

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS
E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS E TECNOLOGIAS

CARACTERIZAÇÃO, TRATAMENTO E VIABILIDADE DE
APLICAÇÃO DE ARGILAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS DE
EXTRAÇÃO DE AREIA NA ÁREA COSMÉTICA

Juliana da Silva Favero

Juliana da Silva Favero

**CARACTERIZAÇÃO, TRATAMENTO E VIABILIDADE DE
APLICAÇÃO DE ARGILAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS DE
EXTRAÇÃO DE AREIA NA ÁREA COSMÉTICA**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de mestre em Engenharia de Processos, orientado por Dra. Venina dos Santos e coorientado por Dra. Valeria Weiss Angeli.

Caxias do Sul, 2017

F273c Favero, Juliana da Silva

Caracterização, tratamento e viabilidade de aplicação de argilas provenientes de resíduos de extração de areia na área cosmética / Juliana da Silva Favero. – 2017.

116 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, 2017.

Orientação: Venina dos Santos.

Coorientação: Valeria Weiss Angeli.

1. argila. 2. descontaminação. 3. irritabilidade dérmica. 4. citotoxicidade. 5. cosméticos. I. Santos, Venina dos, orient. II. Angeli, Valeria Weiss, coorient. III. Título.

**“CARACTERIZAÇÃO, TRATAMENTO E VIABILIDADE DE
APLICAÇÃO DE ARGILAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS DE
EXTRAÇÃO DE AREIA NA ÁREA COSMÉTICA”**

Juliana da Silva Favero

Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos e Tecnologias, Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos e Produtos Industriais.

Caxias do Sul, 21 de fevereiro de 2017

Banca Examinadora:

Dra. Venina dos Santos – Orientadora
Universidade de Caxias do Sul

Dra. Valeria Weiss Angeli - Coorientadora
Universidade de Caxias do Sul

Dra. Cristiane de Bona da Silva
Universidade Federal de Santa Maria

Dra. Eliena Jonko Birriel
Universidade de Caxias do Sul

Dra. Mariana Roesch Ely
Universidade de Caxias do Sul

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que iluminou e guiou meus passos, em sua infinita sabedoria.

Agradeço aos meus pais, Adilo Favero e Eliane Favero e ao meu irmão Felipe Favero, pelo incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida, sempre acreditando no meu potencial. Obrigada pelo imenso carinho, atenção e amor.

Agradeço ao meu marido, Luciano Dal Pozzo, pela compreensão, apoio e incentivo para seguir em frente até a realização deste sonho.

À minha orientadora Dra. Venina dos Santos e minha coorientadora Dra. Valeria Weiss Angeli pela confiança, amizade, dedicação e empenho durante a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Materiais Cerâmicos, Laboratório de Difração de Raios X do Instituto de Geociências e Laboratório de Cosmetologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelas análises prestadas.

À professora Mariana Roesch Ely e à doutoranda Charlene Garcia pelo empenho e dedicação na realização dos testes *in vitro*.

Ao professor Dr. Diogo dos Santos Miron da Universidade Federal do Ceará pelas análises estatísticas.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela colaboração financeira para a realização deste projeto.

Às professoras Dra. Cristiane de Bona da Silva, Dra. Eliena Jonko Birriel e Dra. Mariana Roesch Ely por participarem da banca examinadora e pelas contribuições dadas a este trabalho.

Aos colegas de mestrado pela receptividade, momentos de descontração, amizade e conhecimento compartilhado, principalmente nas áreas em que não dominava.

À Universidade de Caxias do Sul, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias e seu coordenador professor Ademir Zattera pela estrutura cedida.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste sonho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1.	OBJETIVO GERAL	17
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1.	ARGILAS	18
3.1.1.	Definição e classificação das argilas	18
3.1.2.	Aplicabilidade das argilas	22
3.1.2.1.	Aplicação cosmética das argilas	24
3.2.	DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1.	COLETA DOS RESÍDUOS DE ARGILA	32
4.2.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS ARGILAS	33
4.2.1.	Análise química elementar	33
4.2.2.	Difração de raios X	33
4.2.3.	Distribuição do tamanho de partículas por análise granulométrica e determinação do tamanho de partículas por dispersão a laser	34
4.2.4.	Análise térmica	34
4.2.5.	Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier	35
4.2.6.	Avaliação da área superficial	35
4.2.7.	Avaliação da morfologia das argilas	35
4.3.	DETERMINAÇÃO DA CARGA MICROBIANA DAS ARGILAS	36
4.4.	MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO DAS ARGILAS	37
4.5.	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE IN VITRO DAS ARGILAS	37
4.5.1.	Preparação do extrato	37
4.5.2.	Avaliação da viabilidade celular em queratinócitos	38
4.5.3.	Ensaio de alteração morfológica	38
4.5.4.	Análise estatística	39
4.6.	AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DA ASSOCIAÇÃO DAS ARGILAS EM VEÍCULOS HIDROFÍLICOS	39
4.6.1.	Preparação das formulações contendo argilas	39
4.6.2.	Caracterização físico-química e avaliação da estabilidade das formulações	41
4.6.2.1.	Determinação das características organolépticas	41
4.6.2.2.	Determinação do pH	41
4.6.2.3.	Determinação do índice de acidez do óleo de macadâmia	42
4.6.2.4.	Determinação da espalhabilidade	42
4.6.2.5.	Avaliação da viscosidade e comportamento reológico	43
4.6.2.6.	Centrifugação	43
4.6.2.7.	Determinação do diâmetro de partículas/gotículas	44
4.6.3.	Análise estatística do pH, espalhabilidade, viscosidade e diâmetro de partículas/gotículas	44
4.7.	AVALIAÇÃO DA IRRITABILIDADE DÉRMICA IN VIVO DAS FORMULAÇÕES DE GEL HIDROFÍLICO	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS ARGILAS	47
5.1.1.	Análise química elementar	47
5.1.2.	Difração de raios X	48

5.1.3.	Distribuição do tamanho de partículas por análise granulométrica e determinação do tamanho de partículas por dispersão a laser	49
5.1.4.	Análise térmica	51
5.1.5.	Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	52
5.1.6.	Avaliação da área superficial	54
5.1.7.	Microscopia Eletrônica de Varredura	55
5.2.	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ARGILAS.....	57
5.3.	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE IN VITRO DAS ARGILAS	61
5.4.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES.....	67
5.4.1.	Determinação das características organolépticas	67
5.4.2.	Determinação de pH	68
5.4.3.	Determinação do índice de acidez do óleo de macadâmia.....	71
5.4.4.	Determinação da espalhabilidade	71
5.4.5.	Avaliação da viscosidade e comportamento reológico.....	76
5.4.6.	Centrifugação	83
5.4.7.	Diâmetro de partículas/gotículas	83
5.5.	AVALIAÇÃO DA IRRITABILIDADE DÉRMICA IN VIVO DAS FORMULAÇÕES EM GEL HIDROFÍLICO.....	90
6	CONCLUSÃO	92
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	93
	REFERÊNCIAS	94
	ANEXOS.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da emulsão não iônica.....	40
Tabela 2. Composição do gel	40
Tabela 3. Composição química das argilas I, II, III e IV	47
Tabela 4. Distribuição granulométrica das amostras de argila na faixa granulométrica ≤ 180 μm	50
Tabela 5. Frequências de FTIR e atribuição em amostras de argila.	54
Tabela 6. Avaliação da área superficial das argilas.	54
Tabela 7. Contagem de microrganismos da biocarga inicial das amostras de argila.....	57
Tabela 8. Contagem de microrganismos das amostras de argila logo após a descontaminação com álcool 70 °GL e calor seco e após 6 meses	58
Tabela 9. Contagem de microrganismos das amostras de argila logo após a descontaminação com calor seco e após 6 meses	59
Tabela 10. Determinação de pH das amostras de emulsões e géis	69
Tabela 11. Resumo dos resultados da Lei das Potências	80
Tabela 12. Diâmetro de partículas das formulações de géis e emulsões contendo argilas.	84

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Aplicação cosmética das argilas de acordo com sua cor e composição.	21
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura em camadas a) octaédricas e b) tetraédricas dos argilominerais.	19
Figura 2. Estrutura cristalinas dos argilominerais em camadas 1:1 e 2:1.	20
Figura 3. Artigos publicados relacionados a argila e cosméticos.	23
Figura 4. Estrutura cristalina da caulinita.	26
Figura 5. Estrutura cristalina das esmectitas.	27
Figura 6. Esquema representativo de um tensoativo com a) cabeça polar e apolar b) formação de uma micela com o tensoativo. Fonte: Adaptado de Previdello et al., 2006.	28
Figura 7. Esquema representativo de uma emulsão a) água em óleo (A/O) e b) óleo em água (O/A).	28
Figura 8. Esquema representativo da estrutura tridimensional dos géis hidrofilicos.	29
Figura 9. Aspecto das argilas I, II, III e IV in natura.	32
Figura 10. Localização da extração das argilas I, II, III e IV.	32
Figura 11. DRX das amostras orientadas: natural e calcinada a 550°C, a) argila I, b) argila II, c) argila III e d) argila IV.	49
Figura 12. Distribuição do tamanho de partículas das argilas I, II, III e IV por análise granulométrica realizada por tamisação.	50
Figura 13. Curvas termogravimétricas das amostras: a) análise termogravimétrica e b) análise térmica diferencial.	51
Figura 14. Espectro infravermelho para as amostras de argila (I, II, III e IV): a) região entre 4000 e 3300 cm^{-1} ; b) região entre 1900 e 400 cm^{-1}	53
Figura 15. Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras a) argila I; a') exemplo de argila contendo caulinita; b) argila II; b') exemplo de argila contendo haloisita; c) argila III; c') exemplo de argila contendo esmectita; d) argila IV; d') exemplo de argila contendo ilita.	56
Figura 16. Teste microbiológico de bactérias mesófilas (a) antes e (b) após a descontaminação com álcool 70 °GL e calor seco.	59
Figura 17. Efeito citotóxico dos extratos de argilas em 24 horas.	62
Figura 18. Efeito citotóxico dos extratos de argilas em 48 horas.	62
Figura 19. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila I nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).	64
Figura 20. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila II nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).	64
Figura 21. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila III nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).	65
Figura 22. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila IV nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).	65
Figura 23. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila I nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).	65
Figura 24. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila II nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).	66

Figura 25. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila III nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).....	66
Figura 26. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila IV nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).....	66
Figura 27. Aspecto da emulsão padrão e das emulsões contendo as argilas I, II, III e IV, após o preparo.....	68
Figura 28. Aspecto do gel padrão e dos géis contendo as argilas I, II, III e IV, após o preparo.	68
Figura 29. Fator principal forma farmacêutica para os resultados de pH.	69
Figura 30. Espalhabilidade das amostras de emulsões: a) todas no tempo zero, b) emulsão padrão, emulsão com: c) argila I, d) argila II, e) argila III e f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.	72
Figura 31. Espalhabilidade das amostras de géis: a) todos no tempo zero, b) gel padrão, gel com: c) argila I, d) argila II, e) argila III e f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.	73
Figura 32. Interação entre os fatores tipo de argila e forma farmacêutica para os resultados de espalhabilidade.	74
Figura 33. Viscosidade das amostras de emulsões no: a) todas no tempo zero, b) emulsão padrão, emulsão com c) argila I, d) argila II, e) argila III, f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.	77
Figura 34. Viscosidade das amostras de géis no: a) todos no tempo zero, b) gel padrão, gel com: c) argila I, d) argila II, e) argila III, f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.	78
Figura 35. Média dos resultados de consistência após 90 dias de armazenamento para os efeitos a) tipo de argila, b) forma farmacêutica e c) condições de armazenamento.	81
Figura 36. Resultados de consistência dos géis.	82
Figura 37. Resultados de consistência das emulsões.	82
Figura 38. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão padrão no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	85
Figura 39. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila I no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	85
Figura 40. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila II no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	85
Figura 41. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila III no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	86
Figura 42. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila IV no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	86
Figura 43. Distribuição do diâmetro de partículas do gel padrão no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	86
Figura 44. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila I no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).	87

Figura 45. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila II no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).	87
Figura 46. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila III no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).	87
Figura 47. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila IV no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).	88
Figura 48. Interação entre os fatores tipo de argila e forma farmacêutica para os resultados de diâmetro de partículas.	88
Figura 49. Resultados de estabilidade para o de diâmetro de partícula dos géis.....	89
Figura 50. Resultados de estabilidade para o de diâmetro de partícula das emulsões.....	89
Figura 51. Estrutura em castelo de cartas das argilas formando géis por floculação.	90

RESUMO

As argilas são materiais naturais, terrosos, de granulação fina e que apresentam plasticidade em contato com a água. A aplicabilidade das argilas na área cosmética depende da sua composição química e mineralógica, porém esses materiais possuem elevada biocarga, sendo o controle dessa carga microbiana necessário antes da aplicação das mesmas na área cosmética. Além disso, devido a variabilidade na composição das mesmas, estudos que avaliem a composição química e a aplicabilidade das argilas são necessários. O presente trabalho consistiu na caracterização de quatro tipos diferentes de argilas, provenientes do resíduo da extração de areia de mineradoras do interior do estado de São Paulo, Brasil, por meio de técnicas de fluorescência de raios X, difração de raios X, análise térmica, distribuição de tamanho de partículas por dispersão a laser, avaliação da área superficial, espectroscopia no infravermelho com transformada de *Fourier* e avaliação da morfologia das argilas. A carga microbiana das argilas foi avaliada e foram propostos dois métodos de descontaminação. As argilas foram incorporadas em gel hidrofílico e emulsão não iônica passando por um teste de estabilidade acelerada durante 90 dias, nos quais as amostras foram armazenadas a temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $2^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, juntamente com os respectivos padrões (emulsão e gel sem argila). Foram avaliadas, durante o teste, características organolépticas das formulações, assim como pH, espalhabilidade, viscosidade, resistência à centrifugação e diâmetro de partículas. As formulações que apresentaram os melhores resultados nesses testes foram submetidas ao teste de irritabilidade dérmica *in vivo*. Avaliou-se o potencial citotóxico *in vitro* das argilas pelo ensaio MTT, brometo de 3-(4,5 dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, e coloração Giemsa. A caracterização por DRX permitiu verificar a presença de caulinita e illita, como principais fases mineralógicas identificadas nas amostras, além do silício como o mineral em maior concentração para todas as amostras. O diâmetro médio de partícula variou de 3,6 a 24,1 μm e a área superficial de 22,8 a 38,57 m^2/g , sendo que a Argila III foi a que apresentou o maior valor de área superficial. Os métodos de descontaminação propostos, utilizando associação de álcool 70°GL e calor seco a 120°C e somente o calor seco, promoveram redução da carga microbiana das amostras adequando as argilas aos limites exigidos para uso em cosméticos. Os resultados obtidos na avaliação da estabilidade das formulações, nas condições testadas, demonstraram que as argilas alteraram parâmetros como viscosidade, espalhabilidade e diâmetro de partículas. O valor de pH não sofreu alterações com a adição das argilas e não houve alterações após a centrifugação das amostras. Dentre os veículos estudados, os géis apresentaram maior estabilidade que as emulsões, frente às condições testadas e os parâmetros avaliados. Dessa forma, os géis contendo os quatro tipos de argila e o gel padrão, foram escolhidos para avaliação da irritabilidade dérmica *in vivo*. Verificou-se que nenhuma das amostras causou irritação nos voluntários nas condições testadas. No teste de citotoxicidade todas as argilas demonstraram uma reduzida atividade citotóxica. Considerando os testes realizados, as argilas estudadas possuem uma atividade promissora quanto à aplicabilidade na indústria cosmética.

Palavras-chave: argila, descontaminação, irritabilidade dérmica, citotoxicidade, cosméticos.

ABSTRACT

Clays are natural, earthy, fine-grained materials that exhibit plasticity in contact with water. The applicability of the clays in the cosmetic area depends on their chemical and mineralogical composition, but these materials have huge bioburden and the control of this bioburden is necessary before applying them in the cosmetic area. Moreover, due to the variability in their composition, studies that evaluate the chemical composition and the applicability of the clays are necessary. The present work consisted in the characterization of four different types of clays, originated from the sand extraction residue of mining activities in the hinterland of São Paulo state, Brazil, using X-ray fluorescence, X-ray diffraction, thermogravimetric analysis, particle size distribution by laser dispersion, surface area evaluation, *Fourier* transform infrared spectroscopy and clay morphology evaluation. The bioburden of the clays was evaluated and two methods of decontamination were proposed. The clays were incorporated in hydrophilic gel and nonionic emulsion under an accelerated stability test during 90 days, in which the samples were stored at a temperature of $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, with the respective standards (emulsion and gel without clay). The organoleptic characteristics of the formulations, as well as pH, spreadability, viscosity, centrifugation resistance and particle diameter were evaluated during the test. The formulations with the best results in these tests were submitted to the *in vivo* dermal irritability test. The *in vitro* cytotoxic potential of clays was evaluated by MTT, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, and Giemsa. The XRD characterization allowed to verify the presence of kaolinite and illite, as the main mineralogical phases identified in the samples, besides silicon as the mineral in the highest concentration for all the samples. The average particle diameter ranged from 3.6 to 24.1 μm and the surface area of 22.8 to 38.57 m^2/g , and Clay III showed the highest surface area value. The proposed decontamination methods, using a combination of alcohol 70 $^{\circ}\text{GL}$ and dry heat at 120 $^{\circ}\text{C}$ and dry heat alone, promoted reduction of the bioburden of the samples, adjusting the clays to the limits required for cosmetics application. The results obtained in the evaluation of the stability of the formulations, under the conditions tested, showed that the clays changed parameters such as viscosity, spreadability and particle diameter. The pH value did not change with the addition of the clays and there were no changes after centrifugation of the samples. Among the studied vehicles, the gels presented greater stability than the emulsions, in front of the conditions tested and the evaluated parameters. Thus, the gels containing the four types of clay and the standard gel were chosen for evaluation of dermal irritability *in vivo*. None of the samples induced irritation in volunteers under the conditions tested. In the cytotoxicity test all the clays showed a reduced cytotoxic activity. Considering the tests performed, the clays studied have a promising activity regarding applicability in the cosmetic industry.

Keywords: clay, decontamination, dermal irritability, cytotoxicity, cosmetics.

1 INTRODUÇÃO

As argilas são materiais utilizados desde a antiguidade para fabricação de artefatos cerâmicos e, com o passar dos anos, suas aplicações se expandiram para diferentes áreas do conhecimento (TEIXEIRA NETO; NETO, 2009). De acordo com Martins et al. (2013) as argilas são utilizadas como adsorventes de água e óleo, em processos de clareamento na indústria de alimentos, em processos de remediação de solos, em aterros sanitários, como suporte para catalisadores, entre outras aplicações.

Na produção de cosméticos e medicamentos as argilas são empregadas como carreadoras de moléculas orgânicas e como suporte para catalisadores (ZHANG et al, 2011). Muitos produtos semissólidos, de cuidados para a saúde, contêm argilas como dispersantes ou como estabilizantes do sistema, pela sua área superficial e suas dimensões coloidais (entre 1 nm e 1 µm) (KHIARI et al., 2014). Nos tratamentos estéticos, elas vêm sendo cada vez mais utilizadas devido à sua alta capacidade de adsorção de impurezas, por promover a renovação celular e prevenir o envelhecimento sendo utilizadas em máscaras faciais de limpeza, clareadoras, hidratantes, adstringentes e refrescantes. Devido ao seu elevado nível de adsorção de lipídios, toxinas e impurezas, a utilização de argilas é também recomendada para o tratamento da acne e seborreia (PENA-FERREIRA et al., 2011).

Na indústria farmacêutica, algumas aplicações das argilas consistem no uso destas matérias-primas como excipientes, lubrificantes, diluentes, ligantes, dissecantes, emulsificantes, espessantes e como mascaradores de sabores indesejáveis (MARTINS et al., 2013). Dentre os principais fatores, que devem ser conhecidos para a aplicação desse material em produtos para saúde, estão a composição mineralógica da argila, assim como o formato e a distribuição do tamanho das partículas (CARRETERO et al., 2014; KHIARI et al., 2014). Dessa forma, é possível identificar e caracterizar a argila com relação às suas propriedades físico-químicas, classificando o material e definindo sua melhor aplicabilidade (REBELO et al., 2011).

A composição química e mineralógica de uma argila pode variar muito, mas em geral os minerais Si, Al, Fe, Zn, Mg, Ca, K e Ti estão presentes. Destacando-se a importância destes minerais na área cosmética pode-se citar o ferro que possui ação antisséptica e de renovação celular, o silício que atua na reconstrução dos tecidos cutâneos, hidratação e tem ação calmante, o zinco e o magnésio que são tonificantes, o cálcio e o potássio que auxiliam

na melhora da circulação (GOMES; SILVA, 2007). O titânio é outro mineral de interesse na cosmetologia, empregado principalmente em formulações fotoprotetoras, sendo um mineral capaz de propiciar reflexão da radiação ultravioleta (CARRETERO; POZO, 2010).

A maioria das argilas utilizadas em cosméticos são argilas primárias, que possuem sua origem na decomposição de solos e se apresentam, normalmente, na forma de pós (MARTINS et al., 2013). Esse tipo de material provém do processo de lavra, no qual são realizadas escavações, em locais previamente escolhidos, e, após o desmonte da jazida, a argila é obtida e transportada até uma usina de beneficiamento (DA SILVA et al., 2001; MECHI; SANCHES, 2010). Esse processo, pode gerar diversos impactos ambientais não só no local específico da escavação como em seus arredores. Muitas vezes, os locais de ocorrência são ambientalmente sensíveis e importantes para a preservação da biodiversidade, dos recursos hídricos, da paisagem ou de outros recursos naturais com função ambiental de grande importância (MECHI; SANCHES, 2010). Dentre os impactos que estes locais podem sofrer estão alterações na topografia, erosão, desmatamento, alteração do pH das águas, poluição do ar, desfiguração da paisagem e redução ou destruição da fauna e flora terrestres e aquáticas (BITAR et al., 2000).

As mineradoras possuem a necessidade frequente de escavações para a retirada do bem mineral de interesse, o que resulta em grandes volumes de resíduos, dentre eles diferentes tipos de argila, além de impactos negativos significativos para o meio ambiente (DA SILVA et al., 2001). Os resíduos gerados precisam ter um destino correto de acordo com a Lei nº 12.305 de 2010 que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, como tratamentos específicos ou reutilização em outras áreas de aplicação (BRASIL, 2010b).

Assim sendo, a obrigatoriedade das empresas em dar um destino correto aos resíduos, aliada à questão mercadológica e às aplicabilidades das argilas, as inclui entre os resíduos que podem ser utilizados pela indústria cosmética, tornando-as matérias-primas de valor agregado.

Levando em consideração o potencial de aplicação das argilas e a necessidade de alternativas para o direcionamento dos resíduos oriundos da exploração de areia utilizada na construção civil, surgiu o interesse em avaliar o potencial de aplicação de argilas provenientes dos resíduos de extração de areia, de mineradoras localizadas no estado de São Paulo/Brasil, na área cosmética, uma vez que se diferem das argilas tradicionalmente empregadas em cosméticos por não serem de origem primária.

2 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar e avaliar o potencial de aplicação de argilas na área cosmética, provenientes dos resíduos de extração de areia, de mineradoras localizadas no estado de São Paulo/Brasil.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a composição físico-química das argilas provenientes dos resíduos de extração de areia;
- b) Avaliar a citotoxicidade *in vitro* das argilas, vislumbrando a aplicação na área cosmética.
- c) Avaliar a carga microbiana existente nas amostras de argila e propor um método de descontaminação;
- d) Incorporar os diferentes tipos de argila, em veículos de uso cosmético (gel hidrofílico e emulsão) destinados à aplicação facial;
- e) Avaliar a estabilidade das formulações contendo argila a partir de teste de estabilidade acelerado;
- f) Caracterizar de forma físico-química as formulações contendo argilas;
- g) Avaliar a irritabilidade dérmica *in vivo* das formulações contendo argila associada que apresentaram os melhores resultados no ensaio de estabilidade.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. ARGILAS

3.1.1. Definição e classificação das argilas

As argilas são comumente definidas como materiais naturais, terrosos, de granulação fina, com diâmetros inferiores a 2 μm que, quando umedecidos com água, apresentam plasticidade devido às suas características hidrofílicas (SRINIVASAN, 2011; MATTIOLI et al., 2016). Sua composição apresenta minerais argilosos (argilominerais), minerais não argilosos, como quartzo, feldspato, mica, calcita e hematita, além de matéria orgânica (BASCHINI et al., 2010; COELHO et al., 2007; TEIXEIRA NETO; NETO, 2009).

Os argilominerais fazem parte de um grupo de minerais que apresentam estrutura cristalina em camadas, os filossilicatos. Tais minerais são silicatos de alumínio, ferro e magnésio hidratados podendo conter em sua estrutura quantidades significativas de potássio, cálcio e sódio, além de elementos menos comuns, como manganês, titânio ou lítio e outros elementos em quantidades variáveis. Seus cristais possuem dimensão micrométrica, geralmente abaixo de 2 μm , sendo que alguns podem conter uma fração nanométrica, na faixa de 1 a 100 nm (COELHO et al., 2007; SILVA et al., 2011).

A estrutura dos argilominerais está disposta em unidades tetraédricas constituídas por um cátion central de silício, rodeado por três átomos de oxigênio ou de hidroxila, e unidades octaédricas com o cátion central de alumínio ou magnésio, entre dois planos de oxigênios ou hidroxilas. Essas duas estruturas sofrem expansão horizontal, o que origina camadas tetraédricas de sílica e camadas octaédricas de alumina (Figura 1). Os cristais resultam da sobreposição dessas unidades estruturais (COELHO et al., 2007; LÓPEZ-GALINDO et al., 2007).

As argilas possuem complexidade e versatilidade que se deve à variabilidade quantitativa e qualitativa dos minerais argilosos e não argilosos que as constituem, à variação da distribuição dimensional das partículas minerais que as formam e às suas características

texturais. Esses fatores dificultam a classificação das argilas, razão pela qual existem várias classificações que podem ser utilizadas (MEIRA, 2001).

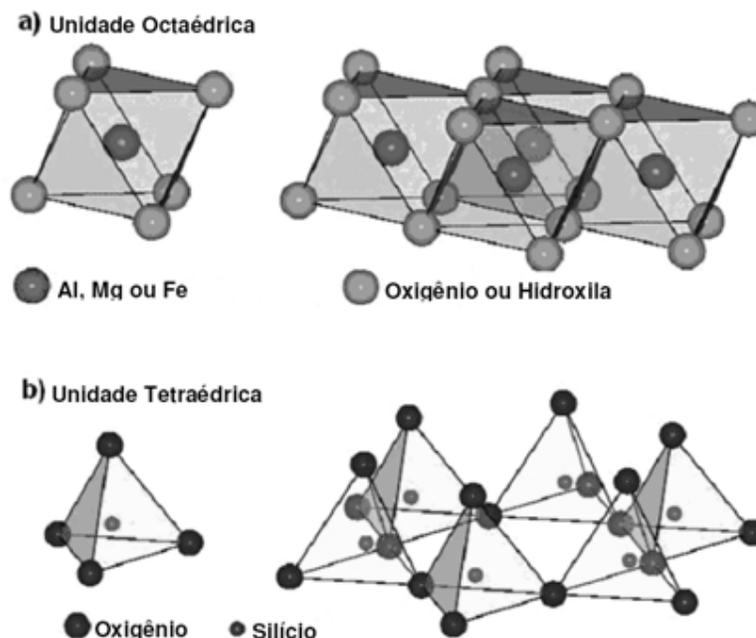


Figura 1. Estrutura em camadas a) octaédricas e b) tetraédricas dos argilominerais.
Fonte: Adaptado de Teixeira Neto; Neto (2009).

Baseado nas semelhanças na composição química e estrutura cristalina, os argilominerais são classificados em grupos de acordo com o número e a proporção de folhas em uma camada estrutural, as substituições de cátions existentes nos octaedros e tetraedros, e a carga resultante das camadas. As estruturas cristalinas são classificadas em dois tipos (Figura 2): estrutura ou lâmina 1:1, na qual uma camada tetraédrica, com cátions contendo o íon silício (Si^{+4}), está ligada com uma camada octaédrica, contendo os cátions alumínio (Al^{+3}) e magnésio (Mg^{+2}), e estruturas ou lâmina 2:1, na qual uma camada octaédrica está entre duas camadas tetraédricas (SAMPAIO, 2006; TEIXEIRA-NETO; NETO, 2009). Nas estruturas 1:1 estão os grupos da caulinita, serpentina e dos argilominerais ferríferos. Nas estruturas 2:1 estão os grupos do talco-pirofilita; micas, esmectitas, vermiculitas, cloritas, paligorsquita (atapulgita) e sepiolita (COELHO et al., 2007, ZHANG et al., 2007).

A principal diferença de comportamento entre as camadas do tipo 1:1 e 2:1 é o seu desempenho quando dispersas em solventes polares. Os minerais com lâmina 1:1 não intumescem em contato com o solvente, enquanto os que possuem estrutura do tipo 2:1 desenvolvem géis com propriedades reológicas características, possuindo tipicamente comportamento pseudoplástico. Observa-se que após a hidratação, a rede tridimensional é

rapidamente construída, produzindo um aumento acentuado na viscosidade, entretanto, as partículas livres remanescentes levam mais tempo para encontrar um local disponível na estrutura, de modo que a viscosidade aumenta de uma forma lenta e progressiva. Quando uma força de tensão é aplicada, a maior parte da estrutura é rompida conforme ocorre o cisalhamento (VISERAS et al., 2007).

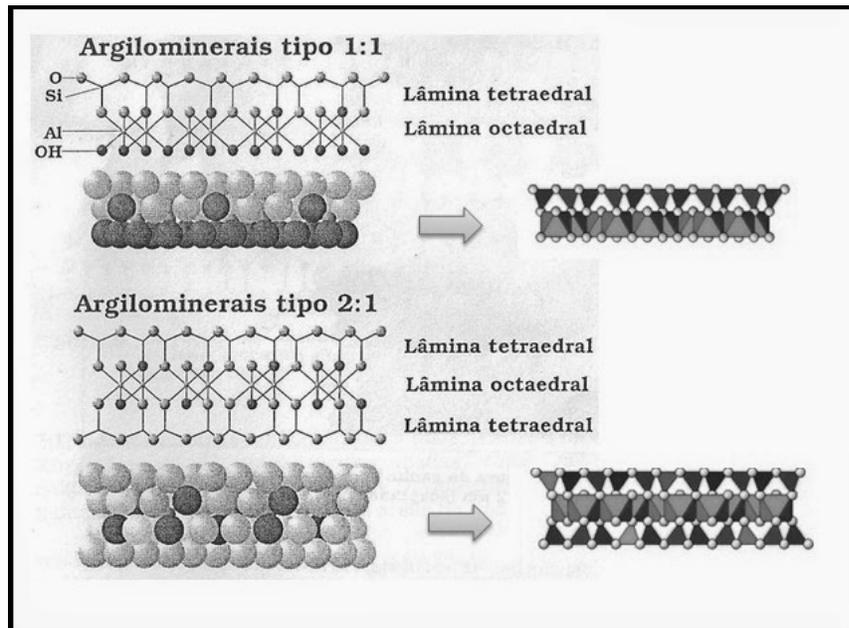


Figura 2. Estrutura cristalina dos argilominerais em camadas 1:1 e 2:1.
Fonte: adaptado de Schulze (1989)

As argilas também podem ser classificadas quanto à origem em primárias e secundárias. As primárias são originárias da decomposição do solo por ações físico-químicas do ambiente natural e que no decorrer dos anos, apresentam-se normalmente em forma de pó. As secundárias são procedentes da sedimentação de partículas transportadas pela chuva e pelos ventos, apresentando-se na forma pastosa ou de lama (SOUZA; ANTUNES JUNIOR, 2008).

Uma classificação industrial ou tecnológica também pode ser utilizada para agrupar os diferentes tipos de argilas. Nesse caso, levam-se em consideração as características específicas das argilas e suas aplicações industriais. Dessa forma, têm-se as argilas industriais que incluem: caulinos, bentonita, *ball clay*, argila refratária e terra *fuller*, e as argilas especiais, consideradas comercialmente raras, que abrangem: bentonita branca (montmorilonita e hectorita), haloisita (grupo da caulinita) e paligorsquita (atapulgita) (MEIRA, 2001; COELHO et al., 2007).

As argilas possuem uma composição mineralógica que é responsável pela sua coloração, por exemplo, argilas brancas geralmente são ricas em carbonato de cálcio e

magnésio, as verdes em óxido de cromo, as rosas em óxido de ferro e, cada mineral, possui uma finalidade específica quando utilizado em produtos para pele (SOUZA; ANTUNES JUNIOR, 2008). No Quadro 1, é possível visualizar diferentes tipos de argila, em relação à sua coloração, composição e aplicação cosmética definida de acordo com os minerais presentes.

Quadro 1. Aplicação cosmética das argilas de acordo com sua cor e composição.

Argila (cor)	Composição	Aplicação cosmética
Amarela	Silício	Rejuvenescimento e hidratação da pele
Bege	Silício, alumínio, titânio, ferro, silicato de alumínio hidratado	Reconstituição dos tecidos, adstringente, remineralizante, hidratante, cicatrizante, clareadora, absorção de oleosidade e proteção da pele.
Branca	Silicato de alumínio hidratado, alumínio, enxofre, ferro, boro, potássio e cálcio	Cicatrizante, clareadora, absorção de oleosidade, hidratante e remoção de antioxidantes da pele.
Cinza	Sílica	Antiedematosa.
Marrom	Silício, alumínio, titânio e ferro	Reconstituição dos tecidos, adstringente, remineralizante, hidratante, atua em acne e espinhas, rejuvenescimento e celulite.
Preta	Silício, alumínio, ferro, titânio, silicato de alumínio e magnésio, carbonato de cálcio e magnésio, óxido de silício, zinco, enxofre	Rejuvenescimento da pele, clareamento, absorção de oleosidade, cicatrização e catalisação de reações metabólicas do organismo, atua na celulite e em estrias.
Rosa	Silicato de alumínio hidratado, óxido de ferro e óxido de cobre	Tratamento de peles sensíveis, delicadas, desidratadas, com varizes e rosácea, cansadas e sem viço, gordura localizada, celulite e flacidez.
Verde	Óxido de ferro associado ao cálcio, magnésio, potássio, manganês, fósforo, zinco, cobre, alumínio, silício, selênio, cobalto e molibdênio	Tratamento de peles oleosas e com acne, para cabelos oleosos.
Vermelha	Óxido de ferro e cobre	Rejuvenescimento da pele e gordura localizada.

