



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

Rafaella Moreno Barros<sup>1</sup>, Maria da Glória Batista de Azevedo<sup>2</sup>, Carina Scanoni Maia<sup>3</sup>, \*Juliana de Souza Alencar Falcão<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Curso de Bacharelado em Farmácia, Unidade Acadêmica de Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité-PB, Brasil.

<sup>2</sup> Farmacêutica Unidade Acadêmica de Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, Brasil.

<sup>3</sup> Prof<sup>a</sup> Unidade Acadêmica de Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, Brasil.

\* Email para correspondência: [alencarfalcaojuliana@gmail.com](mailto:alencarfalcaojuliana@gmail.com)

### Resumo

O objetivo do presente estudo foi formular um esfoliante na forma cosmética sabonete líquido à base de diferentes tipos de argila (branca, verde e vermelha) e avaliar a eficácia pelos métodos da leitura histológica por microscopia óptica e pela quantificação de proteínas totais, utilizando pele da orelha de porco. Foi utilizada a argila da faixa de 100 mesh, sem partículas grosseiras, granulometria homogênea, aspecto amorfo, densidade próximo à 1 g/mL com baixo teor de água e impurezas para obter o esfoliante facial. Os resultados histológicos mostraram que o esfoliante de argila branca e a formulação base não apresentaram ação esfoliativa no estrato córneo; enquanto que os esfoliantes de argila verde e vermelha apresentaram esfoliação semelhante à formulação padrão. Quanto à análise de proteínas totais, o esfoliante padrão promoveu 72% de perda de proteínas, o de argila verde 63,7% e o de argila vermelha 67%. O esfoliante de argila branca e a formulação base promoveram perda de 37,4%, atribuídas à limpeza da região. Tais resultados elegeram os esfoliantes de argila verde e vermelha como similares ao esfoliante padrão adotado, podendo ser utilizados para a finalidade proposta em substituição a outros produtos comerciais.

**Palavras – chave:** esfoliante facial, argila, histologia, quantificação protéica.

### Abstract

The objective of this study was to formulate an exfoliant as cosmetic liquid soap based on different types of clay (white, green and red) and measuring the effectiveness by the methods of histological read by optical microscopy and by quantification of total proteins using skin pig's ear. It was used clay of 100-mesh range, without coarse particles, homogeneous granulometry, amorphous appearance, density near 1 g/mL with a low water content and impurities to obtain a facial scrub. Histological results showed that the white clay and exfoliating the base formulation showed no exfoliative action on the stratum corneum; while exfoliating green and red clay showed exfoliation similar to the standard formulation. The analysis of total proteins, the standard promoted exfoliating 72% loss of proteins, green clay 63.7% and red clay 67%. The white clay and the formulation base exfoliating promoted loss of 37.4%, attributed to the cleaning area. These results elected the exfoliating green and red clay as similar to standard exfoliating, may be used for the purpose proposed replacing other commercial products.

**Keywords:** facial scrub, clay, histology, protein quantification.



## **1 Introdução**

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

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

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

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



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

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

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

## **2 Materiais**

### **2.1 Substâncias e reagentes**

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

### **2.2 Equipamentos**

Aagitador eletromagnético BerTel®; Balança Analítica - (Bioprecisa FA-2104N); Dessecador; Estufa - (Biopar, S80ST); Espectrofotômetro UV/VIS - (Biospectro SP-220); Microscópio - (Physis); Microscópio Olympus BX-49; Microscópio Olympus BX-50; MicrotômoMinot (Leica RM 2035); Mufla (Biothec); pHmetro - (Quimis Q400MT); Viscosímetro Rotativo Analógico - (QuimisQ-860A21).



### **2.3 Local de coleta**

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

## **3 Metodologia**

### **3.1 Controle de qualidade físico-químico da argila**

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

#### **3.1.1 Análise granulométrica**

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

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

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

#### **3.1.2 Microscopia óptica**

Após a escolha da granulometria, foram realizadas análises através de microscopia óptica, sendo observadas as estruturas físicas das amostras. Para esse estudo, utilizou-se microscópio marca Physise objetiva 10x.

