UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Desenvolvimento e estudo de eficácia clínica por métodos
instrumentais de bases de uso tópico contendo extrato de
soja fermentado**

Rafael Pinto Vieira

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. M. Valéria Robles Velasco

São Paulo
2008

Rafael Pinto Vieira

**Desenvolvimento e estudo de eficácia clínica por métodos
instrumentais de bases de uso tópico contendo extrato de
soja fermentado**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco
orientador/presidente

Prof.^a Dr.^a Patrícia Maria Berardo Maia Campos
1º examinador

Prof.^a Dr.^a Telma Mary Kaneko
2º examinador

São Paulo, 28 de outubro de 2008

RESUMO

Máscaras faciais são preparações cosméticas utilizadas desde a Antigüidade e, atualmente, têm seu uso difundido em função de suas características multifuncionais. Dentre os efeitos atribuídos a estas preparações, temos: limpeza profunda; ações tonificante, adstringente, hidratante e tensora na pele e sensação de bem-estar. Podem ser classificadas conforme sua aplicação, componentes ou grau de risco. As máscaras *peel off* à base de álcool polivinílico são formulações que, após a aplicação e secagem, formam um filme oclusivo sobre a face e, após sua remoção, conferem maciez, limpeza e ação tensora à pele, retirando células mortas do estrato córneo, resíduos e outros materiais depositados. O extrato de soja obtido pela fermentação do leite de soja pelo *Bifidobacterium animale* possui açúcares, aminoácidos, peptídeos, proteínas e alto teor de isoflavonas na forma livre, quando comparado ao leite não fermentado. Seu uso em formulações cosméticas visa combater os efeitos do envelhecimento cutâneo, propiciando hidratação, efeito tensor e emoliência à pele. Bases cosméticas de máscaras faciais *peel off* e emulsão óleo em água, acrescidas ou não de extrato de soja fermentado 5% p/p foram avaliadas em estudos de estabilidade física e físico-química em diversas condições de temperatura e períodos de avaliação, visando obter as de melhor desempenho para estudos clínicos. Os resultados indicaram que as preparações aditivadas com o extrato mantiveram-se estáveis quanto às suas características nos testes de estabilidade, não apresentando variações significativas. As preparações foram submetidas aos estudos clínicos em voluntários com o objetivo de avaliar seus efeitos tensor, na hidratação e na perda de água transepidérmica. Os resultados comprovaram que, em um estudo cinético, a base cosmética de máscara facial *peel off*, contendo ou não o extrato de soja fermentado, não apresentou diferença estatisticamente significativa para as formulações de emulsão quantos à promoção de elasticidade e firmeza à pele e diminuição da perda de água transepidérmica, mas promoveu maior hidratação das camadas superficiais da pele que as preparações de emulsão óleo em água.

Palavras-chave: máscara facial; álcool polivinílico; extrato de soja; hidratação

ABSTRACT

Development and clinical studies using instrumental methods of topical formulations containing fermented soybean extract

Facial masks are used since antiquity and, currently, its use has spread according to their multifunctional characteristics. Among the effects attributed to these preparations there are deep cleaning; invigorating, stringent, moisturizing and tensor actions and well-being sense. They can be classified according to their application, components or risk degree. Peel off facial masks based on polyvinyl alcohol are formulations that form a film on the face after application and drying. After their removal, they cause tenderness, cleaning and tensor action on the skin, removing dead cells of the stratum corneum other materials deposited. Soybean extract obtained from soymilk fermentation by *Bifidobacterium animale* has sugars, amino acids, peptides, proteins and high levels of free isoflavones, when compared to non-fermented milk. Its use in cosmetic formulations aims to avoid aging effects on skin, providing moisturizing, softness and tensor effect. Peel off facial masks and emulsions oil in water preparations, containing or not fermented soymilk 5% w/w were evaluated in physical and physical-chemistry stability studies in various temperature and time conditions, targeting the best formulations for clinical tests. Results indicated that preparations containing extract remained stable about their characteristics, showed no significant variations. Preparations were submitted to clinical studies in volunteers to evaluate tensor, moisturizing and transepidermal water loss effects. In a short-term study, results confirmed that peel off facial masks formulations, containing or not soybean fermented extract, showed no statistically significant difference in comparison to emulsion formulations on elasticity and firmness promotion and decreasing on transepidermal water loss. However, peel off facial masks provided greater hydration on skin surface layers than the oil in water emulsion preparations.

Keywords: peel off facial mask; polyvinyl alcohol; soybean fermented extract; moisturizing

Agradecimento especial

Agradeço à minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco, pelo empenho e auxílio na realização de todos os trabalhos que desenvolvi ao longo deste projeto

AGRADECIMENTOS

Agradeço e dedico aos meus pais, Francisco Dornas Vieira e Maria da Conceição Pinto Vieira, pela dedicação e exemplos de honestidade, amor e amizade.

Aos meus irmãos Eliane, Heloisa, Maria Inês, Márcia, Francisco e aos meus sobrinhos Nathália, Gabriel, Augusto e Marina. Formamos uma família grande e uma grande família.

Aos meus grandes amigos Bernardo, Bruno, Marcelo, Leonardo, Luis Osório, Pablo e Wendel. Sempre alimentamos amizades saudáveis. E sempre soubemos aproveitar os bons momentos de festa e nos apoiarmos nos momentos difíceis.

A todos os colegas do laboratório e do Mestrado, que tornaram o trabalho durante o projeto mais prazeroso e contribuíram para o meu crescimento profissional.

À Claudinéia Pinto, técnica do laboratório de Farmacotécnica, pelo suas enormes qualidades, que influenciam direta e positivamente na qualidade do trabalho de todos no Laboratório de Farmacotécnica. Sua paciência, competência, compreensão e dedicação são singulares.

À Vivian Zague, colega no Mestrado. Trata-se de uma grande profissional cujo conhecimento contribuiu em várias etapas deste trabalho, além de seu bom humor e amizade inigualáveis.

Às estagiárias Alessandra, Débora, Fernanda e Lívia, sem as quais a conclusão deste trabalho seria inviável.

A todos os funcionários e professores da USP cujas atividades influenciaram direta ou indiretamente este projeto. Graças a eles, pude vivenciar com intensidade a USP, como grande instituição que é.

À EVIC Brasil e todos os seus funcionários, principalmente à Sra. Idalina Maria Nunes Salgado Reis dos Santos, Dra. Carla Goulart Perón e Juliana Salles

Moscardi, que propiciaram a realização deste trabalho e com quem trabalhei e pude vivenciar excelentes experiências profissionais e pessoais.

À Statistika Consultoria e seus funcionários que, com competência, possibilitaram a realização da análise estatística dos resultados deste trabalho.

Ao Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos e a todos os amigos e profissionais que lá conheci. Foi esta empresa que me trouxe a São Paulo e com a qual pude aprender a trabalhar.

A São Paulo, uma cidade que nos seduz. As pessoas e lugares que conheci e às experiências que vivi nesta cidade única no Brasil e do mundo, que hoje compõem uma importante parte do mosaico que sou.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	12
LISTAS DE QUADROS	17
LISTA DE TABELAS	18
I – INTRODUÇÃO	22
II – REVISÃO DA LITERATURA	25
1 PELE	26
1.1 Constituição	26
1.2 Hidratação da pele	29
1.3 Elasticidade da pele	30
2 MÁSCARAS FACIAIS	31
2.1 História	31
2.2 Mercado atual	31
2.3 Usos e classificação	34
2.4 Máscaras faciais <i>peel off</i>	37
2.5 Substâncias ativas utilizadas nas máscaras faciais	38
3 ÁLCOOL POLIVINÍLICO (PVA)	39
4 EXTRATO DE SOJA	41
5 ESTABILIDADE DE PRODUTOS COSMÉTICOS	42
6 AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL	44
6.1 Corneometria	45
6.2 Determinação da perda de água transepidérmica	47
6.3 Cutometria	48
III – OBJETIVOS	52
IV – MATERIAL E MÉTODOS	54
1 MATERIAL	55
1.1 Reagentes (grau de pureza analítico, P.A.)	55
1.2 Matérias-primas (grau de pureza farmacêutico)	55
1.3 Equipamentos	66
1.4 Outros materiais	66

1.5 Descrição quali e quantitativa das bases de máscara facial <i>peel off</i> e pré formulações de emulsão	67
2 MÉTODOS	74
2.1 Preparo das bases de máscaras faciais <i>peel off</i>	74
2.2 Preparo da base e da formulação de emulsão	74
2.3 Estudo de Estabilidade Preliminar (EP)	75
2.3.1 Condições para Avaliação - Estudo de Estabilidade Preliminar	76
2.3.1.1 Centrifugação	76
2.3.1.2 Estresse térmico	76
2.3.1.3 Estufa a 50°C/ 72 horas	76
2.3.2 Variáveis analisadas	76
2.3.2.1 Características organolépticas	76
2.3.2.2 Valor de pH	78
2.3.2.3 Teste de secagem e formação de filme	78
2.4 Estudo de Estabilidade Preliminar (EP) – formulações de máscaras faciais	78
2.5 Estudo de Estabilidade Acelerada (EA)	81
2.5.1 Condições do teste	81
2.5.1.1 Geladeira (5,0 ± 1,0 °C)	82
2.5.1.2 Freezer (-10 ± 1,0 °C)	82
2.5.1.3 Temperatura ambiente (22,0 ± 2,0 °C)	82
2.5.1.4 Estufa (45,0 ± 2,0 °C)	82
2.5.1.5 Ciclos gela e degela (45,0 ± 2,0°C/-5,0 ± 2,0 °C)	82
2.5.2 Variáveis analisadas	82
2.5.2.1 Características organolépticas	82
2.5.2.2 Valor de pH	83
2.5.2.3 Viscosidade aparente	83
2.5.2.4 Tempo de secagem e formação de filme	83
2.6 Testes Clínicos – Sujeitos	84
2.6.1 Desenho do estudo	84
2.6.2 Tipo do estudo	84
2.6.3 Centro de investigação	84

2.6.4 Cronograma de realização do estudo	84
2.6.5 Ética em pesquisa	85
2.6.6 Amostra	85
2.6.6.1 Critérios específicos de inclusão dos voluntários no estudo	85
2.6.6.2 Critérios específicos de não-inclusão dos voluntários no estudo	86
2.6.6.3 Riscos mínimos previstos para o estudo	87
2.6.7 Aplicação das formulações	87
2.6.8 Avaliação instrumental	91
2.6.8.1 Efeito de hidratação das camadas superiores da pele	91
2.6.8.2 Efeito da perda de água transepidérmica	92
2.6.8.3 Efeito na elasticidade e na firmeza da pele	92
2.6.9 Análise estatística dos dados	92
V – RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
1 Teste de Estabilidade Preliminar (EP)	95
1.1 Bases de máscaras faciais <i>peel off</i>	95
1.1.1 Características organolépticas e valor de pH	95
1.1.2 Tempo de secagem e formação de filme	103
1.2 Adequação da base F35 e Estudo de Estabilidade Preliminar	104
1.2.1 Características organolépticas e valor de pH	104
1.2.2 Tempo de secagem e formação de filme	107
1.3 Base da emulsão óleo em água	108
2 Estudo de Estabilidade Acelerada	110
2.1 Variáveis analisadas nas formulações F35/17G e F35/18	110
2.2 Variáveis analisadas na formulação de emulsão óleo em água contendo extrato de soja fermentado	122
3 Testes clínicos	131
3.1 Dados obtidos nas medidas instrumentais	131
3.2 Análise estatística dos dados	143
3.2.1 Efeito na firmeza e elasticidade da pele	143
3.2.2 Efeito na perda de água transepidérmica	149

3.2.3 Efeito no aumento da hidratação da pele	152
VI – CONCLUSÕES	159
VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161
VIII – ANEXOS	175
1 Carta do Comitê de Ética	
2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Voluntários	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura esquemática dos principais componentes da pele. Página 27.

Figura 2. Estrutura esquemática das principais camadas (estratos) da epiderme. Página 28.

Figura 3. Remoção mecânica de máscaras faciais *peel off*, após secagem. Página 38.

Figura 4. Fórmula estrutural do álcool polivinílico (PVA), onde n varia de 500 a 5000 (grau de polimerização). Página 40.

Figura 5. Deformação da pele avaliado por Cutometer[®] SEM 575 (Courage and Khazaka). Página 50.

Figura 6. Locais de aplicação das formulações nos voluntários. Página 89.

Figura 7. Tempo de secagem (min) das bases 1 a 36 (média da triplicata) em estufa ($36,5 \pm 1,0^\circ\text{C}$). Página 103.

Figura 8. Tempo de secagem (min) das formulações obtidas a partir das modificações na de máscara facial *peel off* **F35** (média da triplicata), na condição de estufa ($36,5 \pm 1,0^\circ\text{C}$). Página 107.

Figura 9. Variação percentual do valor de pH para as formulações F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$), durante o Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 112.

Figura 10. Variação percentual do valor de pH para as formulações F35/18 e F35/17G nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 113.

Figura 11. Variação percentual do valor de pH para as formulações-teste F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ / $-10,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 114.

Figura 12. Variação percentual do valor de viscosidade para as formulações F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 115.

Figura 13. Variação percentual do valor de viscosidade para as formulações F35/18 e F35/17G nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 116.

Figura 14. Variação percentual do valor de viscosidade para as formulações F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ / $-10,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Pagina 114.

Figura 15. Variação percentual do tempo de secagem para as formulações-teste F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento estufa ($45,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$), geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$), freezer (F – $-10,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e temperatura ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) no Estudo de Estabilidade Acelerada. As variações são decorrentes da diferença obtida do 15º dia para t0, em todas as condições. Página 118.

Figura 16. Variação percentual do valor de pH para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$), durante o Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 124.

Figura 17. Variação percentual do valor de pH para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e

Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 125.

Figura 18. Variação percentual do valor de pH para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 118.

Figura 19. Variação percentual do valor de viscosidade para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 127.

Figura 20. Variação percentual do valor de viscosidade para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0$ °C), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0$ °C) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 128.

Figura 21. Variação percentual do valor de viscosidade para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada. Página 129.

Figura 22. Fotografias das manifestações (dermatite atópica) dos voluntários após aplicação e retirada da formulação de máscara facial *peel off* sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Os pontos azuis delimitam a área de aplicação do produto. Página 141.

Figura 23. Fotografias das manifestações (dermatite atópica) dos voluntários após aplicação e retirada da formulação de máscara facial *peel off* com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Os pontos azuis delimitam a área de aplicação do produto. Página 142.

Figura 24. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M1** (deformação final ou extensibilidade máxima) em relação ao tempo para as formulações de *emulsão*, contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 145.

Figura 25. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M1** (deformação final ou extensibilidade máxima) em relação ao tempo para as formulações de *máscara facial* contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 146.

Figura 26. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M2** (deformação resultante em comparação com o valor inicial) em relação ao tempo para as formulações de emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 147.

Figura 27. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M2** (deformação resultante em comparação com o valor inicial) em relação ao tempo para as formulações de máscara facial contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 148.

Figura 28. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de TEWL (perda de água transepidérmica) em relação ao tempo para as formulações de emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 151.

Figura 29. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de TEWL (perda de água transepidérmica) em relação ao tempo para as formulações de máscara facial contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 152.

Figura 30. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de CW (hidratação das camadas superiores da pele) em relação ao tempo

para as formulações de emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 155.

Figura 31. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de CW (hidratação das camadas superiores da pele) em relação ao tempo para as formulações de máscara facial contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente). Página 155.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição geral de máscara facial usualmente comercializada no mercado europeu. Página 33.

Quadro 2. Classificação das máscaras faciais conforme sua aplicação. Página 35.

Quadro 3. Classificação das máscaras faciais conforme sua composição. Página 36.

Quadro 4. Composição do extrato (leite) de soja antes e após fermentação por *Bifidobacterium animale*. Página 61.

Quadro 5. Fototipos, sua descrição e respectiva sensibilidade ao sol. Página 86.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Bases de máscara facial *peel off* (**1 a 11**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Página 69.

Tabela 2. Bases de máscara facial *peel off* (**12 a 22**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Página 70.

Tabela 3. Bases de máscara facial *peel off* (**23 a 33**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Página 71.

Tabela 4. Bases de máscara facial *peel off* (**34 a 36**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Página 72.

Tabela 5. Base cosmética (**ES**) e formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (**EC**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP) e testes de eficácia clínica, e com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Página 73.

Tabela 6. Formulações de máscara facial *peel off* (adaptações da base **F35** de máscara facial *peel off*) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Todas as formulações contêm o extrato de soja fermentado. Página 80.

Tabela 7. Codificação da base e da formulação de máscaras facial *peel off* e da base e da formulação de emulsão óleo em água utilizadas nos ensaios clínicos. Página 88.

Tabela 8. Descrição da quantidade e modo de aplicação das preparações utilizadas no teste clínico. Página 90.

Tabela 9. Descrição das preparações de acordo com os respectivos locais de aplicação, conforme aleatorização. Página 91.

Tabela 10. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (1 a 8) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 96.

Tabela 11. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (9 a 16) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 97.

Tabela 12. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (17 a 24) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 98.

Tabela 13. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (25 a 32) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 99.

Tabela 14. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (33 a 36) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 100.

Tabela 15. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das formulações de máscara facial *peel off* (modificações da base **F35**) no **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 105.

Tabela 16. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das preparações de emulsão O/A sem extrato de soja fermentado (**ES**, base) e contendo extrato de soja fermentado (**EC**, formulação) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**. Página 109.

Tabela 17. Avaliação das características organolépticas, pH e viscosidade aparente das formulações **35/17G** e **35/18**, no **Estudo de Estabilidade Acelerada**. Página 111.

Tabela 18. Avaliação das características organolépticas, pH e viscosidade aparente da formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado, no **Estudo de Estabilidade Acelerada**. Página 123.

Tabela 19. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra MS – base cosmética de máscara facial *peel off* (sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*). Página 132.

Tabela 20. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra MC – base cosmética de máscara facial *peel off* (com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*). Página 133.

Tabela 21. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra ES – emulsão sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Página 134.

Tabela 22. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra EC – emulsão com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Página 135.

Tabela 23. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra MS – base cosmética de máscara facial *peel off* (sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*). Página 136.

Tabela 24. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra MC – base cosmética de máscara facial *peel off* (com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*). Página 137.

Tabela 25. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra ES – emulsão sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.
Página 138

Tabela 26. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra EC – emulsão com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.
Página 139.

Tabela 27. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para **M1** (deformação final ou extensibilidade máxima). Página 144.

Tabela 28. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação das preparações produtos para **M1**, com os respectivos níveis de significância (deformação final ou extensibilidade máxima). Página 146

Tabela 29. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para M2 (deformação resultante em comparação com o valor inicial). Págian 146

Tabela 30. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para TEWL (perda de água transepidérmica). Página 149.

Tabela 31. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação dos produtos para TEWL (perda de água transepidérmica), com os respectivos níveis de significância. Página 151.

Tabela 32. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para CW (hidratação das camadas superiores da pele). Página 153.

Tabela 33. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação dos produtos para CW (hidratação das camadas superiores da pele), com os respectivos níveis de significância. Página 154.

Tabela 34. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação dos produtos para CW (hidratação das camadas superiores da pele). Página 154.

I INTRODUÇÃO

O uso de máscaras faciais remonta da Antigüidade, quando se atribuíam propriedades milagrosas a alguns tipos de argila (WILKINSON & MOORE, 1982). Atualmente, o interesse por estas formulações de uso tópico foi retomado pela Cosmetologia, devido à atribuição de vários efeitos, como limpeza profunda, estimulante, tonificante, adstringente, hidratante e tensora (BONADEO, 1982; DRAELOS, 1999; MARTINE *et al.*, 1995; POUCHER, 1991).

Máscaras faciais *peel off* são constituídas por álcool polivinílico (PVA) ou acetato de polivinila, utilizados como formadores de filme (WILKINSON & MOORE, 1982; ARANHA & LUCAS, 2001). As máscaras *peel off* produzem oclusão e ação tensora após a secagem, tornando a pele mais suave ao toque e, caso alguma substância ativa seja adicionada à formulação, esta ação se acentua (BABY *et al.*, 2004; DeNAVERRE, 1975). A principal vantagem deste tipo de formulação está relacionada com a facilidade de sua remoção completa após a formação do filme, sem deixar resíduos (DeNAVERRE, 1975). São adequadas para peles sensíveis, desidratadas e envelhecidas (POUCHER, 1991). Estas formulações geralmente contêm plastificantes, umectantes, conservantes, tensoativos, fragrâncias, corantes e, conforme o propósito, substâncias ativas.

Uma etapa determinante no desenvolvimento de uma formulação cosmética é o estudo de estabilidade, requisito fundamental à qualidade da preparação, relacionada à manutenção dos seus atributos físicos, químicos, microbiológicos e toxicológicos durante todo o seu prazo de validade, e que reflete no desempenho, segurança, eficácia, além da sua aceitação pelo consumidor. Considerando as máscaras faciais *peel off*, é importante a avaliação das características como aspecto, cor, odor e o desempenho do produto na pele, bem como o tempo de formação de filme (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

O extrato de soja, utilizado em formulações de uso tópico, é obtido pela fermentação do extrato (leite) de soja por *Bifidobacterium animale*. O leite fermentado apresenta açúcares, aminoácidos, peptídeos, proteínas e alto teor de isoflavonas na forma livre, quando comparado ao leite não fermentado. Sua alta concentração de isoflavonas livres é atribuída à atividade da β -glucosidase do microorganismo, enzima que hidrolisa os glicosídeos a agliconas, entre elas a genisteína e a daidzeína (OTIENO, 2006). Estudos recentes têm demonstrado a atividade antioxidante das agliconas presentes em extratos de soja fermentado,

prevenindo fotocarcinogênese e fotoenvelhecimento. Além disso, são atribuídas propriedades hidratantes dos produtos cosméticos incorporados deste extrato, em função da sua rica composição (BAUMANN, 2001). Para a comprovação das ações atribuídas ao extrato, é importante que se realizem estudos envolvendo a avaliação da hidratação, efeito tensor e emoliência.

A aplicação de um produto cosmético na pele contendo substâncias ativas pode interferir no metabolismo cutâneo. Assim, devem ser realizados estudos clínicos de produtos cosméticos que envolvam a avaliação da eficácia das formulações, por meio de análises subjetivas, como as avaliações de desempenho e objetivas, utilizando instrumentos de avaliação das propriedades biomecânicas da pele (SOUZA, 2000).

As máscaras faciais *peel off* podem ser utilizadas como veículo para aplicação do extrato de soja fermentado, permitindo que ocorram as ações da preparação, além de possibilitar a avaliação dos efeitos tensor, hidratante e de perda de água transepidérmica. A avaliação da estabilidade das formulações de máscaras faciais *peel off* e emulsão óleo em água contendo o extrato fermentado, em conjunto com estudos clínicos dos efeitos propiciados à pele, fornecem informações importantes ao meio científico, que carece de estudos deste tipo de formulação cosmética, bem como do extrato de soja fermentado incorporado em formulações de uso tópico.

II REVISÃO DA LITERATURA

1 PELE

1.1 Constituição

A pele é um órgão que ocupa, em média, uma superfície equivalente a 2 m² e é tão complexo quanto o cérebro, com relação à variedade de tipos celulares que a compõe. Ela é o contato direto do nosso organismo com o meio exterior e desempenha funções vitais, como a de prevenir a perda de água e proteger contra agressão de agentes externos (HADGRAFT, 2001). É responsável pela termorregulação do organismo, devido às glândulas, aos vasos sanguíneos e ao tecido adiposo que a compõem; recebe informações do meio ambiente, devido às suas terminações nervosas sensitivas e protege o organismo contra os raios ultravioleta, devido à produção do pigmento melanina. Na pele, também é formada a vitamina D₃, pela ação da radiação ultravioleta sobre os precursores encontrados no organismo e os adquiridos, principalmente, na dieta alimentar (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; SHAH & MAIBACH, 1993).

Este órgão pode ser considerado como uma membrana heterogênea, uma vez que possui várias camadas, cada uma com tipos particulares de células e, conseqüentemente, funções diferentes (HADGRAFT, 2001). Possui uma camada de origem ectodérmica, a epiderme, e outra de origem mesodérmica, a derme. Dependendo da espessura da epiderme, distingue-se a pele espessa, encontrada na palma da mão e planta dos pés, e a pele fina, que recobre o restante do corpo. A pele apresenta ainda algumas estruturas anexas, que são os pêlos, unhas, glândulas sudoríparas e sebáceas (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A **Figura 1** apresenta as principais estruturas da pele (BRASIL, 2008).

A derme é formada pelo tecido conjuntivo e une a pele ao tecido celular subcutâneo. Na derme, encontram-se os nervos e os vasos sanguíneos e linfáticos. Apresenta fibrilas de colágeno e fibras elásticas, responsáveis em parte pela elasticidade da pele. Possui duas camadas, a papilar, mais superficial, e a reticular, mais profunda. A camada papilar é constituída por tecido conjuntivo frouxo que forma as papilas dérmicas, que são reentrâncias da derme na epiderme. A camada

Figura 1. Estrutura esquemática dos principais componentes da pele (BRASIL, 2008).

reticular é constituída por tecido conjuntivo denso e é mais espessa (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

A epiderme é constituída por epitélio pavimentoso estratificado. Apresenta quatro tipos de células: os queratinócitos, os melanócitos, as células de Langerhans e as de Merckel, sendo os queratinócitos as células mais numerosas (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

Os melanócitos se encontram entre os queratinócitos da camada basal e são responsáveis pela síntese da melanina, pigmento que resulta na cor da pele. As células de Langerhans localizam-se em toda extensão da epiderme e têm origem na medula óssea, transportadas até a pele pela circulação sanguínea. São capazes de captar antígenos, processá-los e apresentá-los aos linfócitos T, sendo, portanto, importantes para as reações imunes cutâneas. As células de Merckel existem em maior quantidade na pele espessa, localizam-se na parte profunda da epiderme, apoiadas na membrana basal e presas aos queratinócitos por desmossomos. Funcionam como mecano-receptores, enviando informações sensitivas para o sistema nervoso central (BAREL *et al.*, 2001; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004)

A espessura da epiderme varia, podendo chegar a 1,5 mm na pele espessa. A epiderme possui cinco camadas (ou estratos), sendo que na pele fina as camadas

granulosa e lúcida podem estar ausentes. A camada basal é rica em células-tronco, também chamada de camada germinativa. É responsável, juntamente com a camada espinhosa, pela constante renovação da epiderme. A camada espinhosa apresenta células-tronco e células cubóides ligeiramente achatadas com filamentos de queratina unidas por desmossomos, importantes na coesão entre as células, fornecendo resistência ao atrito. Na camada granulosa, as células passam ao formato poligonal achatado e apresentam grânulos lamelares, que, juntamente com o conteúdo lipídico, contribui para a formação de uma barreira contra a penetração de substâncias e torna a pele impermeável à água, impedindo a desidratação. A camada lúcida, por sua vez, é formada por células mais achatadas, com numerosos filamentos de queratina, e é mais evidente na pele espessa. Finalmente, a camada córnea possui espessura variável, formada por células mortas, achatadas e sem núcleo, com citoplasma repleto de queratina (BAREL *et al.*, 2001; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A **Figura 2** apresenta as camadas da epiderme (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2007).

Figura 2. Estrutura esquemática das principais camadas (estratos) da epiderme (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2007)

Destas camadas, destaca-se o estrato córneo, camada mais externa, diretamente relacionada à função de barreira à penetração de agentes externos no organismo. Os trabalhos relacionados à penetração de substâncias no organismo através da pele têm como foco principal a investigação das propriedades do estrato córneo (HADGRAFT, 2001, BAREL *et al.*, 2001).

