

Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de um sérum facial antioxidante com extrato de romã

Development and evaluation of the stability of an antioxidant facial serum with pomegranate extract

MARIELE SOUSA SANTOS

Discente de Farmácia (UNIPAM)

Email: marielesousa@unipam.edu.br

LARISSA COSTA KELES DE ALMEIDA

Professora orientadora (UNIPAM)

Email: larissa@unipam.edu.br

Resumo: Nos dias atuais, a procura por cosméticos de origem vegetal que proporcionam efeitos benéficos a pele está cada vez maior. A romã possui várias propriedades farmacológicas desempenhadas por compostos bioativos que exercem ações antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas e anti-inflamatórias. O trabalho teve como objetivo desenvolver um sérum facial antioxidante com extrato de romã e realizar o estudo de estabilidade. Foi produzido um extrato glicólico de romã por maceração em temperatura ambiente por 7 dias. Foi avaliado o perfil fitoquímico de metabólitos especiais e feita a análise físico-química do extrato preparado. Após, foram desenvolvidos lotes de bancadas até obter a formulação desejada (LBII). Foi realizado o estudo de estabilidade preliminar através dos seguintes testes, em triplicata: estresse térmico, centrifugação e ciclos de 24 horas a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e 24 horas a $-5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 12 dias. Foram avaliadas as características organolépticas e realizados ensaios físico-químicos como pH, densidade e viscosidade na formulação. O extrato glicólico de romã apresentou taninos, flavonoides e terpenos, densidade média de 1,001, pH médio de 5,4 e 9,78% de resíduo seco total. A formulação LBII manteve-se estável, cumprindo todos os parâmetros avaliados durante o Estudo de Estabilidade Preliminar. Para avaliar melhor a estabilidade e estimar a validade do produto, sugere-se a realização de estudos futuros de estabilidade acelerada e de longa duração.

Palavras-chave: *Punica granatum* L.; antienvelhecimento; cosméticos.

Abstract: Nowadays, the demand for plant-based cosmetics that provide beneficial effects to the skin is increasing. Pomegranate possesses various pharmacological properties mediated by bioactive compounds that exert antimicrobial, antioxidant, antifungal, and anti-inflammatory actions. The aim of this work was to develop an antioxidant facial serum with pomegranate extract and conduct a stability study. A glycolic extract of pomegranate was produced by maceration at room temperature for 7 days. The phytochemical profile of special metabolites was evaluated, and the physicochemical analysis of the prepared extract was performed. Subsequently, bench batches were developed until obtaining the desired formulation (LBII). Preliminary stability study was conducted through the following tests, in triplicate: thermal stress, centrifugation, and cycles of 24 hours at $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and 24 hours at $-5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 12 days. Organoleptic characteristics were evaluated, and physicochemical assays such as pH, density, and viscosity were performed in the formulation. The pomegranate glycolic extract presented

tannins, flavonoids, and terpenes, with an average density of 1.001, average pH of 5.4, and 9.78% total dry residue. The LBII formulation remained stable, meeting all evaluated parameters during the Preliminary Stability Study. To better assess stability and estimate product validity, future studies of accelerated and long-term stability are suggested.

Keywords: *Punica granatum* L.; anti-aging; cosmetics.

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O processo de envelhecimento é inevitável e ele se manifesta principalmente na pele, resultando em mudanças na sua estrutura, função e aparência. O processo de envelhecimento pode ser intrínseco ou extrínseco (Guimarães *et al.*, 2021). O envelhecimento intrínseco é aquele decorrente de fatores genéticos e hereditários; já o extrínseco é devido a eventos externos como a exposição à poluição, ao tabagismo, à radiação ultravioleta (UV), entre outros fatores (Vieira; Souza, 2019).

Os radicais livres são um grande vilão do processo de envelhecimento, pois destroem as células através da ação do oxigênio, reduzindo a sua capacidade de defesa a partir dos antioxidantes e assim estimulam o envelhecimento (Liguori *et al.*, 2018). Os radicais livres em excesso são moléculas consideradas maléficas para o organismo humano e podem provocar reações de oxirredução. Na intenção de combater esses radicais livres, o organismo libera um mecanismo de resposta natural, porém pode não ser suficiente, o que torna necessária uma agregação maior de antioxidantes (Nimse; Pal, 2015).