#### **3.1.3 Densidade aparente compactada**

Uma proveta de 10 mL foi previamente pesada e posteriormente preenchida com argila, sendo submetida a 20 batidas em uma superfície plana com intervalo de



2 segundos entre cada batida. Desse modo, foram realizadas as leituras dos volumes obtidos após os impactos sofridos. Os ensaios foram feitos em triplicata.

A densidade foi obtida com os dados de volume e massa. A massa da proveta vazia ( $M_{pv}$ ) subtraída da massa da proveta cheia ( $M_{pc}$ ) resulta na massa da amostra. Para determinar densidade aparente ( $D_{ap}$ ), divide-se a massa da amostra (gramas) pelo volume da proveta ( $V_p$ ) (mL), de acordo com a equação (1) descrita a seguir: (POLITI, 2009).

$$D_{ap} = \frac{M_{pc} - M_{pv}}{V_p} \quad (1)$$

#### **3.1.4 Perda por dessecação**

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

#### **3.1.5 Resíduo por incineração**

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

#### **3.2 Desenvolvimento da formulação**

Foram selecionadas cinco amostras de argila branca, cada uma possuindo granulometria específica e em quantidades semelhantes. Adicionou-se nas bases dos sabonetes líquidos formulados, observando o melhor comportamento



para uma formulação cosmética, sendo adotada a granulometria 100 Mesh e 150 mm de abertura.

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

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

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

### **3.3 Viscosidade e pH**

A viscosidade foi obtida utilizando viscosímetro rotativo analógico com velocidade de rotação de 30 rpm e Spindle nº 4 (BRASIL, 2004). O pH foi determinado pelo método potenciométrico utilizando pHmetro calibrado (BRASIL, 2004). Os experimentos foram realizados em triplicada.

### **3.4 Estudo da eficácia**

#### **3.4.1 Método da leitura histológica por microscopia óptica**

##### **3.4.1.1 Preparo do material para avaliação histológica**

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



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

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

Fonte: Dados da pesquisa

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

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

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

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

Todas as amostras foram encaminhadas para análises histológicas.

#### **3.4.1.2 Preparo das lâminas**

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





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

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

### **3.4.2 Método de quantificação de proteínas totais pelo método de Biureto**

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

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

A partir da equação da reta obtida por regressão linear, realizou-se o doseamento de proteínas totais na pele de orelha de porco. As absorbâncias foram observadas antes e depois de promover ação mecânica com o produto testado (Sabonete líquido base, esfoliante comercial Mary Kay, esfoliante de argila branca, esfoliante de argila verde, esfoliante de argila vermelha). As peles utilizadas tiveram os pelos retirados com auxílio de barbeador descartável, cortados com lâmina, adotando um quadrante com 1g de massa. Após 5 minutos de esfoliação do corte, com movimentos padronizados, o mesmo foi dividido em 4 fragmentos para aumentar sua superfície de contato e adicionou-se 6 mL de





Biureto, deixando agir por 20 minutos, porém, a cada 2 minutos, o conteúdo era homogeneizado levemente. Completado o tempo, a parte sólida foi separada do líquido utilizando papel filtro e levada à leitura no espectrofotômetro em 550 nm.

## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Controle de qualidade físico-químico da argila

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

#### 4.1.1 Análise granulométrica

Os resultados granulométricos foram satisfatórios para otimizar o desenvolvimento da formulação, onde foi adotada a granulometria de mesh 100 e abertura 150 mm. Os resultados da análise granulométrica estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2: Análise granulométrica das argilas**

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

Fonte: Dados a pesquisa

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



ser empregado na formulação, foi adotada a argila da faixa granulométrica 100 mesh.

#### 4.1.2 Microscopia óptica

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

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

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

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

#### 4.1.3 - Densidade compactada

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

Tabela 3: Densidade compactada das argilas

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



Fonte: Dados da pesquisa

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

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

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

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

#### 4.1.4 Perda por dessecação

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

Tabela 4: Massa de argila após 2 horas de estufa

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

Fonte: Dados da pesquisa



Observa-se que, mesmo após 6 horas de ensaio, a perda de massa é pequena, não ultrapassando 1%. Desse modo, os três tipos de argila possuíam um baixo teor de água, não dificultando e interferindo nos ensaios. Como possui comportamento pseudoplástico, ao adicionar água a argila ganha forma e volume. Assim, para a formulação adotada e materiais empregados, foi preferível trabalhar com argila seca.