Fonte: Adaptado de Souza; Antunes Junior, 2008.

Pela variedade de argilas encontradas é fundamental a identificação e caracterização dos argilominerais segundo sua disposição estrutural (fases cristalinas) e composição química, pois dessa forma é possível classificar o material e verificar a melhor aplicabilidade (DARÉ et al, 2015).

3.1.2. Aplicabilidade das argilas

As argilas têm sido usadas pela humanidade desde a antiguidade para a fabricação de artefatos cerâmicos tais como utensílios domésticos, tijolos e telhas (MODABBERI et al., 2015). Na Mesopotâmia já eram utilizados muitos materiais de natureza mineral, como agentes terapêuticos, no tratamento de feridas e na inibição de hemorragias, as chamadas terras medicinais, compostas principalmente por argilas. No antigo Egito, Cleópatra utilizava limo do Mar Morto em máscaras faciais, além de terra de Núbia como anti-inflamatório e lama como conservante na mumificação de cadáveres (CARRETERO, 2002).

As aplicações tecnológicas das argilas ampliaram, sendo empregadas para adequar as propriedades reológicas de fluidos de perfuração de petróleo e de tintas, como carreadoras de moléculas orgânicas em cosméticos e medicamentos, como suporte para catalisadores, como adsorventes em processos de clareamento na indústria têxtil e de alimentos, em processos de remediação de solos e em aterros sanitários, entre outros (TEIXEIRA NETO; NETO, 2009, MARTINS et al., 2013; MODABBERI et al. 2015).

A capacidade adsorvente das argilas se deve às suas características de grande área superficial, estabilidade química e mecânica, estrutura em camadas e alta capacidade de troca catiônica. Argilas naturais e modificadas tem recebido atenção como excelentes adsorventes de metais pesados como As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni e Zn nas suas formas iônicas em meio aquoso (SIRINIVASAN, 2011).

O interesse em utilizar argilas se torna cada vez mais atrativo devido à busca por materiais que não agridam o meio ambiente quando descartados, à abundância das reservas mundiais e ao seu baixo custo (LÓPEZ- GALINDO; VISERAS, 2004; SILVA et al., 2012; TEIXEIRA NETO; NETO, 2009). Dos minerais que são conhecidos, apenas alguns são utilizados na indústria farmacêutica e cosmética. Além disso, a maioria deles são análogos sintéticos, uma vez que geralmente é mais econômico sintetizar minerais do que extrair e purificar os que ocorrem naturalmente. Os minerais da argila (filossilicatos) são uma exceção, porque a sua síntese é difícil e dispendiosa, enquanto tais minerais naturais, como calcita e ilita, são utilizados por serem abundantes e de baixo custo (CARRETERO; POZO, 2010).

De acordo com Silva et al. (2013), em uma pesquisa realizada no ano de 2011 a área de maior aplicabilidade industrial e tecnológica das argilas, que detém o maior número de patentes depositadas, é a de processos, seguida pela biotecnologia, alimentação, medicina, farmacêutica, cerâmica, terapêutica e cosmética. Por meio desta pesquisa foi possível

evidenciar que a área cosmética vem sendo explorada e que apresenta grandes oportunidades de pesquisa e desenvolvimento com os argilominerais. Dentre 1978 e 2011, o ano de 2009 apresentou o maior número de patentes depositadas (24) na área de cosméticos oriundas de diferentes países, seguido do ano de 2010 com 17 depósitos nessa área (SILVA et al., 2012).

Em 2016, foi realizada uma busca relacionada às patentes das argilas no site do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). A busca foi feita utilizando os termos referentes ao uso das argilas na área de cosméticos. Com as palavras chaves “cosméticos x argilas” nenhuma patente relacionada foi encontrada. Utilizando os termos “pele x argila” foram encontrados 18 registros; com as palavras “hidratante x argila” e “esfoliante x argila” foi encontrado apenas 1 registro e com os termos “creme x argila” foram encontrados 2 registros (INPI, 2016).

Outra busca, realizada em 2016, utilizou o site Scopus, uma base de dados que permite uma ampla visão do que está sendo publicado cientificamente. A pesquisa utilizou os termos: “clay x cosmetic” e foram encontrados 119 registros. Na Figura 3 é possível verificar o número de publicações nos últimos 10 anos. Observa-se que o ano de 2011 apresentou o maior número de publicações (13) e que nos últimos três anos houve um crescimento no número de artigos publicados comparando com as publicações antes de 2011 (SCOPUS, 2016).

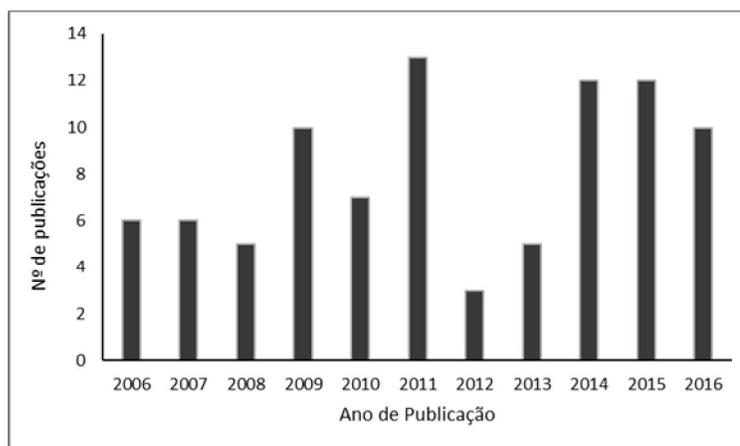


Figura 3. Artigos publicados relacionados a argila e cosméticos.

A evolução anual do número de patentes depositadas e artigos publicados configura a aplicação das argilas, em diferentes áreas do conhecimento, como uma tecnologia emergente. Verifica-se que é uma área ainda muito incipiente, porém competitiva em termos de pesquisa científica e de proteção industrial (SILVA et al., 2012).

Segundo Coelho (2007) a argila do tipo atapulgita (paligorsquita – *palygorskite*) é a mais utilizada em preparações cosméticas, sendo a de maior produção no ocidente,

aproximadamente, 1 milhão de toneladas/ano. Os principais tipos de argilas usadas em formulações cosméticas, encontradas tanto nos artigos como nas patentes, são a paligorsquita e a sepiolita (em preparações líquidas) junto com a caulinita, esmectita, e silicato de magnésio (talco), devido à alta capacidade de troca catiônica, de superfície e adsorção (CARRETERO; POZO, 2010).

Segundo Silva et al. (2013), a China é o país que detém o maior número de patentes depositadas com o uso das argilas em cosméticos, seguida dos Estados Unidos e do Brasil. Como detentor de uma das maiores reservas mundiais de argila, é estratégico para o Brasil fomentar a criação de parcerias de pesquisa entre os setores acadêmico e industrial para o desenvolvimento de novas tecnologias de obtenção de produtos formulados com argilas naturais e quimicamente modificadas, obtendo novos produtos e agregando valor a esse importante recurso natural (TEIXEIRA NETO; NETO, 2009).

A crescente utilização das argilas em cosméticos, pelas suas diversas propriedades, também pode ser observada pela existência de produtos cosméticos industriais contendo argilas, patenteados no Brasil, com a finalidade de cuidados com a pele e cabelos (MCCULLOCH; HOPKINS, 2001; ARAI et al., 2002).

3.1.2.1. Aplicação cosmética das argilas

A aplicação das argilas, principalmente na área cosmética, está relacionada com a composição química e mineralógica, que geralmente conta com teores de ferro, silício, zinco, magnésio, cálcio, potássio e titânio (SRINIVASAN et al., 2011). Destacando-se a importância destes minerais na área cosmética, pode-se citar o ferro, que atua como antisséptico e como catalisador nos processos de renovação celular; o silício que propicia reconstrução dos tecidos cutâneos, hidratação e tem ação calmante; o zinco e o magnésio que possuem ação tonificante. O cálcio e o potássio atuam na circulação e no revigoramento dos tecidos. O titânio é outro mineral de interesse na cosmetologia, empregado, principalmente, em formulações fotoprotetoras, sendo um mineral capaz de propiciar reflexão da radiação ultravioleta (UV) (SOUZA; ANTUNES JUNIOR, 2008).

A composição química e mineralógica das argilas depende, entre outros, da evolução das rochas que deram sua origem. Consequentemente, sua composição e propriedades físicas devem ser determinadas cuidadosamente antes do seu uso, especialmente em produtos

farmacêuticos e cosméticos (LÓPEZ-GALINDO et al., 2007). Precauções especiais devem ser tomadas pelo fato das argilas minerais terem que obedecer severos requisitos com relação aos aspectos químicos, físicos e toxicológicos para uso em formulações farmacêuticas, dependendo se a finalidade é terapêutica ou cosmética (MODABBERI et al., 2015).

As argilas, na indústria de cosméticos, são empregadas para a adequação de propriedades reológicas e para propiciar a estabilização de emulsões e suspensões. Quando presente em uma formulação industrial cosmética espera-se que as argilas tenham algum tipo de interação química com os demais componentes da formulação. As bentonitas são utilizadas para estabilizar emulsões de óleo em água em produtos cremosos, tendo a função de permanecer entre as duas fases da emulsão como um emulsionante. As argilas são usadas como agentes reológicos nesse tipo de emulsão, principalmente porque podem ser molhadas por ambas as fases líquidas. Elas agem desse modo, como uma barreira física que previne a coalescência das gotas de líquido da emulsão, impedindo a separação de fases (AGUZZI et al., 2007).

Em função da habilidade apresentada pelas argilas em adsorver impurezas, gerar a renovação celular e prevenir o envelhecimento, diferentes produtos cosméticos têm sido desenvolvidos tais como máscaras faciais de limpeza, clareadoras, hidratantes, adstringentes e refrescantes, além de máscaras corporais. Devido ao seu elevado nível de adsorção de lipídeos, toxinas e impurezas, a utilização de argilas é também recomendada para o tratamento da acne e seborreia (PENA-FERREIRA et al., 2011).

Existem alguns requisitos importantes para que uma argila seja usada em preparações farmacêuticas e cosméticas, tais como a granulometria, o grau de pureza mineral, a quantidade de água adsorvida, a composição química e o nível de contaminação microbiológica (LÓPEZ-GALINDO et al., 2007). Dentre os filossilicatos, a caulinita, o talco, pirofilita, as esmectitas e as argilas fibrosas se destacam na utilização em aplicações farmacêuticas e/ou cosméticas, por possuírem amplas aplicações e importantes propriedades que serão mencionadas na sequência (CARRETERO; POZZO, 2010; DARÉ et al., 2015).

No grupo da caulinita estão a própria caulinita, a haloisita, a diquita e a nacrita, sendo a caulinita, denominação farmacêutica caulim, a mais comum e abundante (DARÉ et al., 2015). Esses argilominerais possuem estrutura 1:1 (Figura 4), constituída por camadas neutras do tipo tetraedro – octaedro, sendo o silício o elemento central dos tetraedros e o alumínio o elemento central dos octaedros. A composição química da célula unitária da caulinita é $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ (RODRIGUES et al., 2010). A caulinita possui coloração branca ou acinzentada, tornando-se escura e plástica quando em contato com a água (DARÉ et al.,

2015). Ela possui pequena área superficial, quando comparada com outros minerais argilosos, mas é capaz de adsorver pequenas moléculas, proteínas, bactérias e vírus, na superfície de suas partículas (LIPSON; STOTZKY, 1983; SCHIFFENBAUER; SOTTZKY, 1982). A caulinita a 70 % em dispersões aquosas possui um fluxo dilatante, isto é, a viscosidade aparente aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento. Este tipo de comportamento é devido à grande proximidade das partículas dispersas, que durante o cisalhamento sofrem interações umas com as outras (VISERAS et al., 2007).

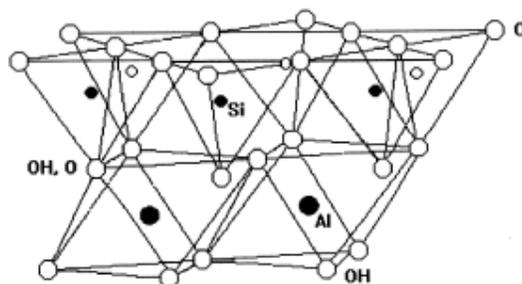


Figura 4. Estrutura cristalina da caulinita.
Fonte: Adaptado de Gardolinski et al., 2001.

O talco é um silicato de magnésio, composto por uma estrutura 2:1 com uma lâmina octaédrica contendo magnésio, que está entre duas lâminas tetraédricas de sílica. Não possui odor, é facilmente triturado, tornando-se um pó micronizado branco e brilhante. Possui uma boa capacidade de absorção para óleos e gorduras (YEKELER et al., 2004). O talco tem grande importância e participação no setor cosmético, possuindo um grande número de aplicações, em função, principalmente, de suas propriedades de sorção e fluidez (CAMPOS, 2001; GALINDO et al., 2006). A pirofilita é composta por uma lâmina octaédrica contendo alumínio, que está entre duas lâminas tetraédricas de sílica, com fórmula estrutural $Al_2(Si_4O_{10})(OH)_2$, apresentando propriedades cristalográficas e físicas similares ao talco, porém nem sempre podem ser usados de forma substitutiva (CAMPOS, 2001).

No grupo das esmectitas existem diferentes tipos de argilominerais: montmorilonita, beidelita, nontronita, saponita, hectorita, stevensita e sauconita. As suas propriedades tecnológicas diferem de acordo com sua origem e composição química. Suas cores podem variar desde o branco, ao amarelo, rosa e cinza. A sua estrutura é uma lâmina central octaédrica de alumina entre duas lâminas tetraédricas de sílica (Figura 5). Entre as lâminas existem lacunas denominadas galerias ou camadas inter lamelares, onde estão presentes cátions trocáveis e onde água ou moléculas polares podem entrar. Esta estrutura permite várias substituições dentro da rede em termos de posição e composição dos elementos.

Devido às ligações fracas, permite a entrada da água e outras moléculas polares entre as lâminas, com um aumento de 12 a 15 vezes da sua massa seca, ocasionando a expansão da estrutura do mineral, formando géis tixotrópicos (LÓPEZ-GALINDO et al., 2007).

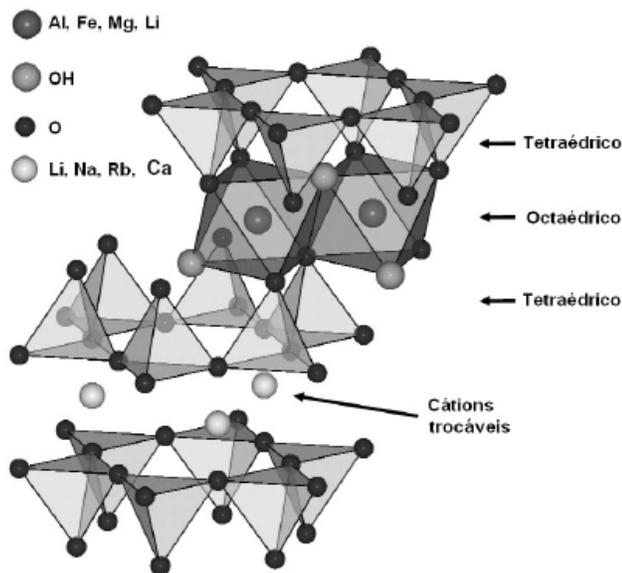


Figura 5. Estrutura cristalina das esmectitas.
Fonte: Adaptado de Demarquette et al., 2008.

Os argilominerais fibrosos formam o grupo no qual encontra-se a paligorsquita, comercialmente conhecida como atapulgita, e a sepiolita. Diferentes dos outros argilominerais, elas possuem uma estrutura fibrosa, devido a uma inversão de 180° que ocorre a cada seis (sepiolita) ou quatro (paligorsquita) camadas tetraédricas de sílica, o que produz uma estrutura de cadeias alinhadas paralelamente ao eixo, cada um dos quais tem uma estrutura de tipo 2:1. Apresentam coloração branca e são ligeiramente higroscópicas, a quantidade de água pode variar entre 5 a 27% nas paligorsquitas e de 17 a 34% nas sepiolitas. Quando os feixes das fibras são micronizados, as partículas resultantes são facilmente dispersas na água e em outros líquidos polares, formando uma rede de grande volume de fibras entrelaçadas que retém todos os dissolventes, resultando em suspensões de elevada viscosidade (LÓPEZ-GALINDO et al., 2007). Os géis formados pelos argilominerais fibrosos conservam sua estabilidade mesmo na presença de concentrações elevadas de eletrólitos (LÓPEZ-GALINDO; VISERAS, 2004).

3.2. DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

As argilas podem ser incorporadas em diferentes veículos cosméticos (LÓPEZ-GALINDO et al., 2007). O delineamento de uma forma farmacêutica cosmética envolve diversos aspectos importantes, sendo necessário conhecer as características físico-químicas da argila que será empregada e também das matérias-primas que compõem o veículo.

Os produtos cosméticos são preparados para entrar em contato com partes externas do corpo humano, como epiderme, cabelos, unhas, lábios, entre outros (VISERAS, 2007). Dentre as formas farmacêuticas de uso tópico, nas quais as argilas podem ser incorporadas, estão os géis e as emulsões. A propriedade que é comum a estas preparações farmacêuticas semissólidas é a capacidade de adesão à superfície de aplicação por um período razoável de tempo antes de serem removidas por lavagem ou pelo uso propriamente dito (VISERAS, 2007).

As emulsões são produtos de aspecto leitoso resultantes da dispersão de um líquido em outro, com o qual não seja miscível, com auxílio de um agente emulsionante (tensoativo) (Figura 6), cujo papel é facilitar a formação da emulsão e tornar estável o sistema disperso obtido. Uma emulsão tem sempre uma fase aquosa e outra oleosa, podendo quer uma, quer outra, representar a sua fase externa, dando origem a emulsões óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) (Figura 7) (LIMA et al., 2008; BRASIL, 2010a).

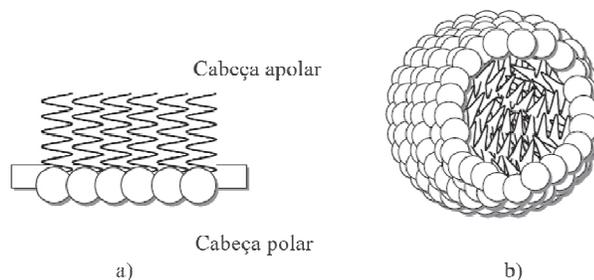


Figura 6. Esquema representativo de um tensoativo com a) cabeça polar e apolar b) formação de uma micela com o tensoativo. Fonte: Adaptado de Previdello et al., 2006.

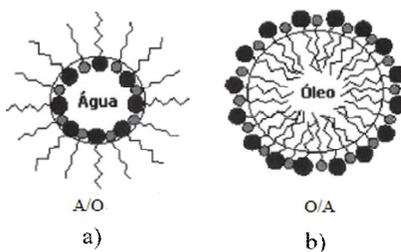


Figura 7. Esquema representativo de uma emulsão a) água em óleo (A/O) e b) óleo em água (O/A). Fonte: Adaptado de Oliveira et al., 2004.

Os géis são sistemas semissólidos formados por dois componentes, ricos em líquidos. Sua principal característica é sua estrutura contínua, que lhes confere propriedades semelhantes às de sólidos. Em um gel polar típico, um polímero natural ou sintético forma uma matriz tridimensional por meio do líquido hidrofílico (Figura 8) (VISERAS, 2007; BRASIL, 2010a).

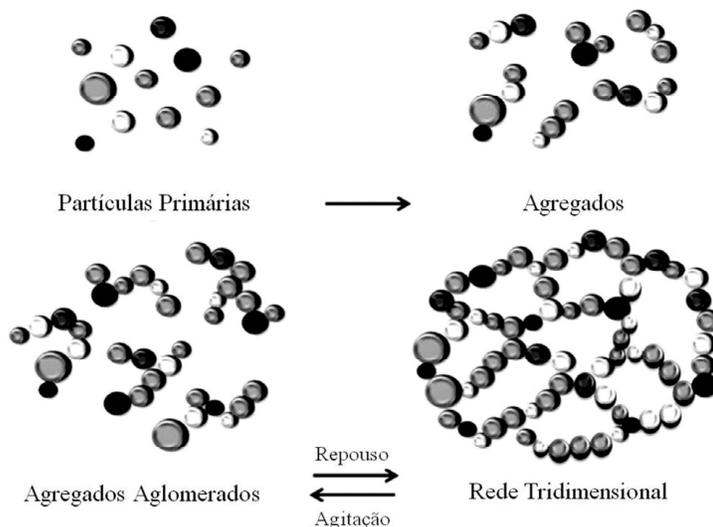


Figura 8. Esquema representativo da estrutura tridimensional dos géis hidrofílicos.
Fonte: Adaptado de Carvalho et al., 2015.

A liberação de um ativo através da pele é influenciada pelos componentes do veículo sendo, portanto, favorecida quando são utilizados princípios ativos com baixa afinidade pelo veículo. Além disso, deve-se considerar a solubilidade e estabilidade do princípio ativo no veículo, bem como a aplicabilidade que lhe será dada. No caso de cosméticos não é desejada absorção do princípio ativo pela pele (CHORILLI et al., 2007).

Após o desenvolvimento de uma formulação cosmética é necessária a realização de testes de controle de qualidade, a fim de garantir a segurança e a eficácia do produto. Os ensaios de controle de qualidade têm como objetivo avaliar as características físicas, químicas e microbiológicas das matérias-primas, embalagens, produtos em processo e produtos acabados. A verificação da conformidade das especificações deve ser vista como um requisito necessário para a garantia da qualidade, segurança e eficácia do produto e não somente como uma exigência regulatória (BRASIL, 2008).

As argilas, empregadas nos produtos cosméticos como excipientes ou substâncias ativas, assim como todas as substâncias destinadas a produtos de cuidados com a saúde, dentre eles os cosméticos, devem preencher exigências relativas à segurança e à estabilidade, devendo apresentar inocuidade química e microbiológica. Uma vez que o produto cosmético é

de livre acesso ao consumidor, o mesmo deve ser seguro nas condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso. A busca dessa segurança deve incorporar permanentemente o avanço da ciência cosmética (BRASIL, 2012).

As argilas, por serem matérias-primas naturais, podem apresentar microrganismos pelo fato da matéria orgânica fazer parte da sua composição. Dentre as bactérias de maior ocorrência no solo, pode-se citar os gêneros: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas* e *Micrococcus*. Alguns fungos também podem estar presentes, como: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Metrharrizum* (SIQUEIRA et al., 1994).

A grande biocarga encontrada nas argilas faz com que, antes de serem incorporadas em formulações cosméticas, devam ser descontaminadas para reduzir a carga microbiana a valores aceitáveis (BASCHINI et al., 2010). A legislação brasileira, Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999, especifica os limites aceitáveis de contaminação microbiológica em produtos cosméticos como sendo no máximo $5,0 \times 10^3$ UFC/g ou mL (unidades formadoras de colônia por grama ou mililitro de produto) para microrganismos mesófilos aeróbios totais, ausência de microrganismos patogênicos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e Coliformes totais e fecais em 1 g ou mL de produto. Esses limites são importantes para que não sejam comprometidas as características físico-químicas do produto e sejam preservadas a segurança e eficácia do produto ao consumidor (BRASIL, 1999).

Para a verificação da efetividade do processo de descontaminação faz-se necessária, portanto, a realização de testes microbiológicos que avaliem a quantidade de microrganismos presentes em uma determinada amostra, a fim de assegurar a qualidade dos insumos, processos de armazenamento e possibilidade de contaminação externa (EL-BAZZA et al., 2009; KATUSIN-RAZEM et al., 2003; MODABBERI et al., 2015). A Farmacopeia Brasileira, assim como a Farmacopeia Britânica, descreve a realização desses testes microbiológicos e também estabelece os níveis aceitáveis de microrganismos em produtos cosméticos (BRASIL, 2010a; BRITISH PHARMACOPEIA, 2008).

A maioria dos minerais utilizados industrialmente é sintética, pelo fato da sua extração e purificação serem trabalhosos. Os minerais naturais que são utilizados nas indústrias são aqueles com baixo custo de purificação e os que são encontrados em abundância, ou cuja síntese é complexa e de alto custo, como é o caso dos argilominerais (CARRETERO; POZO, 2009). Os argilominerais são, na sua maioria, incorporados em cosméticos na forma *in natura*, passam apenas por um tratamento prévio para assegurar seu grau de pureza e segurança de uso, sendo utilizados processos como dessecação, pulverização,

tamisação, separação seca da fração de argila e esterilização pelo calor (VISERAS et al., 2007).

Considerando a presença de argilominerais presentes na natureza, oriundos dos trabalhos das mineradoras, e o risco ambiental que os mesmos apresentam, tornam-se relevantes estudos que busquem a utilização destes resíduos (MECHI; SANCHES, 2010). Dessa forma, surgiu o interesse em estudar a aplicabilidade destes materiais na área cosmética, uma vez que até o momento são descartados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. COLETA DOS RESÍDUOS DE ARGILA

Quatro amostras diferentes de argila, designadas por I, II, III e IV (Figura 9), provenientes do resíduo da extração de areia para a construção civil de mineradoras do interior do estado de São Paulo (Brasil) foram avaliadas.



Figura 9. Aspecto das argilas I, II, III e IV *in natura*.

As amostras de argila foram coletadas de diferentes pontos de duas mineradoras, a Mineração Bom Retiro e a Mineração Caju, sob supervisão de uma geóloga. As amostras de argila foram provindas de barragens de rejeito em processo de secagem, porém ainda muito úmidas. A argila I foi extraída da região de Leme, a II de Ibiúna e as argilas III e IV da região de Mogi Guaçu (Figura 10). As amostras foram retiradas de 5 pontos diferentes da barragem em profundidades diferentes, durante duas semanas, com intervalo de uma semana entre as coletas e sem repetir os locais de extração, sendo feito um *pool* de cada um dos tipos de argila ao final da coleta. A norma ABNT NBR 10007-04 (ABNT, 2004) foi seguida durante a coleta, tentando mantê-las sem contaminação e em questões de representatividade.

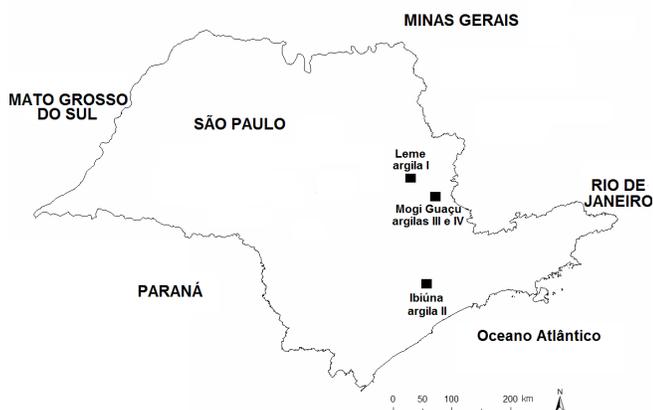


Figura 10. Localização da extração das argilas I, II, III e IV.

4.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS ARGILAS

As quatro amostras *in natura* de diferentes tipos de argila foram secas em estufa (Fanem, modelo 315SE) a temperatura de 120 °C, durante 24 horas no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS. Após a secagem, as argilas foram caracterizadas de acordo com os ensaios descritos a seguir.

4.2.1. Análise química elementar

As argilas foram caracterizadas quimicamente por meio de Espectrometria de Fluorescência de Raios X (FRX) de acordo com a norma ASTM C1605-04 (ASTM, 2009). O equipamento utilizado foi um espectrômetro sequencial de fluorescência de raios X, marca Shimadzu, modelo XRF 1800. A perda ao fogo (LOI) foi determinada de acordo com a norma ASTM D7348-08 (ASTM, 2008). A análise consistiu em calcinar, aproximadamente, 1 g de pó passante em peneira 325 *tyler mesh* a 950 °C durante 1 hora em mufla, marca Quimis, modelo Q318.24. A taxa de aquecimento utilizada foi de 10 °C·min⁻¹. A análise foi realizada no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS – Porto Alegre – RS). A perda ao fogo (LOI) foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$LOI = \left[\left(\frac{W - B}{W} \right) \right] \times 100 \quad (1)$$

Sendo: LOI = perda ao fogo, em %; W = massa do pó antes da calcinação, em g; B = massa do pó após a calcinação, em g.

4.2.2. Difração de raios X

A identificação das fases cristalinas presentes nas amostras de argila foi realizada por difração de raios X (DRX), em difratômetro Diffrac 5000 Bruker, operando a 45kV e 40mA utilizando radiação monocromática Cu-K α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), em intervalo de ângulos de 2θ de 2 a 28°, com passo de 0,05°/s. Foram realizadas duas análises para cada amostra: natural e

calcinada a 550 °C. Após, foi usado um passo de 0,01° e tempo por passo de 4 s nas amostras cristalinas para posterior análise dos picos (POPPE et al., 2001). Este ensaio foi realizado no Laboratório de Difração de Raios X do Instituto de Geociências da UFRGS.

4.2.3. Distribuição do tamanho de partículas por análise granulométrica e determinação do tamanho de partículas por dispersão a laser

Análises granulométricas das amostras de argila foram realizadas pelo método de peneiramento de acordo com o manual MNL 32-98 (ASTM, 1998). O método consistiu no peneiramento a seco dos materiais no estado sólido, em peneirador eletromecânico (Pavitest) com capacidade para oito peneiras de 50,8 mm de altura x 203,2 mm de diâmetro. O peneiramento foi realizado em velocidade média (vibração 6) durante 25 minutos utilizando-se as peneiras de *tyler mesh* 22 ($\geq 710 \mu\text{m}$), 32 (500 μm), 35 (425 μm), 42 (355 μm), 60 (250 μm), 80 (180 μm) e coletor ($\leq 180 \mu\text{m}$).

A distribuição de tamanho das partículas menores que 80 *tyler mesh* foi determinada pela técnica de dispersão a *laser*, de acordo com a norma ASTM E2651-10 (ASTM, 2010). As amostras em estudo foram dispersas em água deionizada, homogeneizadas até completa dispersão e submetidas à análise para a determinação da distribuição do tamanho de partículas, em um granulômetro por dispersão a *laser* (Cilas, modelo 1180 Liquid). Os resultados corresponderam à média de três leituras. A faixa de detecção utilizada foi de 0,04 a 2500 nm. Esta análise foi realizada no LACER da UFRGS.

4.2.4. Análise térmica

As propriedades térmicas foram determinadas por análise termogravimétrica (TGA/ATD) em termobalança Mattler Toledo, TGA/SDTA851e, usando uma taxa de aquecimento de 10 K·min⁻¹ ao ar, com uma vazão de 10 L·min⁻¹. Esta análise foi realizada no LACER da UFRGS.

4.2.5. Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia de infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) foi empregada para avaliar a presença de grupamentos funcionais nas amostras. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de brometo de potássio (KBr). A caracterização por infravermelho foi realizada na região de 4000 a 400 cm^{-1} , em espectrofotômetro de infravermelho com transformada de *Fourier* (Shimadzu, IRAffinity-1) no LACER da UFRGS.

4.2.6. Avaliação da área superficial

A área superficial foi avaliada utilizando o equipamento Autosorb Quantachrome (modelo Nova 1200). Esse instrumento calcula a área da superfície total da amostra através do nitrogênio adsorvido (m^2), a partir do volume de gás adsorvido (V) em função da pressão relativa (P/P_0). A área superficial é então medida e dividida pelo peso total da amostra testada (g), a fim de se obter a área superficial específica ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Esta análise foi realizada no LACER da UFRGS.

4.2.7. Avaliação da morfologia das argilas

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) Shimadzu (modelo SSX-550) foi utilizado para avaliar os aspectos morfológicos das amostras de argila, que foram previamente trituradas com gral e pistilo e então fixadas com uma cola adesiva em um porta-amostra. Posteriormente, as amostras foram revestidas com ouro (*sputtering*) e realizou-se a observação das micrografias. Também foi realizada análise por Sistema de Energia Dispersiva (EDS) para todas as amostras, com tensão de aceleração de 20 kV. A análise foi conduzida por detecção de raios X característicos com detector Oxford X-Max 50 acoplado ao microscópio. Esta análise foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Professor Israel Baumvol (LCMic) da UCS.

4.3. DETERMINAÇÃO DA CARGA MICROBIANA DAS ARGILAS

O ensaio de avaliação microbiológica das argilas foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos e Cosméticos (LCMEC) da Universidade de Caxias do Sul (UCS) (Caxias do Sul – RS), utilizando metodologia baseada na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a), conforme descrito a seguir. Os resultados foram analisados de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira de cosméticos, a Resolução nº 481/99 (BRASIL, 1999), que são os mesmos aceitos pela Farmacopeia Britânica (BRITISH PHARMACOPEIA, 2008).

Para a realização do ensaio 10 g de cada amostra foram dispersas em 30 mL de água peptonada tamponada (pH 7,0) e 60 mL de caldo neutralizador (pH 7,6). Após 10 minutos a mistura foi transferida para um frasco contendo caldo TSB (*Tryptone Soya Broth*) e, foram preparadas as diluições necessárias para os ensaios de contagem de bactérias mesófilas, bolores e leveduras, assim como os testes de detecção de microrganismos patogênicos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) e coliformes fecais e totais.

A cultura de bactérias mesófilas e de bolores e leveduras, foi feita em meio de cultura TSA (*Tryptone Soya Agar*) e PDA (*Potato Dextrose Agar*), respectivamente. Posteriormente ao crescimento, a determinação do número de colônias foi realizada pelo método de contagem de colônias em placas. A detecção de coliformes fecais e totais foi determinada pela presença de crescimento de colônias de bactérias no meio de cultivo VRB (*Violet Red Bile Agar*). A pesquisa da presença dos patógenos de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* foi realizada a partir da visualização do crescimento microbiano nas placas contendo o meio de cultivo seletivo Ágar MacConkey, Ágar Cetrimida e Ágar Baird Parker, respectivamente.