As plantas podem produzir compostos antioxidantes naturais capazes de controlar o estresse oxidativo. Há um grande número de pesquisas voltadas para a produção de produtos cosméticos comerciais com a presença de antioxidantes naturais com benefícios à saúde, reduzindo o estresse oxidativo e neutralizando os radicais livres (Souza, 2015). O uso de plantas medicinais e fitoterápicos está cada vez mais presente no tratamento e cura de diversas patologias, inclusive no envelhecimento, visando a melhorar a aparência geral da pele e a ajudar a ter uma melhor qualidade de vida por meio da prevenção e pelo tratamento de doenças cutâneas ligadas ao processo de envelhecimento (Silva Júnior; Gonzalez, 2021).

Segundo Rocha *et al.* (2021), desenvolveu-se a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos no Brasil devido ao grande crescimento no uso de produtos naturais para o tratamento de diferentes patologias. Essa política rege o uso seguro e racional dessas substâncias e descreve a importância que deve ser tomada em relação às plantas medicinais; elas apresentam princípios ativos e substâncias que podem causar efeitos adversos.

A *Punica granatum* L., conhecida popularmente como romã, é uma árvore frutífera, cultivada principalmente em países de clima quente, apresenta uma vasta ação farmacológica devido às substâncias presentes em suas flores, folhas, casca, suco de frutas e sementes (Yisimayili; Chao, 2022). Os estudos sobre o seu vasto potencial medicinal estão sendo cada vez mais desenvolvidos; esses estudos, em sua maioria, são focados no metabolismo e na farmacocinética das várias partes da romã que apresentam esse potencial (Ferreira *et al.*, 2017).

A romã possui vários compostos bioativos, como minerais, vitaminas, ácidos fenólicos, taninos hidrolisáveis, taninos condensados e flavonoides. Esses compostos podem exercer ações antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas e anti-inflamatórias (Melo *et al.*, 2021).

Considerando-se a importância da ação do extrato de *Punica granatum* L. como antioxidante e a procura por cosméticos antienvhecimento pelo mercado, o presente trabalho teve como objetivo geral desenvolver um sérum facial antioxidante com extrato de romã, e como objetivos específicos produzir o extrato, realizar a caracterização dos compostos presentes no extrato, desenvolver o produto cosmético e realizar o estudo de estabilidade do mesmo.

2 METODOLOGIA

Foi feito um estudo experimental, com abordagem de natureza quali e quantitativa. Neste estudo, essas abordagens se complementaram: quantitativa, devido ao emprego da quantificação para apresentar números que descrevessem os objetivos gerais da pesquisa; qualitativa, devido à análise das informações obtidas no estudo através de dados descritivos (Oliveira, 2011). A pesquisa foi realizada nos laboratórios de Controle de Qualidade e Tecnologia Farmacêutica, situados no segundo piso do Bloco D, do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM, na cidade de Patos de Minas - Minas Gerais.

2.1 COLETA, SECAGEM DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO

As folhas de *Punica granatum* L. foram coletadas no município de Patos de Minas - Minas Gerais, no mês de agosto de 2023, no período da manhã. Posteriormente, foram transportadas sob armazenamento em caixa térmica para o Laboratório de Tecnologia Farmacêutica do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM, onde foram lavadas em água corrente e secas com papel toalha. Em seguida, foram colocadas em estufa de ar circulante a uma temperatura de 40°C para secagem (Figura 1). Após a secagem, o material foi triturado com auxílio de liquidificador Mondial 500W para a obtenção do pó.

Figura 1: Folhas preparadas de *Punica granatum* L.



Fonte: arquivos das autoras, 2023.

Foi feito o preparo do extrato glicólico das folhas da romã baseado na metodologia de Yoshida *et al.* (2015). Para isso, foram misturados 93 g de pó do material com 310 ml de propilenoglicol. Foram colocados em um béquer de 1L, identificado e

coberto com papel filme. Essa mistura foi deixada em repouso por 7 dias, em temperatura ambiente. Após esse período de repouso, filtrou-se a mistura com auxílio de funil e gaze (Figura 2), e o extrato foi armazenado em frasco de vidro âmbar ao abrigo da luz e calor.

