



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

RAFAEL OLIVEIRA DE ABREU

AVALIAÇÃO DAS ESTABILIDADES FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE
UMA LOÇÃO FOTOPROTETORA

FORTALEZA

2017

RAFAEL OLIVEIRA DE ABREU

AVALIAÇÃO DAS ESTABILIDADES FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE
UMA LOÇÃO FOTOPROTETORA

Monografia apresentada ao Curso de
Farmácia da Universidade Federal do
Ceará como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Cristiani
Lopes C. G. de Oliveira

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A99a Abreu, Rafael Oliveira de.
Avaliação da estabilidade físico-química e microbiológica de uma loção fotoprotetora /
Rafael Oliveira de Abreu. – 2017.
59 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, 3,
Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Cristiani Lopes Capistrano Gonçalves de Oliveira.
1. Farmácia. 2. Protetor solar. 3. Estabilidade de cosméticos. 4. Testes físico-químicos. 5.
Testes microbiológicos. I. Título.

CDD

RAFAEL OLIVEIRA DE ABREU

AVALIAÇÃO DAS ESTABILIDADES FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE
UMA LOÇÃO FOTOPROTETORA

Monografia apresentada ao Curso de
Farmácia da Universidade Federal do
Ceará como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cristiani Lopes Capistrano Gonçalves de Oliveira

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra Tamara Gonçalves Araújo

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Farmacêutica Mestre Jéssica de Castro Fonseca

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, pelo dom da vida, por iluminar meus passos, por me dar discernimento nos momentos em que precisei ser forte e racional.

À minha família, que tanto amo, pelos momentos de conquistas e dificuldades.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus por todas as vitórias conquistadas ao longo da minha vida acadêmica e por nunca deixar que eu fraquejasse nos momentos mais duvidosos.

Aos meus pais, Valdeci e Anézia, que sempre estiveram ao meu lado, mesmo quando decidi mudar a opção de curso universitário que eles almejavam para mim, assim como me proporcionaram a oportunidade de ter um estudo de qualidade.

A minha namorada e companheira, Fernanda Braga, que em muitos momentos soube ter paciência comigo e que também me ajudou com muitos trabalhos do curso.

A minha irmã, Débora, que sempre teve paciência comigo e que me faz companhia em todos os momentos.

A minha avó materna, Maria, pela qual possuo um grande carinho e admiração, assim como ela acredita e confia no meu sucesso profissional.

Ao restante dos meus familiares, tios, tias, primos e primas, que de alguma forma me ajudaram ao longo dessa caminhada acadêmica.

Aos meus amigos de graduação da UFC, que me ajudaram a crescer não só profissionalmente, mas também humanamente, com os quais compartilhei momentos de muita alegria. Em especial, o meu amigo Anderson Rodrigues, que veio a falecer em virtude de um acidente de trabalho.

Aos amigos de graduação da universidade de Rennes, na França, durante a realização de intercâmbio pelo Programa Ciências Sem Fronteira (2014-2015), com duração de um (01) ano. Em especial, a minha monitora Morgane Le Cam, que muito me ajudou com as documentações da universidade e com a socialização entre os novos amigos.

A minha orientadora Prof^a Dra. Cristiani Lopes C. G. de Oliveira, que me ajudou com o projeto de pesquisa da monografia e que permitiu a realização dos experimentos no laboratório de Controle físico-químico da Farmácia Escola - UFC.

A professora Tamara Gonçalves Araújo pelo desenvolvimento da formulação; e a aluna Suzy, pelo estudo preliminar de diferentes formulações.

Aos funcionários da Farmácia Escola - UFC, tanto os farmacêuticos, Emídio, Socorro, Janete Ribeiro, Jéssica Fonseca, Adriana e Rafaela; quanto os dos setores da diretoria, Luttiano, Arturzinda e Virginia, da produção, Jurandir, Elton, Erilane, Emanuel, Zélia e Eliane.

Ao prof^o Said G.C. Fonseca, do laboratório de Farmacotécnica, que permitiu a utilização dos equipamentos para a realização dos testes de estabilidade. Assim como aos seus orientandos, Ederson L. H.de Sousa e Maria Aparecida A.J., que me ajudaram com os instrumentos de medida.

Aos professores do curso de Farmácia, que contribuíram com a minha formação no âmbito universitário e social.

RESUMO

O Brasil é reconhecido internacionalmente por sua alegria e tropicalidade, sendo essas características associadas, em parte, às altas temperaturas distribuídas ao longo do território. Nesse ponto, os níveis de radiação solar incidentes no país requerem bastante atenção por parte das populações infantil, jovem, adulta e idosa. Apesar dos inúmeros benefícios proporcionados pelo sol, faz-se necessário atentar para os momentos de fotoexposição exagerados, visto que os danos causados pela radiação ultravioleta podem acarretar sérias consequências à saúde. Assim, a presença de uma fórmula fotoprotetora eficaz e segura previne esses possíveis danos à pele. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade físico-química e microbiológica de uma loção fotoprotetora produzida pela Farmácia Escola da Universidade Federal do Ceará. Este estudo dos parâmetros de estabilidade em cosméticos teve duração de 60 dias, sendo as análises realizadas após 24h, seguidas por 05, 10, 15, 30, 45 e 60 dias pós-produção, sendo armazenadas em embalagens de plástico. As formulações foram divididas em 02 (dois) grupos quanto às condições de armazenamento do produto finalizado, sendo um submetido à temperatura ambiente e o outro à estufa a 40°C. Ambos os grupos foram submetidos à análise sensorial, verificando-se o aspecto, a cor e o odor; pH, peso, viscosidade, espalhabilidade e avaliação microbiológica. No estudo da estabilidade preliminar, a loção fotoprotetora apresentou instabilidade diante do teste de centrifugação, com presença de precipitado. As amostras submetidas à temperatura ambiente não apresentaram, de imediato, inconformidades quanto à cor, odor e aspecto da formulação. O pH em 60 dias foi de 5,3, houve pouca variação de peso e nenhuma amostra apresentou contaminação microbiológica. Observou-se também o aumento da viscosidade e, conseqüentemente, decréscimo da espalhabilidade de ambos os grupos. Mesmo a formulação apresentando alguns aspectos pontuais, haverá a necessidade de continuar os estudos de estabilidade sobre a formulação.

Palavras-chave: Estabilidade de cosméticos, Protetores solares e Farmácia.

ABSTRACT

Brazil is internationally recognized for its joy and tropicality, these characteristics being associated, in part, with the high temperatures distributed throughout the territory. At this point, the levels of solar radiation incident in the country require a lot of attention from the children, young, adult and elderly populations. In spite of the numerous benefits provided by the sun, it is necessary to pay attention to the exaggerated moments of photo exposure, since the damages caused by ultraviolet radiation can have serious health consequences. Thus, the presence of an effective and safe photoprotective formula prevents these possible damages to the skin. The objective of this study was to evaluate the physical-chemical and microbiological stability of a photoprotective lotion produced by the Farmácia Escola of the Universidade Federal do Ceará. This study of the parameters of stability in cosmetics lasted 60 days, and the analyses were performed after 24 hours, followed by 05, 10, 15, 30, 45 and 60 days post-production, being stored in plastic packages. The formulations were divided into two (2) groups for the storage conditions of the finished product, one being submitted to room temperature and the other to the oven at 40°C. Both groups were submitted to the sensorial analysis, verifying the appearance, the color, and the odor; pH, weight, viscosity, spreadability and microbiological evaluation. In the study of the preliminary stability, the photoprotective lotion presented instability before the centrifugation test, with the presence of precipitate. Samples submitted to room temperature did not immediately exhibit nonconformities regarding the color, odor, and appearance of the formulation. The pH at 60 days was 5.3, there was little change in weight and no sample had microbiological contamination. It was also observed the increase in viscosity and, consequently, a decrease in the spreadability of both groups. Even the formulation presenting some specific aspects, there will be a need to continue stability studies on the formulation.

Keywords: Cosmetic stability, Sunscreening agentes and Pharmacy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Balanço de energia solar terrestre, através da ilustração pode-se observar as intrínsecas interações da radiação solar com os elementos atmosféricos. 15
- Figura 2 - Média anual da radiação solar global do Brasil. Pode-se observar que o valor máximo de irradiação, 6,5 KWh/m², ocorre no Norte do estado da Bahia. 16
- Figura 3 - Contato dos raios solares com a pele. A capacidade penetrante nas camadas da pele varia com o tipo de radiação solar. 19
- Figura 4 - Teste de espalhabilidade realizado sob uma impressora scanner. À esquerda, observam-se as 5 placas de vidros sob a amostra, inicialmente no formato de uma gota, no centro, e posterior formato de um círculo após a compressão das placas; à direita, adição de um “peso” sob as mesmas placas. 34
- Figura 5 - Técnica de semeadura superficial em meio sólido, esgotamento em estrias ou estrias múltiplas..... 36
- Figura 6 - Análise por microscopia óptica das micelas formadas antes do envase. Nas imagens, indicadas pelas setas, observam-se as micelas que foram formadas no processo de emulsificação da preparação. Micelas indicadas por setas e por pontos pretos, recurso empregado para contagem. (aumento 10x)..... 37
- Figura 7- Amostra centrifugada em tubo de ensaio após 24h de envase. 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de fotossensibilizantes envolvidos em casos de fototoxicidade e fotoalergia.....	17
Tabela 2- Alguns tipos de filtros solares aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA).	20
Tabela 3 - Avaliação do comportamento sensorial e do pH da amostra, submetida ao stress térmico durante os ciclos de gelo-degelo.....	40
Tabela 4 - Aspecto e características organoléticas da loção durante o estudo de estabilidade.	41
Tabela 5 - Determinação do pH durante o estudo de estabilidade.....	43
Tabela 6 - Determinação da variação de peso da formulação durante o estudo de estabilidade. As massas ilustradas representam as massas diretas do produto, desconsiderando-se a massa da embalagem.	44

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Distribuição do volume corpuscular individual das micelas, em μm^3 , formadas durante o processo de emulsificação da loção.....	38
Gráfico 2 - Reograma referente ao comportamento reológico da amostra mantida em temperatura ambiente (25°C).....	46
Gráfico 3 - Reograma referente ao comportamento reológico da amostra mantida em estufa a 40°C.....	46
Gráfico 4 - Determinação da espalhabilidade em amostras mantidas em temperatura ambiente em função do peso aplicado.....	47
Gráfico 5 – Determinação da espalhabilidade em amostras mantidas em estufa a 40°C em função do peso aplicado.....	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Composição da loção fotoprotetora.....	26
Quadro 2 - Avaliação microbiológica inicial da amostra após 48h do envase.	49
Quadro 3 - Avaliação microbiológica da amostra mantida à temperatura ambiente.	50
Quadro 4 - Avaliação microbiológica de amostra mantida em estufa a 40° C.....	50

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - volume da esfera em função do diâmetro. (d = diâmetro; $\pi = 3,14$).....	30
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FDA – Food and Drug Administration

