

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

MARCOS KOJI IDE

**AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DE CREMES
DESPIGMENTANTES: ÁCIDO KÓJICO,
HIDROQUINONA, RENEW ZYME E LUMIN WHITE**

**BAURU
2011**

MARCOS KOJI IDE

**avaliação de qualidade de cremes despigmentantes:
ácido kójico, hidroquinona, renew zyme e lumin
white**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências
da Saúde como parte dos requisitos
para a obtenção do título de
farmacêutico, sob orientação da
Profa. Esp. Claudia Sibely. Salomão
Carlomagno de Paula.

BAURU
2011

MARCOS KOJI IDE

**AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DE CREMES
DESPIGMENTANTES: ÁCIDO KÓJICO,
HIDROQUINONA, RENEW ZYME E LUMIN WHITE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para a obtenção do título de farmacêutico, sob orientação da Profa. Ms. Claudia Sibely. Salomão Carlomagno de Paula.

Banca examinadora:

Profa Esp. Claudia S. S. C. de Paula

Farmacêutico Diogo Furquim Leite Matos

Profa Esp. Tatiana Alonso Lunardi Casoto

Bauru, 12 de dezembro de 2011

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar ao meu lado o tempo todo, a minha família que me deu esta oportunidade de completar esta graduação. A todos os professores que compartilharam seus conhecimentos e principalmente a professora orientadora Claudia Sibely Salomão Carlomagno de Paula por disponibilizar seu tempo, dando suporte e dedicação, a farmacêutica Karina Ruiz e funcionários da Farmácia Véritas, a farmacêutica Tatiana Alonso Lunardi Casoto e ao farmacêutico Fernando Tozze Alves Neves e funcionários do Laboratório de Alimentos da Fundação Véritas e Laboratório de Medicamentos Marly, Rosa e Daiane pela compreensão, força e paciência. A todos que ajudaram diretamente ou indiretamente para o término deste trabalho. A todos os meus amigos que me deram apoio e pela compreensão em todos os momentos, especialmente ao Luiz Guilherme Ribeiro Carvalho pela sua amizade nesses últimos cinco anos e companheirismo, a Sandra Góes Comin pelo auxílio no procedimento prático do trabalho, pelo companheirismo e compreensão, a Daiane Tognon, a Mariana Vernini, Fábio Gomes, Inglaesa Spadoto e Evelin Oliveira pelo companheirismo, compreensão e apoio.

"Preocupe-se mais com seu caráter do que com sua reputação. Caráter é aquilo que você é, reputação é apenas o que os outros pensam que você é."
([John Wooden](#))

RESUMO

Atualmente uma elevada parcela da população desenvolve patologias hiperocrômicas, entre elas o melasma, caracterizado por manchas hiperpigmentadas inestéticas, que geram prejuízos à aparência e até transtornos psicológicos aos indivíduos acometidos. Esta patologia pode surgir devido fatores como distúrbios hormonais, uso de anticoncepcionais, entre outros, potencializados pela exposição à radiação solar, que levam a um desequilíbrio no processo de produção de melanina pelos melanócitos na epiderme. Frente a este fato, a busca por alternativas que possam amenizar o problema é cada vez maior. A disponibilidade de cosméticos contendo ativos despigmentantes ainda é insuficiente, fazendo-se necessário o desenvolvimento de produtos contendo princípios ativos despigmentantes que sejam estáveis, eficazes e seguros. Neste trabalho foram desenvolvidos três produtos cosméticos em creme contendo respectivamente Ácido kójico, Hidroquinona e a associação de Renew zyme e Lumin White, os quais foram submetidos a análises físico-químicas e microbiológicas, mostrando-se adequados para a utilização no tratamento de despigmentação, que deve ser feito, tendo como coadjuvante a utilização de protetores solares durante e após o término do tratamento, como fator de manutenção.

Palavras-chave: Discromias; Despigmentantes; Proteção solar

ABSTRACT

Currently a high proportion of the population develops hypertrophic disorders, including melasma, characterized by hyperpigmented spots, unsightly, which generate losses to the appearance and even psychological disorders to individuals affected. This condition may arise due to factors such as hormonal disorders, contraceptive use, among others, enhanced by exposure to solar radiation, leading to an imbalance in the production of melanin by melanocytes in the epidermis. Given this fact the search for alternatives that might alleviate the problem is growing. The availability of cosmetics containing active depigmenting is still insufficient making it necessary the development three cosmetic cream containing respectively kojic acid, hydroquinone and combination of Renew zyme and Lumin white, which were subjected to physico-chemical and microbiological, being suitable for use in the treatment of depigmentation, which should be done, and as an adjunct to use sunscreen and after the treatment, as maintenance factor.

Keywords: Dyschromia; Depigmenting; Sun protection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Transferência de um melanossomo para um queratinócito vizinho.....	16
Figura 2 Ciclo simplificado produção melanina.....	17
Figura 3 Estrutura química do Ácido kójico.....	19
Figura 4 Estrutura química da Hidroquinona.....	20
Figura 5 Despigmentantes no ciclo da melanina.....	22
Figura 6 Análise Staphylococcus aureus e Pseudomonas aeruginosa.....	33
Figura 7 Análise coliformes e contagem de bactérias.....	34
Figura 8 Amostra submetida à temperatura ambiente por 24 horas.....	39
Figura 9 Amostra submetida à temperatura de 45°C por 7 dias.....	39
Figura 10 Amostra submetida à temperatura de 45°C por 24 horas.....	40
Figura 11 Centrífuga.....	40
Figura 12 Amostra à temperatura ambiente por 20 minutos após centrifugação.....	41
Figura 13 Amostra submetida à temperatura de 45°C por 7 dias após centrifugação.....	42
Figura 14 Amostra submetida à temperatura de 45°C por 24 horas após centrifugação.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

B.O.D. Biochemical Oxygen Demand

B.P. Baird-Parker

L.S.T. Lauril Sulfato Triptose

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Formulação do creme não iônico e as funções de seus componentes.....	28
Tabela 2	Formulação do creme aniônico e as funções de seus componentes.....	29
Tabela 3	Formulação do creme contendo Ácido kójico e as funções de seus componentes.....	30
Tabela 4	Formulação do creme contendo lumin white e renew zyme e as funções de seus componentes.....	31
Tabela 5	Formulação do creme contendo Hidroquinona e as funções de seus componentes.....	32
Tabela 6	Avaliação microbiológica dos cremes despigmentantes.....	38
Tabela 7	Controle físico-químico.....	38
Tabela 8	Características organolépticas.....	39
Tabela 9	Teste de estabilidade.....	39
Tabela 10	Teste de estabilidade após centrifugar.....	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	122
2 OBJETIVO.....	144
3 DESENVOLVIMENTO.....	155
4 MATERIAIS E METODOS.....	Erro! Indicador não definido. 26
4.1 MATERIAL	26
4.2 METODO	Erro! Indicador não definido. 7
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO.....	45
REFERENCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

As patologias discrômicas consistem em qualquer alteração ou anomalia na pigmentação da pele e podem ser divididas em hipocromias, caracterizadas por redução da pigmentação natural e hiperchromias, que se caracterizam por aumento ou alteração na pigmentação natural da pele (NEVES, 2010).

Atualmente há uma elevada incidência de casos de hiperchromias, conhecidas popularmente como melasma, devido ao aumento da incidência de raios ultravioleta do sol, por consequência da destruição da camada de ozônio. A exposição a esta radiação intensa, estimula os melanócitos a produzir melanina, proteína que possui atividade contra os raios ultravioleta. Existem dois tipos de melanina, a eumelanina, que possui predominantemente a cor acastanhada ou preta e a feomelanina, que tem cor avermelhada ou amarelada.

Em algumas situações a produção de melanina pelos melanócitos pode ocorrer de forma desordenada, ocasionando pigmentação irregular, ocorrendo principalmente na face, sendo caracterizada visualmente por manchas hiperpigmentadas, que levam a transtornos psicológicos, como baixa auto-estima, nos indivíduos acometidos.

Devido a este fato, a busca por ativos dermatológicos despigmentantes seguros e eficazes é cada vez maior, sendo suprida por pesquisas na área cosmética, que geram lançamentos no mercado cosmético, de várias substâncias com apelo despigmentante.

O objetivo deste trabalho é desenvolver três tipos de produtos cosméticos despigmentantes estáveis, contendo princípios ativos utilizados para esta finalidade. Foram escolhidos as substâncias Hidroquinona, Ácido kójico e a associação de Renew Zyme e Lumin White.

O Ácido kójico é um despigmentante tópico, tendo um efeito inibidor da tirosinase, consequentemente diminuindo a síntese de melanina e ainda induz a redução da melanina em células pigmentadas. Sua vantagem é que não causa irritação e não é fotossensível. Foi escolhido por sua eficácia e segurança.

A Hidroquinona é um dos ativos despigmentantes mais largamente utilizados na clínica médica, sendo que os efeitos obtidos são surpreendentes. Atua nas células produtoras de melanina, os melanócitos bloqueando a produção e aumentando a degradação dos melanossomas, os corpúsculos intracelulares que

armazenam a melanina. Age também, bloqueando a ação da tirosinase. Foi escolhido por sua elevada eficácia e por ser o despigmentante mais utilizado atualmente no Brasil.

O Renew zyme é um ativo natural que atua na renovação celular, promovendo hidratação imediata, manutenção do equilíbrio hídrico da pele, estimulando a produção de colágeno e prevenindo os danos causados pelos raios ultravioletas. Reúne as propriedades antiinflamatórias, antioxidantes e emolientes cientificamente comprovados da romã com a tecnologia enzimática (DOSSIÊ POLYTECHNO).

Lumin White é um ativo clareador rico em ingredientes naturais e biotecnológicos que promove um clareamento uniforme sem causar efeitos indesejáveis. Restaura a beleza e luminosidade da pele, pois atuam na inibição da tirosinase e maturação do melanossoma, eliminando as manchas da pele.

A associação de Renew Zyme e Lumin White foi escolhida como uma alternativa natural despigmentante, onde ocorrerá o efeito sinérgico de esfoliação do Renew Zyme e o efeito clareador do Lumin White.

A proposta deste trabalho, portanto, é desenvolver e avaliar a estabilidade de três produtos despigmentantes em creme, contendo as substâncias acima descritas.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver três formas farmacêuticas semi-sólidas (creme) onde serão incorporados os princípios ativos despigmentantes: Hidroquinona, Ácido kójico e associação de Lumim White e Renew Zyme respectivamente.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar revisão de literatura sobre o tema despigmentação cutânea;
- Avaliar parâmetros de qualidade físicos, químicos, microbiológicos e de estabilidade dos cremes contendo: Hidroquinona, Ácido kójico e associação de Lumim White e Renew Zyme respectivamente;
- Orientar o uso de protetores solares como coadjuvante do tratamento despigmentante.

3 DESENVOLVIMENTO

Desde a antiguidade, a aparência e tonalidade da pele são consideradas o reflexo do status e beleza da humanidade. Os padrões de beleza pré-estabelecidos variaram muito do decorrer da história, desde uma pele translúcida, até o bronzado bem quisto até os dias de hoje (VITA, 2008).

Independente da tonalidade de cor exigida no decorrer da história da humanidade, uma pele uniforme e livre de manchas sempre foi objeto de desejo, colocando as alterações da pigmentação cutânea no topo da lista de preocupações do ser humano durante quase todas as etapas da vida. A realidade brasileira é ainda mais preocupante do ponto de vista das hiperpigmentações, caracterizadas pelo aumento da pigmentação, visto que no clima tropical, as pessoas se expõem mais ao sol, o que aliado a outros fatores, como distúrbios hormonais, favorece o aparecimento das hiperpigmentações do jeito que está fica se referindo aos distúrbios hormonais (NEVES, 2010).

3.1 A estrutura da pele

Segundo Neves 2008, a pele é uma estrutura flexível, resistente e complexa, correspondendo entre 10 a 15% do peso corporal, possui função de proteção contra agentes externos, regula a temperatura somática, reserva de nutrientes e função sensorial, devido a presença de terminações nervosas sensitivas.

Sua estrutura é dividida em 3 camadas:

- Epiderme, sendo subdivida em camada córnea, camada lúcida, camada espinhosa, camada granulosa e camada basal. É a camada mais externa da pele, tem a função de proteger o corpo das agressões do meio ambiente. Sua espessura varia de 0,07 a 0,12 mm na maior parte do corpo, e podendo chegar a 0,8 mm na palma da mão e 1,4 mm na planta do pé são áreas mais sujeitas ao atrito.
- Derme é subdivida em fibras colágenas e fibras elásticas. É um tecido conjuntivo que sustenta a epiderme. Os vasos sanguíneos e linfáticos são localizados na derme que vascularizam a epiderme, bem como os órgãos

sensoriais e os nervos a eles associados, incluindo vários tipos de sensores de estímulos vibracionais e tácteis, de pressão, mecânicos, térmicos de frio e, em especial, os dolorosos.

- Hipoderme: É formada basicamente por células de gordura. Por este motivo possui uma espessura bastante variável. Responsável pela ligação das camadas ao resto do corpo, e que a epiderme e a derme possa deslizar livremente sobre as outras estruturas do organismo. A hipoderme atua também como uma reserva energética, proteção contra choques mecânico e isolante térmico.