Figura 2: Filtração do extrato final



Fonte: arquivo das autoras, 2023.

As análises físicas e químicas realizadas no extrato das folhas do *Punica granatum* L. estão descritas no Quadro 1. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Quadro 1: Análises físicas e químicas do extrato glicólico da *Punica granatum* L.

Análise	Especificações
Características organolépticas	Foram observados aspectos em relação à cor e ao odor e aspecto do extrato.
Densidade relativa	Utilizou-se um picnômetro de 5mL de vidro. A massa do picnômetro vazio é determinada e, em seguida, a sua massa com amostra e com água purificada. A densidade foi determinada através da fórmula: $D = \frac{P_{\text{Amostra}} - P_{\text{Vazio}}}{P_{\text{Água}} - P_{\text{Vazio}}}$.
pH	O pH foi medido por determinação potenciométrica utilizando-se pHmetro previamente calibrado com as soluções tampão 4 e 7 à temperatura ambiente. O extrato foi colocado em um béquer de 50mL e o eletrodo inserido diretamente na amostra.
Porcentagem de resíduo seco total	Foi pipetado exatamente 1mL do extrato e transferido para uma cápsula de porcelana previamente tarada. A cápsula foi levada à estufa a 105°C, até o peso constante. Após o resfriamento em dessecador, a cápsula foi pesada e a porcentagem de resíduo seco calculada.

Fonte: adaptado de Farmacopeia, 2019.

2.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

A triagem fitoquímica preliminar das principais classes de metabólitos secundários da *Punica granatum* L. foi realizada segundo metodologias estabelecidas por Costa (2002) e Farmacopeia Brasileira (2019).

2.2.1 Pesquisa de taninos

Para a pesquisa de taninos, foram preparados decoctos com 1ml do extrato de *Punica granatum* L. em 100mL de água purificada. As reações realizadas estão descritas no Quadro 2.

Quadro 2: Reações para pesquisa de Taninos no extrato glicólico de *Punica granatum* L.

Reação	Especificações
de Gelatina	Em 2mL da solução extrativa foram adicionadas 2 gotas de ácido clorídrico (HCl) diluído e solução de gelatina a 2,5% gota a gota. A formação de precipitado demonstra reação positiva para taninos.
com sais de ferro	Em 2mL da solução extrativa foram adicionados 10mL de água destilada e 2-4 gotas de solução de cloreto férrico (FeCl ₃) a 1% em metanol. O desenvolvimento de coloração azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, enquanto a coloração verde indica a presença de taninos condensados.
com acetato de chumbo	Em 5mL da solução extrativa foram adicionados 10mL de solução de ácido acético 10% e 5mL de solução de acetato de chumbo a 10%. A formação de precipitado esbranquiçado indica reação positiva para taninos hidrolisáveis.

Fonte: adaptado de Costa, 2002.

2.2.2 Flavonoides totais

Para a pesquisa de flavonoides totais, foram tratados 3 ml do extrato final de *Punica granatum* L. com 20mL de éter de petróleo sob aquecimento. Depois de filtrados, foram adicionados 20mL de metanol, em banho de aquecimento, com posterior filtração e evaporação. Ao final, o resíduo foi recuperado com 10mL de etanol. As reações estão descritas no Quadro 3 a seguir.

Quadro 3: Reações para pesquisa de flavonoides no extrato glicólico *Punica granatum* L.

