autores o teste de centrifugação é indicativo de estabilidade apenas quando associado a um conjunto de testes.

Nesse estudo, o teste de centrifugação foi usado nas duas etapas de avaliação da estabilidade: preliminar e acelerada e, em ambas, nenhuma amostra apresentou processos de instabilidade. Isto é condizente com as características das formulações contendo cristais líquidos, pois os mesmos aumentam a viscosidade das formulações, diminuindo a movimentação dos glóbulos, contribuindo assim para a estabilização do sistema (Santos, 2006).

D – Avaliação microscópica

A avaliação microscópica foi realizada a fim de observar as modificações possíveis nas estruturas líquido-cristalinas nas diferentes condições em que as amostras foram submetidas.

De acordo com as fotomicrografias sob luz polarizada (Figuras de 18 a 20), observamos que durante o período de estudo, nas três temperaturas a que foram acondicionadas, as formulações AndCS1 e AndCS5 apresentaram alterações morfológicas significativas nos cristais líquidos onde, AndCS1 apresenta cristais líquidos maiores e permanentes quando armazenadas em geladeira, e AndCS5 apresenta permanência dos mesmos apenas até o 7° dia em temperatura ambiente. Entretanto, a formulação AndC manteve suas fases líquido-cristalinas nas diferentes condições durante os 30 dias de análise.

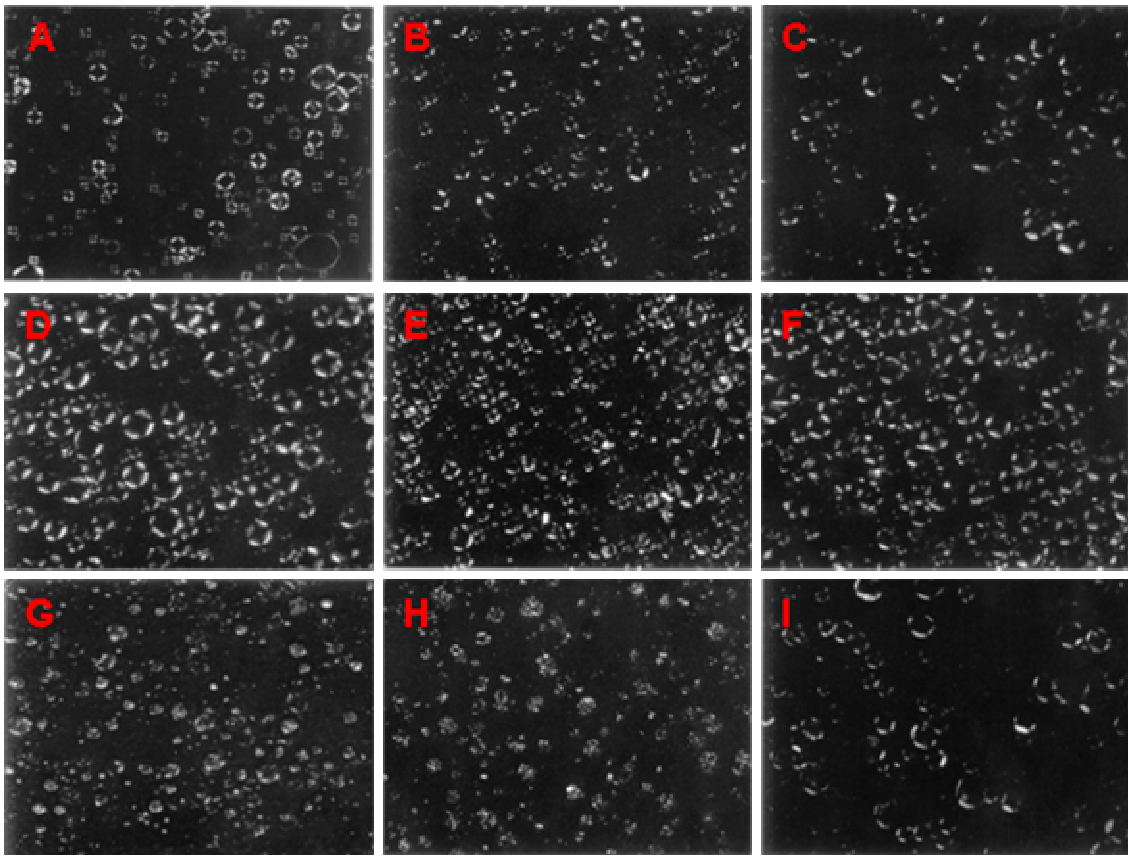

Figura 18: Fotomicrografias sob luz polarizada da formulação AndC após 7, 15 e 30 dias em temperatura ambiente (campos A, B e C respectivamente), em geladeira (campos D, E e F respectivamente) e em estufa (campos G, H e I respectivamente) (aumento 200x).

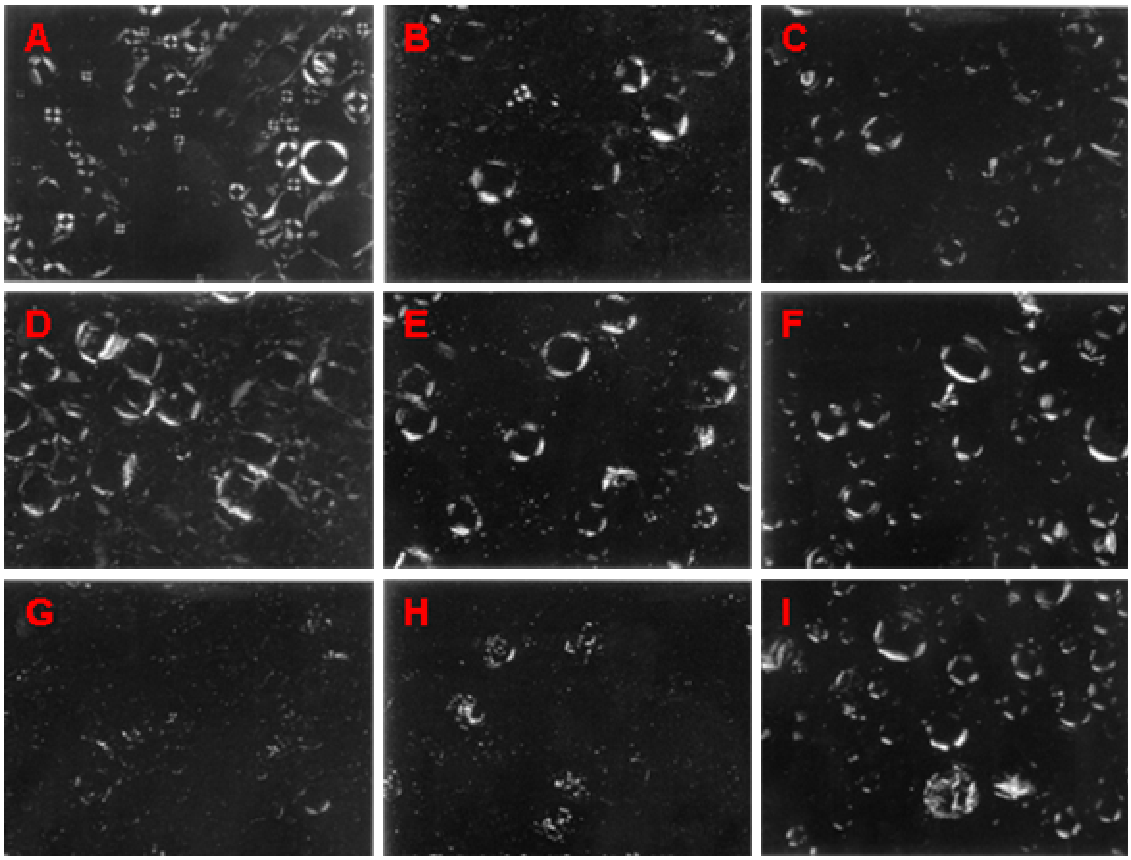

Figura 19: Fotomicrografias sob luz polarizada da formulação AndCS1 após 7, 15 e 30 dias em temperatura ambiente (campos A, B e C respectivamente), em geladeira (campos D, E e F respectivamente) e em estufa (campos G, H e I respectivamente) (aumento 200x).

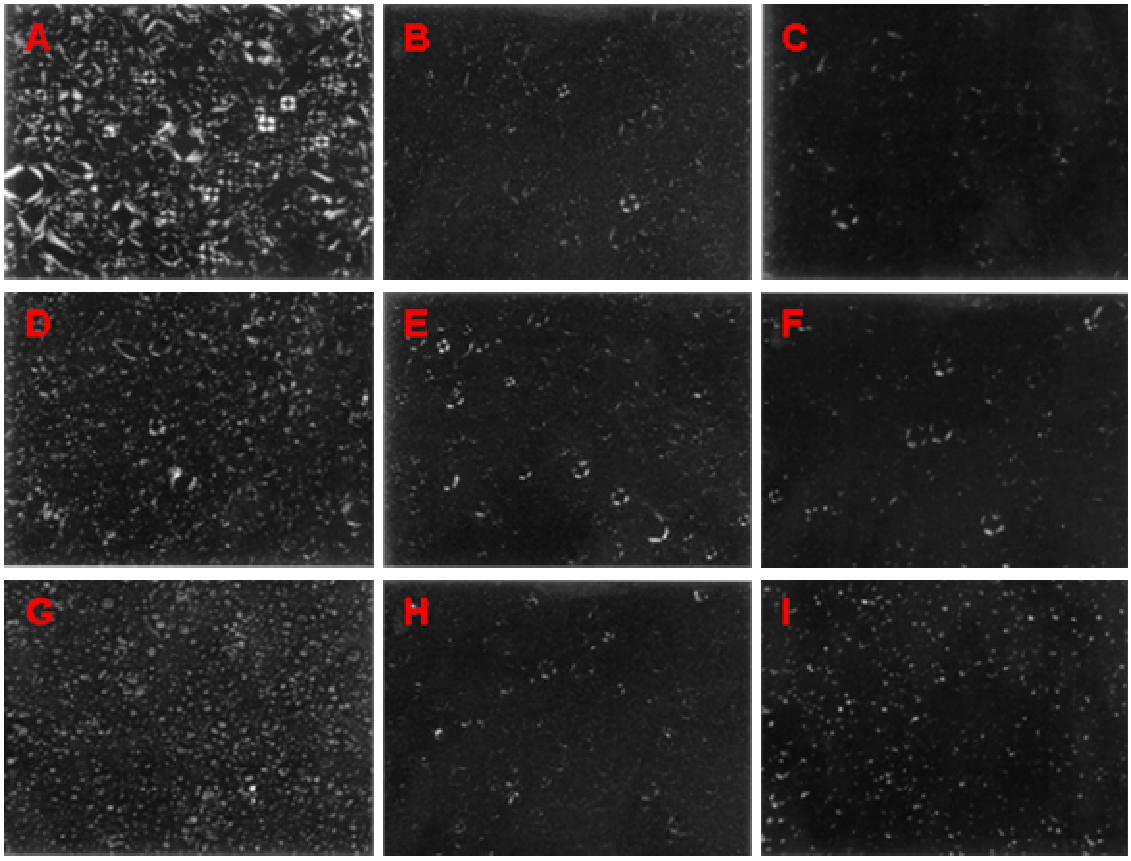

Figura 20: Fotomicrografias sob luz polarizada da formulação AndCS5 após 7, 15 e 30 dias em temperatura ambiente (campos A, B e C respectivamente), em geladeira (campos D, E e F respectivamente) e em estufa (campos G, H e I respectivamente) (aumento 200x).

Com a análise destas fotomicrografias observamos que, diferente do teste preliminar, as emulsões acrescidas de silicone (AndCS1 e AndCS5), quando submetidas a diferentes temperaturas, não mantiveram as mesofases cristalinas íntegras até o término de 30 dias de análises, enquanto que na emulsão sem silicone (AndC) houve preservação e homogeneidade das estruturas líquido-cristalinas confirmando assim o teste preliminar de estabilidade. O resultado para AndCS5 corrobora com o observado no teste de estresse térmico, onde ocorreu diminuição da temperatura de modificação da amostra, especialmente na condição GEL, sendo este reflexo da diminuição da formação de cristais líquidos.

5.3.2 Teste do comportamento reológico após 24 horas, 7, 15 e 30 dias

A partir do estudo das propriedades reológicas de uma emulsão, pode-se determinar a estabilidade física do sistema. Essas propriedades são parâmetros físicos importantes, tanto em termos estéticos quanto técnicos (preparo, envase e armazenamento) (Soriano *et al.*, 2001).

Podem-se identificar dois tipos de comportamentos reológicos de acordo com as características de fluxo: Newtoniano e não Newtoniano. O fluxo Newtoniano (como a água, glicerina e óleos vegetais) apresenta valores constantes de viscosidade, independente da força externa aplicada e do tempo, sendo linear a relação entre o gradiente e a tensão de cisalhamento. No fluxo não Newtoniano (como xampus, cremes e loções) essa relação não é linear, pois com o acréscimo da força aplicada ocorre alteração da viscosidade inicial podendo aumentar, denominado fluxo dilatante, ou diminuir, denominado fluxo plástico ou pseudoplástico (Martin *et al.*, 1993).

O fluxo pseudoplástico, interessante para produtos cosméticos, é caracterizado pela diminuição da resistência do material ao escoamento com aumento da força aplicada (cisalhamento), proporciona assim espalhamento adequado e boa cobertura do produto sobre a pele (Boodts, 2003).

Os reogramas podem apresentar-se com as curvas ascendente e descendente sobreponíveis ou não sobreponíveis, denominado área de histerese, portanto, quanto maior a área, maior a tixotropia ou reopexia. A tixotropia é evidenciada quando a curva ascendente fica acima da curva descendente e a reopexia quando a curva descendente é a superior. A obtenção de formulações cosméticas com caráter tixotrópico é bastante interessante, pois as mesmas se deformam durante a aplicação, ou seja, tornam-se mais fluidas facilitando o

espalhamento e recuperam a viscosidade inicial no momento em que se encerra a aplicação, evitando que o produto escorra. Além disso, o produto tixotrópico pode apresentar maior viscosidade durante o armazenamento, com valores constantes, o que dificulta a separação dos constituintes da formulação (Leonardi, 2004).

Durante o tempo de análise, os reogramas (Figuras de 21 a 30) das formulações submetidas às quatro diferentes condições de armazenagem (TA, GEL, EST e CGD) mostraram que AndC e AndCS5 não apresentaram alterações significativas praticamente durante todo o período do teste, apresentando comportamento tixotrópico. Já a formulação AndCS1 apresentou diferenças significativas após 7 dias do estudo nas três diferentes temperaturas à que foi submetida.