Na camada córnea, a pele possui fatores de hidratação natural (NMF) que participam do manto hidrolipídico e possuem caráter higroscópico. Dentre esses,

temos aminoácidos e seus derivados, ácido láctico, uréia e açúcares. Estes compostos atuam na umectação e hidratação da camada córnea, pois absorvem a umidade presente na atmosfera e dissolvem a própria água de hidratação, produzida na pele (RAWLINGS, 2004).

1.2 Hidratação da pele

A água é um dos principais constituintes da epiderme. A hidratação da epiderme está diretamente relacionada à flexibilidade da pele e aos processos de renovação (descamação). Portanto, a hidratação é um fator determinante na aparência saudável da pele (BAREL *et al.*, 2001).

A epiderme é constantemente suprida de água pela camadas inferiores, ao mesmo tempo em que este fornecimento é gradualmente perdido para atmosfera, por evapo-transpiração. Além da água, outro importante componente da epiderme é uma mistura de substâncias higroscópicas denominadas NMF (*Natural Moisturizing Factor* – fator de hidratação natural), que constituem até 10% do peso seco dos corneócitos e se apresenta como um filme fino, de espessura variada. Entre os componentes no NMF, destacam-se aminoácidos, ácidos carboxílicos (PCAs), lactatos, carboidratos e uréia. O NMF é formado a partir de proteínas de camadas inferiores da pele e sua produção é regulada conforme a hidratação do estrato córneo. A função básica do NMF é elevar o conteúdo de água na epiderme e retardar sua perda para o ambiente (BAREL *et al.*, 2001; MAGALHÃES, 2000).

Os produtos cosméticos que visam aumentar a hidratação superficial da pele, potencializando a ação promovida pelo NMF, empregam umectantes, emolientes e oclusivos na formulação e atuam exclusivamente no estrato córneo. As substâncias umectantes promovem retenção de água pela camada córnea, atuando superficialmente, enquanto as oclusivas diminuem a perda de água para o ambiente. As emolientes possuem ação oclusiva complementar, contribuindo também para a hidratação da camada córnea. Devemos considerar também as substâncias de ação hidratante profunda, que atuam de dentro para fora, com ação complementar aos umectantes. Qualquer que seja a natureza da pele, é recomendável a aplicação dos agentes promotores de hidratação ao menos duas vezes ao dia (POUCHER, 1991; RAWLINGS & HARDING, 2004).

Dentre as substâncias umectantes, os mais utilizados são os glicóis, como glicerina, propilenoglicol e butilenoglicol; as proteínas, os aminoácidos, peptídeos e polissacarídeos. Como hidratantes, pode-se citar a uréia, lactatos, fatores de hidratação natural e hialuronatos. Os agentes oclusivos, como a vaselina, formam uma camada sobre a superfície da pele e retardam a perda de água. Os emolientes são óleos e lípidos que espalham facilmente na pele e provocam oclusão parcial e uma melhor aparência da pele, com sensação de maciez. Os mais utilizados são os estearatos e a lanolina (RAWLINGS & HARDING, 2004).

As tecnologias cosméticas para hidratação variam os tipos e as concentrações dos agentes umectantes, hidratantes, emolientes e oclusivos e assim diferem nos seus efeitos. (RAWLINGS & HARDING, 2004).

1.3 Elasticidade da pele

A pele é freqüentemente submetida a agressões do ambiente externo como choques, trações e esmagamentos. Ela deve aliviar esses efeitos, preservando sua integridade e dos demais tecidos (PEYREFITTE *et al.*, 1998).

Todas as camadas da pele, inclusive o tecido subcutâneo e a derme, têm funções e componentes que conferem a sua resistência à tração (PEYREFITTE *et al.*, 1998). A elastina é um componente natural da derme responsável por promover o retorno da pele à sua configuração inicial após a tração (DRAELOS, 1999).

No entanto, é na epiderme que a pele possui a principal estrutura de resistência às agressões mecânicas do ambiente – a camada córnea. Quanto mais esta é distendida, maior é a resistência da pele. No entanto, caso a extensão ultrapasse a ordem de 5% , a elasticidade começa a desaparecer e as marcas da agressão passam a ser definitivas ou, até mesmo, atingem um ponto de ruptura (PEYREFITTE *et al.*, 1998).

Vários fatores interferem na perda elasticidade da pele. À medida que a idade avança, a rede formada pelas fibras de elastina da derme torna-se mais compacta, diminuindo a capacidade de extensão da pele (SCOTTI e VELASCO, 2003). Além disso, a hidratação é determinante na extensibilidade da epiderme, sendo que ela se torna 10 vezes mais extensível quando a hidratação ultrapassa valores 40% superiores aos valores usuais (PEYREFITTE *et al.*, 1998).

Portanto, formulações que promovem hidratação por meio da oclusão, quando ocorre a formação de barreira sobre a pele para impedir a perda e água transepidérmica; umectação, que absorvem água do ambiente, ou hidratação ativa, quando as substâncias são absorvidas pela pele e promovem hidratação intrínseca, tendem a promover melhora na elasticidade do tecido cutâneo (SCOTTI e VELASCO, 2003).

2 MÁSCARAS FACIAIS

2.1 História

Desde a Antiguidade existem relatos do uso de máscaras faciais como formulações de uso tópico, em função das propriedades atribuídas a alguns tipos de argila (WILKINSON & MOORE, 1982).

No Egito Antigo, as mulheres utilizavam estas preparações e as gregas empregavam a argila da ilha de Lemnos em sua higienização rotineira. No início da era Cristã, o poeta Ovídio descreve na sua obra “Arte de Amar” o emprego de diferentes preparações de lamas impregnadas de mel, ovos e bulbos de plantas em procedimentos de beleza. No período do Renascimento italiano, as mulheres aplicavam o *liccio* no rosto, máscara à base de sais de mercúrio, com o intuito de promover o clareamento da pele. Finalmente, no século XIX, surgiram as primeiras formulações de acordo com o conceito atual, ou seja, utilizando matérias-primas como caolim, argilas e as demais, ainda presentes nos produtos atuais (MARTINE *et al.*, 1995).

O atual interesse no desenvolvimento de formulações de máscaras faciais é atribuído aos vários efeitos propostos pelos produtos, como limpeza profunda, estimulante, tonificante, adstringente, hidratante e tensora (POUCHER, 1991).

2.2 Mercado atual

Existem poucos dados do mercado sobre as máscaras faciais. Estas formulações são amplamente empregadas nas clínicas de estética em etapas finais dos tratamentos de beleza, mas seu emprego no cotidiano tem aumentado gradativamente devido os efeitos benéficos do produto. As informações disponíveis

demonstram a utilização destas preparações por uma percentagem significativa da população feminina, com números variando de 14 a 25%. Estes dados indicam também o crescimento na utilização de máscaras em gel contendo álcool e polióis, além da crescente utilização das fórmulas promotoras de *peeling*, envolvendo a descamação das camadas superficiais da pele (DeNAVERRE, 1975).

A COLIPA, associação europeia que representa os interesses da indústria cosmética e de perfumaria na União Europeia, estabeleceu no *Cosmetic Frame Formulations Guideline* (Guia de fórmulas estruturais dos cosméticos) informações a respeito dos componentes e suas concentrações máximas presentes nas formulações dos cosméticos comercializados no continente atualmente. O objetivo principal foi fornecer informações que seriam úteis aos centros de atendimento médico, em caso de emergências relacionadas à intoxicação pelo uso dos cosméticos, direcionando o tratamento. A relação compreende os vários tipos de produtos, entre eles os destinados ao tratamento da pele, cabelos, barba, perfumaria, maquiagem e produtos infantis. Estas fórmulas, além da aplicação nos tratamentos por intoxicação e reações de hipersensibilidade, podem ser utilizadas como informativo sobre a composição das preparações comercializadas no mercado europeu, na atualidade. O **Quadro 1** apresenta a composição geral de uma máscara facial, com o limite máximo de seus componentes na fórmula, comercializada atualmente no mercado europeu (COLIPA, 2008).

<i>FÓRMULA GERAL DE MÁSCARA FACIAL</i>	
COMPONENTES	CONCENTRAÇÃO MÁXIMA (% p/p)
Ceras (ex. cera branca), óleos (minerais e vegetais) e gorduras	90
Agentes controladores da viscosidade (ex. bentonita, carbômero, celulose)	60
Umectantes (ex: glicerina, propilenoglicol)	40
Agentes suspensores (ex: amido, óxido e zinco, caolim)	30
Tensoativos e emulsificantes (ex: estearato de glicerila, lauril sulfato de sódio)	25
Etanol (ex: álcool, álcool desnaturado)	20
Componentes adicionais (ex: extratos de plantas, filtros UV, antioxidantes)	5
Emolientes (ex: miristato de isopropila)	5
Conservantes	2
Essência	1
Corantes	1
Agentes quelantes	0,5
Água	q.s.p. 100

Quadro 1. Composição geral de máscara facial usualmente comercializada no mercado europeu (COLIPA, 2008).

2.3 Usos e classificação

As formulações de máscaras faciais, para que possuam desempenho adequado e aceitabilidade no mercado, devem atender aos seguintes requisitos: suavidade na aplicação (sem grumos ou partículas); secagem rápida (entre 10 e 30 minutos) e formação de película aderente sobre a pele; remoção fácil, sem causar dor ou desconforto; sensação de maciez e limpeza sobre a pele; e não devem provocar reação sensibilizante (BONADEO, 1982; CHARLET, 1996; MARTINE *et al.*, 1995; WILKINSON & MOORE, 1982). São cosméticos aos quais são atribuídos efeitos similares às emulsões hidratantes, mas apresentam o efeito de forma mais pronunciada e em menos tempo (BONADEO, 1982). Devido a este efeito intenso, as máscaras faciais não devem ser utilizadas diariamente, como as demais formulações promotoras de hidratação, entre elas géis e emulsões, que devem ter aplicação diária (CHARLET, 1996).

As máscaras faciais podem ser classificadas conforme sua aplicação ou composição, que se completam quanto às informações (DRAELOS, 1999; MARTINE *et al.*, 1995). A classificação das máscaras faciais conforme sua aplicação está descrita no **Quadro 2** (BONADEO, 1982; CHARLET, 1996; MARTINE *et al.*, 1995) e de acordo com sua composição está descrita no **Quadro 3** (DRAELOS, 1999).

Características	Tipos de máscaras faciais						
	Máscaras de aplicação a frio				Máscaras autotérmicas	Máscaras formadoras de filme de aplicação a quente	
	Creμες	Argilosas	Gel	Formadoras de filme (peel off)	Gelificantes a frio	Gesso	Látex
Composição principal	Alginatos, acrilatos, umectantes, extratos vegetais	Bentonita, caulim, silicatos, lamas termais ou marinhas, adstringentes, umectantes	Gelatina, gomas, resinas acrílicas	Polímeros formadores de filme (álcool polivinílico, gomas, látex), substâncias ativas, plastificantes	Gelatina, gomas, resinas acrílicas (a gelificação é feita no momento da aplicação)	Sulfato de cálcio	Látex, cera de abelhas, óxido de titânio e de zinco
Indicação	todos os tipos de pele	Principalmente para peles oleosas	todos os tipos de pele, principalmente desidratadas, devido à oclusão	Peles desidratadas (ação oclusiva) e envelhecidas (efeito tensor)	todos os tipos de pele, principalmente desidratadas, devido à oclusão	A mistura gesso/água promove aumento de temperatura, facilita absorção de substâncias. Oclusiva	Todos os tipos de pele, exceto indivíduos com problemas vasculares
Efeito esperado	Hidratação ou conforme substância adicionada (anti-rugas, clareador, etc)	Adstringência	Hidratação ou conforme substância adicionada (anti-rugas, clareador, etc)	Hidratação, efeito tensor ou conforme substância ativa adicionada.	Hidratação ou conforme substância adicionada (anti-rugas, clareador, etc)	Hidratação ou conforme substância ativa adicionada	Vasodilatador (facilita absorção de substâncias) e oclusivo (hidratação)
Tempo de aplicação (min)	10 a 15	10 a 20	10 a 20	10 a 20	10 a 20	20 a 30	10 a 20
Retirada	Utilizando lenços umedecidos ou esponjas	Utilizando lenços umedecidos ou esponjas	Utilizando lenços umedecidos ou esponjas	Remoção mecânica, sem resíduos	Utilizando lenços umedecidos ou esponjas	Remoção mecânica, sem resíduos	Remoção mecânica, sem resíduos

Quadro 2. Classificação das máscaras faciais conforme sua aplicação (BONADEO, 1982; CHARLET, 1996; MARTINE *et al.*, 1995).

<i>Características</i>	<i>Classificação das máscaras faciais conforme composição</i>			
	À base de cera	À base de vinil ou borracha	Hidrocolóides	À base de argila
Composição principal	Cera de abelha ou parafina	Látex, álcool polivinílico ou acetato de polivinila	Gomas, umectantes, aveia (fornecidas a seco)	Bentonita, caulim, óxido de zinco, ácido salicílico
Indicação	Peles secas	Todos os tipos de pele	Todos os tipos de pele	Pele oleosa
Efeitos esperados	Relaxante e hidratação (oclusão)	Refrescante (evaporação do veículo), tensor e hidratante (oclusão)	Tensor e hidratante (oclusão)	Adstringente

Quadro 3. Classificação das máscaras faciais conforme sua composição (DRAELOS, 1999).

2.4 Máscaras faciais *peel off*

As preparações compostas em resinas vinílicas (máscaras *peel off*) são constituídas por álcool polivinílico (PVA) ou acetato de polivinila, utilizados como formadores de filme (WILKINSON & MOORE, 1982). Além disso, estas formulações geralmente contêm plastificantes, umectantes, conservantes, tensoativos, fragrâncias, corantes e, conforme o propósito, substâncias ativas.

Os plastificantes mais utilizados nas formulações de máscaras faciais *peel off* são os glicóis, destacando-se a glicerina, o propilenoglicol e o butilenoglicol. Esses componentes atuam conjuntamente com os formadores de película (álcool polivinílico), evitando a formação de um filme quebradiço, o que dificultaria sua retirada (FAZENDA, 1993). Além disso, atuam como umectantes da formulação, evitando a perda de água para o ambiente. Ao butilenoglicol são também atribuídas funções de retardar a perda da fragrância e atuar como conservante, evitando contaminação microbiana (BAREL *et al.*, 2001).

O uso de tensoativos neste tipo de formulação tem a função de dispersar as essências e outros componentes lipofílicos, uma vez que a base da máscara facial *peel off* é hidrofílica. A utilização de um tensoativo também evita possíveis irritações na retirada da máscara, promovendo a retirada suave após a secagem do produto na face, requisito fundamental para a adesão dos usuários ao tratamento (WILKINSON & MOORE, 1982). Os demais componentes exercem as mesmas funções consagradas em outras preparações cosméticas.

A máscara *peel off* ocasiona oclusão e ação tensora após a secagem. A pele torna-se mais suave ao toque e, caso alguma substância ativa seja adicionada à formulação, esta ação pode ser acentuada (BABY *et al.*, 2004; DeNAVERRE, 1975). A principal vantagem deste tipo de formulação está relacionada com a facilidade de sua remoção completa após a formação do filme, sem deixar resíduos na pele (DeNAVERRE, 1975). Esta característica torna a máscara facial *peel off* uma das preparações mais indicadas para uso doméstico (DRAELOS, 1999). São também adequadas para peles sensíveis, desidratadas e envelhecidas (POUCHER, 1991). Embora não existam estudos disponíveis, são importantes os trabalhos para confirmar a ação hidratante por meio de oclusão das máscaras *peel off*, ou mesmo o efeito tensor, atribuído ao uso destas formulações.

A **Figura 3** apresenta as fotografias de máscaras faciais *peel off* após secagem, no momento da remoção mecânica da formulação da face (PARIS. CLUB DES CRATEURS DE BEAUTÉ, 2008).

Figura 3. Remoção mecânica de máscaras faciais *peel off*, após secagem (PARIS. CLUB DES CRATEURS DE BEAUTÉ, 2008).

2.5 Substâncias ativas utilizadas nas máscaras faciais

Substâncias ativas são componentes encontrados em diversas formulações de máscaras faciais disponíveis no mercado (DeNAVERRE, 1975).

A ação destas substâncias ocorre no período de tempo de secagem do produto e sua utilização apresenta uso definido conforme os tipos de pele. Para formulações destinadas à pele acnéica, são adicionados peróxido de benzoíla (5 a 10%), extrato de hamamélis, extrato de própolis, extrato de camomila, enxofre, mentol e cânfora. Para pele oleosa, são incorporadas às máscaras faciais substâncias como hamamélis, cloridróxido de alumínio e mentol. Para peles secas, são utilizados uréia e alantoína. Outras substâncias são amplamente utilizadas e, dentre elas, destacam-se azuleno, triclosano, sais de amônio quaternário, enzimas proteolíticas, aminoácidos, calamina, sais adstringentes, vitaminas do complexo B e vitamina E (DeNAVERRE, 1975; MAGALHÃES, 2000).

É importante ressaltar que não há estudos disponíveis na literatura a respeito da eficácia de substâncias ativas adicionadas às formulações de máscaras faciais.

3 ÁLCOOL POLIVINÍLICO (PVA)

O álcool polivinílico (PVA) é a resina sintética produzida em maior volume no mundo, na ordem centenas de toneladas ao ano. Existem cerca de 10 marcas registradas de PVA produzidas por empresas químicas situadas na Alemanha, Espanha, Eslováquia, Itália, Estados Unidos, Japão e China (CHIELLINI *et al.*, 2003).

A obtenção do PVA é dada a partir de uma reação radicalar, promovendo a polimerização do acetato de vinila em acetato de polivinila, com posterior hidrólise induzida por metanol – metanólise (ARANHA & LUCAS, 2001; CHIELLINI *et al.*, 2003). O peso molecular da cadeia polimérica é controlado pelo tempo de permanência do polímero no reator, taxa de alimentação de acetato de polivinila, quantidade de solvente (metanol), concentração do radical iniciador da reação e temperatura em que a reação ocorre. O grau de hidrólise do PVA também é controlado pelo tempo de permanência no reator, concentração do catalisador e temperatura (CHIELLINI *et al.*, 2003).

As propriedades básicas do PVA dependem dos graus de polimerização e hidrólise (ARANHA & LUCAS, 2001). O PVA é estável a temperaturas de até 150 °C (CHIELLINI *et al.*, 2003). A **Figura 4** representa a fórmula estrutural do polímero, onde o valor de *n* (unidades vinílicas) pode variar de 500 a 5000 (MANTINDALE, 1989).

Figura 4. Fórmula estrutural do álcool polivinílico (PVA), onde n varia de 500 a 5000 (grau de polimerização) (MARTINDALE, 1989).

O PVA apresenta-se como pó branco-amarelado ou em grânulos translúcidos, solúvel em água, atóxico para os seres humanos, e biodegradável, sendo largamente utilizado na indústria como estabilizante, formador de filmes, adesivo e tensoativo não-iônico (KUMAR *et al.*, 2007; LYOO *et al.*, 2002). Na área de biomédica, é utilizado na fabricação de lentes e no desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada de fármacos e bio/nano-materiais (ARANHA & LUCAS, 2001; KUMAR *et al.*, 2007; LYOO *et al.*, 2002). Na área cosmética, polímeros como o álcool polivinílico são utilizados como agentes de dispersão, agentes formadores de filme ou espessantes (LIU & HOFFMANN, 2004).

Utilizado como agente de permeação cutânea, a eficácia do PVA está relacionada à ligação cruzada do polímero com outros agentes, como o cloreto de succinila, formando hidrogéis que podem ser utilizados como veículos para princípios ativos. O PVA pode aumentar a solubilidade de substâncias ativas de natureza hidrofílica e aumentar a sua permeação, provavelmente pela interação do polímero com o estrato córneo na pele (ORIENTI *et al.*, 2000).

NOKHODCHI *et al.* (2006) produziram micropartículas de etilcelulose contendo peróxido de benzoíla, utilizando o álcool polivinílico como agente emulsificante, com o objetivo de diminuir a irritação causada pelo fármaco no tratamento de patologias cutâneas, como a acne, através da liberação prolongada da substância. Observou-se que a presença do agente emulsificante é determinante na formação das microesponjas, designações aos poros na superfície das micropartículas, formadas devido à difusão do solvente. A formação de microesponjas interfere no perfil de liberação do princípio ativo.

Desta forma, além das suas funções usuais como componente de formulações de uso tópico, o PVA surge como uma substância potencial para uso

como carreador de princípios ativos em produtos cosméticos, uma vez que pode interferir na liberação destes compostos para a epiderme.

4 EXTRATO DE SOJA

A partir dos anos 80, a crescente demanda do mercado cosmético por produtos mais efetivos impulsionou a indústria na busca de novas substâncias ativas. Neste contexto, o extrato de soja, rico em componentes como isoflavonas e proteínas, surgiu como candidato a componente de formulações que promovem ação antioxidante e/ou hidratante (BAUMANN & LAZARUS, 2001; LUPO, 2001).

A soja é um grão que possui 40% de proteínas, 20% de lipídios (óleo), 5% de minerais e 34% de carboidratos (glicose, frutose e sacarose, fibras e oligosacarídeos – rafinose e estaquiose). Cada 100 ml de extrato de soja, também conhecido como leite de soja, contém 2,5% de carboidratos, 3,4% de proteínas, 2,3% de lipídios, 40mg de cálcio, 105 mg de potássio e 1,2 mg de ferro, 40 mg de vitamina B₁ e 120 mg de vitamina B₂ (EMBRAPA SOJA, 2007).

As isoflavonas são fitoestrógenos e podem ser encontrados em concentrações elevadas na soja. Os fitoestrógenos são conhecidos por suas atividades estrogênica, anticarcinogênica, antiviral, antifúngica, antiosteoporose e antioxidante. As isoflavonas exercem efeito antioxidante por possuírem a capacidade de doar um hidrogênio aos radicais livres derivados do oxigênio, pela complexação com metais, que possuem atividade de oxidação e redução, e pela inibição das lipooxigenases. A soja e produtos derivados são fontes importantes de isoflavonas, sendo as principais a gliciteína, genisteína e daidzeína, que exercem ação antioxidante (PRAKASH *et al.*, 2007).

As isoflavonas estão presentes na soja em quatro formas químicas. As estruturas agliconas da daidzeína, gliciteína e genisteína podem ser conjugadas para formar derivados malonil-, acetil- e β -glicosídeo. As diferenças estruturais entre as formas das isoflavonas resultam em biodisponibilidade variável em sistemas biológicos. Além disso, as isoflavonas agliconas é que são biologicamente ativas, pois atuam em receptores estrogênicos e são mais facilmente absorvidas que as formas glicosídicas em humanos (CHIEN *et al.*, 2006). As isoflavonas agliconas de soja, principalmente a genisteína e a daidzeína, representam 2 a 3% do total de

isoflavonas contidas na soja. A maior parte se encontra na forma de glicosídeos (MIYAZAKI *et al.*, 2002).

A conversão das formas glicosídicas para as formas de agliconas pode ser dada por duas vias. Ao ingerir a soja, as formas glicosídicas podem ser convertidas a agliconas pela ação da enzima β -glucosidase, presente no intestino (MIYAZAKI *et al.*, 2002). Da mesma forma, o leite de soja submetido ao processo de fermentação por *Bifidobacterium animale* possui maior concentração de isoflavonas na forma de agliconas (OTIENO *et al.*, 2006). Isso ocorre devido à atividade β -glucosidase do microorganismo no substrato, provocando a conversão das formas isoflavonóides malonil, acetil e glicosídeo em aglicona (CHIEN, 2006).

MIYAZAKI *et al.* (2002) verificaram a influência da genisteína, daidzeína e suas formas glicosídeas na produção de ácido hialurônico (HA) em culturas de queratinócitos humanos e em camundongos sem pêlo. Somente as formas agliconas apresentaram efeito significativo no estímulo da síntese de HA, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

O crescente interesse da incorporação do extrato de soja fermentado em formulações de uso tópico é baseado nos vários estudos relacionados à atividade antioxidante das isoflavonas que compõem o extrato (WEI, 1998). No entanto, estudos que comprovam a eficácia do extrato de soja fermentado como hidratante são escassos. Atualmente, muitas empresas de produtos cosméticos incorporam o extrato em formulações hidratantes de preço elevado. Apesar de se tratar de uma grande promessa como agente promotor de hidratação da pele, isso torna necessário o estudo dos efeitos do extrato na epiderme (BAUMANN & LAZARUS, 2001).

5 ESTABILIDADE DE PRODUTOS COSMÉTICOS

Os estudos de estabilidade de uma formulação cosmética tem o objetivo de prever as possíveis alterações físicas, físico-químicas, químicas e microbiológicas que podem ocorrer com a preparação desde sua fabricação até o término do seu prazo de validade. Estas alterações podem ser provocadas por fatores extrínsecos e intrínsecos. Os primeiros envolvem temperatura, luz, oxigênio, umidade, reações com material de acondicionamento primário, degradação por microrganismos e vibrações ocasionadas por transporte inadequado. Dentre os fatores intrínsecos,

ocasionados pela própria incompatibilidade dos componentes entre si ou com as características físicas da preparação e/ou do material de acondicionamento, destacam-se a variação do valor de pH, a incompatibilidade física, reações de óxido-redução e reações de hidrólise (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Além de permitir a avaliação do desempenho, segurança e eficácia do produto cosmético, o estudo de estabilidade orienta o desenvolvimento das formulações cosméticas, direcionando aos materiais de acondicionamento mais apropriados à formulação e fornecendo informações para aperfeiçoamento das formulações em casos de manifestações de instabilidade e/ou incompatibilidade entre componentes (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Para que o teste de estabilidade seja significativo, é importante estabelecer as variáveis que serão avaliadas, definindo os critérios de aceitação e/ou os métodos aptos a mensurar as variações destes atributos ao longo do tempo. A definição dos testes a serem avaliados são de responsabilidade e critério do analista, uma vez que cada formulação possui suas características particulares. Estes critérios devem levar em consideração, também, as principais características do produto analisado, pois são estes atributos que devem permanecer inalterados – ou alterados de forma que não comprometam o desempenho e a apresentação das preparações (BAREL *et al.*, 2001).

A realização do estudo de estabilidade é importante desde o desenvolvimento das formulações, em laboratório, até a fabricação dos lotes-piloto e dos primeiros lotes industriais. Além disso, o estudo deve ser novamente conduzido em caso de alterações nos componentes da formulação, material de acondicionamento, processos de fabricação e equipamentos, uma vez que tais alterações podem modificar completamente as características da formulação (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Os estudos de estabilidade devem ser conduzidos no menor tempo possível, em condições que acelerem a manifestação dos processos de instabilidade, mas que não sejam tão extremas ao ponto que provoquem reações que não ocorreriam nem mesmo no tempo de prateleira do produto. Esta sistemática permite conclusões sobre a estabilidade do produto e uma avaliação gradativa dos processos de instabilidade. Assim, recomenda-se, seqüencialmente, a condução dos Testes de Estabilidade Preliminar, caracterizada por uma triagem das formulações básicas, em

condições mais adversas que os demais testes, o que permite a seleção das formulações de melhor desempenho; os Testes de Estabilidade Acelerada, que permitem uma previsão das possíveis manifestações de instabilidade da formulação no mercado e a determinação do provável prazo de validade do produto; e, finalmente, os Testes de Estabilidade Normal, Longa Duração ou *Shelf-life* (tempo de prateleira), que permitem avaliar as variações nas características da formulação em condições normais do mercado durante todo o prazo de validade do produto, validando-o (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

As variações e as manifestações observadas durante um estudo de estabilidade podem não ocorrer com os produtos em condições de uso (*shelf life*). Neste sentido, o estudo de estabilidade é uma ferramenta para triagem de todas as possíveis manifestações de estabilidade de uma formulação, mesmo que elas nunca ocorram nas condições de uso do produto, prevenindo os analistas das manifestações possíveis e garantindo uma triagem minuciosa das características e possíveis alterações a que o produto está sujeito antes que seja liberado para o consumidor (BAREL *et al.*, 2001; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

6 AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL

A aplicação de um produto cosmético sobre a pele pode promover efeitos negativos ou positivos. Desta maneira, é importante definir procedimentos e métodos experimentais que sejam capazes de determinar a extensão destas alterações.