3.2 Pigmentação da pele

A pigmentação da pele é considerada a principal proteção do organismo contra a ação da radiação solar, sendo que esta ocorre quando a radiação ultravioleta ultrapassa o limiar do eritema. Em casos de exposição excessiva, por um longo período, pode ocorrer pigmentação direta sem eritema. Para que ocorra a pigmentação da pele é necessário o estímulo dos melanócitos, que são responsáveis pela produção de melanina. (KEDE, SABATOVICH, 2009)

Segundo os autores acima, a quantidade de melanócitos é praticamente igual em todas as raças variando entre 1.900 e 2.300 melanócitos por mm² no rosto, e entre 1.000 e 1.500 para o restante do corpo. A diferença de cor entre a pele branca e negra é causada em parte pelo volume dos melanossomos. Na pele branca, a quantidade de pigmentação é limitada predeterminada geneticamente, que não atinge todas as camadas da epiderme, enquanto que na pele negra, se conserva uma concentração densa de melanina em todos os níveis da epiderme.

3.2.1 Melanogênese

A melanina, substância que confere coloração aos cabelos e pele, é produzida por células especializadas, localizadas na camada basal, os melanócitos. Os melanócitos possuem dentritos, espécie de braços que se desenvolvem lateralmente em sentido ascendente, permitindo seu contato com os queratinócitos ao seu redor (HERNANDEZ, MERCIER-FRESNEL, 1999).

De acordo com os autores acima, o melanócito, a partir do aparelho de Golgi, sintetiza o melanossomo, organela complexa que contém melanina.

A melanina é formada a partir de uma reação bioquímica envolvendo o aminoácido tirosina e a enzima tirosinase, reação conhecida por melanogênese (RIBEIRO 2010)

Segundo Hernandez, Mercier-Fresnel, 1999, após esta etapa, chamada de melanização do melanossomo, este é transferido aos dendritos (figura 1) do melanócito para os queratinócitos vizinhos.

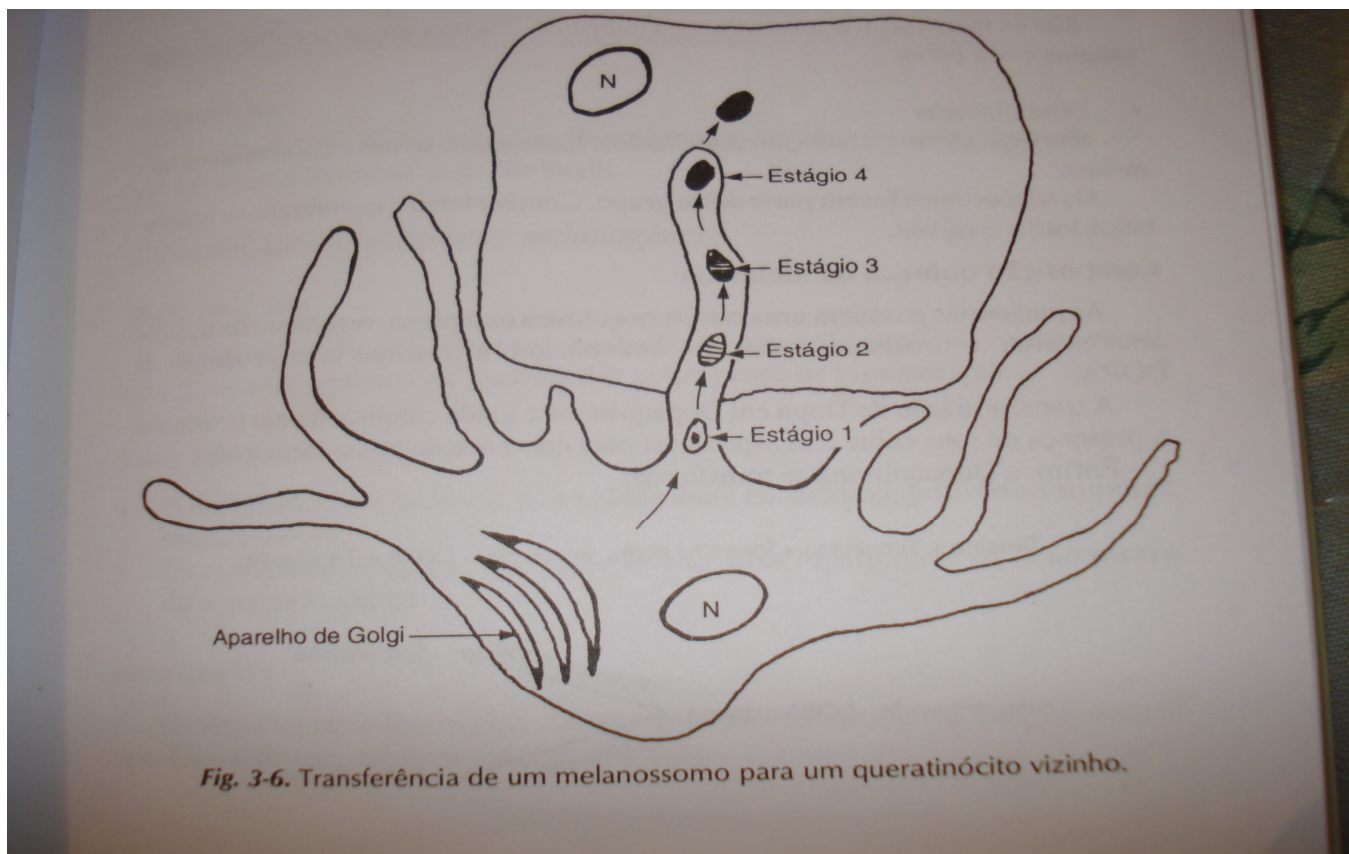


Figura 1 – Transferência de um melanossomo para um queratinócito vizinho.

FONTE: Hernandez; Mercier-Fresnel, 1999.

Pode-se, então, resumir as três fases da melanogênese:

- Síntese dos melanossomos;
- Melanização dos melanossomos;

- Transferência dos melanossomos.

As patologias hiperpigmentares ocorrem por um desequilíbrio neste processo.

A melanina possui uma estrutura química complexa, resultante da ação de uma enzima, a tirosinase, sobre um aminoácido, a tirosina, com a produção de DOPA, que é transformada em Dopaquinona, catalisada também pela tirosinase (figura 1). A presença de íons cobre é indispensável para que a reação possa efetuar-se. A Dopaquinona enfim, se transforma em eumelanina, caracterizada pela cor acastanhada a preta ou feomelanina, caracterizada pela cor amarelada e avermelhada (HERNANDEZ, MERCIER-FRESNEL, 1999).

3.2.1.1 Funções da melanina

Segundo Matheus, Kurebayashi, 2002, as melaninas determinam a cor da pele, mas têm, sobretudo, uma função fotoprotetora importante:

- Permitem filtrar os raios UV;
- Protegem o núcleo celular, agrupando-se em torno dele;
- Neutralizam os radicais livres, fatores do envelhecimento celular.

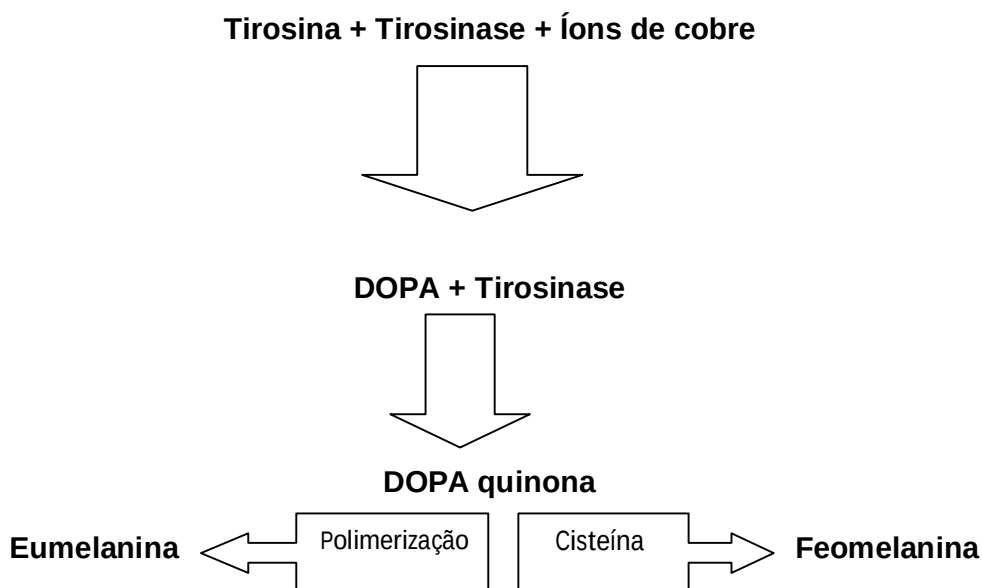


Figura 2 – Ciclo simplificado da produção da melanina.

3.3 Discromias

Segundo Neves, 2010, discromias são alterações na coloração da pele, devido a alteração na produção, transferência ou perda de melanina da pele.

Podem variar entre o aumento ou redução da coloração cutânea em regiões delimitadas:

- Hipocromias: ocorrem devido à redução ou interrupção total na produção melânica.
- Hiperchromias: consistem em um aumento excessivo da produção de melanina, sendo a mais comum, o melasma.

3.3.1 Melasma

É um distúrbio caracterizado por manchas escuras na pele, resultante de alterações na produção de melanina, comum em mulheres, porém os homens também podem ser acometidos. Localiza-se geralmente na face, pescoço, parte anterior do tórax e os membros superiores, e podendo ocorrer na gravidez, quando é denominado de cloasma gravídico. É assintomático, mas alguns fatores podem influenciar seu aparecimento, como os genéticos, hormonais, uso de anticoncepcionais, exposição à radiação solar (infravermelho), câmara de bronzamento, uso de cosméticos derivados do petróleo e outras drogas fotossensibilizantes. A faixa etária mais acometida é entre 30 – 55 anos de idade (KEDE, SABATOVICH, 2009)

O tratamento e prevenção contínuos do melasma incluem certamente, a constante proteção da pele contra a radiação solar, o que pode ser alcançado através do uso de protetores solares e da redução à exposição solar. Com a considerável diminuição de radiação solar incidente sobre a superfície da pele, diminui a produção de melanina, o que ocorre de forma descontrolada nesta patologia cutânea (MATHEUS, KUREBAYASHI, 2002).

3.4 Princípios ativos despigmentantes:

De acordo com ativos dermatológicos, são substâncias incorporadas a veículos como emulsões, pomadas, géis ou loções, que interferem diretamente na produção da melanina, podendo desempenhar diferentes mecanismos de ação, entre eles:

- Bloqueio ou competição com a enzima tirosinase;
- Antioxidantes que interferem na formação de produtos intermediários à formação de melanina;
- Inibição da transferência dos melanossomos para os queratinócitos.

3.4.1 Ácido Kójico

Denominação científica 2-hidroximetil-5-hidroxi-g-pirone, seu aspecto é um pó amarelo quase inodoro, solúvel em água, com pH 3,5-5,0 (SATO, et al,2007).

O ácido Kójico é uma substância produzida por um cogumelo japonês chamado Koji, que também é utilizado na fermentação do arroz para sua produção. É um despigmentante natural com excelentes resultados, sua vantagem está na suavidade de ação sobre a pele, não causa irritação, não causa fotossensibilização e não ocorre sua oxidação (SOUZA, ANTUNES, 2009).

Age inibindo a formação da melanina, quelando os íons cobre e bloqueando a ação da tirosinase, assim diminuindo com as manchas. Sua concentração indicada é de 1-4% e deve ser armazenado fora do contato com a luz (RIBEIRO, 2010).

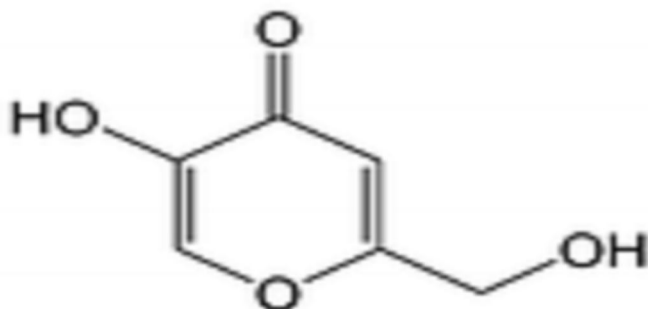


FIGURA 3 – Estrutura química do Ácido kójico

FONTE: THE MERCK INDEX (1983)

3.4.2 Hidroquinona

É um ativo despigmentante utilizado geralmente em melasma, sardas, lentigos, senis, hiperpigmentação pós-inflamatória, dermatite de berloque (causada por determinados tipos de perfumes). Sendo que atua inibindo a tirosinase reduzindo assim a formação de melanina (SOUZA, ANTUNES, 2010).

Segundo RIBEIRO, 2010, a hidroquinona é um dos ativos despigmentantes mais utilizados na terapêutica dermatológica e também pode ser utilizada em associação com outros ativos (ácido retinóico, ácido glicólico, corticóides, etc).

A hidroquinona é recomendada na concentração de 2 – 5%, sendo considerado um irritante de grau leve. A reação adversa só irá ocorrer quando utilizados em concentrações altas, reações alérgicas causa eritema, sensação de ardor (SOUZA, ANTUNES, 2010).

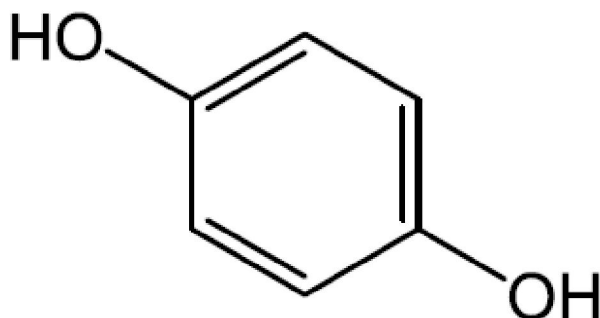


FIGURA 4 – Estrutura química da Hidroquinona.