#### 4.1.5 Resíduo por incineração

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

**Tabela 5: Massa perdida da argila após incineração**

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

Fonte: Dados da pesquisa

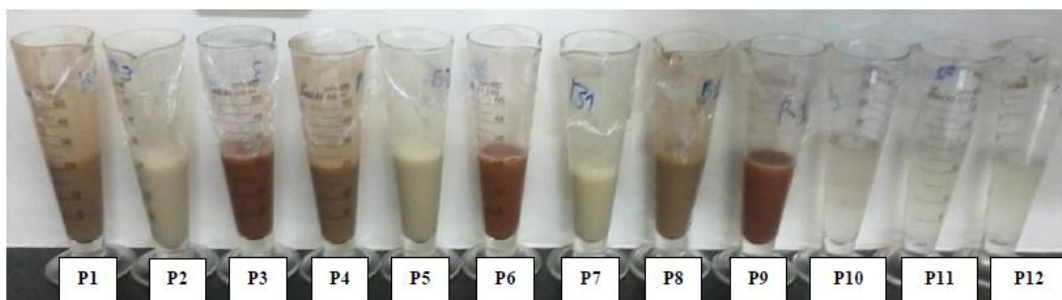
De acordo com os dados, o teor de cinza dos 3 tipos de argila apresentaram diferenças. A argila branca teve 14,3% da massa diminuída, a verde 17,7%, enquanto que a vermelha apresentou a menor perda com apenas 7%. Tais resultados apontam a existência de impurezas nas matérias primas estudadas.

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

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

#### 4.2 Desenvolvimento da formulação

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



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

Fonte: Imagens da pesquisa

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

#### 4.3 Viscosidade e pH

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



**Figura 3: Esfoliantede argila branca, verde e vermelha**

Fonte: Imagens da pesquisa

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



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

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

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

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

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

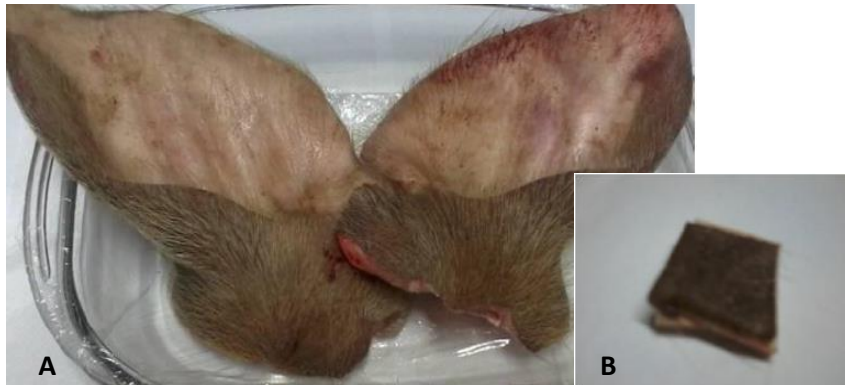
Fonte: Dados da pesquisa

#### 4.4 Estudo da eficácia

##### 4.4.1 Método da leitura histológica por microscopia óptica

###### 4.4.1.1 Preparo do material para avaliação histológica

A orelha de porco e o quadrante 2 cm<sup>2</sup> utilizado no trabalho podem ser visualizados na figuras 4.