A avaliação da eficácia de produtos cosméticos pode ser realizada *in vitro* (fase pré-clínica), como os estudos em membranas celulares isoladas. Estudos de absorção percutânea e de toxicidade estão entre os mais comuns testes *in vitro*. Apesar de serem estudos mais dinâmicos, pois permitem a triagem de várias substâncias simultaneamente, eles não avaliam o impacto das substâncias no organismo como um todo, sendo necessário, em algumas ocasiões, mais de um teste pré-clínico para que seja realizada a equivalência dos resultados com o estudo *in vivo* (AUBIN, 1994; MAJMUDAR & SMITH, 1998).

A fase clínica, que envolve a avaliação em seres humanos, fornece resultados mais conclusivos a respeito do desempenho do produto, mas só pode ser realizada caso sejam seguidas as normas estabelecidas pelos comitês de ética

em pesquisa. A partir daí, a comprovação da eficácia pode ser determinada por análises subjetivas (como as avaliações sensoriais) ou objetivas, utilizando instrumentos e equipamentos específicos (SOUZA, 2000).

Existem muitos métodos para avaliar eficácia de produtos cosméticos. Parâmetros relevantes incluem aspectos sensoriais, efeito percebido, aparência visual e integridade da pele. O método a ser utilizado depende dos objetivos da avaliação e geralmente os ensaios clínicos utilizam várias metodologias simultaneamente. Na eficácia percebida, muito utilizada quando existem muitos sujeitos de estudo ($n > 100$), geralmente o consumidor aplica o produto em casa com frequência e período de tempo determinados e preenche questionários periodicamente. A avaliação pessoal é importante também para correlacionar os benefícios percebidos com aqueles mensuráveis por equipamentos específicos (RAWLINGS & HARDING, 2004).

As técnicas para avaliar a eficácia podem ser visuais, como na fotografia, na videomicroscopia, na observação visual por especialista ou na auto-avaliação subjetiva. Podem ser mais específicas como na avaliação da hidratação por higrômetros (medidas de capacitância e condutância) e por espectroscopia (acústica, infra-vermelho, ressonância magnética nuclear). Para avaliar a função de barreira da pele, pode-se medir a perda de água transepidérmica (*TEWL*) e para avaliar a elasticidade, existem algumas técnicas biomecânicas, como o *ballistometer*, o *dermal torque meter* e o *pinch recoil* (RAWLINGS & HARDING, 2004).

A duração dos testes de eficácia pode variar desde um dia, caracterizando os estudos de cinética de avaliação, com aplicação única do produto, até várias semanas, com várias aplicações em tempos determinados (RAWLINGS & HARDING, 2004).

6.1 Corneometria

É importante a presença de água no estrato córneo para conferir maciez, flexibilidade e aspecto saudável à pele. Portanto, a determinação *in vivo* do grau de hidratação do estrato córneo está relacionada não somente com a aparência estética da epiderme, mas também com a identificação de patologias, grau de envelhecimento da pele e, principalmente, a verificação da eficácia de formulações com ação hidratante (BAREL & CLARYS, 1995).

A corneometria baseia-se no princípio de um capacitor comum, que consiste em duas placas metálicas eletricamente isoladas por vácuo, ar, vidro ou plástico (dielétrico). Quando uma carga uniforme é conduzida em um capacitor ideal, existe excesso de elétrons na placa negativa e, conseqüentemente, pequena quantidade na placa positiva, condição que deve permanecer inalterada quando a fonte for removida. Capacitância é a capacidade de armazenar carga elétrica. Como a carga negativa atrai a positiva e vice-versa, cria-se um campo elétrico entre as cargas, o que afeta as moléculas do dielétrico. A placa positiva atrai os elétrons e a negativa, os núcleos atômicos. Ocorre a polarização de moléculas inicialmente neutras, que passam para pólos opostos, positivos e negativos, o que permite ao capacitor armazenar mais carga, aumentando sua capacidade. As características de cada dielétrico influenciam o aumento de capacitância pelo capacitor. A maior parte dos materiais aumenta a capacitância de um capacitor por um fator menor que 7, quando comparado ao vácuo. Um fator de aumento de cerca de 81 é observado quando o dielétrico for a água. Isso significa que a quantidade de água na pele é proporcional à capacitância (BERARDESCA et al., 1995).

O Corneometer[®] é um equipamento que determina a variação do conteúdo de água no estrato córneo por meio de capacitância em uma grande variedade de condições patológicas, fisiológicas e/ou experimentais. Suas vantagens envolvem a determinação da quantidade de água com alta reprodutibilidade, em um curto período de tempo – cerca de 1 s. Além disso, é um equipamento econômico e de fácil manuseio (BERARDESCA, 1995).

SERUP & O'GOSHI (2005) realizaram as medidas de capacitância na pele sob condições normais utilizando três equipamentos Corneometer[®], utilizando duas unidades do modelo CM820 e uma do modelo CM810. O objetivo foi verificar a reprodutibilidade dos resultados obtidos entre os três instrumentos. Os resultados indicaram que as três unidades apresentavam valores de capacitância similares, apresentando boa correlação entre si.

COUTEAU *et al.* (2006) analisaram diferentes formulações produtos hidratantes contendo uréia. O objetivo foi comparar, realizando medidas de capacitância por meio do Corneometer[®] CM825 em indivíduos saudáveis, a influência do efeito hidratante da uréia, quando veiculada por diferentes formas cosméticas, como géis e emulsões óleo em água. As medidas obtidas indicaram que géis de poliacrilamida associados a polissorbato 85 apresentaram capacidade

hidratante mais elevada que algumas emulsões, enquanto géis de carboximetilcelulose apresentaram a menor capacidade de hidratação da pele dentre as preparações avaliadas.

SHIMIZU *et al.* (2005) avaliaram a hidratação, flexibilidade, espessura e perda de água transepidérmica em pacientes com ictiose congênita, distúrbio que causa desordens no processo de queratinização, comprometendo a integridade do estrato córneo. As medidas de hidratação do estrato córneo foram realizadas com o Corneometer® ASA-M2. Verificou-se que os voluntários analisados apresentavam hidratação reduzida do estrato córneo. Pôde-se afirmar que, em conjunto com as demais medidas, a determinação da hidratação do estrato córneo é um fator importante na determinação da severidade de ictiose congênita.

Portanto, a determinação da capacitância da pele utilizando-se a corneometria é uma importante ferramenta na determinação de patologias do tegumento bem como da eficácia de formulações cosméticas hidratantes.

6.2 Determinação da perda de água transepidérmica

Uma das funções da pele é evitar a perda de água do organismo para o ambiente. Assim, a medida da perda de água transepidérmica é importante na avaliação de patologias, fenômenos fisiológicos e eficácia de tratamentos dermatológicos e cosméticos (BERARDESCA *et al.*, 1995). A perda de água transepidérmica é dependente da umidade relativa do ar, da integridade da barreira cutânea, da temperatura e, inversamente, da espessura do estrato córneo. Há três técnicas para determinação da perda de água transepidérmica (*transepidérmica water loss* – TEWL):

- *Método da câmara fechada*: avaliação da pele que não permite uma avaliação contínua pois, uma vez que é realizado em ambiente fechado, a saturação do ar faz com que a perda de água pela pele seja interrompida.
- *Método da câmara ventilada*: a mistura de um gás com quantidade definida de água passa pela pele, em câmara fechada. A água é interceptada por um higrômetro. Permite mensurações contínuas, mas

um gás muito seco pode induzir evaporação anormal da pele, causando interferência.

- *Método da câmara aberta*: método realizado em aberto, sendo um princípio largamente utilizado em equipamentos. Deve-se atentar para o movimento do ar e umidade, que são interferentes do método (BERARDESCA *et al.*, 1995).

O Tewameter® TM 210 tem seu princípio baseado no método da câmara aberta. O equipamento possui um *probe* (dispositivo) que é colocado sobre a pele do voluntário. O local de contato do *probe* com a pele é um cilindro (10 mm de diâmetro e 20 mm de altura), dentro do qual estão os sensores de temperatura e umidade. A configuração do *probe*, em formato cilíndrico, tem o objetivo de impedir a interferência do ar e umidade atmosféricos e ele é conectado a um equipamento que decodifica os dados obtidos, convertendo-os em unidades arbitrárias de medida de umidade (BERARDESCA *et al.*, 1995).

FLUHR *et al.* (2005) avaliaram a alteração da permeabilidade da barreira cutânea por meio da exposição de voluntários à irritação por lauril sulfato de sódio, em concentrações variando de 0 a 5%, na tentativa de simular injúrias provocadas por xenobióticos no ambiente de trabalho. A permeabilidade da barreira cutânea foi avaliada pela medida da perda de água transepidermica, utilizando o Tewameter® TM 210. Verificou-se, pelos resultados obtidos com o equipamento, o aumento estatisticamente significativo da perda de água transepidermica cinco dias após a exposição ao agente, indicando alterações nas propriedades da barreira do tegumento.

Desta forma, a utilização do método de determinação da perda de água transepidermica em câmara aberta é útil no entendimento de processos fisiopatológicos e na avaliação de desempenho de formulações cosméticas.

6.3 Cutometria

A avaliação da elasticidade da pele é importante na determinação de doenças ou manifestações relacionadas a processos como no envelhecimento cutâneo. Assim, a avaliação mecânica da elasticidade proporciona correlações com

processos bioquímicos e fisiológicos que ocorrem na pele e em todo o organismo (BERARDESCA *et al.*, 1995).

Dados biomecânicos da pele são relativos à tensão que é exercida sobre o órgão e como ele reage. Esta reação é dada pelo estiramento. Após o estiramento, a pele não retorna imediatamente à sua conformação original, mantendo-se ligeiramente deformada, um fenômeno denominado histerese (BERARDESCA *et al.*, 1995). À medida que a idade avança, a rede formada pelas fibras de elastina da derme torna-se mais compacta, diminuindo a capacidade de extensão da pele, e conseqüentemente, sua capacidade de retorno à configuração inicial após ser submetida a uma deformação (SCOTTI e VELASCO, 2003).

Os instrumentos utilizados em bioengenharia para determinação das propriedades mecânicas da pele diferem bastante quanto à forma como provocam a deformação na pele. Conforme o dispositivo, é empregada torção, elevação, impressão, sucção e/ou vibração. As vantagens e desvantagens de cada processo são variadas (BERARDESCA *et al.*, 1995).

Equipamentos baseados em extensão têm seus resultados diretamente relacionados ao ângulo aplicado no local de teste. Eles promovem torção e abrangem uma extensa área de teste, o que exclui locais de avaliação como a face, dedos ou genitálias. Instrumentos baseados em elevação, sucção ou vibração não possuem muitos impedimentos, mas são dependentes de estruturas próprias. (BERARDESCA *et al.*, 1995).

Nas avaliações da elasticidade da pele, fatores biológicos e comportamentais como idade, fototipo, sexo, área do corpo, espessura da pele, distúrbios internos ou da pele, cicatrização ou cura de feridas, uso de medicamentos e cosméticos devem ser levados em consideração na avaliação ou podem ser objetos da avaliação, uma vez que estão relacionados aos processos bioquímicos e fisiológicos da pele (BERARDESCA *et al.*, 1995).

O Cutometer® é um equipamento que, por meio de um *probe* (dispositivo), aplica uma sucção perpendicular na pele, empregando vácuo. Não existem danos, pois a área aplicação do vácuo é de cerca de 3 mm². A **Figura 5** apresenta uma curva deformação (E) – tempo, obtida com o equipamento.

Figura 5. Deformação da pele avaliado por Cutometer® SEM 575 (Courage and Khazaka) (BERARDESCA *et al.*, 1995, adaptada).

A **Figura 5** representa a deformação da pele em resposta à sucção. A curva é composta de uma rápida deformação, seguida de uma parte de retração do tecido, retornando à configuração inicial.

O valor de **ma** é definido como a *deformação imediata da pele* ou *extensibilidade*, **mb** como *distensão retardada*, **M1** como *deformação final* ou *extensibilidade máxima* e **(M1 – M2)** é a *retração imediata*. O valor de **M2** é considerado a *deformação resultante em comparação com o valor inicial*. O programa do equipamento capta todos estes dados e os armazena em arquivo eletrônico. A razão entre os valores provê significativos resultados biológicos. A razão **(M1-M2)/M1** é a taxa de retração imediata à deformação total, denominada *elasticidade* biológica. Além disso, considera-se que, se M1 decresce, a firmeza cutânea aumenta, e vice-versa. De forma semelhante, se M2 decresce, a elasticidade cutânea aumenta, e vice-versa (BERARDESCA *et al.*, 1995, adaptada).

CUA *et al* (1990) avaliaram as alterações das propriedades mecânicas em função do envelhecimento em 11 regiões anatômicas de 33 voluntários. Foram aplicadas três diferentes pressões nos locais de avaliação. Verificou-se que a elasticidade diminuía com a idade, sem a observação de nenhuma diferença relativa ao sexo entre as respostas biomecânicas.

OH *et al* (2002) avaliaram a variação na elasticidade da pele da face em decorrência de *Diabetes mellitus* em 96 pacientes com aparência normal. O grupo de pacientes apresentou diminuição significativa da elasticidade da pele, quando

comparado ao grupo controle. Estes resultados reforçam a teoria que os resultados das avaliações da pele estão diretamente relacionados às patologias do organismo.

Da mesma forma que as demais avaliações instrumentais realizadas em Bioengenharia, a Cutometria pode ser utilizada como ferramenta para elucidar manifestações do organismo ou comprovar a eficácia de substâncias e formulações cosméticas na promoção de melhoria da elasticidade da pele.

III OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi:

- Desenvolver formulações de máscaras faciais *peel off* e emulsões óleo em água contendo extrato de soja fermentado pelo *Bifidobacterium animale*, avaliando a estabilidade acelerada e o efeito hidratante, tensor e na perda de água transepidérmica.

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Desenvolver e padronizar o método de determinação do tempo de secagem *in vitro* de máscaras faciais *peel off*;
- Realizar os Estudos de Estabilidade Preliminar e Estabilidade Acelerada das bases cosméticas e formulações e selecionar a de melhor desempenho;
- Avaliar o efeito hidratante, tensor e na perda de água transepidérmica das bases de máscara facial *peel off* e emulsão óleo em água sem adição do extrato de soja fermentado e adicionado deste componente ativo.

IV MATERIAL E MÉTODOS

1 MATERIAL

1.1 Reagentes (grau de pureza analítico, P.A.)

- Ácido clorídrico fumegante 37%, Merck;
- Hidróxido de sódio, Merck.

1.2 Matérias-primas (grau de pureza farmacêutico)

- Acriloldimetiltaurato de amônio/Copolímero VP;
- Adipato de dibutila;
- Álcool cetílico etoxilado e propoxilado;
- Álcool de cereais;
- Álcool polivinílico;
- Base autoemulsionante;
- Butilenoglicol;
- Cera autoemulsificante não-iônica;
- Complexos conservantes
 - Dimetil dimetil hidantoína / lodo propinil butil carbamato;
 - Fenoxietanol/ parabenos;
- Corante azul;
- EDTA tetrassódico diidratado;
- Essência Givaudan®;
- Extrato de soja contendo isoflavonas;
- Glicerídeos etoxilados derivados do leite;
- Glicerina;
- Goma Guar;
- Lactato de miristila;
- Metilparabeno;
- Oleato de decila;
- Óleo mineral;
- Palmitato de isopropila;
- Propilenoglicol;

- Silicone de copolímero glicol;
- Silicone poliéter.

A seguir, tem-se a descrição detalhada das matérias-primas acima citadas.

ACRILÓIDIMETILT AURATO DE AMÔNIO/ COPOLÍMERO VP

- Aspecto: pó branco a 20 °C
- pH (1% em água destilada): 4,0 – 6,0
- Viscosidade (1% em água destilada): 48000 – 80000 mPas
- Estudo crítico: copolímero de ácido sulfônico usado como modificador reológico em sistemas aquosos e como espessantes/estabilizantes de emulsão em emulsões óleo/água.
- Nome comercial: Aristoflex® AVC
- Concentrações de uso: 0,5 a 1,0%
- Pode ser usado numa faixa de pH de 4,0 a 9,0 (CLARIANT, 2007)

ADIPATO DE DIBUTILA

- CAS N°: 105-99-7
- Nome INCI: DIBUTYL ADIPATE
- Aspecto: óleo de baixo peso molecular, incolor, inodoro.
- Nome comercial: Cetiol B®
- Estudo crítico: plastificante, solvente, melhora a espalhabilidade da formulação (BRANDÃO, 2000; SPECIAL CHEM, 2007)

ÁLCOOL CETÍLICO ETOXILADO E PROPOXILADO

- CAS N°. 9087-53-0
- Nome comercial: Procetyl® AWS
- Aspecto: líquido claro a levemente turvo

- Estudo crítico: solúvel em água, é um tensoativo emoliente e solubilizante de essências lipofílicas. Utilizado em formulações de xampus, géis de banho e desodorantes
- Concentrações de uso: 0,5 a 5,0% (CRODA, 2006)

ÁLCOOL DE CEREAIS

- Fórmula molecular: C_2H_6O
- Definição: etanol desodorizado
- Estudo crítico: solvente, conservante, agente secante (BRANDÃO, 2000)

ÁLCOOL POLIVINÍLICO

- Definição: polímero derivado do acetato de polivinila
- Nome comercial: Poval® 224
- Fórmula mínima: $(-C_2H_4O)_n$
- Fórmula estrutural:

- Aspecto: pó branco a amarelado
- Ponto de fusão: aproximadamente 190 °C
- Solubilidade em água: 10 g/ 100 mL
- Estudo crítico: Agente emulsificante e de polimerização; dispersante; formador de filme (ARANHA & LUCAS, 2001; IPIRANGA QUÍMICA, 2006)

BASE AUTOEMULSIONANTE

- Composição: associação balanceada de doadores de viscosidade, emulsionantes, ésteres fosfóricos e emolientes não comedogênicos. Atua como tensoarivo aniônico
- Nome comercial: Hostacerin® NCB
- Estabilidade: estável na faixa de pH de 4,0 a 9,0

- Estudo crítico: utilizada em formulações de emulsões O/A (óleo/água) não comedogênicas estáveis, que têm como principais características uma fácil espalhabilidade e um toque agradável à pele, não promovendo sensação pegajosa e deixando sobre a pele um toque de suavidade. Tem caráter aniônico e é compatível com diversos aditivos como extratos vegetais, *Aloe vera*, alguns solventes orgânicos, como etanol, e também princípios ativos farmacêuticos incluindo aqueles que requerem valores de pH mais baixos, como os AHA's (CLARIANT, 2006)

BUTILENOGLICOL

- CAS N°: 107-88-0
- Sinonímia: 1,3-butilenoglicol
- Aspecto: líquido viscoso, incolor, odor característico
- Solubilidade: miscível em água e álcoois
- Estudo crítico: agente regulador da viscosidade, umectante, solvente (BRANDÃO, 2000)

CERA AUTOEMULSIONANTE NÃO-IÔNICA

- Nome INCI: EMULSIFYING WAX NF
- Nome comercial: Uniox C[®]
- Definição: cera auto-emulsionante de caráter não iônico, estável com a maioria dos princípios ativos cosméticos e farmacêuticos.
- Estudo crítico: agente de consistência
- Concentração usual: de 5 a 15% (CHEMYUNION, 2007)

COMPLEXOS CONSERVANTES

DMDMH / IPBC – DIMETIL DIMETIL HIDANTOÍNA / IODO PROPINIL BUTIL CARBAMATO

- Composição: combinação dos ativos dimetil dimetil hidantoína (DMDMH) com o iodo propinil butil carbamato (IPBC)
- Nome comercial: Glydant plus®
- Aplicação: conservante, bacteriostático e fungicida.
- Fórmula estrutural:

- Aparência física: líquido límpido incolor
- pH: 6,5 – 7,5
- Solubilidade: solúvel em água, surfactantes catiônicos, aniônicos e não aniônicos
- Concentração de IPBC no Glydant Plus: 2,8% (máxima)
- Concentração de DMDMH no Glydant Plus: 70% (LONZA, 2006)

FENOXIETANOL / PARABENOS

- CAS N°: 122-99-6; 99-76-3; 120-47-8; 94-26-8; 94-13-3; 4247-02-3
- Nome comercial: Phenova®
- Nome INCI: Phenoxyethanol & Methylparaben & Ethylparaben & Butylparaben & Propylparaben & Isobutylparaben
- Aspecto: líquido incolor a levemente amarelado
- Estudo crítico: antimicrobiano de amplo espectro (CRODA, 2007)

CORANTE AZUL

- CAS N°. 3844-45-9
- Color Index: 42090
- Nome comercial: Corante Bleu Soluble® W6002
- Definição: triarilmetano (corante azul)
- Aspecto: pó azul
- Solubilidade em água (20°C): 100 g/L
- pH (1% em água destilada): 6,5 a 7,5
- Estudo crítico: corretivo da cor permitido para todos os tipos de produtos (LCW, 2006; BRASIL, 2000)

EDTA TETRASSÓDICO DIIDRATADO

- CAS N°. 10378-23-1
- Fórmula molecular: $C_{10}H_{12}N_2Na_4O_8 \cdot 2H_2O$
- Aspecto: pó branco cristalino
- Solubilidade: levemente solúvel em solventes orgânicos, como etanol e facilmente solúvel em água
- Estudo crítico: quelante de íons metálicos, atuando como antioxidante preventivo (BRANDÃO, 2000)

ESSÊNCIA GIVAUDAN®

- Composição: essência floral doce de caráter lipofílico
- Estudo crítico: aromatizante

EXTRATO DE SOJA CONTENDO ISOFLAVONAS, YAKULT COSMETICS

- Composição: solução aquosa obtida da fermentação do leite de soja por *Bifidobacterium animalis* (OTIENO *et al.*, 2006). A composição média quantitativa e qualitativa do leite de soja e o conteúdo de agliconas

(isoflavonas livres) no extrato fermentado estão descritas no **Quadro 4** (YAKULT COSMETICS, 2007).

Quadro 4. Composição do extrato (leite) de soja antes e após fermentação por *Bifidobacterium animale* (YAKULT COSMETICS, 2007).

Extrato (leite) de soja	
Componentes (antes da fermentação)	Quantidade/ 100 mL
Carboidratos	2,5%
Proteínas	3,4%
Lipídeos	2,3%
Cálcio	40 mg
Potássio	105 mg
Ferro	1,2 mg
Vitamina B1	40 mg
Vitamina B2	120 mg
Isoflavonas totais	3,6 mg
Isoflavonas livres	Não detectável
Extrato (leite) de soja	
Componentes (após a fermentação)	Quantidade/ 100 mL
Isoflavonas livres	3,5 mg

- Estudo crítico: provável efeito hidratante na pele e prevenção do envelhecimento cutâneo, através da ação antioxidante das isoflavonas de soja presentes no leite (BAUMANN & LAZARUS, 2001).

GLICERÍDEOS ETOXILADOS DERIVADOS DO LEITE

- Nome INCI: HYDROXILATED MILK GLYCERIDES
- Nome comercial: Cremerol HMG®
- Estudo crítico: agente condicionador da pele, conferindo hidratação superficial e maciez (BRANDÃO, 2000)

GLICERINA

- CAS N°. 56-81-5
- Sinonímias: glicerol, 1,2,3 - propanotriol e 1,2,3-triidroxipropano
- Fórmula molecular: $C_3H_8O_3$
- Aspecto: líquido viscoso, incolor e inodoro
- Solubilidade: completamente miscível em água e álcoois
- Estudo crítico: hidratante e umectante em formulações de produtos cosméticos (BRANDÃO, 2000)

GOMA GUAR

- Aspecto: pó amarelado de livre escoamento.
- Nome comercial: Jaguar®
- Peso molecular: por volta de 220.000
- Origem: endosperma de *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) – Leguminosae cultivada na Índia. A porção hidrossolúvel (85%) é chamada guaran e consiste em cadeias lineares de (1→4)-β-D-manopiranosil com α-D-galactopiranosil ligadas por ligações (1→6). A razão entre D-galactose e D-manose é 1:2
- Solubilidade: completamente solúvel em água fria ou quente; praticamente insolúvel em óleos, gorduras, hidrocarbonetos, cetonas, éteres
- Aspecto: solução aquosa é insípida, inodora, não-tóxica, de coloração cinza translúcida, neutra e estável ao calor
- Outras informações: possui de 5 a 8 vezes o poder espessante do amido. Soluções aquosas podem ser convertidas em gel com pequena quantidade de bórax
- Estudo crítico: colóide protetor, estabilizante, espessante e agente formador de filme em suspensões, emulsões, loções, cremes e pastas de dentes (MERCK, 1996)

LACTATO DE MIRISTILA

- CAS N°: 1323-03-1
- Nome INCI: MYRISTYL LACTATE
- Nomes comerciais: Uniester[®] LM
- Estudo crítico: agente condicionador da pele
- Definição: éster derivado de alfa hidróxi-ácidos com propriedade umectante. Promove brilho e toque suave e sedoso
- Concentração usual: 1 a 5% (CHEMYUNION, 2007)

METILPARABENO

- CAS N°: 99-76-3
- Definição: Ácido 4-hidroxibenzóico metil ester; metil *p*-hidroxibenzoato
- Nome comercial: Nipagin[®]
- Fórmula molecular: C₈H₈O₃
- Fórmula estrutural:

- Ponto de fusão: 131°C
- Ponto de ebulição: 270-280°C
- Solubilidade: 1g dissolve em 400 mL água, 40 mL de óleo aquecido, 70 mL de glicerol aquecido. Solúvel em álcool, acetona e éter
- Análise crítica: antimicrobiano utilizado como conservante em cosméticos, exercendo ação contra bolores e fungos (MERCK, 1996).

OLEATO DE DECILA

- CAS N°: 3687-46-5
- Nome INCI: DECYL OLEATE
- Nome comercial: Cetiol V[®]

- Definição:– éster do álcool decílico com ácido oléico
- Aspecto: líquido transparente, branco a amarelo pálido.
- Densidade: 0,86 g/L a 20°C
- Solubilidade: Insolúvel em água
- Nomes comerciais: Cetiol V[®], Ceraphyl 140[®]
- Estudo crítico: agente condicionador da pele e emoliente (BRANDÃO, 2000)
- Fórmula estrutural (ÁBACO VITAL, 2007):

ÓLEO MINERAL

- CAS N^o: 8012-95-1
- Definição: petrolato líquido, parafina líquida; óleo mineral branco;
- Nomes comerciais: Vaselina Líquida[®]
- Características: incolor, óleo líquido, praticamente inodoro e insípido mesmo quando aquecido
- Solubilidade: Insolúvel em água e etanol. Solúvel em benzeno, clorofórmio, éter, dissulfeto de carbono, éter de petróleo e óleos
- Estudo crítico: lubrificante, emoliente, agente condicionador e protetor da pele, agente condicionador dos cabelos (BRANDÃO, 2000; MERCK, 1996).