FONTE: THE INDEX MERCK (1983)

3.4.3 Lumim White e Renew zyme

A associação destes dois produtos foi escolhida objetivando o efeito sinérgico da despigmentação, obtida com o Lumin white e a esfoliação proporcionada pelo Renew zyme, associação esta, notadamente eficiente no processo de clareamento de manchas hiperocrômicas (DOSSIÊ POLYTECHNO, 2010).

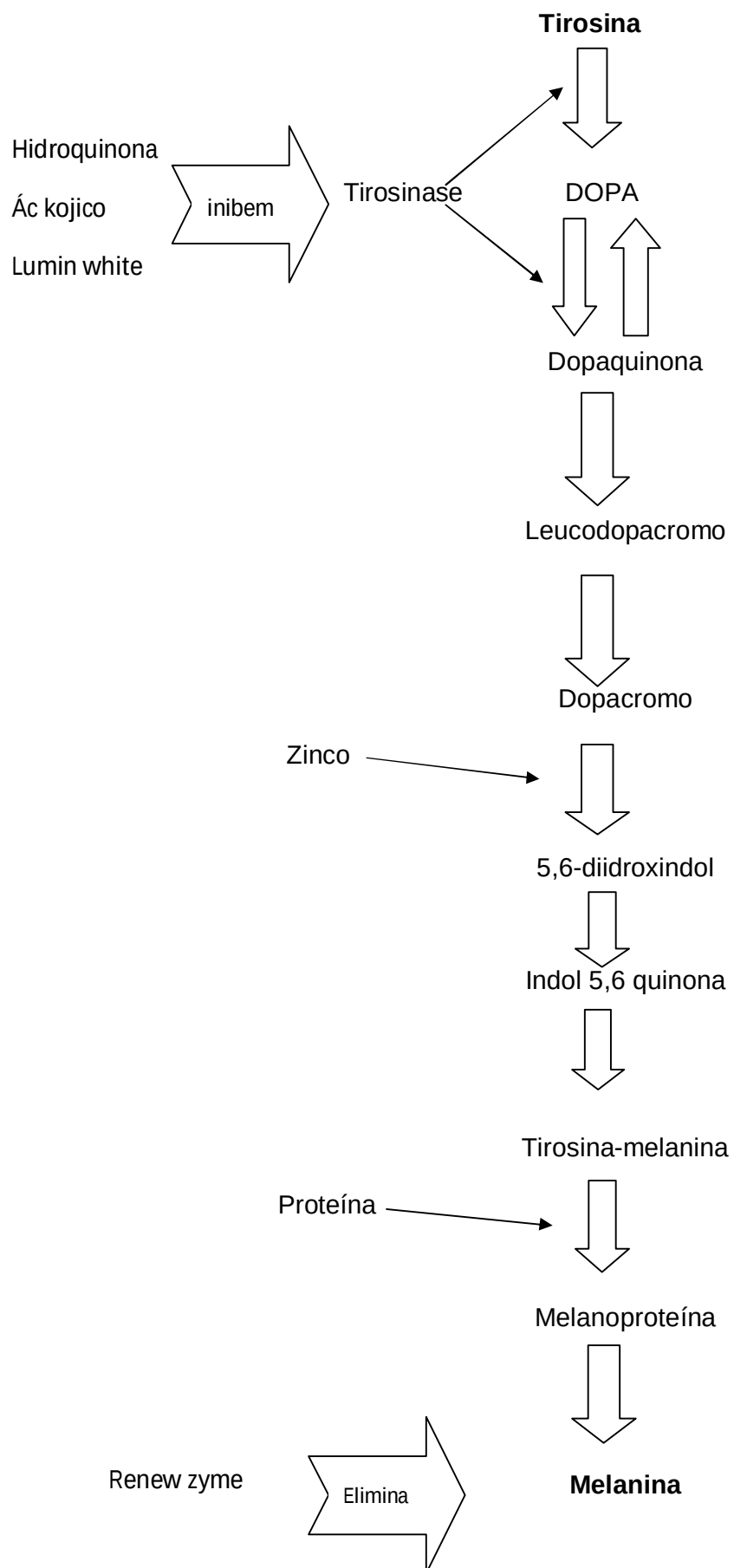
3.4.3.1 Lumin White

É um ativo clareador rico em ingredientes naturais, é composto por dilaurato de sacarose e extrato de ervilha. Os ésteres de sacarose são comprovadamente eficientes na inibição da melanogênese e muito seguros, enquanto o extrato de ervilha reduz atividade da tirosinase, o que confere a este produto efeito sinérgico, representando uma alternativa segura e eficaz ao uso da hidroquinona (DOSSIÊ POLYTECHNO, 2010).

3.4.3.2 Renew zyme

É um ativo natural extraído da romã, que possui a função de remover a camada externa de células mortas onde ficam retidas bactérias e gordura, estimulando ao mesmo tempo a renovação celular. Remove queratinócitos envelhecidos e outros componentes protéicos, favorecendo o processo de limpeza profunda (SOUZA, ANTUNES, 2010).

3.4.4 Ação dos despigmentantes no ciclo de produção de melanina

**Figura 5** – Elaboração própria

3.5 Proteção solar

Protetores solares são substâncias que exercem efeito de proteção da radiação solar, sobre a pele e cabelos. (MATHEUS, KUREBAYASHI, 2002).

São divididos em duas classes, baseadas no seu mecanismo de ação. Os filtros orgânicos (químicos) são formados essencialmente por compostos aromáticos conjugados capazes de absorver radiação de alta energia e transformá-la em radiações menos danosas ao ser humano. Os filtros solares inorgânicos (físicos) são representados pelo óxido de zinco e dióxido de titânio, os quais formam uma barreira física na pele e agem espalhando; refletindo a luz UV incidente. Em geral, os filtros químicos são associados aos filtros físicos ou filtros químicos UVA e UVB e são combinados, com o propósito de se obter elevado fator de proteção. Os pré-requisitos para que os filtros UV exerçam sua função, de forma completa e segura, incluem uma ação de amplo espectro, ausência de qualquer caráter tóxico, baixo poder alergênico, compatibilidade física e química com demais componentes da formulação e fotoestabilidade. (FREITAS, PAESE e GUTERRES, 2008)

3.6 Forma farmacêutica creme:

Cremes são preparações semi-sólidas obtidas através de bases emulsivas do tipo A/O ou O/A, contendo um ou mais princípios ativos dissolvidos ou dispersos na base adequada (FORMULÁRIO NACIONAL, 2005).

Segundo Ferreira, 2008, cremes são formas farmacêuticas constituídas por duas fases distintas, normalmente aquosa e oleosa, intimamente dispersas uma na outra, apresentando consistência semi-sólida. São sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis, possuindo pelo menos um líquido imiscível, disperso em outro, formando gotículas com diâmetro entre 0,1 a 10 μ , estabilizadas pela ação de agente emulsivo, sendo também conhecidos como emulsões.

É possível afirmar então, que uma emulsão é composta por uma fase dispersa (fase interna ou descontínua), uma fase dispersante (fase externa ou contínua) e uma terceira fase, constituída pelo sistema emulsificante (LEONARDI; CHORILLI, 2008)

Esta forma farmacêutica pode ser classificada como:

- Creme água em óleo (A/O), onde a fase aquosa encontra-se dispersa na fase oleosa, originando produtos com maior untuosidade;
- Creme óleo em água (O/A), onde a fase oleosa encontra-se dispersa na fase aquosa, originando produtos com toque menos untuoso (FONSECA; PRISTA, 1993).

Os cremes considerados O/A, são constituídos de partículas que possuem uma fase interna oleosa ou lipofílica e por assim, sua fase externa é de caráter aquoso ou hidrofílico, esses tipos de cremes promovem uma ação de frescor na pele e de rápida absorção, sendo esses de aspectos menos oleoso, pois a fase em contato com a pele é a fase aquosa. Já os cremes considerados A/O possuem partículas compostas por uma fase interna aquosa e uma fase externa oleosa, esses dão a sensação de serem cremes oleosos já que a fase das partículas em contato com a pele, é a fase oleosa.(FERREIRA, 2008)

Os cremes apresentam efeito anticongestivo no local de aplicação, por ativarem a perspiração cutânea, favorecem a permeabilidade de ativos veiculados, em maior ou menor grau, dependendo de sua composição. Oferecem, portanto uma excelente opção como veículos de princípios ativos. (FERREIRA, 2008)

De acordo com Prista et al. 1983, as emulsões constituem atualmente, substitutos para as pomadas, feitas com excipientes gordurosos. Esta preferência deve-se a uma série de características apresentadas por elas, tais como: consistência adequada, boa espalhabilidade, fácil remoção e não provocam manchas na roupa dos usuários. Por estas razões foi a forma farmacêutica escolhida para o desenvolvimento dos cremes propostos neste trabalho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matérias-primas

- EDTA dissódico
- Propilenoglicol
- Óleo mineral
- Solução conservante de parabenos
- Manteiga de karité
- Cera autoemulsionante não iônica
- Butilhidroxitolueno (BHT)
- Solução conservante de Imindazolidiniluréia a 50%
- Cera autoemulsionante aniônica
- Álcool cetosteárilico
- Ácido kójico
- Metabissulfito de sódio
- Tampão citrato pH 5,0
- Hidroquinona
- Lumin White
- Renew zyme
- Álcool etílico de cereais
- Solução de ácido cítrico a 25%
- Água purificada obtida por osmose reversa

4.1.2 Equipamentos e vidrarias

- Balança Analítica Marte
- Balança semi-analítica Marte AS 5500
- pHmetro GEHAKA
- Viscosímetro (Brookfield/ DV –I+)
- Picnômetro metálico

- Becker vidro
- Espátula plástica
- Espátula pão duro
- Estufa
- Centrífuga
- Capela de fluxo laminar
- Aparelho de osmose reversa Quimis
- Proveta

4.2 Métodos:

4.2.1 TÉCNICA DE PREPARO DO CREME BASE:

Foram desenvolvidas duas fórmulas de creme para este trabalho, um creme não iônico que será utilizado para veicular o Ácido kójico e a associação de Lumin White e Renew zyme e um creme aniônico onde será incorporada a Hidroquinona, já que esta é incompatível com emulsões não iônicas.

Abaixo se encontram descritas as fórmulas desenvolvidas e a técnica de preparo das mesmas.

TABELA 1 - Formulação do creme não iônico e as funções de seus componentes.

CREME NÃO IÔNICO			
FASES	COMPONENTES DA FÓRMULA	%	FUNÇÃO
A	EDTA dissódico	0,05	Quelante
	Propilenoglicol	3	Umectante
	Solução conservante de parabenos	3,3	Conservante
	Água qsp		Veículo
B	Óleo mineral	1	Emoliente
	Cera autoemulsionante não iônica	14	Consistência e Emulsão
	Manteiga de karite	1	Emoliência
	Butilidroxitolueno (BHT)	0,05	Antioxidante
C	Solução conservante de Imindazolidiniluréia a 50%	0,6	Conservante

- Fase A: Consiste nos componentes pertencentes à fase aquosa da formulação.
- Fase B: Consiste nos componentes pertencentes à fase oleosa da formulação.
- Fase C: Consiste a uma fase complementar da formulação.

Técnica de preparo:

- Aquecer as fases oleosa e aquosa a 75°C;

- Sob agitação, adicionar a fase aquosa à fase oleosa e resfriar a aproximadamente 40 °C;
- Adicionar a fase complementar, sob agitação, até atingir a temperatura ambiente;
- Verificar o pH e, se necessário, corrigir para 5,5 a 6,5.

TABELA 2 - Formulação do creme aniônico e as funções de seus componentes.

CREME ANIÔNICO			
FASES	COMPONENTES DA FÓRMULA	%	FUNÇÃO
A	EDTA dissódico	0,05	Quelante
	Propilenoglicol	3	Umectante
	Solução conservante de parabenos	3,3	Conservante
	Água qsp		Veículo
B	Óleo mineral	1	Emoliente
	Cera autoemulsionante aniônica	12	Consistência e Emulsão
	Álcool cetoestearílico	1	Consistência
	Butilhidroxitolueno (BHT)	0,05	Antioxidante
C	Solução conservante de Imindazolidiniluréia a 50%	0,6	Conservante

- Fase A: Consiste nos componentes pertencentes à fase aquosa da formulação.

- Fase B: Consiste nos componentes pertencentes à fase oleosa da formulação.
- Fase C: Consiste a uma fase complementar da formulação.

Técnica de preparo:

- Aquecer as fases oleosa e aquosa a 75°C;
- Sob agitação, adicionar a fase aquosa à fase oleosa e resfriar a aproximadamente 40 °C;
- Adicionar a fase complementar, sob agitação, até atingir a temperatura ambiente;
- Verificar o pH e, se necessário, corrigir para 5,5 a 6,5;
- Após a preparação dos creme base, foram acrescentados os princípios ativos e coadjuvantes técnicos necessários para sua estabilidade, conforme descrito a seguir.

TABELA 3 - Formulação do creme contendo Ácido kójico e as funções dos componentes.