De acordo com os resultados, foram propostos dois métodos de descontaminação das amostras de argila descritos a seguir.

4.4. MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO DAS ARGILAS

Dois métodos de descontaminação foram testados para fins de comparação de eficiência. No primeiro foi utilizado solvente e calor seco: as amostras de argila foram imersas separadamente em etanol 70 °GL, na proporção amostra:solvente 1:10 (m/v), durante 10 minutos, sob agitação manual. Cada mistura foi filtrada sob pressão reduzida. Esse procedimento foi realizado três vezes para aumentar a eficiência do processo. A seguir, as amostras foram secas em estufa (De Leo Equipamentos para Laboratório, DL-AF06) com calor seco a 120 °C durante 24 horas. O processo de descontaminação descrito foi adaptado do Manual de limpeza e desinfecção de superfícies, redigido pela ANVISA (BRASIL, 2010a). O segundo método utilizou apenas calor seco: as amostras foram acondicionadas em estufa a 120 °C durante 24 horas.

As amostras de argila foram analisadas quanto à carga microbiana logo após a descontaminação e após 6 meses de estocagem, sendo mantidas em local seco e ao abrigo da luz, utilizando a metodologia descrita no item anterior (4.2.3).

4.5. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* DAS ARGILAS

4.5.1. Preparação do extrato

A determinação da citotoxicidade e da biocompatibilidade das argilas foi realizada no Laboratório de Genoma, Proteômica e Reparos de DNA da UCS pela análise de contato indireto, conforme métodos descritos na norma ISO 10993-5-2009-2 (INTERNATIONAL STANDARD, 2009). A solução de extração foi preparada utilizando 1000 µg·mL⁻¹ das argilas I, II, III e IV, e meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10 % de soro fetal bovino (SFB) e 1 % de penicilina/estreptomicina (P/S), realizou-se a sonicação de cada extrato durante 1 minuto em banho ultrassônico (Unique USC-1400A) a 37 °C com intensidade de frequência de 40 Khz (quilohertz). Incubou-se o meio de cultura em contato com as amostras de argila durante 24 h a 37 °C em 5 % de CO₂ para a obtenção da

solução de extração. Após, filtrou-se o extrato obtido com membranas de 0,45 e 0,22 μm para a realização dos ensaios.

4.5.2. Avaliação da viabilidade celular em queratinócitos

A viabilidade celular foi avaliada pelo método indireto do ensaio de MTT que é baseado na redução do MTT, brometo de 3- (4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), pela enzima desidrogenase mitocondrial, na formação de cristais de formazan (DENIZOLT; LANG, 1986). As células HaCat (queratinócitos) foram semeadas a uma densidade de 1×10^5 células/mL em 100 μL de meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10 % de soro fetal bovino (SFB) e 1 % de penicilina/estreptomicina (P/S). Após 48 horas, as células foram tratadas com a solução de extração das argilas I, II, III e IV nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ durante 24 e 48 horas. Para o controle negativo, utilizou-se meio de cultura DMEM (10 % de SFB e 1 % P/S) e para o controle positivo utilizou-se DMSO 5 % (dimetilsulfóxido). As amostras foram incubadas a 37 °C em 5 % de CO_2 , no mesmo tempo citado anteriormente. O meio foi removido e 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de MTT em meio isento de SFB e P/S foi adicionado aos poços. As placas foram incubadas a 37 °C durante 2 horas em atmosfera umidificada com 5 % de CO_2 . Subsequentemente, retirou-se a solução de MTT e dissolveu-se os cristais de formazan em 100 μL de DMSO. Realizou-se a leitura espectrofotométrica a 570 nm em um leitor de microplacas (espectros Max190, Molecular Devices) e os resultados foram expressos em porcentagem de viabilidade. A absorbância do controle negativo representou 100 % de viabilidade e os valores das células tratadas foram calculadas como porcentagem do controle. As alterações na viabilidade celular analisadas pelo método indireto foram observadas e documentadas, após 24 e 48 horas de exposição ao tratamento da amostra.

4.5.3. Ensaio de alteração morfológica

A morfologia celular da linhagem HaCat foi observada utilizando o método de coloração de Giemsa em microscópio invertido (NERSESYAN et al., 2006). As células

HaCat (queratinócitos) foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 1×10^5 células/mL com 100 μL de meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10 % de soro fetal bovino (SFB) e 1 % de penicilina/estreptomicina (P/S). Após 24 horas, as células foram tratadas com a solução de extração das argilas I, II, III e IV nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e incubadas a 37 °C em 5 % de CO_2 durante 24 e 48 horas. Para o controle negativo, utilizou-se meio DMEM (10 % de SFB e 1 % P/S) e para o controle positivo utilizou-se DMSO 5 % (dimetilsulfóxido) e incubou-se a 37 °C em 5 % de CO_2 , no mesmo tempo citado anteriormente. O meio foi removido e fixou-se as células com *May-Grunwald-Giemsa* durante um minuto e adicionou-se solução de Giemsa 1:10 (v/v) durante 10 minutos na mesma placa. Após, visualizou-se a placa em microscopia com ampliação de 200x.

4.5.4. Análise estatística

A significância estatística foi avaliada utilizando t-teste e análise de sentido único de variância (ANOVA) com o teste de comparação de múltiplas médias (Tukey) para avaliar as diferenças estatísticas. A significância foi aceita para p inferior a 0,05 utilizando o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, versão 19.0) para Windows.

4.6. AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DA ASSOCIAÇÃO DAS ARGILAS EM VEÍCULOS HIDROFÍLICOS

4.6.1. Preparação das formulações contendo argilas

Os veículos escolhidos para a preparação das formulações foram uma emulsão não iônica e um gel hidrofílico. Os dois veículos foram formulados para aplicação facial e foram preparados no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS.

A Tabela 1 apresenta a composição qualitativa e quantitativa da emulsão não iônica do tipo óleo/água (O/A). A emulsão foi preparada pelo método tradicional de preparação de

emulsões (BRASIL, 2005), no qual os componentes da fase oleosa e aquosa foram aquecidos separadamente até ± 80 °C. Após, verteu-se a fase aquosa sobre a oleosa com agitação contínua e vigorosa, em agitador magnético (Fisatom/752A) até o resfriamento. As argilas foram incorporadas, após o resfriamento da emulsão (40 °C), na concentração de 1 %. A faixa granulométrica das argilas utilizadas situou-se entre < 180 μm e o coletor.

Tabela 1. Composição da emulsão não iônica

Nome comercial	Componente (INCI*)	Função	(%)
Polawax®	<i>Emulsifying Wax NF</i>	Emulsificante	7,00
Monoestearato de glicerila	<i>Glyceryl Stearate</i>	Emulsificante	3,00
Oleato de isodecila	<i>Isodecylolate</i>	Emoliente	2,00
Adipato de diisopropila	<i>Diisopropyl adipate</i>	Emoliente	2,00
Óleo de macadâmia	<i>Macadamia Ternifolia Nut Oil</i>	Emoliente	0,50
Butilhidroxitolueno	<i>BHT</i>	Antioxidante	0,05
Propilparabeno	<i>Propylparaben</i>	Conservante	0,10
Propilenoglicol	<i>Propylene Glycol</i>	Umectante	2,00
Imidazolidiniluréia	<i>Imidazolidinyl Urea</i>	Conservante	0,60
Metilparabeno	<i>Methylparaben</i>	Conservante	0,10
Tween 20 (Polissorbato)	<i>Peg – 10 Sorbitan</i>	Tensoativo	0,50
Argila I, II, III ou IV	Clay	Ativo	1,00
Água destilada	<i>Aqua</i>	Veículo	Qsp

*INCI: *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient*

Qsp: quantidade suficiente para preparar 100g.

A Tabela 2 apresenta a composição qualitativa e quantitativa do gel hidrofílico. Inicialmente, foi preparada a dispersão do Aristoflex® em água. Uma mistura (M1) com o metilparabeno foi preparada dissolvendo-o em água quente. Outra mistura (M2) contendo butilhidroxitolueno e propilparabeno foi preparada a partir da dissolução das matérias-primas em óleo de amêndoas, com aquecimento até 40 °C. As misturas M1 e M2 foram adicionadas à dispersão do Aristoflex® e a mistura final foi deixada em repouso (24 horas) até a obtenção de um gel homogêneo. As argilas foram incorporadas no gel, após as 24 horas de repouso, na concentração de 1 %. A faixa granulométrica das argilas utilizadas situou-se entre < 180 μm e o coletor.

Tabela 2. Composição do gel

Nome comercial	Componente (INCI*)	Função	(%)
Aristoflex®	<i>Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer</i>	Controlador de viscosidade	0,50
Óleo de Amêndoas	<i>Sweet Almond Oil</i>	Emoliente	1,50
Butilhidroxitolueno	<i>BHT</i>	Antioxidante	0,05
Propilparabeno	<i>Propylparaben</i>	Conservante	0,10
Metilparabeno	<i>Methylparaben</i>	Conservante	0,10
Argila I, II, III ou IV	Clay	Ativo	1,00
Água destilada	<i>Aqua</i>	Veículo	Qsp

*INCI: *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient*

Qsp: quantidade suficiente para preparar 100g.

4.6.2. Caracterização físico-química e avaliação da estabilidade das formulações

A caracterização físico-química e a avaliação da estabilidade das formulações foram realizadas de acordo com o teste de estabilidade acelerado definido no Guia de Estabilidade da ANVISA (BRASIL, 2004). As formulações foram acondicionadas em frascos de parede dupla e armazenadas em temperatura ambiente (20 ± 2 °C), estufa (Tecnal modelo TE-393/1) a 45 ± 2 °C e geladeira (Continental modelo 470) a 2 ± 2 °C, durante um período de 90 dias. As formulações foram avaliadas em diferentes tempos, após terem sido preparadas, de acordo com o teste realizado, conforme descrito a seguir.

4.6.2.1. Determinação das características organolépticas

As características organolépticas fornecem parâmetros que permitem avaliar alterações nas formulações. Foram avaliados de forma visual o aspecto, a cor, o odor e a textura nos tempos 0, 15, 30, 60 e 90 dias, após a preparação das amostras. O teste foi realizado no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS.

4.6.2.2. Determinação do pH

A determinação do pH das formulações foi realizada pela dispersão dos géis e emulsões em água destilada (10 %, m/v), a 25 °C, em potenciômetro (Micronal modelo DM-20), calibrado com soluções pH 4,0 e 7,0 (BRASIL, 2010a). Os resultados correspondem à média de três medições e as amostras foram analisadas nos tempos 0, 15, 30, 60 e 90 dias.

O pH das argilas I, II III, e IV, também foi avaliado, no mesmo potenciômetro, com uma suspensão da argila em água destilada à 4 % (m/v), com posterior agitação magnética durante 2 minutos (MODABBERI et al., 2015). Os resultados se referem à média de três determinações, sendo a análise realizada logo após o preparo da suspensão.

O Polawax[®], cera autoemulsionante da emulsão não iônica, também teve seu pH determinado, no mesmo potenciômetro. Preparou-se uma suspensão do Polawax[®] em água

destilada à 3 % (m/v) (ALL CHEMESTRY, 2014). O resultado refere-se à média de três determinações realizadas logo após o preparo da suspensão.

Todos os testes referentes à determinação de pH foram realizados no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS.

4.6.2.3. Determinação do índice de acidez do óleo de macadâmia

A determinação do índice de acidez foi realizada no óleo de macadâmia presente na formulação da emulsão não iônica, com o intuito de verificar a ocorrência ou não de processo oxidativo na formulação. A metodologia foi realizada por titulação, em triplicata, utilizando método descrito na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010a) no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS. A partir dos resultados foi calculado o índice de acidez utilizando a Equação 2:

$$I_A = 5,610 \text{ n} / \text{m} \quad (2)$$

Sendo: I_A = índice de acidez; n = volume (mL) de hidróxido de potássio 0,1M gasto na titulação; m = massa de amostra em gramas

4.6.2.4. Determinação da espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade, que verifica a expansão de uma formulação semissólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo, foi realizada de acordo com metodologia previamente descrita na literatura por Borguetti e Knorst (2006) no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS. Para realização dos testes, uma placa molde circular, de vidro (diâmetro = 20 cm; espessura = 0,2 cm), com orifício central de 1,2 cm de diâmetro, foi posicionada sobre uma placa-suporte de vidro (20 cm x 20 cm) localizada sobre uma escala milimetrada e uma fonte luminosa. A amostra a ser analisada foi introduzida no orifício da placa molde e a superfície foi nivelada com auxílio de uma espátula. A placa molde foi retirada e sobre a amostra foi colocada uma placa de vidro de massa conhecida. Após um minuto, foi realizada a leitura dos diâmetros envolvidos pela

amostra, em duas posições opostas, com auxílio da escala do papel milimetrado. Posteriormente, foi calculado o diâmetro médio. Este procedimento foi repetido acrescentando-se sucessivamente outras placas, em intervalos de um minuto até que não fosse mais encontrada variação nos valores, obtendo-se a espalhabilidade de acordo com a Equação 3. Os resultados correspondem à média de três determinações. Este teste foi realizado nos tempos 0 e 90 dias.

$$E_i = d^2 \cdot \pi/4 \quad (3)$$

Sendo: E_i = espalhabilidade da amostra para um determinado peso i (mm^2); d = diâmetro médio (mm).

4.6.2.5. Avaliação da viscosidade e comportamento reológico

A viscosidade das formulações, que caracteriza reologicamente o sistema, foi avaliada com o auxílio de um viscosímetro rotacional (Marte, modelo MDV-20) *spindle* 4 no Laboratório de Farmacotécnica do Bloco S da UCS. Os valores da velocidade de rotação do *spindle* empregados foram 1; 1,16; 1,33; 1,5 e 1,66 s^{-1} para as emulsões e 0,83; 1; 1,16; 1,33 e 1,5 s^{-1} para os géis, de modo crescente e decrescente à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Os resultados correspondem à média de três determinações, sendo que as análises foram realizadas nos tempos 0 e 90 dias.

Os valores de viscosidade e velocidade de cisalhamento foram utilizados para obter a consistência (k) (consistência = viscosidade a 1 s^{-1}) e o índice de fluxo (n) através da Lei das Potências para fluidos (Equação 4). Os resultados foram modelados com auxílio do programa GraphPad Prism v. 6.01 (La Jolla).

$$\eta = k \dot{\gamma}^{n-1} \quad (4)$$

Sendo: η = η a viscosidade; $\dot{\gamma}$ = $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento.

4.6.2.6. Centrifugação

O teste de centrifugação foi realizado com o objetivo de prever possíveis instabilidades nas amostras pela simulação do aumento da força de gravidade. Em tubo de

ensaio cônico graduado para centrífuga (ALC Modeo PK 131) foi adicionado 1,0 g de cada amostra, pesado em balança semianalítica (Gehaka, Modelo BG 200) e submetido ao ciclo de 3000 rpm durante trinta minutos à temperatura ambiente (BRASIL, 2004). O teste foi realizado nos tempos 0 e 90 dias no Laboratório de Bioquímica do Bloco S da UCS.

4.6.2.7. Determinação do diâmetro de partículas/gotículas

A determinação do diâmetro das partículas dos géis e de partículas/gotículas das emulsões, que permite acompanhar o comportamento microscópico das partículas/gotículas em suspensão evidenciando fenômenos de instabilidade, foi realizada no Laboratório de Cosmetologia da UFRGS. O equipamento utilizado foi o Mastersizer 2000 (Malvern). O equipamento opera pelo espalhamento de Mie, utilizando um *laser* tipo diodo com comprimento de onda do feixe em 650 nm e um LED em 405 nm. A faixa de medidas é de 0,01 a 3000 μm . Uma alíquota da amostra foi diretamente adicionada na unidade úmida de análise do equipamento, sob agitação, contendo aproximadamente 150 mL de água destilada, de modo a obter uma obscuração entre 1 % e 8 %. O teste foi realizado nos tempos de 0 e 90 dias.

4.6.3. Análise estatística do pH, espalhabilidade, viscosidade e diâmetro de partículas/gotículas

Os resultados de pH, espalhabilidade, viscosidade e diâmetro de partículas foram analisados estatisticamente no *Minitab Statistic Software* versão 16.0 para Windows. Em relação ao parâmetro viscosidade utilizou-se para análise estatística os valores modelados referentes à consistência (k), valores após 90 dias de armazenamento e calculados com a equação 5. Para o parâmetro espalhabilidade os valores utilizados para análise referiram-se à espalhabilidade final, ou seja, após a adição da última placa e ao final dos 90 dias de armazenamento. Para o pH e o diâmetro de partículas/gotículas utilizou-se os valores finais, ou seja, após os 90 dias de armazenamento.

Para todos os testes foi utilizado desenho experimental fatorial completo com 3 fatores (tipo de argila, formulação e acondicionamento), sendo 5 níveis para tipo de argila, 2 níveis para formulação e 3 níveis para acondicionamento, resultando em um total de 30 experimentos. Para os testes de pH e espalhabilidade, cada um dos testes foi realizado em triplicata ($n = 3$), de maneira que o n total foi $30 \times 3 = 90$. Para a viscosidade, como foram utilizados os valores modelados referentes à consistência (k), o n total foi de 30. Para o diâmetro de partículas realizou-se apenas uma leitura de cada amostra, sendo o n total de 30.

A estabilidade percentual das formulações de géis e emulsões foi determinada para o parâmetro de viscosidade, através dos resultados obtidos de consistência (k), e para o parâmetro de diâmetro de partículas, para melhor elucidar os resultados encontrados. Os valores iniciais e finais de consistência e de diâmetro foram relacionados de acordo com as Equações 5 e 6, respectivamente, obtendo-se, portanto, um valor de estabilidade em percentual (%). Foram consideradas estáveis as formulações que apresentaram valores de Estabilidade (%) dentro da faixa de 90 – 110 % (BRASIL, 2004).

$$\text{Estabilidade (\%)} \text{ consistência} = (\text{Valor final} / \text{Valor inicial}) \times 100 \quad (5)$$

$$\text{Estabilidade (\%)} \text{ diâmetro} = (\text{Valor final} / \text{Valor inicial}) \times 100 \quad (6)$$

4.7. AVALIAÇÃO DA IRRITABILIDADE DÉRMICA *IN VIVO* DAS FORMULAÇÕES DE GEL HIDROFÍLICO

O teste de irritabilidade dérmica foi realizado pela empresa Allergisa (São Paulo/SP Brasil). O objetivo do teste foi comprovar a ausência de potencial de irritação primária e acumulada e sensibilização cutânea de um produto aplicado na pele em condições maximizadas. A área de aplicação e a quantidade de produto aplicado foram controlados e todo o teste foi acompanhado por um médico dermatologista.

O teste foi realizado com 53 voluntários usando o método *patch test*. O produto foi distribuído sobre um disco de papel de filtro do teste de contato devidamente identificado e o controle, em outro disco, também identificado, ambos foram fixados na área escapular e no dorso direito ou esquerdo dos participantes da pesquisa. As aplicações foram realizadas três vezes por semana, durante três semanas consecutivas (período de indução). Durante a semana,

o produto permaneceu em contato com a pele por 48h entre as aplicações, e aos finais de semana, por 72 horas. Após cada retirada do produto, a área foi avaliada e foi reaplicado o produto sempre no mesmo local. Após o período de indução, houve um período de repouso de 10 dias, quando nenhum *patch* foi aplicado. Após o período de repouso, o produto e controle foram novamente aplicados permanecendo por um período de 48 horas em contato com a pele (período desafio). O produto foi removido e a área avaliada aproximadamente após 30 minutos e 24 horas. Os participantes da pesquisa foram acompanhados por médico dermatologista durante todo o estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS ARGILAS

5.1.1. Análise química elementar

A composição química das argilas foi determinada por fluorescência de raios X (FRX), cujos resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Composição química das argilas I, II, III e IV

Óxido (peso%)	Argila I	Argila II	Argila III	Argila IV
Fe	7,50	4,60	5,10	2,20
Si	48,10	53,40	55,80	54,60
Al	28,00	27,50	26,00	26,00
Mn	0,30	0,10	0,10	-
S	0,10	0,10	-	-
K	0,30	3,10	3,10	3,50
Ca	0,10	0,10	0,10	0,60
Ti	1,20	0,40	0,60	0,80
Zr	0,10	-	-	-
P	0,20	0,10	0,10	0,10
Mg	0,10	0,10	0,20	0,10
Ba	-	-	0,10	0,10
Rb	-	0,10	-	-
Na	0,90	-	-	-
PF*	11,10	1,40	8,80	1,80
% inorgânica	88,70	89,60	91,20	98,10
Total	99,80	100,00	100,00	99,90

*PF = perda ao fogo

Os resultados da Tabela 3 mostram que os elementos Si, Al, Fe e K estão em maior proporção nas amostras estudadas. A análise individual de cada uma das argilas evidencia que a maior concentração de Si foi encontrada na argila III. Em relação ao Fe, a maior concentração obtida foi na argila I. Avaliando a quantidade de K entre as quatro amostras é possível perceber que as argilas IV, II e III são as que apresentam a maior proporção deste mineral, respectivamente. O Al está presente nas quatro amostras em concentrações semelhantes.

Segundo Carretero e Pozzo (2010), a presença de Si em grande quantidade indica que a argila pode ser usada na reconstituição de tecidos cutâneos, além de proporcionar uma ação hidratante e redução de possíveis processos inflamatórios na pele. O Al foi o segundo elemento encontrado em maior quantidade nas argilas. A presença deste mineral é relevante para matérias-primas de aplicação cosmética uma vez que ele é conhecido por sua atividade cicatrizante, antisséptica, hidratante e adstringente (CARRETERO; POZZO, 2010).

Os resultados demonstraram variabilidade na concentração dos componentes nas diferentes amostras de argila estudadas, o que pode ser explicado pelo fato das argilas terem sido coletadas em diferentes locais do estado de São Paulo. Na área cosmética, a aplicação das argilas está diretamente relacionada com sua composição química e mineralógica. Argilas que apresentam teores de Fe, Si, Al, Ca, Ti e K, podem ser utilizadas para ação bactericida, regeneradora e antisséptica contribuindo para a renovação celular, adsorção de impurezas, revigoramento dos tecidos e ativação da circulação sanguínea (CARRETERO; POZZO, 2010).

5.1.2. Difração de raios X

Na Figura 11 estão os difratogramas das amostras de argila I, II, III e IV.

De acordo com os difratogramas obtidos, foram observadas para todas as amostras de argila natural reflexões típicas da caulinita, $[\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4]$. As amostras II, III e IV apresentaram também ilita, $(\text{K},\text{H}_3\text{O})(\text{Al},\text{Mg},\text{Fe})_2(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_{10}[(\text{OH})_2,\text{H}_2\text{O}]$, cuja presença foi comprovada pelos picos desse material após as amostras terem sido calcinadas a 500 °C. A argila III apresentou esmectita (natural) e ilita, cujos picos ficaram sobrepostos na amostra calcinada ($d = 9,99$). Em um estudo realizado por Khiari et al. (2014) a presença de caulinita e ilita na mesma amostra foi identificada em argilas marrons originárias da Tunísia para aplicação cosmética. O mesmo estudo relata a existência de argilas com multifaces, como a argila III, com a presença de ilita, caulinita e esmectita, entre outros tipos de argila em menor proporção (KHIARI et al., 2014).

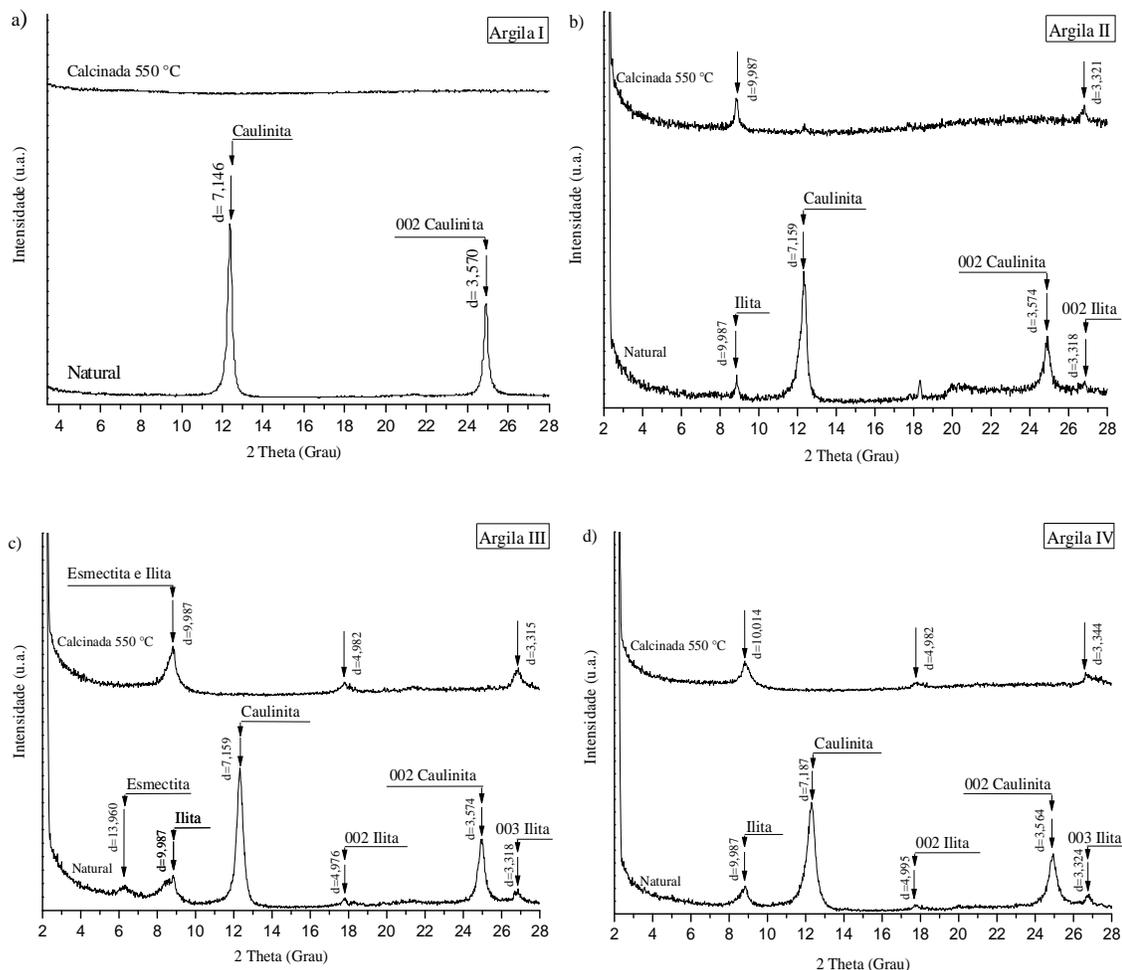


Figura 11. DRX das amostras orientadas: natural e calcinada a 550°C, a) argila I, b) argila II, c) argila III e d) argila IV.

5.1.3. Distribuição do tamanho de partículas por análise granulométrica e determinação do tamanho de partículas por dispersão a laser

Na Figura 12 está o gráfico com a distribuição granulométrica das partículas das argilas. Verifica-se maior fração retida das partículas na faixa $\geq 710 \mu\text{m}$. Cabe ressaltar que os fragmentos depositados nessa faixa eram compactos e rígidos, porém passíveis de trituração. Nas faixas das malhas seguintes, observa-se que a segunda faixa com maior quantidade de partículas retiradas foi $\leq 180 \mu\text{m}$.

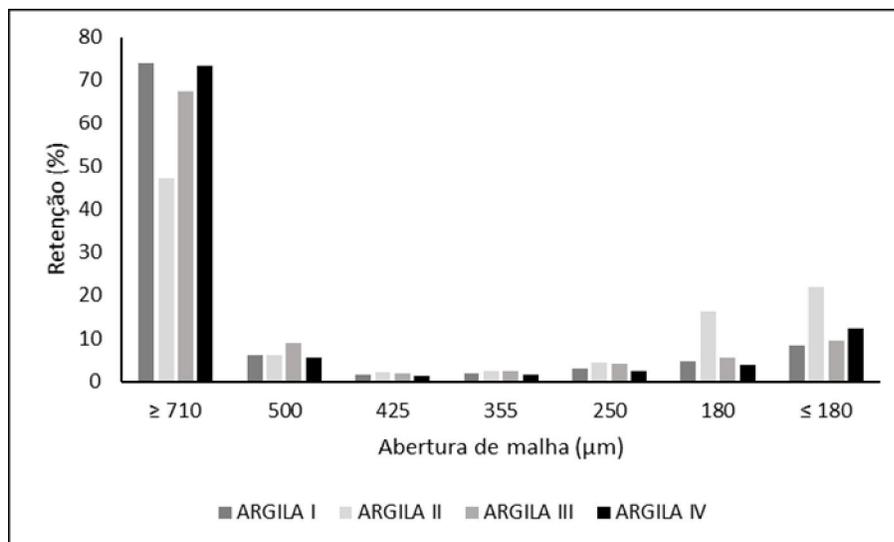


Figura 12. Distribuição do tamanho de partículas das argilas I, II, III e IV por análise granulométrica realizada por tamisação.

A distribuição granulométrica por dispersão a laser foi realizada para as partículas na faixa $\leq 180 \mu\text{m}$ e os resultados estão apresentados na Tabela 4. Observa-se que as argilas I, III e IV apresentaram diâmetro de partícula médio inferior a $10 \mu\text{m}$, enquanto a argila II apresentou um tamanho de partícula médio de $24,1 \mu\text{m}$.

Tabela 4. Distribuição granulométrica das amostras de argila na faixa granulométrica $\leq 180 \mu\text{m}$

Amostras	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	D _{médio} (μm)
Argila I	0,80	2,10	8,30	3,60
Argila II	2,10	19,40	53,80	24,10
Argila III	1,03	5,30	15,70	6,90
Argila IV	1,10	5,50	26,10	9,70

O conhecimento das características granulométricas das matérias-primas é essencial nas etapas de pré-formulação de produtos cosméticos. É possível evidenciar na literatura (POESIN et al., 2003) que dependendo da granulometria do pó a sua aplicabilidade pode variar. Pós mais finos possuem maior adesividade cutânea e promovem maior suavidade quando aplicados na pele. Um exemplo de que o tamanho de partícula influencia na propriedade dos pós é o estudo realizado por Poensin e colaboradores (2003), que demonstrou que o uso de produtos para aplicação tópica, contendo em sua composição argila com tamanho médio de partículas em torno de $74 \mu\text{m}$, fornece resultados promissores em relação ao incremento do fluxo sanguíneo na região aplicada. As argilas em estudo apresentaram partículas com tamanho médio entre $3,6$ e $24,1 \mu\text{m}$, sendo que esse reduzido tamanho das

partículas sugere sua aplicação em cosméticos, pois de acordo com a literatura, partículas menores que $63\ \mu\text{m}$ podem ter efeito anti-inflamatório e podem auxiliar na hidratação da pele, retendo umidade devido à aderência elevada na pele (DÁRIO et al., 2014).

5.1.4. Análise térmica

A Figura 13 ilustra a análise termogravimétrica (TG/ATD) para as amostras de argila. Os resultados da termogravimetria (TG) estão apresentados na Figura 13a e da análise térmica diferencial (ATD) na Figura 13b.

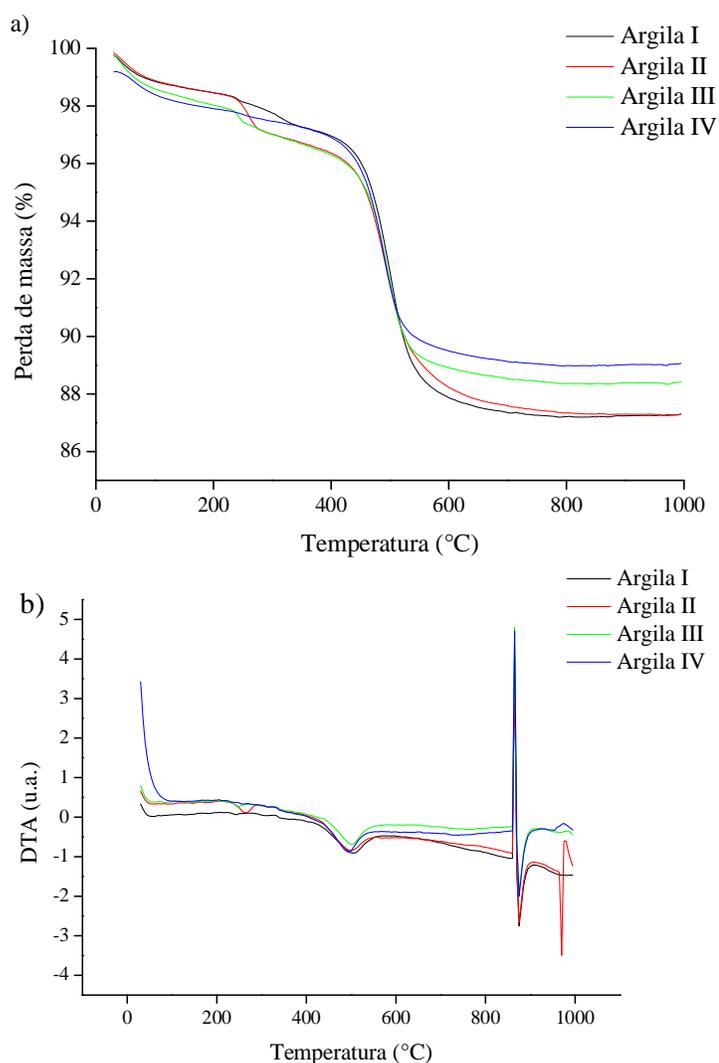


Figura 13. Curvas termogravimétricas das amostras: a) análise termogravimétrica e b) análise térmica diferencial.