Reação de	Especificações
Shinoda	Foi colocado 1mL do extrato final em tubo de ensaio e adicionado um fragmento de magnésio metálico; em seguida, foram adicionadas gotas de ácido clorídrico concentrado. Após o desprendimento de hidrogênio nascente, há o aparecimento de coloração rósea ou vermelha.
Taubock	Foram evaporados, em banho de aquecimento, 3mL do extrato até <i>secura</i> , esfriando e umedecendo o resíduo com algumas gotas de acetona. Foram adicionados alguns cristais de ácido bórico e ácido oxálico. Estes foram evaporados, em banho de aquecimento, novamente, até a <i>secura</i> evitando aquecimento prolongado. O resíduo foi dissolvido em 5mL de éter etílico e a mistura observada sob luz ultravioleta (254nm). Em caso positivo, ocorre aparecimento de fluorescência amarelo-esverdeada.
Cloreto Férrico	Foram adicionadas, a 1mL do extrato, algumas gotas de cloreto férrico a 2%. Deve aparecer coloração verde ou amarela ou ainda violácea dependendo do flavonoide presente.
Cloreto de Alumínio	Foram umedecidas áreas diferentes de papel de filtro com o extrato. Foi colocada sobre uma das manchas uma gota de cloreto de alumínio a 5% em

	etanol. Observou-se sob luz ultravioleta a intensificação da fluorescência ou fluorescência verde-amarelada.
--	--

Fonte: adaptado de Costa, 2002.

2.2.3 Terpenos

As reações para pesquisa de terpenos foram feitas por meio da reação de Lieberman-Burchard, na qual 2mL do extrato são misturados em 2mL de clorofórmio; em seguida a solução clorofórmica foi filtrada em um funil com algodão coberto com alguns decigramas de Na₂SO₄ anidro. Em tubo de ensaio, adicionou-se 1mL de anidrido acético e três gotas de H₂SO₄ concentrado, agitando suavemente e observando a cor. Ao se observar, tem-se coloração azul evanescente seguida de verde que indica a presença de terpenos (Costa, 2002).

2.3 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO

Foi desenvolvida uma formulação de sérum facial antioxidante com extrato de romã tomando-se os cuidados com as Boas Práticas de Fabricação (Brasil, 2019). As pesquisas foram realizadas em literatura científica sobre sérums faciais e principais componentes. Foram coletadas também informações sobre as características físicas e químicas dos componentes, incompatibilidades, porcentagem de uso e funções e outras informações consideradas importantes para o trabalho.

Os equipamentos utilizados foram: Agitador mecânico (713 - Frisatom); Balança semi-analítica (Bk400 - Gehaka); Banho maria (314-6 - Nova Ética); Centrífuga (BE 6000 - Bio Eng); Chapa aquecedora (510 - Fisatom); Estufa (06/091741E - Lemaq); Geladeira (Consul); pHmetro digital (PG3000 - Gehaka) e Copo Ford.

2.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Conforme as diretrizes da ANVISA, foi realizado o teste de estabilidade, utilizando o Guia para Realização de Estudos de Estabilidade da RE n. 1, de 29 de julho de 2005 (Brasil, 2005), o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Brasil, 2004) e Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos (Brasil, 2008).

2.4.1 Caracterização da amostra de referência

As análises físico-químicas realizadas estão descritas no Quadro 4. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Quadro 4: Análises físico-químicas realizadas na formulação

Reação	Especificações
Características organolépticas	Foram observados aspectos em relação à cor e ao odor e aspecto da formulação.
Determinação do pH	Para a determinação do pH foi utilizado um pHmetro digital da marca Gehaka, PG1800, previamente calibrado com as soluções tampão 4 e 7 a temperatura ambiente. O eletrodo foi inserido diretamente nas amostras.
Determinação da viscosidade	Foi utilizado o método Copo Ford; foi fechado o orifício número 2 com o dedo indicador de uma das mãos e adicionou-se lentamente a formulação no copo Ford, evitando a formação de bolhas ou de espuma. Removeu-se o excesso com uma espátula. Foi retirado o dedo do orifício acionando simultaneamente um cronômetro com a outra mão. Mediu-se o tempo transcorrido até a primeira interrupção do fluxo. Em seguida, realizou-se o cálculo seguinte: Viscosidade (Cp)= $0,6658 \times T - 17,08$. O teste foi determinado com a solução a 10% p/v preparada em balão volumétrico.
Determinação da densidade	Utilizou-se um picnômetro de 5mL de vidro. A massa do picnômetro vazio foi determinada e em seguida do mesmo com amostra e com água purificada. A densidade foi determinada pela razão da massa da amostra pela massa da água, conforme a fórmula a seguir: $D = \frac{P_{Amostra} - P_{Vazio}}{P_{Água} - P_{Vazio}}$. O teste foi determinado com a solução a 10% p/v preparada em balão volumétrico.