**Figura 4: Material histológico: A. Orelha de porco coletada após abate no abatedouro público; B. Quadrante 2 cm<sup>2</sup> adotado para o estudo.**

Fonte: Imagens da pesquisa

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

#### **4.4.1.2 Leitura das lâminas**

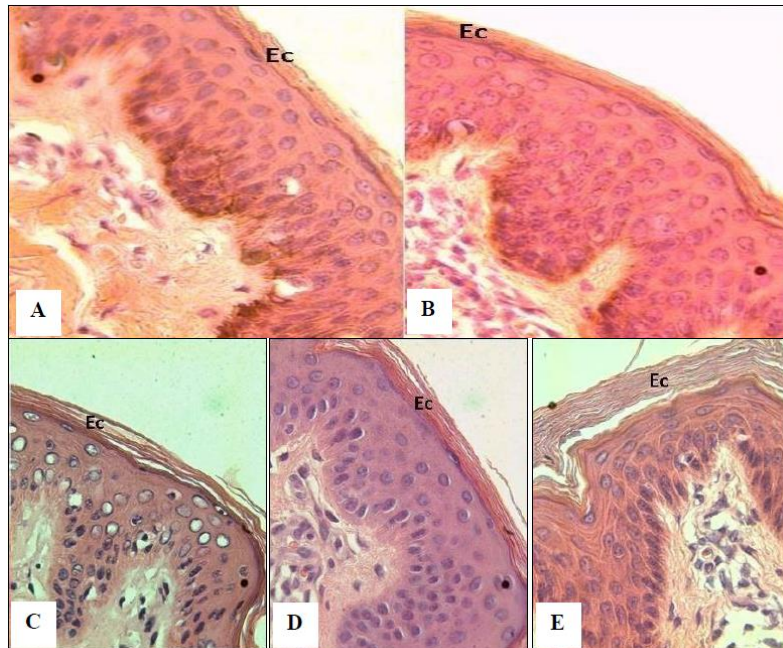
Resultados descritos de acordo com a análise histológica:

- *Tempo 0*

Após a primeira aplicação dos produtos testados, conforme evidenciado na figura 5, a pele tratada com sabonete líquido base para esfoliante apresenta estrato córneo (Ec) da epiderme de aparência uniforme e sem alterações visíveis. A pele tratada com esfoliante de argila branca mostra estrato córneo nas mesmas condições anteriores: aparência uniforme e sem alterações visíveis.

O estrato córneo (Ec) da epiderme tratado com esfoliante padrão comercial evidencia espaçamentos entre os filamentos de queratina. O estrato córneo esfoliado com esfoliante de argila verde exibe leve afastamento entre os filamentos de queratina e o tratado com esfoliante de argila vermelha expõe espaçamentos entre os filamentos de queratina semelhantes ao provocado pelo esfoliante comercial (figura 5).



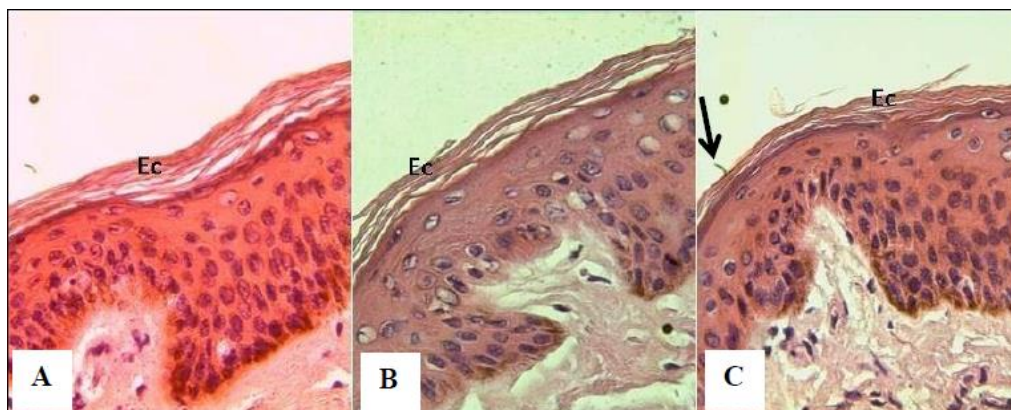


**Figura 5:** Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE) (Aumento 400X)- tempo 0: A. Pele tratada com sabonete líquido placebo; B. Pele tratada esfoliante de argila branca; C. Pele tratada com esfoliante padrão comercial; D. Pele tratada com esfoliante de argila verde; E. Pele tratada com esfoliante de argila vermelha.