Tanto as curvas TG quanto as curvas ATD são simétricas na perda de água estrutural. Para a argila I, que contém caulinita, a perda de água correspondeu à água adsorvida ligada fracamente às partículas da superfície, ocorrida a, aproximadamente, 175 °C, enquanto a 540 °C a reação de desidroxilação começou e a 600 °C a metacaulinita foi formada. O fenômeno de desidroxilação da caulinita foi observado na análise térmica diferencial entre 517 e 537 °C, quando a desidroxilação da estrutura da caulinita $[Al_2Si_2O_5(OH)_4]$ gerou uma fase metaestável metacaulinita $[Al_2Si_2O_7]$ (QTAITAT; AL-TRAWNEH, 2005).

As curvas TG das argilas apresentam perdas de massas na faixa de temperatura entre 100 °C e 300 °C, da ordem de 2 a 5 %, sugerindo que esta perda ocorreu devido a liberação de moléculas de água presas nos canais e/ou na superfície das argilas. Apenas pequenas quantidades de água são liberadas abaixo de 265 °C. Um ponto de inflexão ocorreu em 265 °C na curva de equilíbrio térmico, mas a perda de água não foi rápida, até, aproximadamente, 460 °C. Entre 840 °C e 920 °C (pico endotérmico), ocorreu uma rápida transição/reação provavelmente devido ao início da sinterização do material e mudança de estrutura cristalina. De maneira geral, os argilominerais apresentam comportamentos térmicos semelhantes, quanto à perda de água e as transformações de fases.

5.1.5. Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de *Fourier* (FTIR)

Os espectros de infravermelho para todas as amostras de argila estão apresentados na Figura 14a e 14b e na Tabela 5.

Os espectros de infravermelho para todas as amostras de argila são muito semelhantes. Em concordância com os dados de DRX, a argila I (Figura 11) contém apenas caulinita. Para a caulinita as bandas acima de 3626 cm^{-1} (3693 , 3669 e 3652 cm^{-1}) são do estiramento vibracional das ligações O–H das hidroxilas da superfície externa, enquanto a banda de 3621 cm^{-1} é o estiramento vibracional da hidroxila do interior. Entre 1100 e 400 cm^{-1} são observadas bandas de Si–O da caulinita. Bandas em 941 e 910 cm^{-1} correspondem ao estiramento da ligação Al–OH–Al (DONTOSOVA et al., 2004; MADEJOVÁ, 2003; QTAITAT; AL-TRAWNEH, 2005; WORASITH et al., 2011).

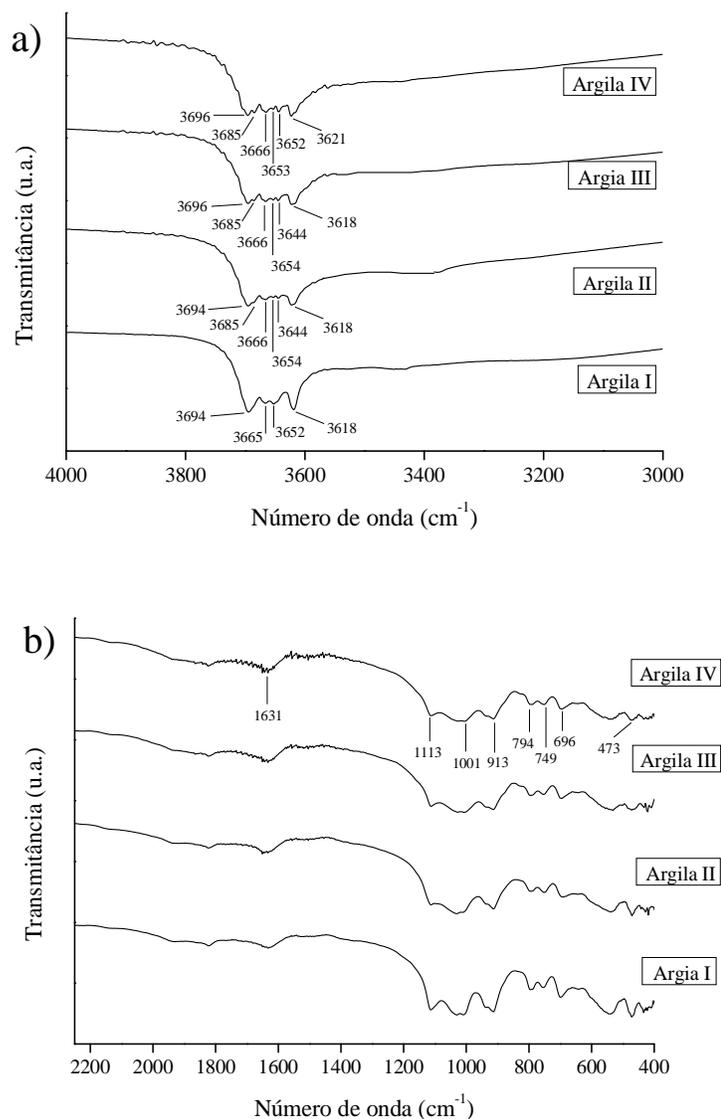


Figura 14. Espectro infravermelho para as amostras de argila (I, II, III e IV): a) região entre 4000 e 3300 cm⁻¹; b) região entre 1900 e 400 cm⁻¹.

Os espectros de infravermelho das argilas II, III e IV mostraram a presença de caulinita e ilita com as bandas 3693 e 3621 cm⁻¹; na região 3693 cm⁻¹ ocorreu sobreposição de bandas de ambas, caulinita e ilita (HAMMAMI-BEN ZAIED et al., 2015; OINUMA; HAYASHI, 1965). A absorção de bandas em 1651 cm⁻¹ está relacionada ao estiramento da ligação O-H da água. A argila III mostrou a presença de esmectita, além de caulinita e ilita (FROST; MENDELOVICI, 2006; MADEJOVÁ, 2003; MAKÓ et al., 2006; OINUMA; HAYASHI, 1965) em concordância com o que foi encontrado na DRX.

Tabela 5. Frequências de FTIR e atribuição em amostras de argila.

Argila I	Argila II	Argila III	Argila IV	Atribuição*
Número de onda (cm ⁻¹)				
3694	3694	3696	3696	VO-H
3665	3685	3685	3685	
3652	3666	3666	3666	
3618	3654	3654	3653	
	3644	3644	3652	
	3618	3618	3621	
1627	1643	1632	1631	δ _{O-H}
1110	1113	1113	1113	V _{Si-O}
1031	1037	1035	1031	
1011	1007	1008	1011	
941	930	945	941	δ _{Al-OH-Al}
910	918	910	913	
793	789	796	794	V _{Si-O}
750	750	751	749	
696	694	698	696	
648	646	647	648	

v = estiramento; δ = deformação. (*Referências: Campos et al., 2013; Dontsova et al., 2004; Frost; Mendelovici, 2006; Hammami-Ben Zaided et al., 2015; Madejová, 2003; Makó et al., 2006; Nzeukou et al., 2013; Oinuma; Hayashi, 1965; Qtaitat; Al-Trawneh, 2005; Worasith et al., 2011).

5.1.6. Avaliação da área superficial

Na avaliação da área superficial (Tabela 6), a amostra de argila III apresentou o maior valor, seguida da argila IV, argila I e argila II, respectivamente.

Tabela 6. Avaliação da área superficial das argilas.

Amostra	Argila I	Argila II	Argila III	Argila IV
Área superficial (m ² ·g ⁻¹)	28,74	22,80	38,57	30,67

De acordo com dados da literatura, a caulinita possui uma área superficial em torno de 7 a 30 m²/g. A illita geralmente apresenta área superficial entre 67 e 100 m²/g e a esmectita possui uma área superficial que varia de 650 a 800 m²/g. (DIAMOND; KINTER, 1960). Os valores encontrados nas amostras analisadas ficaram entre 22 e 38 m²/g, semelhantes aos valores especificados para caulinita, sugerindo que houve a prevalência da área superficial da caulinita em todas as argilas, pois ela foi encontrada nas amostras de argila estudadas, de acordo com os resultados de DRX (Figura 11).

A área superficial de amostras de argila está diretamente relacionada com a mineralogia da fração de argila presente e, essas duas propriedades influenciam a adsorção de minerais pela amostra. A porosidade das partículas também pode influenciar na área superficial, pois microporos, quando estão em grande quantidade na amostra, podem contribuir expressivamente para o aumento da área superficial do sólido (CESSA et al., 2009).

A argila III apresentou a maior área superficial e um pequeno diâmetro de partícula (6,9 μm) em comparação com as demais amostras analisadas, o que pode conferir a ela alta capacidade de adsorção. Essas características indicam uma aplicação promissora desta argila na área cosmética. Minerais com grande área superficial possuem partículas porosas ou rugosas que aderem à pele formando um filme e fornecendo proteção mecânica. Além disso, são capazes de reter a oleosidade da pele contribuindo para uma capacidade secativa e cicatrizante, podendo ser utilizados em cremes, pós e emulsões (CARRETERO; POZO, 2009; CARRETERO; POZO, 2010).

5.1.7. Microscopia Eletrônica de Varredura

Nas imagens da microscopia eletrônica de varredura evidenciou-se a estrutura em camadas característica das argilas (Figura 15). Para todas as argilas é possível verificar a presença de caulinita na forma de cristais pseudo-hexagonais em formato de lamelas, além de cantos definidos característicos da estrutura da caulinita, como se observa nas Figuras 15a (aumento de 80.000 vezes e escala de 1 μm) e 15a' (aumento de 20.000 e escala não especificada), referentes à amostra argila I e uma amostra da literatura contendo caulinita (DE OLIVEIRA et al., 2007; GUERRA et al., 2008).

Na argila II (Figura 15b – 80.000 de aumento e escala de 1 μm) também foi possível observar a presença de haloisita, apesar dessa fase não ter sido observada nas demais caracterizações (DRX, FTIR), provavelmente devido à baixa concentração desse argilomineral. A morfologia tubular, esférica e na forma de cones observada em algumas estruturas da argila II são semelhantes às encontradas na Figura 15b' (66.700 de aumento e escala de 1 μm), contendo um exemplo de amostra com a argila haloisita, caracterizando essa fase da argila (DE OLIVEIRA et al., 2007; GUERRA et al., 2008).

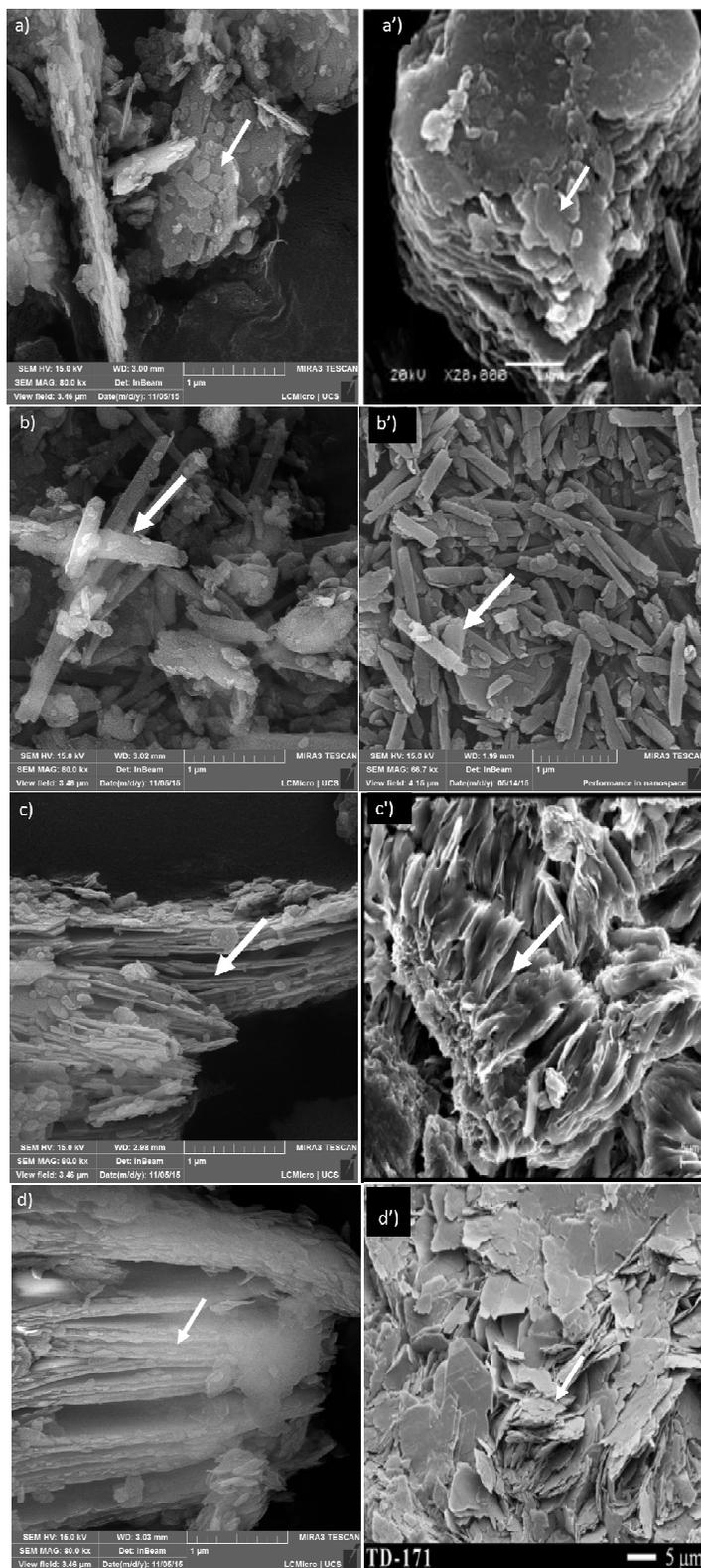


Figura 15. Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras a) argila I; a') exemplo de argila contendo caulinita; b) argila II; b') exemplo de argila contendo haloisita; c) argila III; c') exemplo de argila contendo esmectita; d) argila IV; d') exemplo de argila contendo illita.

Na argila III (Figura 15c – aumento de 80.000 vezes e escala de 1 μm) observou-se a presença de esmectita devido às ondulações que indicam o empilhamento das folhas muito extensas ou morfologia tipo rosa ou roseta. Na Figura 15b' (aumento de 20.000 vezes e escala de 5 μm) é possível verificar a semelhança das estruturas com as encontradas na argila III, confirmando a fase esmectita nessa amostra, observada por DRX e FTIR (PAZ et al., 2011).

Na argila IV (Figura 15d – aumento de 80.000 vezes e escala de 1 μm) observou-se a presença de caulinita e illita. As estruturas em camadas observadas na Figura 15d' (aumento não especificado e escala de 5 μm) são semelhantes às encontradas para a argila IV confirmando a presença de illita na amostra em estudo (BOZKAYA et al., 2016).

5.2. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ARGILAS

A Tabela 7 apresenta os resultados microbiológicos obtidos para todas as amostras analisadas de acordo com a biocarga inicial, assim como os parâmetros aceitos pela legislação brasileira de cosméticos, a Resolução nº 481/99 (BRASIL, 1999), que são os mesmos aceitos pela Farmacopeia Britânica (BRITISH PHARMACOPEIA, 2008).

Tabela 7. Contagem de microrganismos da biocarga inicial das amostras de argila

Amostras	Bactérias Mesófilas (UFC*/g)	Bolores e Leveduras (UFC*/g)	Especificação**
I	$> 3,0 \times 10^5$	$1,6 \times 10^2$	
II	$1,2 \times 10^5$	$2,1 \times 10^2$	No máximo
III	$> 3,0 \times 10^5$	$1,6 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$ UFC/g
IV	$2,4 \times 10^5$	$1,6 \times 10^2$	

* UFC = Unidades Formadoras de Colônias (valor estimado)

** Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999 da ANVISA

OBS: Coliformes fecais, coliformes totais e pesquisa de patógenos = ausente em 1 g.

Todas as amostras analisadas apresentaram não conformidade no ensaio de contagem de bactérias mesófilas por apresentarem níveis mais altos do que os permitidos para este parâmetro, segundo a legislação considerada (BRASIL, 1999; BRITISH PHARMACOPEIA, 2008). O resultado encontrado já era esperado, uma vez que as amostras do estudo foram oriundas do resíduo da extração de areia utilizada para construção civil. Essas argilas foram removidas do fundo de rios e lagoas. Em ambientes aquáticos são encontrados animais, plantas e conseqüentemente microrganismos responsáveis pelo equilíbrio do ecossistema aquático e a matéria orgânica presente na composição química das argilas, serve de alimento

para algumas espécies, ou como substrato para os agentes de decomposição (MOLLA et al., 1996).

Nos testes microbiológicos da biocarga inicial das amostras não foi observada a presença de microrganismos patogênicos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, bem como de coliformes fecais e totais, estando as amostras de acordo com os parâmetros considerados (BRASIL, 1999; BRITISH PHARMACOPEIA, 2008).

Na Tabela 8 encontram-se os resultados microbiológicos das amostras de argila logo após o processo de descontaminação utilizando a associação de álcool 70 °GL e calor seco, e após 6 meses da realização do processo.

Tabela 8. Contagem de microrganismos das amostras de argila logo após a descontaminação com álcool 70 °GL e calor seco e após 6 meses

Amostras	Bactérias		Bolores e Leveduras (UFC*/g) ^{1,2}	Especificação**
	Mesófilas (UFC*/g) ¹	Mesófilas (UFC*/g) ²		
I	< 1,0 x 10 ¹	4,3 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	
II	< 1,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ¹	No máximo
III	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ³ UFC/g
IV	< 1,0 x 10 ¹	3,2 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	

1 = após a descontaminação; 2 = após 6 meses da descontaminação

* UFC = Unidades Formadoras de Colônias (valor estimado)

** Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999 da ANVISA

OBS: Coliformes fecais, coliformes totais e pesquisa de patógenos = ausente em 1 g.

Todas as amostras estão de acordo com as especificações estabelecidas. Novamente, não foi detectada a presença dos microrganismos patogênicos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, bem como de coliformes fecais e totais (BRASIL, 1999; BRITISH PHARMACOPEIA, 2008). Porém, observa-se um aumento no número de bactérias mesófilas após 6 meses da descontaminação inicial. Esse aumento pode ter ocorrido, por se tratar de um processo de descontaminação onde são eliminados os patógenos na sua forma vegetativa (não formadores de esporos), mas não se promove a destruição dos esporos, como ocorreria em uma esterilização. Dessa forma, bactérias que estavam em seu período de latência e com a presença de esporos, podem ter se desenvolvido durante os 6 meses de estocagem (MORIYA; MÓDENA, 2008).

Analisando as amostras antes e após o processo de descontaminação, utilizando a associação de álcool 70 °GL e calor seco, foi possível observar uma diminuição do crescimento de microrganismos, ocorrendo menor número de colônias bacterianas nas placas contendo meios de cultivo após a descontaminação (Figura 16). Observa-se, ainda, que a

coloração do meio de cultura antes da descontaminação estava mais clara, provavelmente pelo fato das amostras conterem bactérias, que utilizaram os nutrientes presentes no meio de cultivo para os seus processos metabólicos, retirando assim, os macronutrientes e micronutrientes do meio de cultura, tornando-o mais pálido (MA et al., 2014).

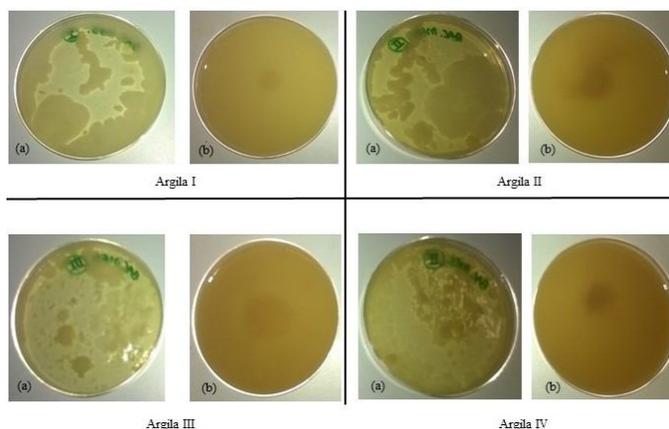


Figura 16. Teste microbiológico de bactérias mesófilas (a) antes e (b) após a descontaminação com álcool 70 °GL e calor seco.

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados dos testes microbiológicos realizados após o método de descontaminação com calor seco e após 6 meses da realização do processo.

Tabela 9. Contagem de microrganismos das amostras de argila logo após a descontaminação com calor seco e após 6 meses

Amostras	Bactérias	Bolores e Leveduras		Especificação**
	Mesófilas (UFC*/g) ^{1,2}	(UFC*/g) ¹	(UFC*/g) ²	
I	< 1,0 x 10 ¹	3,0 x 10 ⁰	< 1,0 x 10 ¹	No máximo 5,0 x 10 ³ UFC/g
II	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	
III	< 1,0 x 10 ¹	2,6 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	
IV	< 1,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ⁰	< 1,0 x 10 ¹	

1 = após a descontaminação; 2 = após 6 meses da descontaminação

* UFC = Unidades Formadoras de Colônias (valor estimado)

** Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999 da ANVISA

OBS: Coliformes fecais, coliformes totais e pesquisa de patógenos = ausente em 1 g.

Em comparação com a biocarga inicial das amostras de argila (Tabela 7) é possível verificar que ocorreu uma redução nos níveis de bactérias mesófilas, bolores e leveduras para valores aceitáveis pela legislação brasileira considerada, tanto logo após o processo quanto depois de 6 meses do armazenamento. Nas amostras analisadas após 6 meses de estocagem, percebe-se um aumento no número de bolores e leveduras para as argilas I e IV, como também foi observado para bactérias mesófilas nas amostras descontaminadas com a associação de métodos. Em ambos os casos, por se tratar de um processo de descontaminação, no qual os patógenos na forma vegetativa são destruídos, os esporos podem permanecer e se

desenvolver durante o período de armazenamento (TORTORA et al., 2012). Porém, na argila III houve uma diminuição no número de bolores e leveduras, o que pode ser explicado pela insuficiência de substratos, como carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo, oxigênio, entre outros, para a manutenção dos microrganismos que já estavam presentes na amostra (TORTORA et al., 2012). Mesmo assim, em ambas as situações os valores encontrados ficaram dentro dos valores estabelecidos pela legislação brasileira de cosméticos.

Os resultados obtidos demonstraram que ambos os processos de descontaminação utilizados foram efetivos visto que ocorreu uma redução da carga microbiana presente nas amostras, tornando-as adequadas às especificações descritas na Resolução nº 481/99 (BRASIL, 1999) e na Farmacopeia Britânica (BRITISH PHARMACOPEIA, 2008).

Para a descontaminação de superfícies hospitalares, é indicada a aplicação de três seqüências de solvente. Dessa forma, visando à diminuição da carga microbiana, aplicou-se esse método para as amostras de argila. A lavagem das amostras com álcool etílico 70 °GL foi realizada três vezes, sem reutilização do solvente, propiciando sua maior penetração nas amostras e, conseqüentemente, inativação dos microrganismos (BRASIL, 2010a; SAX et al., 2009).

O álcool etílico é um antisséptico com ação germicida quase imediata, sendo a sua concentração eficaz em torno de 70 a 92 % (p/p). Seu mecanismo de ação está relacionado à coagulação das proteínas das bactérias, sendo considerado um bactericida, além de fungicida e virucida seletivo e, portanto, utilizado na composição de outros antissépticos (MORIYA; MÓDENA, 2008; WEBER et al., 2010).

O calor seco, embora seja um método moroso e de elevado gasto energético, quando comparado ao etanol é vantajoso pela capacidade de penetração do calor nas células bacterianas, causando sua morte por oxidação celular, sendo considerado um método de esterilização (HONG; KANG, 2016). De acordo com Moriya e Módena (2008) a condição de referência para o calor seco é de 160 °C por, pelo menos, 2 horas ou combinações distintas de tempo e temperatura desde que testada a eficácia do processo escolhido. O método de calor seco foi estudado por Hong e Kang (2016), com o intuito de inativar a *Salmonella typhimurium* em sementes de alfafa. As sementes de alfafa inoculadas foram tratadas com calor seco a 60 °C, 70 °C e 80 °C por 0, 12, 18 e 24 horas isolado e seguido de solução de peróxido de hidrogênio a 2 % (v/v) (10 minutos). As populações de salmonela nas sementes de alfafa tratadas com calor seco isolado (60 °C, 70 °C e 80 °C) por 24 horas foram reduzidas em 0,26 e 2,76 log UFC/g, e o tratamento associado reduziu as populações em 1,66 e 3,60 log UFC/g.

A associação do álcool etílico 70 °GL com o calor seco mostrou-se uma combinação efetiva para a realização do processo de descontaminação nas amostras testadas. O estudo de Hong e Kang (2016) comprovou que a associação de técnicas é mais eficaz do que as técnicas utilizadas de forma isolada, pois demonstrou uma redução maior da biocarga inicial das argilas. A utilização de calor seco isolado provou também ser uma alternativa para o processo de descontaminação das argilas, visto que, apesar de ter alto gasto energético, elimina a utilização de solvente não gerando resíduos para o meio ambiente. Tendo em vista que a descontaminação apenas com calor seco foi efetiva, este foi o método de escolha para futuras descontaminações, por evitar a utilização de solvente tornando o processo mais rápido e sem formação de resíduos.

5.3. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* DAS ARGILAS

Um produto cosmético precisa ser seguro aos usuários em condições normais ou razoavelmente previsíveis de seu uso. Desde modo, todos os componentes de uma formulação cosmética devem ser utilizados em um nível de concentração que possua uma margem de segurança adequada. Conforme a legislação vigente em nosso país, (BRASIL, 2012) torna-se indispensável o conhecimento dos componentes da formulação para avaliar o risco potencial de um produto em desenvolvimento, já que podem ser os responsáveis por efeitos locais e sistêmicos.

As argilas em estudo, antes de serem utilizadas para fins cosméticos, precisam ter seu risco à toxicidade avaliado. Assim, realizou-se o ensaio de contato indireto MTT, brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), com as amostras de argilas I, II, III e IV, providas de resíduos da extração de areia e descontaminadas por calor seco, afim de se obter uma investigação detalhada da atividade citotóxica do material. Esta metodologia avalia a atividade mitocondrial de conversão de MTT em cristais de formazan por células viáveis. Este ensaio é amplamente utilizado para medir o potencial citotóxico de fármacos em linhagens celulares estabelecidas ou em culturas primárias e secundárias (VAN MERLOO et al., 2011).

As Figuras 17 e 18 ilustram um comparativo do efeito citotóxico das argilas utilizadas neste estudo e controles negativo e positivo, quando expostas às células HaCat durante o período de 24 e 48 horas, respectivamente. Após 24 horas de tratamento, verificou-se que todas as amostras de argila permaneceram acima dos 75 % de viabilidade celular,

resultado que indica reduzida atividade citotóxica nas concentrações testadas no ensaio, fato que não se observou no controle positivo (DMSO 5 %), o qual apresentou viabilidade reduzida de 62,03 %. A argila II foi a que apresentou a maior redução da viabilidade celular, 81,24 % na concentração de 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Porém, demonstrou-se com viabilidade superior a 70 % conforme preconizado pela ISO (INTERNATIONAL STANDARD, 2009), caracterizando-a como possível produto não citotóxico.

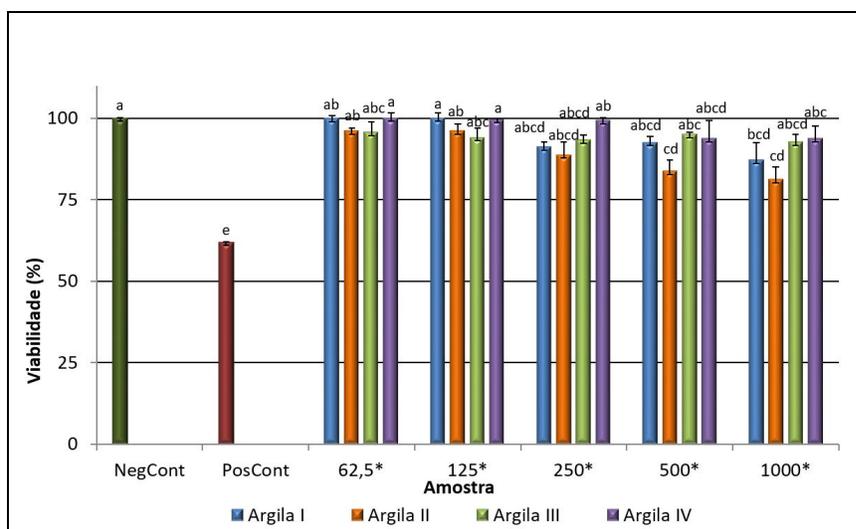


Figura 17. Efeito citotóxico dos extratos de argilas em 24 horas.

(Células HaCat foram tratadas por 24 horas com o extrato obtido. NegCont (controle negativo): células tratadas com meio de cultura. PosCont (controle positivo): células tratadas com dimetilsulfóxido 5 %. *Concentração em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os resultados foram obtidos de três experimentos independentes. Cada barra representa a porcentagem média de viabilidade \pm DP (desvio padrão) relativo ao controle negativo, que representou 100 % de viabilidade. As letras diferentes correspondem a diferença estatisticamente significativa, usando ANOVA-teste Tukey ($p \leq 0,05$)).

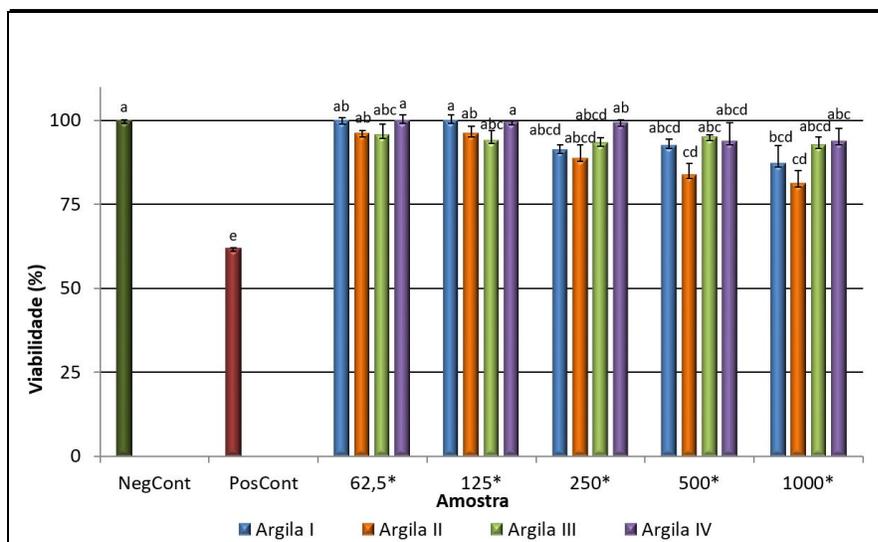


Figura 18. Efeito citotóxico dos extratos de argilas em 48 horas.

(Células HaCat foram tratadas por 48 horas com o extrato obtido. NegCont (controle negativo): células tratadas com meio de cultura. PosCont (controle positivo): células tratadas com dimetilsulfóxido 5 %. *Concentração em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os resultados foram obtidos de três experimentos independentes. Cada barra representa a porcentagem média de viabilidade \pm DP (desvio padrão) relativo ao controle negativo, que representou 100 % de viabilidade. As letras diferentes correspondem a diferença estatisticamente significativa, usando ANOVA-teste Tukey ($p \leq 0,05$)).

Após 48 horas de tratamento, verificou-se uma redução na viabilidade celular de todas as amostras, comparada aos resultados de 24 horas, evidenciando que o tempo de exposição pode influenciar na viabilidade. Novamente, a argila II, após o tratamento de 48 horas, foi a que apresentou maior redução da viabilidade celular 76,97 % na concentração de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Do mesmo modo, também foi observada viabilidade celular reduzida para o controle positivo (DMSO 5 %) de 24,44 %. É importante ressaltar que todas as amostras expostas a argila permaneceram com viabilidade celular superior a 75 %, indicando novamente reduzida atividade citotóxica das amostras, nas concentrações e parâmetros testados.

Os resultados de alteração morfológica com coloração de Giemsa como complemento do ensaio indireto de MTT estão ilustrados nas Figuras 19 a 22 para 24 horas de tratamento e Figuras 23 a 26 para 48 horas de tratamento. As alterações morfológicas do controle negativo, para ambos os tempos de exposição, 24 h e 48 h, apresentaram células com aspecto morfológico arredondado, envoltas em citoplasma abundante bem definido e íntegro. Em adição, para o controle positivo utilizou-se os mesmos parâmetros de tempo do controle negativo, porém, observou-se que as células apresentaram alterações morfológicas substanciais como número reduzido de células e condensação de citoplasma, mostrando a atividade biológica nociva do DMSO 5 %, sugerindo atividade citotóxica frente a linhagens não tumoral HaCat.

As células tratadas com as argilas não mostraram alterações importantes em sua morfologia. Contudo, em analogia ao ensaio de MTT, é possível verificar uma redução no número de células na Figura 20 na sua maior concentração ($1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) para a Argila II após 24 horas de tratamento. Esta condição, de redução do número de células após exposição ao extrato de Argila II, torna-se ainda mais evidente quando o extrato permanece 48 horas em contato com as células (Figura 24 - $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Mesmo assim, como demonstrado nas Figuras 17 e 18 a viabilidade celular permaneceu acima de 70 % como preconizado pela ISO considerada. Sendo assim, de acordo com os resultados encontrados, pode-se afirmar que as argilas testadas neste estudo demonstram uma possível ausência de atividade citotóxica nos parâmetros testados.