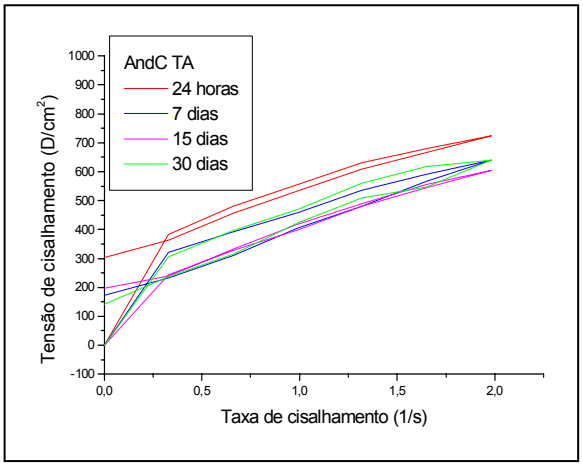

Figura 21: Reograma da formulação AndC durante armazenagem em temperatura ambiente (TA).

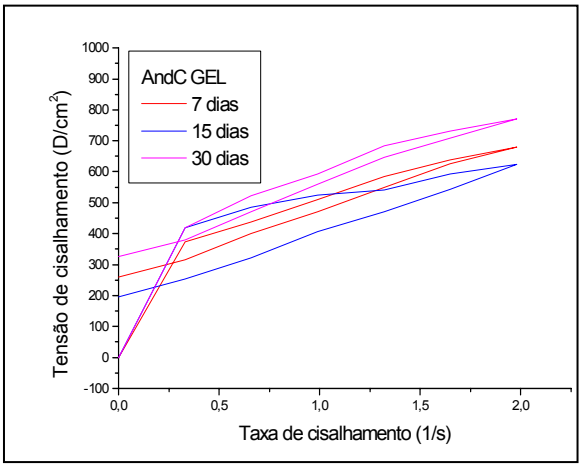

Figura 22: Reograma da formulação AndC durante armazenagem em geladeira (GEL).

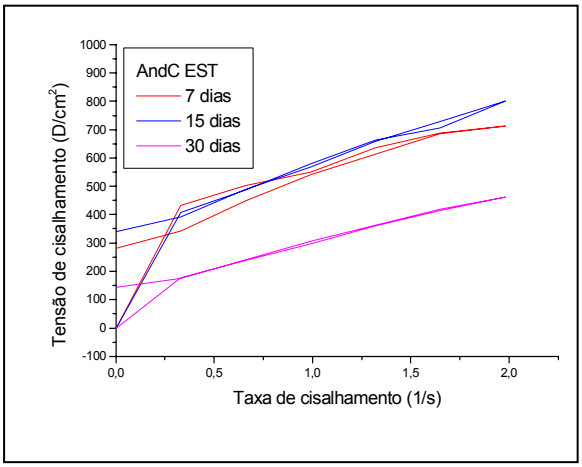

Figura 23: Reograma da formulação AndC durante armazenagem em estufa (EST).

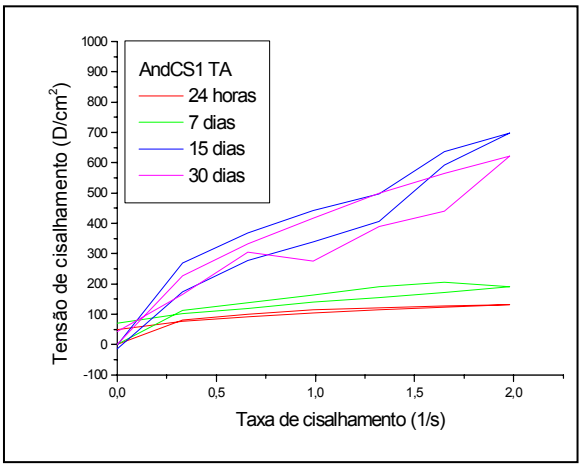

Figura 24: Reograma da formulação AndCS1 durante armazenagem em temperatura ambiente (TA).

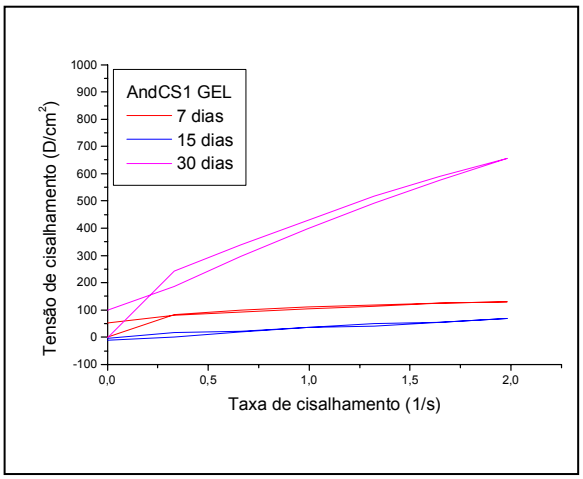

Figura 25: Reograma da formulação AndCS1 durante armazenagem em geladeira (GEL).

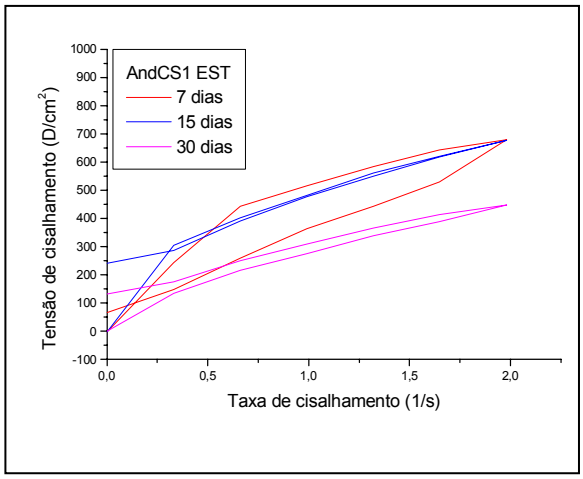

Figura 26: Reograma da formulação AndCS1 durante armazenagem em estufa (EST).

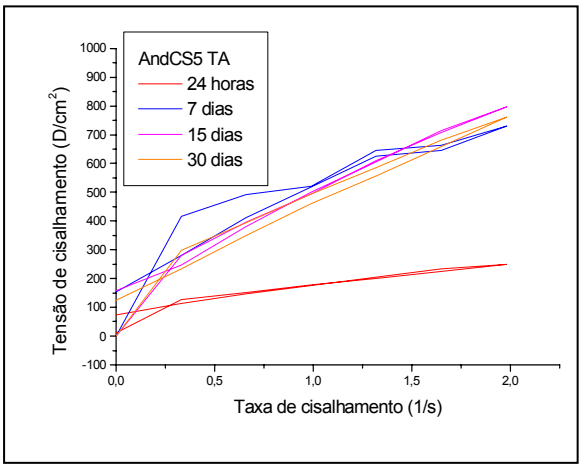

Figura 27: Reograma da formulação AndCS5 durante armazenagem em temperatura ambiente (TA).

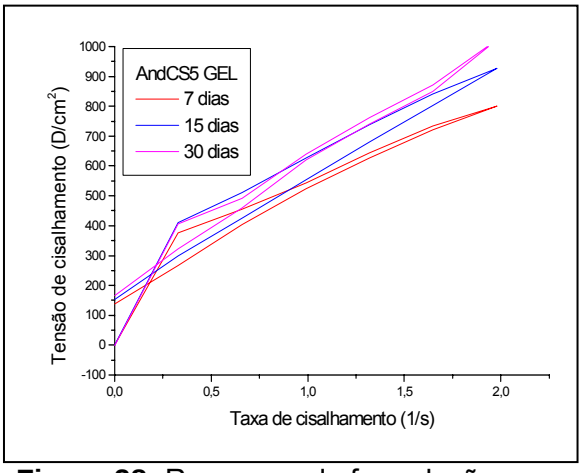

Figura 28: Reograma da formulação AndCS5 durante armazenagem em geladeira (GEL).

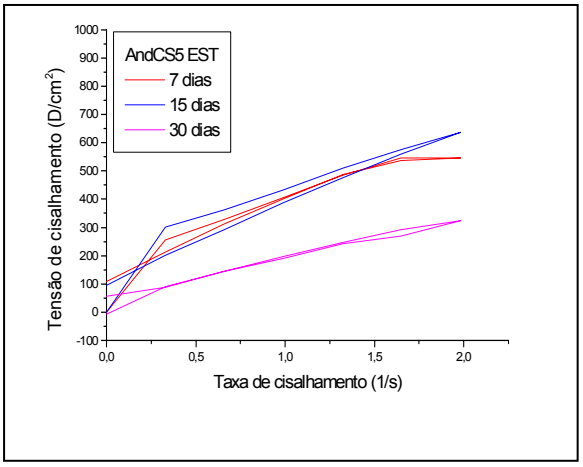

Figura 29: Reograma da formulação AndCS5 durante armazenagem em estufa (EST).

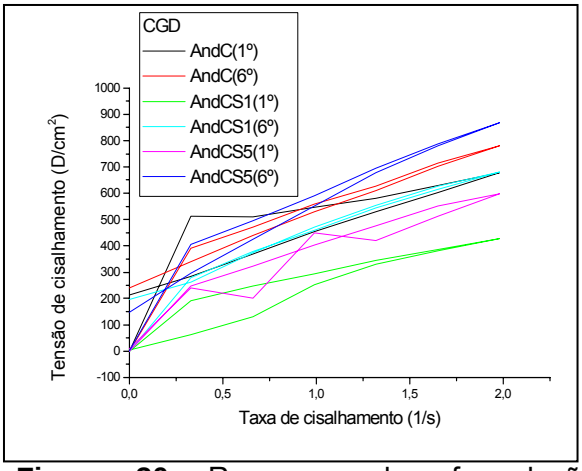

Figura 30: Reograma das formulações durante ciclo gela-degela (CGD).

Analisando os valores de viscosidade aparente mínima e índice de consistência (Tabela 11), calculados a partir do ponto máximo de cisalhamento, observou-se o mesmo perfil entre as formulações estudadas sendo que, AndC não apresentou diferença estatística no nível de significância de 5,0 % (α = 5); AndCS1 apresentou diferença estatística significativa quando comparada nos diferentes dias à temperatura ambiente (p = 0,010), e comparando-se o primeiro dia (24 horas) com os diferentes dias em geladeira (p = 0,010); e AndCS5 apresentou diferença

estatística significativa quando comparou-se o primeiro dia (24 horas TA) com os diferentes dias em geladeira e estufa (p = 0,010).

Os valores do índice de fluxo mostrados na Tabela 11 indicam que as formulações estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico, ou seja, índice de fluxo menor que 1,0. Todavia, a formulação AndCS5 apresentou diferença estatística significativa quando comparada nos diferentes dias à temperatura ambiente (p = 0,038), e comparando-se o primeiro dia (24 horas) com os diferentes dias em estufa (p = 0,038).

De acordo com os valores da área de histerese (Tabela 11), as formulações apresentaram comportamento tixotrópico, confirmando o comportamento pseudoplástico, no entanto, AndCS1 apresentou diferença estatística significativa quando comparada nos diferentes dias à temperatura ambiente (p = 0,010), e comparando-se o primeiro dia (24 horas) com os diferentes dias em estufa (p = 0,038); e AndCS5 diferença significativa entre à temperatura ambiente (24 horas) e os diferentes dias em geladeira (p = 0,010).

Durante o estudo do ciclo gela-degela nenhuma formulação apresentou diferença estatística significativa.

Tabela 11: Resultados do teste de comportamento reológico das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5.

Condições	Tempo (dias)	Viscosidade aparente (cP)			Índice de consistência (cP)			Índice de fluxo			Área de histerese (D/cm².s)		
		AndC	AndCS1	AndCS5	AndC	AndCS1	AndCS5	AndC	AndCS1	AndCS5	AndC	AndCS1	AndCS5
TA	1	38072± 2111,4	14077± 75,6 [ab]	14077± 2111,4 [b]	58023± 3586,4	9874± 1428,3 [ab]	20200± 2720,2 [b]	0,36 ±0,0	0,43 ±0,2	0,40 ±0,0 [ab]	1073,1± 75,9	179,3 ±32,1 [ab]	401,6 ±95,4 [b]
	7	33300± 1395,1	34526± 37,4 [a]	34526± 3355,9	46567± 2818,5	14728± 944,7 [a]	48174± 6405,7	0,46 ±0,0	0,37 ±0,0	0,41 ±0,0 [a]	864,4 ±1,4	277,1 ±29,7 [a]	873,5 ±145,1
	15	32740± 3092,1	38259± 791,9 [a]	38259± 2827,7	45523± 5143,5	40360± 3177,0 [a]	47405± 5465,2	0,50 ±0,0	0,67 ±0,2	0,65 ±0,0 [a]	812,2 ±76,9	892,3 ±66,5 [a]	877,4 ±106,5
	30	32633± 527,5	38818± 188,7 [a]	38818± 528,2	44669± 871,8	35130± 2957,8 [a]	49638± 783,5	0,51 ±0,0	0,83 ±0,1	0,58 ±0,0 [a]	811,3 ±97,3	711,4 ±91,1 [a]	986,0 ±71,3
GEL	7	36712± 3355,9	39885± 376,8 [b]	39885± 753,8 [b]	56106± 7370,9	8764± 2830,5 [b]	53035± 2660,8 [b]	0,34 ±0,1	0,44 ±0,2	0,54 ±0,0	1063,3± 158,3	184,3 ±17,7	1009,2± 43,3 [b]
	15	33220± 2337,6	45537± 716,2 [b]	45537± 1733,8 [b]	49466± 3582,2	4495± 985,7 [b]	59380± 2608,5 [b]	0,36 ±0,0	0,28 ±0,4	0,54 ±0,0	925,9 ±33,2	103,5 ±40,6	1151,7± 46,0 [b]
	30	3929± 528,2	48923± 5881,7 [b]	48923± 3808,5 [b]	58563± 899,4	36516± 7882,8 [b]	63885± 826,6 [b]	0,40 ±0,1	0,63 ±0,0	0,53 ±0,1	1090,4± 13,9	715,0 ±129,6	1242,0± 39,3 [b]
EST	7	35512± 603,1	27248± 3318,4	27248± 376,9 [b]	55623± 732,5	38188± 6160,3	40887± 1161,8	0,32 ±0,0	0,64 ±0,1	0,49 ±0,0 [b]	1048,0± 5,2	777,7 ±191,7 [b]	782,1 ±35,5
	15	37699± 3996,5	30154± 8822,5	30154± 2827,7 [b]	54546± 6454,5	39506± 13077,2	39457± 4389,0	0,42 ±0,1	0,49 ±0,0	0,59 ±0,1 [b]	1011,0± 84,3	719,5 ±245,1 [b]	728,5 ±137,0
	30	23008± 415,0	20662± 2979,0	20662± 5994,8 [b]	32034± 1308,1	28138± 2285,4	25315± 7933,0	0,48 ±0,1	0,53 ±0,1	0,67 ±0,1 [b]	598,3 ±43,9	484,2 ±52,8 [b]	460,7 ±138,6
CGD	1°	34926± 980,0	18156± 4863,4	27621± 3544,0	51791± 237,6	21354± 6911,3	34809± 6646,1	0,35 ±0,1	0,81 ±0,0	0,74 ±0,3	996,7 ±45,6	434,4 ±169,3	667,2 ±129,6
	6°	38152± 1847,6	33993± 490,0	40338± 4863,5	55403± 932,7	45051± 3331,9	55873± 4836,6	0,43 ±0,1	0,51 ±0,0	0,51 ±0,0	1059,2 ±26,9	809,9 ±76,4	1090,1 ±49,8

Legenda: TA = temperatura ambiente, EST = estufa, GEL = geladeira; CGD = ciclo gela-degela;
[a] = apresenta diferença estatística (α = 0,05) nos diferentes dias à temperatura ambiente;
[b] = apresenta diferença estatística (α = 0,05) comparando o 1° dia (TA) e os diferentes dias em outra condição (GEL e/ou EST).