Fonte: Imagens da pesquisa

● *Tempo 7 dias*

A figura 6A mostra o estrato córneo (Ec) da epiderme apresentando grandes espaçamentos entre os filamentos de queratina quando aplicado o esfoliante comercial pela segunda vez, no tempo 7. De maneira semelhante, os grandes espaçamentos também podem ser observados após a esfoliação com o esfoliante de argila verde (Figura 6B). Quando o estrato córneo foi tratado com o esfoliante de argila vermelha (Figura 6C), o resultado foi análogo aos anteriores, porém, com áreas mais delgadas (seta).

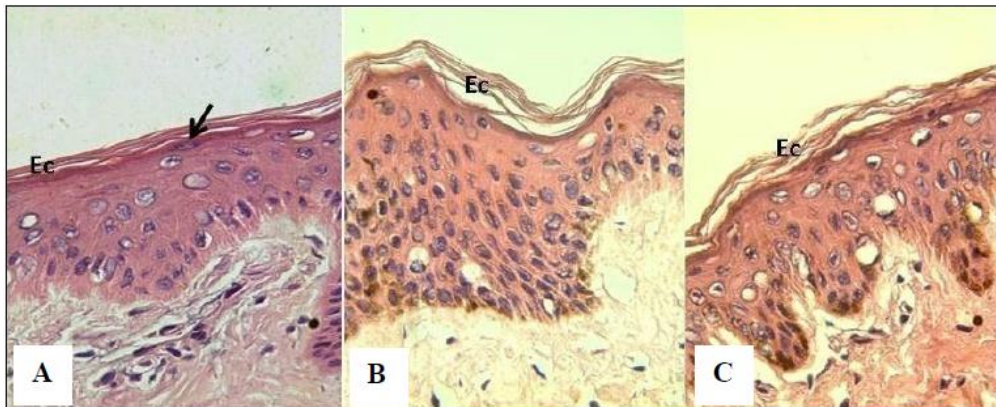


**Figura 6: Cortes histológicos da pele suína com coloração hematoxilina-eosina (HE)(Aumento 400X) – tempo 7 dias: A. Pele tratada com esfoliante padrão comercial; B. Pele tratada com esfoliante de argila verde; C. Pele tratada com esfoliante de argila vermelha.**

Fonte: Imagens da pesquisa

● *Tempo 14 dias*

Após a terceira aplicação dos esfoliantes (grupo III – 14 dias), o estrato córneo da epiderme tratada com esfoliante comercial apresentou-se visivelmente delgada e com células ainda nucleadas próximas ao mesmo (figura 7A; seta). A epiderme esfoliada com esfoliante de argila verde exibiu grandes áreas de espaçamentos entre os filamentos de queratina (Figura 7B) e a pele com aplicação do esfoliante de argila vermelha demonstra espaçamentos entre os filamentos de queratina semelhantes ao provocado pelo esfoliante de argila verde (Figura 7C).



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

Fonte: Imagens da pesquisa

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

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

#### 4.4.2 Método de quantificação de proteínas totais pelo método de Biureto

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

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

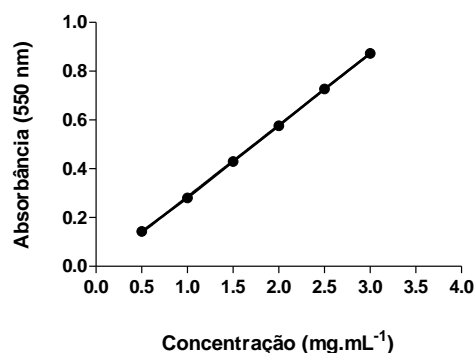


Figura 10: Curva de calibração de proteínas totais pelo método de Biureto a 550 nm.

Fonte: Imagens da pesquisa

Após obtenção da equação da reta, a perda de proteínas totais dos cortes de orelha de porco antes e depois da esfoliação com os produtos testados, foi



calculada e pode ser visualizada na tabela 7. Esses resultados referem-se ao tempo 0.