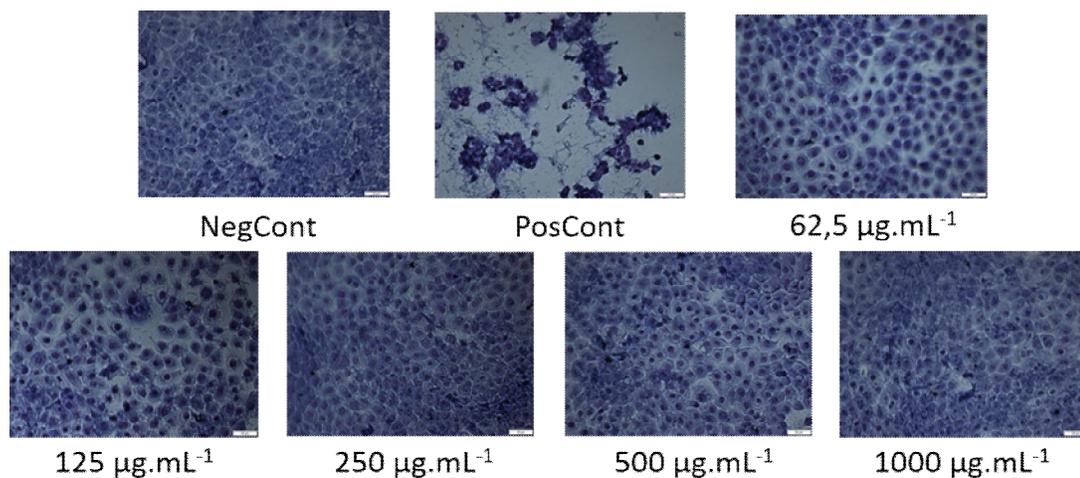


Figura 19. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila I nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

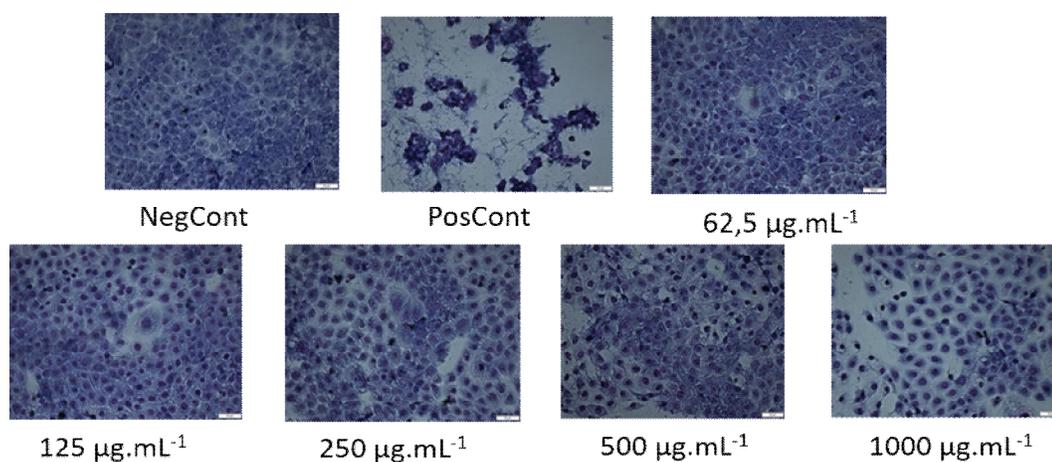


Figura 20. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila II nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

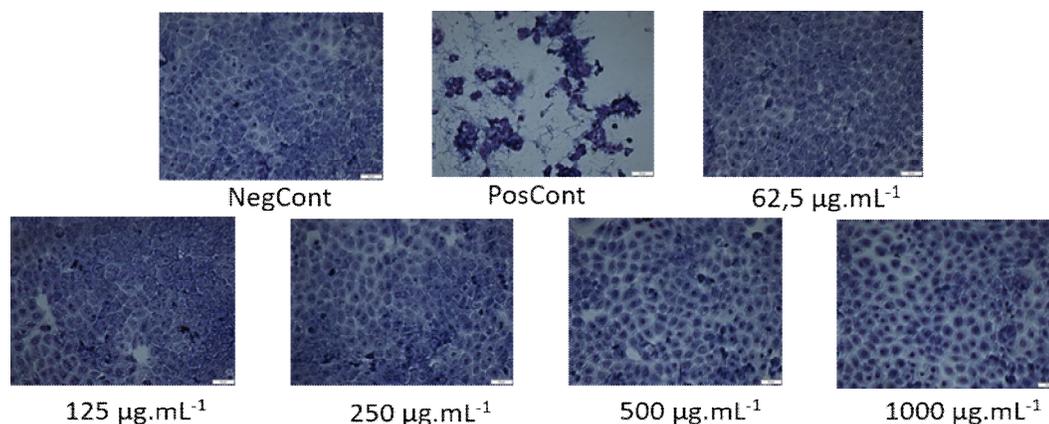


Figura 21. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila III nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

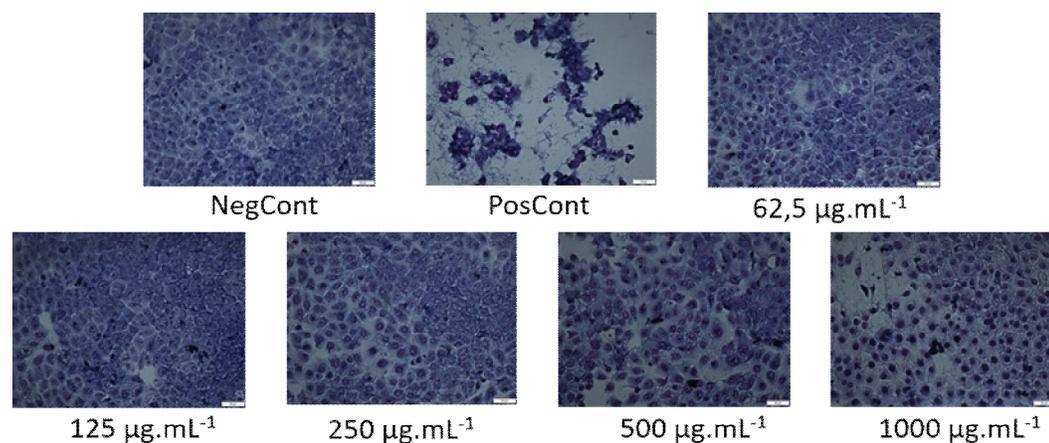


Figura 22. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 24 horas com extrato da argila IV nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

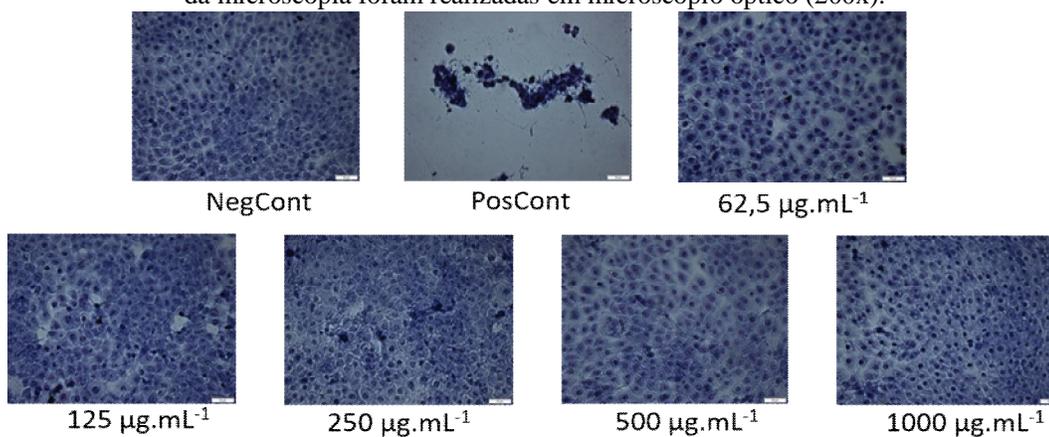


Figura 23. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila I nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

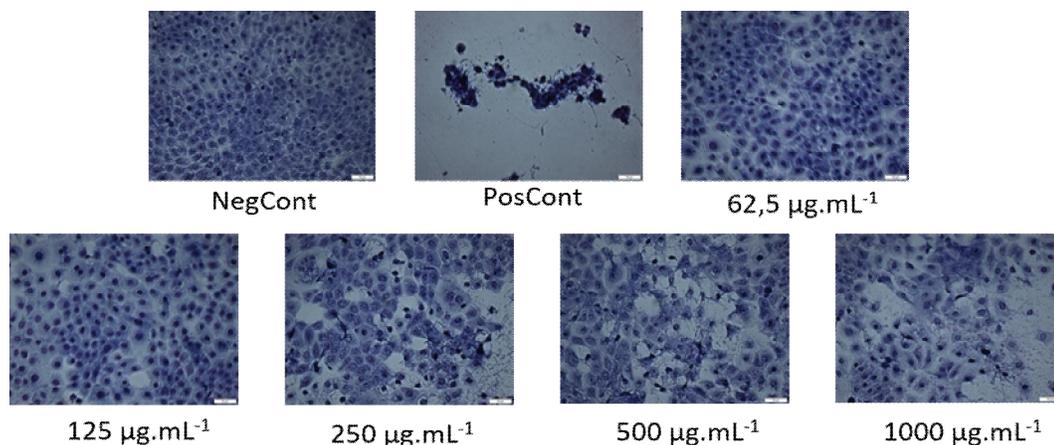


Figura 24. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila II nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

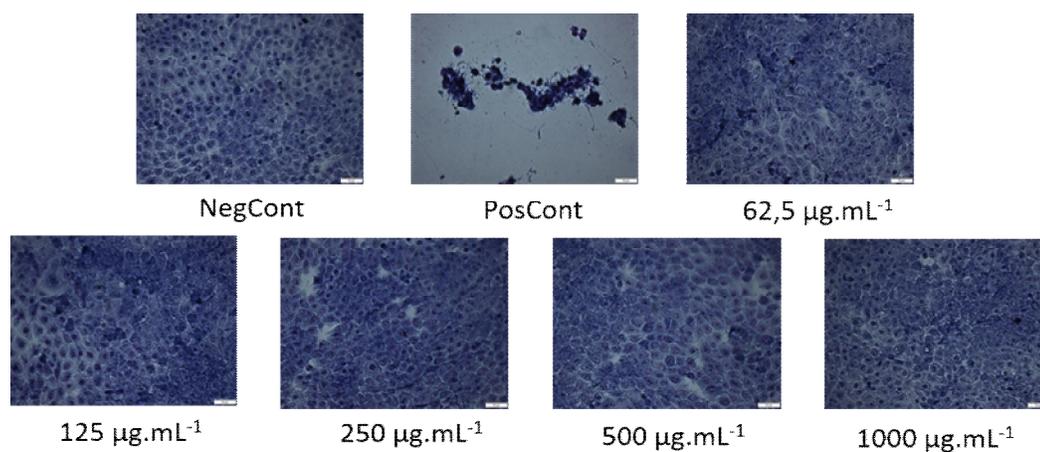


Figura 25. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila III nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

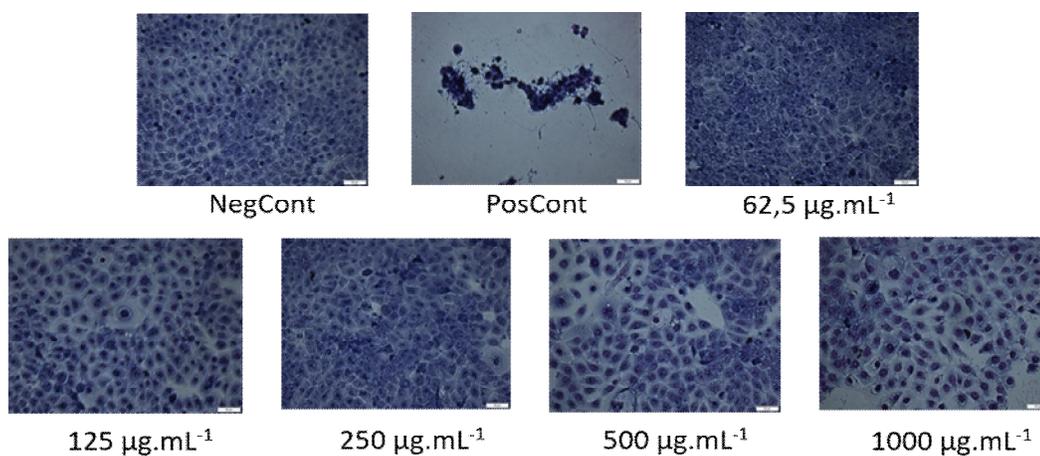


Figura 26. Morfologia celular de células HaCat tratadas por 48 horas com extrato da argila IV nas concentrações indicadas, comparada ao controle negativo (NegCont) e positivo (PosCont). As imagens da microscopia foram realizadas em microscópio óptico (200x).

5.4. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

5.4.1. Determinação das características organolépticas

A análise macroscópica de formulações, a partir das características organolépticas pode informar a respeito de fenômenos de instabilidade, como separação de fases, precipitação e turvação, permitindo o reconhecimento primário do produto (BRASIL, 2004).

Após o preparo, as emulsões apresentaram coloração característica da argila empregada e a emulsão padrão apresentou coloração branca (Figura 27). O odor foi característico de emulsão, o aspecto homogêneo e a textura suave ao toque.

Após os 90 dias em diferentes condições de armazenamento, todas as emulsões que estavam submetidas a temperatura de 45 ± 2 °C apresentaram alteração de cor, a partir de 15 dias de acondicionamento. Além disso, a emulsão padrão e a emulsão com argila I também apresentaram alteração no aspecto, com separação de fases com redispersão na mesma condição. Essas alterações podem ser explicadas pela alta temperatura da estufa que pode ter acelerado reações químicas, como reações de oxidação, ocasionando as alterações observadas nas amostras (BRASIL, 2004). Nas demais condições não houve alterações.

Os géis, logo após o preparo, também apresentaram coloração de acordo com a argila empregada e o gel padrão apresentou-se incolor e levemente opaco (Figura 28). O odor foi característico do gel, o aspecto homogêneo e a textura suave ao toque e refrescante.

Na temperatura de 45 ± 2 °C, o gel padrão e o gel contendo argila IV apresentaram alteração de cor a partir de 30 dias de armazenamento, observando-se cor amarela intensa para ambas as amostras. Como ocorrido com as emulsões, a alta temperatura da estufa (45 ± 2 °C) pode ter acelerado reações físico-químicas ocasionando as alterações observadas (BRASIL, 2004). Após os 90 dias de armazenamento, os géis não apresentaram alterações quando armazenados a 20 ± 2 °C e a 2 ± 2 °C. Também não houve alterações de odor, aspecto e textura em nenhuma das amostras em nenhuma condição testada, durante todo o período analisado.

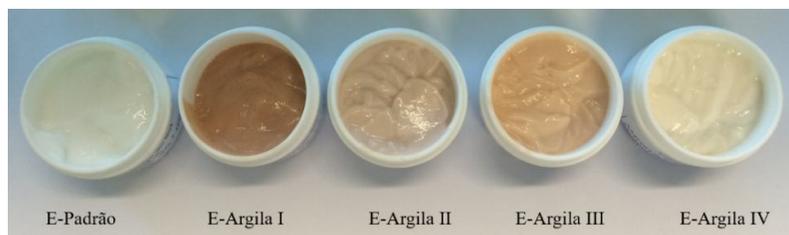


Figura 27. Aspecto da emulsão padrão e das emulsões contendo as argilas I, II, III e IV, após o preparo.



Figura 28. Aspecto do gel padrão e dos géis contendo as argilas I, II, III e IV, após o preparo.

5.4.2. Determinação de pH

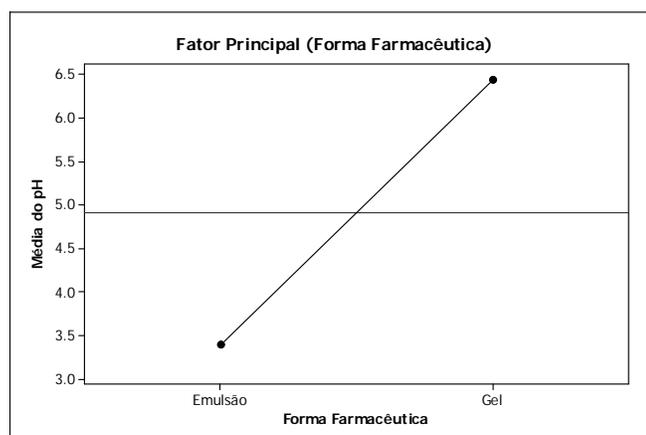
Os resultados das médias de determinação de pH das amostras de emulsões e géis estão apresentados na Tabela 10.

A análise estatística dos resultados de pH por ANOVA (Anexo I) evidenciou valor de probabilidade significativo ($p < 0,05$) para o fator principal forma farmacêutica. Não houve diferença significativa na variação de pH dentro do grupo das emulsões e do grupo dos géis, porém houve variação significativa entre as formas farmacêuticas géis e emulsões. A análise da Figura 29 permite verificar que, em média, o pH foi maior para os géis (6,46) do que para as emulsões (3,38).

Tabela 10. Determinação de pH das amostras de emulsões e géis

Amostra	Dia	Emulsões			Géis		
		20 °C ¹	45 °C ²	2 °C ³	20 °C ¹	45 °C ²	2 °C ³
Padrão	0	3,49±0,073	3,49±0,073	3,49±0,073	6,01±0,042	6,01±0,042	6,01±0,042
	15	3,45±0,014	3,37±0,000	3,47±0,008	6,17±0,008	6,28±0,111	6,14±0,141
	30	3,44±0,012	3,78±0,356	3,40±0,021	6,38±0,022	6,32±0,102	6,34±0,052
	60	3,40±0,014	3,32±0,009	3,43±0,005	6,15±0,037	6,02±0,026	6,04±0,009
	90	3,29±0,008	3,28±0,041	3,44±0,048	6,50±0,016	6,15±0,034	6,54±0,052
Argila I	0	3,59±0,022	3,59±0,022	3,59±0,022	5,97±0,016	5,97±0,016	5,97±0,016
	15	3,56±0,033	3,51±0,005	3,59±0,012	6,38±0,132	6,17±0,036	6,45±0,128
	30	3,87±0,033	3,83±0,021	3,89±0,029	6,26±0,029	6,23±0,051	6,27±0,043
	60	3,48±0,005	3,42±0,005	3,51±0,012	6,14±0,033	5,99±0,012	6,09±0,026
	90	3,44±0,012	3,33±0,029	3,53±0,036	6,51±0,047	6,28±0,037	6,52±0,040
Argila II	0	3,88±0,017	3,88±0,017	3,88±0,017	6,11±0,099	6,11±0,099	6,11±0,099
	15	3,53±0,005	3,47±0,005	3,56±0,005	6,56±0,216	6,19±0,088	6,08±0,016
	30	3,79±0,021	3,54±0,028	3,57±0,036	6,26±0,008	6,21±0,016	6,26±0,008
	60	3,42±0,008	3,38±0,005	3,51±0,019	6,24±0,008	6,15±0,054	6,14±0,019
	90	3,37±0,026	3,25±0,036	3,52±0,022	6,50±0,070	6,37±0,045	6,52±0,012
Argila III	0	3,58±0,02	3,58±0,024	3,58±0,024	5,97±0,082	5,97±0,082	5,97±0,082
	15	3,5±0,02	3,43±0,017	3,54±0,024	6,18±0,031	6,08±0,017	6,12±0,029
	30	3,68±0,33	3,62±0,033	3,72±0,016	6,29±0,059	6,31±0,098	6,42±0,012
	60	3,47±0,01	3,39±0,005	3,50±0,005	6,19±0,029	6,12±0,038	6,19±0,052
	90	3,39±0,01	3,36±0,022	3,50±0,038	6,54±0,022	6,29±0,051	6,53±0,008
Argila IV	0	3,57±0,025	3,57±0,025	3,57±0,025	5,93±0,034	5,93±0,034	5,93±0,034
	15	3,48±0,012	3,46±0,024	3,52±0,040	6,10±0,045	6,08±0,034	6,29±0,130
	30	3,43±0,022	3,50±0,012	3,60±0,017	6,30±0,050	6,28±0,039	6,29±0,037
	60	3,45±0,016	3,39±0,008	3,49±0,012	6,21±0,022	6,08±0,037	6,19±0,017
	90	3,35±0,012	3,35±0,012	3,42±0,017	6,43±0,005	6,35±0,012	6,48±0,106

¹temperatura ambiente (20 ± 2 °C); ²estufa (45 ± 2 °C); ³geladeira (2 ± 2 °C)

**Figura 29.** Fator principal forma farmacêutica para os resultados de pH.

A determinação do pH é um parâmetro importante, pois alterações no seu valor podem ocorrer devido a modificações químicas dos componentes presentes na formulação. Os

produtos gerados por estas modificações químicas podem ser decorrentes de reações de oxidação, sendo que cada substância pode oxidar em uma velocidade diferente. Dessa forma, algumas substâncias podem reagir e oxidar antes mesmo do antioxidante da formulação começar a agir (WEISS-ANGELI et al., 2008).

O pH das emulsões apresentou valor abaixo do indicado para produtos cosméticos (5,5 - 6,5) (MODABBERI et al., 2015). Mesmo assim, optou-se em não fazer correções no momento da preparação da formulação para verificar seu comportamento, assim como possíveis alterações que pudessem ocorrer durante o armazenamento nas condições testadas. É importante ressaltar que, para aplicação na pele, a formulação deveria ter seu pH corrigido. O pH da superfície cutânea na região facial (5,5 - 6,5) depende de fatores externos e internos e valores normais de pH podem aumentar ou diminuir depois da aplicação de produtos tópicos, retornando ao valor basal em alguns minutos (MODABBERI et al., 2015).

As emulsões contendo ou não argila associada, apresentaram valores de pH abaixo do esperado para uma emulsão não iônica, característica do emulsionante utilizado (Polawax[®]) (pH 5,0 - 6,0). Segundo Masmoudi et al. (2005), a diminuição do pH pode representar uma oxidação da fase oleosa com formação de hidroperóxidos ou mesmo a hidrólise de triglicerídeos levando à formação de ácidos graxos.

As argilas I, II, III e IV tiveram seu pH medido, no intuito de verificar se seriam responsáveis pelo baixo valor de pH encontrado para as formulações de emulsão não iônica. Foram encontrados os seguintes valores: argila I ($4,63 \pm 0,026$), argila II ($5,33 \pm 0,031$), argila III ($4,95 \pm 0,047$) e argila IV ($5,44 \pm 0,042$). O menor valor de pH foi apresentado pela argila I, assim, as argilas não seriam as responsáveis pelo valor tão baixo encontrado para as emulsões não iônicas, pois nenhum deles ficou próximo do valor médio obtido para as emulsões (3,38).

O pH do Polawax[®], cera autoemulsionável utilizada na preparação da emulsão não iônica, foi medido, também na tentativa de compreender o valor baixo de pH apresentado pelas emulsões preparadas com este autoemulsionante (média de 3,38). Obteve-se um valor médio de $4,31 \pm 0,028$, abaixo do recomendado (5,5 a 7,0) e do encontrado (5,84) pelo fornecedor (ALL CHEMISTRY, 2014). Assim, acredita-se que o Polawax[®] utilizado sofreu algum processo de oxidação antes da sua utilização nas formulações, podendo ser o responsável pelo baixo valor de pH encontrado para as amostras.

5.4.3. Determinação do índice de acidez do óleo de macadâmia

No intuito de compreender o baixo valor de pH encontrado para as emulsões determinou-se do teor de ácidos graxos a partir do teste de índice de acidez do óleo de macadâmia utilizado na formulação da emulsão não iônica.

O índice de acidez, quando elevado, pode sugerir uma hidrólise acentuada dos ésteres constituintes da matéria graxa. As causas da degradação incluem tratamentos químicos integrantes dos processos industriais de extração e purificação, atividade bacteriana, ação catalítica (calor, luz), estocagem inadequada e presença de impurezas como a umidade, entre outros (BRASIL, 2010a). Dessa forma, altos índices de acidez indicam elevada concentração de material graxo que pode contribuir para a redução do valor de pH em formulações cosméticas (FRANGE; GARCIA, 2009).

O óleo de macadâmia apresentou um índice de acidez de $3,63 \pm 0,037$ mg KOH/g. O laudo do fornecedor da matéria-prima indicava que o índice de acidez deveria ser de 5,93 mg KOH/g (ALL CHEMISTRY, 2014). Assim, o valor ficou abaixo do esperado, portanto, a hipótese de que o pH das emulsões poderia estar baixo devido à oxidação do óleo de macadâmia não foi confirmada.

De acordo com estes resultados e os resultados de pH apresentados anteriormente, pode-se atribuir o baixo valor de pH das emulsões a uma possível oxidação do Polawax[®], cera autoemulsionante utilizada para sua preparação.

5.4.4. Determinação da espalhabilidade

Os gráficos referentes aos resultados de espalhabilidade das emulsões e dos géis estão representados nas Figuras 30 a 35 (dados numéricos representados nos Anexos II e III).

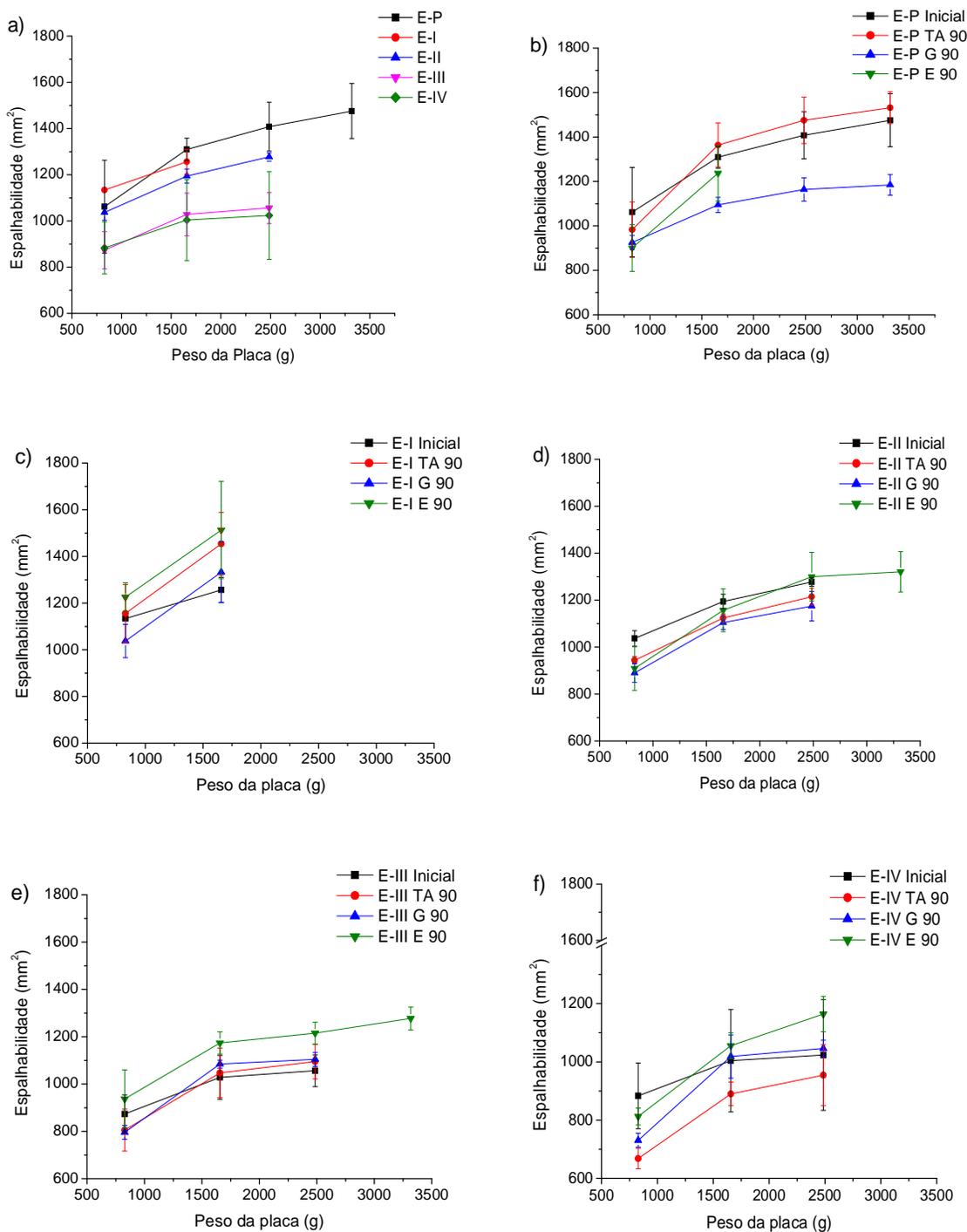


Figura 30. Espalhabilidade das amostras de emulsões: a) todas no tempo zero, b) emulsão padrão, emulsão com: c) argila I, d) argila II, e) argila III e f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.

(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de espalhabilidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de espalhabilidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de espalhabilidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de espalhabilidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento).

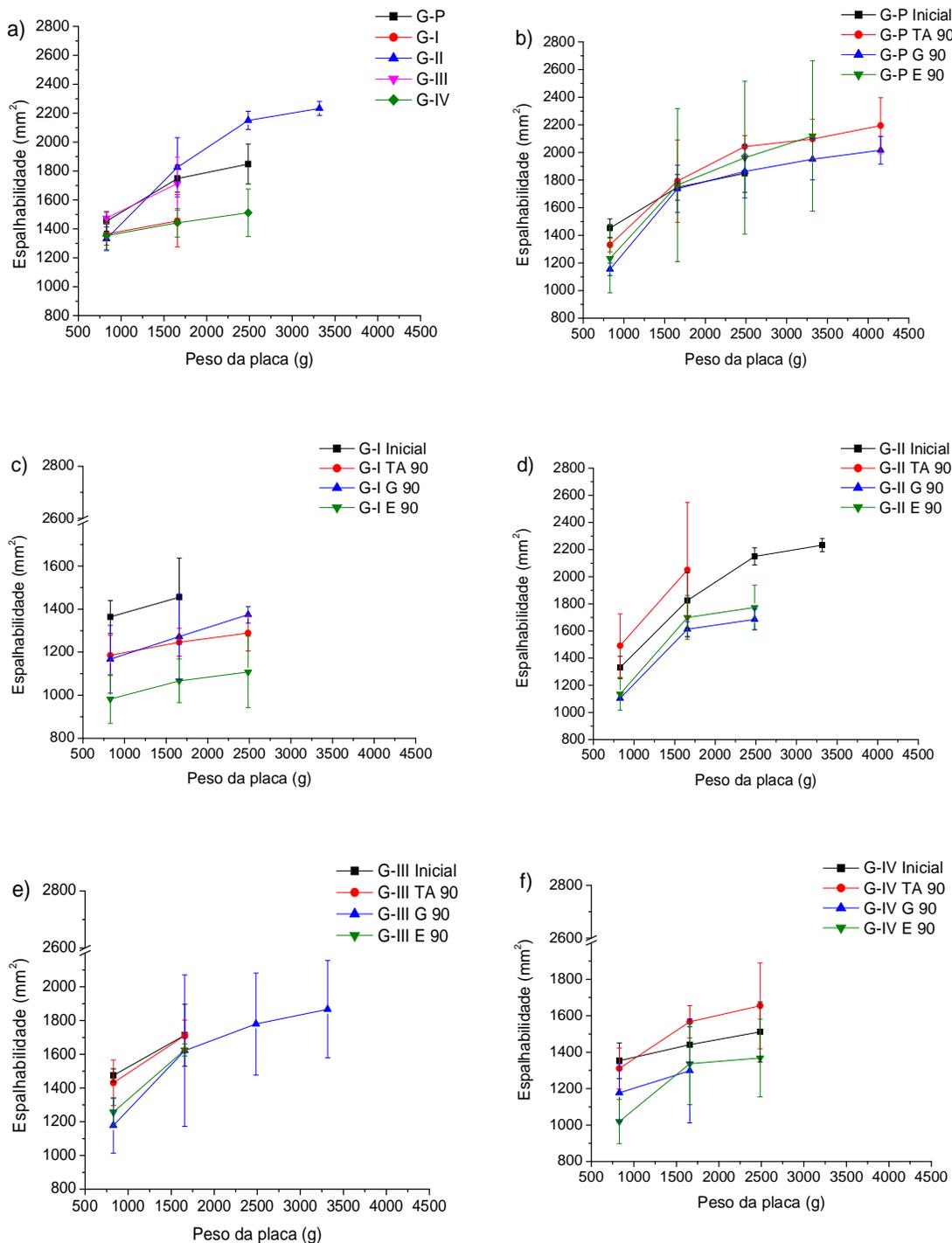


Figura 31. Espalhabilidade das amostras de géis: a) todos no tempo zero, b) gel padrão, gel com: c) argila I, d) argila II, e) argila III e f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.

(G = gel; P = padrão; I-IV = tipos de argila; Inicial = valores de espalhabilidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de espalhabilidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de espalhabilidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de espalhabilidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento).

A espalhabilidade pode ser definida como a expansão de uma formulação semissólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo. Para as formas farmacêuticas de uso tópico, ela é uma das características essenciais, pois está diretamente relacionada com a aplicação destas formulações no seu local de ação (BORGUETTI E KNORST, 2006).

A análise estatística dos resultados de espalhabilidade, após 90 dias de armazenamento em diferentes condições, por ANOVA (Anexo IV) apresentou valor de probabilidade significativo ($p < 0,05$) para os fatores: tipo de argila e forma farmacêutica. Porém, a interação entre forma farmacêutica e tipo de argila também foi significativa e, por isso, somente a interação foi avaliada. A Figura 32 apresenta os resultados da interação entre tipo de argila e forma farmacêutica para espalhabilidade.

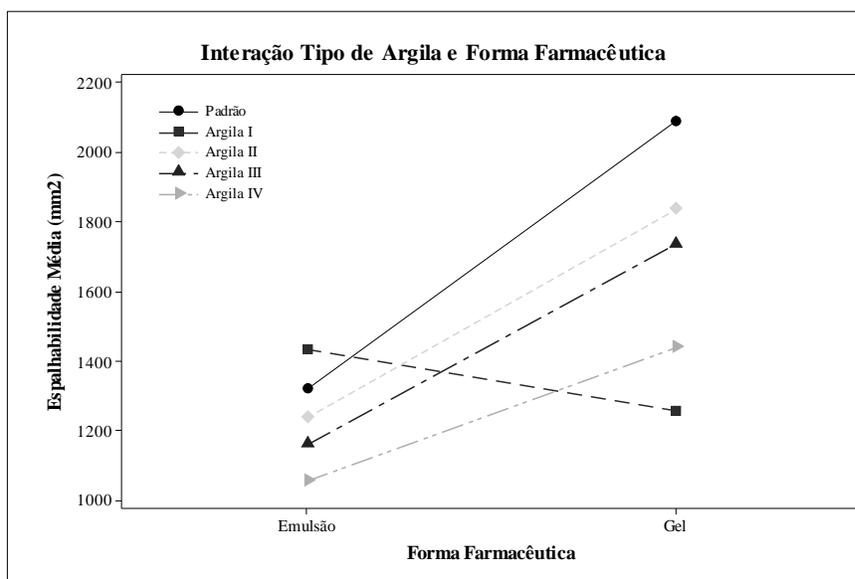


Figura 32. Interação entre os fatores tipo de argila e forma farmacêutica para os resultados de espalhabilidade.