Deste modo, as formulações AndCS1 e AndCS5 (adicionadas de silicone) apresentaram sinais de instabilidade no estudo do comportamento reológico, que não ocorreu com AndC.

5.3.3 Potencial Zeta após 24 horas, 7, 15 e 30 dias

A determinação do potencial zeta é útil para caracterização das propriedades das cargas superficiais de sistemas coloidais, pois determina a repulsão/atração eletrostática entre glóbulos próximos. A magnitude do potencial zeta (em módulo) está diretamente correlacionada com a estabilidade de sistemas dispersos (Lieberman *et al*., 1988; Jeong *et al.*, 2001; Roland *et al*., 2003; Kulmyrzaev; Schubert, 2004).

A determinação inicial do tamanho dos glóbulos, durante o período de armazenamento e após os testes preliminares de estabilidade, fornece indicação da estabilidade do sistema: quanto mais rápido os glóbulos aumentam de tamanho, menor será a estabilidade (Jeong *et al.*, 2001 e Roland *et al*., 2003). Quanto menor o potencial zeta, em módulo, menor a estabilidade do sistema disperso (Lieberman *et al*., 1988; Roland *et al*., 2003).

De acordo com ZETA-METER Inc. (2003) para amostras com valor de potencial zeta de -30,0 a -40,0 mV tem-se um sistema disperso com moderada estabilidade e que de -40,0 a -60,0 mV tem-se boa estabilidade.

Segundo Aranberri *et al*. (2004), a estabilidade de emulsões preparadas com poli(dimetilsiloxano) é atribuída a superfície de carga negativa dos glóbulos da emulsão. Essa carga superficial negativa foi confirmada recentemente pelo valor do potencial zeta das emulsões contendo esse tipo de silicone na ordem de -40,0 mV. A existência dessa carga é devido a dissociação da superfície de grupos –OH

presentes nas extremidades da cadeia de poli(dimetilsiloxano). Geralmente é aceito que essa carga superficial negativa deriva-se da adsorção preferencial de –OH à interface óleo/água. A magnitude dessa carga depende da concentração de eletrólitos totais e do pH.

Na análise do potencial zeta durante a estabilidade acelerada observamos que todas as formulações apresentaram valores negativos entre -36,2 e -85,5 mV (Tabela 12), ligeiramente maiores aos obtidos durante a estabilidade preliminar, indicando grande estabilidade física do sistema disperso.

Comparando as diferentes condições a que foram submetidas, a formulação AndC apresentou diminuição não significativa dos valores do potencial zeta após 7 dias e ligeiro aumento após 15 e 30 dias em geladeira, já na formulação AndCS1 esse aumento foi observado após 15 dias em geladeira e estufa. Na formulação AndCS5 notou-se pequena diminuição após 30 dias em temperatura ambiente, 7 dias em geladeira e 15 dias em estufa, e aumento apenas após 15 dias em geladeira. Durante o ciclo gela-degela AndC e AndCS5 apresentaram aumento após 6º ciclo enquanto AndCS1 apresentou ligeira diminuição.

Tabela 12: Valores do potencial zeta.

Condições	Tempo (dias)	Potencial Zeta (mV)		
		AndC	AndCS1	AndCS5
TA	1	59,2±0,0	46,1±0,0	62,5±9,3
	7	60,3±4,6	50,4±9,2	63,6±0,0
	15	60,3±4,6	46,0±15,5	64,7±10,9
	30	42,7±20,1	52,6±6,1	46,0±24,8
GEL	7	49,3±20,1	50,4±9,2	36,2±10,9
	15	60,3±4,6	82,0±35,3	71,3±10,9
	30	74,5±24,8	49,3±10,8	60,3±4,6
EST	7	60,3±4,6	46,0±15,5	63,6±0,0
	15	57,0±0,0	71,3±10,9	36,2±10,9
	30	60,3±45,0	39,4±15,5	63,6±0,0
CGD	1°	60,3±4,6	49,3±20,1	53,7±35,7
	6°	85,5±9,2	39,5±0,0	66,3±37,9

Legenda: TA = temperatura ambiente, EST = estufa, GEL = geladeira; CGD = ciclo gela-degela.

De acordo com a análise estatística, os valores do potencial zeta não apresentaram diferença estatística no nível de significância de 5,0 %, durante o período do estudo nas diferentes condições que as formulações foram submetidas.

Todavia, sendo o potencial zeta um importante parâmetro físico-químico, isoladamente pode não refletir a estabilidade da emulsão, principalmente em sistemas com presença de tensoativos não-iônicos, pois neste caso o componente estérico é mais importante devido a alta viscosidade obtida pela base auto-emulsionante e formação de cristal líquido.

5.3.4 Teste de evaporação

A evaporação de água da fase contínua de uma emulsão provoca compressão no sistema com uma distorção progressiva no posicionamento das gotículas de óleo, causando uma diminuição na espessura do filme aquoso e como conseqüência pode ocorrer separação de fases. A finalidade deste teste é avaliar as modificações nas estruturas líquido-cristalinas após perda de água pela evaporação, correlacionando essas mudanças com o comportamento das emulsões após aplicação na pele (Zang *et al*., 2000; Al- Bawab, 2004; Santos *et al.*, 2006).

Os resultados do teste de evaporação mostraram que ao término do processo, quando todo o material volátil foi eliminado, ainda foi possível observar a presença de fases lamelares. Isto pode ter acontecido devido ao provável posicionamento de moléculas de água adsorvidas entre as camadas de tensoativo. Esta água tem característica de água ligada, que interage fortemente com grupos polares do tensoativo e, por isto, apresentam maior dificuldade para evaporação, pois as mesmas necessitam de muito mais energia que a proveniente da temperatura da superfície da pele para evaporar.

O mesmo fato foi constatado para as emulsões contendo *PEG-12 Dimethicone*, que mantiveram a formação de fase líquido-cristalina lamelar mesmo com mínima quantidade de água no sistema. Isto pode indicar que o silicone facilita a interação entre as estruturas de tensoativo, mantendo a fase mais hidratada. Pode-se supor que a quantidade de água está altamente associada com o tipo de cristal líquido formado uma vez que, as estruturas das demais mesofases cristalinas, hexagonal e cúbica, possuem arranjos bi e tridimensionais respectivamente, podendo aprisionar água de maneira diferente dificultando ou facilitando a evaporação após aplicação do produto na pele.

Através do teste de evaporação pôde-se observar que as emulsões acrescidas de silicone apresentaram comportamento diferente daquela com a mesma proporção de óleo e tensoativo, porém sem a adição do mesmo. Nas fotomicrografias, observou-se que a formulação AndC (Figuras 31 e 32, campos A e D, e Figura 33, campo A) apresentou diminuição no tamanho dos cristais líquidos entre 0,0 e 20,0 % de perda de massa e modificação intensa das estruturas lamelares a partir de 40,0 % de perda de massa.

Na formulação AndCS1 (Figuras 31 e 32, campos B e E, e Figura 33, campo B), contendo 1,0 % de silicone, observou-se modificação aparente da fase líquido-cristalina entre 0,0 e 20,0 % de perda de massa, modificação intensa entre 40,0 e 60,0 % de perda e modificação do tipo de fase anisotrópica após 80,0 %. Com a formulação AndCS5 (Figuras 31 e 32, campos C e F, e Figura 33, campo C), contendo 5,0 % de silicone, observou-se apenas uma intensificação, porém sem modificação dos cristais líquidos lamelares entre 0,0 e 20,0 % de perda e modificação intensa entre 40,0 e 80,0 % de perda de massa.

Segundo Zhang *et al*. (2000) durante um estudo de evaporação ele observou que com a evaporação, partículas brilhantes apareceram dentro das gotículas de óleo indicando a formação de cristais líquidos. Essas estruturas continuaram crescendo e formaram estruturas diferentes com texturas típicas de cristais líquidos hexagonais. Subseqüentemente apareceram cruzes de malta juntamente com essas estruturas indicando a coexistência de cristais líquidos lamelares e hexagonais. Essa possível formação de cristais líquidos hexagonais apareceram após 20,0 % de perda de massa da formulação AndCS1 e após 40,0 % de perda de massa das demais formulações.

Porém, comparando todas as fotomicrografias (Figuras de 31 a 33), é possível a identificação de fases lamelares mesmo com a evaporação total de água das emulsões (Figura 33), observando-se também a co-existência de fases e lamelares.

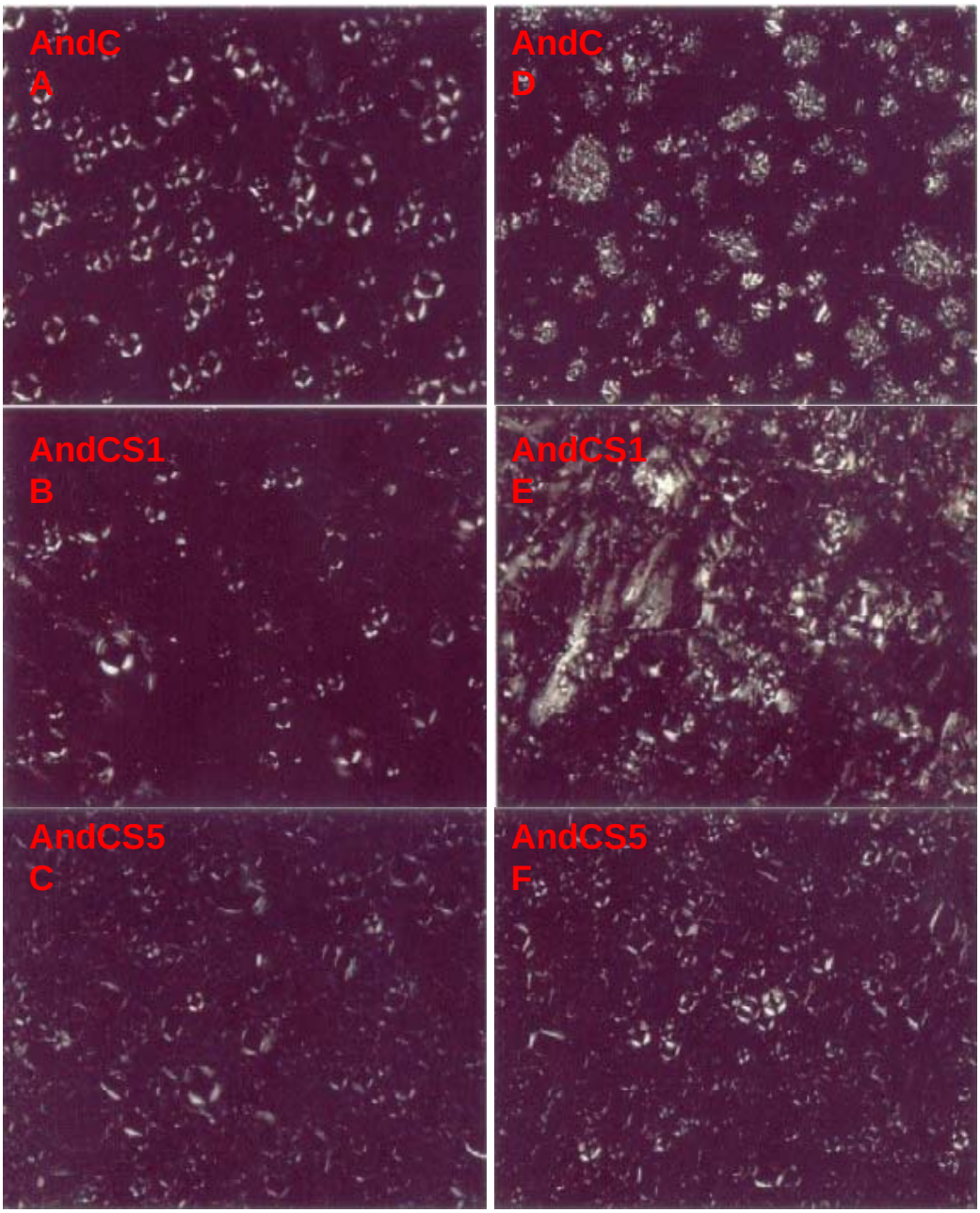

Figura 31: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 antes do processo de evaporação (campos A, B e C respectivamente), e após 20,0 % (p/p) de evaporação (campos D, E e F respectivamente).