**Tabela 7: Perda de proteínas totais**

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

Fonte: Dados da pesquisa

O corte de orelha sem esfoliação representa 100% de proteínas totais, ou seja, para cada 1 g de massa de orelha 0,91 mg.mL<sup>-1</sup> é referente as proteínas presentes. Quando um corte de mesma massa foi esfoliado com o esfoliante padrão comercial, ocorreu uma perda significativa de proteínas totais (72%), bem como com o esfoliante de argila verde (63,7%) e de argila vermelha (67,0%).

Esses resultados convergem com a análise histológica que demonstrou uma eficácia semelhante entre os esfoliantes citados, evidenciado por modificações na camada de queratina presente no estrato córneo. Os cortes esfoliados com a base para sabonete líquido (placebo) e esfoliante de argila branca apresentaram uma perda menos significativa em relação aos demais (37,4%), que pode ser oriunda da ação de limpeza e não de esfoliação, conforme resultados também confirmados pela histologia, nos quais, não houve nenhuma agitação na camada de queratina do estrato córneo da pele.

## 5 Conclusão

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

- Os controles de qualidade das argilas permitiram escolher a granulometria mais apropriada para a inclusão nos sabonetes líquidos e conhecer o teor de umidade e cinzas das amostras;
- Após desenvolvimento dos sabonetes líquidos as formulações apresentaram pH e viscosidade satisfatórias e os problemas de sedimentação das argilas e viscosidade dos produtos foram solucionados com sepigel®;
- O estudo de eficácia dos esfoliantes revelou que o produto padrão comercial adotado nesse estudo apresentou melhor ação esfoliante em todos os tempos





estudados. Em comparação com a argila verde no tempo de 7 dias, a argila vermelha apresentou espaçamentos mais visíveis e áreas de adelgaçamento no extrato córneo sugerindo uma ação mais esfoliante num período mais curto. No entanto, no tempo de 14 dias, ambas as argilas apresentam efeitos semelhantes. A argila branca não apresentou ação esfoliante, pois o sabonete líquido não promoveu nenhuma alteração do estrato córneo.

- As proteínas totais dos cortes de orelha de porco foram quantificadas em espectrofotometria pelo método de Biureto e a perda de proteínas após a esfoliação pôde ser determinada. O esfoliante comercial promoveu uma perda de 72% de proteínas totais semelhante à dos esfoliantes de argila verde e vermelha 63,7 e 67,0%, respectivamente. O esfoliante de argila branca e a base para sabonete líquido resultaram em perdas idênticas de proteínas totais (37,4%), que podem ser atribuídas a limpeza do local, uma vez que, na análise histológica, não promoveram nenhuma alteração no estrato córneo da epiderme.

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

## 6 Referências

AMORIM, M. I.; PIAZZA, F. C. P. Uso das argilas na estética facial e corporal. 13p. **Pesquisa (pós-graduação)**. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí-SC, 2012.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003**. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos" Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 20/02/2014.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1.ed. Brasília: Editora Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004, 52 p.



BRASIL. Farmacopeia Brasileira, 5. ed. - volume 1 - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 524 p. 2010.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 4, de 30 de janeiro de 2014**. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 20/02/2014.

CAREGNATTO, B. D.; GARCIA, G. A.; FRANÇA, A. J. V. B. D. V.. **Estudo comparativo entre esfoliante químico e enzimático no processo de esfoliação facial**. 22p. Projeto (Iniciação Científica). Universidade do Vale do Itajaí- UNIVALI, Curso superior de Tecnologia em Cosmetologia Estética, campus Balneário Camboriú - SC, 2011.

CASTRO, S. S. Micromorfologia de solos: Bases para descrição de lâminas delgadas. **UNICAMP/UFG**. Campinas/Goiânia: fevereiro/2008.

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

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

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

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

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

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



**EDUCAÇÃO CIÊNCIA E SAÚDE**, v.2, n.2, Julho a Dez. de 2015.  
ISSN 2358-7504 <http://periodicos.ces.ufcg.edu.br>

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

VALENZUELA, M. G. S.; CASSAROTTE, A. R. B.; et al. **Caracterização de argilas funcionais para cosméticos**. Trabalho acadêmico (graduação) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.