De uma maneira geral, após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições, as argilas diminuíram a espalhabilidade de ambas as formulações, com exceção da argila I, que aumentou a espalhabilidade da emulsão. Além disso, verifica-se que os géis, tanto o padrão quanto os géis contendo as argilas, possuem maior espalhabilidade que as emulsões, exceto para o tipo de argila I, no qual pode ser observado um valor de espalhabilidade inferior para o gel em comparação ao da emulsão contendo o mesmo tipo de argila.

As emulsões apresentaram uma espalhabilidade média máxima, independente de tempo de análise e condições de exposição, em torno de 1500 mm^2 . Resultados semelhantes

foram encontrados por Savian et al. (2011) em um estudo realizado com emulsões não iônicas contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. No estudo mencionado, as emulsões foram preparadas com Polawax® como agente emulsionante em uma concentração de 10 %, mesmo emulsionante utilizado neste trabalho, porém em uma concentração menor de 7,0 %.

Para os géis a espalhabilidade média máxima atingiu mais de 2200 mm², independente do tempo de análise e condições de armazenamento, valor maior que o das emulsões. As interações entre os componentes da formulação dos géis podem ser os responsáveis pela maior espalhabilidade dos géis em comparação com as emulsões. Entretanto, cabe salientar que diferentes sistemas semissólidos, como as emulsões e os géis em estudo, possuem uma composição específica que pode alterar seu perfil reológico, gerando características físico-químicas distintas, e, conseqüentemente, tornando difícil uma comparação direta das duas formulações.

A argila I demonstrou comportamento diferente das demais quando incorporada nas emulsões e nos géis, para o parâmetro de espalhabilidade. A composição química da argila I é muito semelhante às demais, porém é a única que apresentou apenas caulinita nos ensaios de DRX. Dessa forma, pode ter ocorrido uma interação diferente da argila I com os veículos em relação às demais argilas, ocasionando o aumento na espalhabilidade da emulsão contendo argila I em comparação ao padrão e a diminuição da espalhabilidade do gel contendo a argila I em comparação com a emulsão contendo a mesma argila.

A espalhabilidade é um parâmetro muito importante para produtos cosméticos, influenciando tanto na eficácia quanto na aceitabilidade do produto pelo consumidor. Uma formulação que apresente uma baixa espalhabilidade pode resultar em uma distribuição irregular do produto, afetando a dose aplicada, a eficiência da penetração do princípio ativo além de ter prejudicada sua aceitação pelos consumidores (ESTANQUEIRO et al., 2016; MONTENEGRO et al., 2015). Dessa forma, pode-se considerar que os géis possuem melhor espalhabilidade, considerando, de acordo com o princípio da técnica, de melhor *performance* o produto que obtiver o maior diâmetro na placa com a mesma quantidade de produto. Porém, como se trata de uma formulação de aplicação facial, a espalhabilidade encontrada para as emulsões também pode ser considerada adequada, já que a área onde será aplicada é pequena, considerando ser mais relevante este parâmetro para produtos destinados à aplicação corporal que exigem uniformidade de aplicação, como por exemplo, os fotoprotetores.

5.4.5. Avaliação da viscosidade e comportamento reológico

A avaliação da viscosidade ajuda a determinar se um produto apresenta a consistência ou fluidez apropriada e pode indicar se a estabilidade é adequada, ou seja, fornece indicação do comportamento do produto ao longo do tempo (Brasil, 2004).

A avaliação do comportamento reológico em função da temperatura é fundamental para obter informações da estabilidade física e consistência do produto. Segundo Attwood (2005), a solubilidade de emulsionantes não iônicos muda com o aumento da temperatura e, temperaturas acima de 70 °C desestabilizam a maioria das emulsões. Por outro lado, o gelo formado a baixas temperaturas provoca a quebra das emulsões por romper o filme interfacial.

Na Figura 33 encontram-se os reogramas das formulações de emulsões (dados numéricos representados no Anexo V) e na Figura 34 os reogramas referentes às formulações de géis (dados numéricos representados no Anexo VI).

Tanto a emulsão padrão quanto as emulsões com as argilas incorporadas, apresentaram comportamento não newtoniano, com variação da viscosidade com velocidade aplicada, não havendo relação linear entre estes valores (VISERAS et al., 2006). As amostras em estudo apresentam fluxo pseudoplástico (Figura 33), que é caracterizado pela diminuição da viscosidade aparente à medida que ocorre o aumento da tensão de cisalhamento aplicada. Esse tipo de comportamento é desejado em formulações farmacêuticas. A viscosidade aparente elevada em baixas tensões de cisalhamento é necessária para impedir a mobilidade da fase dispersa. Além disso, quando agitadas, devem apresentar fluxo livre com baixa viscosidade e em altas tensões de cisalhamento, desde que essas alterações sejam reversíveis após certo tempo de repouso, retardando a coalescência ou a cremação (FRANGE; GARCIA, 2009).

No tempo zero, foi evidenciado aumento da viscosidade nas emulsões contendo as argilas II, III e IV enquanto nas emulsões contendo a argila I houve diminuição desse parâmetro, comparando com a emulsão padrão. Após os 90 dias de armazenamento, observou-se que todas as condições testadas, em comparação com o tempo zero, ocasionaram um aumento da viscosidade nas emulsões contendo as argilas I, III e IV. A emulsão padrão teve sua viscosidade diminuída a 45 ± 2 °C e aumentada a 20 ± 2 °C e 2 ± 2 °C. Já emulsão com argila II teve sua viscosidade diminuída a 20 ± 2 °C e aumentada a 2 ± 2 °C e 45 ± 2 °C.

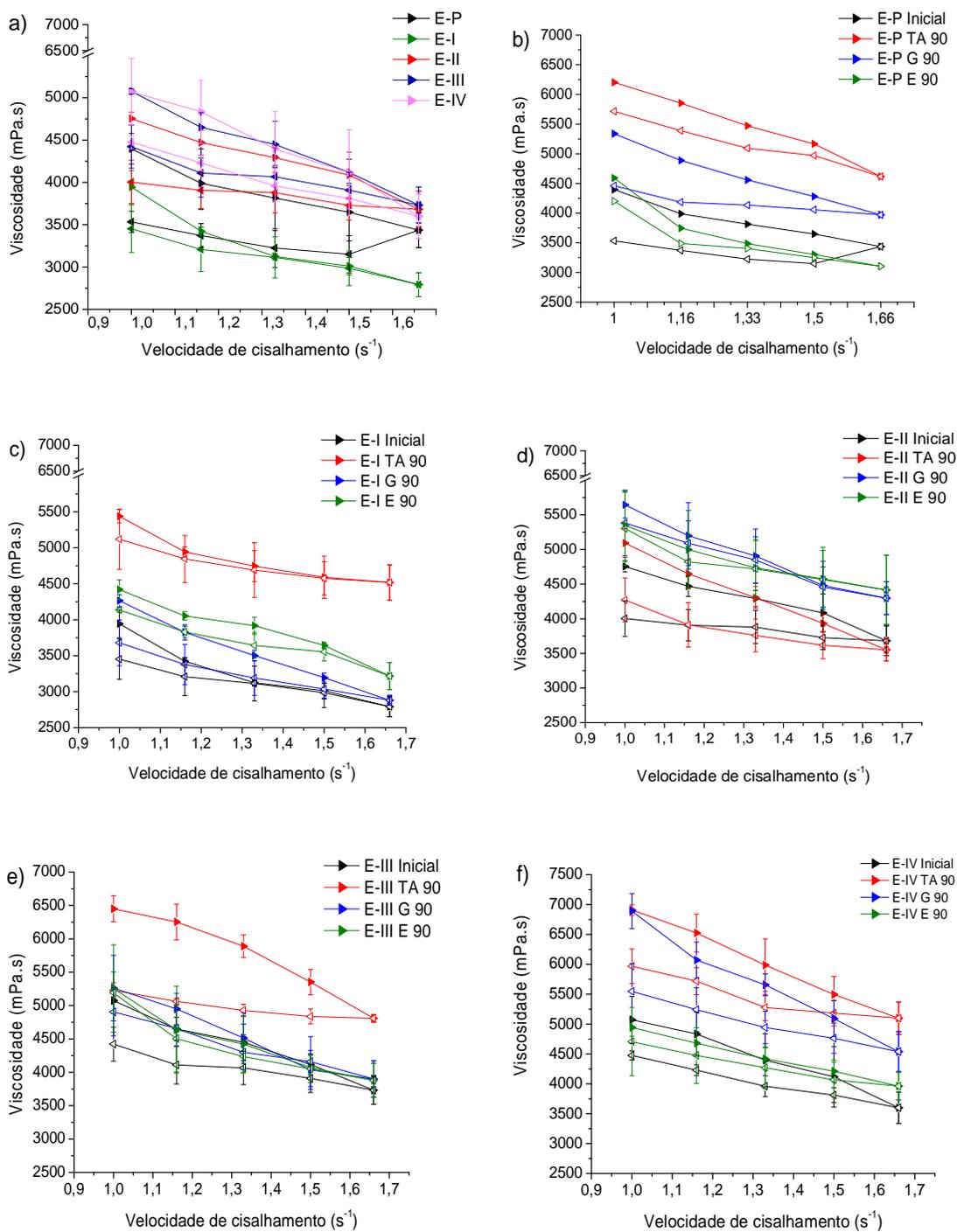


Figura 33. Viscosidade das amostras de emulsões no: a) todas no tempo zero, b) emulsão padrão, emulsão com c) argila I, d) argila II, e) argila III, f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.

(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento). Símbolo preenchido

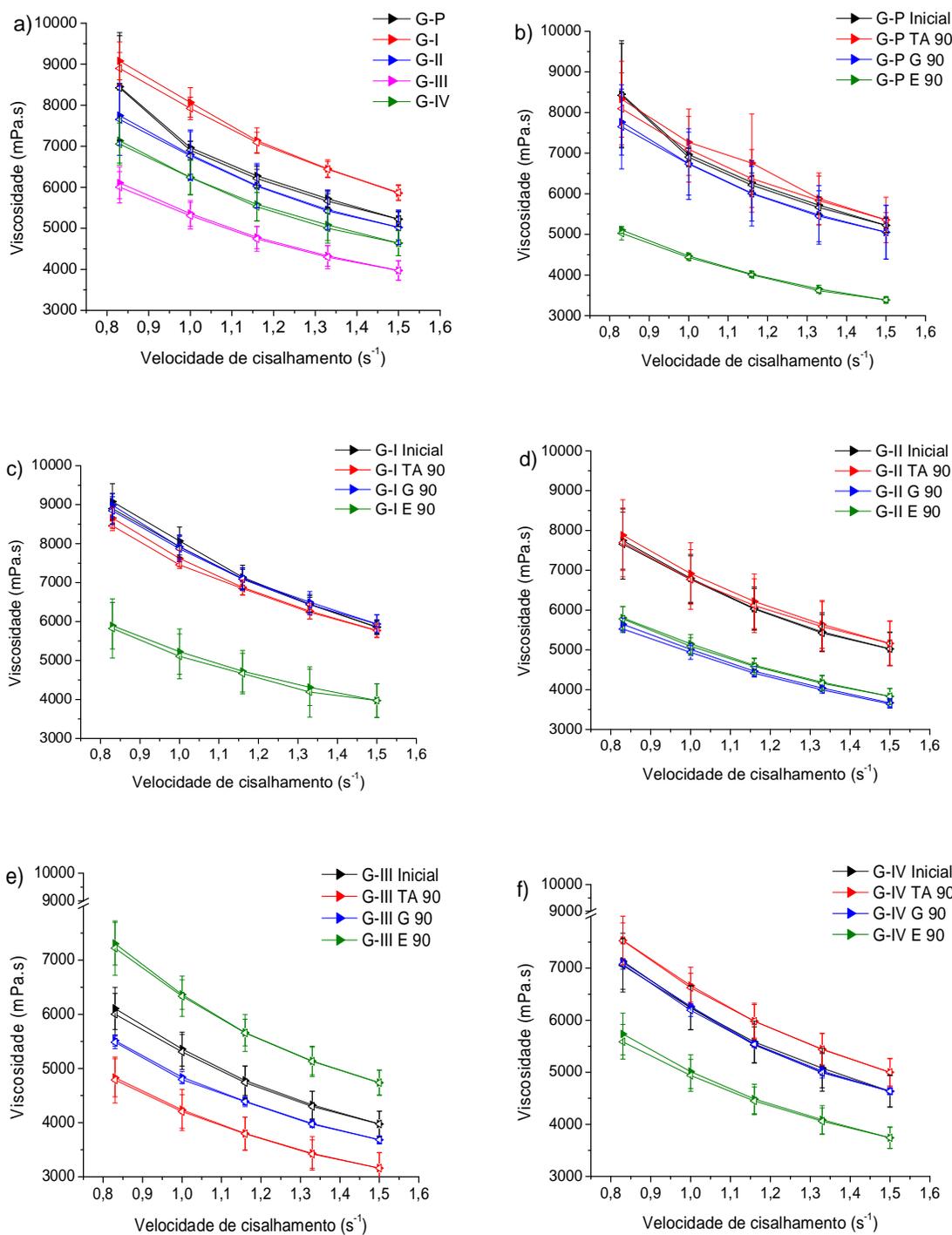


Figura 34. Viscosidade das amostras de géis no: a) todos no tempo zero, b) gel padrão, gel com: c) argila I, d) argila II, e) argila III, f) argila IV, em diferentes condições de armazenamento.

(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento)

A partir destes resultados percebe-se que não há uma relação direta entre a viscosidade e a espalhabilidade das formulações de emulsões contendo as argilas em estudo. De forma geral, tanto no tempo zero quanto após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições, houve uma diminuição da espalhabilidade das emulsões contendo as argilas incorporadas. A análise da viscosidade de amostras correspondentes demonstra aumento ou diminuição deste parâmetro, dependendo da condição de armazenamento analisada, demonstrando não haver relação direta entre a viscosidade e a espalhabilidade.

A análise dos reogramas dos géis (Figura 34) permite afirmar que todas as amostras de géis, tanto o padrão quanto aqueles com adição das argilas, apresentaram comportamento não newtoniano e fluxo pseudoplástico. Assim como para as emulsões, esse comportamento também é desejado para géis que serão destinados a formulações de uso cosmético (FRANGE; GARCIA, 2009).

Da mesma forma como foi observado para as emulsões, não se obteve uma relação direta entre a viscosidade e a espalhabilidade para as amostras de géis contendo as argilas em estudo, também sendo observada diminuição ou aumento destes parâmetros dependendo da condição e amostra analisada.

Considerando o tempo zero, verificou-se que os géis tiveram sua viscosidade diminuída com a adição das argilas II, III e IV e aumentada com a argila I, ao contrário do que foi observado com as emulsões. Após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições, o gel padrão e o gel contendo a argila II tiveram sua viscosidade aumentada a 20 ± 2 °C e diminuída a 2 ± 2 °C e a 45 ± 2 °C. A amostra de gel contendo a argila I apresentou diminuição da viscosidade a 45 ± 2 °C e permaneceu com a viscosidade semelhante a 2 ± 2 °C e a 20 ± 2 °C. No gel com argila III houve aumento da viscosidade a 45 ± 2 °C e diminuição a 2 ± 2 °C e 20 ± 2 °C. E, no gel contendo argila IV, a viscosidade foi aumentada a 20 ± 2 °C, diminuída a 45 ± 2 °C e permaneceu semelhante a 2 ± 2 °C.

As formulações, tanto de géis quanto de emulsões apresentaram valores médios de viscosidade aparente acima de 4000 mPa·s, considerando a velocidade de cisalhamento de 1 s^{-1} para ambos. Valores semelhantes foram descritos em sistemas semissólidos contendo argilas extraídas do fundo do mar (CARA et al., 2000) e, em um estudo de argilas bentonitas para utilização em formulações farmacêuticas (MODABBERI, 2015).

Os resultados de viscosidade foram modelados de acordo com a equação da Lei das Potências, obtendo-se os resultados descritos na Tabela 11, que fornecem um valor de consistência (k).

Tabela 11. Resumo dos resultados da Lei das Potências

Amostra	k	n	R^2	Amostra	k	n	R^2
G-P Inicial	7163	0,187	0,9905	E-P Inicial	4360	0,537	0,987
G-P TA 90	7311	0,273	0,9872	E-P TA 90	6294	0,463	0,963
G-P E 90	7311	0,273	0,9872	E-P E 90	4445	0,235	0,941
G-P G 90	6762	0,269	0,9996	E-P G 90	5346	0,435	0,998
G-I Inicial	7973	0,263	0,9973	E-I Inicial	3877	0,334	0,975
G-I TA 90	7626	0,316	0,9998	E-I TA 90	5342	0,635	0,941
G-I E 90	5219	0,335	0,9996	E-I E 90	4458	0,443	0,950
G-I G 90	7908	0,305	0,9997	E-I G 90	4287	0,256	0,996
G-II Inicial	6734	0,283	0,9983	E-II Inicial	4799	0,547	0,953
G-II TA 90	6914	0,289	0,9996	E-II TA 90	5140	0,322	0,990
G-II E 90	5118	0,300	0,9988	E-II E 90	5320	0,624	0,993
G-II G 90	4966	0,278	0,9977	E-II G 90	5656	0,459	0,994
G-III Inicial	5342	0,272	0,9997	E-III Inicial	5105	0,439	0,978
G-III TA 90	4230	0,282	0,9996	E-III TA 90	6635	0,457	0,918
G-III E 90	6363	0,263	0,9998	E-III E 90	5199	0,410	0,986
G-III G 90	4856	0,319	0,9993	E-III G 90	5330	0,381	0,976
G-IV Inicial	6239	0,276	0,9999	E-IV Inicial	5189	0,373	0,949
G-IV TA 90	6641	0,309	0,9995	E-IV TA 90	7014	0,407	0,982
G-IV E 90	5016	0,280	1,0000	E-IV E 90	4972	0,576	0,993
G-IV G 90	6223	0,270	0,9992	E-IV G 90	6911	0,223	0,991

(k = consistência; n = índice de comportamento do fluido; R^2 = coeficiente de determinação; G = gel; E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento)

A Tabela 11 demonstra bom ajuste do modelo escolhido para os géis e um ajuste razoável para as emulsões, considerando os valores de R quadrado (R^2), que não foram tão próximos de 1 para algumas amostras de emulsão. Todas as formulações, em diferentes condições de armazenamento, apresentaram comportamento de fluxo pseudoplástico, quando o aumento da rotação causa redução na viscosidade (FRANGE; GARCIA, 2009), considerando os valores de n , que representam o índice de comportamento do fluido. Para os géis, em geral, esse valor de n foi menor que para as emulsões, sendo que quanto mais próximo de 1, menor a pseudoplastia. É importante ressaltar que seriam necessárias diferentes medidas de viscosidade, desde rotações bem baixas até rotações mais altas, para caracterizar um material como pseudoplástico, sendo a representação mais satisfatória feita por meio de

uma curva de fluxo (MARRIOTT, 2005). Porém, não foi possível medir a viscosidade em rotações mais baixas que as utilizadas neste estudo em função do equipamento utilizado.

A análise estatística dos resultados de consistência por ANOVA (Anexo VII) não teve sensibilidade para detectar efeito nos fatores tipo de argila, forma farmacêutica e acondicionamento. Apesar disso, visualmente é possível verificar que a viscosidade dos géis foi um pouco maior que a das emulsões, considerando a Figura 35b. Em um estudo realizado por Bittencourt et al. (2014), com análise do perfil reológico de diferentes formulações de gel (Natrosol® e Aristoflex®) e emulsão (Polawax® e Lanette®), também foi observada maior viscosidade dos géis comparados às emulsões. Observando a Figura 35a verifica-se que a adição das argilas às formulações acabou por reduzir, em média, a viscosidade das formulações. Além disso, a temperatura de acondicionamento de 45 ± 2 °C reduziu a viscosidade de forma geral se comparada com os valores à 20 ± 2 °C e 2 ± 2 °C (Figura 35c).

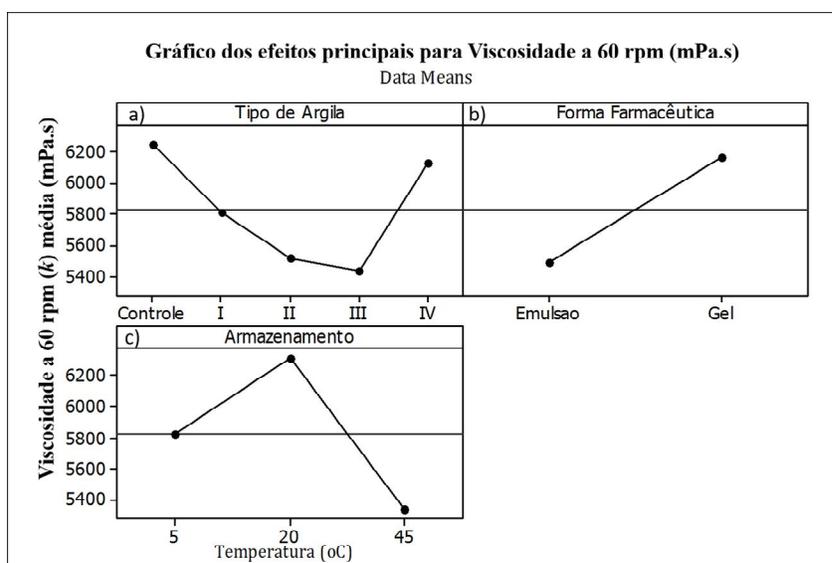


Figura 35. Média dos resultados de consistência após 90 dias de armazenamento para os efeitos a) tipo de argila, b) forma farmacêutica e c) condições de armazenamento.

A estabilidade das emulsões e dos géis contendo as argilas, para os resultados de viscosidade, foi avaliada a partir da comparação dos valores calculados de consistência iniciais com os valores calculados após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições. Os gráficos gerados com os resultados de estabilidade estão apresentados nas Figuras 36 e 37 para os géis e as emulsões, respectivamente (dados numéricos representados no Anexo VII).

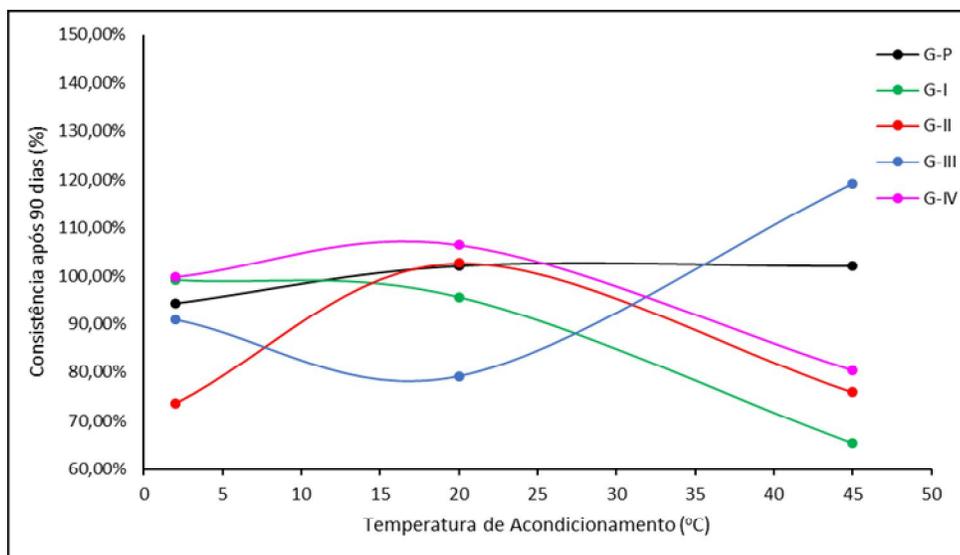


Figura 36. Resultados de consistência dos géis.
(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila)

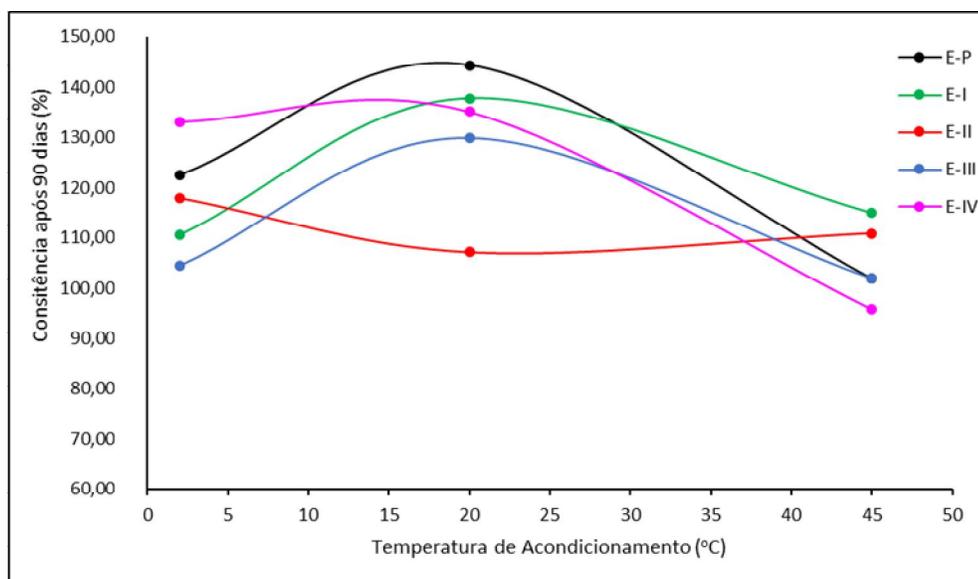


Figura 37. Resultados de consistência das emulsões.
(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila)

A análise das figuras 36 e 37 permite verificar que os géis, após 90 dias de armazenamento em diferentes condições, apresentaram menor variação da consistência em relação às emulsões comparando o armazenamento a 2 ± 2 °C e a 20 ± 2 °C. Observa-se que para as emulsões, houve um aumento da consistência de uma forma geral, devido à obtenção de valores acima de 100 % para a estabilidade (Figura 37) na maioria das amostras. O mesmo não é observado para os géis, havendo mais valores abaixo de 100 % do que acima (Figura 36). Além disso, os géis se mostraram mais estáveis frente ao parâmetro viscosidade,

avaliado a partir da consistência, pela presença da maioria dos valores de estabilidade dentro da faixa de 90 a 110 %.

5.4.6. Centrifugação

O teste de centrifugação produz estresse na amostra simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades, que podem ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, formação de *caking*, coalescência, entre outras. A partir da sua realização é possível verificar, de forma rápida, possíveis instabilidades físico-químicas que as formulações podem apresentar (BRASIL, 2004).

Nenhuma das formulações empregadas neste estudo apresentou separação de fases (coalescência, cremeação ou floculação) após centrifugação, logo após a preparação e depois dos 90 dias armazenadas em diferentes condições. Dessa forma, todas se apresentaram estáveis frente a este teste, não havendo indicação de instabilidade.

5.4.7. Diâmetro de partículas/gotículas

Os resultados encontrados para o diâmetro de partículas das formulações de emulsões e géis estão apresentados na Tabela 12.

Nos géis ocorreu diminuição do tamanho de partículas em todas as amostras com a adição das argilas, com exceção do gel com argila I que teve o diâmetro aumentado em relação ao padrão, considerando o tempo zero (inicial). Após os 90 dias de armazenamento todas as amostras indicaram um aumento no diâmetro das partículas em comparação com os valores iniciais.

Nas emulsões, assim como nos géis, o diâmetro de partículas/gotículas diminuiu, inicialmente, com a adição das argilas. Com o passar do tempo, após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições, todas as amostras mostraram aumento do diâmetro de partículas/gotículas comparando com os valores iniciais.

Tabela 12. Diâmetro de partículas das formulações de géis e emulsões contendo argilas.

Amostra	Tempo	d(0,5) μm	Amostra	Tempo	d(0,5) μm
G-P	Inicial	36,75	E-P	Inicial	13,82
	TA 90	104,02		TA 90	25,07
	G 90	98,82		G 90	20,21
	E 90	63,44		E 90	43,60
G-I	Inicial	51,10	E-I	Inicial	10,47
	TA 90	81,91		TA 90	16,90
	G 90	76,10		G 90	17,78
	E 90	71,37		E 90	11,52
G-II	Inicial	31,92	E-II	Inicial	10,47
	TA 90	49,21		TA 90	18,53
	G 90	46,11		G 90	19,41
	E 90	40,89		E 90	11,53
G-III	Inicial	21,40	E-III	Inicial	9,95
	TA 90	42,77		TA 90	15,40
	G 90	40,51		G 90	19,76
	E 90	41,23		E 90	10,02
G-IV	Inicial	18,83	E-IV	Inicial	9,40
	TA 90	40,09		TA 90	17,71
	G 90	37,78		G 90	15,76
	E 90	36,83		E 90	21,09

(G = gel; E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de diâmetro após o preparo da formulação; TA 90 = valores de diâmetro a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de diâmetro em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de diâmetro em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento).

As emulsões podem se tornar instáveis, a partir de qualquer processo que cause um aumento progressivo do tamanho das partículas/gotículas, e uma distribuição não uniforme dos tamanhos, fazendo com que as partículas/gotículas dispersas possam se tornar tão grandes a ponto de separar-se como líquido livre (BILLANY, 2005). Por essa razão, se torna importante avaliar o tamanho das partículas/gotículas com o tempo para determinar a estabilidade do sistema (FRANGE; GARCIA, 2009).

A partir da distribuição do tamanho de partículas/gotículas das emulsões (Figuras 38 a 42), verificou-se inicialmente uma distribuição monomodal para todas as amostras, caracterizando uma estabilidade inicial no sistema. Com o passar do tempo, após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições, verificou-se que a emulsão padrão (Figura 38) e as emulsões com as argilas I (Figura 39) e III (Figura 41) permaneceram com uma distribuição monomodal. A emulsão com argila II (Figura 40) apresentou uma distribuição bimodal após os 90 dias de armazenamento, em todas as temperaturas testadas. A emulsão com argila IV (Figura 42) apresentou distribuição bimodal após 90 dias de armazenamento a $2 \pm 2^\circ\text{C}$ e

45 ± 2 °C, enquanto que a 20 ± 2 °C permaneceu como monomodal. A distribuição bimodal apresentada pelas emulsões contendo as argilas II e IV caracteriza instabilidade no sistema, que pode ter sido ocasionada por uma interação dessas argilas com a emulsão ou pelo tempo de armazenamento nas condições testadas, tornando-a menos estável.

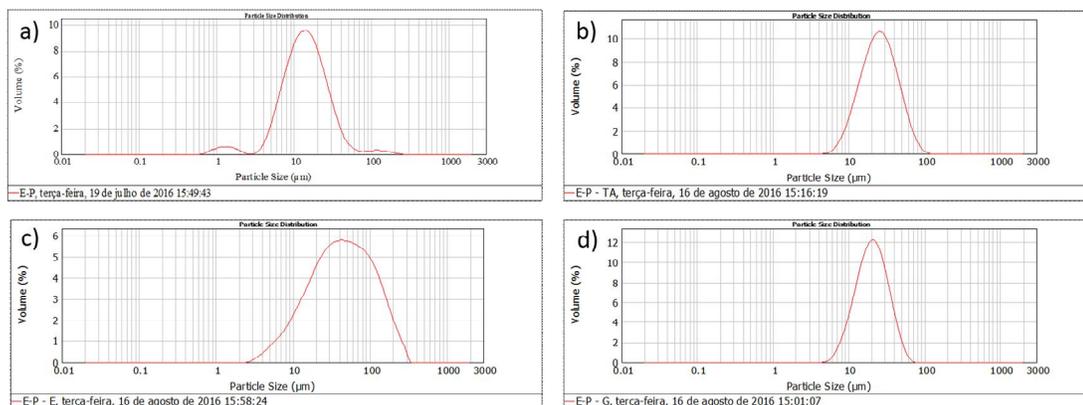


Figura 38. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão padrão no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).

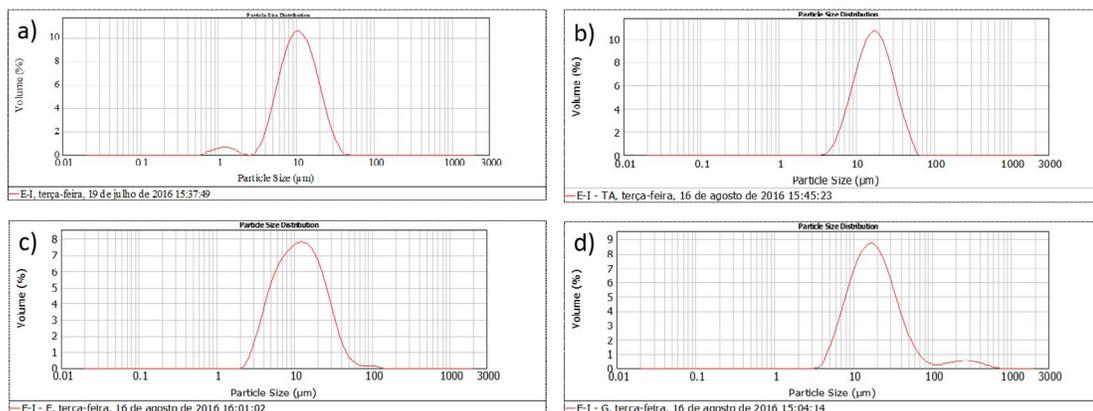


Figura 39. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila I no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).