FPS – Fator de Proteção Solar

UVA – Ultravioleta A

UVB – Ultravioleta B

UVC – Ultravioleta C

pH – Potencial hidrogeniônico

rpm – Rotação por minuto

UFC/g – Unidade Formadora de Colônia por grama

KWh/m² - Kilo Walts hora por metro quadrado

INCA – Instituto Nacional de Câncer

IV – Infravermelho

FPU – Fator de Proteção Ultravioleta

WHO – World Health Organization

INCL - International Nomenclature of Cosmetic Ingredients

p/v – Peso/volume

μm³ - micrometros cúbicos

cP – centi Poise

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Filtros solares.....	19
2.2 Formulação emulsionada.....	21
2.3 Estabilidade das formulações	21
3. OBJETIVOS.....	24
3.1 Geral	24
3.2 Específicos.....	24
4. MATERIAIS	25
4.1 Produto farmacêutico	25
4.2 Equipamentos	27
4.3 Programas utilizados.....	27
5. MÉTODOS.....	28
5.1 Técnica de preparo	28
5.2 Amostragem.....	29
5.3 Testes de estabilidade Preliminar	30
5.3.1 Avaliação microscópica das micelas.....	30
5.3.2 Teste de Centrífuga	31
5.3.3 Ciclos de gelo-degelo	31
5.4 Testes de estabilidade Acelerada	31
5.4.1 Avaliação das características organolépticas	31
5.4.1.1 Cor.....	31
5.4.1.2 Odor.....	32
5.4.1.3 Aspecto.....	32
5.4.2 Avaliação das características físico-químicas.....	32
5.4.2.1 Determinação de peso.....	32
5.4.2.2 Determinação do pH.....	33
5.4.2.3 Determinação da Viscosidade	33
5.4.2.4 Determinação da Espalhabilidade	33
5.4.3 Controle microbiológico	34

5.4.3.1	Preparo da amostra	34
5.4.3.2	Contagem de micro-organismos em placa	34
5.4.3.3	Pesquisa e identificação de patógenos	35
5.4.3.3.1	Preparação da amostra e pré-incubação	35
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6.1	TESTE DE ESTABILIDADE PRELIMINAR	37
6.1.1	Avaliação microscópica das micelas.....	37
6.1.2	Teste de centrifugação	39
6.1.3	Ciclos de gelo-degelo	40
6.2	TESTE DE ESTABILIDADE	41
6.2.1	Aspecto e características organolépticas.....	41
6.2.2	Determinação de pH	42
6.2.3	Determinação de peso	44
6.2.4	Comportamento reológico.....	45
6.2.5	Determinação da espalhabilidade.....	47
6.2.6	Avaliação microbiológica	49
7.	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52

1. INTRODUÇÃO

Diante do aumento da temperatura global que conseqüentemente traz as mudanças climáticas, também provocam o aumento do número de casos diagnosticados de câncer de pele, faz-se necessário a elaboração de novas loções fotoprotetoras, bem como o aperfeiçoamento das características dos produtos de natureza cosmética já existentes, com a finalidade de proteger as superfícies epidérmicas externas dos efeitos danosos da radiação ultravioleta.

Segundo BALOGH (2011) é crescente a necessidade de novas tecnologias farmacêuticas que forneçam uma fotoproteção eficaz, não só pelo caráter profilático contra o envelhecimento precoce, mas também contra a incidência de câncer de pele.

Devido à sua importância e frequente presença em vários países, a neoplasia maligna cutânea, ou câncer de pele, é classificada em câncer de pele não melanoma (CPNM) e melanoma cutâneo (DIEPGEN, 2002; ISHIHARA, 2008).

Essa alta incidência de neoplasia cutânea é facilitada por alguns fatores de risco individuais, tais como pele clara, idade acima de 40 anos, fator genético, tal como albinismo e xeroderma pigmentoso; e imunossupressão (FERREIRA, 2011; NIKOLAOU, 2012).

Dessa maneira, justifica-se garantir o estudo das estabilidades físico-química e microbiológica de uma nova formulação com característica fotoprotetora, para assegurar a eficácia do produto. Além disso, o presente estudo é de grande relevância, pois contribui para a promoção da saúde dermatológica da população, por meio de uma proteção de barreira contra os raios ultravioletas e retardar um possível processo oncológico na pele.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

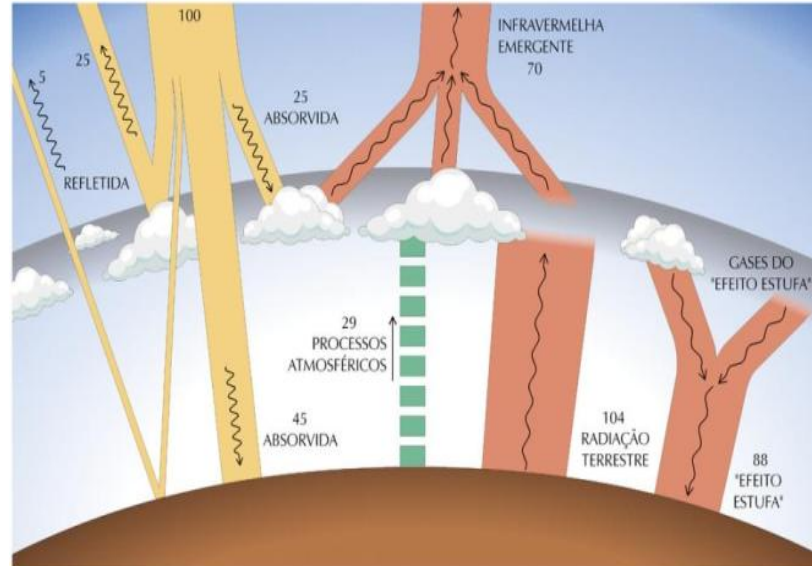
O câncer de pele é a principal consequência dos efeitos adversos da radiação ultravioleta (UV) ao organismo. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a exposição excessiva ao sol está associada a graves problemas de saúde ocular, tais como o pterígio, a ceratose actínica e a alterações tumorais oculares. Merecendo atenção, principalmente, os países de localização tropical, tais como o Brasil (MURTINHO, 2010).

A localização geográfica do Brasil, entre o Equador e o Trópico de Capricórnio, está fortemente influenciada pelos efeitos da proximidade solar. Dentre os diversos agentes atmosféricos de natureza ambiental, ao qual o organismo humano está exposto frequentemente, a radiação solar continua desempenhando um importante papel quanto aos níveis de exposição dérmica ao sol (BALOGH et al., 2014).

A luz solar é uma fonte primária de energia para inúmeros processos que garantem a homeostase do planeta Terra, como a fotossíntese, a evaporação e os ciclos de sazonalidade. A radiação solar também é responsável diretamente por diversas atividades socioeconômicas, como a agropecuária, arquitetura, engenharia e hidrologia, as quais necessitam de aproveitamento com o máximo de rentabilidade possível (WILD, 2009).

Ao atravessar as camadas atmosféricas, a radiação solar interage com vários elementos atmosféricos através de processos de absorção e espalhamento dos raios incidentes. Apesar de ser considerada transparente, a atmosfera consegue barrar aproximadamente 75% da radiação incidente, ou seja, essa parcela é absorvida, refletida de volta ao espaço ou sofre refração, adquirindo nova direção ao atingir a superfície terrestre. Assim, aproximadamente 25% da radiação consegue chegar à superfície da Terra sem interagir com os constituintes que compõem a atmosfera (LIOU, 2002). O resumo da dinâmica desses processos é ilustrado a seguir, na Figura 1.

Figura 1- Balanço de energia solar terrestre, através da ilustração pode-se observar as intrínsecas interações da radiação solar com os elementos atmosféricos.



Fonte: PEREIRA et al., 2006.

A região Nordeste do Brasil apresenta elevados valores de médias anuais de temperatura do ar, em torno de 20 a 28°C. Isso corresponde a um dado de radiação global médio aproximado de 5,9 KWh/m², segundo o Atlas Brasileiro de Energia Solar (PEREIRA et al., 2006).

O mapa da Figura 2 mostra a média anual do total de radiação solar global que incide sob o território brasileiro. Mesmo com as distintas características climáticas do país, pode-se observar que a média anual de irradiação comportou-se de maneira uniforme, com médias anuais relativamente altas em todo o Brasil (PEREIRA et al, 2006).

Figura 2- Média anual da radiação solar global do Brasil. Pode-se observar que o valor máximo de irradiação, 6,5 KWh/m², ocorre no Norte do estado da Bahia.



Fonte: Atlas Brasileira de Energia Solar (PEREIRA et al., 2006).

Para a saúde humana, a luz solar é indispensável para uma grande quantidade de benefícios psicológicos para o homem, como o sentimento de bem-estar, o efeito antidepressivo, o aumento da produção de melanina juntamente com o bronzeamento, assim como a síntese de vitamina D, importante nos processos de absorção de cálcio pelos ossos (PURIM; LEITE, 2010).

Entretanto, ressalta-se que níveis excessivos de exposição solar podem desencadear uma série de danos imediatos, como queimaduras solares, eritemas, fotodermatoses (a lucite, a acne, o cloasma, o lúpus, a urticária e o vitiligo) e fotossensibilização. Em longo prazo, poderá ocorrer o rápido envelhecimento cutâneo e a fotocarcinogênese (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

Dentre os tipos mais comuns de câncer de pele, estão o melanoma cutâneo e o câncer de pele não melanoma. Este é o mais frequente no Brasil,

correspondente a 30% dos registros de tumores malignos e de baixa mortalidade. Já o não-melanômico é um câncer de pele que tem origem nos melanócitos e que representa 3% das neoplasias malignas da pele. Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), a estimativa de novos casos de melanoma cutâneo foi de 5.670 em 2016. Já quanto ao câncer de pele não melanoma, estimou-se em 175.760 novos casos para o mesmo ano (INCA, 2016).

Os Fotossensibilizantes de contato como antisépticos de uso tópico, assim como outros medicamentos de uso tópico e de ação sistêmica (BARBAUD, A; TRÉCHOT, P; BÉANI J.C, 2011), podem desencadear reações de fototoxicidade e fotoalergia (ver Tabela 1). Essas podem surgir com uma mínima exposição ao Sol devido à multiplicação dos efeitos danosos do Sol sobre a pele, estabelecendo um quadro de queimadura solar causada pela ação do fármaco (SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE DERMATOLOGIE, 2015).

Tabela 1 - Exemplos de fotossensibilizantes envolvidos em casos de fototoxicidade e fotoalergia.