Fonte: adaptado de Farmacopeia, 2019.

O teste de centrifugação foi realizado em triplicata, e as amostras foram submetidas a 3000 rpm durante 30 minutos em centrífuga. Após a centrifugação, as amostras foram avaliadas visualmente, a fim de verificar se ocorreu algum processo de instabilidade como separação de fases ou cremação (Brasil, 2004). Para o ensaio de temperatura elevada, as amostras foram mantidas em banho-maria por 10 minutos nas temperaturas de 30°C a 70°C, respectivamente. Após o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, elas foram analisadas visualmente para verificar se houve algum processo de instabilidade.

Nos ciclos gelo-degelo, as amostras foram submetidas por 12 dias a: 24 horas a 45°C ± 2°C em estufa elétrica e 24 horas a -5°C ± 2°C em geladeira, sendo caracterizado um ciclo. Foram avaliados os seguintes parâmetros nos tempos de 24 h, 6º dia e 12º dia: avaliação das características organolépticas, pH, viscosidade e densidade. Foi preparada uma amostra de referência e armazenada em temperatura ambiente (Brasil, 2004).

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A avaliação estatística dos dados foi realizada por meio de análise de variância (Anova) utilizando o programa Microsoft Excel 2016. Calculou-se a média e o desvio padrão relativo.

3 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1 ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO EXTRATO

As características organolépticas do extrato obtido foram coloração amarelada, aspecto oleoso e odor característico. Os valores de densidade relativa do extrato, *pH* e porcentagem de resíduo seco total estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Análises físicas e químicas do extrato

	1º	2º	3º	Média	Desvio padrão relativo
Densidade relativa (g/ml)	1,003	1,000	1,000	1,001	0,002
<i>pH</i>	5,4	5,4	5,4	5,4	0,000
Porcentagem de resíduo seco total (%)	10,08	10,01	9,25	9,78	0,460

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

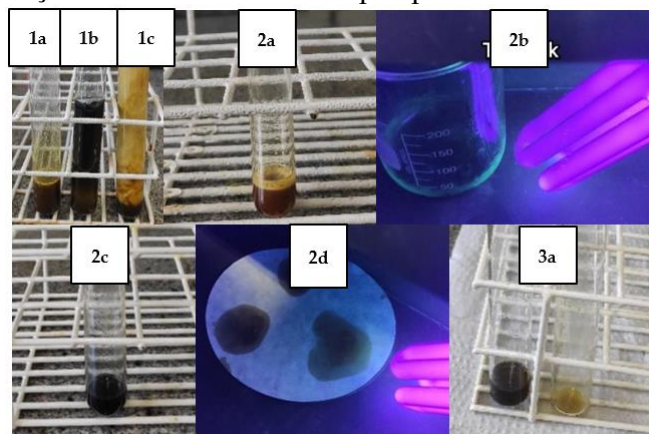
A partir da densidade relativa, pode-se separar um material puro de um impuro. A densidade dos materiais corresponde à função de sua composição, além de também ser utilizada na identificação e controle de qualidade de produtos industriais e na concentração de soluções (Brasil, 22008).

Os valores de *pH* da amostra representam a acidez ou a alcalinidade de uma solução, a escala de *pH* vai de 1 (ácido) a 14 (alcalino), em que o valor 7 é considerado *pH* neutro. O equilíbrio do *pH* para a pele é de grande importância para preservá-la e minimizar as irritações ou desconforto na aplicação, garantindo o efeito terapêutico da formulação (Brasil, 2008).

A porcentagem de resíduo seco total determina a quantidade de substâncias voláteis e umidade residual que podem ser eliminadas em condições especificadas. O teor médio encontrado foi de 9,78%, estando dentro do limite de umidade para drogas vegetais que deve estar entre 8 a 14%, segundo a especificação da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2019), isso mostra que se obteve qualidade aceitável, pois o excesso de água nas amostras é prejudicial à qualidade e pode favorecer a ação de enzimas e proliferação de bactérias e fungos.