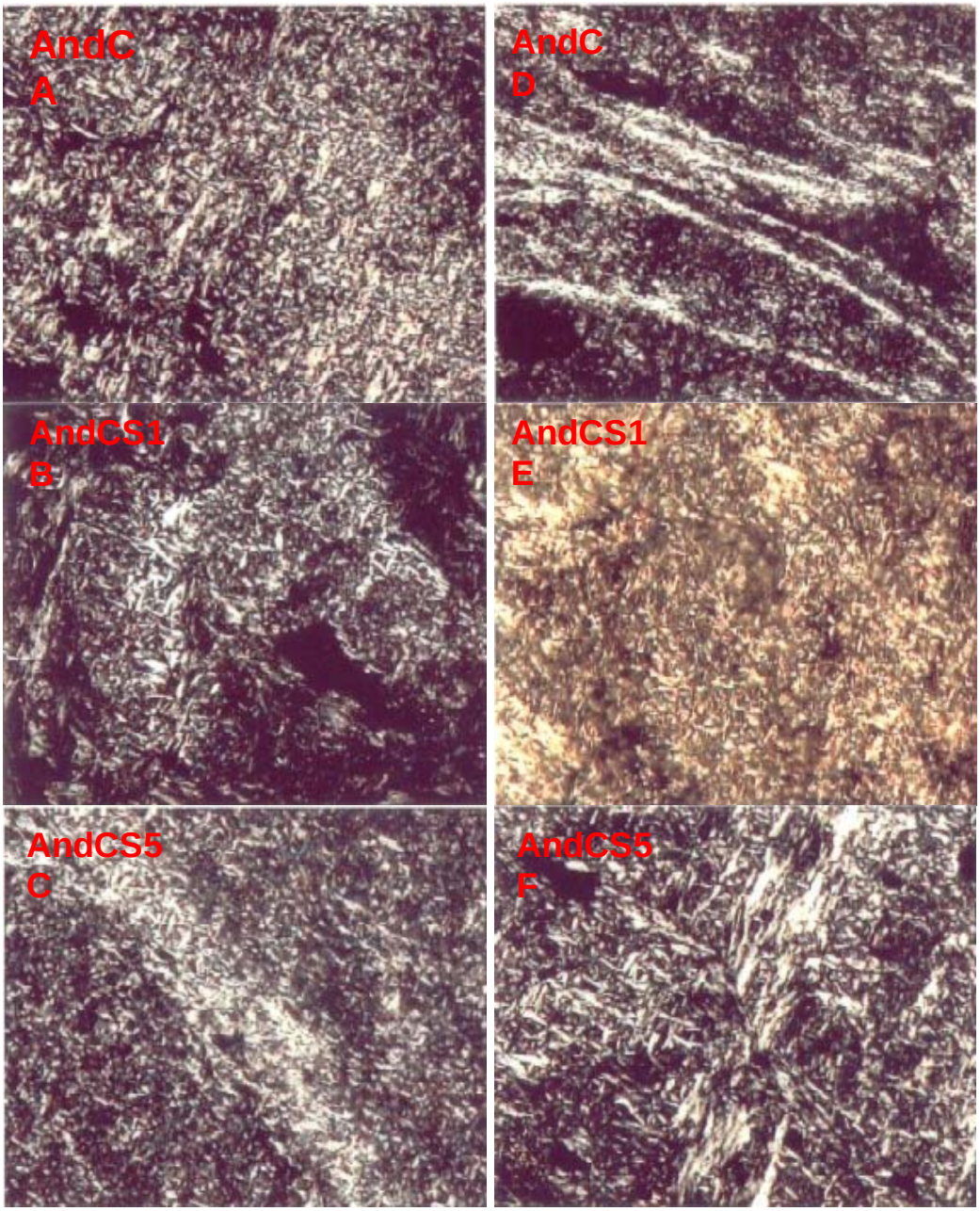

Figura 32: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 após 40,0 % (p/p) de evaporação (campos A, B e C respectivamente), e após 60,0 % (p/p) de evaporação (campos D, E e F respectivamente).

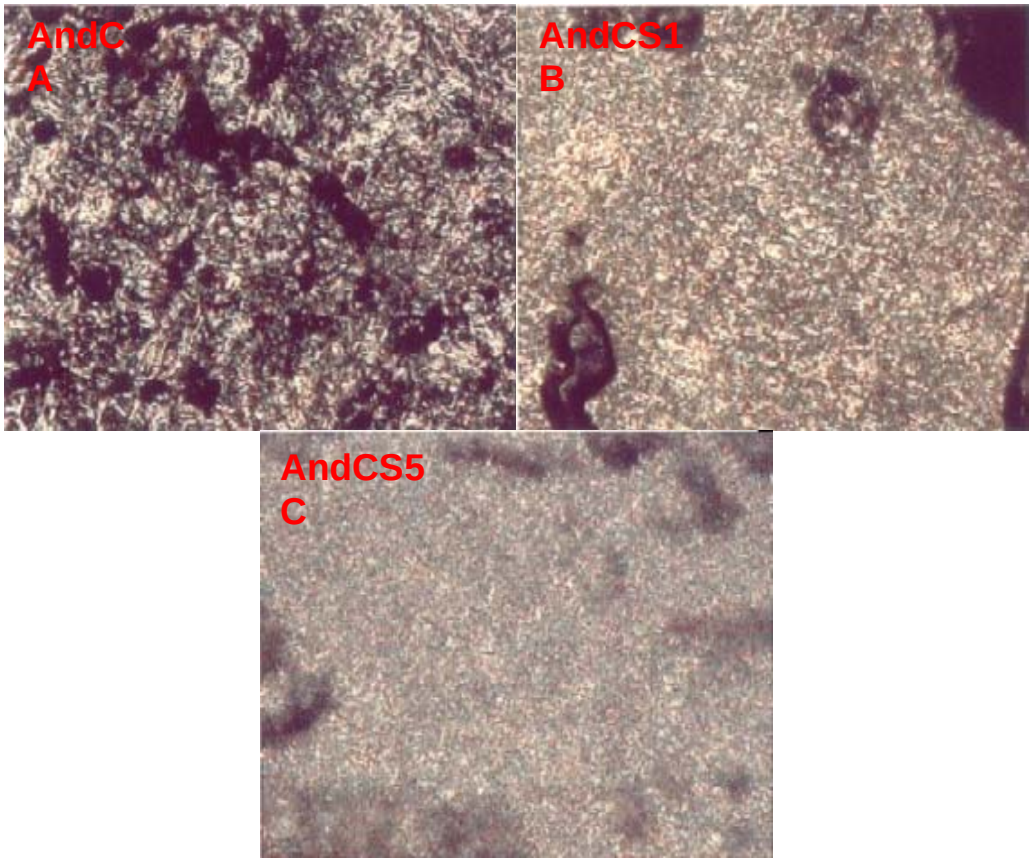

Figura 33: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 após 80,0 % (p/p) de evaporação (campos A, B e C respectivamente).

5.3.5 Diagrama de evaporação

Friberg (2006), através de uma simples expressão algébrica encontrada a partir da linha de evaporação de um sistema de diagrama contendo água, óleo e tensoativo, ilustrou as mudanças das frações de fases e estruturas encontradas durante a evaporação de emulsões iônicas, constatando que a presença de cristais líquidos lamelares tem uma influência significativa na cinética da evaporação.

Na manipulação das dispersões, o número da formulação citado corresponde ao dado das proporções (Apêndice C) dos componentes no diagrama de fases indicado na Figura 6. Os constituintes da formulação selecionada foram: água – 80,0 % (p/p); óleo de andiroba – 10,0 % (p/p) e base auto-emulsionante – 10,0 % (p/p). Com essa relação, a emulsão apresentou fase líquido-cristalina lamelar previamente

determinada. A adição de silicone não alterou a fase líquido-cristalina em ambas as concentrações de 1,0 e 5,0 %. Com a diminuição da quantidade de água, observamos que a fase líquido-cristalina se formou até a concentração de 40,0 % (p/p) de água, a partir da qual outros tipos de estruturas anisotrópicas foram formadas.

As emulsões contendo *PEG-12 Dimethicone* mantiveram a formação de fase líquido-cristalina até mesmo com menor quantidade de água no sistema. Esta poderia ser uma indicação de que o silicone facilitou a interação entre as estruturas de tensoativo, mantendo a fase mais hidratada. O teste de estabilidade preliminar mostrou que a estabilidade está associada com o tipo de fase líquido-cristalina formada, indicando que enquanto a fase cristalina lamelar era predominante, a estabilidade física da emulsão foi maior.

Todas as dispersões (Apêndice C) foram caracterizadas e submetidas aos testes preliminares de centrifugação e estresse térmico, descritos nos itens 4.2.1.7.1 e 4.2.1.7.2 respectivamente, como mostra Tabela 13. Com estes testes observamos que a formulação AndC contendo água em concentrações iguais ou menores que 60,0 % apresentaram separação de fases, em sua maioria após 24 horas do preparo e as demais após o teste de centrifugação.

Quanto ao estresse térmico as formulações derivadas de AndC, contendo de 70,0 a 90,0 % de água apresentaram modificação a partir dos 65 °C. As dispersões obtidas a partir da formulação AndCS1 (contendo 1,0 % de silicone) apresentaram separação de fases com conteúdo de água menor que 26,5 %; enquanto que no estresse térmico algumas das formulações apresentaram modificação total na temperatura de 50 °C.

As amostras provenientes da formulação AndCS5 (contendo 5,0 % de silicone) apresentaram separação de fases em concentrações de 33,0 % ou menos de água em sua composição, apresentando leve modificação a 55 °C (AndCS1 [5] [9] [10] e AndCS5 [6] [9] [10]) e modificação total após 65 °C (AndCS1 [9] [10] e AndCS5 [10]) durante o teste de estresse térmico.

Tabela 13: Testes preliminares das formulações obtidas pelo diagrama de evaporação.

Amostras	Centrifugação (rpm)			Solubilidade da Emulsão		Estresse Térmico (°C)					Cristais líquidos
	1000	2500	3500	Óleo	Água	55	60	65	70	75	
AndC (1)	N	N	N	-	+	N	N	LM	**M**	**M**	+
AndC (2)	N	N	N	-	+	N	N	**M**	**M**	**M**	+
AndC (3)	N	N	N	-	+	N	N	LM	**M**	**M**	+
AndC (4)	/	/	/	-	+	/	/	/	/	/	+
AndC (5)	/	/	/	-	+	/	/	/	/	/	+
AndC (6)	/	/	/	-	+	/	/	/	/	/	+
AndC (7)	SF	SF	SF	+	-	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	+
AndC (8)	/	/	/	+	-	/	/	/	/	/	+
AndC (9)	/	/	/	+	-	/	/	/	/	/	+
AndC (10)	SF	SF	SF	+	-	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	+
AndCS1 (1)	N	N	N	-	+	N	N	LM	**M**	**M**	+
AndCS1 (2)	N	N	N	-	+	N	N	**M**	**M**	**M**	+
AndCS1 (3)	N	N	N	-	+	N	N	**M**	**M**	**M**	+
AndCS1 (4)	N	N	N	-	+	N	N	LM	**M**	**M**	+
AndCS1 (5)	N	N	N	-	+	LM	LM	LM	**M**	**M**	+
AndCS1 (6)	N	N	N	-	+	N	LM	**M**	**M**	**M**	+
AndCS1 (7)	N	SF	SF	-	+	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	+
AndCS1 (8)	/	/	/	+	-	/	/	/	/	/	+
AndCS1 (9)	N	N	SF	+	-	LM	**M**	**M**	**M**	**M**	+
AndCS1 (10)	N	N	SF	+	-	LM	**M**	**M**	**M**	**M**	+
AndCS5 (1)	N	N	N	-	+	N	LM	**M**	**M**	**M**	+
AndCS5 (2)	N	N	N	-	+	N	N	LM	**M**	**M**	+
AndCS5 (3)	N	N	N	-	+	N	N	LM	LM	**M**	+
AndCS5 (4)	N	N	N	-	+	N	N	LM	**M**	**M**	+
AndCS5 (5)	N	N	N	-	+	N	LM	LM	**M**	**M**	+
AndCS5 (6)	N	SF	SF	-	+	LM	LM	**M**	**M**	**M**	+
AndCS5 (7)	/	/	/	-	+	/	/	/	/	/	+
AndCS5 (8)	/	/	/	-	+	/	/	/	/	/	+
AndCS5 (9)	N	SF	SF	-	+	LM	LM	**M**	**M**	**M**	+
AndCS5 (10)	N	N	SF	-	+	LM	**M**	**M**	**M**	**M**	+

Legenda: N = normal; SF = separação de fases; / = não foram estudas por apresentar SF após 24 horas; - = insolúvel, + = solúvel e/ou presença de cristal líquido; LM = levemente modificado e M = modificação total.

A obtenção de cristais líquidos é possível através de diagramas ternários compostos por três diferentes componentes, em geral água, óleo e tensoativo, ou até mesmo uma mistura de tensoativos. Um dos grandes objetivos de se conseguir a formação dessas estruturas cristalinas está relacionado ao aumento da estabilidade e características coloidais que as mesmas agregam à emulsão que podem por sua vez colaborar na ação sobre a pele. O diagrama de fases sendo uma ferramenta útil para o planejamento de formulações cosméticas com diferentes microestruturas e comportamento das emulsões, foi aplicado ao teste de evaporação para compreender como as emulsões alteram a estrutura com a diminuição da concentração de água e outros componentes voláteis.

No estudo desse diagrama de fases observou-se que o silicone exerce uma influência na preservação dos cristais líquidos com a diminuição da quantidade de água. Isto pode ocorrer devido a uma provável interação do silicone com o tensoativo, mantendo assim o sistema “hidratado”.

Microscopicamente em todas as formulações foi observada a presença de fase líquido-cristalina como mostram as Figuras de 34 a 38.

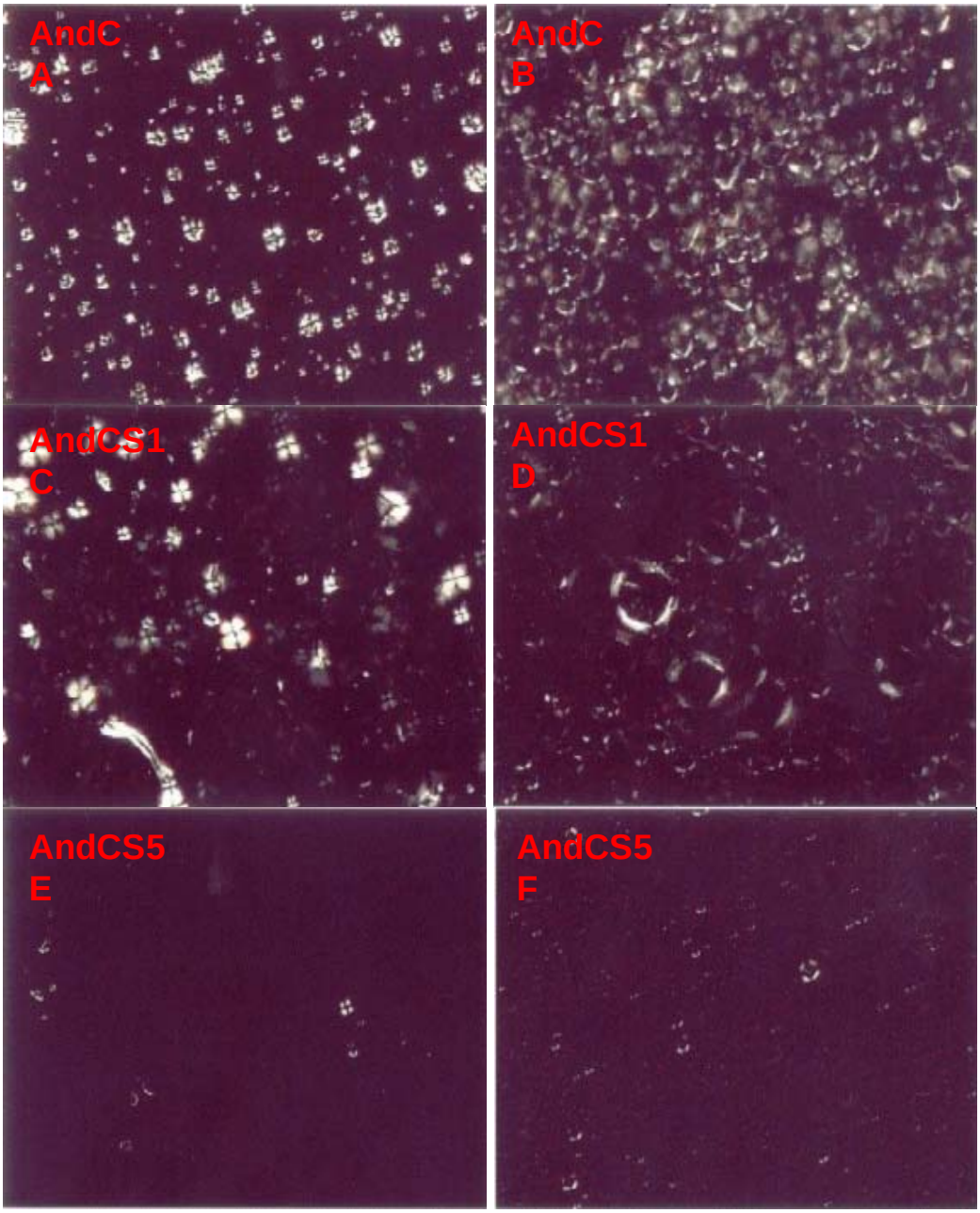

Figura 34: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 90,0 e 80,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 89,0 e 79,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 85,0 e 75,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação.