Antisépticos (uso tópico)			
salicilanilida hexaclorofeno	bitionol	clorexidina	triclosan
Outros de uso tópico			
fenotiazinas	sulfamidas	AINS (oxicans, arilcarboxílico, diclofenaco)	aciclovir
tretinoína		tiobendazol	
Ação sistêmica			
ácido nalidixico	atenolol	alprazolam	amiodarona
amilorida	amitriptilina	atovastatina	captopril
carbamazepina	citalopram	ciprofloxacina	clobazam
clorpromazina	clorotiazida	clofibrato	contraceptivos orais e transdérmicos
diltiazem	doxepina	doxorubicina,	efavirenz
enlamil	espironolactona	erva de São João	fenobarbital
fluoxetina	furosemida	gentamicina	glibenclamida

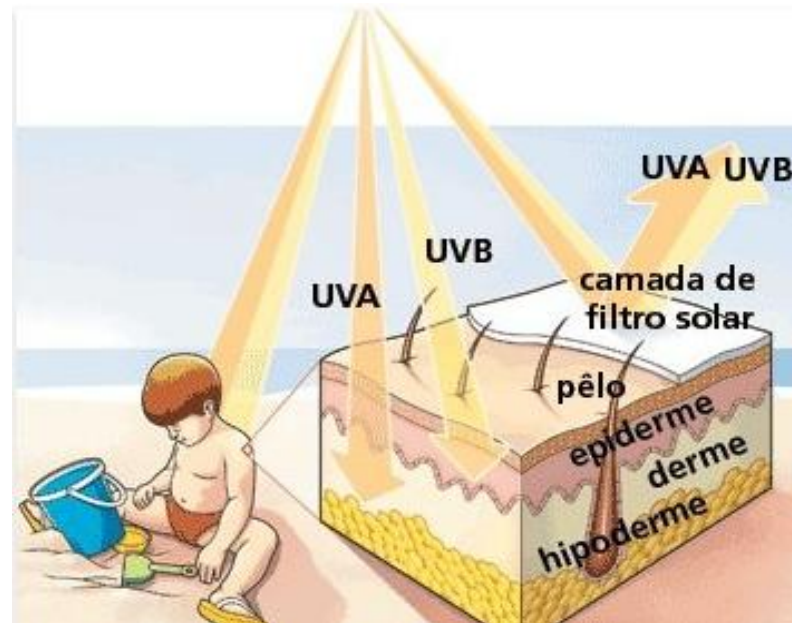
haloperidol	hidroclorotiazida	ibuprofeno	imipramina
indometacina	interferon alfa	isoniazida	lamotrigina
meloxicam	metotrexato	metildopa	nitrofurantoína
nifedipina	omeprazol	pantoprazol	pridoxicam
prometazina	promazina	propranolol	ranitidina
sinvastatina	saquinavir	tetraciclina	trimetropima
tolbutamina	valsartana	vimblastina	

Fonte: modelo elaborado pelo autor.

Os efeitos danosos à pele são provocados pela exposição intensa aos raios solares, os quais são constituídos pela luz infravermelha (50%), pela luz visível (40%) e pela radiação ultravioleta (10%). A luz infravermelha (IV) é fortemente absorvida pelo vapor d'água e pelo gás carbônico atmosféricos, estando diretamente relacionada com as variações climáticas da Terra. Já a luz visível, é responsável pela sensação visual e pela sensação de calor quando nos expomos ao Sol. Por fim, a radiação ultravioleta desempenha fotoreações importantíssimas no organismo, bem como é subdividida em três faixas, quais sejam ultravioleta C (UVC), de 100 a 290 nm; ultravioleta B (UVB), de 290 a 320 nm; e ultravioleta A (UVA), de 320 a 400 nm (BALOGH et al., 2011).

Os raios ultravioletas, como qualquer outro tipo de onda eletromagnética, estão sujeitos a sofrer absorção, reflexão ou espalhamento, ao incidirem sobre a pele. Dessas três propriedades físicas citadas, apenas a primeira oferece risco de alteração para as moléculas orgânicas (melanina, proteínas e ácidos nucleicos) (RENNEKAMPFF et al., 2010). Portanto, faz-se necessário o uso de mecanismos de fotoproteção, visto que a pele humana não é totalmente preparada para barrar o potencial penetrante da radiação ultravioleta, conforme é ilustrado na Figura 3. Tais medidas podem ser exemplificadas através da utilização de vestimentas com Fator de Proteção Ultravioleta (FPU), de óculos com filtro UV, de chapéu com aba larga e de produtos que contenham filtros solares (WHO, 2010).

Figura 3 - Contato dos raios solares com a pele. A capacidade penetrante nas camadas da pele varia com o tipo de radiação solar.



Fonte: <http://www.tempoagora.com.br/dia-a-dia/radiacao-solar-esta-elevada-em-grande-parte-do-brasil-mesmo-no-inverno/>

2.1 Filtros solares

Geralmente, os fotoprotetores são produzidos com filtros solares, substâncias que são capazes de absorver a energia da radiação e emití-la na forma de radiação infravermelha. Estes podem ser de natureza orgânica (filtros químicos) e inorgânica (filtros físicos), ou a combinação qualitativa e quantitativa de ambos. Assim, obtêm-se uma proteção desejada em relação ao FPS, contra a radiação UV (RIBEIRO et al, 2004). Alguns dos tipos de fotoprotetores podem ser observados na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2- Alguns tipos de filtros solares aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA).

FILTROS ORGÂNICOS	
UVA INCI / Química	UVB INCI / Química
1-(4-TERT-BUTYLPHENIL)-3-(4-METHOXYPHENIL)PROPANE-1,3-DIONE/Avobenzona	PABA/ Ácido 4 – aminobenzoico
MENTHYL ANTHRANILATE/Antranilato de mentila	OCTYL (ou ETHYLHEXYL) DIMETHYL PABA/ 4-Dimetil-aminobenzoato de 2-etilhexila
BENZOPHENONE-8/ 2,2-dihidroxi-4-metoxibenzofenona	HOMOSALATE/ Salicilato de homomentila
BENZOPHENONE-3/ 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (oxibenzona)	ETHYLHEXYL SALICYLATE/ Salicilato de 2-etilhexila
BENZOPHENONE-4/ Ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfônico e seu sal sódico	TEA-SALICYLATE/Salicilato de trietanolamina
TEREPHTHALYLIDENE DICAMPHOR SULFONIC ACID/ 3,3-(1,4-fenilenodimetileno) bis(ácido 7,7-dimetil-2-oxo-biciclo-(2.2.1)1-heptilmetano sulfônico e seus sais.	CINOXATE/ 4-metoxicinamato de 2-etoxietila
	OCTYL METHOXYCINNAMATE/ 4-metoxicinamato de 2-etilhexila
	OCTOCRYLENE/2-ciano-3,3-difenilacrilato de 2-etilhexila
	PHENYLBENZIMIDAZOLE SULFONIC ACID/ Ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico e seus sais de potássio, sódio e trietanolamina.
FILTROS INORGÂNICOS	
UVA/UVB INCI/Química	
TITANIUM DIOXIDE/ Dióxido de titânio	
ZINC OXIDE/ Óxido de zinco	

Fonte: FDA e International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), uma definição aceitável para filtros solares seria o fato de serem preparações de uso tópico que são empregadas com a finalidade de minimizar os efeitos deletérios adquiridos devido à exposição aos raios ultravioletas. Contudo, a maioria dos filtros solares não apresenta uma proteção completa contra os raios UVA e UVB (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Os filtros inorgânicos são compostos de natureza metálica, agem protegendo a pele como uma barreira física, desempenhando as funções de reflexão e de dispersão da radiação incidente. Dentre os agentes frequentemente utilizados, a formulação em estudo emprega o dióxido de titânio (TiO₂), o qual caracteriza-se, como os demais tipos de filtro desse grupo, por apresentar uma boa margem de segurança e eficácia, ou seja, baixa predisposição à irritação, à fotoestabilidade e à absorção sistêmica (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; RAI; SRINIVAS, 2007).

Quanto aos filtros orgânicos, esses possuem a capacidade de absorver a radiação ultravioleta de alta energia, convertendo-a em radiação de baixa energia, o que representa pouco dano ao ser humano (BREWSTER, 2006; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Dentre os agentes frequentemente utilizados, a formulação em estudo emprega a benzophenone-3 (Neo Heliopan BB), o octyl methoxycinnamate (Neo Heliopan AV) e o 2-Ethylhexyl salicylate (Neo Heliopan OS).

2.2 Formulação emulsionada

As preparações cosméticas destinadas à fotoproteção podem ser encontradas de diferentes formas farmacêuticas, como loção hidroalcoólica, géis, emulsões do tipo óleo em água (O/A) ou do tipo água em óleo (A/O), óleos, bastões ou aerossóis (BALOGH *et al* 2011).

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2010), o termo loção é empregado para uma preparação líquida aquosa ou hidroalcoólica, de uso tópico, que apresenta uma viscosidade variável. Pode se apresentar na forma de solução, suspensões ou emulsões. Já o Formulário Nacional (2012) complementa dizendo que as dispersões também podem ser semissólidas, e que, em estado líquido esses sistemas dispersos devem possuir uma viscosidade maior que os sistemas em solução para reduzir o processo de sedimentação. Assim, a formulação deve ser ajustada para mostrar uma redispersão rápida e homogênea, pós-agitação.

2.3 Estabilidade das formulações

Os produtos de natureza cosmética devem ser submetidos aos estudos de estabilidade, pois há necessidade de conhecer o grau de estabilidade relativa

desses produtos, haja vista que eles poderão ser acondicionados em diferentes ambientes desde a fabricação até o fim do prazo de validade. Esse grau de relatividade leva em consideração o tempo e os fatores que aceleram ou retardam as características iniciais do produto (BRASIL, 2004).

Esses estudos de estabilidade são de grande importância, pois auxiliam no desenvolvimento da pré-formulação, no melhoramento tecnológico, na estimativa do prazo de validade e no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica. Diante de todas essas informações, é possível o formulador garantir confiança e segurança quanto às funções do produto (BRASIL, 2004).

A estabilidade da formulação pode sofrer interferências tanto externas (extrínsecas), quanto internas (intrínsecas). No primeiro grupo, os fatores tempo, temperatura, luz e oxigênio, umidade, material de acondicionamento, presença de microorganismos e vibração durante o transporte são fatores que podem alterar gravemente as características do produto; já no segundo grupo, a depender das características próprias dos excipientes e desses com o material de acondicionamento, há a possibilidade de ocorrer incompatibilidades físicas ou químicas, podendo ser perceptível ou não pelo consumidor final (BRASIL, 2004).

O estudo da estabilidade inicia-se pelo teste de centrifugação, no qual a amostra é submetida a 3.000 rpm durante 30 minutos. Não havendo sinal de instabilidade, as amostras seguem com os testes de estabilidade propriamente ditos, não tendo necessidade de reformulação. Sugere-se também a realização do ciclo de gelo-degelo, onde as amostras são colocadas em temperaturas extremas, com intervalos de 24 horas (BRASIL, 2004).

Primeiramente, realiza-se o teste de estabilidade preliminar ou de triagem, o qual é feito na fase inicial do desenvolvimento do produto, geralmente com duração reduzida. Há o emprego de condições de temperaturas extremas, objetivando acelerar possíveis reações entre os excipientes. É importante destacar que esse teste não tem o objetivo de estimar o tempo de vida útil, somente auxiliar na triagem das formulações (BRASIL, 2004).

O segundo conjunto de testes, o estudo de estabilidade acelerada, normal ou exploratória, fornece os dados de previsão da estabilidade do produto, do tempo de vida útil e do grau de compatibilidade do produto com a embalagem de acondicionamento. Para tal, esses testes são realizados também na fase de desenvolvimento, utilizando lotes em escala laboratorial e piloto de fabricação. Há o emprego de temperaturas menos extremas e os resultados auxiliam na estimativa do prazo de validade. Quando da necessidade de mudanças dos ingredientes ou do processo de fabricação, assim como validar novos equipamentos, pode-se recorrer a esse tipo de estudo (BRASIL, 2004).