PALMITATO DE ISOPROPILA

- CAS N^o: 142-91-6
- Estudo crítico: agente condicionador da pele, emoliente, promove aumento de consistência da formulação (BRANDÃO, 2000)
- Fórmula molecular: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$
- Origem: sintética, podendo ser produzido a partir do ácido graxo animal ou de origem vegetal – a partir da reação de esterificação do ácido palmítico e o álcool isopropílico (ABOISSA, 2007).

PROPILENOGLICOL

- CAS N°. 57-55-6
- Sinonímias: 1,2-propanodiol; metiletileno glicol; propilenoglicol; 1,2 – diidroxipropano
- Fórmula molecular: $C_3H_8O_2$
- Aspecto: líquido viscoso, incolor e inodoro.
- Solubilidade: miscível em água, acetona e clorofórmio, mas imiscível com óleos
- Características: líquido higroscópico, estável, mas incompatível com cloretos ácidos, anidridos ácidos, agentes oxidante e redutores
- Estudo crítico: umectante, hidratante para a pele, solvente e agente redutor da viscosidade (BRANDÃO, 2000).

SILICONE DE COPOLÍMERO GLICOL

- Descrição INCI: PEG-12 Dimeticona
- Definição: silicone de copolímero glicol solúvel em água, álcool e sistemas hidroalcoólicos; é hidroliticamente estável
- Nome comercial: Silicone® DC 193 Fluid
- Estudo crítico: agente aplicado na diminuição da tensão superficial, agente umectante, emulsificante e formador de espuma em uma grande variedade de cosméticos e produtos de cuidado pessoal
- Viscosidade (25°C): $425 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
- Quantidade utilizada em loções para pele para proporcionar emoliência, lubrificação e umidade: 0,1 a 2,0% (DOW CORNING, 2006)

SILICONE POLIÉTER

- Nome INCI: CYCLOPENTASILOXANE E PEG/PPG-18/18 DIMETHICONE
- Definição: dispersão a 10% de silicone poliéter de alto peso molecular em ciclopentasiloxano fluido
- Nome comercial: Dow Corning® 5225C

- Aspecto: líquido translúcido a pouco turvo, acinzentado; possível ocorrer pouca sedimentação
- Estudo crítico: agente aplicado na diminuição da tensão superficial, agente umectante, emulsificante e formador de espuma em uma grande variedade de cosméticos e produtos de cuidado pessoal (DOW CORNING, 2007)

1.3 Equipamentos

- Agitador mecânico em hélice – IKA[®], modelo RW 20.n.;
- Agitador tipo *mixer* Walita[®] mode RI 312;
- Balança analítica – Sartorius[®], modelo BL210S;
- Balança semi-analítica eletrônica Explorer, com precisão de 0,01 mg, modelo OHAUS[®];
- Banho-maria digital (0 a 100 °C) - Nova Ética[®], modelo 500D;
- Centrífuga - Donner[®], modelo CD100;
- Corneometer[®] CM 825 ou Combi 3 SM CM PH (Courage & Khazaka);
- Cutometer[®] SEM 575 (Courage&Khazaka);
- Destilador de água - Fabbe[®], modelo 106;
- Estufa – Fanem[®], modelo 902 CB;
- Freezer Consul[®] Slim 200;
- Geladeira Bosch[®] 370 Eco Plus;
- Peagômetro (pHmetro) – Digimed[®], DM 20;
- Termômetro com graduação de 0 a 100 °C;
- Tewameter[®] TM 210 ou Combi 3 SM CM PH (Courage&Khazaka);
- Viscosímetro – Fungilab[®] S.A. modelo Visco Star-R, agulhas TR 10 e TR 11.

1.4 Outros materiais

- Dedeira de látex natural, Mucambo;
- Espátula plástica;
- Frascos de polietileno branco opaco, capacidade de 50 g;
- Frascos de vidro transparente, inerte, com capacidade de 60 g;

- Gabarito de plástico, 5 cm X 5 cm;
- Maca ambulatorial, Ramsor;
- Marcador cirúrgico Codman, J&J Professional, INC – EUA;
- Pincel tigre nº 4;
- Placa de vidro – 4 mm de espessura, 30 cm de comprimento, 30 cm de largura;
- Seringas descartáveis, sem agulha, com capacidade de 1 mL; estéril, atóxica e apirogênica, Ingex;

1.5 Descrição quali e quantitativa das bases de máscara facial *peel off* e pré-formulações de emulsão

Foram elaboradas bases cosméticas utilizando o álcool polivinílico (máscaras faciais *peel off*) e emulsões óleo em água (O/A).

A elaboração de ambas preparações objetivou comparar seu desempenho nos testes de eficácia clínica, descritos posteriormente, considerando que possuem perfis de aplicação distintos, com e sem remoção do produto após a aplicação, respectivamente. Adicionalmente, foi acrescentado às bases cosméticas o extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* a 5% p/p. A partir deste momento, as bases passaram a ser denominadas formulações.

A máscara facial *peel off* é removida da superfície da pele minutos após sua aplicação. Foram avaliados os efeitos tensor e hidratante com e sem o extrato de soja fermentado pelo *Bifidobacterium animale*, tanto nas bases quanto nas formulações, verificando se ocorreria a potencialização destes efeitos pela adição do extrato. Possuindo um perfil de aplicação diferente, a emulsão é uma formulação cosmética que permanece na pele, após sua aplicação. A utilização da base da emulsão nos testes clínicos foi útil para a comparação dos efeitos tensor e hidratante de formas cosméticas com perfil de aplicação distinto da máscara facial *peel off*, que é removida após secagem. Além disso, a utilização do extrato de soja fermentado incorporado à base da emulsão permitiu definir se a base interferiu nos efeitos do extrato, tanto durante o estudo de estabilidade como na avaliação clínica.

A seleção da máscara facial *peel off* ideal para os testes clínicos foi iniciada com a elaboração de 36 bases cosméticas, com a posterior realização do Estudo de Estabilidade Preliminar e seleção da base de melhor desempenho. A esta base, foi

adicionado o extrato de soja fermentado e foram feitas adaptações na composição dos excipientes, visando aprimorar o tempo de secagem e diminuir as possíveis manifestações de instabilidade da formulação. Dentre as oito formulações resultantes das adaptações, foi selecionada a de melhor desempenho, após Estudos de Estabilidade Preliminar e Acelerada, para realização dos testes clínicos. A seguir, estão descritas as etapas citadas anteriormente.

As **Tabelas 1 a 4** descrevem 36 bases de máscaras faciais *peel-off*, sem o emprego do extrato de soja fermentado, inicialmente elaboradas para o Estudo de Estabilidade Preliminar (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007).

A **Tabela 5** descreve a base da emulsão óleo em água (**ES**) e a base acrescida do extrato de soja fermentado (**EC**), denominada formulação. Ambas foram submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar e ao Estudo de Eficácia Clínica.

A escolha da base da emulsão foi fundamentada em estudos realizados previamente por PINTO (2005), que a submeteu aos estudos de Estabilidade Preliminar, Acelerada e Normal. Os estudos de Estabilidade Preliminar foram refeitos com a base da emulsão e a formulação, contendo o extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. A concentração utilizada do extrato de soja foi 5% p/p, a mesma utilizada para a máscara facial *peel off*. Esta concentração, por sua vez, foi definida a partir de concentrações usualmente utilizadas para substâncias ativas em máscaras disponíveis no mercado (COLIPA, 2008).

Tabela 2. Bases de máscara facial *peel off* (12 a 22) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito.

Pré-Formulação (% p/p)											
COMPONENTES	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Fase aquosa											
Álcool Polivinílico (PVA)	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Propilenoglicol	-	-	-	-	8,0	-	-	6,0	6,0	-	-
Glicerina	8,0	8,0	-	-	-	8,0	-	-	-	6,0	6,0
Butilenoglicol	-	-	8,0	8,0	-	-	8,0	-	-	-	-
Água destilada q.s.p.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Fase complementar											
DMDMH / IPBC	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Silicone de Copolímero glicol	2,0	1,0	2,0	1,0	-	-	-	2,0	1,0	2,0	1,0
Base autoemulsionante	2,0	1,0	2,0	1,0	-	-	-	2,0	1,0	2,0	1,0
Álcool cetílico etoxilado e propoxilado	-	-	-	-	2,0	2,0	2,0	-	-	-	-
Corante azul	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Essência Givaudan®	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Álcool de cereais	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
EDTA tetrassódico	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tabela 3. Bases de máscara facial *peel off* (23 a 33) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito.

COMPONENTES	Pré-Formulação (% p/p)										
	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
Fase aquosa											
Álcool Polivinílico (PVA)	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Propilenoglicol	-	-	6,0	-	-	6,0	6,0	-	-	-	-
Glicerina	-	-	-	6,0	-	-	-	6,0	6,0	-	-
Butilenoglicol	6,0	6,0	-	-	6,0	-	-	-	-	6,0	6,0
Água destilada q.s.p.	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Fase complementar											
DMDMH / IPBC	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Silicone de Copolímero glicol	2,0	1,0	-	-	-	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	1,0
Base autoemulsionante	2,0	1,0	-	-	-	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	1,0
Álcool cetílico etoxilado e propoxilado	-	-	2,0	2,0	2,0	-	-	-	-	-	-
Corante azul	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Essência Givaudan®	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Álcool de cereais	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
EDTA tetrassódico	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tabela 4. Bases de máscara facial *peel off* (**34** a **36**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito.

Pré-Formulação (% p/p)			
COMPONENTES	34	35	36
Fase aquosa			
Álcool Polivinílico (PVA)	15,0	15,0	15,0
Propilenoglicol	6,0	-	-
Glicerina	-	6,0	-
Butilenoglicol	-	-	6,0
Água destilada q.s.p.	100,0	100,0	100,0
Fase complementar			
DMDMH / IPBC	0,5	0,5	0,5
Silicone de Copolímero glicol	-	-	-
Base autoemulsionante	-	-	-
Álcool cetílico etoxilado e propoxilado	2,0	2,0	2,0
Corante azul	0,1	0,1	0,1
Essência Givaudan®	0,05	0,05	0,05
Álcool de cereais	8,0	8,0	8,0
EDTA tetrassódico	0,1	0,1	0,1

Tabela 5. Base cosmética (**ES**) e formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (**EC**) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP) e testes de eficácia clínica, e com as concentrações dos componentes variáveis em negrito (PINTO, 2005).

COMPONENTES	Emulsão	Emulsão +
	(ES)	Extrato (EC)
	% (p/p)	
Fase oleosa		
Cera autoemulsionante não-iônica	1,5	1,5
Óleo mineral	0,5	0,5
Lactato de miristila	1,0	1,0
Palmitato de isopropila	2,0	2,0
Oleato de decila	2,0	2,0
Glicerídeos etoxilados derivados do leite	0,5	0,5
Adipato de butila	1,0	1,0
Acriloildimetiltaurato de amônio/ Copolímero VP	1,5	1,5
Fase aquosa		
Propilenoglicol	2,5	2,5
Água destilada q.s.p.	100,0	100,0
Fase complementar		
Metilparabeno	0,6	0,6
Fenoxietanol/ parabenos	0,25	0,25
Silicone poliéter	2,5	2,5
Essência	0,05	0,05
EDTA tetrassódico	0,08	0,08
Extrato de soja fermentado	-	5,0

2 MÉTODOS

2.1. Preparo das bases de máscaras faciais *peel off*

Foram elaboradas 36 bases cosméticas. As composições destas formulações estão descritas nas **Tabelas 1 a 4**. Variaram-se a concentração do álcool polivinílico, o tipo e a concentração dos umectantes (butilenoglicol, glicerina, propilenoglicol), e dos tensoativos (álcool cetílico etoxilado e propoxilado e a base autoemulsionante) e a presença ou ausência do silicone de copolímero glicol. Os demais componentes permaneceram sem alteração em todas as formulações. Foram elaborados 100g de cada pré-formulação, conforme método padronizado, que consiste na dispersão do PVA previamente incorporado ao umectante em água destilada, a uma temperatura de 80-90°C e agitação constante (ARANHA & LUCAS, 2001; CHIELLINI *et al.*, 2003). Após o resfriamento da preparação até a temperatura inferior a 40°C, adicionaram-se, em seqüência e separadamente, o etanol, o conservante (DMDMH / IPBC), o EDTA tetrassódico, o silicone de copolímero glicol e a essência, incorporados aos tensoativos e, finalmente, o corante azul.

Após um período de 48 horas de repouso, atingiu-se o tempo inicial (**t₀**), para a estabilização das formulações, sendo envasadas em frascos de polietileno branco, opaco e com capacidade para 50g, e realizadas as avaliações das características organolépticas e de desempenho e os testes do Estudo de Estabilidade Preliminar (EP) (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007).

2.2. Preparo da base e da formulação de emulsão

Foram elaborados 100 g de cada uma das preparações de base e formulação de emulsão, descritas na **Tabela 5**. Iniciou-se o preparo das formulações aquecendo os componentes da fase aquosa e da fase oleosa separadamente, em recipientes de inox em fogo brando, até a temperatura de 70° C. Verteu-se a fase aquosa sobre a fase oleosa, sob a forma de fio e agitação constante, utilizando-se o *Mixer*. Após completa homogeneização das fases e resfriamento da mistura, adicionou-se, separadamente, o complexo fenoxietanol/parabenos, o metilparabeno, o silicone e a essência, sob a agitação manual a cada adição. Finalmente, adicionou-se o EDTA

tetrassódico previamente solubilizado em água destilada suficiente e, em seguida, incorporou-se o extrato de soja (apenas na formulação denominada **EC**), ambos sob agitação manual constante, utilizando espátula plástica (ANSEL *et al.*, 2000; PINTO, 2005; PRISTA *et al.*, 1992).

O envase e os testes do Estudo de Estabilidade Preliminar foram realizados 48 h após o preparo das formulações (CONTRERAS *et al.*, 2001).

2.3 Estudo de Estabilidade Preliminar (EP)

As 36 bases das máscaras faciais *peel off* sem adição do extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* descritas nas **Tabelas 1 a 4** foram submetidas, a partir do **t₀**, período denominado após 48 h do preparo considerado como referência para comparação das variáveis analisadas (CONTRERAS *et al.*, 2001) –, às avaliações das características organolépticas (aspecto, cor, odor e aplicação/toque); determinação do valor de pH antes e após a estabilidade em estufa a $50,0 \pm 2,0$ °C e estresse térmico; e avaliação do desempenho (tempo de secagem e formação de filme em estufa, nas condições do teste). As bases que obtiveram resultados satisfatórios nesta etapa foram selecionadas conforme os critérios de aceitação e passaram a receber a denominação de **formulações**, após a adição do extrato de soja às bases das máscaras faciais *peel off*, sendo posteriormente submetidas ao Estudo de Estabilidade Acelerada.

A base da emulsão (**ES**) e da formulação da emulsão acrescida do extrato de soja fermentado (**EC**), citadas na **Tabela 5**, foram submetidas à avaliação das características organolépticas, centrifugação e determinação valor de pH antes e após a condição em estufa a $50,0 \pm 2,0$ °C e estresse térmico, durante o Estudo de Estabilidade Preliminar (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007).

2.3.1 Condições para Avaliação - Estudo de Estabilidade Preliminar

2.3.1.1 Centrifugação

Pesaram-se cerca de 5,0 g de cada base cosmética de máscara facial *peel off* e da emulsão (**ES**) e da formulação de emulsão (**EC**). Estas preparações foram submetidas a ciclos de centrifugação de 1000, 2000 e 3000 rpm em centrífuga, durante 15 min para cada velocidade.

2.3.1.2 Estresse térmico

Pesaram-se cerca de 10,0 g de cada base cosmética de máscara facial *peel off* e da emulsão (**ES**) e da formulação de emulsão (**EC**). Estas preparações foram transferidas para tubos de ensaio, encaminhados para banho-maria no intervalo de temperatura entre 40 e 80 °C. O valor da temperatura foi elevado de 10 em 10 °C, mantendo-a por trinta minutos em cada valor.

2.3.1.3 Estufa a 50 °C/ 72 horas

Pesaram-se cerca de 10,0 g de cada base cosmética de máscara facial *peel off* e da emulsão (**ES**) e da formulação de emulsão (**EC**). Estas preparações foram acondicionadas em frascos de polietileno branco e de boca larga, com capacidade nominal de 50 gramas. Estes foram transferidos para estufa, previamente estabilizada em $50,0 \pm 2,0$ °C, por 1 h. As amostras permaneceram 72 h nesta condição, sendo transferidas posteriormente para temperatura ambiente (22 ± 2 °C).

2.3.2 Variáveis analisadas

2.3.2.1 Características organolépticas

Esta etapa do teste envolveu a avaliação das características das bases cosméticas de máscara facial *peel off* e da emulsão (**ES**) e da formulação de emulsão (**EC**) a fim de identificar processos de instabilidade, como separação de fases; alterações de cor, odor e do toque durante a aplicação. Os critérios para

avaliação foram estabelecidos pelo próprio analista e estão descritos a seguir. Estas avaliações foram realizadas 48 horas após o preparo (**t0**) e após cada condição no respectivo tempo dentro do Estudo de Estabilidade Preliminar, a fim de verificar possíveis processos de instabilidade, comparando-os com os resultados iniciais (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007).

a) COR

N – Normal, sem alterações da cor original (azul)

M – Modificada (nuances do azul original)

IM – Intensamente modificada (outras cores)

b) ODOR

N – Normal, sem alterações (odor da essência)

M – Modificado (odor da essência ou de outro componente intensificado ou suavizado e/ou odor de etanol intensificado)

IM – Intensamente modificado (perda da essência e odor intenso de etanol e/ou de outro componente)

c) ASPECTO

N – Normal, sem alterações (homogêneo)

M – Modificado (indicação de separação de fases)

IM – Intensamente modificado (separação completa de fases)

d) CARACTERÍSTICAS DE APLICAÇÃO (espalhabilidade e toque)

A – toque agradável, com facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade)

D – toque desagradável, pegajosidade, com relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade)

MD – toque muito desagradável, alta pegajosidade, comprometendo aplicação na pele.

2.3.2.2 Valor de pH

Os valores de pH foram aferidos a $25,0 \pm 1,0$ °C, diluindo-se as amostras das bases cosméticas e formulações em água recém-destillada e previamente neutralizada, na proporção 1:10. As leituras foram feitas com as amostras antes e após o estresse térmico e aquelas submetidas à estabilidade a $50,0 \pm 1,0$ °C/ 72 h (DAVIS, 1977). Como critério de aceitação, foram reprovadas as formulações que apresentaram variações do valor de pH superiores a 15%, para mais ou para menos, em relação ao valor inicial, uma vez que o ponto isoelétrico das proteínas da soja encontra-se no valor de pH igual a 4,5, e valores além da faixa de valor de pH 2 a 10 causam degradação das proteínas presentes no extrato de soja fermentado (GENOVESE *et al.*, 2006).

2.3.2.3 Teste de secagem e formação de filme

A metodologia deste teste foi desenvolvida e padronizada conforme descrito a seguir, baseado no uso do produto comercial. O teste foi realizado para as bases cosméticas das máscaras faciais *peel off* descritas nas **Tabelas 1 a 4**, 48 h após o preparo (t_0).

Amostras em triplicata com cerca de 0,7 g de cada base foram pesadas e distribuídas, com o auxílio de pincel, sobre área de 5,0 x 2,5 cm de uma lâmina de vidro, formando uma camada fina e uniforme de cerca de 1 mm, a fim de mimetizar o filme formado em uma aplicação facial de uma máscara *peel off* disponível no mercado. A placa foi colocada em estufa, previamente estabilizada à temperatura de $36,5 \pm 2,0$ °C por 1 h, simulando a temperatura corpórea. A secagem das formulações foi monitorada a cada 10 min, até ocorrer a secagem e remoção integral do filme formado da lâmina.

2.4 Estudo de Estabilidade Preliminar (EP) – formulações de máscaras faciais

A partir dos resultados do Estudo de Estabilidade Preliminar das bases de máscaras *peel off* sem adição do extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*, observou-se a necessidade de realizar adaptações nestas bases com o objetivo de eliminar indícios de processos de instabilidade e, simultaneamente,

melhorar seu desempenho no teste de secagem e formação de filme (BRASIL, 2004).

Foram realizadas alterações nas concentrações de PVA e foi adicionando um agente espessante – Goma Guar – à base **F35**, que apresentou o melhor desempenho. Além das alterações dos excipientes, foi adicionada a fração do extrato de soja fermentado às novas preparações, que passaram a ser denominadas **formulações**.

A **Tabela 6** apresenta a composição das **formulações**, após as modificações descritas anteriormente.

Tabela 6. Formulações de máscara facial *peel off* (adaptações da base **F35** de máscara facial *peel off*) submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar (EP), com as concentrações dos componentes variáveis em negrito. Todas as formulações contêm o extrato de soja fermentado.

Variações na Formulação F35 (%p/p)								
COMPONENTES	35/15	35/15G	35/17	35/17G	35/18	35/18G	35/20	35/20G
Fase aquosa								
Álcool Polivinílico (PVA)	15,0	15,0	17,0	17,0	18,0	18,0	20,0	20,0
Glicerina	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Goma Guar	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5
Água destilada qsp	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Fase complementar								
DMDMH / IPBC	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Álcool cetílico etoxilado e propoxilado	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Corante azul	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Extrato de soja fermentado	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Essência Givaudan®	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Álcool de cereais	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
EDTA tetrassódico	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Legenda:

Codificação das formulações - 35/15G – o primeiro número (35) significa a formulação usada como referência para reformulação;

O segundo número (15) indica a quantidade, em % p/p, de álcool polivinílico utilizada nas formulações; a presença da letra **G** indica utilização de Goma Guar como espessante; a ausência da letra **G** indica ausência de Goma Guar na formulação.

As preparações resultantes das adaptações feitas a partir da base de máscara facial *peel off* pré-formulação **F35** foram submetidas ao Estudo de Estabilidade Preliminar, compreendendo a realização dos testes e análise das variáveis conforme descrito no item **2.3**.

2.5 Estudo de Estabilidade Acelerada (EA)

As formulações de máscara facial *peel off* acrescidas do extrato de soja fermentado (**Tabela 6**) que apresentaram desempenho satisfatório após as adaptações, considerando-se inicialmente o tempo de secagem e, posteriormente, as características organolépticas e a determinação do valor de pH durante o Estudo de Estabilidade Preliminar, foram submetidas ao Estudo de Estabilidade Acelerada (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007). Foram elaboradas amostras em duplicata das formulações para as avaliações nos testes, considerando cada condição e tempo de análise, conforme a descrição a seguir.

A formulação de emulsão acrescida do extrato de soja fermentado (**Tabela 5**) após realização do estudo de Estudo de Estabilidade Preliminar, foi submetida ao Estudo de Estabilidade Acelerada para verificação do impacto da adição do extrato à base nas variáveis analisadas (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007). Foram elaboradas amostras em duplicata das formulações para as avaliações nos testes, considerando cada condição e tempo de análise, conforme a descrição a seguir.

2.5.1 Condições do teste

As preparações foram inicialmente avaliadas após **t0**, considerando as respostas obtidas como referência comparativa para as demais respostas encontradas ao longo do estudo. As variáveis estão descritas a seguir (CONTRERAS *et al.*, 2001).

2.5.1.1 Geladeira ($5,0 \pm 1,0$ °C)

As amostras foram mantidas em geladeira durante 15 dias e avaliadas nos 3°, 7° e 15° dias.

2.5.1.2 Freezer ($-10,0 \pm 1,0$ °C)

As amostras foram mantidas em freezer durante 15 dias e avaliadas nos 3°, 7° e 15° dias.

2.5.1.3 Temperatura ambiente ($22,0 \pm 2,0$ °C)

As amostras foram mantidas em temperatura ambiente durante 15 dias e avaliadas nos 3°, 7° e 15° dias.

2.5.1.4 Estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C)

As amostras foram mantidas em estufa durante 15 dias e avaliadas no 1°, 3°, 7° e 15° dias.

2.5.1.5 Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-5,0 \pm 2,0$ °C)

As formulações foram submetidas aos períodos de congelamento ($-10,0 \pm 1,0$ °C) por 24 h em freezer, seguido de descongelamento em estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C) por 24 h. Isto completa um ciclo. Foram realizados seis ciclos, sendo as amostras avaliadas no 3° (6° dia) e 6° ciclos (12° dia).

2.5.2 Variáveis analisadas

2.5.2.1 Características organolépticas

As observações das características organolépticas tinham como objetivo verificar as alterações no odor, cor e aspecto das formulações de máscaras faciais *peel off* acrescidas do extrato de soja fermentado. Foram adotados os critérios de

avaliação e procedimentos descritos no item **2.3.2.1**. Os resultados obtidos na avaliação inicial (**t₀**) foram considerados os valores de referência comparativa para as respostas obtidas ao longo do estudo.

2.5.2.2 Valor de pH

Os valores de pH foram aferidos conforme os procedimentos e os critérios de aceitação descritos no item **2.3.2.2**. As avaliações foram realizadas em todas as condições e dias determinados para avaliação. Os resultados obtidos na avaliação inicial (**t₀**) foram considerados como referência (100%), para o cálculo das variações observadas em relação ao valor inicial.

2.5.2.3 Viscosidade aparente

Pesaram-se cerca de 15 g de cada amostra das formulações de máscara facial *peel-off*, de todos os tempos de avaliação, e foram analisadas em viscosímetro, à temperatura ambiente, utilizando-se a agulha TR11, à velocidade de 6 rpm. Para todas as amostras, as leituras foram efetuadas após 2 min de estabilização das preparações. Os resultados obtidos na avaliação inicial (**t₀**) foram considerados os valores de referência (100%) para o cálculo das variações observadas (MAIA, 2002).

2.5.2.4 Tempo de secagem e formação de filme

Os valores de tempo de secagem foram determinados apenas para as preparações de máscara facial *peel off*, como descrito no item **2.3.2.3**. Estes valores foram determinados para as formulações ao término do período de acondicionamento das condições acima citadas, comparando-se com aqueles obtidos inicialmente (**t₀**).

2.6 Testes Clínicos – Sujeitos

2.6.1 Desenho do estudo

Foram realizadas medidas instrumentais em seres humanos a fim de avaliar objetivamente a eficácia da máscara facial *peel off*, selecionada no Estudos de Estabilidade Acelerada, e da emulsão. Avaliaram-se as bases cosméticas das formulações aditivadas ou não do extrato de soja fermentado na melhora da elasticidade, da firmeza, da barreira cutânea e da hidratação da pele sob condições normais de uso, a fim de comprovar os efeitos tensor e hidratante da máscara, além dos efeitos de hidratação atribuídos ao extrato de soja fermentado, comprovando também qual a formulação ideal para incorporação das substâncias ativas (BAUMANN & LAZARUS, 2001).

2.6.2 Tipo do Estudo

O estudo foi classificado como monocêntrico e realizado em aberto, de acordo com as “Condições Gerais para a realização de um teste em humanos”, por meio dos termos de consentimento livre e esclarecido dos voluntários, apresentado em ANEXOS (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1996).

2.6.3 Centro de Investigação

EVIC Brasil
Av. Indianópolis, 1455 - Planalto Paulista
04063-002 - São Paulo - SP - Brasil
Fone: 55 11 5581-4949

2.6.4 Cronograma de realização do estudo

O estudo teve a duração de dois dias, no Centro de Investigação.

2.6.5 Ética em pesquisa

O estudo foi realizado de acordo com a Legislação Brasileira, baseada na "Resolução Normativa 196/96, CNS/MS", normas da *International Conference Harmonization (ICH)*, *Good Clinical Practices (GCP)* e a Declaração de Helsinque, após a obtenção da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), regulamentado pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). A aprovação do estudo pelo CEP é apresentada no parecer, em ANEXOS (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1996).