Na análise fitoquímica preliminar, foram feitas as reações para a pesquisa de taninos, flavonoides e terpenos presentes no extrato preparado. Os resultados das reações para detectar a presença desses metabólitos especiais no extrato estão descritos na Figura 3 e na Tabela 2.

Figura 3: Reações ocorridas durante a pesquisa dos metabólitos especiais



Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Tabela 2: Identificação de metabólitos especiais do extrato

Metabólitos	Reação	Resultado	Descrição
1. Taninos	a. Gelatina	+	Precipitado
	b. Sais de ferro	Azul	Taninos hidrolisáveis
	c. Acetato de chumbo	+	Precipitado
2. Flavonoides	a. Shinoda	+	Coloração vermelha
	b. Taubock	+	Fluorescência verde-amarelada
	c. Cloreto férrico	+	Coloração violácea
	d. Cloreto de alumínio	-	Não houve alteração
3. Terpenos	a. Lieberman-Burchard	+	Coloração azul seguida verde

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Os taninos são substâncias orgânicas que fazem ligações de hidrogênio e oxigênio combinadas, possuem propriedades antioxidantes e adstringentes. Melo *et al.* (2021) estudaram as propriedades farmacológicas da droga vegetal *Punica granatum L.*; quantificaram metabólitos totais antioxidantes do extrato em que foi destacado o acúmulo de taninos (1,44mg/g) e de flavonoides (499,26mg/g) em seus resultados finais. As reações para identificação da presença de taninos na amostra se mostraram positivas para as reações de gelatina, sais de ferro e acetato de chumbo, além disso apresentaram presença de taninos hidrolisáveis (suas ligações ésteres são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas).

Os flavonoides são um grupo fenólico de grande importância e representam pigmentos naturais que existem nos vegetais com propriedades de proteção contra os agentes antioxidantes. Observou-se resultado positivo para as análises com cloreto férrico, Shinoda e Taubock e resultado negativo apenas para a reação com Cloreto de alumínio. A presença dos flavonoides foi significativa no extrato preparado, assim como foi observado nos estudos de Pereira (2022) cuja metodologia de quantificação dos flavonoides evidenciou que o extrato de romã obteve resultados satisfatórios.

As reações para a pesquisa de terpenos foram feitas por meio da reação de Lieberman-Burchard, em que foi observada a mudança da coloração para azul seguida de verde, indicando presença de terpenos no extrato. Os terpenos são compostos

bastante conhecidos pelas suas propriedades antimicrobianas; eles atuam prejudicando a estrutura e função das membranas microbianas e paredes celulares, além de apresentarem ação anti-inflamatórias e antissépticas (Fortunato; Mendes, 2021).

3.2 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO

Após pesquisa realizada em literatura científica, foi desenvolvida uma formulação de sérum facial antioxidante contendo extrato de romã, tomando os cuidados com as Boas Práticas de Fabricação (Brasil, 2019). Os componentes e suas concentrações estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Concentração dos ativos na formulação

Componentes da Formulação	LB I	LB II
Glicerina	10%	10%
Extrato romã	10%	10%
Extrato pitanga	3%	3%
Extrato chá-verde	3%	3%
Óleo de abacate	1%	2%
Vitamina E	0,5%	0,5%
Ácido hialurônico nano	5%	5%
Aristoflex AVL	5%	5%
Essência	0,5%	0,8%
EDTA	0,1%	0,1%
Silicone volátil	-	3%
Corante	-	0,1%
Água qsp	100%	100%

Fonte: autoria própria, 2023.

O extrato glicólico de pitanga apresenta várias propriedades importantes, boa função antioxidante, antirradicais livres, suavizante e hidratante; é indicado para formulações de tratamento de pele e para produtos antienvhecimento. Pode ser usado na concentração de 3% a 10% e a faixa de pH de eficácia é entre 3,5 a 5,5 (Amanter, 2019).

O extrato glicólico de chá-verde tem funções anti-inflamatórias, antissépticas e adstringentes; atua como antirradical livre ao diminuir os níveis de ferritina e de peróxidos lipídicos, mostrando ser um poderoso antioxidante para a pele e o organismo. Pode ser usado na concentração de 3% a 5%, e sua faixa de pH de eficácia é entre 2,0 e 5,0 (NUTRIFARM, 2021).