Por fim, o estudo de estabilidade de longa duração ou teste de prateleira, que objetiva a validação dos limites de estabilidade do produto e comprova o prazo de validade que foi estimado no teste de estabilidade acelerada. É realizado na quantidade de tempo que foi estimado para o prazo de validade, durante os estudos de estabilidade anteriores. As avaliações devem ser de carácter periódico até o fim do prazo de validade (BRASIL, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a estabilidade físico-química e microbiológica de uma loção fotoprotetora.

3.2 Específicos

- Realizar teste de estabilidade preliminar do produto através da centrifugação, avaliação microscópica das micelas e ciclos de gelo-degelo;
- Averiguar a estabilidade acelerada da formulação durante os 60 dias em temperatura ambiente (25°C) e estufa (40°C);
- Verificar e avaliar as características organolépticas (cor, odor e aspecto) da loção fotoprotetora, a 25°C e 40°C por 60 dias;
- Verificar e avaliar as características físico-químicas (determinação de pH, espalhabilidade, viscosidade) a 25°C e 40°C por 60 dias;
- Realizar ensaios microbiológicos nas amostras armazenadas a 25°C e 40°C por 60 dias.

4. MATERIAIS

4.1 Produto farmacêutico

A loção fotoprotetora utilizada no teste contém 50g de produto acabado, sendo envasado em frascos plásticos, com tampa flip-top. Todas as embalagens foram retiradas do setor de almoxarifado de embalagens da Farmácia-Escola. O Quadro 1 contém todas as matérias-primas que foram utilizadas no preparo da formulação, todas obtidas do setor de almoxarifado de matérias-primas, também pertencente à Farmácia-Escola.

Foi produzido apenas um lote da loção de 1,5 kg de produto acabado, mas o rendimento final pós-envase foi de 1,305 Kg, aproximadamente. Ao final, foram utilizados 25 frascos plásticos durante o processo de envase.

Quadro 1- Composição da loção fotoprotetora.

FASE	ITEM	MATÉRIA-PRIMA (Nome comercial)	INCI	FUNÇÃO	QTD %
A	1	Álcool cetosteárfílico	Cetearyl Alcohol	Espessante	4,0
	2	Eumulgin B2	Ceteareth-20	Emulsionante	2,0
	3	Crodolan LA	Acetylated Lanolin Alcohol	Emoliente	3,0
	4	Antaron V220	VP/Eicosene Copolymer	Formador de filme	3,0
	5	BHT	Butylated hydroxytoluene	Antioxidante	0,05
B	6	Propilenoglicol	Propylene Glycol	Umectante	5,0
	7	Dióxido de titânio	Titanium Dioxide	Filtro físico	3,0
C	8	Solução de parabenos 20%	p-hidroxibenzoatos	Conservante	0,9
	9	Tween 80	Polysorbate 80	Agente molhante	0,5
D	10	Triglicérides do Ácido cáprico caprílico	Caprylic capric triglyceride	Solvente	3,0
	11	Neo Heliopan BB	Benzophenone-3	Filtro UVA	3,0
	12	Neo Heliopan AV	Octyl Methoxycinnamate	Filtro UVB	8,0
	13	Neo Heliopan OS	2-Ethylhexyl salicylate	Filtro UVB	3,0
E	14	Silicone DC 245	Cyclopentasiloxane	Emoliente	3,0
F	15	Essência Floral	Essência	Confere odor	0,5
G	16	AMP 95	Aminometilpropanol	Ajuste de pH	q.s.p
H	17	Água	Aqua	Solvente	60,02

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 Equipamentos

- Balança analítica Precisa® 205 A SCS;
- Peagâmetro digital GEHAKA® PG 2000;
- Estufa Labtrade® EB 100;
- Centrífuga EVLAB® Macro EV: 04;
- Impressora HP® Deskjet 1510 series;
- Viscosímetro rotacional HAAKE® Visco Teste 6L;
- Banho-maria Fisatom® 550;
- Microscópio óptico com câmera acoplada à ocular.

4.3 Programas utilizados

- Microsoft Office EXCEL® versão 2007;
- INTERVIDEO WINDVR®;
- Software IMAGEJ®.

5. MÉTODOS

5.1 Técnica de preparo

- **Fase dispersa (Fase B)**

O dióxido de titânio foi disperso em 50% do propilenoglicol, com auxílio de gral e pistilo. Em seguida, adicionou-se 20% de água para auxiliar na dispersão juntamente com 0,25% de Tween® 80.

- **Preparo da fase oleosa (Fase A)**

Essa fase, constituída por álcool cetosteárico, Eumulgin® B2, Crodolan® LA, Antaron® V220 e BHT, foi adicionada num béquer em banho-maria, com constante agitação, através de agitador elétrico acoplado de hélice naval. O sistema permaneceu em agitação até atingir a temperatura de 70 – 75°C. Sendo importante verificá-la através de termômetro imerso diretamente na preparação.

- **Preparo da fase aquosa (Fase C)**

Colocou-se aproximadamente 40% da água destilada num béquer em aquecimento, em banho-maria, aguardando até 70-75°C. Adicionaram-se os excipientes: solução de parabenos, os 0,25% de Tween® 80 e os 50% restantes do propilenoglicol.

- **Mistura dos filtros solares (Fase D)**

Em outro béquer, também em banho-maria, foram adicionados os triglicerídeos e os filtros solares, Neo Heliopan AV®, Neo Heliopan BB® e Neo Heliopan OS®. Em seguida, essa fase foi integrada à fase oleosa.

- **Mistura de fases**

A fase aquosa foi vertida na fase oleosa em banho-maria, mantendo o sistema em agitação durante 15 minutos.

- **Adição da dispersão**

A fase dispersa foi adicionada à mistura de fases inicial (aquosa + oleosa), permanecendo em banho-maria com agitação durante 15 min. Nesse período, coletou-se uma pequena alíquota (0,05 mL) em lâmina para observar o comportamento das micelas pré-formadas da emulsão.

Após esse período, o sistema foi retirado do aquecimento no intuito de reduzir a temperatura até 45°C, não cessando a agitação. Realizado o decréscimo de temperatura, adicionou-se o Silicone DC® 245 e a essência Floral. Ao final, a formulação foi pesada e adicionada água q.s.p 1,5Kg.

- **Avaliação do pH**

A 26°C incorporou-se à amostra o AMP® 95. Nesse caso, foram requeridas 0,35 mL do agente alcalinizador até obter pH igual à 5,80. Dessa forma, esse tipo de formulação se adequa à faixa de pH pretendida, ou seja, entre 5,5 e 6,5 (BRASIL, 2012).

5.2 Amostragem

O produto acabado foi envasado em embalagens de plástico de 50g, totalizando 24 amostras e uma para o controle. Para os testes, as amostras foram divididas inicialmente segundo o critério de condição de armazenamento, ou seja, à temperatura ambiente (25°C), 12 amostras, versus à temperatura de 40°C em estufa, as outras 12 amostras. Paralelamente, a amostra controle foi mantida isolada à temperatura aproximada de 23°C. Os testes foram realizados nos seguintes tempos de análise: 24h, 5, 10, 15, 30, 45 e 60 dias após o armazenamento.

5.3 Testes de estabilidade Preliminar

Realizaram-se os testes iniciais após 24h do processo de envase. Nessa análise, verificou-se: avaliação microscópica das micelas, ciclo gelo-degelo e centrifugação.

5.3.1 Avaliação microscópica das micelas

Realizou-se uma coleta da camada mais superficial da emulsão, com auxílio de pipeta de Pasteur, de uma pequena quantidade da loção e depositou-se sobre lâmina e lamínula, juntamente com uma gota de água destilada. O conjunto foi observado ao microscópio óptico, registrando-se a imagem através do software INTERVIDEO WINDVR®. A contagem das micelas foi realizada pelo software IMAGEJ®, software que calcula a área da secção circular das micelas. Considerando-se que a micela é uma estrutura esférica, aplicou-se a fórmula do volume da esfera em função do diâmetro (ver Equação 1), obtido pelo IMAGEJ®. Assim obteve-se o volume aproximado de cada micela.

Equação 1- volume da esfera em função do diâmetro. (d = diâmetro; π = 3,14)

$$Volume = \frac{1}{6} \pi d^3$$

Na visualização, foi verificada a homogeneidade do sistema e a integridade física das micelas dispersas, realizando-se o perfil de distribuição do tamanho dessas micelas. A análise estatística do método foi realizada com o gráfico de distribuição amostral, utilizando o software EXCEL® para o tratamento dos dados.

5.3.2 Teste de Centrífuga

As amostras foram centrifugadas segundo parâmetros padronizados, em temperatura ambiente, durante 30 min e a 3000 rpm. Em seguida, procedeu-se à avaliação visual (BRASIL, 2008).

5.3.3 Ciclos de gelo-degelo

As amostras foram submetidas ao estresse térmico, através de seis ciclos de gelo-degelo, por 24h. Iniciou-se com o armazenamento, da amostra à temperatura de 4°C, no refrigerador, e em seguida, essa foi colocada na estufa a 40 °C. A cada fim de ciclo, a amostra era avaliada segundo pH, aspecto, cor e odor. A avaliação era por comparação com a amostra controle, observando-se possíveis alterações de instabilidade (BRASIL, 2004).

5.4 Testes de estabilidade Acelerada

Foram realizados testes que tinham a finalidade de avaliar as estabilidades físico-química e microbiológica do produto acabado, sendo verificado os seguintes parâmetros: aspecto, características organolépticas (Cor e Odor), determinação de peso, pH, viscosidade, espalhabilidade e controle microbiológico. Os testes que se seguiram foram realizados nos tempos: 5, 10, 15, 30, 45 e 60 dias (BRASIL, 2004).

5.4.1 Avaliação das características organolépticas

5.4.1.1 Cor

A análise desse parâmetro dá-se por comparação visual (colorimetria visual) ou espectrofotometria, da cor da amostra-teste com a cor do controle. Nesse caso, empregou-se a primeira metodologia, adotando-se o critério de classificação

em normal (N), sem alteração, levemente modificada, modificada e intensamente modificada (BRASIL, 2004).

5.4.1.2 Odor

Comparou-se o odor da amostra-teste com o odor da amostra-controle diretamente através do olfato (BRASIL, 2008). Sendo classificada em normal (N), sem alteração, levemente modificada, modificada e intensamente modificada (BRASIL, 2004).

5.4.1.3 Aspecto

É verificado visualmente se a amostra em análise permanece com as mesmas características macroscópicas da amostra padrão (controle) ou se há a presença de alterações que possam interferir na homogeneidade do sistema, tais como separação de fases, fluidez, precipitação e turvação (BRASIL, 2008).

5.4.2 Avaliação das características físico-químicas

5.4.2.1 Determinação de peso

As amostras foram pesadas em balança analítica previamente calibrada, com a finalidade de observar possíveis variações. Foram pesadas cinco embalagens vazias com tampa e calculada a média, sendo esse valor considerado como a média do peso das embalagens. Em seguida, foi realizado o processo de envase, realizando-se a pesagem das mesmas juntamente com a amostra. Assim, durante o período de estudo, quatro amostras foram selecionadas para esse teste, ficando duas à temperatura ambiente e duas a 40°C dentro da estufa. A cada análise, foi realizada apenas uma leitura de cada amostra e calculado a média dos pesos de ambas em cada condição de armazenamento.