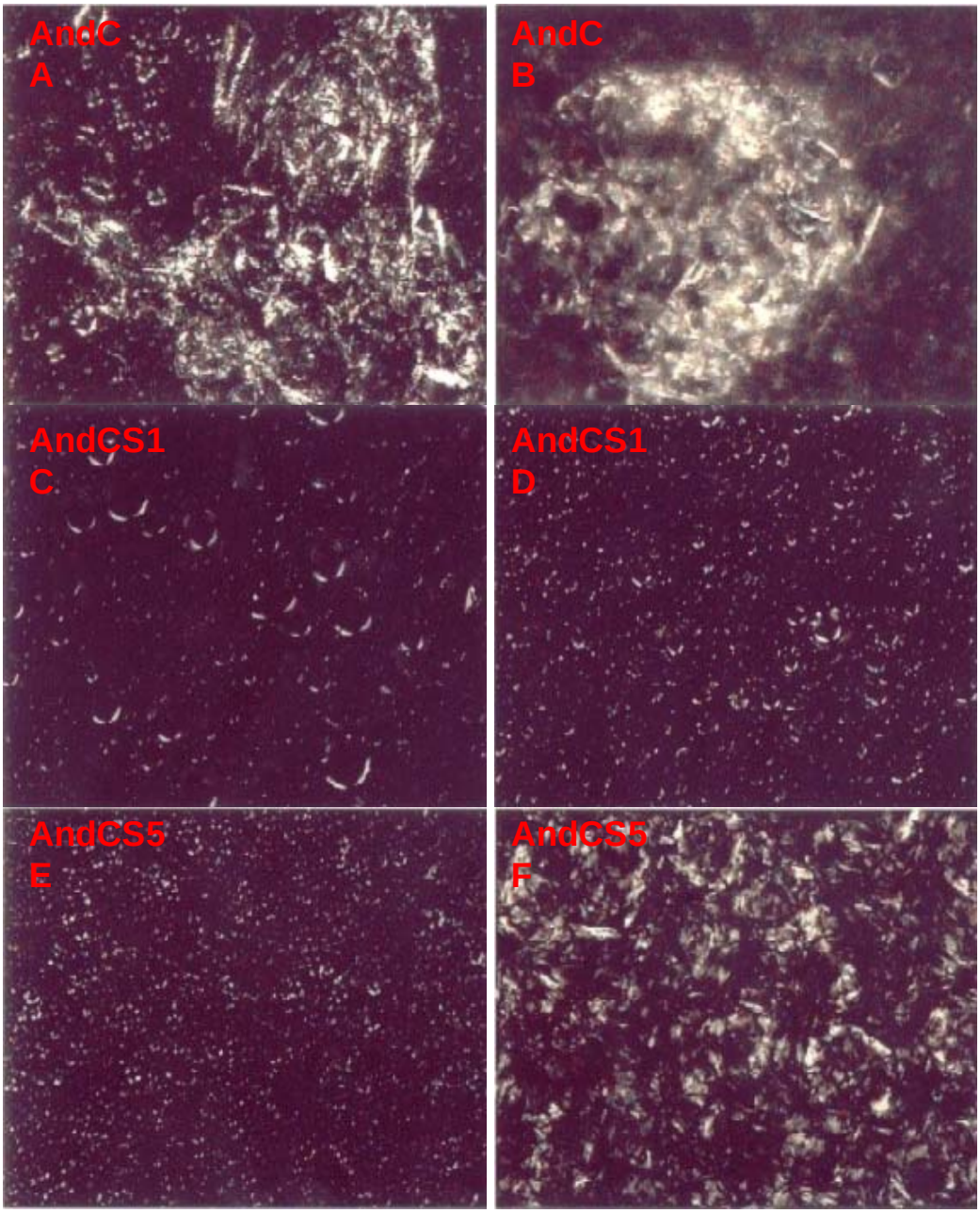

Figura 35: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 70,0 e 60,0% de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 68,5 e 58,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 64,5 e 54,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação.

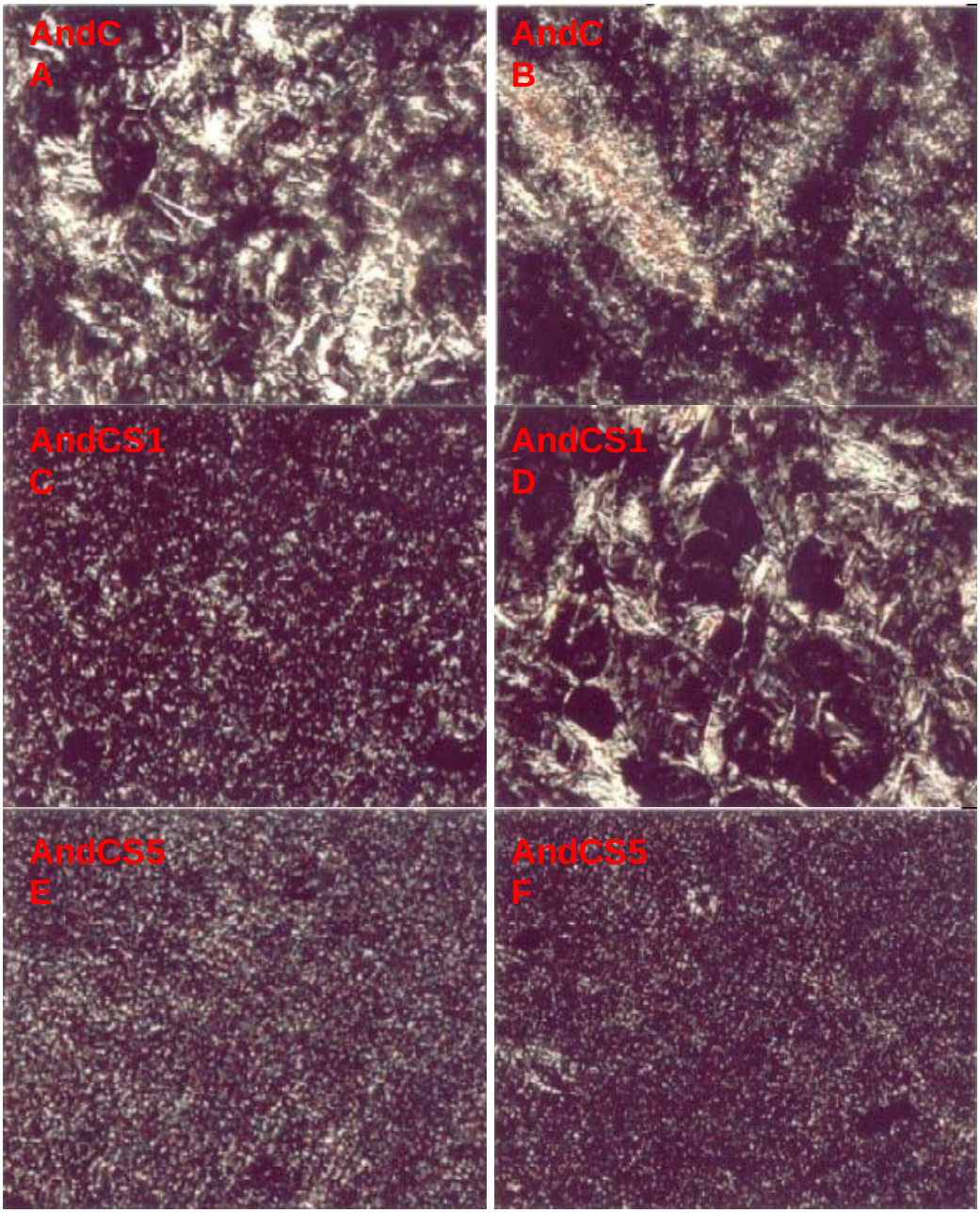

Figura 36: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 50,0 e 40,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 47,5 e 37,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 43,5 e 33,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação.

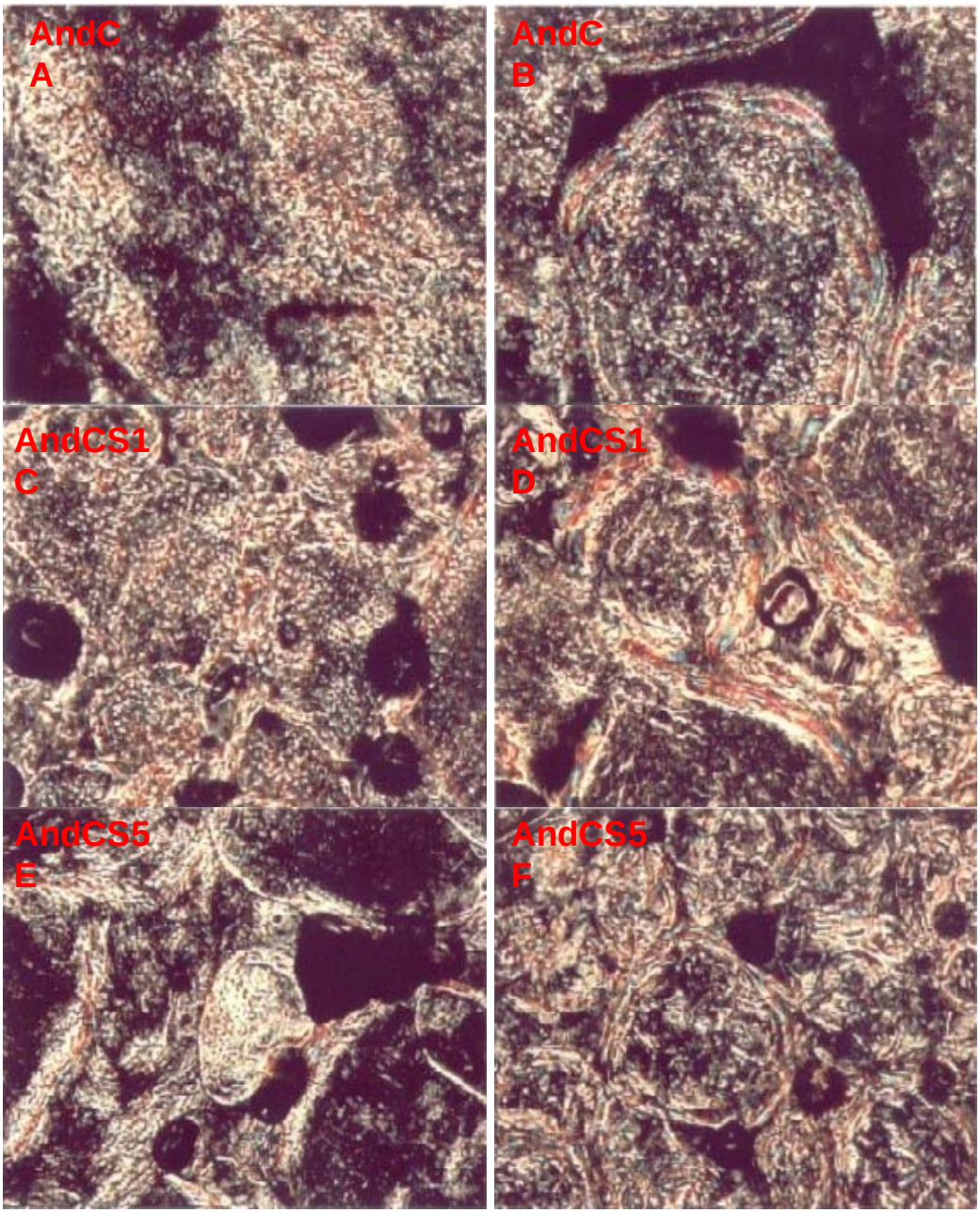

Figura 37: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 30,0 e 20,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 26,5 e 16,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 22,5 e 12,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação.

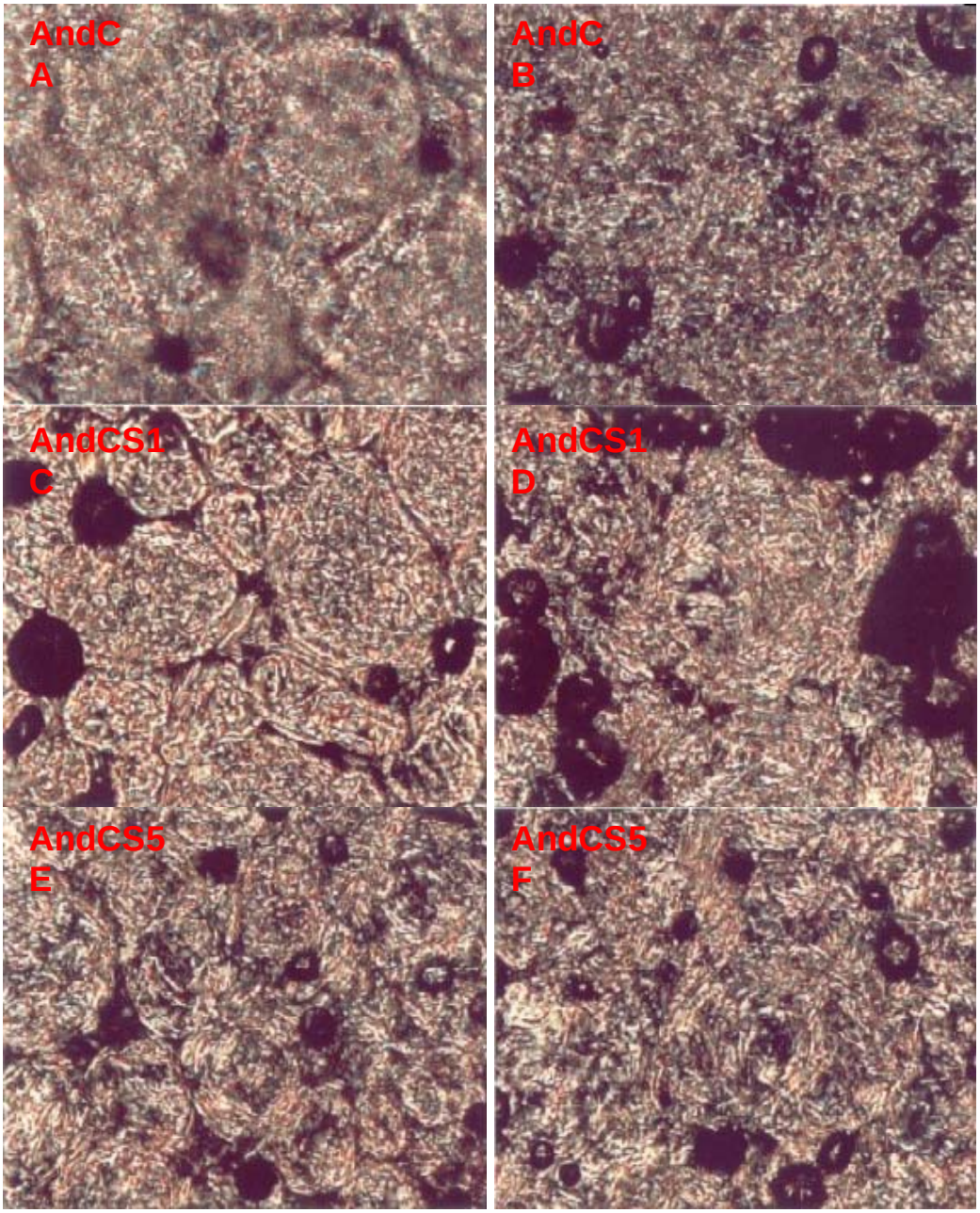

Figura 38: Fotomicrografias sob luz polarizada das formulações: AndC contendo 10,0 e 0,0 % de água (campos A e B respectivamente), AndCS1 contendo 5,5 e 0,0 % de água (campos C e D respectivamente) e AndCS5 contendo 1,5 e 0,0 % de água (campos E e F respectivamente) obtidas a partir do diagrama de evaporação.