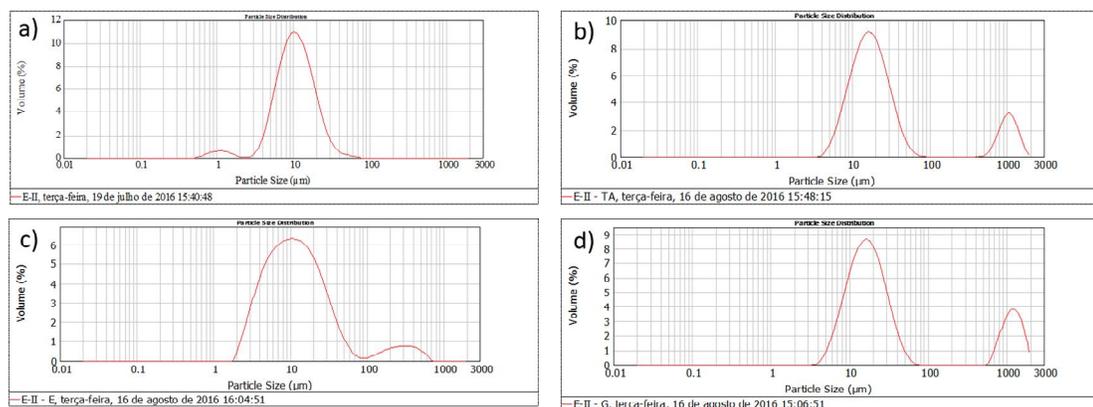


Figura 40. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila II no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).

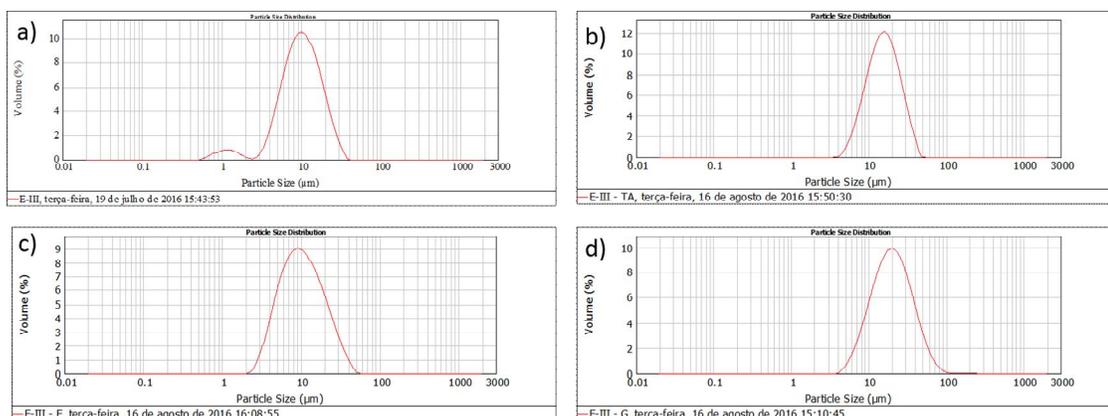


Figura 41. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila III no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

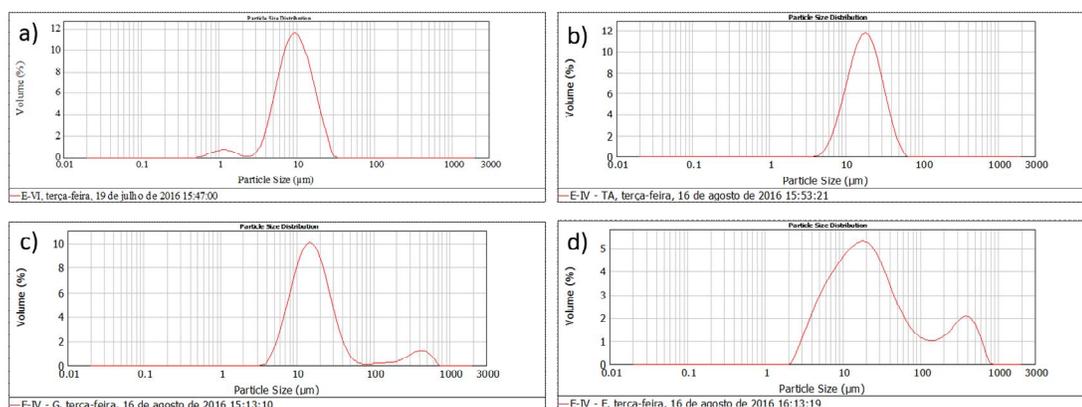


Figura 42. Distribuição do diâmetro de partículas da emulsão com argila IV no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

Os géis apresentaram uma distribuição monomodal (Figuras 43 a 47) após o preparo e seguiram com esta mesma distribuição após os 90 dias de armazenamento em diferentes condições. Apesar do tamanho de partículas ter aumentado ao longo do tempo sua distribuição foi uniforme, o que caracteriza uma maior estabilidade do sistema quando comparado com as emulsões.

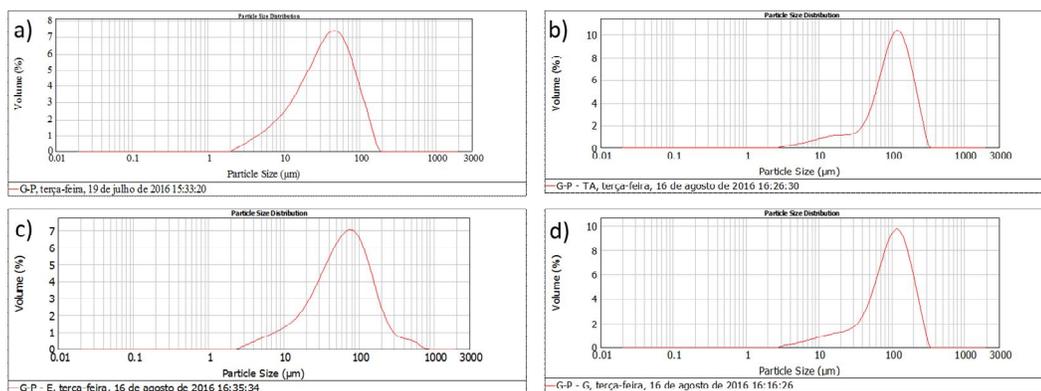


Figura 43. Distribuição do diâmetro de partículas do gel padrão no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

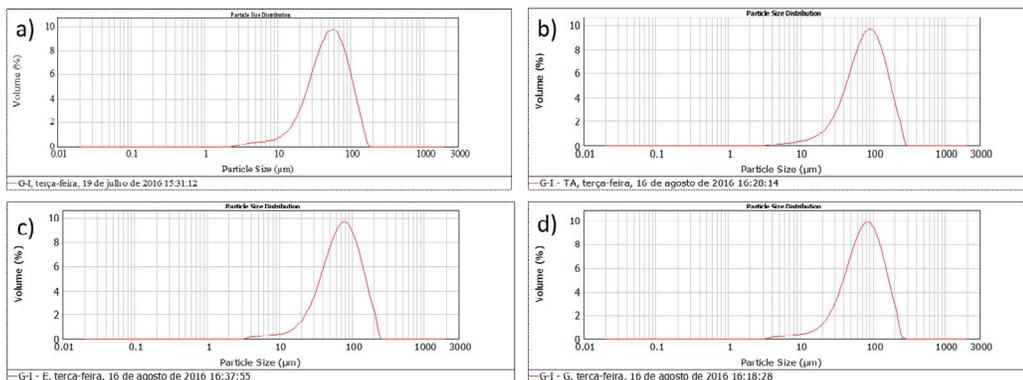


Figura 44. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila I no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

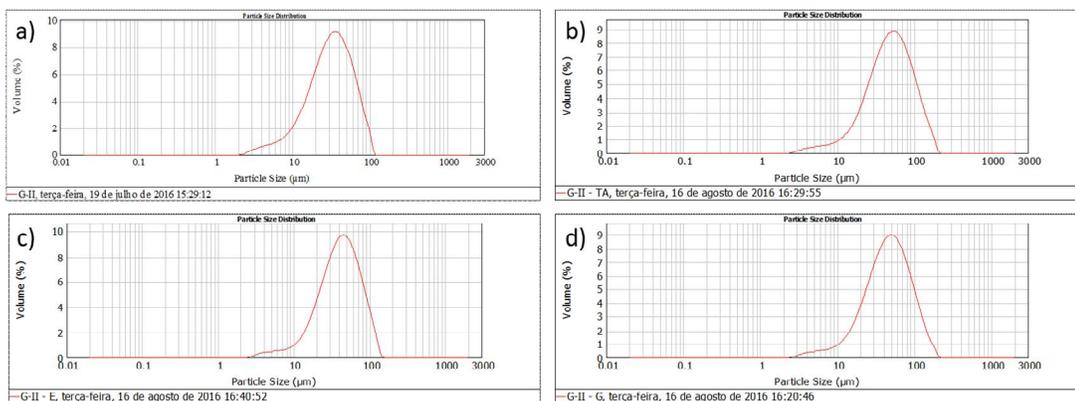


Figura 45. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila II no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

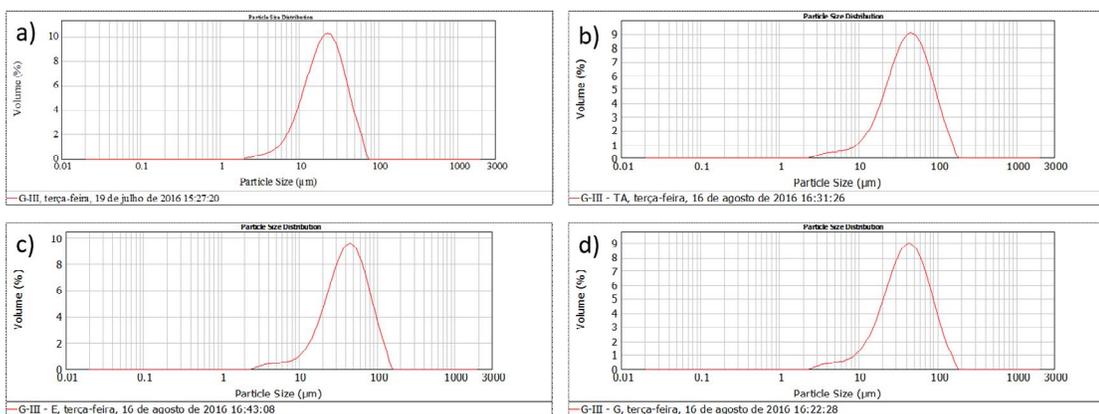


Figura 46. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila III no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), c) estufa ($45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e d) geladeira ($2 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

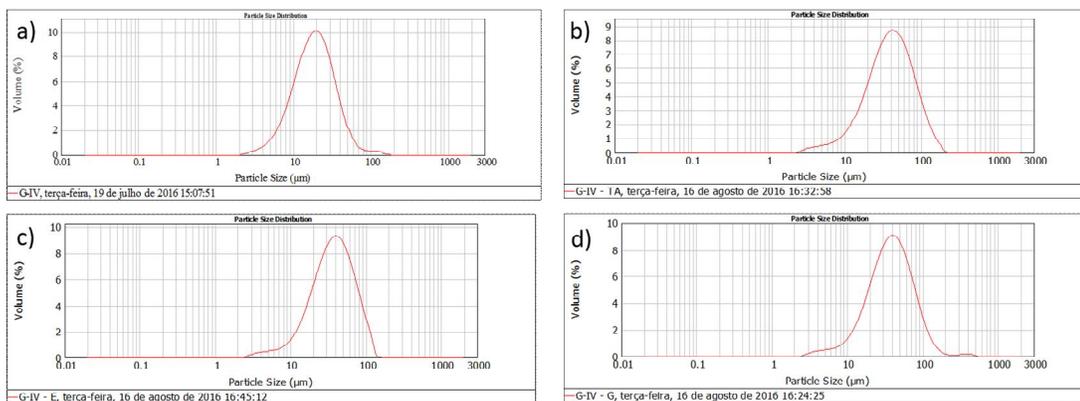


Figura 47. Distribuição do diâmetro de partículas do gel com argila IV no a) tempo zero e após 90 dias na b) temperatura ambiente (20 ± 2 °C), c) estufa (45 ± 2 °C) e d) geladeira (2 ± 2 °C).

A análise estatística dos resultados de diâmetro de partículas por ANOVA (Anexo IX) apresentou valor de probabilidade significativo ($p < 0,05$) para os fatores tipo de argila e forma farmacêutica. A interação entre forma farmacêutica e tipo de argila também foi significativa e, por isso, somente a interação foi avaliada. Vale ressaltar que as diferentes condições de armazenamento não foram significativas, não havendo diferença entre elas.

A análise da Figura 48, que apresenta os resultados da interação entre tipo de argila e forma farmacêutica para o diâmetro médio de partículas, permite verificar que os géis possuem diâmetro maior que as emulsões ao final dos 90 dias de armazenamento em diferentes condições. O controle, tanto do gel quanto da emulsão, apresentou valores de diâmetro maiores que as demais amostras, indicando que a adição das argilas causou uma diminuição no diâmetro das partículas para todas as amostras. O gel contendo argila I foi o que apresentou menor variação no valor de diâmetro com relação ao gel padrão e aos géis com as argilas II, III e IV. Nas emulsões contendo as argilas I, II, III e IV os valores de diâmetro foram muito próximos, não havendo diferença entre eles.

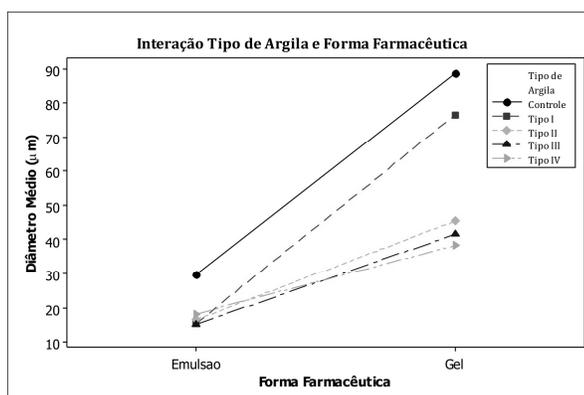


Figura 48. Interação entre os fatores tipo de argila e forma farmacêutica para os resultados de diâmetro de partículas.

Verifica-se também que o diâmetro de partículas aumentou, em todas as amostras, comparando o tempo zero e após 90 dias de armazenamento em diferentes condições. Nas formulações contendo argilas, esse fenômeno poderia ser justificado pelo intumescimento das argilas devido a presença de água nas formulações, gerando um aumento no diâmetro das partículas (TEIXEIRA-NETO; NETO, 2009; VISERAS et al., 2007). Para o gel e a emulsão padrão, que não continham argila, pode ter ocorrido uma instabilidade no sistema devido ao tempo de armazenamento nas condições testadas. A emulsão padrão apresentou alteração de coloração e separação de fases a 45 ± 2 °C, o que poderia complementar essa hipótese, porém o gel padrão permaneceu estável nos aspectos organolépticos avaliados durante todo o período de teste.

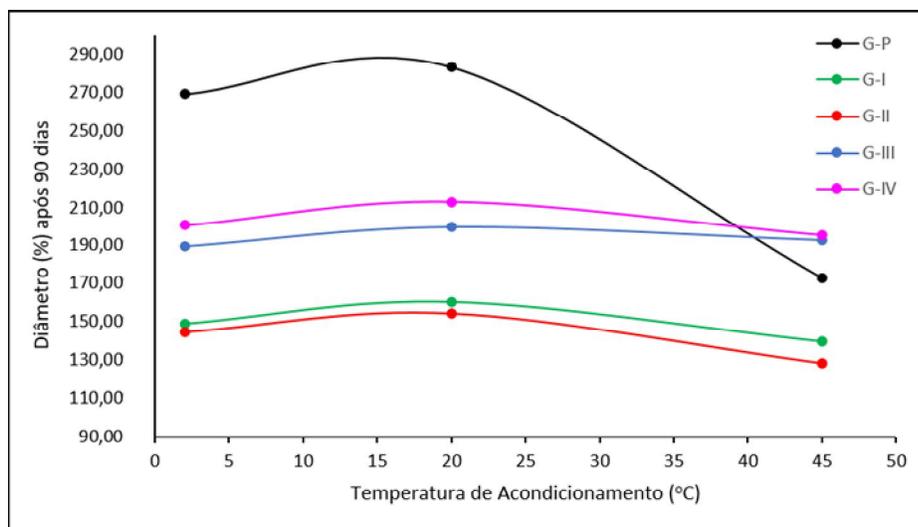


Figura 49. Resultados de estabilidade para o de diâmetro de partícula dos géis. (G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila)

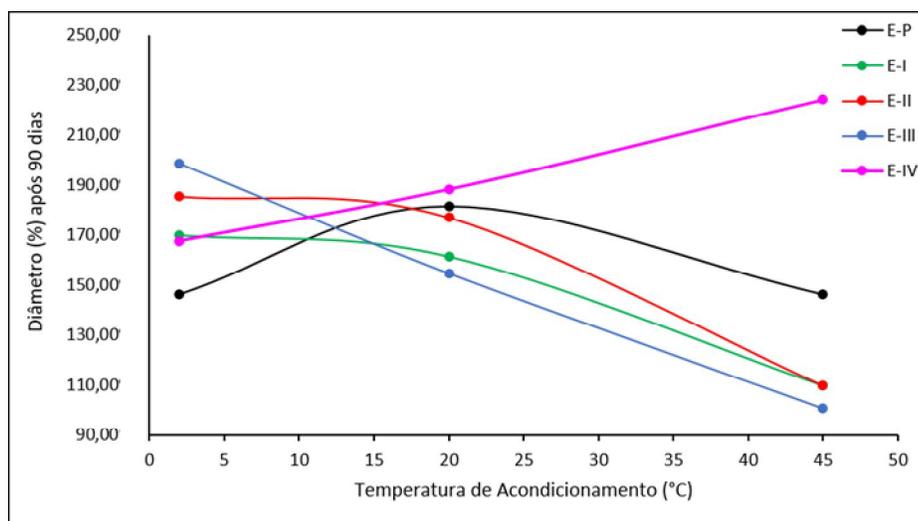


Figura 50. Resultados de estabilidade para o de diâmetro de partícula das emulsões. (E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila)

As argilas como bentonita, silicato de alumínio e magnésio e caulim, formam géis por floculação de um modo especial. São silicatos hidratados de alumínio (ou alumínio e magnésio), cuja estrutura dos cristais se apresenta como placas chatas. A parte chata ou “face” das partículas possui cargas negativas devido aos átomos de oxigênio, e as bordas das placas possuem cargas positivas devido aos átomos de Al/Mg. Como um resultado da interação eletrostática entre a “face” e a “borda” de diferentes partículas, forma-se uma estrutura de gel que usualmente é conhecida como “flóculo de castelo de cartas” (Figura 51) (ATTWOOD, 2005). Essa pode ser uma das razões para os géis terem se mostrado mais estáveis do que as emulsões, com a adição das argilas, no que diz respeito à distribuição do tamanho de partículas.

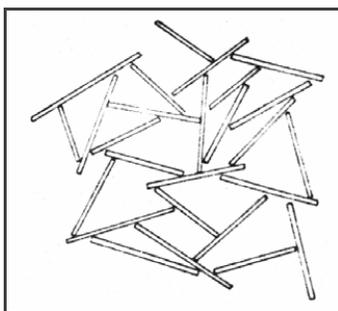


Figura 51. Estrutura em castelo de cartas das argilas formando géis por floculação.
Fonte: Ribeiro (2012).

5.5. AVALIAÇÃO DA IRRITABILIDADE DÉRMICA *IN VIVO* DAS FORMULAÇÕES EM GEL HIDROFÍLICO

Os resultados encontrados na avaliação das características organolépticas, determinação do pH, espalhabilidade e viscosidade, realizados para verificação da estabilidade das formulações testadas, demonstraram maior estabilidade das formulações de géis. Por esta razão, as formulações escolhidas para a realização do teste de irritabilidade dérmica foram os géis contendo os quatro tipos de argila testados e a formulação do gel padrão.

Uma vez que o produto cosmético é de livre acesso ao consumidor, o mesmo deve ser seguro nas condições normais ou razoavelmente previsíveis de uso. Para isso, as matérias-primas utilizadas na fórmula do produto devem possuir segurança comprovada e serem de uso

difundido na indústria cosmética. Além disso, a segurança da fórmula final deve ser testada antes de sua colocação no mercado, como prediz o Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos da ANVISA, sendo um dos testes exigidos o de irritabilidade dérmica (BRASIL, 2012).

Durante o estudo de irritabilidade dérmica, nenhum participante apresentou sinais clínicos cutâneos relacionados ao produto. O produto não induziu ao processo de irritação primária e acumulada ou sensibilização cutânea no grupo analisado, sendo o produto considerado seguro nas condições avaliadas. O contato do produto com a pele pode ocasionar diversos tipos de reações, como: reações irritativas imediatas ou acumulativas, reações alérgicas, dermatites, reações sistêmicas e carcinogênicas. Dentre as reações cutâneas que poderiam ter ocorrido na pele dos participantes, destacam-se: a dermatite de contato, urticária, acne e manchas (CHORILLI et al., 2007; LACRIMANTE; RIBEIRO-NETO, 2014).

A avaliação do potencial irritativo e sensibilizante de um produto, deve considerar uma série de variáveis, tais como: componentes da fórmula e sua concentração, quantidade aplicada, estado da pele, modo e frequência de aplicação, efeito cumulativo da aplicação do produto e absorção do produto pela pele (LACRIMANTE; RIBEIRO-NETO, 2014).

Algumas regiões do corpo são mais suscetíveis à ocorrência de irritação do que outras. Isso ocorre, pois, a permeabilidade da pele varia conforme a região do corpo, sendo que as pregas e a face são áreas de maior absorção. Além disso, quando aplicado sobre a pele, um produto terá maior ou menor absorção percutânea em função da sua concentração, tipo de veículo usado, área da superfície cutânea e tempo de contato com a pele (BRASIL, 2012).

As amostras submetidas ao teste de irritabilidade dérmica foram desenvolvidas para serem aplicadas na face, portanto é importante garantir sua segurança quanto à probabilidade de causar algum tipo de irritação. Assim, o fato do produto não ocasionar irritação primária nem secundária no teste realizado, o torna seguro para uma futura utilização por consumidores, por ter reduzidas chances de ocasionar reações adversas.

6 CONCLUSÃO

- ✓ Composição mineralógica: presença de silício, em maior concentração, em todas as amostras, indicando uma possível utilização das argilas para o rejuvenescimento e hidratação facial.
- ✓ Caracterização cristalográfica: presença de caulinita, illita e esmectita, conferindo propriedades variadas para as argilas.
- ✓ Avaliação da carga microbiana: necessidade de um processo de descontaminação, sendo o calor seco a melhor opção dentre os métodos testados.
- ✓ Citotoxicidade: as argilas demonstraram possível ausência de atividade citotóxica nas condições testadas.
- ✓ Argilas com potencial para incorporação em veículos cosméticos, sendo os géis mais estáveis nas condições testadas e com resultados mais promissores.
- ✓ As argilas não influenciaram pH, porém influenciaram espalhabilidade e diâmetro de partículas, geralmente diminuindo esses parâmetros.
- ✓ A viscosidade das formulações foi influenciada pela adição das argilas, porém perceptível apenas visualmente (sem significância estatística).
- ✓ Irritabilidade dérmica *in vivo*: as argilas incorporadas ao gel hidrofílico não geraram irritabilidade nas condições testadas, permitindo uma futura utilização em cosméticos.
- ✓ As argilas estudadas apresentam potencial para aplicação em cosméticos e apresentam comportamentos distintos perante às formulações testadas
- ✓ Dentre as quatro argilas testadas neste estudo, a argila III obteve destaque por ter apresentado melhores resultados na composição mineralógica, por conter a maior concentração de silício e na avaliação da área superficial, obtendo a maior área superficial dentre as amostras, o que pode favorecer a aderência à pele. Nas formulações testadas, de gel e emulsão, a adição da argila III também trouxe benefícios de acordo com os resultados obtidos.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Novos testes são necessários antes da utilização das argilas denominadas I, II, III e IV como matérias-primas para a indústria cosmética. O teste de eficácia, comprovando a sugerida atividade de rejuvenescimento e hidratação facial, precisa ser realizado. Novas formulações na forma de emulsões devem ser testadas, pois não se descarta a aplicação das amostras nesse veículo. Diferentes concentrações de incorporação das argilas podem ser avaliadas em veículos de géis e emulsões a fim de testar a melhor concentração em termos de eficácia do produto. Testes complementares para verificar a atividade espessante e suspensora das argilas em estudo podem ser conduzidos para que seja definida a função que estas podem apresentar em formulações cosméticas.

REFERÊNCIAS

AGUZZI, C.; CEREZO, P.; VISERAS, C.; CARAMELLA, C. Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations. **Applied Clay Science**, v. 36, p. 22–36, 2007.

ALL CHEMESTRY. **Polawax NF**. Laudo do Fornecedor. 2014.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. C1605-04: **Standard Test Methods for Chemical Analysis of Ceramic Whiteware Materials Using Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry**. 2004 (reaprovada em 2009), 5 p.

_____. MNL 32: **Manual on Test Sieving Methods**. Lawrence R. Pope; Charles W. Ward. Comitê ASTM E-29, 1998, 43 p.

_____. D7348-08: **Standard Test Method for Thermal Conductivity of Solids by Means of the Guarded-Comparative-Longitudinal Heat Flow Technique**, 2008, 9 p.

_____. E2651-10: **Standard Guide for Powder Particle Size Analysis**. 2010, 7 p.

ARAI, T.; BAKER, M. E. J.; GILES, C. C. D. (2002). **Patente de inovação**. Br, PI 0.214.263-5, Brasil.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10007: Amostragem de Resíduos Sólidos**. Rio de Janeiro, 2004. 21 p.

ATTWOOD, D. Sistemas Dipersos. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 84-111.

BASCHINI, M.T., PETTINARI, G.R., VALLÉS, J.M., AGUZZI, C., CEREZO, P., LÓPEZ-GALINDO, A., SETTI, M., VISERAS, C. Suitability of natural sulphur-rich muds from Copahue (Argentina) for use as semisolid health care products. **Applied Clay Science**, v. 49, p. 205–212, 2010.

BILLANY, M. Suspensões e Emulsões. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 341-364.

BITAR, O. Y., IYOMASA, W. S.; CABRAL JR, M. Geotecnologia: tendências e desafios. **São Paulo em Perspectiva**, v. 14, n. 3, p. 78-90, 2000.

BITTENCOURT, F. O.; PADILHA, F. F.; SIQUEIRA, A. L.; DANTAS, C. G.; MENDONÇA, L. S.; ARAÚJO, Y. L. F. M.; ARAÚJO, E. D.; CARDOSO, J. C. Avaliação da atividade antifúngica de formulações semi-sólidas contendo extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v. 10, n. 10, 2014.

BORGUETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 531-537, 2006.

BOZKAYA, O.; BOZKAYA, G.; UYSAL, I. T.; BANKS, D. A. Illite occurrences related to volcanic-hosted hydrothermal mineralization in the Biga Peninsula, NW Turkey: Implications for the age and origin of fluids. **Ore Geology Reviews**, v. 76, p. 35–51, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2a edição. Brasília: ANVISA, 2008. 120 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1a edição. Brasília: ANVISA, 2004. 52 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2a edição. Brasília: ANVISA, 2012. 74 p.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5a edição. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Parte I: Métodos Gerais, 546 p., 2010a.

BRASIL. Lei n. 12.305, de 2 de agosto de 2010. **Política nacional de resíduos sólidos**. 2.ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 2012. 73 p. – (Série legislação; n. 81). 2010b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário Nacional / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Resolução RDC Nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 27 de set. 1999.

BRITISH PHARMACOPEIA. London: Her Majesty's Stationery Office, 10.952 p., 2008.

CAMPOS, L.E.G. **Balanco Mineral**. Talco e Pirofilita. Departamento Nacional de Produção Mineral-Ministério de Minas e Energia. Brasília, DF, 2001.

CARA, S., CARCANGIU, G., PADALINO, G., PALOMBA, M., TAMANINI, M. The bentonites in pelotherapy: thermal properties of clay pastes from Sardinia (Italy). **Applied Clay Science**, v. 16, p. 25–132, 2000.

CARRETERO, M. I. Clay minerals and their beneficial effects upon human health: A review. **Applied Clay Science**, v. 21, p. 155–163, 2002.

CARRETERO, M. I., POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical industry: part I. Excipients and medical applications. **Applied Clay Science**, v. 46, n. 1, p. 73–80, 2009.

CARRETERO, M. I., POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industry: part II. Active Ingredients. **Applied Clay Science**, v. 47, p. 171–181, 2010.

CARRETERO, M. I.; POZO, M.; LEGIDO, J. L.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M. V.; DELGADO, R.; GÓMEZ, I.; ARMIJO, F.; MARAVER, F. Assessment of three Spanish clays for their use in pelotherapy. **Applied Clay Science**, v. 99, p. 131–143, 2014.

CARVALHO, N. B.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. Uso de sílicas modificadas para imobilização de lipases. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 399-409, 2015.

CESSA, R. M. A.; CELI, L.; VITORINO, A. C. T.; NOVELINO, J. O.; BARBERIS, E. Área superficial específica, porosidade da fração argila e adsorção de fósforo em dois latossolos vermelhos. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 33, p. 1153-1162, 2009.

CHORILLI, M.; ZAGUE, V.; SCARPA, M. V.; LEONARDI, G. R. Influência da viscosidade do veículo na liberação *in vitro* da cafeína. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. IV, n. 1, p. 52-60, 2007.

COELHO, A. C. V.; SANTOS, P. S.; SANTOS, H. S. Argilas especiais: o que são, caracterização e propriedades. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 146-152, 2007.

DA SILVA, A. C.; VIDAL, M.; PEREIRA, M. G. Impactos ambientais causados pela mineração e beneficiamento de caulim. **Revista Escola de Minas**, v. 54, n. 2, 2001.

DARÉ, R.; ESTANQUEIRO, M.; AMARAL, M. H. A. R.; TRUITI, M. C. T. Significância dos argilominerais em produtos cosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, p. 59-67, 2015.

DÁRIO, G. M.; DA SILVA, G. G.; GONÇALVES, D. L.; SILVEIRA, P.; JUNIOR, A. T.; ANGIOLETTO, E.; BERNARDIN, A.M. Evaluation of the healing activity of therapeutic clay in rat skin wounds. **Material Science and Engineering**, v. 43, p. 109–116, 2014.

DE OLIVEIRA, M. T. G.; FURTADO, S. M. A.; FORMOSO, M. L. L.; EGGLETON, R. A.; DANI, N. Coexistence of halloysite and kaolinite - study on the genesis of kaolin clays of Campo Alegre Basin, Santa Catarina State, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, n. 4, p. 665-681, 2007.

DEMARQUETTE, N. R.; CARASTAN, D.; VALERA. **Clay containing compounds**. In: Recent advances in polymer nanocomposites. Editors: Thomaz, S.; Zaikov. Editora Nova Science Publishers, Nova York, 327-378, 2008.

DENIZOLT, F.; LANG, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. **Journal of Immunological Methods**, v. 89, n. 2, p. 271-277, 1986.

DIAMOND, S.; KINTER, E. B. **Surface areas of clay minerals as derived from measurements of glycerol retention**. Bureau of Public Roads, Physical Research Division, Washington, D. C., p. 334-347, 1960.

DONTOSOVA, K. M.; NORTON, L. D.; JOHNSTON, C. T.; BIGHAM, J. M. Influence of exchangeable cations on water adsorption on water by soil clays. **Soil Science Society of America Journal**, v. 68, p. 1218–1227, 2004.

EL-BAZZA, Z.; EL-TABLAZY, S.; HASHEM, A.; NASSER, H. Evaluation of the microbial contamination of some eye-make up products before and after use. **Bio Health Science Bulletin**, v. 1, n. 2, p. 68–75, 2009.

ESTANQUEIRO, M.; AMARAL, M. H.; SOUSA LOBO, J. M. Comparison between sensory and instrumental characterization of topical formulations: impact of thickening agents. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 38, p. 389–398, 2016.

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

FROST, R.; MENDELOVICI, E. Modification of fibrous silicates surfaces with organic derivatives: an infrared spectroscopic study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 47–52, 2006.

GALINDO, A. L.; IBORRA, C. V.; GONZÁLEZ, P. C. Las arcillas en Farmacia, Cosmética y Balnearios. In: M. Suárez, M. A. Vicente, V. Rives y M. J. Sánchez. **Materiales Arcillosos: de la Geología a las Nuevas Aplicaciones**. Salamanca: Varona, p. 289-307, 2006.

GARDOLINSKI, J. E.; WYPYCH, F.; CANTÃO, M. P. Esfoliação e hidratação da caulinita após intercalação com uréia. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 761-767, 2001.

GOMES, C. S. F.; SILVA, J. B. P. Minerals and clay minerals in medical geology. **Applied Clay Science**, v. 36, p. 4-21, 2007.

GUERRA, D. L.; SOUSA, J. A.; AIROLDI, C.; VIANA, R. R. Avaliação da eficiência de caulinita intercalada com dimetilsulfóxido em adsorção com o Zn (II) em meio aquoso - cinética do processo de adsorção. **Cerâmica**, v. 54, p. 273-279, 2008.

HAMMAMI-BEN ZAIED, F.; ABIDI, R.; SLIM-SLIM, N.; SOMARIN, A.K. Potentiality of clay raw materials from Gram area (Northern Tunisia) in the ceramic industry. **Applied Clay Science**, v. 112-113, p. 1–9, 2015.

HONG, E.; KANG, D. Effect of sequential dry heat and hydrogen peroxide treatment on inactivation of *Salmonella typhimurium* on alfalfa seeds and seeds germination. **Food Microbiology**, v. 53, p. 9–14, 2016.

INPI. Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br/>> Acesso em: nov, 2016.

INTERNATIONAL STANDARD. ISO 10993- 5. Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Geneva: International Organization for Standardization, 2009.

KATUSIN-RAZEM, B.; MIHALJEVIC, B.; RAZEM, D. Microbial decontamination of cosmetic raw materials and personal care products by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 66, p. 309–316, 2003.