5.4.2.2 Determinação do pH

Após a calibração do potenciômetro com soluções-tampão de referência de pH 4,0 e 7,0, a leitura foi realizada em triplicata mediante a imersão do eletrodo diretamente na amostra, juntamente com o termostato do próprio equipamento. O resultado final foi obtido pela média aritmética das triplicatas.

5.4.2.3 Determinação da Viscosidade

Consistiu em mensurar a resistência do produto ao fluxo por meio da fricção, utilizando-se um viscosímetro rotacional de Brookfield com fuso L3. Foram selecionadas duas amostras para essa determinação. Realizou-se a média de 4 leituras de análise, nas seguintes velocidades de rotação: 0,3; 0,5; 0,6; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5; 6; 10; 20; 30; 50 e 100 rpm. Dessa forma, obtinha-se a média da viscosidade para o respectivo valor de rotação.

5.4.2.4 Determinação da Espalhabilidade

Duas amostras foram selecionadas, coletava-se uma massa aproximada de 0,1g, depositando sob uma placa de vidro quadrangular de 0,3 mm de espessura, especificadamente no centro de massa, e, em sequência, foi colocada sobre a amostra outra placa de vidro de mesma área e espessura, mas de massa diferente. Aguardava-se durante 1 minuto e realizava-se a digitalização da área circular formada após a adição da placa. Esse procedimento é repetido com a adição de mais 5 placas de vidro, com massas previamente conhecidas e quatro “pesos” de massas também conhecidas (100, 200, 500 e 1000g), tudo após intervalos sucessivos de 1 minuto (Figura 4).

O teste de espalhabilidade foi obtido pela análise das variações nas áreas dos círculos, as quais são calculadas pelo programa de edições de imagens IMAGEJ® (BORGHETTI; KNORST, 2006).

Figura 4 - Teste de espalhabilidade realizado sob uma impressora scanner. À esquerda, observam-se as 5 placas de vidros sob a amostra, inicialmente no formato de uma gota, no centro, e posterior formato de um círculo após a compressão das placas; à direita, adição de um “peso” sob as mesmas placas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4.3 Controle microbiológico

5.4.3.1 Preparo da amostra

Por tratar-se de um produto de natureza lipídica em parte (Fase oleosa), empregou-se metodologia específica e indicada por compêndio oficial brasileiro. Utilizou-se uma amostra contendo 10 g de loção, a qual foi transferida para um frasco previamente preenchido com 5g de polissorbato 80 estéril. Procedeu-se a um aquecimento em banho-maria entre 40 – 45°C; homogeneizou-se o sistema; foi adicionado quantidade adequada de solução diluente de água peptonada 0,1% (p/v), para obter uma diluição 1:10. Misturou-se de forma cuidadosa até obter uma emulsão (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

5.4.3.2 Contagem de micro-organismos em placa

Inoculou-se 1,0 ml, em duplicata, da diluição inicial em placas de Petri para o procedimento de contagem de bactérias e de fungos. De forma separada, adicionou-se 20 ml do meio ágar caseína-soja fundido e 20 ml do meio ágar Sabouraud-dextrose. Então, seguiu-se à etapa de incubação, sendo que a placa

com caseína-soja foi mantida a 32,5°C durante 3 a 5 dias, e a placa com ágar Sabouraud foi mantida a 22,5°C durante 5 - 7 dias, tudo para determinar o número de micro-organismos aeróbicos totais e leveduras ou bolores, respectivamente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

5.4.3.3 Pesquisa e identificação de patógenos

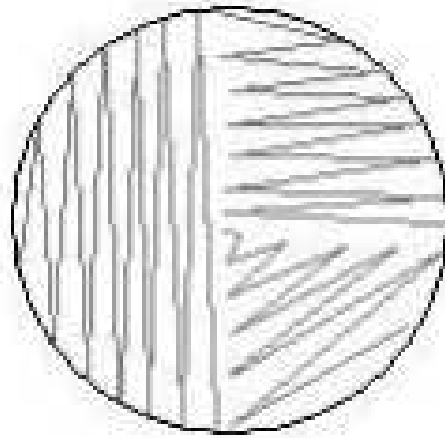
5.4.3.3.1 Preparação da amostra e pré-incubação

Utilizou-se 10 ml da diluição 1:10 e adicionaram-se a 90 ml de caldo de caseína-soja. Após a homogeneização, foi realizada a homogeneização e a incubação a 32°C durante 24 h. Essa metodologia visou identificar *S.aureus* e *P. aeruginosa* (FARMACOPEIA, 2010).

- *Staphylococcus aureus*: coletou-se uma alçada da amostra enriquecida em caldo caseína-soja, sendo transferida para Ágar Sal Manitol e semeada na subcultura pela técnica de esgotamento (Figura 5). Em seguida, a placa foi incubada durante 72h, a 32,5°C ± 2,5°C. A possível presença de *S. aureus* é indicada pelo crescimento de colônias amarelas ou brancas rodeada por uma zona amarela, devendo ser confirmada por teste de identificação específico. A formulação estará dentro dos parâmetros de conformidade se não for observado o crescimento dessas colônias ou se o teste de identificação resultar negativo.

- *Pseudomonas aeruginosa*: coletou-se uma alçada da amostra enriquecida em caldo caseína-soja, sendo transferida para Ágar Ceftrimida e semeada nessa subcultura pela técnica de esgotamento (Figura 5). Em seguida, a placa foi incubada durante 72h, a 32,5°C ± 2,5°C. A possível presença de *P. aeruginosa* é indicada pelo crescimento de colônias, sendo confirmada por teste de identificação específico. A formulação está conforme se não for observado o crescimento dessas colônias ou se o teste de identificação resultar negativo.

Figura 5 - Técnica de semeadura superficial em meio sólido, esgotamento em estrias ou estrias múltiplas.



Fonte: SANT'ANNA e CERQUEIRA, 2007.

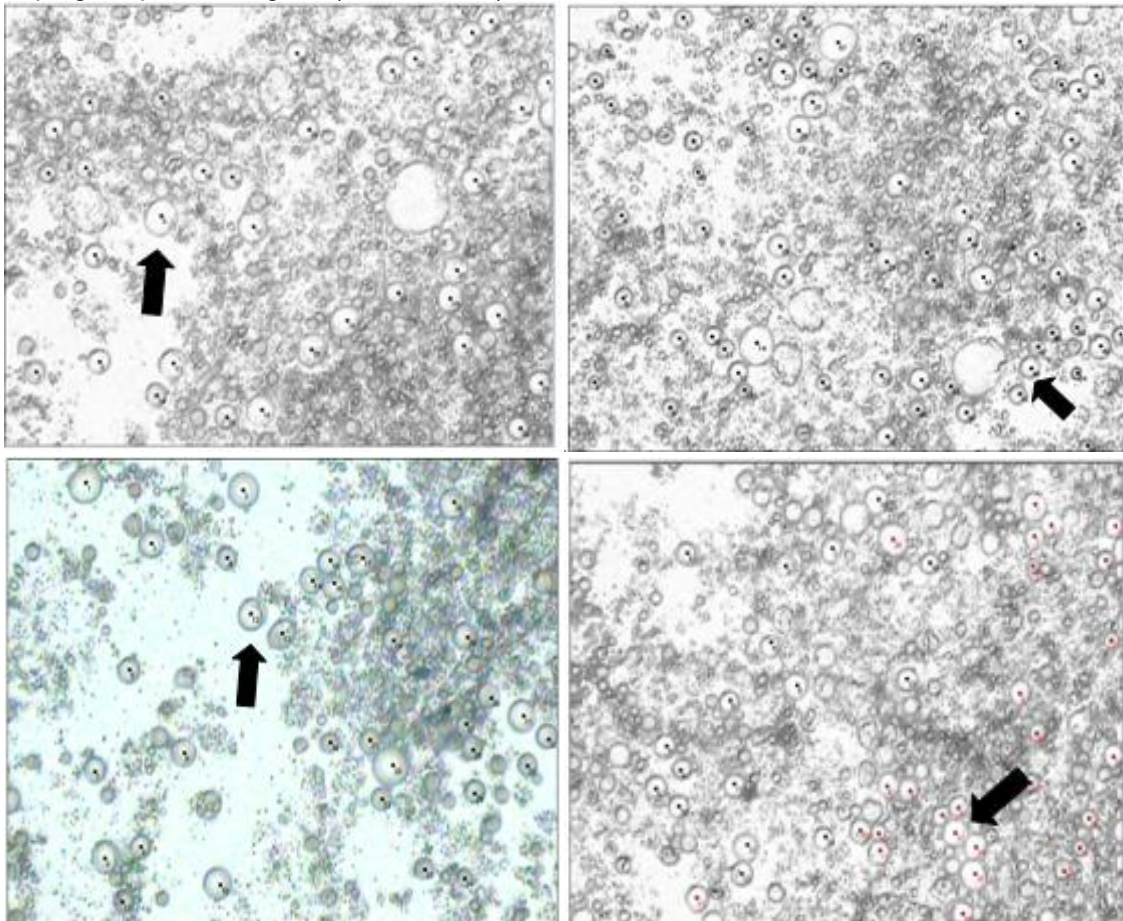
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 TESTE DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

6.1.1 Avaliação microscópica das micelas

A Figura 6 ilustra as imagens que foram utilizadas para a contagem dos glóbulos micelares.

Figura 6 - Análise por microscopia óptica das micelas formadas antes do envase. Nas imagens, indicadas pelas setas, observam-se as micelas que foram formadas no processo de emulsificação da preparação. Micelas indicadas por setas e por pontos pretos, recurso empregado para contagem. (aumento 10x)



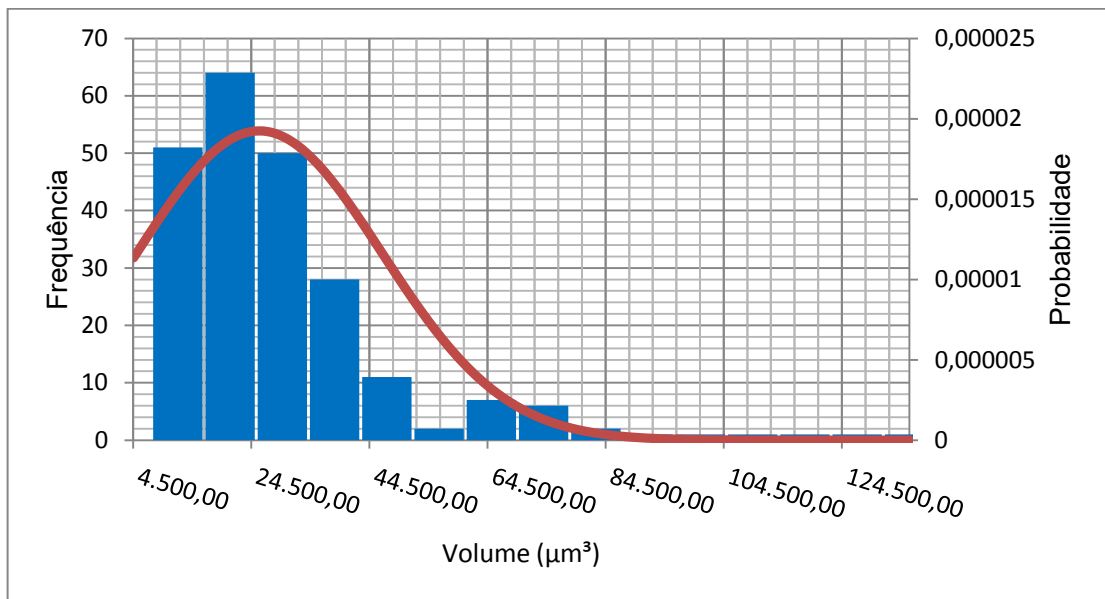
Fonte: Elaborado pelo autor.