CREME CONTENDO ÁCIDO KÓJICO		
COMPONENTES DA FÓRMULA	%	FUNÇÃO
Ácido kójico	3	Despigmentante
Metabissulfito de sódio	0,35	Antioxidante
BHT	0,05	Antioxidante
EDTA dissódico	0,2	Quelante
Tampão citrato pH 5,0	5	Manutenção de pH
Creme não iônico	Qsp	Veículo

Técnica de preparo:

- Em gral de vidro pesou-se o Ácido kójico, metabissulfito de sódio, EDTA dissódico e BHT, triturando-se muito bem a cada adição;
- Ao conteúdo de gral adicionou-se álcool etílico de cereais até completa solubilização;
- Acrescentou-se o creme com posterior homogeneização vigorosa;
- Mediu-se o pH, o qual foi ajustado para 5,0 com solução de ácido cítrico a 25% em quantidade suficiente;
- Acrescentou-se o tampão e efetuou-se a homogeneização final.

TABELA 4 - Formulação do creme contendo Lumin White e Renew zyme e as funções dos componentes.

CREME CONTENDO LUMIN WHITE E RENEW ZYME		
COMPONENTES DA FÓRMULA	%	FUNÇÃO
Lumin White	3	Despigmentante
Renew Zyme	3	Esfoliante
Creme não iônico	Qsp	Veículo

Técnica de preparo:

- Em becker de vidro pesou-se o Creme, o Lumin White e o Renew Zyme, com posterior homogeneização vigorosa final.

TABELA 5 - Formulação do creme contendo Hidroquinona e as funções dos componentes.

CREME CONTENDO HIDROQUINONA		
------------------------------------	--	--

COMPONENTES DA FÓRMULA	%	FUNÇÃO
Hidroquinona	4	Despigmentante
Metabissulfito de sódio	0,4	Antioxidante
Creme aniônico	Qsp	Veículo

Técnica de preparo:

- Em gral de vidro pesou-se a Hidroquinona e o metabissulfito de sódio, triturando-se muito bem a cada adição;
- Ao conteúdo de gral adicionou-se álcool etílico de cereais até completa solubilização;
- Acrescentou-se o creme com posterior homogeneização vigorosa final;

4.3 PREPARO DA AMOSTRA PARA O CONTROLE MICROBIOLÓGICO

As análises microbiológicas foram executadas a partir da metodologia descrita na Resolução nº 481 de 23 de setembro de 1999 da ANVISA, que estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. O procedimento utilizado foi o descrito por Silva; et al,(2007).

4.3.1 Contagem de Mesófilos e Coliformes Totais e Termotolerantes

Coliformes totais é um subgrupo da família Enterobacteriaceae que são 44 gêneros e 176 espécies. No grupo dos coliformes totais estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 – 48 horas a 35°C, sendo que mais de 20 espécies se encaixam nesta definição (SILVA; et al, 2007).

Segundo autores acima, **Coliformes termotolerantes** também conhecida como coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, sendo restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5 – 45,5°C, apresentando produção de gás.

4.3.2 Contagem de Microrganismos Aeróbios Mesófilos

A contagem total de aeróbios mesófilos em placas é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas (SILVA; et al, 2007).

4.3.3 Contagem de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*

4.3.3.1 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

É uma espécie de estafilococo coagulase positivo, sendo conhecido como uma das mais antigas bactérias simbiotes do homem (SILVA; et al, 2007).

4.3.3.2 Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*

É uma bactéria Gram negativa, aeróbia e baciliforme, sendo considerado um patógeno oportunista, em indivíduos com o sistema imunológico saudável raramente causa doenças, geralmente sua infecção ocorre em hospitais (SILVA; et al, 2007).

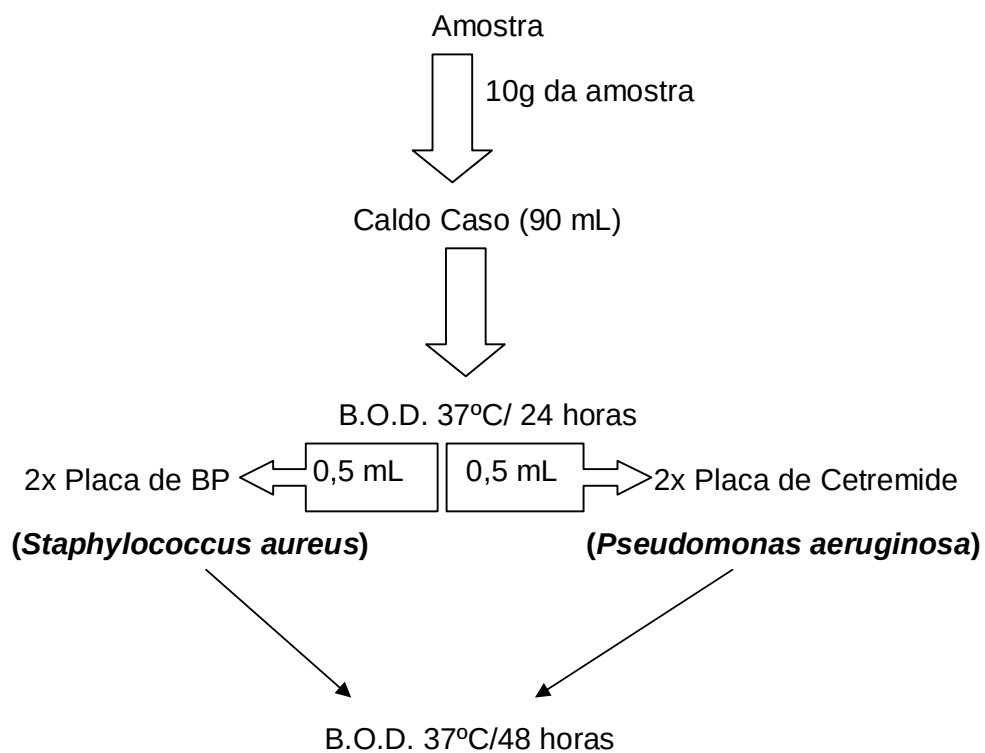


Figura 6 – Análise de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*

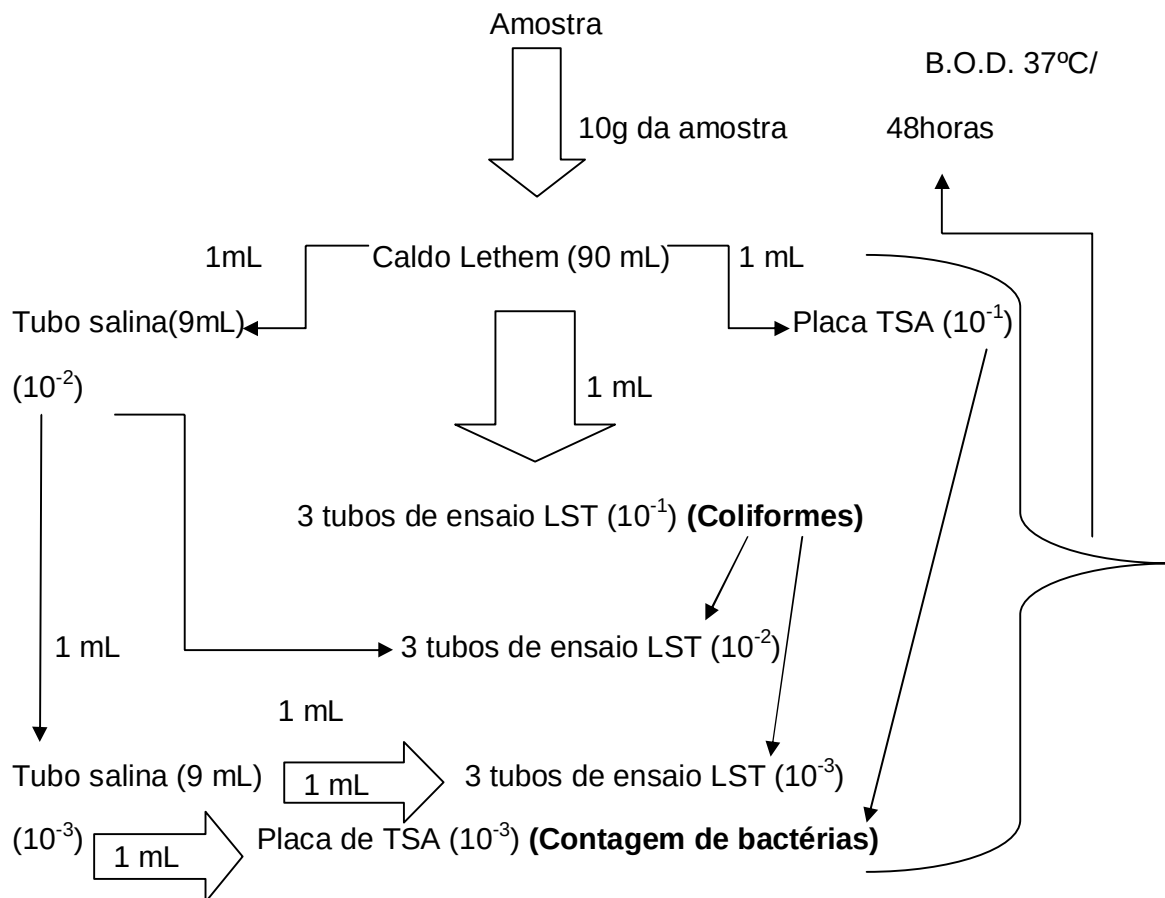


Figura 7 – Análise de Coliforme e Contagem de Bactérias

4.4 CONTROLE FÍSICO-QUÍMICO

As análises físicas e químicas foram executadas a partir da metodologia descrita pela ANVISA (2004).

4.4.1 Características organolépticas

Segundo Ferreira (2008) os parâmetros organolépticos que devem ser avaliados são: aspecto, cor, odor, consistência, homogeneidade e textura.

4.4.2 Determinação do pH

A determinação do pH é um teste indispensável em uma análise físico-química de uma formulação cosmética, uma vez que o pH de nossa pele é variado, dependendo da região (FERREIRA, 2008).

O teste de pH foi realizado em frasco contendo 250g da formulação. O equipamento utilizado foi o pHmetro, colocando a ponta do equipamento e a ponta do eletrodo submergidas na amostra (cerca de 4cm). Após um a dois minutos, para a estabilização do eletrodo, o valor do pH aparece no *display* principal e a temperatura medida é lida no *display* secundário.

4.4.3 Densidade

Segundo Ferreira 2008, densidade é uma propriedade física definida como a relação entre a massa e o volume de uma determinada substância pura ou misturada. Se a mistura é homogênea seu valor não muda independente do ponto que for coletado para a análise. Este parâmetro é fortemente influenciado pela temperatura e pressão.

A densidade relativa foi avaliada utilizando picnômetro de metal limpo e seco, previamente calibrado (determinação da massa do picnômetro vazio e sua massa contendo (água destilada e isenta de CO₂)). A amostra foi colocada no picnômetro e efetuada a pesagem. A massa da amostra é obtida através da diferença da massa do picnômetro cheio e vazio. A divisão entre a massa da amostra e a massa da água é a densidade relativa.

4.4.4 Viscosidade

Viscosidade é a expressão da resistência de líquidos ao escoamento, ou seja, ao deslocamento de parte de suas moléculas sobre moléculas vizinhas. Quanto maior o valor da viscosidade, menor será sua fluidez (FERREIRA, 2008).

Cada líquido é caracterizado por um determinado coeficiente de viscosidade.

No teste de viscosidade foi utilizado o Spindle número 6 em 10 rpm durante 5 minutos. O aparelho utilizado é o Brookfield para análise da viscosidade.

4.4.5 Estabilidade

No teste de estabilidade é avaliada a capacidade de um produto manter sua forma original nas características físicas, químicas e microbiológicas originais sob condições que aceleram seu envelhecimento. Após realizar este teste podemos

avaliar se a estabilidade do produto é viável ou não (SCHUELLER; ROMANOWSKI, 2002).

O teste de estabilidade foi realizado segundo a recomendação do Guia de Estabilidade de Produtos Cosmético ANVISA 2004.

Os produtos foram separados em Becker de vidro (10g) de modo que foram obtidas 6 amostras de cada formulação:

Becker 1= amostra em temperatura ambiente, submetida à centrifugação a 6000rpm por 20 minutos.

Becker 2 = amostra submetida a uma temperatura de 40 °C e posteriormente à centrifugação a 6000rpm por 20 minutos.

Becker 3= amostra submetida à estufa durante 24 horas em uma temperatura de 40 °C e posteriormente à centrifugação a 6000rpm por 20 minutos.

Becker 4 = amostra que permaneceu durante 24 horas em uma temperatura de -5 °C e posteriormente à centrifugação a 6000rpm por 20 minutos.

Becker 5= amostra submetida a uma temperatura de 45 °C, durante 7 dias.

Becker 6= amostra que ficou 24 horas em temperatura ambiente, submetida à centrifugação a 6000rpm por 20 minutos.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Microbiológico

Tabela 6 – Avaliação microbiológica dos cremes despigmentantes.

ENSAIOS TIPO II	Especificação	Creme com Ácido Kójico	Creme com Hidroquinona	Creme com Lumin White + Renew zyme
Contagem Microrganismos Mesófilos Totais Aeróbios	Não mais que 10^3 UFC/g Limite Máximo 5×10^3 UFC/g	<1,0 X 10^1 UFC/g	<1,0 X 10^1 UFC/g	<1,0 X 10^1 UFC/g
Pseudomonas aeruginosa	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g
Staphylococcus aureus	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g
Coliformes Termotolerantes	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g	Ausência em 1g

Físico-químico

Tabela 7 – Controle físico-químico.

Produto	Densidade	pH	Viscosidade cP _{máxima}	Viscosidade cP _{mínima}
Creme com Ácido Kojico	0,947	5,29	38500	21700
Creme com Hidroquinona	0,964	4,32	34100	29100
Creme com Lumin White + Renew zyme	0,885	5,21	27300	20800

Tabela 8 – Características Organolépticas.