Os testes somente foram iniciados após a informação e esclarecimento dos voluntários quantos aos riscos e benefícios do teste, sendo seu consentimento informado e registrado por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, documento que permanece arquivado no Centro de Investigação.

O anonimato do voluntário e sua saída voluntária do estudo foram garantias apresentadas durante todo o estudo.

2.6.6 Amostra

Conforme desenho experimental estabelecido em conjunto com a Empresa Statistika Consultoria, o estudo caracterizou-se pela aleatorização dos locais de aplicação dos produtos-teste em dez voluntários. Foram selecionados doze voluntários, para evitar interrupção do estudo em caso de desistência.

2.6.6.1 Critérios específicos de inclusão dos voluntários no estudo

Os critérios específicos de inclusão, definidos neste protocolo pelo médico responsável, foram os seguintes:

- idade: 18 a 60 anos;
- sexo: feminino;
- pele normal a seca.
- pele correspondente aos fototipos I a IV, conforme **Quadro 5** (FITZPATRICK *et al.*, 1974).

Quadro 5. Fototipos, sua descrição e respectiva sensibilidade ao sol (FITZPATRICK *et al.*, 1974).

<i>Fototipos</i>	<i>Descrição</i>	<i>Sensibilidade ao Sol</i>
I – Branca	Queima com facilidade, nunca bronzeia	Muito sensível
II - Branca	Queima com facilidade, bronzeia muito pouco	Sensível
III - Morena Clara	Queima moderadamente, bronzeia moderadamente	Normal
IV – Morena Moderada	Queima pouco, bronzeia com facilidade	Normal
V - Morena Escura	Queima raramente, bronzeia bastante	Pouco sensível
VI - Negra	Nunca queima, totalmente pigmentada	Insensível

2.6.6.2 Critérios específicos de não-inclusão dos voluntários no estudo

Os critérios específicos de não-inclusão, definidos pelo co-investigador (médico responsável) no protocolo, foram os seguintes:

- marcas cutâneas na área experimental que poderiam interferir na avaliação das reações da pele, como problemas de pigmentação, elementos de cicatrizes, desenvolvimento de pilosidade exagerado, efélides e nevus em grande quantidade, bronzamento;
- patologias cutâneas ativas (locais ou disseminadas) que poderiam interferir nos resultados do estudo;
- alergia ou reatividade para a categoria de produtos testados;
- exposição intensiva ao sol até 15 dias antes da avaliação;
- uso de vitamina A ácida e derivados nos 3 meses antecedentes ao estudo;
- tratamento com corticóides tópicos na área de aplicação do teste até 8 dias antes do estudo;
- uso de drogas antiinflamatórias ou imunossupressoras;
- antecedentes atópicos/ alérgicos;
- tratamento com radiação UVA ou UVB até um mês antes do início do estudo;
- mulheres grávidas ou em amamentação.

2.6.6.3 Riscos mínimos previstos para o estudo

Os riscos mínimos previstos para este tipo de estudo, definidos pelo co-investigador (médico responsável) e informados aos voluntários antes da realização do mesmo, foram possíveis manifestações de reações de hipersensibilidade a um ou mais produtos cosméticos testados ou a um ou mais componentes das formulações. Além disso, foi exposto como reação provável o aparecimento de irritação no local de aplicação, na forma de vermelhidão da pele ou prurido, e ocorrência de aquecimento, formigamento, repuxamento, queimação, inchaço, vesícula, bolha, crosta, pápula, ressecamento ou alteração de cor da pele nos locais de aplicação. Nos casos de ocorrência destes eventos, a aplicação do produto foi suspensa, sendo colocada à disposição do voluntário toda a assistência necessária.

2.6.7 Aplicação das formulações

Foi selecionada uma formulação de máscara facial *peel off* com extrato de soja fermentado que apresentou o melhor desempenho (**MC**) nos Estudos de Estabilidade Preliminar e de Estabilidade Acelerada, conforme critérios e procedimentos definidos nos itens **2.3** e **2.5**.

Para realização dos Testes Clínicos, foram elaborados o placebo da formulação de máscara facial *peel off* selecionada (**MS**) e uma formulação de emulsão contendo extrato de soja com isoflavonas (**EC**) e seu respectivo placebo (**ES**), como descrito no item **2.2**. A identificação dos produtos-teste está descrita na **Tabela 7**.

Tabela 7: Codificação da base e da formulação de máscaras facial *peel off* e da base e da formulação de emulsão óleo em água utilizadas nos ensaios clínicos.

DENOMINAÇÃO DO PRODUTO TESTE	CÓDIGO
Máscara facial <i>peel off</i> contendo extrato de soja fermentado	MC
Base da máscara facial <i>peel off</i> – sem extrato de soja fermentado	MS
Emulsão óleo em água contendo o extrato de soja fermentado	EC
Base da emulsão óleo em água – sem extrato de soja fermentado	ES

As aplicações das formulações e as leituras obtidas nos equipamentos foram efetuadas em locais de aplicação definidos nos antebraços, no total de seis locais por voluntário (**S1** a **S6**). As áreas de cada local foram demarcadas utilizando-se uma caneta cirúrgica e um gabarito com área definida de 5,0 cm X 5,0 cm, totalizando 25,0 cm². A numeração e localização as aplicações foi a mesma para todos os voluntários avaliados, conforme a descrição da **Figura 6**.

Antes da aplicação e realização das medidas, os voluntários foram submetidos a condições padronizadas de temperatura ($20,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) e de umidade relativa ($50,0 \pm 5,0\%$), durante o período de tempo mínimo de trinta minutos antes da aplicação e realização das medidas. O procedimento de climatização visou diminuir as variações e as interferências nas medidas instrumentais (BERARDESCA *et al.*, 1995).

Braço Direito

Braço Esquerdo

Legenda: **Local de aplicação 1 (L1)** – Braço direito / distal; **Local de aplicação 2 (L2)** – Braço direito / medial; **Local de Aplicação 3 (L3)** – Braço direito / proximal; **Local de Aplicação 4 (L4)** – Braço esquerdo / distal; **Local de Aplicação 5 (L5)** – Braço esquerdo / medial; **Local de Aplicação 6 (L6)** – Braço esquerdo / proximal.

Figura 6. Locais de aplicação das formulações nos voluntários.

A quantidade de cada preparação aplicada e o modo de aplicação estão descritos na **Tabela 8**. Previamente ao teste clínico, os valores determinados para aplicação foram estabelecidos experimentalmente. Para as máscaras *peel off*, utilizaram-se quantidades que formavam filmes de aproximadamente 1 mm na superfície da pele. Para as emulsões, a quantidade determinada foi suficiente para cobrir a área delimitada do teste, não havendo resíduos visíveis da formulação após a aplicação.

Tabela 8. Descrição da quantidade e modo de aplicação das preparações utilizadas no teste clínico.

Produto codificado	Modo de Aplicação	Quantidade aplicada / local de aplicação
MC / MS	Pesar a quantidade determinada em balança, utilizando papel alumínio. Utilizar a dedeira para retirar o produto do papel alumínio e espalhar sobre a área demarcada, distribuindo pela superfície da pele a quantidade preconizada em forma de zigue-zague, formando uma película homogênea, de espessura aproximada de 1 mm; Após vinte minutos de contato com o produto (período de secagem), retirar o filme formado sobre a pele, puxando com força constante a partir de uma das bordas, que se destacam após o período de secagem.	500 mg
EC / ES	Utilizar a seringa e distribuir gotas da formulação uniformemente por toda a área de aplicação. Espalhar o produto com a dedeira, da mesma maneira descrita para as máscaras, até que nenhum resíduo do produto possa ser detectado visualmente.	50 mg

Legenda:

MC – formulação de máscara facial *peel off*, contendo extrato de soja fermentado; **MS** – base de máscara facial *peel off*; **EC** – emulsão óleo em água contendo extrato de soja fermentado; **ES** – base da emulsão óleo em água.

A definição das preparações que seriam aplicadas em cada local de aplicação foi realizada de modo que, no total de aplicações realizadas nos dez voluntários, foram utilizados 15 locais de aplicação para cada uma das preparações testadas, totalizando os 60, necessários ao estudo. Os voluntários, os locais de aplicação de aplicação e as respectivas preparações aplicadas em cada local estão descritos na **Tabela 9**.

Tabela 9. Descrição das preparações de acordo com os respectivos locais de aplicação, conforme aleatorização.

Locais de Aplicação	Voluntários									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L1	EC	MC	EC	EC	MS	ES	MC	ES	ES	EC
L2	MS	EC	MS	MC	EC	EC	ES	MS	MS	ES
L3	MC	ES	MC	MS	MC	MS	MS	EC	MC	MS
L4	MS	MC	ES	MS	EC	ES	ES	MC	MC	MC
L5	ES	MS	MC	MC	ES	EC	MC	EC	ES	EC
L6	EC	ES	EC	ES	MC	MS	EC	MS	MS	ES

Legenda:

Local de aplicação 1 (L1) – Braço direito / distal; **Local de aplicação 2 (L2)** – Braço direito / medial; **Local de Aplicação 3 (L3)** – Braço direito / proximal; **Local de Aplicação 4 (L4)** – Braço esquerdo / distal; **Local de Aplicação 5 (L5)** – Braço esquerdo / medial; **Local de Aplicação 6 (L6)** – Braço esquerdo / proximal. **MC** – formulação de máscara facial *peel off*, contendo extrato de soja fermentado; **MS** – base de máscara facial *peel off*; **EC** – emulsão óleo em água contendo extrato de soja fermentado; **ES** – base da emulsão óleo em água.

2.6.8 Avaliação Instrumental

A avaliação da eficácia instrumental foi realizada, para todos os equipamentos, por meio da cinética de avaliação, sendo que as medidas foram efetuadas imediatamente antes da aplicação das formulações e após a climatização dos voluntários (**t0**), quarenta e cinco minutos após a aplicação das formulações (**t45**), noventa minutos após a aplicação (**t90**) e, finalmente, cento e oitenta minutos após a aplicação (**t180**). Este procedimento foi realizado em dois dias, sendo cinco voluntários submetidos ao tratamento em cada dia.

2.6.8.1 Efeito de hidratação das camadas superiores da pele

Esta variável foi medida por meio dos valores de capacitância, conforme a cinética estabelecida para avaliação dos produtos, cuja variação está relacionada às

mudanças da constante dielétrica da superfície da pele, dependente da hidratação do estrato córneo (BERARDESCA *et al.*, 1995).

A medida foi determinada pelo Corneometer® CM 825 PC (Courage & Khazaka), que fornece valores arbitrários e adimensionais, em uma escala de 0 a 120 (unidades corneométricas).

2.6.8.2 Efeito da perda de água transepidérmica

O efeito de barreira cutânea foi avaliado por meio da comparação da perda de água durante os períodos estabelecidos pelo experimento, comparando os produtos aplicados (BERARDESCA *et al.*, 1995).

A medida foi determinada pelo Tewameter® TW210 (Courage & Khazaka), que fornece valores absolutos expressos em g/m²/h e posteriormente convertidos a unidades arbitrárias, pelo próprio instrumento. O equipamento possui uma sonda com par de sensores para temperatura e umidade.

2.6.8.3 Efeito na elasticidade e na firmeza da pele

Nesta avaliação, utilizou-se o Cutometer® SEM 575 (Courage and Khazaka). Por meio de um estiramento vertical das camadas cutâneas superficiais, criado por meio de vácuo, determinou-se a resistência cutânea (BERARDESCA *et al.*, 1995).

Durante a determinação da medida, as propriedades biomecânicas da pele foram codificadas para uma curva de deformação *versus* tempo, conforme representado na **Figura 5**. A partir dos registros do equipamento, obtiveram-se os valores de M1 (extensibilidade máxima) e M2 (deformação em comparação com -+estado inicial). O efeito tensor, avaliado objetivamente em cada voluntário, considerou que, se M1 decresce, a firmeza cutânea aumenta, e vice-versa. De forma semelhante, se M2 decresce, a elasticidade cutânea aumenta, e vice-versa (BERARDESCA *et al.*, 1995, adaptada).

2.6.9 Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos foram expressos individualmente por voluntários para, em seguida, compor a análise estatística. Esta análise utilizou o *software* SAS 9.1, obtido do SAS Institute, Cary, NC, sob sistema operacional Linux (SAS – BUSINESS INTELLIGENCE SOFTWARE AND PREDICTIVE ANALYTICS, 2008).

Para as três medidas experimentais realizadas – Efeito de hidratação nas camadas superiores da pele; Efeito da perda de água transepidérmica; e Efeito na elasticidade e na firmeza da pele – existia o interesse na verificação dos efeitos isolados dos produtos aplicados, do tempo de aplicação da presença ou ausência do extrato soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Estes mesmos efeitos foram cruzados a fim de verificar suas interações.

No caso das avaliações do efeito tempo, as medidas obtidas em T0 foram consideradas como covariável. Tal procedimento remove as interferências individuais de cada voluntário e permite a obtenção dos resultados para todo o grupo amostral. Os valores obtidos em T0 passam a ser valores basais, aos quais os valores de T45, T90 e T180 são comparados (STATISTIKA, 2007).

Os valores obtidos durante as avaliações foram classificados como **variáveis quantitativas contínuas**. Estas variáveis são classificadas desta forma porque pertencem a um intervalo de números reais e são resultantes da mensuração de valores como, por exemplo, a massa de um indivíduo. O modelo probabilístico utilizado para análise das variáveis foi a distribuição **F** de Snedecor. (MORETTIN & BUSSAB, 2005).

V RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Teste de Estabilidade Preliminar (EP)

1.1 Bases de máscaras faciais *peel off*

1.1.1 Características organolépticas e valor de pH

Foram elaboradas 36 bases de máscara facial *peel off*, submetidas à avaliação organoléptica e determinação do valor de pH, antes e após a exposição às condições de estresse térmico e estufa $50,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ / 72 horas (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007).

Os resultados obtidos na avaliação das características organolépticas (cor, odor, aspecto e aplicação e toque) e na determinação dos valores de pH, durante o Estudo de Estabilidade Preliminar para as bases de máscara facial *peel off* (1 a 36) foram descritos nas **Tabelas 10 a 14**.

Tabela 10. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (1 a 8) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Bases	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação /Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
1	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	M	A	5,5	6,9	25,5
	E 50	M	N	M	A	5,5	6,2	12,7
2	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	M	A	6,9	7,0	1,45
	E 50	M	N	N	A	6,9	5,6	18,8
3	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	M	N	M	MD	7,1	6,9	2,8
	E 50	M	N	M	MD	7,1	6,5	8,5
4	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	M	A	7,1	6,9	2,8
	E 50	N	N	N	A	7,1	6,7	5,6
5	C	N	N	N	D	Na	Na	0
	E T	N	N	N	D	7,1	6,9	2,8
	E 50	M	N	M	A	7,1	6,6	7,0
6	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,3	6,9	5,5
	E 50	N	N	M	A	7,3	6,7	8,2
7	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	M	A	7,1	6,8	4,2
	E 50	M	N	N	A	7,1	6,5	8,5
8	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	M	A	7,1	6,8	4,2
	E 50	N	N	M	A	7,1	6,6	7,0

Legenda:

Base: base de máscara facial *peel off*

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50,0 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);

D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (**t0**); **Ds.:** após a condição do teste

Tabela 11. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (9 a 16) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Bases	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação /Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
9	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,3	6,9	5,5
	E 50	N	N	N	A	7,3	6,8	6,8
10	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	N	N	N	MD	7,4	6,8	6,8
	E 50	N	N	N	MD	7,4	6,2	16,2
11	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	N	N	N	MD	7,3	6,8	6,8
	E 50	M	N	N	MD	7,3	6,3	13,7
12	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	N	N	N	MD	7,5	6,9	8,0
	E 50	M	N	N	MD	7,5	6,3	16,0
13	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,5	7,0	6,7
	E 50	M	N	N	A	7,5	6,4	14,7
14	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,2	7,0	2,8
	E 50	N	N	M	A	7,2	6,7	6,9
15	C	N	N	N	D	Na	Na	0
	E T	M	N	N	D	7,4	6,9	6,8
	E 50	M	N	N	D	7,4	6,7	9,5
16	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	M	N	N	MD	7,5	7,0	6,7
	E 50	M	N	N	MD	7,5	6,4	14,7

Legenda:

Base: base de máscara facial *peel off*

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50,0 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);

D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (**t0**); **Ds.:** após a condição do teste

Tabela 12. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (17 a 24) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Bases	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação /Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
17	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	N	N	N	MD	7,6	7,1	6,6
	E 50	M	N	M	MD	7,6	6,4	15,8
18	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,4	6,9	6,8
	E 50	N	N	M	A	7,4	6,4	13,5
19	C	N	N	N	D	Na	Na	0
	E T	N	N	N	D	7,3	5,6	23,3
	E 50	M	N	N	D	7,3	6,3	13,7
20	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	6,7	6,8	1,5
	E 50	N	N	M	A	6,7	6,2	7,5
21	C	N	N	N	D	Na	Na	0
	E T	N	N	N	D	6,9	6,9	0
	E 50	M	N	M	D	6,9	6,4	7,2
22	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	6,8	6,9	1,5
	E 50	N	N	M	A	6,8	6,4	5,9
23	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,2	6,9	4,3
	E 50	N	N	M	A	7,2	6,9	4,3
24	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,4	7,0	0,7
	E 50	M	N	M	D	7,4	6,6	10,8

Legenda:

Base: base de máscara facial *peel off*

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50,0 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);

D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (**t0**); **Ds.:** após a condição do teste

Tabela 13. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (25 a 32) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Bases	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação /Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
25	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,0	6,7	4,3
	E 50	M	N	M	A	7,0	6,2	11,4
26	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,0	6,8	2,9
	E 50	M	N	M	A	7,0	6,4	8,6
27	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,3	7,2	1,4
	E 50	M	N	M	D	7,3	6,6	9,6
28	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,2	6,5	9,7
	E 50	N	N	N	A	7,2	6,2	13,9
29	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,3	6,6	9,6
	E 50	N	N	N	A	7,3	6,3	13,7
30	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	M	N	N	MD	7,2	6,5	9,7
	E 50	N	N	N	MD	7,2	6,1	15,3
31	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,1	6,6	7,0
	E 50	IM	N	N	A	7,1	6,2	12,7
32	C	N	N	N	MD	Na	Na	0
	E T	M	N	N	MD	7,1	7,0	1,4
	E 50	M	N	M	MD	7,1	6,5	8,5

Legenda:

Base: base de máscara facial *peel off*

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50,0 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);

D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (**t0**); **Ds.:** após a condição do teste

Tabela 14. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das bases de máscara facial *peel off* (33 a 36) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Bases	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação /Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
33	C	N	N	N	D	Na	Na	0
	E T	M	N	N	D	7,2	7,2	0
	E 50	N	N	M	D	7,2	6,6	8,3
34	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,4	6,9	6,8
	E 50	N	N	M	A	7,4	6,7	9,5
35	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	N	N	N	A	7,2	6,7	6,9
	E 50	N	N	N	A	7,2	6,8	5,6
36	C	N	N	N	A	Na	Na	0
	E T	M	N	N	A	7,3	7,1	2,7
	E 50	M	N	M	D	7,3	6,5	11,0

Legenda:

Base: base de máscara facial *peel off*

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50,0 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);

D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (**t0**); **Ds.:** após a condição do teste

Os resultados referentes ao item **Aspecto** das **Tabelas 10 a 14** indicaram que, das 28 bases elaboradas, cerca de 70% apresentaram uma modificação em comum, caracterizada pela presença de líquido sobrenadante após o teste de estresse térmico e estufa, identificada pela classificação **M/ IM**. Existem duas possibilidades para justificar o fato.

A primeira explicação atribui a presença de líquido sobrenadante à condensação de vapor de água da atmosfera. Durante a realização dos testes de estresse térmico e estufa, ocorreu aumento da temperatura da preparação e do

material de acondicionamento. Com o posterior resfriamento, à temperatura ambiente, a água presente na atmosfera sob a forma de vapor, em contato com a superfície fria do material de embalagem primária, condensou-se e precipitou-se, acumulando-se sobre as preparações.

A segunda explicação sugere alterações decorrentes da instabilidade das preparações, possivelmente pela perda de água da própria formulação durante os testes. Este fato pode ter sido ocasionado pela baixa consistência das bases de máscara facial *peel off* e/ou pela concentração/miscibilidade reduzida dos umectantes, como glicerina, propilenoglicol e butilenoglicol.

Não foram observadas alterações na **Cor** das preparações, indicando estabilidade adequada (principalmente térmica) e compatibilidade do corante utilizado nas preparações elaboradas.

Os resultados de **Odor** indicaram manifestações de instabilidades nos testes de estresse térmico e de estufa (50,0 °C) para as bases classificadas como **M** neste critério – 23 preparações, aproximadamente 64% do total. Essas manifestações caracterizaram-se por diminuição da intensidade do odor da fragrância e aumento do odor de etanol, devido à evaporação. Não foram verificados outros odores.

A avaliação de **Aplicação e Toque** para as máscaras faciais *peel off* é determinante, pois elas precisam ter aderência à superfície da pele da face, mas o toque agradável é imprescindível para ocorrer a aceitação do consumidor (MARTINE *et al.*, 1995). Bases contendo concentrações elevadas dos componentes que conferem aumento da viscosidade, como álcool polivinílico (15,0% p/p), base autoemulsionante (2,0% p/p) e silicone de copolímero glicol (2,0% p/p), como as preparações **F10** e **F12**, apresentaram resultados na avaliação de **Aplicação e Toque** semelhantes às bases com concentrações inferiores ou mesmo ausência da utilização dos mesmos componentes (12,0, 0,0 e 0% p/p, respectivamente), como na preparação **F17**. Da mesma maneira, dentre as preparações que foram classificadas como agradáveis ao toque e de fácil espalhabilidade, encontram-se aquelas com composições opostas quanto à concentração dos mesmos componentes, como **F14**, que possui 15,0% p/p de PVA, 2,0% p/p de base autoemulsionante e de silicone de copolímero glicol; e **F9**, que possui 12,0, 0,0 e 0,0% dos componentes citados, respectivamente. Portanto, pode-se dizer que não foi observada uma relação direta entre a composição quali e quantitativa das bases de máscara facial *peel off* e a resposta de **Aplicação e Toque**.

Com relação aos testes realizados, as bases **F9, F13, F28, F29 e F35** apresentaram resultados satisfatórios na avaliação das características organolépticas do Estudo de Estabilidade Preliminar frente às outras preparações elaboradas. No entanto, as bases **F13, F28 e F29**, para sua utilização em estudos posteriores, deveriam ser reestruturadas quanto à composição, em virtude da formação de líquido sobrenadante durante os testes em temperaturas mais elevadas (50,0 °C). As alterações citadas anteriormente nas características organolépticas são aceitas no Estudo de Estabilidade Preliminar, considerando que foram condições drásticas às quais as formulações foram submetidas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004). Mesmo assim, há formulações em que tais alterações não foram verificadas, em todos os testes realizados – **F9 e F35** –, indicando sua maior estabilidade com relação às demais.

Observou-se que o **valor de pH** manteve uma variação abaixo de 15% para a maior parte das formulações, com exceção das bases **F1, F2, F10, F12, F17, F19 e F30**, que apresentaram resultados desfavoráveis, acima de 15%.

Desta forma, as bases **F9 e F35** foram identificadas como as preparações de melhor desempenho dentre as 36 bases de máscara facial *peel off* elaboradas, na avaliação organoléptica e determinação do valor de pH no Estudo de Estabilidade Preliminar.

1.1.2 Tempo de secagem e formação de filme

As médias dos tempos de secagem (triplicata) para as bases de máscara facial *peel off* 1 a 36, estão representadas na **Figura 7**.

Figura 7. Tempo de secagem (min) das bases 1 a 36 (média da triplicata) em estufa ($36,5 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$)

Conforme a **Figura 7**, as bases de máscara facial *peel off* **F8**, **F12**, **F26**, **F35** e **F36** apresentaram melhor desempenho que as demais no teste do tempo de secagem, ou seja, formaram um filme resistente e de fácil retirada da lâmina em menor tempo, com os tempos de **46,7**; **50**; **50**; **36,7** e **46,7 min**, respectivamente. Destas preparações, apenas a base **F35**, que apresentou o melhor desempenho no teste de secagem, não apresentou modificações significativas nos testes de avaliação das características organolépticas e variação do valor de pH. A preparação **F9**, que juntamente com **F35**, foi a base de melhor desempenho na avaliação organoléptica e de valor de pH, apresentou alto tempo de secagem (**70 min**), o que inviabiliza seu uso em comparação com as outras preparações.

Portanto, a base **F35** foi selecionada como a preparação de melhor desempenho no Estudo de Estabilidade Preliminar.

Apesar dos seus resultados satisfatórios, o tempo de secagem da base de máscara facial *peel off* **F35 – 36,7 min** – foi considerado elevado. Máscaras faciais *peel off* formam filmes no intervalo de tempo de 10 a 30 minutos, após sua aplicação (MARTINE *et al.*, 1995, CHARLET, 1996). Um período de tempo prolongado de secagem inviabilizaria o uso cosmético da máscara facial *peel off*, refletindo na baixa aderência ao tratamento por parte dos consumidores (WILKINSON & MOORE, 1982).

Com o intuito de contornar o problema, foram realizadas adaptações na base **F35**, com a subsequente realização dos Estudos de Estabilidade Preliminar e Acelerada, visando diminuir seu tempo de secagem e minimizar a ocorrência de possíveis processos de instabilidade da preparação em estudos posteriores.

1.2 Adequação da base F35 e Estudo de Estabilidade Preliminar

A partir dos resultados obtidos no Estudo de Estabilidade Preliminar para as 36 bases de máscaras faciais *peel off*, foi selecionada a preparação **F35**. Ela foi submetida às adequações, como aumento na concentração de PVA e adição de Goma Guar (espessante), a fim de diminuir o tempo de secagem da base, melhorando seu desempenho na formação do filme. As preparações alteradas passaram a ser denominadas **formulações**.

1.2.1 Características organolépticas e valor de pH

Os resultados obtidos na avaliação das características organolépticas e valores de pH no Estudo de Estabilidade Preliminar estão descritos na **Tabela 15**.

Foram elaboradas oito formulações a partir da base **F35**, acrescidas do extrato de soja 5% p/p, que posteriormente foram submetidas à avaliação das características organolépticas e determinação do valor de pH, antes e após a exposição às condições de estresse térmico e estufa $50,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}/72\text{ h}$ (BABY, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005; TRAVERSA, 2003; ZAGUE, 2007).

Os resultados do **Aspecto** indicaram que ocorreu formação de líquido sobrenadante nas preparações **F35/15** e **F35/17**, além de percebida uma maior fluidez, durante o teste do estresse térmico, indicados pelos resultados **M/IM**. As

demais modificações apresentadas nas bases adaptadas foram decorrentes do aumento da fluidez das preparações. Além disso, observou-se aumento da turbidez durante o teste do estresse térmico.

Não foi observada alteração na **Cor** em nenhuma das preparações, indicando estabilidade adequada (principalmente térmica) e compatibilidade do corante empregado.

Os resultados de **Odor** indicaram diminuição da intensidade da fragrância nos testes de estresse térmico para todas as bases adaptadas. Essas manifestações caracterizaram-se pela volatilização do componente, devido à temperatura elevada. Não foram verificadas outras alterações do odor.

A avaliação do **Aplicação e Toque** para as preparações demonstrou que aquelas que possuíam 20% p/p de álcool polivinílico (**F35/20** e **F35/20G**), a maior concentração do polímero, apresentaram consistência elevada e viscosidade comprometida, o que pode estar relacionado à proporção elevada do polímero na preparação. As formulações com melhor desempenho na avaliação do **Aplicação e Toque** foram aquelas com concentrações intermediárias de PVA (**F35/17G** e **F35/18**, **17** e **18%** p/p de polímero, respectivamente).