5.4 Avaliação *in vivo* da hidratação, oleosidade e valor de pH cutâneo

5.4.1 Teste de atividade hidratante

Os resultados do teste de atividade hidratante podem ser observados na Figura 39, onde o perfil de hidratação obtido está de acordo com relatos de outros autores (Lodén; Lindberg, 1991; Maruno, 1998; Gönüllü *et al*., 2004) que também empregaram o mesmo teste. Este tipo de avaliação proporciona a mensuração do perfil cinético da hidratação do estrato córneo em função da aplicação de produtos sobre a pele.

Na pele existe uma grande diferença entre a parte interna dos tecidos ricos em água e o ambiente relativamente seco do lado externo do corpo e, o estrato córneo é a principal barreira contra a perda de água transepidérmica. Isto explica por que a hidratação da pele está intrinsecamente relacionada com a integridade do estrato córneo (Sparr *et al*., 2000; Proksch *et al*., 2005).

Neste estudo, observou-se um perfil de hidratação semelhante entre as três diferentes formulações, que não apresentaram diferença estatística no nível de significância de 5,0 % ($\alpha = 5$). As formulações AndCS1 e AndCS5 (acrescidas de 1,0 e 5,0 % de silicone respectivamente) apresentaram aumento após 30 minutos, diminuição entre os tempos de 30 e 60 minutos, aumento entre 60 e 90 minutos mantendo a hidratação até o tempo de 120 minutos. Porém, após a leitura de 120 minutos a formulação AndCS5 apresentou uma pequena diminuição da hidratação relativa que não ocorreu com a AndCS1 como mostra a Figura 39. A formulação AndC manteve aumento de hidratação até o tempo de 90 minutos, ocorrendo diminuição da hidratação após esse período.

Isto pode ter ocorrido pela atividade oclusiva dos cristais líquidos e do óleo vegetal de andiroba (Brinon *et al.*,1998; Santos *et al.*, 2004) e ao fato de que quando aplicadas à superfície cutânea essas emulsões formaram um filme oclusivo, mais eficiente nas formulações acrescidas de silicone, que impede a evaporação da água do estrato córneo.

O estado líquido-cristalino possui como característica a diferença entre a taxa de difusão das moléculas em relação às suas camadas: intra-camada, as moléculas comportam-se como se estivessem no mesmo meio, possuindo taxa de difusão semelhante à de substâncias dissolvidas em soluções; extra-camada, que ocorre quando a molécula atravessa de um compartimento para outro, atravessando as camadas formadas pelos domínios hidrofílicos e lipofílicos do cristal líquido, atinge taxa de cerca de até cem vezes menor que a taxa de difusão intra-camada. Isto causa diminuição na taxa de evaporação da água, aumentando a hidratação da pele.

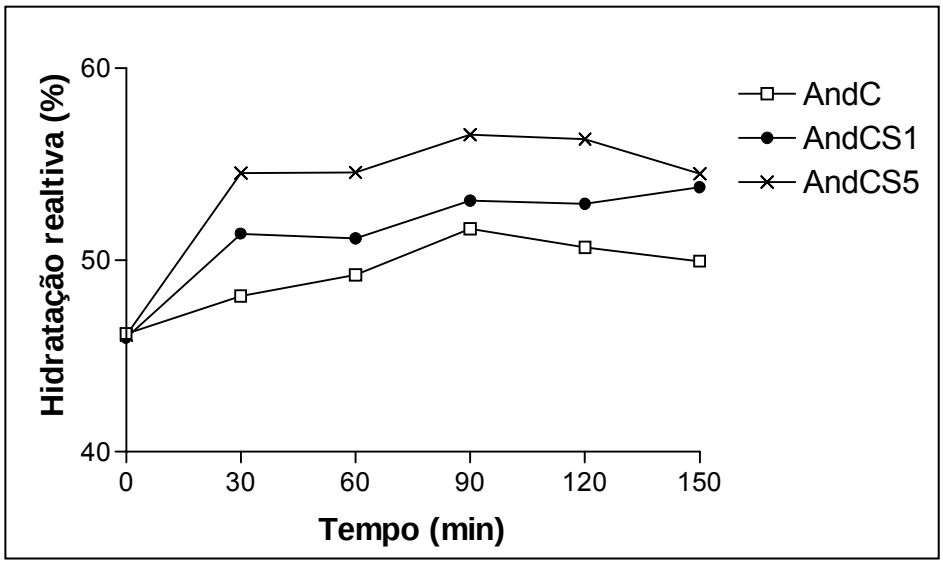

Figura 39: Gráfico da hidratação da pele através das voluntárias de acordo com o tratamento.

5.4.2 Teste de oleosidade cutânea

Nos resultados da oleosidade cutânea (Figura 40) observou-se que a quantidade de sebo no tempo inicial (0 min) é praticamente zero; isto ocorre, pois, conforme o protocolo do teste *in vivo*, as voluntárias lavaram o antebraço com sabão neutro e ficaram 15 minutos em uma sala com temperatura e umidade relativa controladas para aclimatação, tempo esse insuficiente para que a glândula sebácea produza excreção suficiente para ser detectada pelo equipamento. Com isso a oleosidade detectada a partir de 30 minutos, após aplicação na pele, é a resposta de cada formulação quanto a esse parâmetro.

A formulação AndCS1 apresentou diferença estatística no nível de significância de 5,0 % (α = 5) onde a porcentagem maior de oleosidade foi obtida após 30 minutos seguida das formulações AndCS5 e AndC (respectivamente), contudo, esses valores caíram progressivamente até o final dos 150 minutos do estudo. No entanto, AndC não apresentou diferença significativa quando analisada estatisticamente.

O aumento da oleosidade cutânea é esperado quando se faz a aplicação de emulsões na pele. Porém, devido as características das matérias-primas utilizadas, nenhuma das formulações causou aspecto oleoso no local de aplicação, o que demonstra que a absorção das mesmas é eficiente proporcionando um toque suave e não gorduroso (oleoso) sobre a pele.

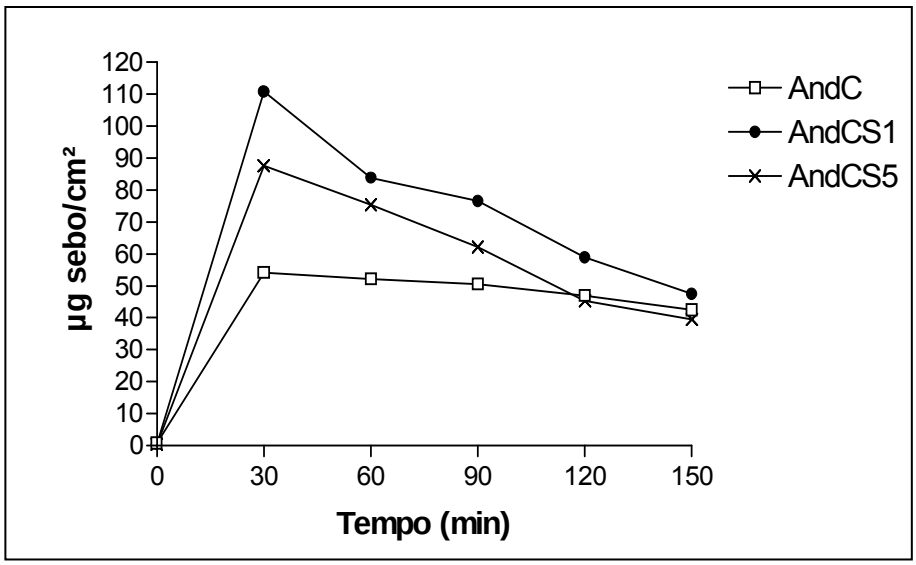

Figura 40: Gráfico da oleosidade cutânea das voluntárias de acordo com o tratamento.

5.4.3 Teste dos valores de pH cutâneo

O valor do pH da pele é resultante da presença de substâncias hidrossolúveis contidas no estrato córneo, da transpiração e sebo excretados, os quais formam um filme hidrolipídico na pele, e da excreção de ácido carbônico. A média do valor de pH da pele em mulheres é de 5,5 e em homens é relativamente mais baixo 5,0 (Courage + Khazaka). Por isso a pele é chamada de “camada protetora ácida”, exercendo efeito bactericida e fungicida, sendo importante para a saúde cutânea (Santos, 2006).

De acordo com os resultados obtidos (Figura 41), todos os valores de pH apresentaram-se de caráter ácido, com valores inferiores àqueles da faixa de pH característico de valor de pH para pele normal. Esse resultado já era esperado uma vez que as formulações haviam apresentado, durante os testes de estabilidade, valores de pH baixos (entre 2,2 e 3,5).

As formulações AndCS1 e AndCS5 apresentaram diferença estatística no nível de significância de 5,0 % (α = 5) onde AndCS1 foi a que apresentou maior

queda do valor de pH após 30 minutos de aplicação do produto na pele, seguida das formulações AndCS5 e AndCS1 respectivamente. Nas leituras de 30 minutos as formulações apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas entre si.

Entre as leituras de 30 e 150 minutos observou-se oscilação dos valores de pH com tendência de elevação dos mesmos. Isto provavelmente ocorre devido a tentativa que a pele exerce para corrigir (elevar) esses valores de pH a fim de minimizar possíveis irritações. Porém, irritações não foram relatadas pelas voluntárias durante todo o teste.

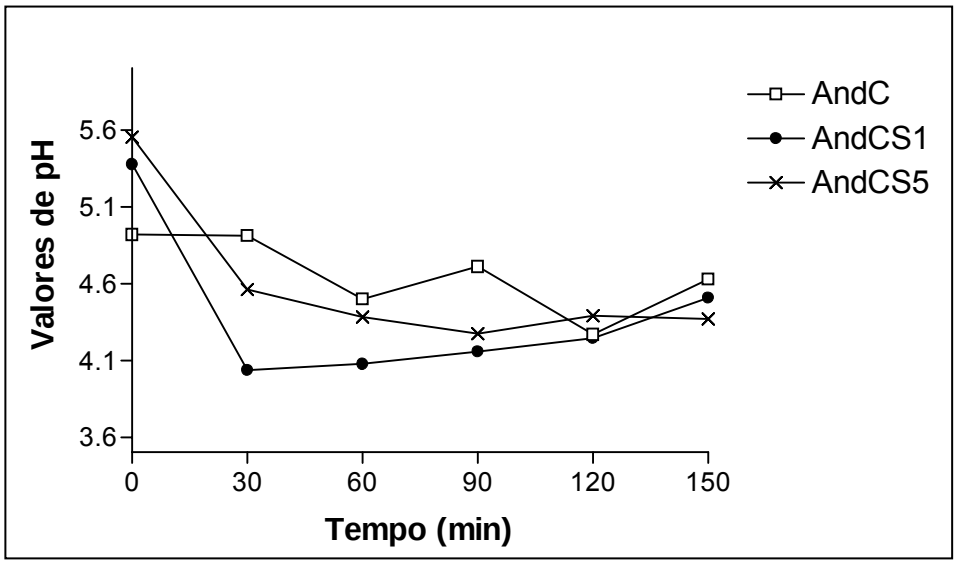

Figura 41: Gráfico dos valores de pH cutâneo das voluntárias de acordo com o tratamento.

5.4.4 Avaliação sensorial

O tipo de formulação e a aceitação do consumidor frente às características sensoriais do produto cosmético podem influir de maneira importante na escolha final. Assim, a avaliação sensorial é um instrumento importante para o sucesso de um produto cosmético, uma vez que se deve considerar que as percepções de

qualidade de um produto para um formulador e um consumidor são diferentes. Para o formulador características como estabilidade físico-química e conservação das propriedades originais dos produtos, forma de apresentação e o conteúdo de ativos são importantes. Para o consumidor, a qualidade de um produto está diretamente relacionada com a sensação de bem estar produzida durante e após aplicação (Tachinardi *et al.*, 2005).

Após a realização de um estudo de características sensoriais de um produto, podemos direcioná-lo para um determinado segmento de mercado minimizando problemas de aceitação, aproximando-se do “produto adequado para o mercado”.

As avaliações atribuídas às formulações AndC, AndCS1 e AndCS5 encontra-se no Apêndice E e como mostra Figura 42 os resultados da avaliação sensorial em relação ao toque e pegajosidade a formulação AndCS1 foi a que recebeu menor nota enquanto as formulações AndC e AndCS5 não apresentaram diferenças significativas.

Quanto a espalhabilidade a formulação AndCS5 foi considerada a menos recomendada, pela dificuldade em eliminar resíduos brancos da formulação, enquanto a amostra AndCS1 obteve nota superior à formulação AndC.