Características Organolépticas	Cor	Odor	Textura	Aspecto
Creme com Ácido Kojico	Branco leitoso	Característico	Cremosa	Cremoso e Homogêneo
Creme com Hidroquinona	Branco leitoso	Característico	Cremosa	Cremoso e Homogêneo
Creme com Lumin White + Renew zyme	Bege claro	Característico	Cremosa (aparição de coloração branca no local aplicado)	Cremoso e Homogêneo

Tabela 9 – Controle de estabilidade.

Produto	Temperatura ambiente	Temperatura 45°C 20 minutos	Temperatura 45°C 24 horas	Temperatura -5°C 24 horas	Temperatura 45°C 7 dias	Temperatura ambiente 24 horas
Creme com Ácido Kojico	Não houve alteração	Liquefez e ficou amarelo	Amarelo e formou película na superfície	Não houve alteração Endureceu	Amarelo, seco e odor característico	Não houve alteração
Creme com Hidroquinona	Não houve alteração	Amoleceu	Formou película na superfície	Não houve alteração Endureceu	Não houve alteração	Não houve alteração
Creme com Lumin White + Renew zyme	Não houve alteração	Liquefez	Formou película e a mesma escureceu	Não houve alteração Endureceu	Odor fraco	Não houve alteração

Figura 8 – Amostra submetida à temperatura ambiente por 24 horas.

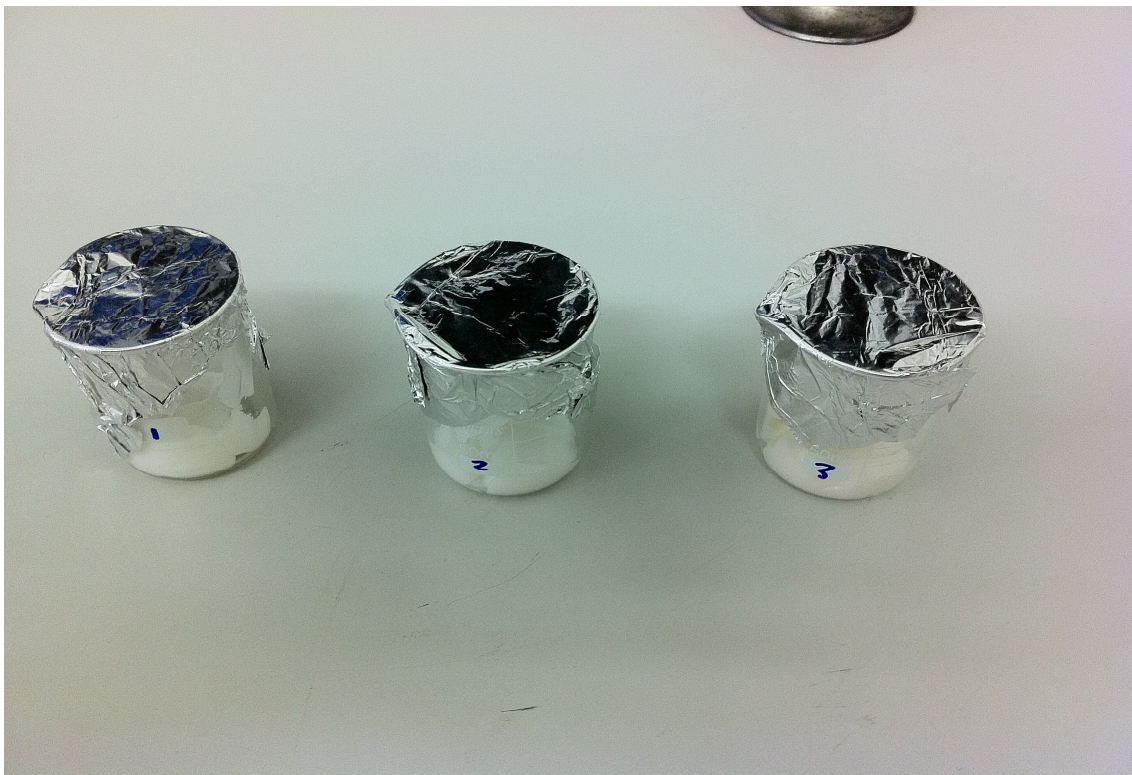


Figura 9 – Amostra submetida à temperatura de 45°C durante 7 dias.



Figura 10 – Amostra submetida à temperatura de 45°C durante 24 horas.



Figura 11 – Centrifuga.



Tabela 10 – Controle de estabilidade após centrifugar.

Após centrifugação	Temperatura ambiente	Temperatura 45°C 20 minutos	Temperatura 45°C 24 horas	Temperatura -5°C 24 horas	Temperatura 45°C 7 dias	Temperatura ambiente 24 horas
Creme com Ácido Kojico	Não houve alteração	Separação de fases sólida e líquida	Não houve alteração	Retornou a forma inicial	Laranja	Não houve alteração
Creme com Hidroquinona	Não houve alteração	Não houve alteração	Não houve alteração	Retornou a forma inicial	Separação de fases uma líquida outra sólida	Não houve alteração
Creme com Lumin White + Renew zyme	Não houve alteração	Separação em 3 fases	Não houve alteração	Retornou a forma inicial	Não houve alteração	Não houve alteração

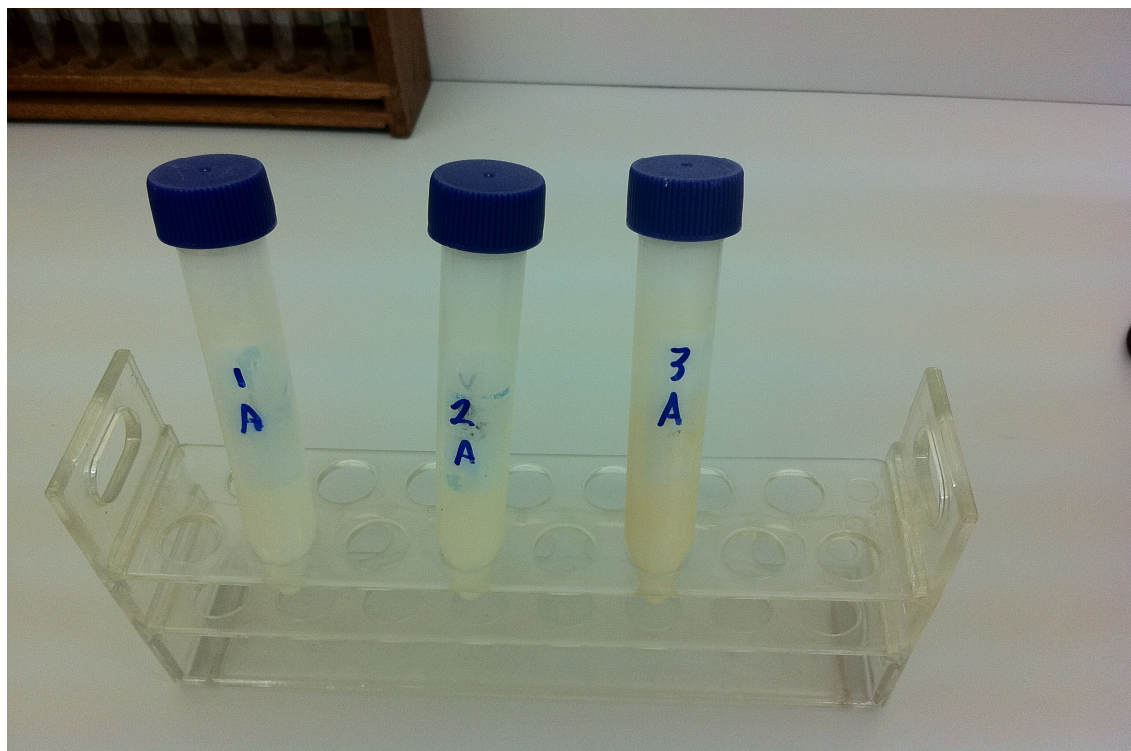
Figura 12 – Amostra à temperatura ambiente por 20 minutos após centrifugação.

Figura 13 – Amostra submetida à temperatura de 45°C durante 7 dias após centrifugação.

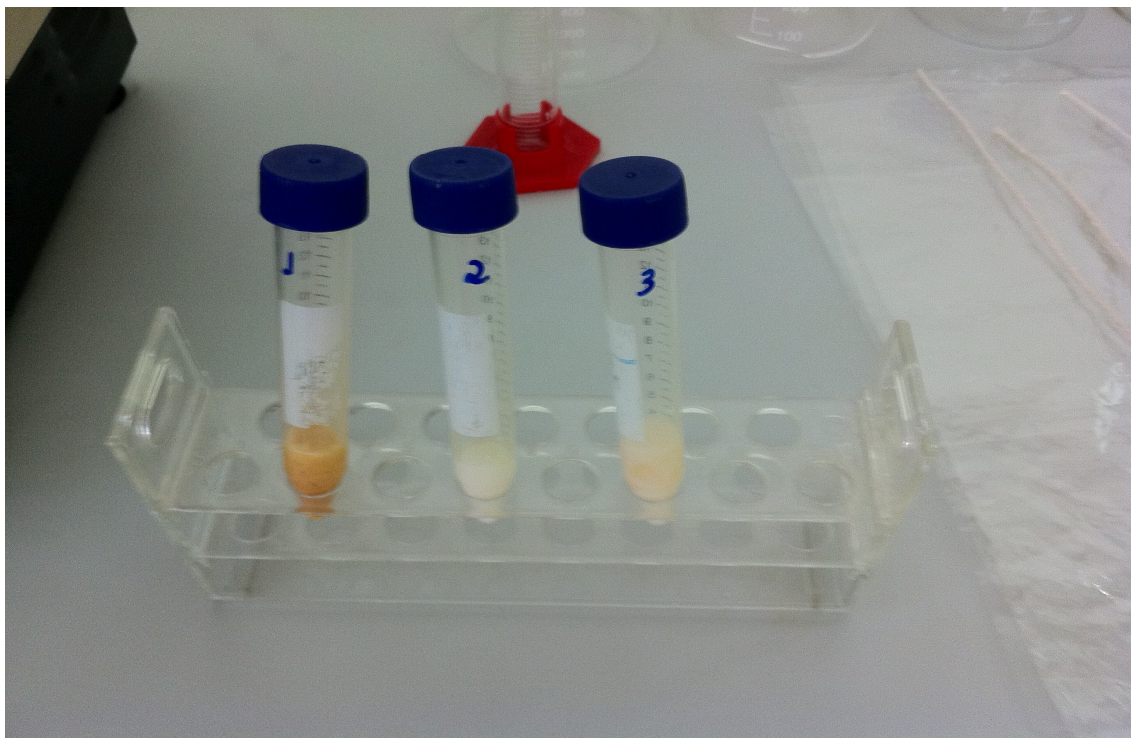
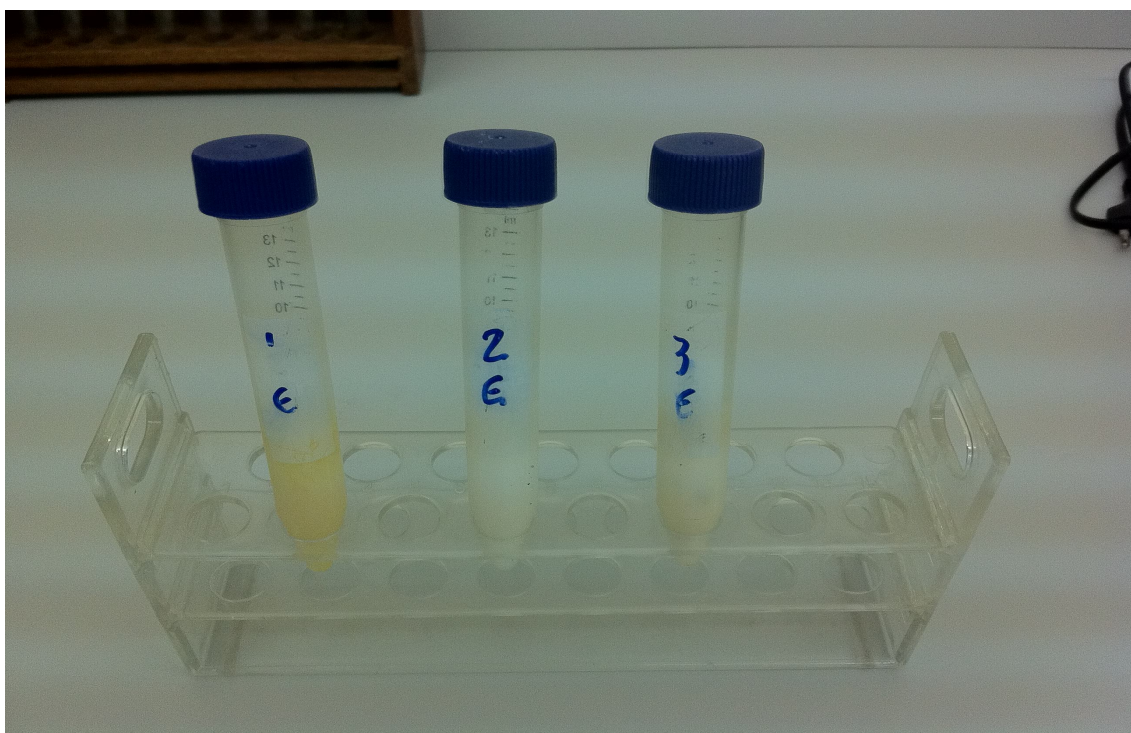


Figura 14 – Amostra submetida à temperatura de 45°C durante 24 horas após centrifugação



Discussão

Os resultados obtidos com a análise microbiológica dos três produtos desenvolvidos mostraram-se satisfatórios, comprovando a eficácia dos conservantes utilizados e o cumprimento das boas pratica de manipulação no preparo dos mesmos.