Por tratar-se de um sistema emulsivo, o comportamento da loção frente à estabilidade depende em grande parte do tamanho das gotículas emulsionadas (FRANZOL e REZENDE, 2015).

A análise estatística da distribuição do tamanho das gotículas ou volume micelar foi calculada a partir da secção transversal da área das micelas. Em

seguida, obteve-se o diâmetro e o volume esférico aproximado das micelas, em μm^3 . No presente estudo, foi realizada a análise de volume apenas. É importante destacar que esses dados são referentes ao perfil dos glóbulos no teste preliminar, não sendo realizado ao longo dos testes de estabilidade prolongada. Assim, foi obtido o Gráfico 1, a seguir.

.Gráfico 1- Distribuição do volume corpuscular individual das micelas, em μm^3 , formadas durante o processo de emulsificação da loção.



Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com o Gráfico 1, o espaço amostral de 227 volumes foi representado pelo histograma de distribuição de frequências, sendo dividido em 15 classes, o que corresponde às bases dos retângulos azuis (mesmo não sendo perceptíveis, há 15 retângulos azuis na área do gráfico).

Segundo TRIOLA (2008), o gráfico comportou-se de maneira assimétrica, ou seja, houve uma tendência para um dos lados, nesse caso, à direita. Como há valores extremos no espaço amostral, a média dos volumes torna-se drasticamente afetada, o que resulta numa medida de centro pouco confiável para a representatividade do conjunto de volumes. A análise estatística mostrou que o volume micelar médio foi igual a $74.027,94 \mu\text{m}^3$, mas não sendo confiável, utiliza-se o valor modal de $20.945,08 \mu\text{m}^3$ como o volume micelar mais frequente na análise.

Da mesma maneira, segundo TRIOLA (2008), ao analisar-se a curva de densidade, essa faz referência à distribuição de probabilidade contínua, havendo uma correspondência entre a área sob a curva e a probabilidade. Assim, podemos inferir da amostra analisada que a possibilidade de encontrarmos uma micela com volume menor é superior à possibilidade de encontrar volumes maiores, o que é benéfico inicialmente para uma formulação, evitando instabilidades como a coalescência dos glóbulos.

A importância desse estudo faz-se necessário à medida que o aumento da estabilidade da emulsão é fortemente influenciado pelo tamanho dos glóbulos formados (ALLEN, 2013).

6.1.2 Teste de centrifugação

O teste de centrifugação foi realizado 24h após o envase da formulação. Dessa maneira, foi possível verificar o comportamento macroscópico inicial do produto. A seguir, a Figura 7 ilustra o estado da amostra após a realização do teste.

Figura 7- Amostra centrifugada em tubo de ensaio após 24h de envase.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tal teste evidenciou que a amostra manteve-se estável, não apresentou separação visível entre as fases aquosa e oleosa, mas apresentou um sedimento no fundo do tubo de ensaio, devido ao dióxido de titânio. A formação desse precipitado sólido foi favorecida pelo processo de mistura por trituração, que não foi totalmente

eficiente quanto à diminuição do tamanho das partículas sólidas. Mesmo assim, a amostra foi submetida ao teste de Estabilidade Acelerada.

6.1.3 Ciclos de gelo-degelo

A análise do efeito de estresse térmico submetido à amostra procedeu-se 24h após o envase. Na Tabela 3, observam-se as características organolépticas e o aspecto da formulação após cada ciclo de estresse térmico.

Tabela 3 - Avaliação do comportamento sensorial e do pH da amostra, submetida ao stress térmico durante os ciclos de gelo-degelo.

Tempo	Aspecto	Cor	Odor	pH
Início	N	N	N	5,8
1º ciclo	N	N	N	6,4
2º ciclo	LM	N	N	6,0
3º ciclo	LM	N	N	5,7
4º ciclo	LM	N	LM	5,8
5º ciclo	LM	LM	LM	5,8
6º ciclo	LM	LM	LM	5,8
Média	-	-	-	5,9
Desvio				0,24
DPR (%)*				4,03

Legenda: N= normal; LM = Levemente modificado; M = Modificado.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Verificou-se que a mudança nas condições de temperatura proporcionou alterações no aspecto, conferindo aumento da fluidez, porém não apresentou mudança na homogeneidade do sistema, ou seja, não houve separação visível de fases.

Quanto à cor, a formulação inicial apresentava uma coloração branca, mas ao final foi adquirindo uma tonalidade marfim. Essa mudança ocorreu devido ao

estresse térmico intencional, que favoreceu a oxidação dos componentes da formulação.

O odor apresentou uma leve modificação, demonstrando um decréscimo da essência floral. Quanto aos valores de pH, apesar de sofrerem alterações durante o período de análise, os resultados mantiveram-se dentro da faixa de pH pretendida para a formulação, ou seja, entre 5,5 e 6,5, conforme o Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2012).

6.2 TESTE DE ESTABILIDADE

6.2.1 Aspecto e características organolépticas

A Tabela 4 apresenta o aspecto e características organolépticas, das amostras submetidas às duas condições de armazenamento que são propostas pelo Guia de Estabilidade de Cosméticos da ANVISA (BRASIL, 2004)

Tabela 4 - Aspecto e características organolépticas da loção durante o estudo de estabilidade.

Tempo	Aspecto		Cor		Odor	
	T.A	Estufa	T.A	Estufa	T.A	Estufa
05 dias	N	N	N	N	N	N
10 dias	N	LM	N	N	N	N
15 dias	N	LM	N	N	N	N
30 dias	N	LM	N	N	LM	LM
45 dias	LM	LM	LM	LM	LM	LM
60 dias	LM	LM	LM	LM	M	M

Note: T.A = Temperatura Ambiente; N= normal; LM = Levemente modificado; M = Modificado)

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a Tabela 4, os três parâmetros sofreram algum grau de modificação durante o período de estudo.

Em relação ao aspecto, a formulação apresentou-se homogênea e sem grandes modificações, como separação de fases, presença de grumos, ou perda da opacidade, mas a partir do 10º dia de análise, a amostra da estufa apresentava-se levemente modificada pela fluidez, enquanto a amostra da temperatura ambiente manteve-se estável por mais tempo (1 mês após o envase), com relação aos parâmetros analisados.

Quanto à cor, essa permaneceu constante até o 30º dia, tanto em temperatura ambiente, quanto em estufa. A partir do 45º dia começou a demonstrar uma leve modificação de escurecimento na tonalidade de branco inicial.

Já o odor, sofreu modificação crescente a partir do 30º dia de análise, onde a formulação foi apresentando decréscimo da característica odorífera da essência floral.

Dessa forma, essas alterações na cor e no odor podem estar relacionadas às reações de oxidação de ingredientes da formulação, devido principalmente ao efeito da elevada temperatura de armazenamento. Essas alterações já são relatadas como frequentes pelo Guia de Estabilidade de Cosméticos (2004), podendo mesmo não fornecer comprovações visuais ou olfativas diretamente.

6.2.2 Determinação de pH

A Tabela 5 ilustra o comportamento físico-químico da formulação diante do pH, levando em consideração o período de estudo e as condições de armazenamento.

Tabela 5 - Determinação do pH durante o estudo de estabilidade.

TEMPO	pH	
	Temperatura Ambiente	ESTUFA (40°C)
Início	5,8	5,8
5 DIAS	4,7	5,9
10 DIAS	5,7	5,7
15 DIAS	5,8	5,6
30 DIAS	5,6	5,4
45 DIAS	5,7	5,5
60 DIAS	5,3	5,3
Média	5,5	5,6
Desvio Padrão	0,39	0,22
DPR (%)	7,06	3,97
Teste t		0,70
Teste t_{crítico}		1,78

Fonte: Elaborado pelo autor.

Mesmo a preparação cosmética apresentando uma estabilidade física favorável, alterações físicas ainda podem comprometer o tempo de vida útil da formulação. Nesse caso, o pH desempenha um importante papel sobre esse tipo de estabilidade, principalmente por tratar-se de um sistema que compreende duas fases imiscíveis (BRASIL, 2012).

De acordo com o Formulário Nacional da Farmacopeia (2012), as preparações magistrais denominadas loções devem apresentar um pH dentro da faixa aceitável de 5,5 à 6,5.

Analisando a Tabela 5, verifica-se que a amostra da temperatura ambiente apresentou seus resultados dentro da faixa aceitável até o 45º dia. Porém, apresentou alguma instabilidade no 60º dia de teste. O desvio de leitura apresentado no 5º dia, pH de 4,7, pode ter sido devido a não homogeneização da amostra durante a leitura direta com o peagâmetro.

Por outro lado, a amostra acondicionada em estufa apresentou instabilidade a partir do 30º dia de teste, ficando com resultados inferiores aos da faixa de aceitabilidade da formulação. Segundo o mesmo Guia de Estabilidade, esses indícios de instabilidade são associados às reações de degradação direta dos componentes oleosos da formulação.

Na análise estatística para o Teste t de comparação de duas médias considerando que são equivalentes, o valor do Teste t foi 0,70, menor que o t crítico, configurando que o teste caracteriza a hipótese nula, de médias equivalentes, não sendo estatisticamente significativo ao nível de 5%.

6.2.3 Determinação de peso

A Tabela 6 apresenta a massa do produto acabado, acondicionadas em diferentes ambientes.

Tabela 6 - Determinação da variação de peso da formulação durante o estudo de estabilidade. As massas ilustradas representam as massas diretas do produto, desconsiderando-se a massa da embalagem.

Tempo	PESO	
	Temperatura Ambiente (25°C)	Estufa (40°C)
Peso inicial*	50,265	49,715
5 dias	50,04	49,53
10 dias	50,03	49,57
15 dias	50,01	49,39
30 dias	49,99	49,22
45 dias	49,98	49,07
60 dias	49,97	48,97
Peso médio de amostra	50,00	49,29
DPR %	0,055	0,498
% perda	0,59	1,51

Fonte: Elaborado pelo autor.

As amostras armazenadas a temperatura ambiente apresentaram uma perda de massa de 0,59%, enquanto aquelas armazenadas em estufa apresentou uma perda percentual maior que a obtida na temperatura ambiente, de 1,51.