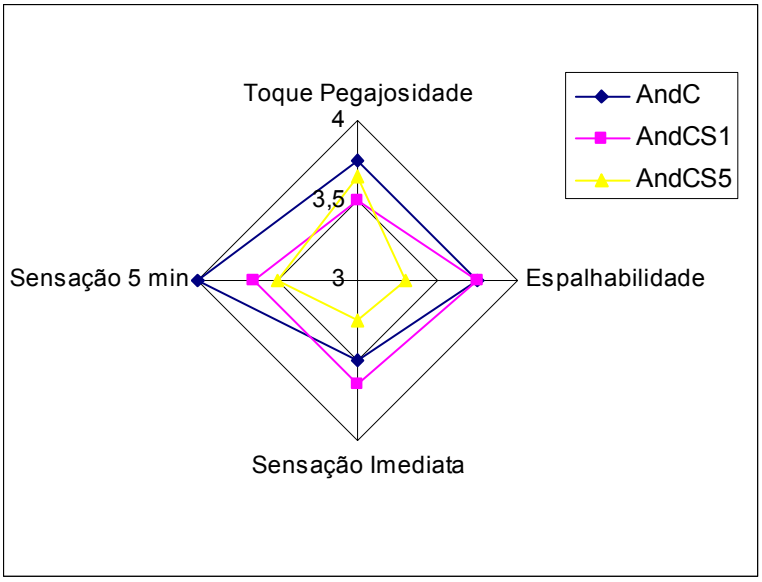

Figura 42: Avaliação sensorial das formulações AndC, AndCS1 e AndCS5.

Comparando as notas atribuídas quanto a sensação imediata e sensação após 5 minutos da aplicação na pele o perfil dos resultados das formulações AndC e AndCS5 foram semelhantes onde as notas dadas a sensação imediata foram menores que as atribuídas a sensação após 5 minutos. O mesmo não ocorreu com a formulação AndCS1 onde as notas obtidas foram praticamente iguais antes e após 5 minutos da aplicação.

Estatisticamente, as formulações não apresentaram diferença no nível de significância de 5,0 % (α = 5). Portanto, com os resultados obtidos neste estudo poderíamos afirmar que a formulação AndC obteve maior aceitabilidade de acordo com a avaliação das formulações pelas voluntárias.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos e apresentados anteriormente pode-se concluir que:

Os sistemas emulsionados constituídos de (1) óleo de andioba, Crodafos CES® e água destilada e de (2) *PEG-12 Dimethicone*, Crodafos CES® e água destilada formaram fases líquido-cristalinas lamelares provando que com a adição do *PEG-12 Dimethicone* às emulsões formuladas com Crodafos CES® não apresentaram alterações na formação das mesofases.

O diagrama de fases mostrou que o *PEG-12 Dimethicone* pode aumentar a fluidez das emulsões obtidas com Crodafos CES® sem alteração das fases líquido-cristalinas lamelares.

As formulações AndC, AndCS1 e AndCS5, apresentaram-se estáveis durante o teste de estabilidade acelerada, mantendo a formação das fases líquido-cristalinas nas diferentes condições a que foram submetidas (temperatura ambiente, geladeira, estufa e ciclo gela-degela).

O comportamento reológico das formulações durante o teste de estabilidade acelerada manteve-se típico de fluído não Newtoniano pseudoplástico como determinado previamente pelo teste preliminar. Esse comportamento reológico do tipo pseudoplástico pode ser útil para o controle de alguns parâmetros como a viscosidade do sistema sem alteração do perfil de fluxo.

Com o uso de tensoativo e aditivo (altamente não hidrolisados) as amostras apresentaram altos valores de potencial zeta, mostrando que a estabilização através de mecanismos eletrostáticos pode agir nesse sistema. Isso ocorre pela formação

da rede de fases líquido-cristalinas na fase líquida externa o que foi comprovado pela análise dos testes reológicos e de estabilidade.

Durante o processo de evaporação e diagrama de fases as emulsões mantiveram a formação de fases líquido-cristalinas, ocorrendo a transição entre os tipos de mesofases e a co-existência das fases hexagonal e lamelar conforme a perda da porcentagem de água.

As emulsões de óleo de andiroba contendo cristal líquido promoveram a hidratação da pele independente da adição do *PEG-12 Dimethicone*, de acordo com o teste de hidratação em curto prazo.

A formulação AndCS1 e AndCS5 apresentaram diferença estatística significativa no nível de significância de 5,0 % ($\alpha = 5$) para oleosidade cutânea, no entanto AndC não apresentou diferença significativa quando analisada estatisticamente. Porém, devido às características das matérias-primas utilizadas, nenhuma das formulações causou aspecto oleoso no local de aplicação, proporcionando um toque suave e não gorduroso (oleoso) sobre a pele.

Todos os valores de pH cutâneo apresentaram-se de caráter ácido, com valores inferiores àqueles da faixa de pH característico para pele normal. Porém, irritações não foram relatadas pelas voluntárias durante todo o teste.

Na avaliação sensorial, a formulação AndC foi melhor aceita pelas voluntárias, ressaltando que essa emulsão é a única isenta de silicone provando que o mesmo exerce pouca função na melhoria do aspecto sensorial e capacidade acentuada como agente modificador de reologia.

Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AL- BAWAB, A.; FRIBERG, S. E.; FUSCO, C. Evaporation of a model skin lotion with beta-hydroxy acids. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 26, p. 273-279, 2004.

AL-BAWAB, A.; FRIBERG, S. E. Some pertinent factors in skin care emulsion. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123-126, p. 313-322, 2006.

AMBROZIN, A. R. P.; LEITE, A. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. G. F.; PAGNOCCA, F. C; HEBLING, M. J. A.; BACCI JÚNIOR, M. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 17, n. 3, p. 542-547, 2006.

ANDRADE, F. F.; SANTOS, O. D. H.; OLIVEIRA, W. P.; ROCHA FILHO, P. A. Influence of PEG-12 Dimethicone addition on stability and formation of emulsion containing liquid crystal. **International Journal of Cosmetics Science**, v. 29, p. 211-218, 2007.

ANVISA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2004.

ARANBERRI, I.; BINKS, B. P.; CLINT, J. H.; FLECTCHER, P. D. I. Evaporation rates of water from concentrated oil-in-water emulsions. **Langmuir**. v. 20, p. 2069-2074, 2004.

BARRÈRE, M.; GANACHAUD, G.; BENDEJACQ, D.; DOURGES, M. A.; MAITRE, C.; HÉMERY, P. Anionic polymerization of octamethylcyclotetrasiloxane in miniemulsion II. molar mass analyses and mechanism scheme. **Polymer**, v. 42, p. 7239-7246, 2001.

BERGAMASCHI, M. M.; SANTOS, O. D. H.; FRIBERG, S. E.; ROCHA FILHO, P. A. A simple analysis of the changes during evaporation of commercial emulsion of unknown composition. **Journal of Cosmetic Science**, jan/feb, *in press*, 2008.

BOODTS, J. B. **Estabilidade química e física de formulações dermocosméticas contendo retinaldeído.** 2003. 123 f.. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

BOUCHAMA, F.; VAN AKEN, G. A.; AUTIN, A. J. E.; KOPER, G. J. M. On the machanism of catastrophic phase inversion in emulsions. **Colloids and Suerfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 231, p. 11-17, 2003.

BRACONI, F. L.; OLIVEIRA, I. S.; BARONI, M. N. F.; ROCHA FILHO, P. A. Aplicação cosmética do óleo de canola. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO E IBÉRICO DE QUÍMICOS COSMÉTICOS, 12., 1995, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 1995. p. 6-19.

BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; TRANCHANT, J. F.; POUGET, T.; COUARRAZE, G. Influence of lamellar liquid crystal structure on percutaneous diffusion of hydrophilic tracer from emulsions. **Journal of Cosmetic Science**, v. 49, p. 1-11, 1998.

CAMARGO JÚNIOR, F. B. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana por bioengenharia cutânea.** 2006. 152 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

CAPEK, I. Degradation of Kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 107, p. 125-155, 2004.

CHENG, Y.; DONG, Y.; DONG, M.; WANG, C.; SUN, Y.; LIU, J.; ZHENG, H.; SCHRADER, A.; ROHR, M.; LIU, W. Protection effect of cosmetics on human skin under simulated rigorous environment. **Skin Research and Technology**, doi: 101111/j.1600-0846.2007.00260.x, 2007.

CIOCA, G.; CALVO, L. Liquid crystals and cosmetics applications. **Cosmetics and Toiletries**, v. 105, p. 57-62, 1990.

COURAGE + KHAZAKA. **Sebumeter® SM810; Corneometer® CM820; Skin pH-meter® PH 900** – Information and Operating Instruction: catálogo, 2006.

CRAVELLO, B.; FERRI, A. Relationships between skin properties and environmental parameters. **Skin Research and Technology**, doi: 10.1111/j.1600-0846.2007.00275.x, 2007.

CRODA®. **Óleo de andiroba e Crodafos CES®** - Informe técnico Croda do Brasil: catálogo, 2004.

CTFA 1999. International Buyer's Guide, Washington, The Cosmetic, Toiletry and Fragance Association, 1999.

DAVIS, H. M. Analysis of creams and lotions. In: SENZEL. A. J. (ed.) NEWBURGER'S MANUAL OF COSMETIC ANALYSIS, Washington, **Association of official Analytical Chemists**, cap. 4, 32 p., 1997.

DAVIS, S. S.; BURBAGE, A. S. Electron micrography of water-in-oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science***,* v. 62, p. 361-363, 1977.

DOW CORNING®. **DC 193 Fluid, PEG-12 Dimethicone** - Informe técnico Dow Corning®: catálogo, 2004.

ECCLESTON, G. M. Multiple-phase Oil-in-Water Emulsions. **Journal of Society Cosmetic Chemistry**, New York, v. 41, n. 1-2, p. 1-22, 1990.

ENGELS, T.; RYBINSKI, W. Liquid crystalline surfactant phases in chemical applications. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v.8, n. 6, p. 1313-1320, 1998.

FERRARI, M. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etilexila e óleo de andiroba (Carapa guyanensis).** 2002. 142 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

FERRARI, M. **Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba.** 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

FERRARI, M.; MONTEIRO, L. C. L.; NETZ, D. J. A.; ROCHA FILHO, P. A. Identifying cosmetic forms and crystalline phases from ternary systems. **Cosmetics and Toiletries**, v.118, n. 8, p. 61-70, 2003.

FRIBERG, S. E. Evaporation from an ionic liquid emulsion. Journal of Colloid and Interface Science, v. 307, p. 494-499, 2006.

FRIBERG, S. E.; HILTON, M. L.; GOLDSMITH, L. B. Emulsions are not only two liquids. **Cosmetics and Toiletries**, New York, v. 102, n. 2, p. 87-96, 1987.

FRIBERG, S. E. Theory of Emulsions. In: LIEBERMAN, H. A.; RIEGER, M. M.; BANKER, G. S. **Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems**, Marcel Dekker, Inc., New York, 1988.

GAO, T.; TIEN, J. M.; CHOI, Y. H. Fórmulas de filtros solares com estrutura lamelar multi-camadas. **Cosmetics and Toiletries** (edição em português), v. 16, p. 76-84, 2004.

GONÇALVES, R. A. **Desenvolvimento e avaliação in vitro e in vivo de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos.** 2000. 169 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

GÖNÜLLÜ, Ü.; YENER, G.; ÜNER, M.; INCEGÜL, T. Moisturizing potentials of ascorbyl palmitate and calcium ascorbate in various topical formulations. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 26, p. 31-36, 2004.

HILL, R. M. Silicone surfactants – new developments. **Colloid & Interface Science**, v. 7, p. 255-261, 2002.

IYER, S.; KIEVSKY, Y.; SOKOLOV, I. Fluorescent silica colloids for study and visualization of skin care products. **Skin Research and Technology**, v. 13, p. 317–322, 2007.

IMURA, T.; HIKOSAKA, Y.; WORAKITKANCHANAKUL, W.; SAKAI, H.; ABE, M.; KONISHI, M.; MINAMIKAWA, H.; KITAMOTO, D. Aqueous-phase behavior of natural glycolipid biosurfactant mannosylerythritol lipid A: sponge, cubic, and lamellar phases. **Langmuir**, v. 23, p. 1659-1663, 2007.

IWAI, H.; FUKASAWA, J.; SUZUKI, T. A liquid crystal application in skin care cosmetics. **International Journal of Cosmetics Science**, v. 20, p. 87-102, 1998.

JEONG, M. W.; OH, S. G.; KIM, Y. C. Effects of amine and amine oxide compounds on the zeta potential of emulsion droplets stabilized by phosphatidylcholine. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 181, 2001.

KIM, E.; NAM, G. W.; KIM, S.; LEE, H.; MOON, S.; CHANG, I. Influence of polyol oil concentration in cosmetic products on skin moisturization and skin surface riughness. **Skin Research and Technology**, doi: 101111/j.1600-0846.2007.00246.x, 2007.

KULMYRZAEV, A. A.; SCHUBERT, H. Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 18, p. 13-21, 2004.

KUNIEDA, H.; UDDIN, M. D. H.; HORII, M.; FURUKAWA, H.; HARASHIMA, A. Effect of hydrophilic- and hydrophobic-chain lengths on the phase behavior of A – B-type silicone surfactants in water. **J. Phys. Chem. B**, v. 105, p. 5419-5426, 2001a.

KUNIEDA, H.; UDDIN, M. D. H.; FURUKAWA, H.; HARASHIMA, A. Phase behavior of a mixture of poly(oxyethylene)-poly(dimethylsiloxane) copolymer and nonionic surfactant in water. **Macromolecules**, v. 34, p. 9093-9099, 2001b.

LATREILLE, B.; PAQUIN, P. Evaluation of emulsion stability by centrifugation with conductivity measurements. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 6, p. 1666-1668, 1990.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia aplicada**. Medfarma, 1º ed., p. 56-57, 2004.

LIEBERMAN, H. A.; RIEGER, M. M.; BANKER, G. S. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, **Marcel Dekker**, Inc., New York, 1988.

LODÉN, M.; LINDBERG, M. The influence of a single application of different moisturizers on the skin capacitance. **Acta Dermato-Venereologica**, Stockholm v. 71, p. 79-82, 1991.

LOUDET, J-C.; POULIN, P. Liquid crystal emulsions. **Journal Dispersion Science and Technology**, v. 23, n. 1-3, p. 143-154, 2002.

MARTI-MESTRES, G.; NIELLOUD, F. Emulsions in health care applications- An overview. **Journal of Dispersion Science and Technology**, New York, v. 23, n. 1-3, p. 419-439, 2002.

MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. Rheology. In: MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. **Physical Pharmacy**, 4th ed, Philadelphia: Lea & Febiger. 1993, cap.17, p. 453-473.

MARTINI, E. **Nanoemulsões catiônicas como sistemas de liberação de oligonucleotídeos: Formulação e caracterização físico-química**. 2005, 106 f. Dissertação (Mestrado)–UFRGS, Porto Alegre, 2005.

MARUNO, M., **Avaliação da Hidratação Cutânea a partir de Emulsões Simples e/ou Complexas Contendo Hidrolisado de Proteínas.** 1998. 128 f. Dissertação (Mestrado)–Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

MASSARO, R. C.; ZABAGLI, M. S.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P.; del LAMA, D. S.; ROCHA FILHO, P. A. O/W dispersions development containing liquid crystals. **Bollettino Chimico Farmacêutico**, v. 142, n. 7, p. 264-270, 2003.