As análises físico-química, características organolépticas, pH, densidade, viscosidade apresentaram resultados satisfatórios, atendendo às exigências legais estabelecidas para produtos cosméticos, segundo ANVISA 2004.

No teste de estabilidade, os produtos contendo Acido kójico e a associação de Lumin White e Renew zyme apresentam instabilidade frente ao aumento de temperatura. Sugere-se que o produto contendo a associação seja acrescido de antioxidante, enquanto o produto contendo Acido kójico, que já possui em sua composição, antioxidantes, seja conservado sob refrigeração.

O produto contendo Hidroquinona possui antioxidante em sua composição, sendo que o mesmo mostrou-se eficaz, já que os resultados no teste de estabilidade foram satisfatórios.

Com relação às características da emulsão, os cremes contendo Acido kójico e a associação de Lumin White e Renew zyme apresentam separação das fases, enquanto o creme com Hidroquinona mostrou-se estável. Este resultado representa a estabilidade da emulsão aniônica utilizada como veiculo para a Hidroquinona e a instabilidade da emulsão não iônica que veicula os demais produtos. Sugere-se a elaboração de testes mais aprofundados para o desenvolvimento de emulsão não iônica que apresente características mais estáveis.

6.0 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem a intensificação das pesquisas e testes, referentes à:

- instabilidade do creme contendo Acido kójico, que apesar de acrescido com coadjuvante técnico antioxidante, demonstrou fragilidade ao aumento de temperatura;
- instabilidade do creme contendo a associação de Lumin white e Renew zyme, que demonstrou fragilidade ao aumento de temperatura;
- instabilidade do creme não iônico, utilizado como veículo para os produtos acima, que apresentou instabilidade, resultando em separação das fases do mesmo.

7.0 REFERENCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes conforme o anexo desta resolução. Brasília, DF, 1999. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=259&word=> >. Acesso em: 12 ago. 2011.

FERREIRA, A. O. **Guia Prático de Farmácia Magistral**. 2ª edição Juiz de Fora: Editora Pharmabooks, 2002.

FERREIRA, A. O. **Guia Prático de Farmácia Magistral**. 3ª edição Juiz de Fora: Editora Pharmabooks, 2008.

NEVES, K. Proteção Solar. **Cosmetics & Toiletries**, p.14, março 2008.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a Dermoestética**, 2ªed, Pharmabooks, São Paulo, 2010.

HERNANDEZ, M.; MERCIER-FRESNEL, M. **Manual de Cosmetologia**, 3ªed, 1999.

KUREBAYASHI, A.K.; MATHEUS, L.G.M. **Fotoproteção A Radiação Ultravioleta e sua Influência na Pele e nos Cabelos**, São Paulo, 2002.

SOUZA, M.S.; ANTUNES JÚNIOR, D. **Ativos dermatológicos**, edição especial vol 1 ao 4. São Paulo: Pharmabooks, 2009.

SOUZA, V.M.; ANTUNES, D.J. **Ativos Dermatológicos** Vol 6, Pharmabooks, São Paulo, 2010.

PINTO, T.J.A. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, cosméticos e correlatos**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. ANVISA. Séries temáticas: Guia de estabilidade de produtos cosméticos, vol1, Brasil, 2004.

KEDE, M.P.V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia Estética**, 2ªed. Ed. Atheneu, São Paulo, 2009.

GUIRRO, E.C.O.; GUIRRO, R.R.J. **Fisioterapia Dermato-Funcional**, 3ªed. Rio de Janeiro, 2007.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**, 2ªed. São Paulo, 2003.

FREITAS, J.J.; PAESE K., GUTERRES. **Estabilidade de filtros orgânicos à UV**. **Cosmetics & Toiletries**. p.54 set/out 2008.

<http://www.embrafarma.com.br/novo/modules/pdf/d1c38a09acc34845c6be3a127a5aacaf.pdf> Acesso em 18 de Nov de 2011.

<http://www.tdonline.org/PDF/Farmciaartigo.pdf>

Acesso em 18 de Nov de 2011.

<http://www.dermage.com.br/dermage/paginas/Estudo-acido-kojico.pdf>

Acesso em 18 de Nov de 2011.

SATO, M. E.O.; et al, **Permeação cutânea in vitro do ácido kojico**, Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol 43,n. 2, abr/jun, 2007.

MIOT, L.D.B.; MIOT, H.A.; SILVA, M.G.; MARQUES, M.E.A., **Estudo comparativo morfofuncional de melanócitos em lesões de melasma**, Departamentos de Dermatologia e de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/Unesp), Botucatu, 2007.

COSTA, A.; et al, **Associação de emblica, licorice e belides como alternativa à hidroquinona no tratamento clínico do melasma**, KOLderma Instituto de Pesquisa Clínica Ltda. - Campinas (SP), Brasil, 2010.

http://www.tecnopress-editora.com.br/pdf/nct_443.pdf

Acesso em 18 de Nov de 2011.

<http://www.medcutan-ila.org/articulos/2005/1/pdf/04-040.pdf>

Acesso em 18 de Nov de 2011.

SILVA, N.; et al, **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, 3ªed., São Paulo, 2007.

TEDESCO, I.R.; ADRIANO, J.; SILVA, D., **Produtos Cosméticos Despigmentantes Nacionais Disponíveis no Mercado**.

LEONARDI, G.R. & CHORILLI, M. Dermofarmácia: bases dermocosméticas, microesmulões & lipossomas. 1ªed., RX editora, São Paulo, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. ANVISA. Farmacopéia brasileira: Formulário Nacional, Brasil, 2005.

POLYTECHNO DOSSIÊ: Lumin white, 2010.

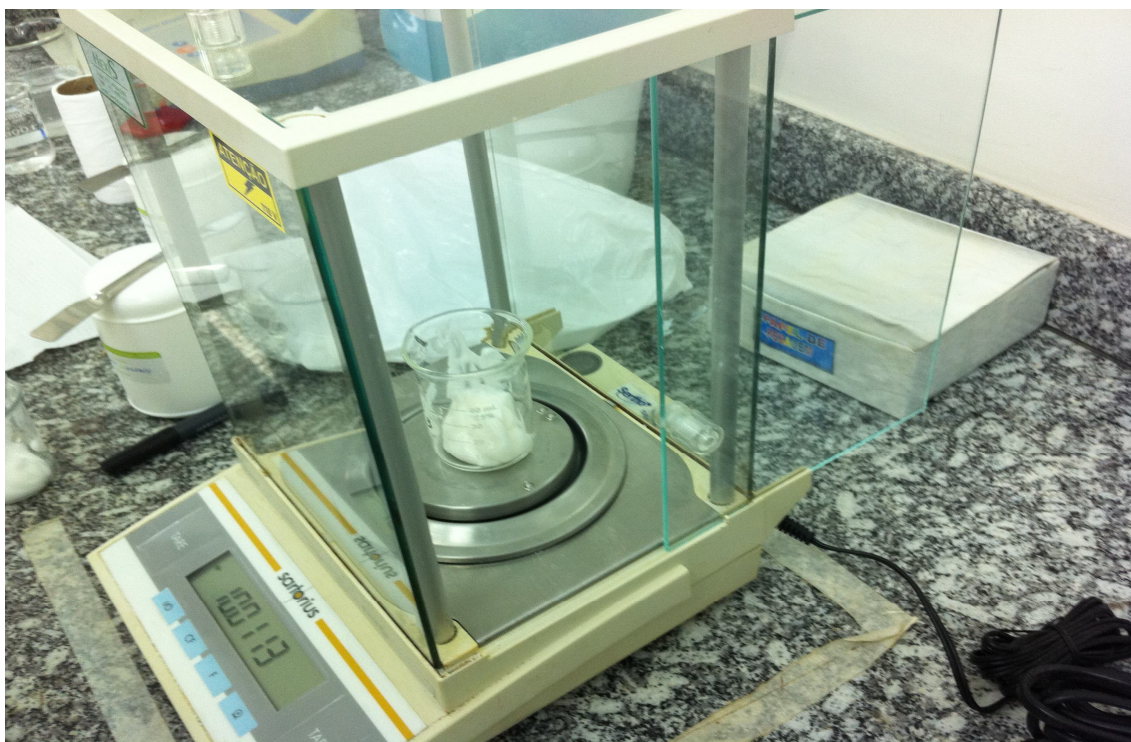
POLYTECHNO DOSSIÊ: Renew zyme, 2010.