Como já visto, o extrato glicólico de romã apresenta grandes propriedades adstringentes e antimicrobianas, além de seu grande potencial antioxidante que ajuda na proteção dos sistemas biológicos e na oxidação de moléculas ou estruturas celulares; é utilizado em produtos cosméticos de diversas formas na concentração de 3% a 10%; a faixa de pH de eficácia é entre 3,5 a 5,5 (Florien, 2016).

O óleo de abacate é usado como emoliente, calmante e suavizante da pele; ele é considerado como um óleo não secativo, por isso bastante usado em pele ressecadas. Pode ser usado na concentração de 1% a 5% (BIOVITAL, 2016).

A vitamina E é usada na prevenção do envelhecimento celular e da ação dos radicais livres, antioxidante e umectante; ela nutre e hidrata melhorando a suavidade da pele. Sua concentração de uso é de 0,5% a 5% (PURIFARMA, 2020).

O ácido hialurônico nano é um poderoso hidratante das regiões da pele; ele faz com que se tenha um aspecto rejuvenescido através do intumescimento do ativo por água, combate à flacidez e auxilia na redução de rugas e na preservação da integridade das fibras de colágeno. A forma de nanopartícula garante melhor efeito de hidratação, trazendo uma melhor espalhabilidade durante a aplicação. Concentração de uso de 1,0% a 10% e seu *pH* é 4,3 a 6,8 (SOLUTIONS, 2023).

O Aristoflex AVL® é uma dispersão em óleo de um polímero pré-neutralizado espessante que se estabiliza por uma mistura de emulsionantes. Promove sensação não pegajosa deixando sobre a pele um toque de suavidade. Sua concentração de uso é de 1% a 10% e apresenta estabilidade em uma ampla faixa de *pH* de 4,0 a 9,0 (PHARMA SPECIAL, 2020).

Utilizou-se a glicerina como agente hidratante e umectante na formulação; é usada em diversas formulações para melhorar a suavidade e viscosidade, além de conferir brilho às formulações e agregar uma ação protetora da pele. Sua concentração de uso é de 2% a 10% e a faixa de *pH* ampla de 4,5 a 9,0 (INFINITY PHARMA, 2014).

Para estabilizar e proteger a formulação foi usado o EDTA como agente sequestrante, quelante e auxiliar antioxidante; ele reage e forma complexos com íons de metal que possam afetar a estabilidade ou a aparência dos cosméticos. Sua concentração de uso é de 0,005% a 1,0%, e sua faixa de estabilidade do *pH* é de 4,0 a 6,0 (LABSYNTH, 2012).

A água utilizada foi purificada por meio da osmose reversa. Esse tipo de purificação atua como uma barreira a todos os tipos de sais e de microrganismos por meio de uma tecnologia de membranas semipermeáveis (Oliveira; Pelegrini, 2011).

Souza, Ferreira e Tescarollo (2020) mostram em seus estudos a importância de incorporar o silicone volátil nas formulações, ele proporciona um toque sedoso ao produto, melhora a espalhabilidade e ajuda a promover a absorção do produto. A concentração de uso do silicone volátil é de 0,2% a 5,0%.

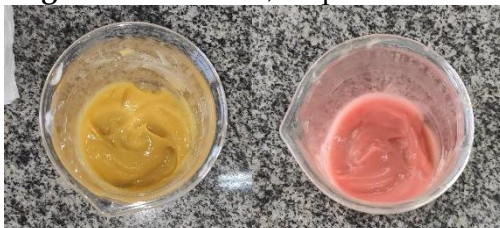
Foi desenvolvido o lote de bancada I (LBI - Figura 4) seguindo o procedimento: pesaram-se todos os componentes da formulação; no béquer solubilizou-se o EDTA dissódico na água, adicionou-se o aristoflex AVL e agitou-se em agitador mecânico até obter uma maior consistência; sob agitação foram adicionados separadamente os extratos de romã, chá-verde e pitanga, óleo de abacate, vitamina E, ácido hialurônico nano e a glicerina e por último a essência; após a formulação estar homogeneizada, acertou-se o *pH* para entre 5,0 e 5,5; o *pH* escolhido está diretamente ligado à estabilidade dos componentes da formulação e está dentro da faixa de *pH* da pele.