MASSON, D. S. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de emulsões O/A quanto à variação de umectantes e à adição de ácidos**. 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

MASSON, D. S.; MORAIS, G. G; MORAIS, J. M.; ANDRADE, F. F.; SANTOS, O. D. H.; OLIVEIRA, W. P.; ROCHA FILHO, P. A. Polyhydroxy alcohols and peach oil addition influence on liquid crystal formation and rheological behavior of o/w

emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, p. 463-468, 2005.

MOORE, D. J.; REREK, M. E.; MENDELSOHN, R. Role of ceramides 2 and 5 in the structure of the stratum corneum lipid barrier. **International Journal of Cosmetics Science**, v. 21, p. 353-368, 1999.

MORAIS, G. G.; SANTOS, O. D. H.; MASSON, D. S.; OLIVEIRA, W. P.; ROCHA FILHO, P. A. Development of o/w emulsions with annato oil (*bixa orellana*) containing liquid crystal. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, p. 591-596, 2005.

MORAIS, J. M.; SANTOS, O. D. H.; DELICATO, T.; GONÇALVES, R. A.; ROCHA FILHO, P. A. Physicochemical characterization of Canola oil/water nano-emulsion obtained by HLB number and Emulsion Phase Inversion Methods. **Journal of Dispersion Science and Technology**, New York, v. 27, n. 1, p. 109-115, 2006.

MORRISON, J. D.; ROSS, S. Emulsions. **Colloidal Dispersions – Suspensions, Emulsions and Foams**, Jonh Wiley & sons, Inc., New York, p. 420-455, 2002.

NAGATANI, N.; FUKUDA, K.; SUZUKI, T. Interfacial behavior of mixed systems of glycerylether-modified silicone and polyoxyethylene-modified silicone. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 234, p. 337-343, 2001.

NESSEEM, D. Formulation and evaluation of itraconazole via liquid crystal for topical delivery system. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 26, p. 387-399, 2001.

PARK, B. D.; KIM, Y.; LEE, M.; YOUM, J. K.; JEONG, S.; CHOI, E. H.; LEE, S. H. Properties of a pseudoceramide multi-lamellar emulsion *in vitro* and *in vivo*. **Cosmetics and Toiletries**, v. 116, n. 6, p. 65-76, 2001.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**. 5ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1996.

PROKSCH, E.; NISSEN, H. P.; BREMGARTNER, M.; URQUHART, C. Bathing in a magnesium-rich Dead Sea salt solution improves skin barrier function, enhances skin hydration, and reduces inflammation in atopic dry skin. **International Journal of Dermatology**, Philadelphia, v. 44, p. 151-157, 2005.

RIBEIRO, A. M.; KHURY, E.; GOTTARDI, D. Validação de testes de estabilidade para produtos cosméticos. In: CONGRESSO NACIONAL DE COSMETOLOGIA, 10, 1996, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, p. 349-375, 1996.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a dermoestética**. Pharmabooks, São Paulo, 1ª ed., p. 9-25, 2006.

RODRIGUES, L. H. T. **Desenvolvimento de formulações dermocosméticas contendo hidroxiácidos e derivados: estudo reológico e avaliação de seus**

efeitos na pele de camundongos *nude*. 1999. 166 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

ROLAND, I.; PIEL, G.; DELATTRE, L.; EVRARD, B. Systematic characterization oh oil-in-water emulsions for formulation design. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 263, p. 85-94, 2003.

SAJJADI, S.; JAHANZAD, F.; YIANNESKIS, M.; BROOKS, B. W. Phase inversion in abnormal o/w/o emulsions: effect of surfactant hydrophilic-lipophilic balance. **Industry and Engineering Chemical Research**, v. 42, p. 3571-3577, 2003.

SANTOS, O. D. H. **Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética in vivo de emulsões com óleo de *Calendula officinalis* apresentando cristais líquidos.** 2006. 113 f. Dissertação (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

SANTOS, O. D. H.; MIOTTO, J. V.; MORAIS, J. M.; ROCHA FILHO, P. A. Attainment of emulsions with liquid crystal from marigold oil using the required HLB method. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.26, p. 243-249, 2005.

SANTOS, O. D. H.; CAMARGO, M. F. P.; ANDRADE, F. F.; ROCHA FILHO, P. A. Study of liquid-crystalline phase changes during evaporation in vegetable oil

emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, New York, v. 27, n. 7, 2006.

SANTOS, O. D. H.; ROCHA FILHO, P. A. Influence of surfactant on the thermal behavior of marigold oil emulsions with liquid crystal phases. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, p. 543-549, 2007.

SANTOS, O. D. H.; SACAI, F.; FERRARI, M.; ROCHA FILHO, P. A. Liquid crystals in O/W emulsions with urea: development and testing. **Cosmetics and Toiletries**, New York, v. 119, n. 12, p. 83-92, 2004.

SHIMADZU; DSC-50. **Differential Scanning Calorimeter** - Instruction Manual: catálogo. 1992.

SILVA, C. L. M. **Obtenção de ésteres etílicos a partir da transesterificação do óleo de andiroba com etanol.** 2005. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

SOMASUNDARAN, P.; MEHTA, S. C.; PUROHIT, P. Silicone emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 21, n. 128-139, p. 103-109, 2007.

SORIANO, M. M.; CONTRERAS, M. J. F.; FLORES, E. S. Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives. **Il Farmaco**, Pavia, v. 56, p. 513-522, 2001.

SPARR, E.; WENNERSTRÖM, H. Diffusion through a responding lamellar liquid crystal: a model of molecular transport across stratum corneum. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 19, p.103-116, 2000.

TACHINARDI, F.; SÁ DIAS, T. C.; PICIRILI, C. A. D.; GOMES, A. L.; ARRUDA, R. Avaliação sensorial de produtos cosméticos em pele no. In: COLAMIQC, 27, 2005, Cusco. **CD-ROM...** Cusco, 2005.

TADROS, T.; NESTOR, J.; CLAIRE-TAELMAN, M.; SMITS, R. Emulsões: correlação da estabilidade física de longo prazo com medições reológicas de curto prazo. **Cosmetics and Toiletries** (edição em português), v. 19, p. 60 – 65, 2007.

TYLE, P. Liquid crystals and their applications in drug delivery. In: Rosoff, M. (ed.) **Controlled release of drugs**: polymers and aggregate systems. New York, VCH, cap. 4, p. 125-162, 1989.

WASAN, D. T.; NIKOLOV, A. D. Foams and emulsions: the importance os structural forces. **Aust. J. Chem**, v. 60, p. 633-637, 2007.

ZHANG Z.; FRIBERG S. E.; AIKENS P. A. Change on amphiphilic association structures during evaporation from emulsions in surfactant-fragrance-water systems **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 22, p. 181-199, 2000.

ZETA-METER INC. **Potencial Zeta: Um Curso Completo em 5 Minutos**: catálogo. Staunton, VA, USA, 1988.

Apêndices

Apêndice A

Tabela: Composição das formulações do diagrama ternário.

Amostra	Óleo de andiroba % (p/p)	Crodafos CES® % (p/p)	Água recém destilada % (p/p)
1	80	10	10
2	70	20	10
3	70	10	20
4	60	30	10
5	60	20	20
6	60	10	30
7	50	40	10
8	50	30	20
9	50	20	30
10	50	10	40
11	40	50	10
12	40	40	20
13	40	30	30
14	40	20	40
15	40	10	50
16	30	60	10
17	30	50	20
18	30	40	30
19	30	30	40
20	30	20	50
21	30	10	60
22	20	70	10
23	20	60	20
24	20	50	30
25	20	40	40
26	20	30	50
27	20	20	60
28	20	10	70
29	10	80	10
30	10	70	20
31	10	60	30
32	10	50	40
33	10	40	50
34	10	30	60
35	10	20	70
36	10	10	80

Apêndice B

Tabela: Composição das formulações complementares para o estreitamento do diagrama ternário.

Amostra	Óleo de andiroba % (p/p)	Crodafos CES® % (p/p)	Água Recém destilada % (p/p)
37	25	20	55
38	25	15	60
39	20	25	55
40	20	15	65
41	15	40	45
42	15	35	50
43	15	30	55
44	15	15	70
45	15	10	75
46	15	05	80
47	10	45	45
48	10	05	85
49	05	45	50
50	05	40	55
51	05	35	60
52	05	30	65
53	05	25	70
54	05	20	75
55	05	15	80
56	05	10	85
57	05	05	90

Apêndice C

Tabela: Composição das dispersões formadoras do diagrama de fases.

Formulação	Componentes (p/p)	Composição das dispersões formadoras do diagrama de fases									
		1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
AndC	**Água**	90	80	70	60	50	40	30	20	10	-
	Óleo de andiroba	-	10	15	20	25	30	35	40	45	50
	Crodafos CES®	10	10	15	20	25	30	25	40	45	50
AndCS1	**Água**	89	79	68,5	58	47,5	37	26,5	16	5,5	-
	Óleo de andiroba	-	10	15	20	25	30	35	40	45	47,5
	Crodafos CES®	10	10	15	20	25	30	35	40	45	47,5
	Silicone	1	1	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
AndCS5	**Água**	85	75	64,5	54	43,5	33	22,5	12	1,5	-
	Óleo de andiroba	-	10	15	20	25	30	35	40	45	45,5
	Crodafos CES®	10	10	15	20	25	30	35	40	45	45,5
	Silicone	5	5	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0

Apêndice D

Questionário entregue as voluntárias para a realização do teste sensorial.

Avaliação sensorial

Nome:_____

Qual nota, de 0 a 5, você daria sobre as seguintes características de cada formulação?

Toque e pegajosidade			Espalhabilidade			Sensação imediata na pele			Sensação na pele após 5 minutos		
F1	**F2**	**F3**	**F1**	**F2**	**F3**	**F1**	**F2**	**F3**	**F1**	**F2**	**F3**

Comentários:_____

_____

_____

Apêndice E

Tabela: Avaliação sensorial das formulações AndC (F1), AndCS1 (F2) e AndCS5 (F3).

Voluntária	Toque e pegajosidade			Espalhabilidade			Sensação imediata na pele			Sensação na pele após 5 minutos		
	F1	**F2**	**F3**	**F1**	**F2**	**F3**	**F1**	**F2**	**F3**	**F1**	**F2**	**F3**
1	5	3	3	5	5	3	5	3	3	3	2	3
2	2	3	2	4	4	3	2	3	2	3	4	4
3	3	4	5	4	4	5	4	4	5	5	4	4
4	3	4	4	4	3	3	3	4	3	4	3	3
5	4	2	3	4	2	4	5	2	3	4	4	1
6	4	5	5	3	4	3	4	5	4	5	4	5
7	4	3	3	5	5	4	4	4	3	5	4	4
8	2	5	4	5	5	5	3	5	4	3	5	4
9	4	3	5	3	4	1	3	2	1	4	3	2
10	5	3	4	4	0	3	2	2	3	3	3	3
11	5	4	4	5	4	3	4	5	5	5	4	5
12	5	4	3	4	5	4	4	5	4	5	4	5
13	3	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	4
14	4	4	3	1	4	4	3	4	3	4	4	3
15	3	3	4	2	4	3	3	4	3	3	4	4

Anexos

Anexo A

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Comitê de Ética em Pesquisa
Av. do Café, s/nº - Fone: (0xx16) 3602.4213 - Fax: (0xx16) 3602-4877
14040-903 - Ribeirão Preto - SP - Brasil
e-mail: cep@fcfrp.usp.br

Of. CEP 17/2007 - FCFRP/USP
kms

Ribeirão Preto, 19 de abril de 2007.

Prezado Senhor,

Informamos que o projeto de pesquisa intitulado "Avaliação de cristais líquidis obtidos em emulsões O/A a base de éster fosfórico", apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº 85, foi analisado na 56ª reunião deste CEP, realizada no dia 18 de abril de 2007 e considerado **aprovado**.

Em atendimento à Resolução 196/96 deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seu resultado, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou interrupção do mesmo.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Yara Maria Lucisano Valim
Coordenadora do CEP
FCFRP – USP

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. PEDRO ALVES DA ROCHA FILHO
Depto. de Ciências Farmacêuticas
FCFRP - USP

Anexo B

Termo de consentimento: (Frente)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Meu nome é Pedro Alves da Rocha-Filho, sou pesquisador da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto -USP e sou o coordenador da pesquisa "Avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A a base de óleo de andiroba e éster fosfórico", que está sendo desenvolvida pela mestranda Fernanda Frota de Andrade, com o objetivo de avaliar as características de produtos cosméticos contendo cristais líquidos desenvolvidos em meu laboratório, quando aplicados na pele. Os voluntários, mulheres brancas com idade entre 18 e 25 anos, serão divididos em grupos e avaliarão os produtos, aplicando os mesmo na pele e respondendo a um questionário previamente elaborado. Será avaliada também a atividade cosmética através de testes de hidratação, oleosidade e pH cutâneo, todos utilizando métodos não invasivos. Tanto a aplicação dos cremes quanto a análise não deverão causar nenhuma reação adversa, não existindo relatos de danos causados quando utilizados corretamente. No entanto não deverá ser aplicado em pessoas com histórico de reações alérgicas a qualquer tipo de produto de aplicação tópica. Caso ocorra qualquer reação não prevista o voluntário deverá passar por avaliação do médico responsável para apuração da causa e da necessidade de tratamento, ficando este por conta do responsável pela pesquisa. Esperamos que este estudo resulte em contribuição importante para o entendimento do comportamento de produtos cosméticos na pele.

Se você estiver de acordo em participar, posso garantir-lhe que as informações fornecidas serão confidenciais e que os dados coletados só serão utilizados neste projeto. Os resultados da pesquisa lhe serão fornecidos, se for de seu interesse. Não haverá despesas para você, pela sua participação. Se você tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, poderá entrar em contato pelo telefone (016) 3602 4214 / 3602 4279 ou no endereço av. Café s/n na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, sem que isso represente qualquer prejuízo a você.

Assinaturas:

Pesquisador principal_____

Coordenador da Pesquisa_____

Termo de consentimento: (Verso)

Eu:_____ _____R.G.:_____, abaixo assinado, tendo recebido as informações no verso, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar como voluntário da pesquisa citada.

1 – A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetido;

2 – A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo;

3 – A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade;

4 – O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;

5 – A disponibilidade de tratamento médico e a indenização que legalmente teria direito, por parte da Instituição à Saúde, em caso de danos que justifiquem, diretamente causados pela pesquisa;

6 – Que se existirem gastos adicionais estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa e,

7 – Que se ocorrerem reações adversas na pele (como alergia, irritações e outras), decorrentes da aplicação local das diferentes formulações, os voluntários deverão interromper imediatamente o uso destas.

Tenho ciência do exposto acima e desejo colaborar com a pesquisa.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____.

_____

Assinatura do voluntário