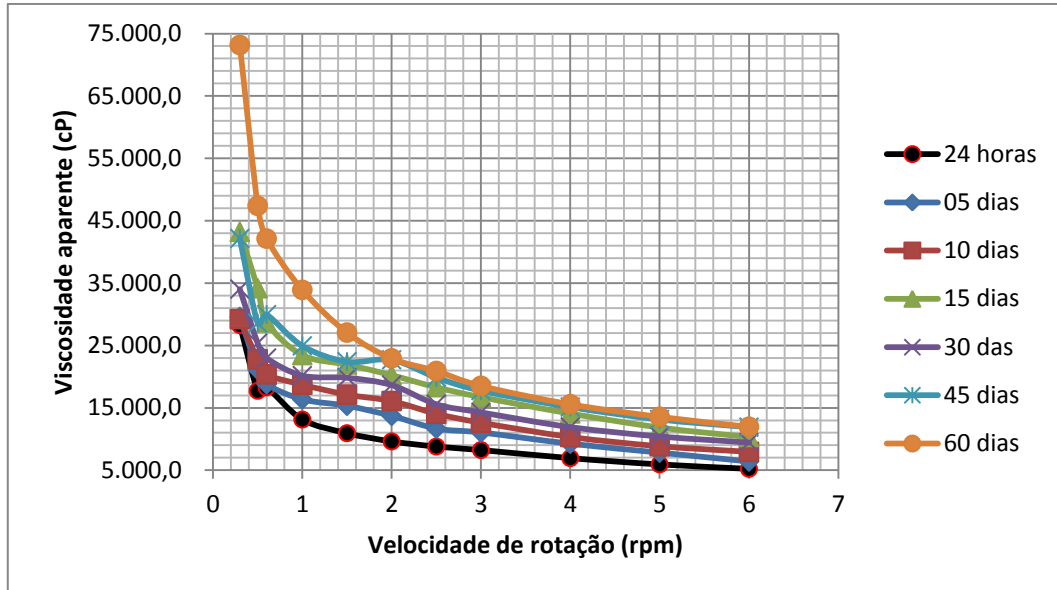
Segundo Souza e colaboradores (2010), essa evidente variação de peso nas amostras de armazenamento em temperatura elevada pode ser justificada pela redução dos excipientes hidrofílicos e voláteis presentes na formulação por simples ocorrência do processo de evaporação. Conseqüentemente, há um aumento da concentração dos compostos de baixa volatilidade, podendo ser a causa de alterações nas características reológicas da formulação.

Outro parâmetro que deve ser levado em consideração é o tipo de material plástico que constitui a embalagem do produto, a qual se apresentou permeável e colaborou para o processo de perda de peso por evaporação. Entretanto, o baixo desvio padrão de ambos os grupos explica o motivo dessa variação de peso.

6.2.4 Comportamento reológico

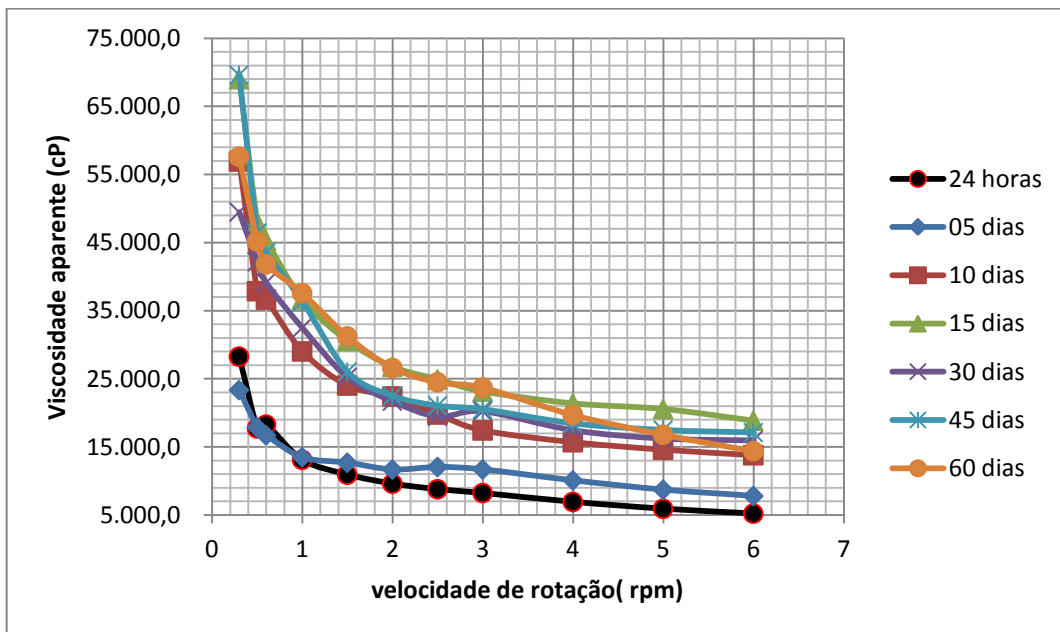
Nos Gráficos 2 e 3 é observado o perfil de viscosidade aparente da formulação, a qual foi submetida às condições de temperatura ambiente e de estufa. A análise das propriedades reológicas em cosmetologia auxilia em verificar se o produto apresenta a fluidez ou a consistência esperada, indicando a existência de possível instabilidade ao longo do tempo (BRASIL, 2003).

Gráfico 2 - Reograma referente ao comportamento reológico da amostra mantida em temperatura ambiente (25°C)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 3 - Reograma referente ao comportamento reológico da amostra mantida em estufa a 40°C.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Através da análise dos Gráficos 2 e 3, verifica-se que em ambas as situações de armazenamento as formulações apresentaram características de fluxo não newtoniano, ou seja, a viscosidade se altera com o aumento da rotação

aplicada; e comportamento pseudoplástico, visto que a viscosidade aparente apresentou um decréscimo à medida que aumentava a velocidade de rotação (ALLEN, 2013).

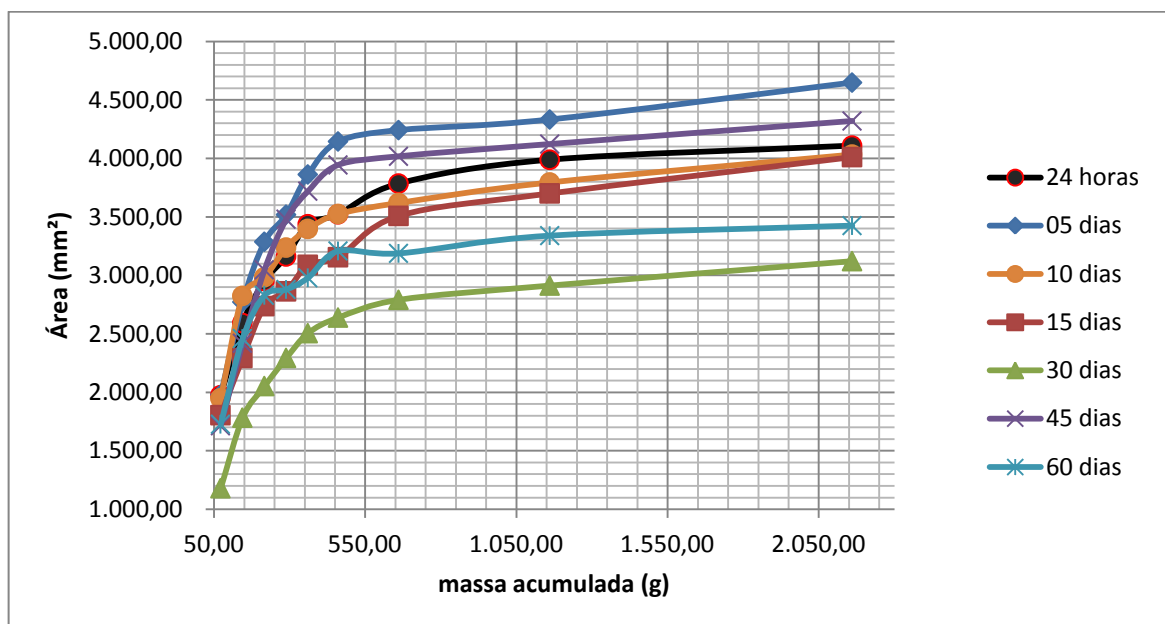
Em 60 dias em T.A. o produto teve uma modificação considerável na viscosidade, isso é confirmado pelo aspecto menos fluido da amostra, haja vista que à temperatura de 25°C não houve significativa perda de compostos hidrofílicos.

Esse parâmetro é fortemente influenciado pela temperatura, pelo tamanho médio das partículas, pela taxa de cisalhamento, pela pressão, pela concentração e pelas características físico-químicas dos agentes emulsificantes (PAL, 1992; LUCENA, 2015).

6.2.5 Determinação da espalhabilidade

O Gráfico 4 apresenta o comportamento da formulação em temperatura ambiente.

Gráfico 4 - Determinação da espalhabilidade em amostras mantidas em temperatura ambiente em função do peso aplicado.

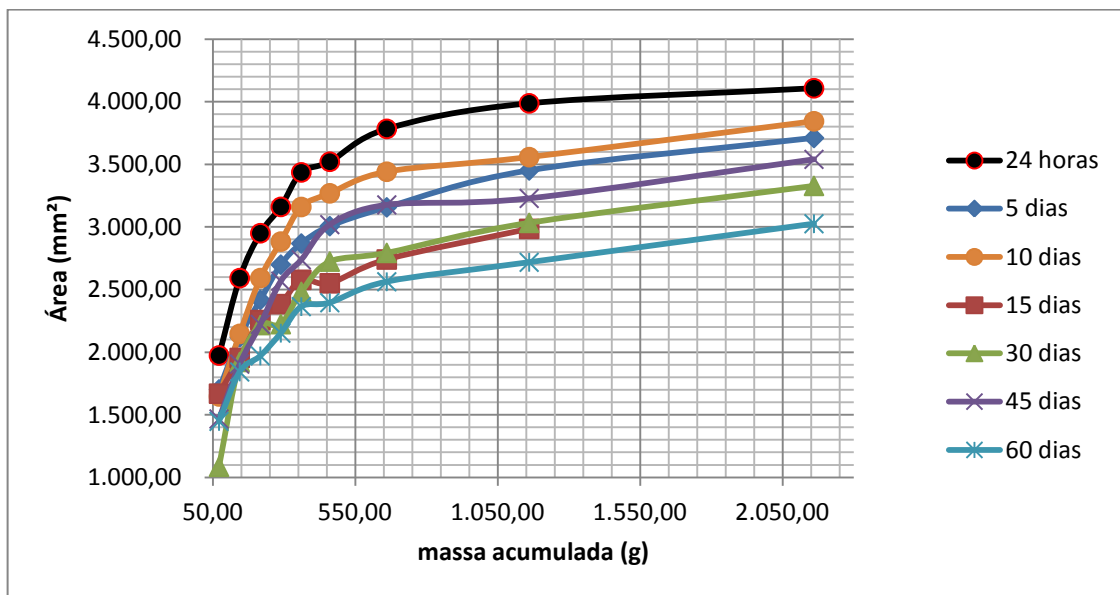


Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise desse parâmetro reológico possui a finalidade de observar se as formulações de ambas as condições de armazenamento mantêm a constância de espalhabilidade, durante o período de teste.

Observando o Gráfico 4 verifica-se que houve inicialmente a redução da espalhabilidade até o 30º dia de teste, em seguida, houve uma instabilidade, com aumento seguido de decréscimo desse parâmetro reológico no 60º dia.