Apêndice

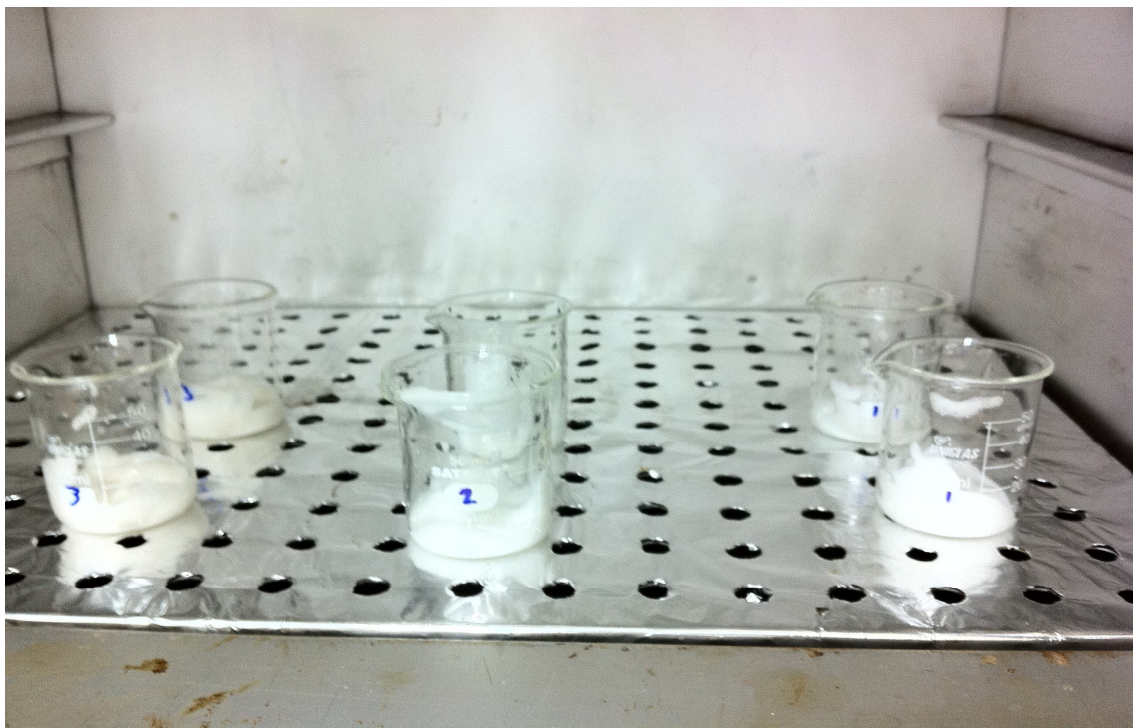
Centrífuga



Balança analítica



Estufa



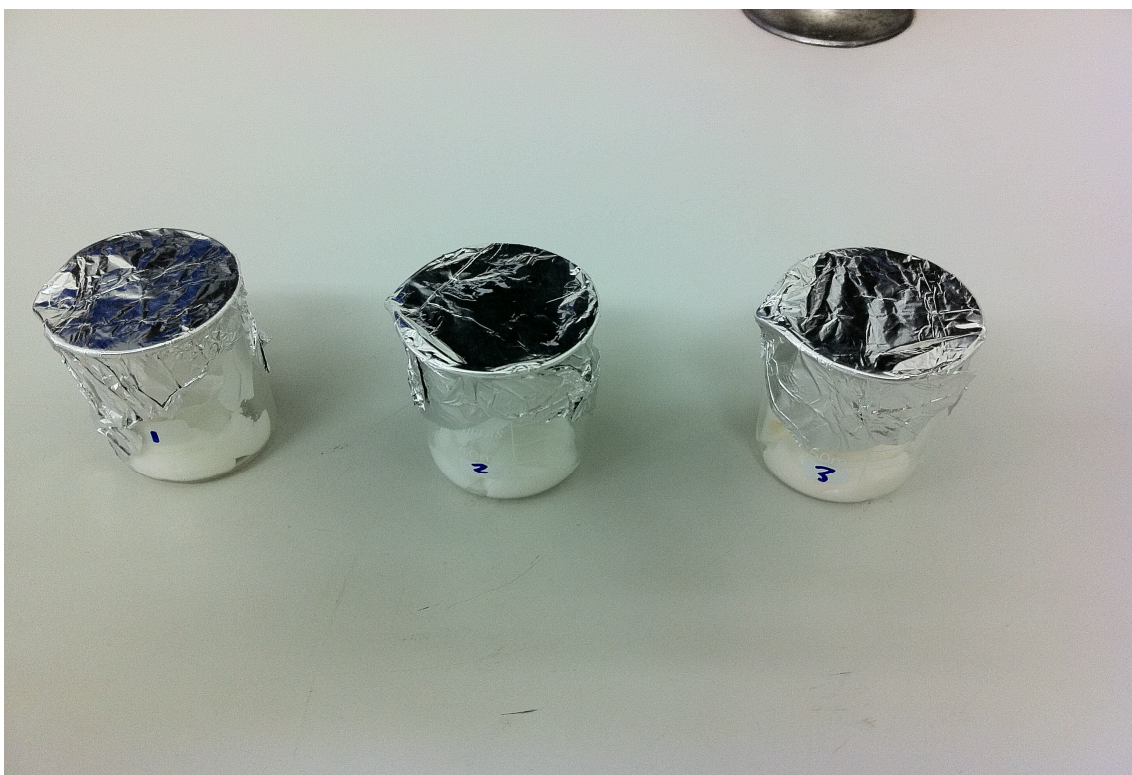
Geladeira



Amostra exposta a temperatura ambiente



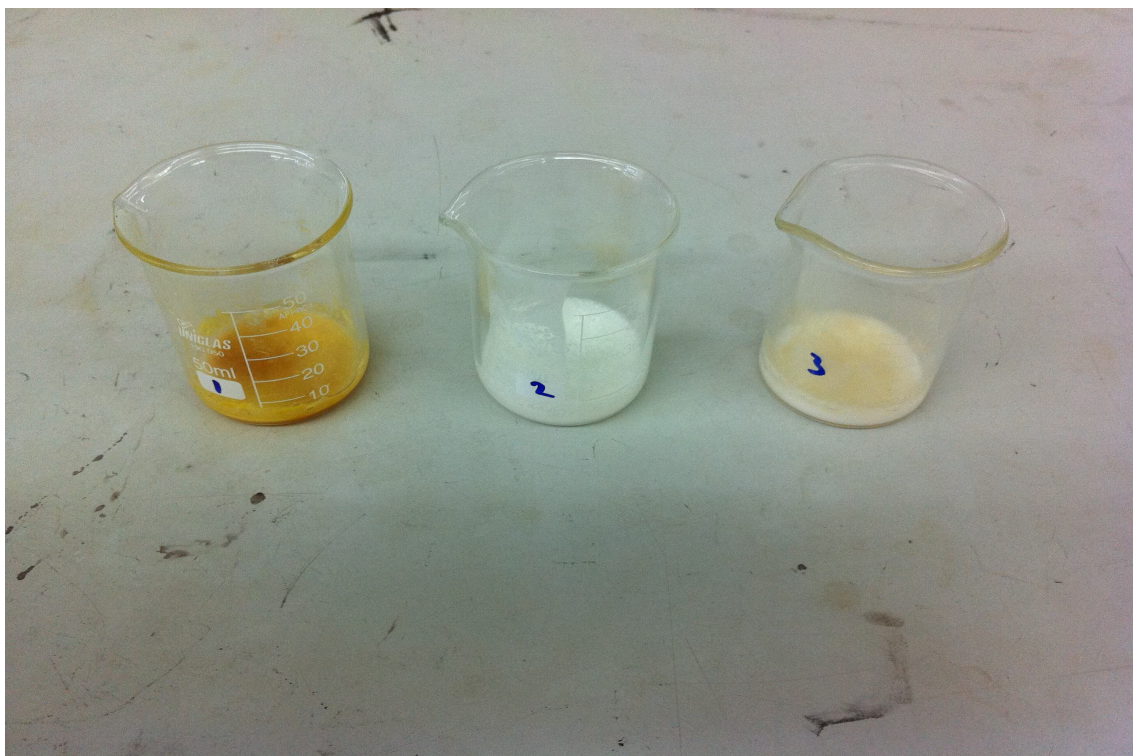
Amostra exposta a temperatura ambiente por 24 horas



Amostra exposta a temperatura de 45°C por 24 horas



Amostra exposta a 45°C por 7 dias.



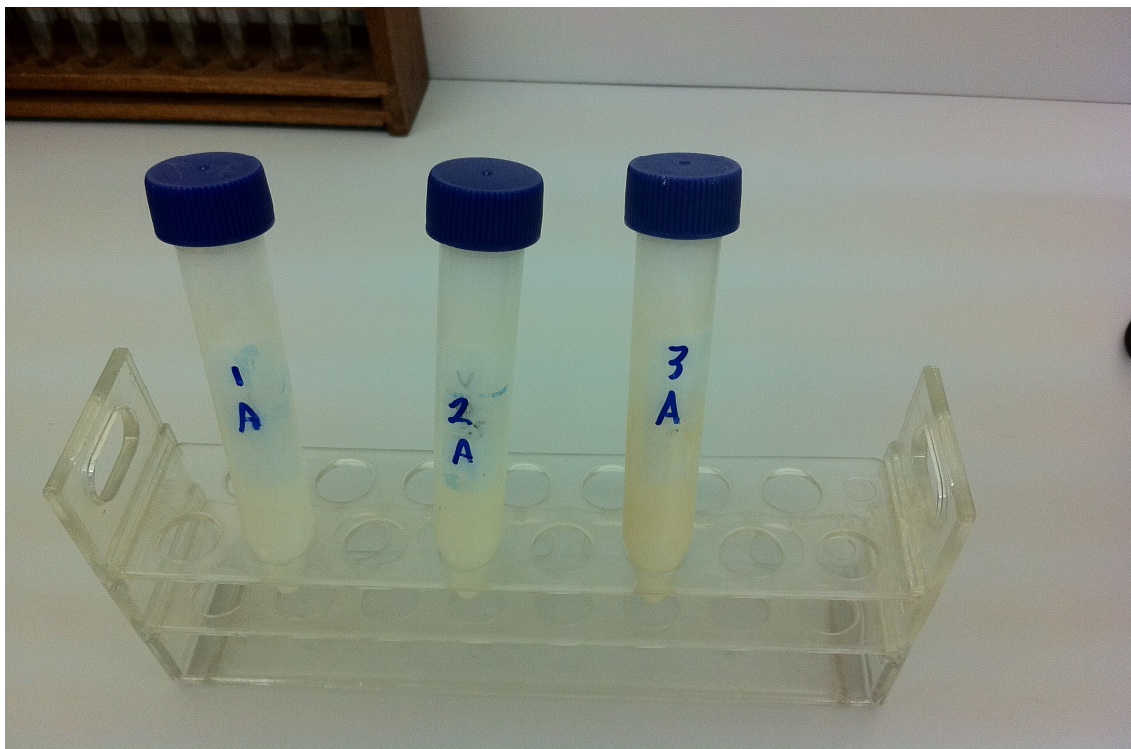
Amostra exposta a 45°C durante 20 minutos



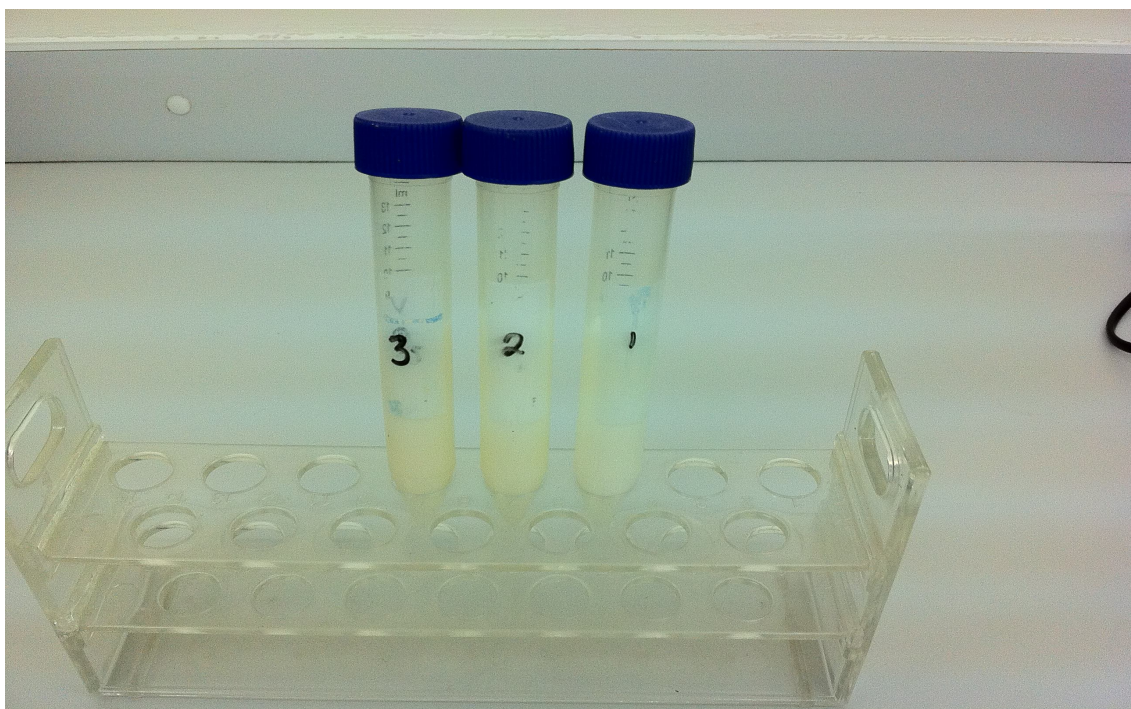
Amostra exposta a -5°C por 24 horas.



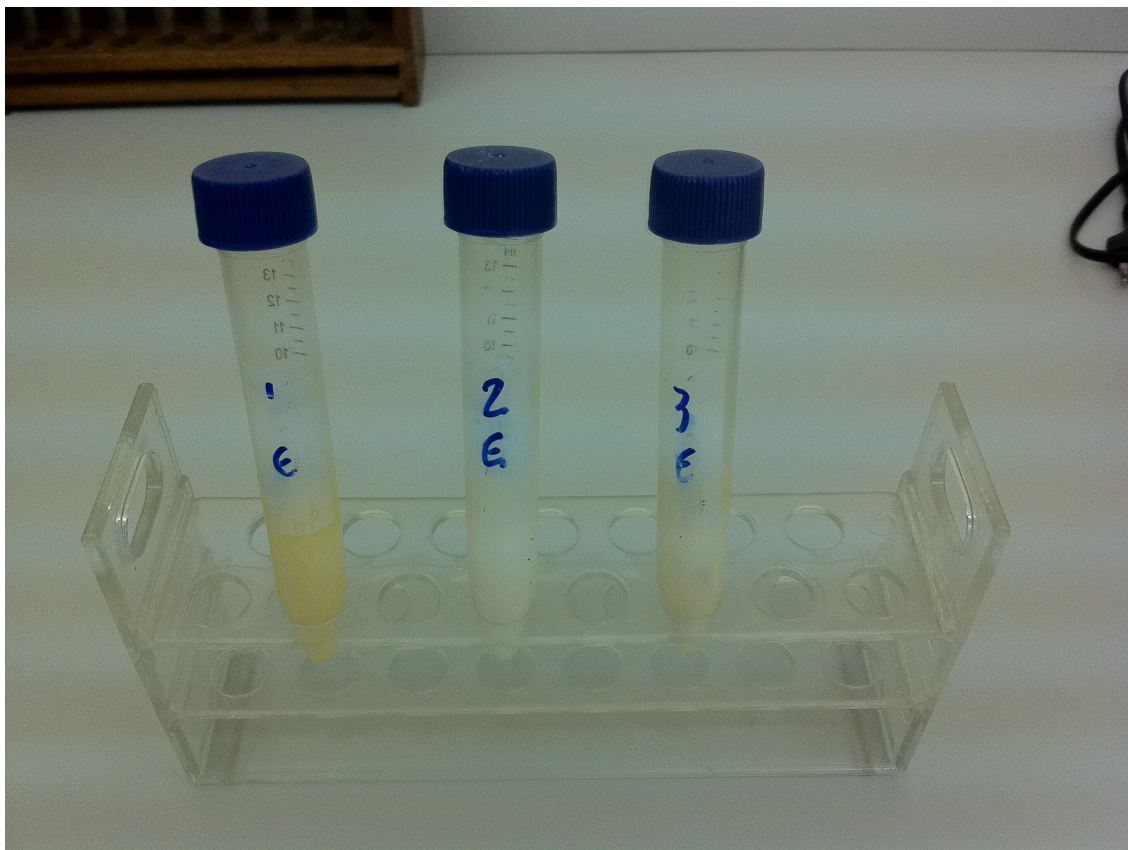
Amostra exposta a temperatura ambiente após centrifugação



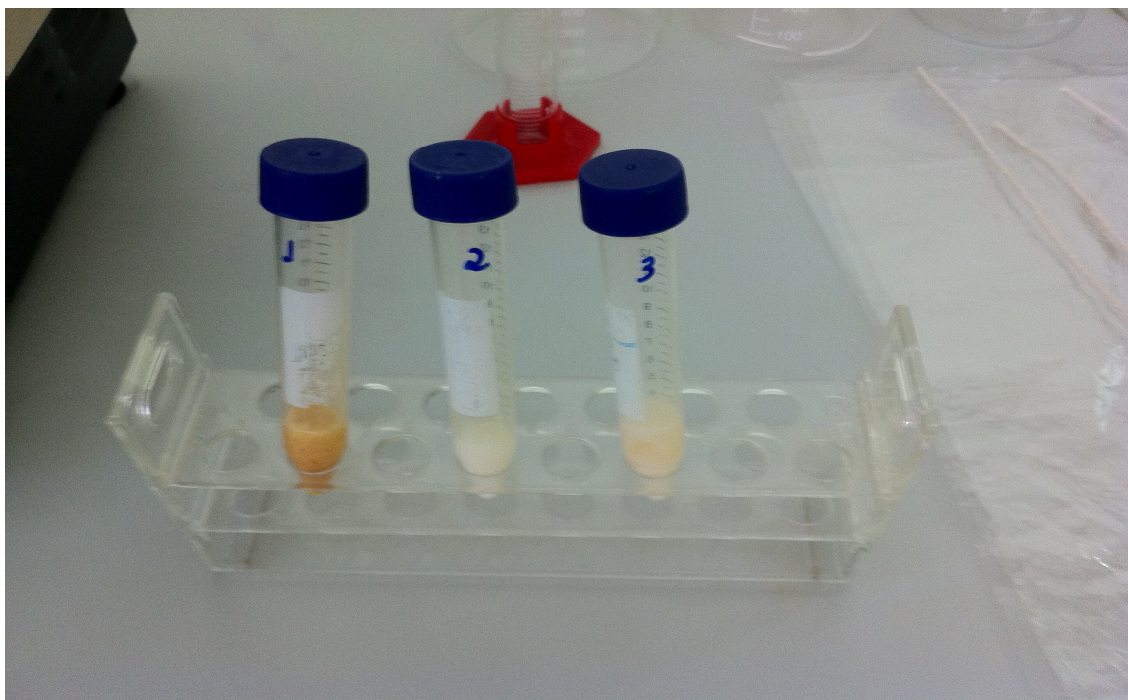
Amostra exposta a temperatura ambiente 24 horas após centrifugação