Como descrito anteriormente, as alterações observadas nas características organolépticas para os testes de estresse térmico e estufa (50 °C) são aceitas no Estudo de Estabilidade Preliminar, considerando as condições drásticas a que as preparações foram submetidas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Tabela 15. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das formulações de máscara facial *peel off* (modificações da base **F35**) no **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Formulação	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
35/15	C	M	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	IM	N	M	A	6,3	6,1	3,2
	E 50	N	N	N	D	6,3	5,7	9,5
35/15G	C	N	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	M	N	M	A	6,4	6,1	4,7
	E 50	N	N	N	D	6,4	5,9	7,8
35/17	C	M	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	IM	N	M	A	6,6	6,2	6,1
	E 50	N	N	N	D	6,6	5,9	10,6
35/17G	C	N	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	M	N	M	A	6,5	6,2	4,6
	E 50	N	N	N	A	6,5	5,8	10,8
35/18	C	N	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	M	N	M	A	6,6	6,1	7,6
	E 50	N	N	N	A	6,6	5,8	12,1
35/18G	C	N	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	M	N	M	A	6,7	6,6	1,5
	E 50	N	N	N	D	6,7	5,9	11,9
35/20	C	N	N	N	MD	Na	Na	Na
	E T	M	N	M	MD	6,6	6,2	6,1
	E 50	N	N	N	MD	6,6	5,8	12,1
35/20G	C	N	N	N	MD	Na	Na	Na
	E T	M	N	M	MD	6,8	6,3	7,4
	E 50	N	N	N	MD	6,8	5,9	13,2

Legenda:

Formulação: preparações resultantes das alterações na base **F35**

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);
D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** – toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (t0); **Ds:** após a condição do teste

Observou-se que o **valor de pH** manteve uma variação abaixo de 15% para a todas as bases adaptadas, sendo que as de maior concentração de álcool polivinílico (acima de 17% p/p) apresentaram variação superior a 10% para o teste em estufa (50,0 °C).

Diante dos resultados, as formulações **F35/17G** e **F35/18** foram selecionadas como as de melhor desempenho na avaliação das características organolépticas.

1.2.2 Tempo de secagem e formação de filme

As médias dos tempos de secagem, obtidas com as leituras em triplicata para as formulações resultantes das modificações na base F35 estão representadas na **Figura 8**.

Figura 8. Tempo de secagem (min) das formulações obtidas a partir das modificações na de máscara facial *peel off* **F35** (média da triplicata), na condição de estufa ($36,5 \pm 1,0$ °C)

Conforme os resultados apresentados na **Figura 8**, as formulações **35/17**, **35/17G**, **35/18**, **35/18G** e **35/20** apresentaram o melhor desempenho no teste do tempo de secagem, ou seja, formaram um filme resistente e de fácil retirada da lâmina em um tempo máximo de **30,0 min**, sendo que a formulação 35/20G apresentou valor menor (**26,7 min**). O tempo de secagem reduzido é um critério de escolha da formulação, uma vez que é um pré-requisito imprescindível para máscaras *peel off* (WILKINSON & MOORE, 1982), assim como características

organolépticas, destacando-se entre elas a **Aplicação e Toque**, em virtude da importância da aderência da máscara no local de aplicação.

Aliado aos resultados da avaliação organoléptica e de valor de pH, onde pequenas modificações foram aceitas nas condições drásticas de temperatura (estresse térmico e estufa a $50,0 \pm 2,0$ °C/ 72 horas), selecionaram-se as formulações **35/18** e **35/17G** para o Estudo de Estabilidade Acelerada. As preparações **35/18**, **35/20** e **35/20G** foram excluídas, uma vez que apresentaram dificuldade na espalhabilidade na pele e lâmina, devido à consistência elevada, atribuída às concentrações maiores de PVA. A formulação **35/17** foi excluída em virtude da intensa modificação observada no estresse térmico, atribuída à formação de película de água sobre a formulação.

1.3 Bases da emulsão óleo em água

Os resultados obtidos na avaliação das características organolépticas (cor, odor, aspecto e aplicação e toque) e na determinação dos valores de pH no Estudo de Estabilidade Preliminar para as preparações da emulsão O/A, contendo (formulação) ou não (base) extrato de soja fermentado (**EC** e **ES**, respectivamente) estão descritos na **Tabela 15** (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004; PINTO, 2005).

Na avaliação dos resultados da **Tabela 16**, a característica **Aspecto** demonstrou que a emulsão **EC** (formulação) tornou-se visualmente menos consistente nos testes de estresse térmico e estufa ($50,0 \pm 2,0$ °C/ 72 horas), enquanto a emulsão **ES** (base) manifestou o mesmo comportamento apenas no teste da estufa. Não foi observada separação de fases em nenhuma amostra das formulações. As emulsões são, portanto, consideradas estáveis quanto ao aspecto.

Não ocorreram variações de **Cor** nas preparações, indicando estabilidade (principalmente térmica) do corante utilizado. Foi observada diminuição da intensidade do **Odor**, nos testes de estresse térmico e estufa, para a formulação **ES**, e no teste de estufa para a formulação **EC**. Estes resultados eram esperados diante das condições drásticas utilizadas para os testes.

As formulações apresentaram **Aplicação e Toque** agradável em todos os testes avaliados, com boa espalhabilidade e ausência de resíduos na pele após sua aplicação.

As variações do **valor de pH**, em todas as condições do estudo, foram inferiores a 15% (máximo de 3,5%) para todas as amostras analisadas, indicando a estabilidade físico-química das preparações.

Tabela 16. Avaliação das características organolépticas e valor de pH das preparações de emulsão O/A sem extrato de soja fermentado (**ES**, base) e contendo extrato de soja fermentado (**EC**, formulação) durante o **Estudo de Estabilidade Preliminar**.

Preparação	Parâmetro avaliado							
	Teste	Aspecto	Cor	Odor	Aplicação Toque	pH		Variação pH (%)
						As.	Ds.	
ES	C	N	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	N	N	M	A	5,7	5,6	1,8
	E 50	M	N	M	A	5,7	5,5	3,5
EC	C	N	N	N	A	Na	Na	Na
	E T	M	N	N	A	6,4	6,3	1,6
	E 50	M	N	M	A	6,4	6,3	1,6

Legenda:

ES: emulsão sem extrato de soja fermentado (base)

EC: emulsão contendo extrato de soja fermentado (formulação)

Teste: **C** - Centrifugação; **ET** - Estresse térmico; **E 50** – Estufa 50,0 ± 2,0°C/ 72 horas

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade);

D – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** – toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

pH: **Na** – não aplicável; **As.:** após 48 horas de preparo (t0); **Ds.:** após a condição do teste

Os resultados demonstraram que a emulsão base, submetida aos Estudos de Estabilidade Preliminar, Acelerada e Normal de acordo com PINTO (2005), foi considerada adequada para este estudo, sendo adaptada e submetida novamente ao Estudo de Estabilidade Preliminar e estudos clínicos, com (**EC**) e sem (**ES**) a incorporação do extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.

2 Estudo de Estabilidade Acelerada

A partir dos resultados obtidos no Estudo de Estabilidade Preliminar, as formulações **F35/17G** e **F35/18**, que apresentaram desempenho satisfatório, e a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado foram submetidas ao Estudo de Estabilidade Acelerada, conforme descrito no item 2.5 de **Material e Métodos**.

2.1. Variáveis analisadas nas formulações F35/17G e F35/18

Os resultados obtidos na avaliação das características organolépticas, determinação do valor de pH e da viscosidade aparente no Estudo de Estabilidade Acelerada estão descritos na **Tabela 17**.

A partir desta, foram elaborados os gráficos representados nas **Figuras 9 a 14**, com resultados das variações, em porcentagem, dos valores de pH e de viscosidade para as formulações, ao término do Estudo de Estabilidade Acelerada, com relação aos resultados obtidos nas condições iniciais.

Tabela 17. Avaliação das características organolépticas, pH e viscosidade aparente das formulações **35/17G** e **35/18**, no **Estudo de Estabilidade Acelerada**.

		Condições de Armazenamento														
		G			T.A.			F			C			E45°		
Parâmetros	to	tempo (dias)														
		3º	7º	15º	3º	7º	15º	3º	7º	15º	6º	12º	1º	3º	7º	15º
Formulação 35/17G																
pH	6,7	6,6	6,5	6,5	6,3	6,3	6,2	6,6	6,4	6,5	5,8	5,8	6,2	5,9	5,7	5,7
Aspecto	N	N	N	M	N	N	N	N	N	M	N	M	N	N	N	N
Odor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M	N	N	N	M
Cor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Aplicação/Toque	A	A	A	D	A	A	A	D	D	D	A	A	A	A	A	A
Viscosidade	85600	114600	122550	113400	105250	102650	105600	96400	128000	130300	83450	97850	87100	84500	86450	82100
Formulação 35/18																
pH	6,5	6,5	6,4	6,4	6,2	6,2	6,2	6,8	6,4	6,5	6,0	5,8	6,2	6,6	5,7	5,7
Aspecto	N	N	N	M	N	N	N	N	N	M	N	M	N	N	N	N
Odor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M	N	N	N	M
Cor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Aplicação/Toque	A	A	A	D	A	A	A	A	D	D	A	A	A	A	A	A
Viscosidade	65850	111000	115200	137600	99150	86700	104600	139000	122900	143950	104400	122950	82250	97350	105750	74750

Legenda:

Teste: **G** – Geladeira ($5,0 \pm 1,0$ °C); **T.A.** – Temperatura ambiente ($22,0 \pm 2,0$ °C); **E45** - Estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C); **C** – Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C); **F** – Freezer ($-10,0 \pm 1,0$ °C).

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

pH – valor de pH; **Viscosidade:** valores aferidos em cP, utilizando agulha TR11 a velocidade de 6 rpm.

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade); **D** – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

Figura 9. Variação percentual do valor de pH para as formulações F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C), durante o Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 10. Variação percentual do valor de pH para as formulações F35/18 e F35/17G nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0$ °C), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0$ °C) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 11. Variação percentual do valor de pH para as formulações-teste F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 12. Variação percentual do valor de viscosidade para as formulações F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 13. Variação percentual do valor de viscosidade para as formulações F35/18 e F35/17G nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0$ °C), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0$ °C) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 14. Variação percentual do valor de viscosidade para as formulações F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 15. Variação percentual do tempo de secagem para as formulações-teste F35/18 e F35/17G na condição de armazenamento estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C), geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0$ °C), freezer (F – $-10,0 \pm 1,0$ °C) e temperatura ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada. As variações são decorrentes da diferença obtida do 15º dia para t0, em todas as condições.

A partir da observação da **Tabela 17** e **Figuras 9 a 14**, os resultados de **Aspecto** demonstraram que a formulação **F35/17G** apresentou maior consistência no 15º dia (observação visual) nas condições **Geladeira** e **Freezer** e 12º dia na condição **Ciclo**. Isso foi confirmado pelo aumento da viscosidade aparente nestas condições, até 52% na condição **Freezer**. A formulação **F35/18G** também apresentou maior consistência no 15º dia (observação visual) das condições **Geladeira** e **Freezer** e 12º dia da condição **Ciclo**, também associadas às variações da viscosidade aparente, porém, com valores ainda maiores que os observados para a formulação **F35/17G**, chegando até 119% na condição **Freezer**.

Não foram observadas alterações na **Cor** das preparações, indicando estabilidade adequada (principalmente estabilidade térmica) e compatibilidade do corante utilizado.

Os resultados de **Odor** indicaram manifestações de instabilidades no 15º dia das condições **Estufa** e **Ciclo**. Caracterizaram-se por diminuição da intensidade do odor da fragrância, não sendo perceptíveis outros odores. Alterações nas características físicas, químicas e físico-químicas foram descritas para preparações cosméticas em estudos de estabilidade, especialmente após exposição a temperaturas mais altas (BABY, 2007; MAIA, 2006). Portanto, a diminuição da intensidade do odor era esperada em virtude das condições drásticas de exposição das preparações.

A avaliação do **Aplicação e Toque** demonstrou que ambas formulações mantiveram o toque agradável, com boa aderência e espalhabilidade nas condições **Estufa**, **Ciclo** e **Temperatura Ambiente**, em todos os dias avaliados. Observou-se que as preparações tornaram-se mais pegajosas, em comparação ao **t0**, na condição **Freezer**, em todos dias de avaliação, exceto a formulação **F35/18**, que não apresentou modificações no 3º dia de teste. Ambas formulações apresentaram-se mais pegajosas e com a espalhabilidade dificultada em relação a **t0**, no 15º dia da condição de **Geladeira**.

Observou-se que o **valor de pH** manteve variações dentro da especificação determinada em todas as condições avaliadas – variações superiores e inferiores de até 15%. Na **Estufa**, as preparações apresentaram tendência semelhante à diminuição do valor de pH, sendo observados valores de até -15% para a formulação **F35/17G** no 7º e 15º dias de avaliação. Estas variações para ambas preparações são aceitáveis em virtude da condição drástica (45,0 °C) a que foram expostas

(BABY, 2007; MAIA, 2006). Além disso, uma vez que o ponto isoelétrico das proteínas da soja encontra-se no valor de pH igual a 4,5, e apenas valores além da faixa de valor de pH 2 a 10 causam degradação das proteínas e isoflavonas presentes no extrato de soja fermentado (GENOVESE *et al.*, 2006), não era esperado o comprometimento da estabilidade química da preparação.

Foram verificadas variações no **valor de pH** inferiores a 5,0%, para ambas as preparações, nas condições **Geladeira** e **Freezer**. Similarmente, na condição **Temperatura Ambiente**, os valores obtidos foram inferiores a 10%, para ambas formulações, chegando ao máximo de -6% para a formulação **F35/18** e -7% para **F35/17G**, no 15º dia de avaliação. Considerando que, em valores de temperaturas mais elevadas foram observadas alterações mais significativas, este perfil também era esperado, observando-se menos modificações em temperaturas mais baixas (BABY, 2007; MAIA, 2006).

Na condição **Ciclo**, foi observada a mesma tendência de diminuição do **valor de pH** ao longo dos dias de avaliação, para ambas formulações, com a formulação **F35/17G** apresentando variações maiores, até -13%. Da mesma maneira que fora observado para a condição de **Estufa**, essas variações eram esperadas e aceitáveis, dentro da faixa de especificação, em virtude da condição drástica de armazenamento das preparações (BABY, 2007; MAIA, 2006).

Simultaneamente à determinação do **valor de pH**, foi avaliado o valor da **viscosidade aparente** das formulações em todas as condições do Estudo de Estabilidade Acelerada. Na condição **Estufa**, observou-se que **F35/18** apresentou variações de até 61% no valor da viscosidade, verificada no 7º dia, enquanto **F35/17G** apresentou variação máxima de 13%, no 3º dia de teste. Apesar de ser uma condição drástica, notou-se que as preparações não seguem uma mesma tendência de resposta à condição avaliada.

Esta diferença entre as preparações para a variação do valor de viscosidade foi observada em todas as condições. Na **Geladeira**, **F35/18** ocorreram variações de 69 até 109%, enquanto foram verificados valores entre 32 e 43% para **F35/17G**. No **Freezer**, verificaram-se intervalos de 87 até 119% para a formulação **F35/18**, enquanto que **F35/17G** não apresentou valores superiores a 52%. Na condição **Ciclo**, ocorreu um valor máximo de 87% de variação no 12º dia de avaliação para **F35/18**, enquanto que, para **F35/17G**, foi de 14%. Finalmente, na condição **Temperatura Ambiente**, nas qual as máscaras faciais *peel off* geralmente são

comercializadas, verificou-se variação máxima de 59% no valor da viscosidade para a preparação **F35/18**, no 15º dia de avaliação; para **F35/17G**, a variação máxima verificada na mesma condição foi 23%, no 15º dia de avaliação.

Estudos comprovaram que a goma guar e outros hidrocolóides promovem estabilidade às dispersões coloidais, alterando as propriedades reológicas de preparações constituídas de polímeros hidrofílicos, como amido (SUPHANTHARIKA, 2005; PONGSAWATMANIT, 2008). O álcool polivinílico, principal componente das formulações de máscara facial, é um polímero constituído de cadeia carbônica substituída por hidroxilas (ARANHA & LUCAS, 2001; CHIELLINI *et al.*, 2003; MARTINDALE, 1989). Estas características, semelhantes às da goma guar (MERCK, 1996) e do amido (açúcares), sugerem que a formulação **F35/17G** apresentou menores variações nos valores de viscosidade que a formulação **F35/18** no estudo de estabilidade pela formação de interações intermoleculares entre o álcool polivinílico e a goma guar, conferindo maior estabilidade à preparação.

Diante dos resultados da avaliação organoléptica, valor de pH e valor da viscosidade aparente para as formulações de máscara facial *peel off* no Estudo de Estabilidade Acelerada, pode-se afirmar que **F35/17G** apresentou melhores resultados que **F35/18**.

A avaliação do desempenho das formulações é realizada por meio da determinação do tempo de secagem das formulações *in vitro*. No Estudo de Estabilidade Acelerada, foram avaliadas as variações no tempo de secagem após a exposição das preparações às condições **Estufa**, **Geladeira**, **Freezer** e **Temperatura Ambiente**. As determinações dos valores foram realizadas no 15º dia de cada uma das condições, determinando a variação, em porcentagem, a partir do valor obtido para as formulações em **t0**. A **Figura 15** apresenta os resultados obtidos.

Não foram observadas variações no valor do tempo de secagem para **F35/17G** nas condições **Estufa** e **Geladeira**, em relação ao **t0**. Nestas mesmas condições, **F35/18** apresentou variações de -23 e 10%, respectivamente. A formulação **F35/17G** apresentou variação de 23% no **Freezer**, enquanto nenhuma variação foi verificada para **F35/18**, na mesma condição. Ambas formulações apresentaram variação de -33% à **Temperatura Ambiente**.

Associado aos resultados obtidos na avaliação organoléptica, valor de pH e de viscosidade, considerou-se que a formulação **F35/17G** apresentou maior

estabilidade frente aos testes realizados, associados a pequenas variações no tempo de secagem *in vitro*, em comparação com **F35/18**. A formulação foi selecionada para a realização dos testes clínicos, devendo ser mantida em geladeira, para garantia da menor variação do tempo de secagem e das demais variáveis analisadas no Estudo de Estabilidade Acelerada.

2.2. Variáveis analisadas na formulação de emulsão óleo em água contendo extrato de soja fermentado

Os resultados obtidos na avaliação das características organolépticas, determinação do valor de pH e da viscosidade aparente no Estudo de Estabilidade Acelerada estão descritos na **Tabela 18**.

A partir desta, foram elaborados os gráficos representados nas **Figuras 16 a 21**, com resultados das variações, em porcentagem, dos valores de pH e de viscosidade para as formulações, ao término do Estudo de Estabilidade Acelerada, com relação aos resultados obtidos nas condições iniciais.

Tabela 18. Avaliação das características organolépticas, pH e viscosidade aparente da formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado, no **Estudo de Estabilidade Acelerada**.

		Condições de Armazenamento														
		G			T.A.			F			C			E45°		
Parâmetros	To	tempo (dias)														
		3º	7º	15º	3º	7º	15º	3º	7º	15º	6º	12º	1º	3º	7º	15º
Emulsão com Extrato de Soja																
pH	7,4	7,0	7,1	7,1	7,0	7,1	7,1	7,1	7,9	7,1	7,1	7,1	7,1	7,1	6,9	6,9
Aspecto	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M	M	N	N	N	M
Odor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	IM	N	N	M	IM
Cor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Aplicação/ toque	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	D	A	A	A	D
Viscosidade	40200	38600	36500	38750	39400	36650	37700	41250	36750	38600	83450	97850	32550	42600	30950	31500

Legenda:

Teste: **G** – Geladeira ($5,0 \pm 1,0$ °C); **T.A.** – Temperatura ambiente ($22,0 \pm 2,0$ °C); **E45** - Estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C); **C** – Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C); **F** – Freezer ($-10,0 \pm 1,0$ °C).

Aspecto: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Cor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

Odor: **N** - Normal; **M** – Modificado; **IM** - Intensamente modificado;

pH – valor de pH; **Viscosidade:** valores aferidos em cP, utilizando agulha TR11 a velocidade de 12 rpm.

Aplicação e Toque: **A** - toque agradável, facilidade de aplicação na pele (espalhabilidade); **D** – toque desagradável, pegajoso, relativa dificuldade de aplicação na pele (espalhabilidade); **MD** toque muito desagradável, muito pegajoso, comprometendo aplicação na pele;

Figura 16. Variação percentual do valor de pH para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C), durante o Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 17. Variação percentual do valor de pH para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0$ °C), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0$ °C) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 18. Variação percentual do valor de pH para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 19. Variação percentual do valor de viscosidade para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento em estufa ($45,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 20. Variação percentual do valor de viscosidade para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* nas condições de armazenamento em Geladeira (Ge – $5,0 \pm 1,0$ °C), Freezer (F – $-10,0 \pm 1,0$ °C) e Temperatura Ambiente (TA – $22,0 \pm 2,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

Figura 21. Variação percentual do valor de viscosidade para a formulação de emulsão contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* na condição de armazenamento Ciclos gela e degela ($45,0 \pm 2,0$ °C / $-10,0 \pm 1,0$ °C) no Estudo de Estabilidade Acelerada.

A partir da observação da **Tabela 18** e **Figuras 16 a 21**, os resultados de **Aspecto** demonstraram que a emulsão apresentou menor consistência no 15º dia (observação visual) na condição **Geladeira** e **Freezer** e 6º e 12º dias na condição **Ciclo**. Isso foi confirmado pela diminuição da viscosidade aparente nestas condições, até 25% na condição **Freezer**.

Não foram observadas alterações na **Cor** da emulsão, indicando estabilidade adequada, principalmente estabilidade térmica.

Os resultados de **Odor** indicaram manifestações de instabilidades nos 7º e 15º dias da condição **Estufa** e 12º dia da condição **Ciclo**. Caracterizaram-se por diminuição da intensidade ou perda do odor da fragrância, não sendo perceptíveis outros odores. Esta manifestação era esperada em virtude das condições drásticas de exposição da emulsão (BABY, 2007; MAIA, 2006).

A avaliação do **Aplicação e Toque** demonstrou que ambas formulações mantiveram o toque agradável e espalhabilidade nas condições **Geladeira**, **Freezer** e **Temperatura Ambiente**, em todos os dias avaliados. Observou-se que as preparações tornaram-se mais pegajosas (sensação de oleosidade), em comparação ao **t0**, na condição **Ciclo**, no 12º dia, e na condição **Estufa**, no 15º dia.

Observou-se que o **valor de pH** manteve variações dentro da especificação determinada em todas as condições avaliadas – variações superiores e inferiores de até 15%. Com variações máximas de 7%, na condição **Estufa**, pode-se dizer que a formulação de emulsão incorporada do extrato de soja fermentado não propicia a degradação dos componentes do extrato (GENOVESE *et al.*, 2006), não comprometendo a estabilidade química da preparação ou as prováveis ações atribuídas aos componentes da soja.

Simultaneamente à determinação do **valor de pH**, foi avaliado o valor da **viscosidade aparente** da emulsão contendo o extrato de soja fermentado em todas as condições do Estudo de Estabilidade Acelerada. Foram verificadas variações inferiores a 30% para todas as condições avaliadas. Na condição **Temperatura Ambiente**, na qual formulações como a emulsão, geralmente, são utilizadas e comercializadas, verificou-se variação máxima de 9%.

Diante dos resultados da avaliação organoléptica, valor de pH e valor da viscosidade aparente para a formulação de emulsão contendo o extrato de soja fermentado no Estudo de Estabilidade Acelerada, afirmou-se que a preparação

estava apta à sua utilização nos estudos clínicos, como formulação utilizada na comparação ao desempenho das formulações de máscara facial *peel off*.

3 Testes Clínicos

3.1 Dados obtidos das medidas instrumentais

Os resultados dos testes clínicos estão representados nas **Tabelas 19 a 26**. A aleatorização, ou seja, a aplicação das formulações, conforme os locais definidos nos voluntários, foi definida estatisticamente e está descrita detalhadamente em MATERIAL E MÉTODOS, no item **2.6.7**.

Tabela 19. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra MS – base cosmética de máscara facial *peel off* (sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*).

VOL.	L.	MEDIDAS CW				MEDIDAS TEWL			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	5	35,7	48,7	38,7	43,3	8,52	10,2	8,55	6,65
3	2	29,0	43,3	38,7	34,7	7,58	8,12	8,47	8,20
4	3	31,0	42,7	48,7	43,7	8,88	7,57	12,55	6,03
4	4	34,3	42,7	39,7	39,0	8,90	6,11	13,31	5,47
5	1	41,0	51,3	50,3	42,7	6,72	10,7	14,44	9,86
6	3	33,0	62,7	56,7	65,3	6,86	8,05	9,96	9,57
6	6	32,3	59,0	53,0	58,0	6,81	8,58	5,47	9,06
7	3	36,7	43,0	46,3	45,7	4,45	6,89	7,29	7,27
8	2	38,3	37,0	46,0	42,7	4,93	6,84	7,59	7,39
8	6	33,7	37,0	43,3	36,3	6,36	5,81	6,67	7,26
9	2	46,0	63,7	55,7	63,7	7,78	8,68	9,89	8,60
9	6	42,7	64,7	58,7	55,7	9,45	9,78	8,45	9,15
10	3	31,7	39,0	38,3	36,7	5,63	8,94	7,81	7,41
12	2	37,0	49,7	47,0	47,3	7,77	6,83	7,13	8,48
12	4	40,7	51,7	49,3	50,7	5,58	5,81	5,87	6,78

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CW: hidratação obtidas com o Corneometer® (UA – unidades arbitrárias)

TEWL: perda de água transepidérmica obtida com o Tewameter® (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 20. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra MC – base cosmética de máscara facial *peel off* (com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*).

VOL.	L.	MEDIDAS CW				MEDIDAS TEWL			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	1	37,3	48,7	48,7	53,0	9,71	10,09	10,25	8,18
2	4	36,7	43,3	45,3	44,3	6,69	9,56	8,48	7,20
3	3	28,7	28,0	26,3	26,3	8,30	8,74	7,43	6,37
3	5	25,7	36,7	28,7	30,3	8,96	9,22	9,16	8,17
4	2	34,0	40,3	44,7	42,0	5,90	8,57	11,22	5,72
4	5	34,0	44,7	45,0	44,7	8,34	6,48	13,03	6,58
5	3	31,3	51,0	44,3	41,0	6,70	8,28	9,03	7,75
5	6	32,7	48,7	42,7	40,0	6,48	9,78	7,21	7,78
7	1	28,7	32,7	36,3	37,3	7,46	7,81	9,43	9,41
7	5	36,3	47,3	39,7	42,0	4,41	8,39	8,86	10,79
8	4	41,0	53,7	45,3	44,3	3,72	3,35	4,28	4,49
9	3	38,3	58,3	47,7	48,7	7,54	9,37	7,44	6,50
9	4	33,7	53,7	40,0	42,7	5,35	10,10	8,98	6,33
10	4	36,7	43,3	39,3	40,7	5,45	8,75	8,82	7,82
12	3	34,0	43,3	43,3	47,3	5,47	7,07	7,16	8,11

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CW: hidratação obtidas com o Corneometer® (UA – unidades arbitrárias)

TEWL: perda de água transepidérmica obtida com o Tewameter® (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 21. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra ES – emulsão sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.