Gráfico 5 – Determinação da espalhabilidade em amostras mantidas em estufa a 40°C em função do peso aplicado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A espalhabilidade é a característica avaliada devido à expansão de uma formulação semissólida sob uma superfície após um determinado período e sob uma pressão (BORGHETTI; KNORST, 2006). Por tratar-se de uma característica associada às formulações de uso tópico, elas devem possuir uma boa espalhabilidade, o que garante a uniformidade de proteção solar sobre a pele.

De acordo com o Gráfico 5, pode-se observar que o acondicionamento em estufa promoveu um perfil gráfico mais errático, ou seja, o parâmetro reológico em análise sofreu variações sucessivas a cada período de teste. Por efeito de comparação entre os Gráficos 4 e 5, sugere-se que o acondicionamento em alta temperatura, 40°C, revelou uma maior sensibilidade quanto a variações térmicas. Observa-se em ambas uma redução da espalhabilidade, possivelmente devido à perda dos compostos hidrofílicos.

Segundo Knorst e colaboradores (2006), os resultados satisfatórios desse teste refletem diretamente no prognóstico de estabilidade da formulação, podendo influenciar no grau de aceitabilidade ou não do produto, pelo consumidor. A fluidez da fórmula cosmética ao sair da embalagem de acondicionamento e a boa aderência do material sob a pele são os primeiros fatores que são avaliados como conferidores de qualidade do produto pelo consumidor.

6.2.6 Avaliação microbiológica

Os resultados da análise microbiológica são representados pelos Quadros 2, 3 e 4, levando em consideração o período e o acondicionamento da formulação.

Quadro 2 - Avaliação microbiológica inicial da amostra após 48h do envase.

Contagem microbiológica		
Análise	Limite	Tempo zero
BACTÉRAS MESÓFILAS	10 ² UFC/g	90 UFC/g
BOLORES LEVEDURAS	10 ¹ UFC/g	20 UFC/g
Pesquisa de patógenos		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente

Fonte: tabela-modelo de COUTO, T. dos Santos (2016).

Quadro 3 - Avaliação microbiológica da amostra mantida à temperatura ambiente.

Contagem microbiológica		
Análise	Limite	Tempo 60 dias
BACTÉRAS MESÓFILAS	10 ² UFC/g	40 UFC/g
BOLORES LEVEDURAS	10 ¹ UFC/g	10 UFC/g
Pesquisa de patógenos		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente

Fonte: tabela-modelo de COUTO, T. dos Santos (2016).

Quadro 4 - Avaliação microbiológica de amostra mantida em estufa a 40° C.

Contagem microbiológica		
Análise	Limite	Tempo 60 dias
BACTÉRAS MESÓFILAS	10 ² UFC/g	20 UFC/g
BOLORES LEVEDURAS	10 ¹ UFC/g	10 UFC/g
Pesquisa de patógenos		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente

Fonte: tabela-modelo de COUTO, T. dos Santos (2016).

Observou-se que o teste de contagem microbiológica resultou satisfatório para ambas as amostras de acondicionamentos diferentes, não desenvolvendo um número de colônias acima do permitido pela Farmacopéia Brasileira (2010) durante todo o estudo de estabilidade.

Assim, não foi evidenciado o crescimento dos principais patógenos que são investigados para esse tipo de formulação. Logo, as amostras estão de acordo quanto aos critérios microbiológico.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que a partir da estabilidade preliminar a loção fotoprotetora apresentou instabilidade diante do teste de centrifugação, havendo a necessidade de aprimorar o cisalhamento das partículas sólidas para que alcancem um tamanho ideal e não haja sedimentação.

Ainda do teste preliminar, é importante destacar que há necessidade de aprimorar a visualização dos glóbulos através de equipamento mais específico, que abranja uma quantidade mais representativa da amostra.

Diante das condições de armazenamento, as amostras submetidas à temperatura ambiente não apresentaram, de imediato, inconformidades quanto à cor, ao odor e ao aspecto da formulação. Contrariamente, as amostras da estufa apresentaram-se levemente modificadas em torno 15º dia de teste, confirmando a importância do fator temperatura.

Observou-se também que o pH final de ambas as amostras ficou fora da faixa de especificação que é preconizada para essa formulação cosmética; além da formulação apresentar perda de componentes hidrofílicos, o que possivelmente influenciou outros parâmetros

Quanto às características reológicas, ambos os grupos apresentaram aumento da viscosidade da formulação e, conseqüentemente, decréscimo da espalhabilidade.

Dessa maneira, percebe-se que alguns desses parâmetros sofreram forte alteração devido à perda dos compostos hidrofílicos, o que se sugere a realização de um estudo quanto à possibilidade de substituir a embalagem atual por outra mais impermeável. Então, proceder com novo estudo de estabilidade.

REFERÊNCIAS

- ALLEN Jr., L. V.; ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- BALOGH, T.S; VELASCO, M.V.R; PEDRIALI, C.A.; KANEKO, T.M., BABY, A.R. **Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção**. An Bras Dermatol; v. 86, n. 4, p. 732-42, 2011.
- BARBAUD, A, TRECHOT, P, BEANI J.C. **Photosensibilisations : liste originale des photosensibilisants**. Service de dermatologie, Bâtiment des spécialités médicales P.Canton – Hôpitaux Brabois (Nancy - Fr) ; Service de pharmacologie clinique et CRPV (Nancy – Fr) ; e Service de dermatologie(Grenoble – Fr), França, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília, DF, 2003;
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Guia de controle de Qualidade de Produtos Cosméticos, uma abordagem sobre os ensaios físicos e químicos**; Editora Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA); 2ª ed; Brasília 2008.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**; série qualidade em cosméticos; Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). vol.01; maio de 2004.
- BRASIL, Farmacopéia Brasileira; **Ensaio Microbiológico para produtos não estéreis**; Agência Nacional de Vigilância Sanitária e Fundação Oswaldo Cruz, Brasília; 5ª Edição; vol.1, p. 236-253; 2010.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira**. 2ª ed. Brasília: ANVISA, 2012. 224p.
- BRASIL, **Farmacopeia Brasileira**, volume 1; 5ª ed. Rio de Janeiro. Editora: Oswaldo Cruz, 2010. V. 1.
- BREWSTER, B. **Photostability: the back story of UV filters**. Cosmetics & Toiletries magazine, v.121, n.6, p. 22-28, jun/2006.

- COUTO, T. dos Santos. **Avaliação da estabilidade físico-química, microbiológica e determinação do fps de um creme fotoprotetor oil free.** 2016. 63p; Monografia (Graduação em Farmácia)-Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- DIEPGEN, T.L; MAHLER, V. **The epidemiology of skin cancer.** *Br. J. Dermatol.* 2002; 146 Suppl 61:1-6. DOI:10.1046/j.1365-2133.146.s61.2.x.
- FERREIRA, F.R.; NASCIMENTO, L.F.C.; ROTTA, O. **Risk factors for nonmelanoma skin cancer in Taubate, Sao Paulo, Brazil: a case-control study.** *Rev Assoc Med Bras.* 2011; 57(4):424-30. DOI: 10.1590/S0104-42302011000400018.
- FLOR, J; DAVOLOS, M.R; CORREA, M.A. **Protetores solares.** *Química Nova*, v.30, n.1, p. 153-158, jan/fev.2007.
- FRANZOL, A; REZENDE, M.C. **Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não iônico.** *Revista Polímeros.* Nº 25, p. 1-9, 2015.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Câncer de pele melanoma.**
Disponível em:
<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma>
. Acesso em 30 nov. 2016.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Câncer de pele não melanoma.**
Disponível em:
<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_ao_melanoma>. Acesso em 30 nov. 2016.
- ISHIHARA, K; SAIDA, T; OTSUKA, F; YAMAZAKI, N. **Statistical profiles of malignant melanoma and other skin cancers in Japan: 2007 update.** *Int. J. Clin Oncol.* 2008;13(1):33-41. DOI:10.1007/s10147-007-0751-1.
- KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de uma forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureoides* (lam.) *Compositae-marcela*.** Porto Alegre, 1991. 228p. 1991. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LIMA, F.J.L. **Previsão de irradiação solar no nordeste do Brasil empregando o modelo wrf ajustado por redes neurais artificiais (rnaS)**. 2015. Tese (Doutorado em Meteorologia) - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2015.

LIOU, K. N. **An Introduction to Atmospheric Radiation**. Revista International Geophysics; Volume 84, Pages 1-583 (2002).

LUCENA, K. F. M.; TÔRRES, E. G.; LACERDA, I. S.; MACHADO, E. C. M. N., 2015. **Influence of kinematic viscosity on the energy cost in the oil flow**. Presented at Rio Pipeline Conference and Exhibition, Rio de Janeiro, 22-24 September. IBP1339_05.

NIKOLAOU, V.; STRATIGOS, A.J.; TSAO, H. **Hereditary nonmelanoma skin cancer**. *Semin. Cutan. Med. Surg.*, 2012; 31(4):204-10.
DOI:10.1016/j.sder.2012.08.005

PAL, R.; YAN, Y.; MASLIYAH, J. **Rheology of Emulsions In: SCHRAMM, L.L. Emulsions – Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry** Washington DC: American Chemical Society, 1992. 428p. p.131-170.

PALM, M.D.; O'DONOGHUE, M.N. **Update on photoprotection**. *Dermatol Ther.* 2007;20:360-76

PEREIRA, E. B.; MARTINS, F. R.; ABREU, S. L.; RUTHER, R. **Atlas brasileiro de energia solar**. São José dos Campos: INPE, 2006. 60p. ISBN 978-85-17-00030-0.

RAI, R; SRINIVAS, C.R. **Photoprotectio**. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, v.73, n.2, p.73-79, mar./abr. 2007.

RENNEKAMPFF, H.O; BUSCHE, M.N.; KNOBLOCH, K.; TENENHAUS, M. **Is UV radiation beneficial in post burn wound healing?** *Medical hypotheses*, v. 75,n.5,p.436-438, 2010.

RIBEIRO, R.P. **Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS *in vitro* em formulações fotoprotetoras**

comerciais. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

SANT'ANNA, R.S; CERQUEIRA, A. M. F; **Apostila de aulas práticas em bacteriologia**, Curso de Nutrição. Universidade Federal Fluminense. Vol. único; p.08; Rio de Janeiro, 2007.

SAYRE, R.M.; AGIN, P.P.; DESROCHERS, D.L.; MARLOWE, E. **Sunscreen testing methods: in vitro predictions of effectiveness.** J Soc Cosmet Chem, v. 31,n.133,p. 43, 1979.

SOCIETE FRANÇAISE DE DERMATOLOGIE, **Dermato-infor.fr : Le soleil et la peau** ; Ano 2015. Disponível em: <http://dermato-info.fr/article/Le_soleil_et_la_peau>. Acesso em 29 nov.2016.

SOUZA, V.B.; FERREIRA, J.R.N.; **Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). Rev. Bras. Cienc. Farm.** v. 42, n. 4, 2010.

TIBA, C.; **Atlas Solarimétrico do Brasil** – banco de dados terrestres. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2000.

TRIOLA, M. F.; **Introdução à estatística**; Tradução Vera Regina L. F. Flores, e revisão técnica Ana Maria L. de Farias. 10ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

WILD, M.; **Global dimming and brightening: a review.** J. Geophys. Res., v. 114, D00D16, 2009. doi:10.1029/2008JD011470.