Amostra exposta a temperatura de 45°C durante 24 horas após centrifugação



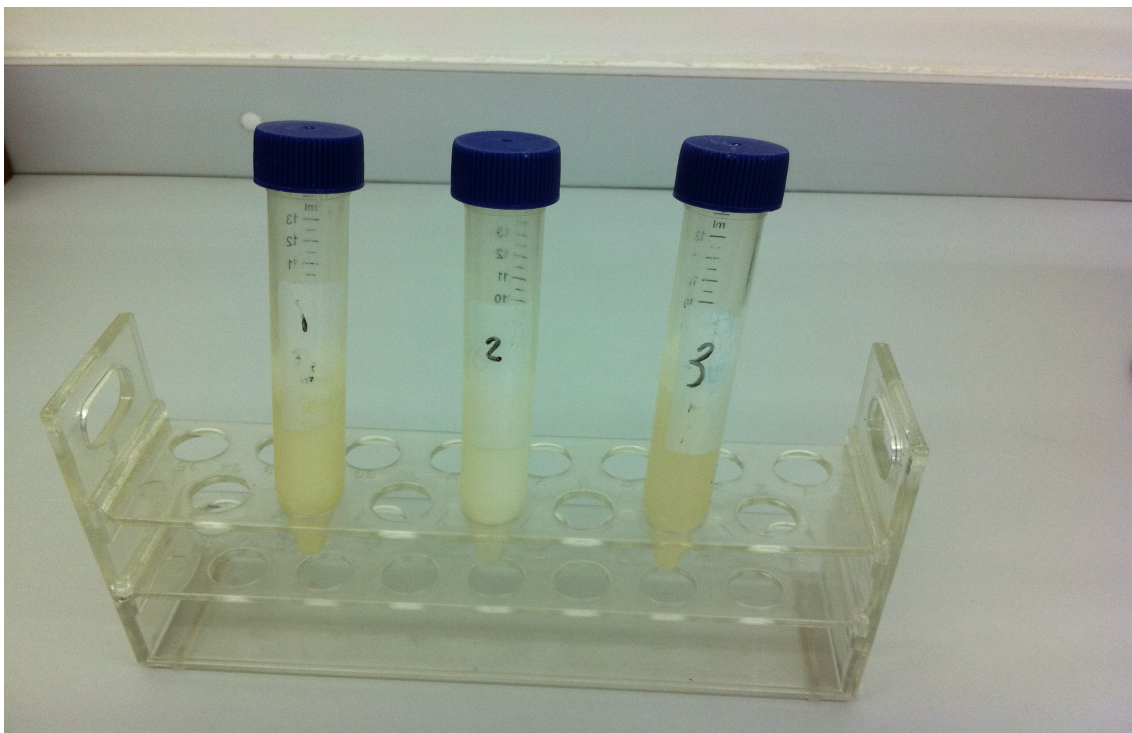
Amostra exposta a 45°C durante 7 dias após centrifugação



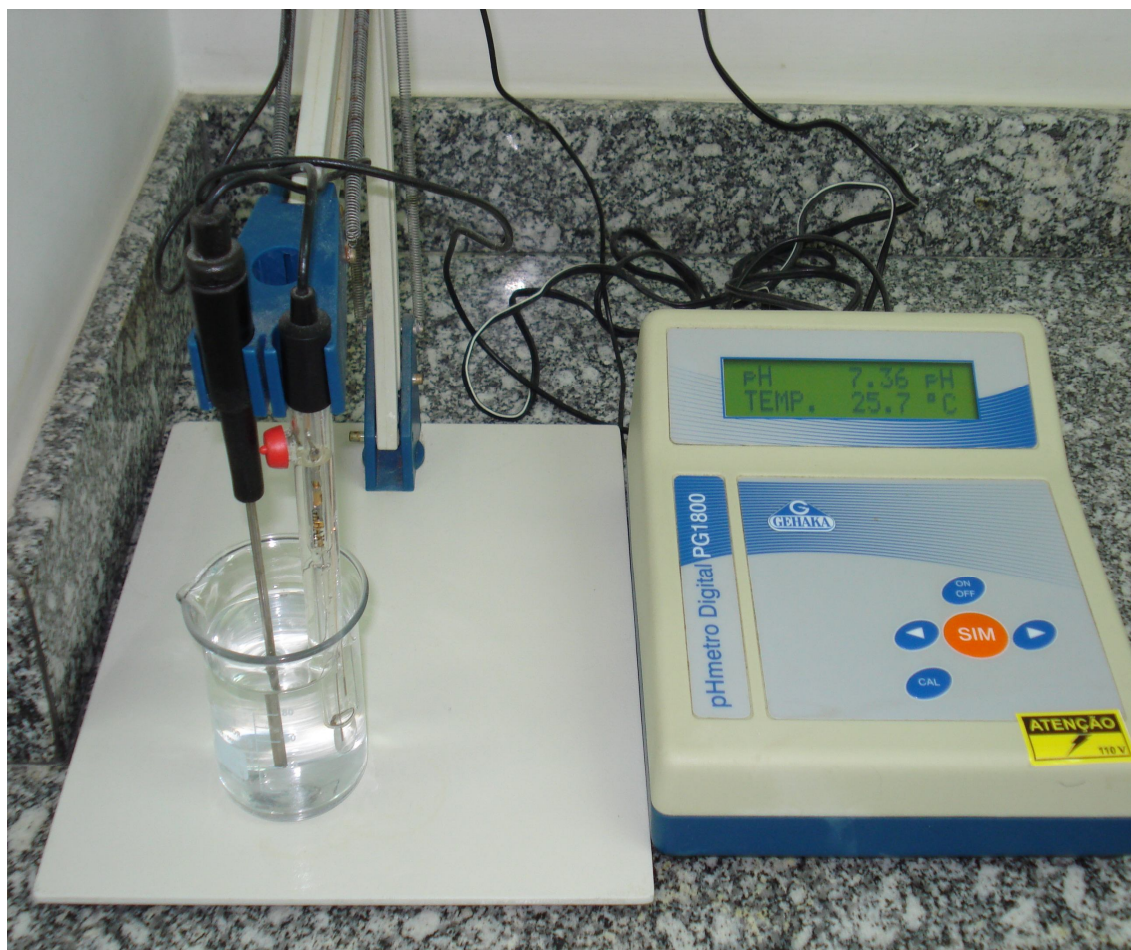
Amostra exposta a -5°C durante 24 horas após centrifugação



Amostra exposta a 45°C durante 20 minutos após centrifugação



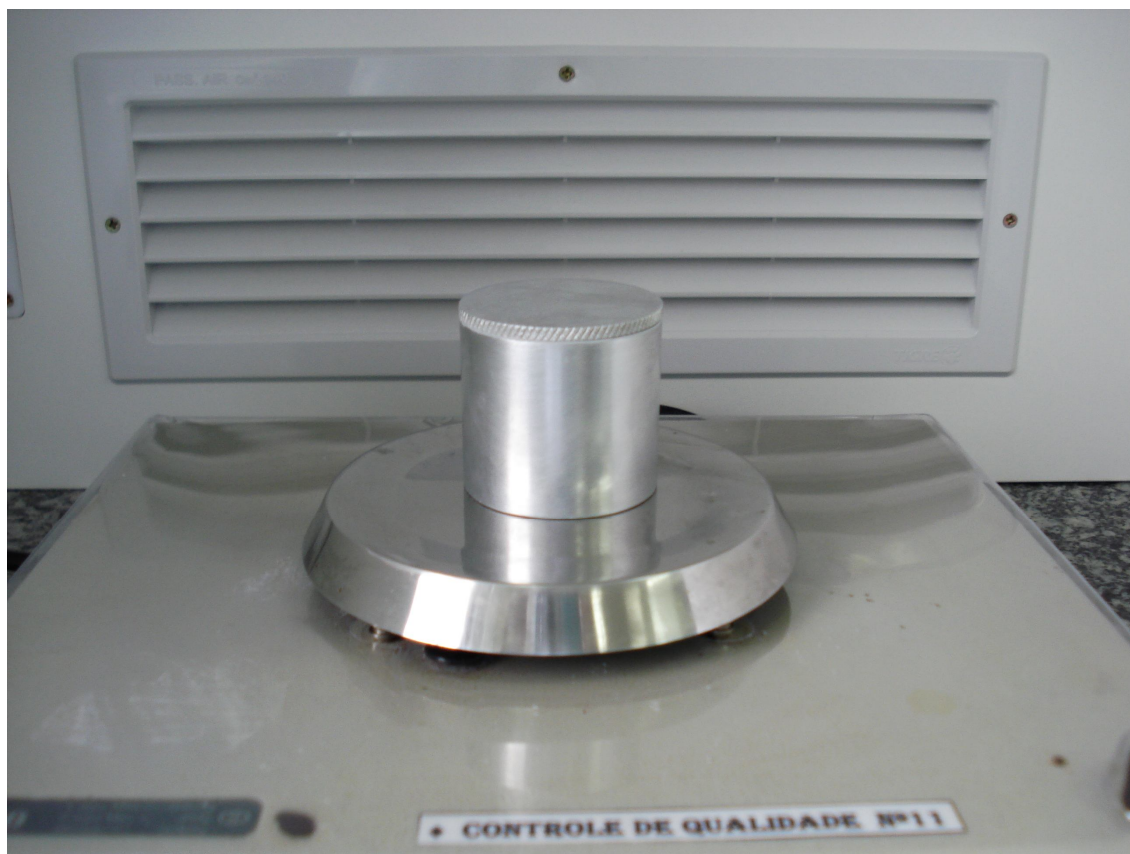
pHmetro



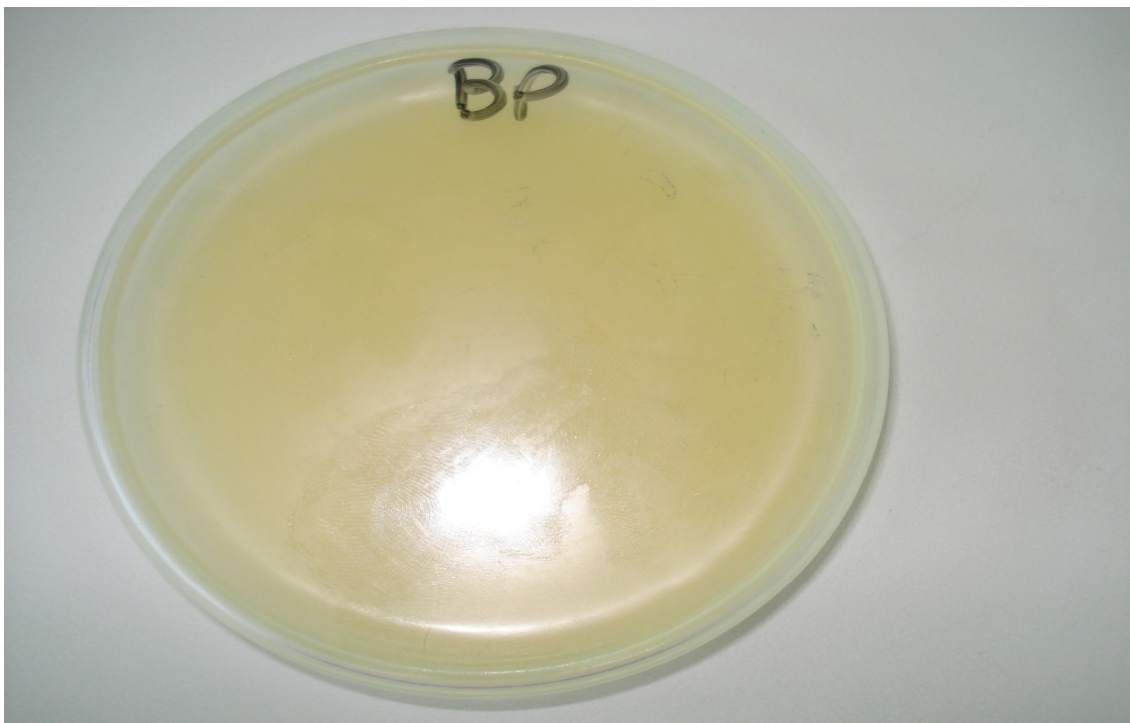
Brookfield para análise da viscosidade



Picnômetro de metal



Placa de BP



Placa de Cetremide