VOL.	L.	MEDIDAS CW				MEDIDAS TEWL			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	3	31,3	38,7	40,3	38,3	7,44	9,45	9,35	7,00
2	6	30,3	40,7	38,0	38,3	7,30	10,03	10,55	9,54
3	4	26,3	39,0	33,0	33,3	6,91	5,91	5,63	5,56
4	6	29,0	34,0	37,7	37,7	10,73	7,06	12,42	6,53
5	5	29,3	27,3	35,3	36,3	8,02	8,93	8,23	7,04
6	1	29,7	35,3	31,3	32,7	9,13	9,60	12,35	10,42
6	4	29,3	43,3	41,3	50,7	11,43	10,30	10,90	10,42
7	2	36,0	41,3	37,7	39,0	6,90	8,11	10,02	9,36
7	4	33,0	37,3	35,0	36,3	5,23	7,72	7,40	9,95
8	1	33,0	36,7	33,0	34,7	4,82	5,61	9,66	7,30
9	1	36,3	36,7	32,3	36,3	10,03	8,09	10,54	6,78
9	5	42,3	44,7	37,7	38,7	7,89	8,83	9,49	9,19
10	2	38,3	31,0	32,3	39,0	5,16	5,77	8,62	8,74
10	6	37,7	34,3	33,7	39,0	6,66	7,80	6,98	9,01
12	5	40,7	44,7	42,7	42,7	5,61	5,78	8,15	8,57

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CW: hidratação obtidas com o Corneometer® (UA – unidades arbitrárias)

TEWL: perda de água transepidérmica obtida com o Tewameter® (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 22. Avaliação clínica da hidratação (CW) e perda de água transepidérmica (TEWL) para a amostra EC – emulsão com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.

VOL.	L.	MEDIDAS CW				MEDIDAS TEWL			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	2	37,7	47,3	41,7	33,0	7,59	8,41	9,24	7,51
3	1	25,3	34,0	30,7	26,3	8,28	8,27	9,29	8,13
3	6	24,3	32,7	25,7	26,7	7,08	9,02	9,38	7,36
4	1	35,0	30,3	37,7	35,3	9,71	9,33	14,41	7,26
5	2	32,7	30,3	42,3	37,0	6,31	8,06	9,73	7,94
5	4	31,7	34,3	40,7	37,7	10,61	8,80	8,87	10,00
6	2	30,7	42,0	43,7	46,3	8,83	9,02	12,12	9,89
6	5	30,7	42,7	42,3	46,0	9,31	11,75	7,50	10,05
7	6	31,7	36,7	33,0	35,7	4,80	7,83	10,02	10,39
8	3	35,3	33,7	34,0	32,3	5,51	6,87	7,81	8,55
8	5	34,3	42,3	38,0	33,0	4,33	5,98	4,27	7,01
10	1	35,0	31,3	30,7	35,3	5,20	6,92	8,89	7,99
10	5	39,0	41,0	40,3	42,7	6,14	7,67	8,12	7,36
12	1	31,3	35,7	35,0	35,7	7,67	5,20	6,90	6,35
12	6	40,0	46,7	39,7	40,3	6,14	7,52	8,45	7,87

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CW: hidratação obtidas com o Corneometer® (UA – unidades arbitrárias)

TEWL: perda de água transepidérmica obtida com o Tewameter® (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 23. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra MS – base cosmética de máscara facial *peel off* (sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*).

VOL.	L.	CUTO – M1				CUTO – M2			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	5	0,405	0,385	0,345	0,315	0,080	0,075	0,075	0,065
3	2	0,365	0,385	0,385	0,410	0,090	0,060	0,050	0,060
4	3	0,405	0,475	0,390	0,450	0,085	0,065	0,040	0,045
4	4	0,315	0,265	0,360	0,345	0,065	0,025	0,080	0,065
5	1	0,430	0,425	0,425	0,325	0,065	0,055	0,025	0,045
6	3	0,450	0,405	0,465	0,445	0,040	0,030	0,025	0,045
6	6	0,450	0,385	0,440	0,475	0,045	0,025	0,020	0,050
7	3	0,465	0,475	0,510	0,435	0,050	0,080	0,080	0,065
8	2	0,365	0,330	0,325	0,280	0,165	0,100	0,080	0,075
8	6	0,400	0,380	0,365	0,455	0,140	0,090	0,075	0,180
9	2	0,365	0,365	0,350	0,395	0,100	0,045	0,065	0,065
9	6	0,380	0,375	0,440	0,370	0,060	0,040	0,080	0,060
10	3	0,440	0,455	0,315	0,385	0,065	0,075	0,020	0,045
12	2	0,455	0,585	0,590	0,465	0,050	0,085	0,055	0,045
12	4	0,640	0,445	0,665	0,555	0,100	0,050	0,100	0,050

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CUTO M1: deformação final ou extensibilidade máxima (UA – unidades arbitrárias)

CUTO M2: deformação resultante em comparação com o valor inicial (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 24. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra MC – base cosmética de máscara facial *peel off* (com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*).

VOL.	L.	CUTO – M1				CUTO – M2			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	1	0,565	0,320	0,360	0,305	0,125	0,080	0,115	0,075
2	4	0,345	0,320	0,350	0,325	0,035	0,055	0,095	0,055
3	3	0,575	0,445	0,510	0,485	0,095	0,075	0,080	0,065
3	5	0,435	NA	0,465	0,420	0,075	NA	0,070	0,110
4	2	0,325	0,380	0,355	0,325	0,060	0,070	0,055	0,050
4	5	0,355	0,330	0,350	0,360	0,045	0,055	0,070	0,075
5	3	0,420	0,475	0,455	0,415	0,055	0,050	0,035	0,025
5	6	0,415	0,495	0,435	0,485	0,030	0,030	0,020	0,040
7	1	0,640	0,460	0,385	0,375	0,090	0,085	0,065	0,085
7	5	0,455	0,480	0,415	0,435	0,100	0,075	0,080	0,075
8	4	0,410	0,460	0,290	0,390	0,160	0,150	0,085	0,150
9	3	0,440	0,410	0,410	0,390	0,065	0,065	0,070	0,070
9	4	0,390	0,395	0,415	0,375	0,075	0,080	0,110	0,095
10	4	0,410	0,450	0,400	0,435	0,065	0,065	0,060	0,065
12	3	0,640	0,655	0,620	0,515	0,100	0,025	0,065	0,045

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CUTO M1: deformação final ou extensibilidade máxima (UA – unidades arbitrárias)

CUTO M2: deformação resultante em comparação com o valor inicial (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 25. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra ES – emulsão sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.

VOL.	L.	CUTO – M1				CUTO – M2			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	3	0,395	0,400	0,405	0,450	0,050	0,060	0,090	0,045
2	6	0,425	0,415	0,425	0,380	0,075	0,100	0,090	0,065
3	4	0,445	0,465	0,425	0,425	0,115	0,070	0,065	0,045
4	6	0,395	0,380	0,455	0,400	0,075	0,095	0,055	0,050
5	5	0,395	0,410	0,445	0,395	0,035	0,055	0,070	0,045
6	1	0,255	0,465	0,270	0,285	0,030	0,075	0,070	0,045
6	4	0,305	0,505	0,310	0,305	0,060	0,045	0,040	0,045
7	2	0,615	0,355	0,410	0,365	0,095	0,070	0,080	0,055
7	4	0,420	0,450	0,410	0,420	0,110	0,130	0,090	0,080
8	1	0,320	0,310	0,305	0,280	0,125	0,100	0,115	0,095
9	1	0,370	0,375	0,380	0,295	0,065	0,050	0,085	0,050
9	5	0,390	0,335	0,370	0,380	0,075	0,075	0,095	0,060
10	2	0,375	0,360	0,345	0,345	0,050	0,050	0,045	0,055
10	6	0,455	0,415	0,390	0,400	0,035	0,050	0,035	0,060
12	5	0,545	0,535	0,500	0,470	0,100	0,050	0,035	0,065

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CUTO M1: deformação final ou extensibilidade máxima (UA – unidades arbitrárias)

CUTO M2: deformação resultante em comparação com o valor inicial (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Tabela 26. Avaliação clínica da elasticidade e firmeza da pele (CUTO) para a amostra EC – emulsão com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*.

VOL.	L.	CUTO – M1				CUTO – M2			
		t0	t45	t90	t180	t0	T45	t90	t180
2	2	0,615	0,365	0,335	0,345	0,170	0,080	0,065	0,040
3	1	0,405	0,375	0,335	0,350	0,085	0,075	0,055	0,075
3	6	0,585	0,505	0,475	0,515	0,070	0,110	0,045	0,095
4	1	0,345	0,305	0,295	0,325	0,075	0,085	0,055	0,070
5	2	0,340	0,335	0,400	0,340	0,035	0,040	0,050	0,040
5	4	0,415	0,505	0,470	0,475	0,035	0,050	0,040	0,025
6	2	0,295	0,380	0,355	0,315	0,020	0,035	0,040	0,025
6	5	0,345	0,375	0,395	0,400	0,045	0,040	0,065	0,055
7	6	0,385	0,485	0,475	0,475	0,050	0,065	0,075	0,080
8	3	0,360	0,430	0,335	0,330	0,120	0,145	0,100	0,100
8	5	0,350	0,340	0,370	0,310	0,110	0,095	0,135	0,080
10	1	0,355	0,395	0,380	0,375	0,035	0,075	0,055	0,035
10	5	0,405	0,345	0,390	0,365	0,045	0,035	0,055	0,055
12	1	0,625	0,555	0,570	0,485	0,105	0,040	0,100	0,040
12	6	0,515	0,555	0,590	0,475	0,045	0,040	0,065	0,030

Legenda:

VOL.: voluntário

L.: local de aplicação, conforme aleatorização

CUTO M1: deformação final ou extensibilidade máxima (UA – unidades arbitrárias)

CUTO M2: deformação resultante em comparação com o valor inicial (UA – unidades arbitrárias).

t0: tempo zero, anterior à aplicação da amostra

t45, t90 e t180: medidas obtidas 45, 90 e 180 minutos transcorridos após a aplicação da amostra, respectivamente.

Considerando os resultados obtidos a partir das aplicações nos locais descritos nas **Tabelas 19 a 26**, observou-se que dois voluntários, denominados **1 e 11**, foram excluídos do estudo, sendo substituídos pelo voluntário **12**, pois apresentaram dermatite atópica após a retirada da máscara facial *peel off* dos locais de aplicação e foram substituídos para que as manifestações não causassem interferência nas avaliações instrumentais. As **Figuras 22 e 23** apresentam as imagens das reações dos voluntários à máscara facial, contendo ou não extrato de soja fermentado.

A manifestação foi mais intensa, em ambos os voluntários, nos locais de aplicação da base cosmética de máscara facial *peel off*, sem extrato de soja fermentado e foi ausente quando do uso da emulsão. Esta resposta indicou que o provável causador da reação foi um componente da base de máscara facial *peel off*, e não do extrato de soja fermentado ou da emulsão. Considerando que todos os componentes têm seu uso autorizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as matérias-primas apresentavam-se dentro do prazo de validade, atribui-se o fato ao conservante que possui iodo em sua formulação, uma vez que existem relatos na literatura de reações adversas ao uso tópico de substâncias derivadas do iodo (OISO *et al.*, 2006; TOMINAGA *et al.*, 2000; WEINBERG *et al.*, 2003). Esta reação foi isolada, uma vez que, mesmo possuindo iodo em sua composição, o conservante é autorizado pela ANVISA para utilização em cosméticos e sua concentração na base de máscara facial *peel off* estava cerca de três vezes abaixo do limite máximo permitido legalmente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2000; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001).

É importante a realização de um estudo sobre os componentes da formulação de máscara facial *peel off* que poderiam causar a resposta de reação de hipersensibilidade registrada no ensaio clínico, realizando testes de segurança, a fim de garantir a segurança de uso do produto. Somente após a conclusão destes testes é que a formulação poderá ser disponibilizada para comercialização e uso.

Figura 22. Fotografias das manifestações (dermatite atópica) dos voluntários após aplicação e retirada da formulação de máscara facial *peel off* sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Os pontos azuis delimitam a área de aplicação do produto.

Figura 23. Fotografias das manifestações (dermatite atópica) dos voluntários após aplicação e retirada da formulação de máscara facial *peel off* com extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. Os pontos azuis delimitam a área de aplicação do produto.

3.2 Análise estatística dos dados

Os valores obtidos nos testes clínicos para a avaliação instrumental foram avaliados estatisticamente e, em seguida, interpretados.

As **Tabelas 27 a 35** apresentam os resultados estatísticos obtidos a partir das variáveis **extrato**, **tempo** e **produto**. A variável **extrato** avaliou o impacto da presença ou ausência do extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* nas medidas instrumentais; os valores referentes ao **tempo** avaliaram a influência do tempo, em um estudo cinético, nas medidas realizadas; e a variável **produto** referiu-se aos valores obtidos para **MS** (base de máscara facial *peel off*), **MC** (máscara facial *peel off* contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*), **ES** (base cosmética da emulsão óleo em água) e **EC** (emulsão óleo em água contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*), isoladamente. Todas as variáveis foram avaliadas separadamente e, também, por cruzamentos, como das variáveis **extrato x tempo**, por exemplo, avaliou-se a influência nas medidas instrumentais na presença ou ausência do extrato de soja, nos diferentes períodos de tempo avaliados neste estudo cinético, não importando qual tipo de formulação, se máscara *peel-off* ou emulsão.

As **Figuras 24 a 31** apresentam os gráficos obtidos após o tratamento estatístico para as medidas realizadas, conforme os tempos definidos para a coleta dos dados (0, 45, 90 e 180 minutos).

3.2.1 Efeito na firmeza e elasticidade da pele

O tratamento dos dados estatísticos para **M1** (deformação final ou extensibilidade máxima) está descrito na **Tabela 27**.

Tabela 27. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para M1 (deformação final ou extensibilidade máxima).

Efeito	Graus de liberdade	Valor F	P > F
Extrato	1	0,20	0,6550
Tempo	2	4,60	0,0113
Interação Extrato / Tempo	2	0,18	0,8393
Produto	1	0,28	0,5965
Interação Extrato / Produto	1	3,61	0,0591
Interação Produto / Tempo	2	0,47	0,6259
Interação Extrato/ Produto/ Tempo	2	1,36	0,2598

Conforme observado na **Tabela 27**, foi obtido um valor de **P > F** inferior a 0,05 para o efeito do **tempo**, indicando uma significância ao nível de 5% (ou a um nível de confiança de 95%). Associado à diminuição dos valores de **M1** de acordo com o decorrer do tempo em relação a t0 (início), evidenciada nos gráficos das **Figuras 24 e 25**, este resultado indicou um aumento da firmeza cutânea, em função do tempo, para todas as formulações avaliadas (bases cosméticas da emulsão óleo em água e máscara facial e formulações de emulsão e máscara facial contendo extrato de soja fermentado). No entanto, considerando que os demais efeitos foram superiores a 0,05, não foi observada uma diferença significativa no aumento da firmeza cutânea quando comparado ao uso da máscara facial ou da emulsão, assim como não houve diferença significativa no uso de formulações contendo extrato de soja fermentado para aquelas onde o extrato não está presente.

Adicionalmente aos efeitos obtidos com o tratamento estatístico, foi realizada a comparação do nível de significância entre os diferentes valores de tempo. Conforme os resultados apresentados na **Tabela 28**, observou-se que ocorreu diferença significativa (menor que 0.05) entre os tempos T45 e T180, demonstrado pelo valor **0,009**. Os resultados sugeriram que o aumento da firmeza é dependente do tempo, sendo menor logo após a aplicação. Este resultado é válido para as quatro preparações avaliadas. Da mesma forma, esta diferença não foi significativa considerando os efeitos **produto e extrato**.

Figura 24. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M1** (deformação final ou extensibilidade máxima) em relação ao tempo para as formulações de *emulsão*, contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

Figura 25. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M1** (deformação final ou extensibilidade máxima) em relação ao tempo para as formulações de *máscara facial* contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

Tabela 28. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação das preparações produtos para **M1**, com os respectivos níveis de significância (deformação final ou extensibilidade máxima).

Tempos	Nível de significância
T45 X T90	0,521
T45 X T180	0,009
T90 X T180	0,138

Os gráficos apresentados nas **Figuras 24 e 25** permitiram afirmar que ocorreu a tendência de diminuição do valor de **M1** com o decorrer do tempo, para todas as preparações cosméticas avaliadas e, conseqüentemente, a tendência de aumento da firmeza cutânea. Como no estudo cinético os valores obtidos do tratamento estatístico não apresentaram uma diferença significativa para dar suporte a tal afirmação, a realização de um posterior estudo a longa duração poderá comprovar se a tendência observada nos gráficos é realmente significativa.

O tratamento estatístico dos dados para **M2** (deformação resultante em comparação com o valor inicial) está descrito na **Tabela 29**.

Tabela 29. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para M2 (deformação resultante em comparação com o valor inicial).

Efeito	Graus de liberdade	Valor F	P > F
Extrato	1	1,28	0,2604
Tempo	2	0,79	0,4549
Interação Extrato / Tempo	2	0,09	0,9127
Produto	1	0,05	0,8235
Interação Extrato / Produto	1	1,60	0,2077
Interação Produto / Tempo	2	3,67	0,0275
Interação Extrato/ Produto/ Tempo	2	0,15	0,8604

Conforme observado na **Tabela 29**, foi obtido um valor de **P > F** inferior a 0,05 para o efeito **produto X tempo**, indicando uma significância ao nível de 5% (ou a um nível de confiança de 95%). Associado à diminuição dos valores de **M2** de acordo com tempo em relação a t0 (início), evidenciada nos gráficos das **Figuras 26 e 27**, os resultados obtidos indicaram um aumento da elasticidade para as formulações de emulsão, com ou sem extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*. No entanto, observou-se que, apesar da diferença detectada para os valores da emulsão ser estatisticamente significativa em relação aos valores observados para a máscara, não houve diferença absoluta significativa entre os valores da estimativa, evidenciada pela pequena variação dentro da escala numérica no eixo y (estimativa).

Em função dos resultados obtidos, pode-se afirmar que não ocorreu diferença significativa entre as formulações quanto à capacidade de promoção do aumento da elasticidade da pele.

Figura 26. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M2** (deformação resultante em comparação com o valor inicial) em relação ao tempo para as formulações de emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

Figura 27. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de **M2** (deformação resultante em comparação com o valor inicial) em relação ao tempo para as formulações de máscara facial contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

Como fora discutido anteriormente para os valores de **M1**, os gráficos apresentados nas **Figuras 26 e 27** permitiram afirmar que ocorreu a tendência de diminuição do valor de **M2** com o decorrer do tempo para as preparações de emulsão e, conseqüentemente, a tendência de aumento da elasticidade cutânea.

De acordo com a literatura, análises do aumento da elasticidade e firmeza da pele induzida por produtos tópicos, incluindo substâncias ativas (BARBA *et al.*, 2008), indicaram alterações nas propriedades mecânicas da pele. Por outro lado, resultados da avaliação de emulsões óleo em água contendo ou não nanopartículas lipídicas demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações no aumento da elasticidade e firmeza da pele (MÜLLER *et al.*, 2003). Considerando os diferentes resultados obtidos em estudos da literatura e que, no estudo cinético realizado nesta pesquisa, os valores obtidos a partir do tratamento estatístico não apresentaram diferença significativa. Seria recomendável a realização de um estudo posterior, a longo prazo, para comprovar se a tendência observada nos gráficos é realmente significativa, ou seja, se as preparações de emulsão testadas são mais eficazes na promoção do aumento da elasticidade cutânea que as formulações de máscara facial *peel off* avaliadas.

3.2.2 Efeito da perda de água transepidermica

O tratamento dos dados estatísticos para TEWL (perda de água transepidermica) está descrito na **Tabela 30**.

Tabela 30. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para TEWL (perda de água transepidermica).

Efeito	Graus de liberdade	Valor F	P > F
Extrato	1	0,21	0,6490
Tempo	2	8,50	0,0003
Interação Extrato / Tempo	2	0,64	0,5361
Produto	1	0,30	0,5847
Interação Extrato / Produto	1	0,00	0,9457
Interação Produto / Tempo	2	1,20	0,3029
Interação Extrato/ Produto/ Tempo	2	0,17	0,8432

Conforme observado na **Tabela 30**, obteve-se um valor de **P > F** inferior a 0,05 para o **Efeito Tempo**, indicando uma significância ao nível de 5% (ou a um nível de confiança de 95%). Associado à diminuição dos valores de TEWL de acordo com tempo em relação a T0, evidenciada nos gráficos da **Figura 28 e 29**, este resultado indicou uma diminuição da perda de água transepidermica, para todas as formulações. No entanto, considerando que os demais efeitos foram superiores a 0,05; não foi observada uma diferença significativa no aumento da perda de água transepidermica quando comparado o uso da máscara facial ou da emulsão, assim como não houve diferença significativa no uso de formulações contendo extrato de soja fermentado para aquelas onde o extrato não está presente.

Adicionalmente aos efeitos obtidos com o tratamento estatístico, foi realizada a comparação do nível de significância entre os diferentes tempos. Conforme os resultados apresentados na **Tabela 31**, observando-se que houve diferenças significativas (menor que 5%) entre os tempos T45 e T90 e entre os tempos T90 e T180, demonstrados pelos valores **0,003** e **0,001**. Os valores sugerem, portanto, que

a diminuição da perda de água transepidérmica é dependente do tempo, sendo maior no período intermediário à aplicação (T90) e menor nos períodos iniciais e finais à aplicação (T45 e T180). Da mesma forma, esta diferença não é significativa considerando os **Efeitos Produto e Extrato**.

Tanto na formulação da emulsão óleo em água quanto na formulação de máscara facial *peel off* são encontrados componentes que alteram a estrutura do estrato córneo, como glicerol e propilenoglicol, penetrando na epiderme (BRINKMANN *et al.*, 2005). Sabe-se, também que os polióis são altamente higroscópicos, uma vez que formam ligações de hidrogênio com a água (COHEN *et al.*, 1993), promovendo aumento da concentração de água na pele (SAGIV *et al.*, 2003), além de maciez e emoliência (BETTINGER *et al.*, 1999). Desta forma, era esperado uma diminuição da perda de água transepidérmica pelo aumento da quantidade de água na pele devido à presença de polióis em ambas formulações.

FLUHR *et al.* (1999) descreveram a função do glicerol, um dos componentes da máscara facial, em agir não somente como umectante, mas também como promotor de reorganização do estrato córneo após a indução da escamação da pele por meio de processos físicos ou químicos. Os resultados apontaram para a diminuição da perda de água transepidérmica ocasionada pela reorganização do estrato córneo, cerca de 72 horas após aplicações repetidas de glicerol, seguida de oclusão por meio de filmes de polipropileno, sistema semelhante ao da máscara facial *peel off*.

BATT *et al.* (1986) descreveram a diminuição da perda de água transepidérmica utilizando filmes de polietileno sobre a pele, como supressores da perda de água para o ambiente. Efeito semelhante seria observado na máscara facial *peel off*, ocasionado pela formação do filme de álcool polivinílico após a secagem da preparação. No entanto, pela provável oclusão provocada pela máscara facial *peel off* (BABY *et al.*, 2004; DeNAVERRE, 1975), era esperada uma diferença significativa entre os efeitos provocados pela máscara facial e pela emulsão. Uma vez que foi observada a diminuição na perda de água transepidérmica para todas as preparações, mas não foi observada uma diferença entre formulações, supõe-se que o efeito de oclusão da máscara não foi capaz provocar diminuição da perda de água transepidérmica de forma significativa, quando comparada a emulsão óleo em água, em um estudo cinético, de curta duração – inferior a 24 horas.

Da mesma forma, a ausência de diferença significativa da perda de água transepidérmica entre as formulações contendo o extrato de soja para suas respectivas bases cosméticas indicou ausência da ação dos componentes do extrato, associados às preparações em diminuir a perda de água transepidérmica em um estudo cinético de curta duração.

Tabela 31. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação dos produtos para TEWL (perda de água transepidérmica), com os respectivos níveis de significância.

Tempos	Nível de significância
T45 X T90	0,003
T45 X T180	0,917
T90 X T180	0,001

Figura 28. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de TEWL (perda de água transepidérmica) em relação ao tempo para as formulações de emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

Figura 29. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de TEWL (perda de água transepidérmica) em relação ao tempo para as formulações de máscara facial contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

3.2.3 Efeito do aumento da hidratação das camadas superiores da pele

O tratamento dos dados estatísticos para CW (hidratação das camadas superiores da pele) está descrito na **Tabela 32**.

Tabela 32. Tratamento estatístico obtido dos valores mensurados para CW (hidratação das camadas superiores da pele).

Efeito	Graus de liberdade	Valor F	P > F
Extrato	1	2,78	0,0975
Tempo	2	5,04	0,0075
Interação Extrato / Tempo	2	0,75	0,4744
Produto	1	27,15	< 0,0001
Interação Extrato / Produto	1	0,26	0,6099
Interação Produto / Tempo	2	1,93	0,1477
Interação Extrato/ Produto/ Tempo	2	1,35	0,2628

Conforme observado na **Tabela 32**, foram obtidos valores de **P > F** inferior a 0,05 para os **Efeitos Tempo** e **Produto**, indicando uma significância ao nível de 5% (ou a um nível de confiança de 95%). Foi observado um aumento estatisticamente mais significativo na hidratação das camadas superiores da pele para as formulações de máscara facial que os valores obtidos para as formulações de emulsão, como pode ser visto na **Tabela 33** e nas **Figuras 30** e **31**. A presença ou ausência do extrato de soja fermentado não foram identificadas como fatores determinantes nas alterações das medidas obtidas pela Corneometria.

Adicionalmente aos efeitos obtidos com o tratamento estatístico, foi realizada a comparação do nível de significância entre os diferentes tempos. Conforme os resultados apresentados na **Tabela 33**, e observou-se que houve diferença significativa (maior que 95%) entre os tempos T45 e T90 e entre T45 e T180, demonstradas pelo valores **0,009** e **0,045**. O valor sugere, portanto, que o aumento da hidratação das camadas superiores da pele é significativamente maior imediatamente após a aplicação dos produtos (**T45**), sendo maior para as formulações de máscara facial.

A diferença entre a hidratação promovida pelos produtos, além de evidenciada visualmente pelos gráficos apresentados nas **Figuras 30** e **31**, pode ser

verificada de acordo com os dados da **Tabela 34**, onde as estimativas para as preparações de emulsão são significativamente inferiores às da máscara facial.

Tabela 33. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação dos produtos para CW (hidratação das camadas superiores da pele), com os respectivos níveis de significância.

Tempos	Nível de significância
T45 X T90	0,009
T45 X T180	0,045
T90 X T180	0,826

Tabela 34. Comparação entre os tempos de aplicação e avaliação dos produtos para CW (hidratação das camadas superiores da pele).

Produto	Estimativa
Emulsão com Extrato	37.168
Emulsão sem Extrato	35.898
Máscara com Extrato	41.388
Máscara sem Extrato	43.207

Associado aos resultados obtidos para a mensuração da perda de água transepidérmica, aqueles obtidos com o aumento da hidratação das camadas superiores da pele, empregando o Corneometer[®], demonstraram que, a curto prazo, a máscara facial *peel off* provocou o aumento da hidratação da pele pelo efeito oclusivo, sendo o único efeito responsável pelo aumento da concentração de água na epiderme causador da diferença observada, uma vez que o extrato de soja fermentado, presente em ambas formulações, não propiciou este aumento.

Figura 30. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de CW (hidratação das camadas superiores da pele) em relação ao tempo para as formulações de emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

Figura 31. Variação da estimativa – após tratamento estatístico dos dados brutos – do valor de CW (hidratação das camadas superiores da pele) em relação ao tempo para as formulações de máscara facial contendo ou não extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* (com e sem, respectivamente).