KHIARI, I.; MEFTEH, S.; SÁNCHEZ-ESPEJO, R.; CERESO, P.; AGUZZI, C.; LÓPEZ-GALINDO, A.; JAMOSSI, F.; IBORRA, C. V. Study of traditional Tunisian medina clays used in therapeutic and cosmetic mud-packs. **Applied Clay Science**, v.101, p. 141–148, 2014.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyroclinesatureioides*. Lam. DC. Compositae. (Marcela)**. 1991. 228 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.

LACRIMANTE, C. A.; RIBEIRO NETO, L. M. Aspectos toxicológicos em cosmetologia. In: **III Simpósio de Ciências Farmacêuticas**. Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2014.

LIMA, C. G.; VILELA, A. F. G.; DA SILVA, A. A. S.; PIANNOVSKI, A. R.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; DE MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 239-245, 2008.

LIPSON, S. M.; STOTZKY, G. Adsorption of Reovirus to Clay Minerals: Effects of Cation-Exchange Capacity, Cation Saturation, and Surface Area. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 673-682, 1983.

LÓPEZ-GALINDO, A.; VISERAS, C. Pharmaceutical and Cosmetic Applications of Clays. In: F. Wypych and K.G. Satyanarayana. **Clay Surfaces: Fundamentals and Applications**. Granada: Elsevier, p. 267-289, 2004.

LÓPEZ-GALINDO, A.; VISERAS, C.; CERESO, P. Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products. **Applied Clay Science**, v. 36, p. 51-63, 2007.

MA, X.; ZHOU, W.; FU, Z.; CHENG, Y.; MIN, M.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, P.; RUAN, R. Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewaterbased algae cultivation system. **Bioresource. Technology**, v. 167, p. 8–13, 2014.

MADEJOVÁ, J. FTIR techniques in clay mineral studies. **Vibrational Spectroscopy**, v. 31, p. 1–10, 2003.

MAKÓ, E.; SENKÁR, Z.; KRISTÓF, J.; VÁGVÖLGYI, V. Surfacedmodification of mechanochemically activated kaolinites by selective leaching. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 362–370, 2006.

MARRIOTT, C. Reologia. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 56-73.

MARTINS, J. P.; MÁDUAR, M. F.; SILVA, P. S. C. Avaliação da composição elementar de argilas de Campo Grande (MG). **International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2013**. Recife, 2013.

MASMOUDI, H.; LE DRÉAU, Y.; PICCERELLE, P.; KISTER, J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method FTIR. **International Journal of Pharmacy**, v. 289, p. 117-31, 2005.

MATTIOLI, M.; GIARDINI, L.; ROSELLI, C.; DESIDERI, D. Mineralogical characterization of commercial clays used in cosmetics and possible risk for health. **Applied Clay Science**, v. 119, p. 449–454, 2016.

MCCULLOCH L.; HOPKINS, J. (2001). **Patente de inovação**. Br, PI 0.204.573-7, Brasil.

MECHI, A.; SANCHES, D. L. Impactos ambientais da mineração no estado de São Paulo. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 68, p. 209-220, 2010.

MEIRA, J. M. L. Argilas: o que são, suas propriedades e classificações. **VISA Consultores**: comunicações técnicas. 2001.

MODABBERI, S.; NAMAYANDEH, A.; LÓPEZ-GALINDO, A.; VISERAS, C.; SETTI, M.; RANJBARAN, M. Characterization of Iranian bentonites to be used as pharmaceutical materials. **Applied Clay Science**, v. 116–117, p. 193–201, 2015.

MOLLA, S.; MALTCHIK, L.; CASADO, C.; MONTES, C. Particulate organic matter and ecosystem metabolism in a temporary Mediterranean stream of SW Spain. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 137, p. 59–76, 1996.

MONTENEGRO, L.; RAPISARDA, L.; MINISTERI, C.; PUGLISI, G. Effects of lipids and emulsifiers on the physicochemical and sensory properties of cosmetic emulsions

containing vitamin E. **Cosmetics**, v. 2, p. 35–47, 2015.

MORIYA, T.; MÓDENA, J. L. P. Assepsia e antissepsia: técnicas de esterilização. **Medicina**, v.41, n.3, p. 265-73, 2008.

NERSESYAN, A.; KUNDI, M.; ATEFIE, K.; SCHULTE-HERMANN, R.; KNASMULLER, S. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention Journal**, v. 15, p. 1835-1840, 2006.

NZEUKOU, A. N.; KAMGANG, V. K.; MEDJO, R. E.; MELO, U. C.; NJOYA, A.; LEMOUGNA, P.N.; FAGEL, N. Industrial potentiality of alluvial clays deposits from Cameroon: influence of lateritic clayey admixture for fired bricks production. **Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering**, v. 1, p. 236–244, 2013.

OINUMA, K.; HAYASHI, H. Infrared study of mixed-layer clay minerals. **American Mineralogist**, v. 50, p. 1213–1227, 1965.

OLIVEIRA, A. G; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.

PAZ, S. P. A; ANGÉLICA, R. S.; NEVES, R. F.; NEUMANN, R.; DA COSTA, G. M. Ocorrência de uma nova bentonita brasileira nos basaltos intemperizados da formação Mosquito, bacia do Parnaíba, sul do Maranhão. **Cerâmica**, v. 57, p. 444-452, 2011.

PENA-FERREIRA, M. R.; SANTOS, D.; SILVA, J. B. P.; AMARAL, M. H.; SOUSA-LOBO, J. M.; GOMES, J. H.; GOMES, C. S. F. Aplicação de argilas esmectíticas da ilha do Porto Santo em máscaras faciais. **Anales de Hidrología Medica**, v. 4, p. 67-79, 2011.

POENSIN, D.; CARPENTIER, P.; FÉCHOZ, C.; GASPARINI, S. Effects of mud pack treatment on skin microcirculation. **Joint Bone Spine**, v. 70, p. 367–370, 2003.

POPPE, L. J.; PASKEVICH, V. F.; HATHAWAY, J. C.; BLACKWOOD, D. S. **A laboratory manual for X-ray powder diffraction**. U. S. Geological Survey Open-File Report 01-041, 2001. Disponível em: <http://pubs.usgs.gov/of/2001/of01-041/index.htm>. Acesso em: ago, 2016.

PREVIDELLO, B. A. F.; CARVALHO, F. R.; TESSARO, A. L.; SOUZA, V. R.; HIOKA, N. O pK_A de indicadores ácido-base e os efeitos de sistemas coloidais. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 600-606, 2006.

QTAITAT, M. A.; AL-TRAWNEH, I. N. Characterization of kaolinite of the Baten El-Ghoul region/south Jordan by infrared spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 61, p. 1519–1523, 2005.

REBELO, M.; VISERAS, C.; LÓPEZ-GALINDO, A.; ROCHA, F.; FERREIRA DA SILVA, E. Characterization of Portuguese geological materials to be used in medical hydrology. **Applied Clay Science**, v. 51, p. 258–266, 2011.

RIBEIRO, G. **Rochas e Solos**. Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/GuilhermeRibeiro11/rochas-e-solos>> Acesso em: jan, 2017. 2012.

RODRIGUES, O. M. S.; ARAUJO, A. C.; PERES, A. E. C. Microflotação de caulinita utilizando aminas. **Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, v. 63, n. 4, p. 661-666, 2010.

SAMPAIO, E. **Mineralogia do solo**. Portugal: Universidade de Évora, p. 1-21, 2006.
SAX, H.; ALLEGRANZI, B.; CHRAITI, M.; BOYCE, J.; LARSON, E.; PITTET, D. The World Health Organization hand hygiene observation method. **American Journal of Infection Control**, v. 37, n. 10, p. 827–834, 2009.

SAVIAN, A. L.; VARELLA, F. T.; ATHAYDE, M. L.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 91, n. 2, p. 82-88, 2011.

SCHIFFENBAUER, M.; SOTTZKY, G. Adsorption of Coliphages T1 and T7 to Clay Minerals. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 590-596, 1982.

SCHULZE, D. G. **An introduction to soil mineralogy**. In *Minerals in Soil Environments*, ed. J. B. Dixon and S. B. Weed, 1-34. Soil Science Society of America Book Series 1. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, 1989.

SCOPUS. Elsevier. Disponível em: <<https://www-scopus-com.ez314.periodicos.capes.gov.br/home.uri>>. Acesso em: novembro 2016.

SILVA, P. S. C.; OLIVEIRA, S. M. B.; FARIAS, L.; FÁVARO, D. I. T.; MAZZILLI, B. P. Chemical and radiological characterization of clay minerals used in pharmaceuticals and cosmetics. **Applied Clay Science**, v. 52, p. 145–149, 2011.

SILVA, R. A. O.; MARQUES, L. G. A.; SIMÕES, E. R. B.; SANTOS, M. R. M. C.; PESSOA, C. O. Argilas na cosmetologia: prospecção tecnológica baseada em patentes e artigos. **Revista Geintec**, v. 2, n. 2, p. 174-186, 2012.

SILVA, R. A. O.; CUNHA E SILVA, M. C.; OLIVEIRA SILVA, M. G.; DE OLIVEIRA, A. L. N. F.; MARQUES, L. G. A.; SILVA FILHO, E. C.; SILARES DA SILVA, T. S.; SANTOS, M. R. M. C. Potencial tecnológico das argilas na cosmetologia. **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 3, p. 267-274, 2013.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. 142 p.

SOUZA, V. M.; ANTUNES JUNIOR, D. **Ativos Dermatológicos**: Guia de ativos dermatológicos utilizados na farmácia de manipulação para médicos e farmacêuticos. 5ª edição, vol. 5. São Paulo: Pharmabooks, 2008.

SRINIVASAN, R. Advances in application of natural clay and its composites in removal of biological, organic, and inorganic contaminants from drinking water. **Advances in Materials Science and Engineering**, s/v., p. 1-17, 2011.

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

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. XXVIII, 934 p.

VAN MEERLOO, J.; KASPERS, G. J.; CLOOS, J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. **Methods in Molecular Biology**, v. 731, p. 237-245, 2011.

VISERAS, C.; AGUZZI, C.; CERESO, P.; LOPEZ-GALINDO, A. Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. **Applied Clay Science**, v. 36, p. 37-50. 2007.

VISERAS, C.; CULTRONE, G.; CERESO, P.; AGUZZI, P.; BASCHINI, M. T.; VALLES, J.; LÓPEZ-GALINDO, A. Characterisation of northern Patagonian bentonite for pharmaceutical uses. **Applied Clay Science**, v. 31, p. 272–281. 2006.

WEBER, D. J.; RUTALA, W. A.; MILLER, M. B.; HUSLAGE, K.; SICKBERT-BENNETT, E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. **American Journal of Infection Control**, v. 38, n. 5, p. 25–33, 2010.

WEISS-ANGELI, V.; POLETTO, F. S.; ZANCAN, L. R.; BALDASSO, F.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Nanocapsules of octyl methoxycinnamate containing quercetin delayed the photodegradation of both components under ultraviolet a radiation. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 4, n. 1, p. 80-89, 2008.

WORASITH, N.; GOODMAN, B. A.; NEAMPAN, J.; JEYACHOKE, N.; THIRAVETYAN, P. Characterization of modified kaolin from the Ranong deposit Thailand by XRD, XRF, SEM, FTIR and EPR techniques. **Clay Minerals**, v. 46, p. 539–559, 2011.

YEKELER, M.; ULUSOY, U.; HIÇYILMAZ, C. Effect of particle shape and roughness of talc mineral ground by different mills on the wettability and floatability. **Powder Technology**, v. 140, p. 68–78, 2004.

ZHANG, D.; ZHOU, C.; LIN, C.; TONG, D.; YU, W. Synthesis of clay minerals. **Applied Clay Science**, v. 50, p. 1–11, 2011.

ANEXOS

ANEXO I

Análise de Variâncias para os resultados de pH

Fonte	gl	SQ	MQ	F	p
Tipo de Argila (TA)	4	0,0618	0	1,02	0,404
Forma Farmacêutica (FF)	1	208,9709	209	13804,09	0,000
Acondicionamento (AC)	2	0,0178	0	0,59	0,559
TA x FF	4	0,0173	0	0,29	0,886
TA x AC	8	0,0110	0	0,09	0,999
FF x AC	2	0,0011	0	0,04	0,964
TA x FF x AC	8	0,0238	0	0,20	0,990
Erro	60	0,9083	0		
Total	89	210,012			

Legenda: gl = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; MQ = média quadrática.

ANEXO II

Resultados de espalhabilidade para as emulsões

Amostra	Peso da Placa	INICIAL	TA 90	E 90	G 90
E-P	828,31	1061,84 ± 200,87	982,68 ± 124,65	900,72 ± 105,49	925,51 ± 31,27
	1656,81	1309,18 ± 48,82	1364,06 ± 99,36	1237,29 ± 125,08	1094,29 ± 33,99
	2485,81	1408,16 ± 105,78	1475,27 ± 104,50	*	1163,95 ± 52,69
	3317,81	1475,66 ± 119,13	1531,86 ± 71,81	*	1184,10 ± 46,42
E-I	828,31	1133,54 ± 0,00	1155,78 ± 123,82	1225,31 ± 62,02	1037,11 ± 71,54
	1656,81	1256,39 ± 54,05	1453,55 ± 135,03	1513,02 ± 208,61	1332,47 ± 129,84
E-II	828,31	1036,46 ± 33,09	943,43 ± 15,75	909,03 ± 93,82	890,05 ± 40,51
	1656,81	1194,11 ± 30,62	1123,66 ± 17,11	1156,70 ± 91,44	1104,03 ± 29,44
	2485,81	1277,06 ± 18,24	1214,66 ± 35,80	1299,56 ± 103,67	1174,22 ± 62,82
	3317,81	*	*	1320,50 ± 85,82	*
E-III	828,31	873,44 ± 80,52	805,41 ± 88,38	937,09 ± 122,84	795,66 ± 29,01
	1656,81	1028,15 ± 92,31	1047,51 ± 104,29	1173,96 ± 46,51	1084,41 ± 16,88
	2485,81	1056,08 ± 67,08	1094,94 ± 73,51	1214,78 ± 47,02	1104,03 ± 29,44
	3317,81	*	*	1277,32 ± 48,22	*
E-IV	828,31	883,45 ± 112,60	668,10 ± 35,12	812,40 ± 29,01	730,37 ± 23,94
	1656,81	1004,01 ± 175,84	890,05 ± 40,51	1055,69 ± 44,11	1018,27 ± 74,10
	2485,81	1023,64 ± 190,35	954,36 ± 105,02	1164,08 ± 60,45	1045,94 ± 28,65

* Peso de placa não necessário para medir a espalhabilidade na amostra.

(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de espalhabilidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de espalhabilidade a temperatura ambiente (20 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de espalhabilidade em geladeira (2 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de espalhabilidade em estufa (45 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento).

ANEXO III

Resultados de espalhabilidade para os géis

Amostra	Peso da Placa	INICIAL	TA 90	E 90	G 90
G-P	828,31	1451,98 ± 67,51	1330,64 ± 49,51	1233,16 ± 248,17	1153,81 ± 45,82
	1656,81	1747,21 ± 93,42	1792,28 ± 297,76	1763,50 ± 554,01	1736,81 ± 170,37
	2485,81	1848,21 ± 138,26	2042,30 ± 80,07	1962,23 ± 553,58	1862,41 ± 191,08
	3317,81	*	2097,12 ± 142,78	2119,63 ± 544,46	1951,31 ± 149,60
	4154,81	*	2194,40 ± 201,96	*	2016,01 ± 100,34
G-I	828,31	1363,54 ± 76,14	1185,02 ± 93,71	982,16 ± 112,88	1167,22 ± 157,26
	1656,81	1455,12 ± 181,29	1246,12 ± 65,46	1066,61 ± 101,21	1271,89 ± 198,55
	2485,81	*	1288,51 ± 83,45	1107,96 ± 165,52	1373,94 ± 38,07
G-II	828,31	1331,16 ± 81,57	1491,82 ± 234,00	1135,63 ± 119,33	1103,90 ± 0,00
	1656,81	1825,19 ± 204,94	2050,09 ± 496,45	1699,85 ± 161,14	1613,56 ± 54,22
	2485,81	2150,24 ± 62,61	*	1773,64 ± 164,56	1685,78 ± 76,08
	3317,81	2233,06 ± 48,49	*	*	*
G-III	828,31	1474,23 ± 39,43	1431,18 ± 134,60	1256,91 ± 82,41	1177,63 ± 163,87
	1656,81	1712,87 ± 183,43	1710,38 ± 92,44	1625,27 ± 35,72	1621,35 ± 449,03
	2485,81	*	*	*	1779,39 ± 301,99
	3317,81	*	*	*	1866,86 ± 288,27
G-IV	828,31	1353,14 ± 97,74	1310,49 ± 112,24	1019,84 ± 121,16	1177,10 ± 157,66
	1656,81	1441,32 ± 98,01	1566,99 ± 88,49	1336,39 ± 224,12	1297,53 ± 285,28
	2485,81	1511,19 ± 164,65	1654,45 ± 235,50	1368,38 ± 213,50	*

* Peso de placa não necessário para medir a espalhabilidade na amostra.

(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de espalhabilidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de espalhabilidade a temperatura ambiente (20 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de espalhabilidade em geladeira (2 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de espalhabilidade em estufa (45 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento).

ANEXO IV

Análise de Variâncias para os resultados de espalhabilidade

Fonte	gl	SQ	QM	F	p
Tipo de Argila (TA)	4	1980772	495193	13,96	0,000
Forma Farmacêutica (FF)	1	4027594	4027494	113,52	0,000
Acondicionamento (AC)	2	174008	87004	2,45	0,095
TA x FF	4	2295483	573871	16,18	0,000
TA x AC	8	225942	28243	0,80	0,608
FF x AC	2	206252	103126	2,91	0,062
TA x FF x AC	8	439241	54905	1,55	0,160
Erro	60	2128704	35478		
Total	89	11477996			

Legenda: gl = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = média quadrática.

ANEXO V

Resultados de viscosidade para as emulsões

Amostra	Rotações	INICIAL	TA 90	E 90	G 90
E-P	60 rpm	4397,46 ± 180,75	6203,26 ± 67,20	4591,43 ± 41,98	5339,16 ± 244,10
	70 rpm	3989,66 ± 301,26	5855,10 ± 175,17	3746,20 ± 76,38	4889,26 ± 370,64
	80 rpm	3815,23 ± 384,18	5472,20 ± 177,19	3485,13 ± 132,65	4559,83 ± 386,47
	90 rpm	3647,93 ± 340,85	5167,10 ± 288,14	3303,43 ± 181,74	4281,13 ± 276,74
	99,9 rpm	3435,46 ± 206,21	4618,40 ± 43,51	3104,03 ± 148,41	3970,70 ± 230,57
	90 rpm	3149,86 ± 219,37	4972,16 ± 184,72	3250,26 ± 135,90	4056,50 ± 251,96
	80 rpm	3224,60 ± 229,23	5094,36 ± 209,76	3402,83 ± 92,26	4135,56 ± 771,05
	70 rpm	3371,70 ± 141,06	5389,46 ± 415,33	3488,86 ± 126,30	4184,76 ± 814,57
	60 rpm	3532,50 ± 126,60	5716,20 ± 417,55	4201,43 ± 54,85	4461,86 ± 901,55
E-I	60 rpm	3942,46 ± 194,84	5438,03 ± 92,91	4419,93 ± 134,33	4264,30 ± 84,94
	70 rpm	3422,40 ± 48,75	4942,97 ± 71,36	4053,63 ± 59,30	3825,70 ± 104,82
	80 rpm	3124,16 ± 35,04	4744,67 ± 214,23	3916,57 ± 119,02	3501,93 ± 75,15
	90 rpm	3011,63 ± 102,81	4591,80 ± 294,03	3643,13 ± 40,01	3194,30 ± 63,14
	99,9 rpm	2792,16 ± 140,66	4517,23 ± 244,98	3216,10 ± 188,96	2879,00 ± 68,75
	90 rpm	2985,30 ± 205,51	4575,60 ± 231,98	3552,30 ± 125,43	3036,77 ± 140,27
	80 rpm	3113,60 ± 242,74	4689,80 ± 381,01	3643,63 ± 177,33	3189,77 ± 241,72
	70 rpm	3208,50 ± 261,62	4845,73 ± 327,3	3830,07 ± 80,39	3376,37 ± 280,62
	60 rpm	3452,26 ± 280,42	5118,43 ± 418,64	4136,00 ± 33,43	3678,63 ± 318,8
E-II	60 rpm	4754,30 ± 77,21	5093,73 ± 206,66	5348,37 ± 508,91	5643,07 ± 187,03
	70 rpm	4469,80 ± 147,06	4648,60 ± 202,03	4998,17 ± 565,91	5197,77 ± 480,17
	80 rpm	4292,50 ± 118,27	4304,57 ± 162,13	4734,30 ± 410,52	4905,63 ± 389,05
	90 rpm	4085,73 ± 273,54	3935,00 ± 127,94	4575,57 ± 409,26	4482,50 ± 346,63
	99,9 rpm	3682,36 ± 215,51	3550,43 ± 159,52	4415,67 ± 500,88	4298,17 ± 236,94
	90 rpm	3727,33 ± 171,62	3616,97 ± 194,66	4564,30 ± 465,28	4458,10 ± 290,9
	80 rpm	3878,03 ± 237,95	3759,53 ± 236,99	4719,67 ± 407,09	4847,30 ± 335,47
	70 rpm	3906,70 ± 227,61	3912,30 ± 319,7	4820,70 ± 388,97	5091,00 ± 324,55
	60 rpm	4004,06 ± 257,50	4272,10 ± 316,22	5301,30 ± 530,76	5381,37 ± 471,98
E-III	60 rpm	5074,93 ± 31,07	6449,90 ± 195,35	5256,97 ± 654,20	5261,07 ± 491,90
	70 rpm	4649,86 ± 173,43	6252,67 ± 267,54	4636,07 ± 651,81	4948,20 ± 234,89
	80 rpm	4449,26 ± 273,57	5888,43 ± 168,88	4422,17 ± 426,49	4513,23 ± 378,54
	90 rpm	4117,66 ± 156,75	5352,17 ± 190,33	4071,33 ± 185,78	4036,27 ± 291,04
	99,9 rpm	3731,96 ± 212,27	4808,10 ± 56,08	3879,63 ± 254,97	3901,57 ± 272,46
	90 rpm	3908,93 ± 210,19	4837,07 ± 112,29	4051,63 ± 204,97	4160,73 ± 374,00
	80 rpm	4066,60 ± 251,06	4926,53 ± 92,44	4236,07 ± 243,26	4300,83 ± 259,16
	70 rpm	4110,56 ± 286,09	5062,80 ± 46,95	4503,30 ± 500,00	4657,37 ± 270,53
	60 rpm	4421,96 ± 254,81	5226,63 ± 113,81	5189,87 ± 312,18	4904,37 ± 358,86

(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente (20 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira (2 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa (45 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento).

Continuação ANEXO V

Continuação dos Resultados de viscosidade para as emulsões

Amostra	Rotações	INICIAL	TA 90	E 90	G 90
E-IV	60 rpm	5070,53 ± 391,85	6908,63 ± 88,41	4943,60 ± 144,47	6889,70 ± 292,41
	70 rpm	4833,86 ± 369,26	6523,57 ± 316,18	4680,30 ± 196,30	6070,83 ± 299,91
	80 rpm	4394,86 ± 441,17	5986,10 ± 439,42	4416,67 ± 184,99	5656,53 ± 183,17
	90 rpm	4116,13 ± 506,52	5495,83 ± 302,56	4211,00 ± 184,69	5090,07 ± 300,81
	99,9 rpm	3598,43 ± 262,77	5098,60 ± 271,57	3960,70 ± 232,27	4537,67 ± 336,08
	90 rpm	3810,66 ± 121,15	5182,77 ± 212,65	4064,97 ± 297,09	4763,27 ± 253,56
	80 rpm	3958,43 ± 174,40	5275,37 ± 218,67	4271,50 ± 347,64	4943,27 ± 271,2
	70 rpm	4230,26 ± 90,15	5718,57 ± 226,68	4474,10 ± 467,12	5240,23 ± 368,41
	60 rpm	4475,23 ± 76,48	5968,20 ± 289,36	4706,20 ± 573,03	5545,43 ± 464,35

(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento).

ANEXO VI

Resultados de viscosidade para os géis

Amostra	Rotações	INICIAL	TA 90	E 90	G 90
G-P	50 rpm	8452,27 ± 1319,64	8329,10 ± 932,86	5108,47 ± 79,34	7767,50 ± 811,05
	60 rpm	6965,57 ± 151,66	7269,30 ± 820,02	4468,57 ± 64,7	6742,97 ± 773,67
	70 rpm	6280,00 ± 229,89	6755,90 ± 1207,24	4022,23 ± 70,86	6013,33 ± 804,51
	80 rpm	5718,97 ± 203,53	5879,37 ± 633,08	3657,57 ± 91,00	5480,50 ± 721,34
	90 rpm	5222,57 ± 181,28	5356,33 ± 558,50	3387,07 ± 59,61	5053,70 ± 661,46
	80 rpm	5663,30 ± 177,44	5835,27 ± 604,29	3616,53 ± 58,84	5449,50 ± 627,65
	70 rpm	6212,20 ± 222,11	6375,60 ± 713,20	4005,43 ± 35,40	6003,63 ± 673,11
	60 rpm	6903,10 ± 224,24	7097,90 ± 807,16	4430,93 ± 67,89	6731,47 ± 871,51
	50 rpm	8424,13 ± 1275,58	8094,07 ± 885,54	5026,13 ± 162,99	7650,33 ± 1035,10
G-I	50 rpm	9079,60 ± 461,32	8657,17 ± 268,95	5895,80 ± 595,97	8986,27 ± 303,14
	60 rpm	8068,00 ± 361,14	7621,30 ± 205,50	5227,33 ± 583,23	7921,00 ± 306,94
	70 rpm	7137,73 ± 310,33	6878,13 ± 190,24	4723,50 ± 533,22	7104,77 ± 265,60
	80 rpm	6451,57 ± 215,64	6269,20 ± 204,97	4310,67 ± 464,94	6499,50 ± 272,29
	90 rpm	5858,00 ± 185,40	5768,53 ± 173,63	3972,77 ± 432,28	5939,10 ± 234,14
	80 rpm	6437,43 ± 188,98	6240,50 ± 171,45	4190,43 ± 644,94	6439,63 ± 263,11
	70 rpm	7092,27 ± 250,35	6848,27 ± 167,05	4665,80 ± 521,70	7092,43 ± 295,38
	60 rpm	7923,13 ± 269,88	7455,13 ± 89,39	5105,90 ± 576,39	7869,20 ± 324,94
	50 rpm	8896,97 ± 389,44	8460,03 ± 129,45	5821,53 ± 761,44	8844,80 ± 359,83
G-II	50 rpm	7656,37 ± 878,96	7882,37 ± 887,91	5804,47 ± 281,13	5644,43 ± 155,11
	60 rpm	6799,40 ± 601,11	6917,02 ± 773,50	5149,13 ± 233,30	5012,03 ± 150,56
	70 rpm	6039,10 ± 541,18	6217,73 ± 686,84	4611,37 ± 182,42	4463,00 ± 121,87
	80 rpm	5453,70 ± 480,18	5639,50 ± 602,61	4184,80 ± 182,42	4040,10 ± 64,99
	90 rpm	5022,90 ± 416,11	5162,63 ± 562,06	3829,50 ± 201,00	3669,23 ± 105,26
	80 rpm	5420,77 ± 467,52	5586,47 ± 624,43	4158,80 ± 186,51	3993,07 ± 78,09
	70 rpm	6025,13 ± 518,80	6111,90 ± 674,52	4582,87 ± 201,51	4413,00 ± 96,13
	60 rpm	6765,93 ± 595,83	6769,90 ± 748,82	5090,83 ± 215,15	4937,00 ± 171,90
	50 rpm	7745,43 ± 717,02	7698,00 ± 861,90	5775,40 ± 313,46	5526,30 ± 86,40
G-III	50 rpm	6107,00 ± 387,91	4828,00 ± 352,55	7303,17 ± 392,35	5514,77 ± 101,67
	60 rpm	5357,97 ± 314,55	4235,30 ± 380,81	6363,20 ± 272,28	4838,73 ± 107,14
	70 rpm	4777,43 ± 273,53	3799,40 ± 303,36	5663,77 ± 246,63	4394,77 ± 71,33
	80 rpm	4327,30 ± 254,31	3433,40 ± 307,30	5137,80 ± 255,31	3983,67 ± 66,12
	90 rpm	3973,00 ± 237,62	3158,67 ± 287,30	4738,07 ± 232,07	3682,47 ± 69,62
	80 rpm	4298,17 ± 279,16	3419,97 ± 260,93	5132,60 ± 278,47	3970,67 ± 50,11
	70 rpm	4740,17 ± 299,17	3793,47 ± 305,75	5655,00 ± 342,13	4388,80 ± 89,33
	60 rpm	5306,57 ± 323,25	4204,57 ± 308,34	6334,33 ± 370,89	4795,67 ± 77,15
	50 rpm	6002,13 ± 384,28	4788,13 ± 423,72	7223,17 ± 502,47	5483,67 ± 114,12

(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente (20 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira (2 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa (45 ± 2°C) após 90 dias de armazenamento)

Continuação ANEXO VI

Continuação dos Resultados de viscosidade para os géis

Amostra	Rotações	INICIAL	TA 90	E 90	G 90
G-IV	50 rpm	7133,13 ± 539,55	7533,43 ± 465,18	5735,50 ± 402,19	7108,03 ± 66,26
	60 rpm	6240,90 ± 418,42	6664,40 ± 355,99	5013,07 ± 324,57	6266,30 ± 12,04
	70 rpm	5583,13 ± 398,44	5980,90 ± 321,37	4487,20 ± 284,09	5545,53 ± 59,40
	80 rpm	5081,23 ± 379,78	5444,27 ± 302,18	4087,60 ± 273,88	5025,07 ± 85,95
	90 rpm	4637,30 ± 306,09	4999,87 ± 264,87	3741,70 ± 206,38	4637,47 ± 58,05
	80 rpm	4999,83 ± 362,85	5440,07 ± 307,26	4061,57 ± 252,71	4990,57 ± 96,05
	70 rpm	5526,00 ± 348,38	5980,90 ± 346,81	4449,57 ± 266,37	5538,17 ± 47,17
	60 rpm	6239,40 ± 424,40	6623,40 ± 278,60	4940,73 ± 309,17	6191,53 ± 119,7
	50 rpm	7053,33 ± 513,13	7527,67 ± 344,91	5587,27 ± 333,30	7074,43 ± 94,85

(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila; Inicial = valores de viscosidade após o preparo da formulação; TA 90 = valores de viscosidade a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; G 90 = valores de viscosidade em geladeira ($2 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento; E 90 = valores de viscosidade em estufa ($45 \pm 2^\circ\text{C}$) após 90 dias de armazenamento)

ANEXO VII

Análise de Variâncias para os resultados de consistência

Fonte	gl	SQ	QM	F	p
Tipo de Argila (TA)	4	3087844	771961	0,80	0,559
Forma Farmacêutica (FF)	1	3410441	3410441	3,52	0,097
Acondicionamento (AC)	2	4729855	2364928	2,44	0,149
TA x FF	4	9467625	2366906	2,44	0,131
TA x AC	8	4387487	548436	0,57	0,781
FF x AC	2	278071	139036	0,14	0,868
Erro	8	7745215	968152		
Total	29	33106539			

Legenda: gl = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = média quadrática.

ANEXO VIII

Resumo dos resultados de estabilidade para a consistência dos géis.

Temperatura	G-P	G-I	G-II	G-III	G-IV
2 ± 2 °C	94,40%*	99,18%*	73,75%	90,90%*	99,74%*
20 ± 2 °C	102,07%*	95,65%*	102,67%*	79,18%	106,44%*
45 ± 2 °C	102,07%*	65,46%	76,00%	119,11%	80,40%

* Resultados que ficaram na faixa de 90-110 %
(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila I-IV)

Resumo dos resultados de estabilidade para a consistência das emulsões.

Temperatura	E-P	E-I	E-II	E-III	E-IV
2 ± 2 °C	122,61%	110,58%	117,86%	104,41%*	133,19%
20 ± 2 °C	144,36%	137,79%	107,11%*	129,97%	135,17%
45 ± 2 °C	101,95%*	114,99%	110,86%	101,84%*	95,82%*

* Resultados que ficaram na faixa de 90-110 %
(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila I-IV)

ANEXO IX

Análise de Variâncias para os resultados de diâmetro de partículas/gotículas.

Fonte	gl	SQ	QM	F	p
Tipo de Argila (TA)	4	4504,8	1126,2	9,34	0,004
Forma Farmacêutica (FF)	1	11476,7	11476,7	95,15	0,000
Acondicionamento (AC)	2	188,1	94,1	0,78	0,490
TA x FF	4	2265,6	566,4	4,70	0,030
TA x AC	8	97,1	12,1	0,10	0,998
FF x AC	2	251,2	125,6	1,04	0,396
Erro	8	964,9	120,6		
Total	29	19748,5			

Legenda: gl = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = média quadrática.

ANEXO X

Resumo dos resultados de estabilidade para o de diâmetro de partícula dos géis.

Temperatura	G-P	G-I	G-II	G-III	G-IV
2 ± 2 °C	268,87%	148,93%	144,45%	189,31%	200,63%
20 ± 2 °C	283,01%	160,29%	154,16%	199,86%	212,89%
45 ± 2 °C	172,62%	139,67%	128,11%	192,70%	195,57%

(G = gel; P = padrão; I-IV = tipo de argila I-IV)

Resumo dos resultados de estabilidade para o de diâmetro de partícula/gotículas das emulsões.

Temperatura	E-P	E-I	E-II	E-III	E-IV
2 ± 2 °C	146,22%	169,72%	185,36%	198,57%	167,64%
20 ± 2 °C	181,35%	161,36%	176,94%	154,73%	188,37%
45 ± 2 °C	146,22%	110,00%*	110,07%	100,73%*	224,24%

* Resultados que ficaram na faixa de 90-110 %

(E = emulsão; P = padrão; I-IV = tipo de argila I-IV)