MAIBACH *et al.* (1998) investigaram a variação de parâmetros como pH da superfície epitelial, perda de água transepidérmica, temperatura e hidratação do estrato córneo. A determinação da perda de água transepidérmica e da hidratação do estrato córneo foram determinados por meio de medidas instrumentas, utilizando o Tewameter[®] TM 210 e o Coneometer[®] CM 820, respectivamente. Os resultados indicaram que a perda de água através da pele segue uma variação circadiana, sofrendo variações ao longo do dia. Por outro lado, em um intervalo de 24 horas, não foi verificada variação significativa da hidratação da pele. Tais resultados suportam a observação do aumento significativo de hidratação da pele provocado pelas preparações de máscara facial *peel off*, em detrimento das formulações de emulsão, ao mesmo tempo que justificaram a ausência de diferença significativa entre os resultados de perda de água transepidérmica das formulações durante um estudo de curta duração.

CAMPOS *et al.* (2006) avaliaram a capacidade de formulações de bases autoemulsionantes contendo ou não extrato de *Aloe vera* promoverem o aumento do teor de água nas camadas superficiais da pele, avaliada por medida da corneometria. O estudo demonstrou que houve aumento significativo do teor de água no estrato córneo após estudos de curto e longo-prazo. Este resultado, associado aos resultados de hidratação produzida por oclusão com filmes poliméricos (FLUHR *et al.*, 1999), reforçaram o efeito hidratante promovido pela oclusão das máscaras faciais *peel off* em relação às formulações de emulsão em estudos a curto prazo, associado à presença de glicerol, um agente umectante.

A presença ou ausência do extrato de soja fermentado nas formulações não provocou um aumento significativo na hidratação da pele, indicando ineficácia dos constituintes do extrato de promover hidratação da pele em um estudo de curta duração.

Devem ser realizados estudos a longo prazo com a finalidade de confirmar as tendências de aumento da elasticidade da pele, firmeza cutânea e perda de água transepidérmica e para verificar se o efeitos de hidratação das camadas superiores da pele são mantidos em períodos maiores que aqueles avaliados no estudo cinético. Além disso, o estudo a longo prazo teria a finalidade de comprovar se há ação do extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale* nas variáveis analisadas em períodos de maior contato do extrato com a pele e/ou maior frequência de uso, o que não fora observado no estudo cinético.

Finalmente, em relação à pesquisa realizada neste projeto, são ressaltadas as constatações a seguir sumarizadas, as quais poderão conduzir a novas perspectivas no estudo:

- A formulação **F35/17G** de máscara facial *peel off* contendo extrato de soja fermentado por *Bifidobacterium animale*, caracterizada basicamente por conter 17% p/p de álcool polivinílico e 0,5% p/p de goma guar e selecionada a partir das 36 bases, apresentou-se estável quanto às suas características organolépticas, valor de pH e de viscosidade durante os Estudos de Estabilidade Preliminar e Acelerada, sendo selecionada para a realização dos ensaios clínicos.
- Foi desenvolvido e padronizado um novo método para determinação do tempo de secagem *in vitro* de formulações de máscaras faciais *peel off*. A formulação **F35/17G** apresentou desempenho satisfatório, com tempo de secagem igual ou inferior a 30 minutos e superior a 10 minutos, considerado ideal para tais formulações.
- A emulsão contendo ou não extrato de soja fermentado também apresentou resultados satisfatórios durante os Estudos de Estabilidade Preliminar e Acelerada, demonstrando ser uma formulação apta à utilização nos testes clínicos para comparação de seus efeitos aos da máscara facial *peel off*.
- Os resultados dos testes de firmeza da pele comprovaram que todas as formulações testadas de máscara facial *peel off* e emulsão apresentaram desempenho satisfatório no aumento da firmeza cutânea, confirmado pelo tratamento estatístico dos dados referentes aos valores de **M1**, não permitindo inferir um efeito significativo relacionado especificamente à aplicação da máscara ou da emulsão ou à presença/ausência do extrato de soja fermentado no estudo cinético realizado.
- Na determinação da elasticidade da pele, a análise estatística do valor de **M2** comprovou que nenhuma das formulações testadas apresentou efeito significativo sobre a elasticidade cutânea. Portanto, a utilização da máscara em detrimento da emulsão, contendo ou não extrato de soja fermentado, não possui vantagens no

uso, considerando-se os efeitos na elasticidade e firmeza cutânea obtidos no estudo cinético realizado.

- Os resultados dos testes de perda de água transepidérmica comprovaram que todas as formulações testadas apresentaram desempenho similar. Portanto, a utilização da máscara em detrimento da emulsão, contendo ou não extrato de soja fermentado, não possui vantagens no uso, considerando-se os efeitos na perda de água transepidérmica neste estudo cinético.

- Os resultados da avaliação do efeito das formulações na hidratação das camadas superiores da pele comprovaram que a máscara facial é um promotor de hidratação da pele mais eficiente que a emulsão. Esta eficiência não está relacionada ao extrato de soja fermentado, e sim à base, uma vez que os resultados para as formulações contendo ou não o extrato são estatisticamente similares. Portanto, por meio deste estudo, comprovou-se, a curto prazo, que as máscaras faciais exercem aumento na hidratação da pele, provavelmente relacionado ao efeito oclusivo.

VI CONCLUSÕES

- Foram desenvolvidas formulações de máscaras faciais *peel off* e emulsões óleo em água contendo extrato de soja fermentado pelo *Bifidobacterium animale*, sendo que as de melhor desempenho nos estudos de estabilidade foram submetidas à avaliação instrumental para determinar sua influência no efeito hidratante, tensor e na perda de água transepidérmica das camadas superiores da pele.
- O método de determinação do tempo de secagem *in vitro* de máscaras faciais *peel off* permitiu avaliar as formulações de melhor desempenho.
- Os Estudos de Estabilidade Preliminar e Estabilidade Acelerada das bases cosméticas e formulações permitiram, aliados ao método de determinação do tempo de secagem, selecionar a formulação F35/17G de máscara facial como a de melhor desempenho para os ensaios clínicos, assim como a formulação de emulsão desenvolvida.
- Diante dos resultados da avaliação do efeito hidratante, tensor e na perda de água transepidérmica das bases de máscara facial *peel off* e emulsão óleo em água sem adição do extrato de soja fermentado e adicionado deste componente ativo, comprova-se que a máscara facial *peel-off* desenvolvida e testada é um promotor de hidratação mais eficiente que a formulação de emulsão.

.

VII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁBACO VITAL. Matérias Primas. Materias Grasas. Emolientes. **Decyl Oleate**.

Disponível em:

<http://www.abacovital.com/fichastecnicas/grasas/emolientes/decyloleate.htm>.

Acesso em: 20 out. 2007.

ABOISSA: ÓLEOS VEGETAIS. **Palmitato de isopropila**. Disponível em:

<http://www.aboissa.com.br/informativos/espec/hcc/palmitatoisopropila.htm>.

Acesso em: 23 nov. 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. v.1, 45p. (Séries

Temáticas: Cosméticos) (Série Qualidade, 1). Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/cosmeticos.pdf>. Acesso em: 13

mar. 2006.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. VisaLegis.

Resolução n.196, de 10 de outubro de 1996. Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos.

Disponível em: [http://e-](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=663&word=)

[legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=663&word=](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=663&word=). Acesso em: 20

dez. 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. VisaLegis.

Resolução n.162, de 11 de Setembro de 2001. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece a lista de substâncias de ação conservante para

produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Disponível em: [http://e-](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=265&word=)

[legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=265&word=](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=265&word=). Acesso em: 20 fev.

2008.

NOTA: as referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR 6023/2002 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. VisaLegis. **Resolução n.79, de 28 de Agosto de 2000.** A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece a definição e classificação de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e outros, aprova normas de rotulagem de produtos, atualiza lista de conservantes, corantes, filtros UV permitidos e lista restritiva e lista de substâncias de uso proibido. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18300&word=>. Acesso em: 20 fev. 2008.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN Jr., L.V. **Farmacotécnica:** formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. São Paulo: Premier, 2000. p.304-307.

ARANHA, I.; LUCAS, E. Poli (álcool vinílico) modificado com cadeias hidrocarbônicas: avaliação do balanço hidrófilo/lipófilo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.11, n.4, p.174-181, 2001.

AUBIN, G. Experimentação biológica dos produtos cosméticos. In: PRUNIÉRAS, M., dir. **Manual de cosmetologia dermatológica.** 2.ed. São Paulo: Organização Andrei, 1994. p.233-243, 238-303.

BABY, A.R. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações cosméticas anticelulíticas contendo o extrato comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Bentham, padronizado em flavonóides totais.** São Paulo, 2005. 159p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

BABY, A.R.; MIGLIATO, K.F.; MACIEL, C.P. M.; ZAGUE, V.; PINTO, C.A.S.O.; SALGADO, H. R. N.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R. Accelerated chemical stability data of O/W fluid emulsions containig the extract of *Trichilia catigua* Adr. Juss. (and) *Ptychopetalum olacoides* Bentham. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.3, p.405-412, 2007.

- BABY, A.R.; ZAGUE, V.; MACIEL, C.P.M.; KANEKO, T.M.; CONSIGLIERI, V.O.; VELASCO, M.V.R. Development of cosmetic mask formulations. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.40, n.1, p.159-161, 2004.
- BARBA, C.; MÉNDEZ, S.; RODDICK-LANZILOTTA, A.; KELLY, R.; PARRA, J.L.; CODERCH, L.; Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolised keratin peptides and lipids derived from wool. **Skin Research and Technology**, v.14, n.2, p.243-248, 2008.
- BAREL, A.O.; CLARYS, P. Measurement of epidermal capacitance. In: SERUP, J.; JEMEC, B.E., eds. **Handbook of non-invasive methods and the skin**. Boca Raton, London: CRC Press, 1995. p.165-170.
- BAREL, A.O.; PAYE, M.; MAIBACH, H.I., eds. **Handbook of cosmetic science and technology**. New York: Marcel Dekker, 2001. p.19-27.
- BATT, M.D.; FAIRHURST, E. Hydration of the stratum corneum. **International Journal of Cosmetic Science**, v.8, n.6, p.253-264, 1986.
- BAUMANN, L.S.; LAZARUS, M.C. The use of cosmeceuticals moisturizers. **Dermatologic Therapy**, v.14, n.3, p.200-207, 2001.
- BERARDESCA, E.; ELSNER, P.; WILHELM, K.P.; MAIBACH, H.I., eds. **Bioengineering of the skin: methods and instrumentation**. Boca Raton: CRC Press, 1995. 141p. (CRC Series in Dermatology).
- BETTINGER, J.; GLOOR, M.; VOLLERT, A.; KLEESZ, P.; FLUHR, J.; GEHRING, W. Comparison of different non-invasive test methods with respect to the different moisturizers on skin. **Skin Research and Technology**, v.5, n.1, p.21-27, 1999.
- BONADEO, I. **Cosmética: ciência y tecnologia**. Madri: Editorial Ciência, 1982. p.86-89.

BRANDÃO, L. **Índex ABC**: Ingredientes para a indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. 2.ed. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 2000. 1071p.

BRASIL. Ministério Público Federal. Procuradoria Geral da República. Secretarias. Serviços Integrados à Saúde. Secretaria de Serviços Integrados à Saúde. Informações de Saúde. Atlas do Corpo Humano. **Os sentidos: tato**. Disponível em: <http://www.pgr.mpf.gov.br/pgr/saude/sa/tato.htm>. Acesso em: 5 jan. 2008.

BRINKMANN, I.; MULLER-GOYMANN, C.C. An attempt to clarify the influence of glycerol, propylene glycol, isopropyl myristate and a combination of propylene glycol and isopropyl myristate on human stratum corneum. **Pharmazie**, v.60, n.3, p.215-220, 2005.

CAMPOS, P.M.B.G.M.; DAL' BELO, S.E.; GASPAR, L.R. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing *Aloe vera* extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. **Skin Research and Technology**, v. 12, n.4, p. 241-246, 2006.

CHARLET, E. **Cosmética para farmacêuticos**: ciência y tecnologia. Zaragoza: Acribia, 1996. p.86-88.

CHEMYUNION. Matérias-Primas: Cosmética. Excipientes. Agentes de Consistência: **Uniox C**. Disponível em: <http://www.chemyunion.com.br/site/html/produtos/produto.aspx?Pais=17&Lang=1&M=Produtos&D=1500&F=10&S=5000&Prod=4948>. Acesso em: 20 out. 2007.

CHEMYUNION. Matérias-Primas: Cosmética. Excipientes. Agentes de Consistência: **Lactato de Miristila**. Disponível em: <http://www.chemyunion.com.br/site/html/produtos/produto.aspx?Pais=17&Lang=1&M=Produtos&D=1500&F=10&S=5026&Prod=4931>. Acesso em: 20 out. 2007.

CHIELLINI, E.; CORTI, A.; D'ANTONE, S.; SOLARO, R. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. **Progress in Polymer Science**, v.28, n.6, p.963-1014, 2003.

CHIEN, H.L.; HUANG, H.Y.; CHOU, C.C. Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v.23, n.8, p.772-778, 2006.

CLARIANT. **Ficha técnica de produto.** Disponível em: <http://fun.clariant.com/fun/internet.nsf/>. Acesso em: 20 fev. 2006.

CLARIANT. **Ficha técnica de produto.** Disponível em: [http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Taking_care_of_your_Sensory_Innovations_Aristoflex_2005.pdf/\\$FILE/Taking_care_of_your_Sensory_Innovations_Aristoflex_2005.pdf](http://fun.clariant.com/C125691A003596E5/vwLookupDownloads/Taking_care_of_your_Sensory_Innovations_Aristoflex_2005.pdf/$FILE/Taking_care_of_your_Sensory_Innovations_Aristoflex_2005.pdf). Acesso em: 08 set. 2007.

COHEN, S.; MARCUS, Y.; MIGRON, Y.; DIKSTEIN, S.; SHAFRAN, A. Waer sorption, binding and solubility of polyols. **Journal of the Chemical Society**, v.89, p.3271-3275, 1993.

COLIPA - THE EUROPEAN COSMETIC TOILETRY AND PERFUMARY ASSOCIATION. **Estrutura de Formulações Cosméticas** Disponível em: <http://www.colipa.com/site/index.cfm?SID=15588&OBJ=28453&back=1>. Acesso em: 20 fev. 2008.

CONTRERAS, M.J.F.; SORIANO, M.M.J.; FLORES, E.S. Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives. **Farmaco**, v.56, n.5/7, p.513-522, 2001.

COUTEAU, C.; COIFFARD, L.J.M.; SEBILLE-RIVAIN, V. Influence of excipients on moisturizing effect of urea. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.32, n.2, p.239-242, 2006.

CRODA. **Ficha técnica de produtos**. Disponível em: <http://www.croda.com.br/>.

Acesso em: 20 fev. 2006.

CRODA. **Ficha técnica de produtos**. Disponível em: <http://www.croda.com.br/>.

Acesso em: 22 out. 2007.

CUA, A.B.; WILHELM, K.P.; MAIBACH, H.I. Elastic properties of human skin: relation to age, sex and anatomical region. **Archives of Dermatological Research**, v.282, n.5, p.283-288, 1990.

DAVIS, H.M. Analysis of creams and lotions. In: NEWBURGER, S.H.; SENZEL, A.J. **Manual of cosmetic analysis**. 2.ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1977. p.32.

DeNAVERRE, M.G. Face masks. In: _____. **The chemistry and manufacture of cosmetics**. 2.ed. Orlando: Continental Press, 1975. v.3, p.421-441.

DOW CORNING. **Ficha técnica do silicone de copolímero glicol**. Disponível em: <http://www.dowcorning.com/applications/search/default.aspx?R=5502EN>. Acesso em: 20 fev. 2006.

DOW CORNING. Products: Product Finder. 5225C. **Dow Corning® 5225C Formulation AID**. Disponível em: <http://www.dowcorning.com/applications/search/default.aspx?R=1145EN&DCCSF=291EN>. Acesso em: 20 out. 2007.

DRAELOS, Z.D. **Cosméticos em dermatologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 1999. p.224-226.

EMBRAPA SOJA. **Soja na alimentação**. Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=23#5. Acesso em: 12 dez. 2007.

FAZENDA, J.M.R. **Tintas e vernizes**: ciência e tecnologia. 2.ed. São Paulo: ABRAFATI, 1993. v.1, p.665.

FITZPATRICK, T.B.; PATHAR, M.; PARRISH, J.A. Protection of human skin against the effects of the sunburn ultraviolet (290-320 nm). In: FITZPATRICK, T.B., ed. **Sunlight and man, normal and abnormal photobiological responses**. Tokyo: Etials, 1974.p.751-765.

FLUHR, J.W.; AKENGIN, A.; BORNKESSEL, A.; FUCHS, S.; PRAESSLER, J.; NORGAUER, J.; GRIESHABER, R.; KLEESZ, P.; ELSNER, P. Additive impairment of the barrier function by mechanical irritation, occlusion and sodium lauryl sulphate *in vivo*. **British Journal of Dermatology**, v.153, n.1, p.125-131, 2005.

FLUHR, J.W.; GLOOR, M.; LEHMANN, L.; LAZZERINI, S.; DISTANTE, F.; BERARDESCA, E. Glycerol accelerates recovery of barrier function *in vivo*. **Acta Demato-Venereologica**, v.79, n.6, p.418-421, 1999.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. Tegumento. In: _____. **Tratado de histologia em cores**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.253-266.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M.; BARBOSA, A.C.L. Influence of temperature, pH and ionic strength on the production of isoflavone rich-soy protein isolates. **Food Chemistry**, v.98, n.4, p.757-766, 2006.

HADGRAFT, J. Skin, the final frontier. **International Journal of Pharmaceutics**, v.224, n.1/2, p.1-18, 2001.

IPIRANGA. Ipiranga Química. Química Humana. **Ficha técnica do álcool polivinílico** **224**. Disponível em: <http://www.ipirangaquimica.com.br/icq2008/arquivos.php?tem=sim&nitem=64320005&chave=FISPQ> Acesso em: 20 fev. 2006.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**: texto e atlas. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.359-370.

KUMAR, T.M.P.; UMESH, H.M.; SHIVAKUMAR, H.G.; RAVI, V.; SIDDARAMAIAH. Feasibility of polyvinyl alcohol as a transdermal drug delivery system for terbutaline sulphate. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v.44, n.6, p.583-589, 2007.

LCW. **Ficha técnica de produtos**. Disponível em: www.lcwbrasil.com.br. Acesso em: 20 fev. 2006.

LIU, J., HOFFMANN, H.; Hydrogels in aqueous phases of polyvinylalcohol (PVA), surfactans and clay minerals. **Colloid and Polymer Science**, v.283, v.1, p.24-32, 2004.

LONZA. **Ficha técnica de produtos**. Disponível em: <http://www.lonza.com.br/pdf/GlydantPlusLiquid.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2006.

LUPO, M.P. Antioxidants and vitamins in cosmetics. **Clinics in Dermatology**, v.19, n.4, p.467-473, 2001.

LYOO, W.S.; SEO, S.I.; YEUM, J.H.; YOON, W.S.; JI, B.C.; KIM, B.S.; LEE, S.S.; KIM, B.C. Effect of degree of saponification on the rheological properties of syndiotactic Poly (vinyl alcohol)/ water solution. **Journal of Applied Polymer Science**, v.86, n.2, p.463-467, 2002.

MAIA, A. M.; BABY, A. R.; PINTO, C. A. S. O.; YASAKA, W. J.; SUENAGA, T. M.; KANEKO, T. M., VELASCO, M. V. R. Influence of sodium metabisulfite and glutathione on the stability of vitamin C in O/W emulsion and extemporaneous aqueous gel. **International Journal of Pharmaceutics**, v.322, n.2, p.130-135, 2006.

- MAIA, A.M. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações cosméticas contendo ácido ascórbico**. São Paulo, 2002. 117p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- MAGALHÃES, J. **Cosmetologia**. Rio de Janeiro: Rubio, 2000. p.82-159.
- MAJMUDAR, G.; SMITH, M. Técnicas de screening *in vitro* em dermatologia. **Cosmetics & Toiletries, Ed. Português**, v.10, n.3, p.44-49, 1998.
- MARTINDALE: the extra pharmacopoeia. London: The Pharmaceutical Press, 1989. p.1247.
- MARTINE, M.C.; CHIVOT, M.; PEYREFITTE, G. **Cosmetología**. Barcelona: Masson, 1995. p.81-85.
- MERCK index. 12.ed. Whitehouse Station, 1996. p. 4600.
- MORETTIN, P.A.; BUSSAB, W.O. **Estatística básica**. 5.ed. São Paulo: Saraiva, 2005. p.190-191.
- MÜLLER, R. H.; WISSING, S. A. The influence of solid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity – an in vivo study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.56, n.1, p.67-72, 2003.
- MIYAZAKI, K.; HANAMIZU, T.; LIZUKA, R.; CHIBA, K. Genistein and daidzein stimulate hyaluronic acid production in transformed human keratinocyte culture and hairless mouse skin. **Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology**, v.15, n.3, p.175-183, 2002.
- NOKHODCHI, A.; JELVEHGARI, M.; SIAHI-SHADBAD, M.R.; AZARMI, S.; MARTIN, G.P. The microsphere delivery system of benzoyl peroxide: preparation, characterization and release studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v.308, n.1/2, p.124-132, 2006.

- OH, C.H.; YOON, H.S.; BAIK, S.H. Quantitative measurement of desquamation and skin elasticity in diabetic patients. **Skin Research and Technology**, v.8, n.4, p.250-254, 2002.
- OISO, N.; FUKAI, K.; ISHII, M. Allergic contact dermatitis from iodine in a topical ointment. **Contact Dermatitis**, v.54, n.6, p.347-348, 2006.
- ORIENTI, I.; Di PIETRA, A.; LUPPI, B.; ZECCHI, V. Crosslinked polyvinylalcohol hydrogels as vehicles for hydrophilic drugs. **Archiv der Pharmazie**, v.333, n.12, p.421-424, 2000.
- OTIENO, D.O.; ASHTON, J.F.; SHAH, N.P. Evaluation of enzymic potential for biotransformation of isoflavone phytoestrogen in soymilk by *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v.39, n.4, p.394–407, 2006.
- PARIS. CLUB DES CRATEURS DE BEAUTÉ. Figura de máscara facial Disponível em:
http://www.ccbparis.fr/fr/fr/skincare/index_prod.aspx?prdcod=P10652&CatCode=G0_01%5EG1_01_50%5EG2_01_50_50. Acesso em: 05 jan. 2008.
- PEYREFITTE, G.; MARTINE, M.C.; CHIVOT, M. **Estética-cosmética**: cosmetologia, biologia geral, biologia da pele. São Paulo: Organização Andrei, 1998. 507p.
- PINTO, C.A.S.O. **Estudo comparativo da estabilidade de formulações cosméticas contendo papaína livre e modificada**. São Paulo, 2005. 128p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- PONGSAWATMANIT, R.; SRIJUNTHONGSIRI, S. Influence of xanthan gum on rheological properties and freeze-thaw stability of tapioca starch. **Journal of Food Engineering**. v.88, n.1, p.137-143, 2008.

- POUCHER, W.A.; JOUHAR, A.J. **Poucher's perfumes, cosmetics and soaps**. 9.ed. London, New York: Chapman and Hall, 1991. 751p.
- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e farmácia galénica**. Porto: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992. p.998-1001.
- PRAKASH, D.; UPADHYAY, G.; SINGH, B.N.; SINGH, H.B. Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v.104, n.2, p.783-790, 2007.
- RAWLINGS, A.V.; HARDING, C.R. Moisturization and skin barrier function. **Dermatologic Therapy**, v.17, suppl.1, p.43-48, 2004.
- SAGIV, A.; MARCUS, Y. The connection between *in vitro* water up-take and *in vivo* skin moisturization. **Skin Research and Technology**, v.9, n.4, p.306-311, 2003.
- SAS - BUSINESS INTELLIGENCE SOFTWARE AND PREDICTIVE ANALYTICS. Descrição do SAS/STAT® Disponível em: <http://www.sas.com/technologies/analytics/statistics/stat/index.html>. Acesso em: 20 mar. 2008.
- SCOTTI, L.; VELASCO, M.V.R. **Envelhecimento cutâneo à luz da cosmetologia: estudo do envelhecimento cutâneo e da eficácia das substâncias ativas empregadas na prevenção**. São Paulo: Tecnopress, 2003. 115p.
- SERUP, J.; O'GOSHI, K. Inter-instrumental variation of skin capacitance measured with the Corneometer®. **Skin Research and Technology**, v.11, n.2, p.107-109, 2005.
- SHAH, V.P.; MAIBACH, H.I., eds. **Topical drug bioavailability, bioequivalence and penetration**. New York, London: Plenum Press, 1993. 453p.

SHIMIZU, H.; TOMITA, Y.; AKAYAMA, M. Stratum corneum hydration and flexibility are useful parameters to indicate clinical severity of congenital ichthyosis. **Experimental Dermatology**, v.14, n.8, p.619-624, 2005.

SOUZA, M.S.M. Análise moderna de cosméticos comprova eficácia. **Química & Derivados**, v.379, p.42-51, 2000.

SPECIAL CHEM: INNOVATIONS & SOLUTIONS IN COSMETICS. **Ficha técnica de produto.** Disponível em: <http://www.specialchem4cosmetics.com/common/cos/services/ingredients/displayproduct.aspx?or=docindex&menu=true&id=2081>. Acesso em: 20 dez. 2007.

STATISTIKA. **Relatório de análise de resultados**: avaliação objetiva dos efeitos na elasticidade/firmeza, na barreira cutânea e na hidratação da pele de quatro produtos cosméticos em comparação sob condições normais de uso. Campinas: Statistika Consultoria, 2007. 14p.

SUPHANTHARIKA, M.; CHAISAWANG, M. Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological of cationic tapioca starch. **Carbohydrate Polymers**. v.61, n.3, p.288-295, 2005.

TOMINAGA, K.; NISHIOKA, K.; SEGUCHI, T.; YASUNO, H.; YAMAMOTO, T. The results of ingredient patch testing in contact dermatitis elicited by povidone-iodine preparations. **Contact Dermatitis** v.42, n.2, p.90-94, 2000.

TRAVERSA, E. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo papaína e avaliação da sua eficácia depilatória sobre o folículo piloso**. São Paulo, 2003. 160p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto. **Camadas da epiderme.** Disponível em: <http://www.forp.usp.br/mef/embriologia/Fotos/anexos/fig01.jpg>. Acesso em: 5 dez. 2007.

YOSIPOVITCH, G.; XIONG, G.L.; HAUS, E.; SACKETT-LUNDEEN, L.; ASHKENAZI, I.; MAIBACH, H. Time-dependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and skin temperature. **Journal of Investigative Dermatology** v.110, n.1, p.20-24, 1998.

WEI, H. Photoprotective action of isoflavone genistein: models, mechanisms, and relevance to clinical dermatology. **Journal of American Academy of Dermatology**, v.39, n.2, p.271-272, 1998.

WEINBERG, J. M.; TAYLOR, S. C.; SPANN, C. T.; Topical antimicrobial agents in dermatology. **Clinics in Dermatology**. v.21, n.1, p.70-77, 2003.

WILKINSON, J.B.; MOORE, R.J. Face packs and masks. In: WILKINSON, J.B., MOORE, R.J. **Harry's cosmetology**. 7.ed. London: Longman Group, 1982. p.276-284.

YAKULT COSMETICS. **Extrato de soja fermentado**. São Paulo, 2007. 1p. [Catálogo].

ZAGUE, V. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física e físico-química de máscaras faciais argilosas**. São Paulo, 2007. 160p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

VIII ANEXOS