Observou-se que a formulação feita apresentou homogeneidade, textura suave, aspecto cremoso e cheiro característico da essência. A espalhabilidade do produto poderia ser melhorada, por isso foi preparada a formulação do lote de bancada II (LBII - Figura 4); optou-se por adicionar na formulação o silicone volátil com o intuito de melhorar a espalhabilidade e o brilho e dar um toque sedoso ao produto, além disso adicionou-se maior quantidade de óleo de abacate para uma maior hidratação, maior

quantidade de essência para garantir um aroma apropriado e foi adicionado corante na formulação para uma melhor aparência do produto.

As amostras preparadas foram acondicionadas em seis potes cosméticos pretos com tampas de 30g e identificadas. Dessas amostras, três foram utilizadas posteriormente no Estudo de Estabilidade Preliminar e outras três foram armazenadas em temperatura ambiente para serem utilizadas como padrão.

Figura 4: LBI e LBII, respectivamente



Fonte: arquivos das autoras, 2023.

3.3 ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

O teste de centrifugação é um teste de triagem eficiente para previamente selecionar as formulações que devem ser submetidas aos testes de estabilidade. Esse teste cria tensão na amostra, simulando o aumento da gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando uma possível instabilidade (Brasil, 2004). Após o teste, observou-se que a formulação não sofreu nenhum tipo de alteração, ou seja, não houve separação de fases ou alterações que evidenciassem instabilidade na formulação (Figura 5).

Figura 5: Teste de Centrifugação

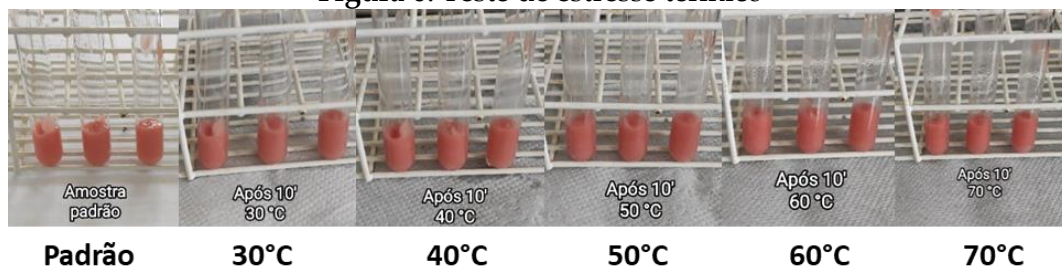


Fonte: arquivo das autoras, 2023.

No ciclo gelo-degelo, foi avaliada a estabilidade do produto em condições distintas de temperatura no período de 12 dias, antecipando os possíveis processos de separação que possam ocorrer durante as condições normais de armazenamento (Brasil, 2004).

Após a realização do teste de estresse térmico, usado para avaliar a estabilidade da formulação em altas temperaturas, foi observado que não houve nenhuma alteração na amostra com relação ao aspecto, cor ou odor. As amostras, após o teste, foram comparadas com o padrão armazenado em temperatura ambiente como mostrado na Figura 6.

Figura 6: Teste de estresse térmico



Fonte: arquivo das autoras, 2023.

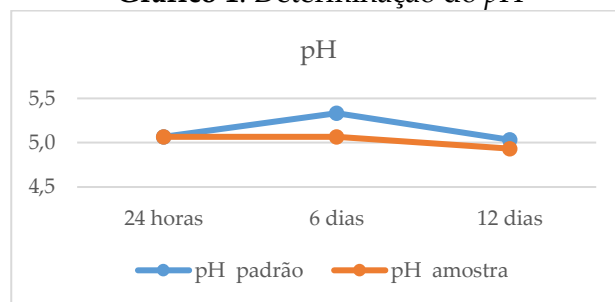
Ao avaliar as características organolépticas da formulação comparando as diferenças entre a amostra e o padrão, observou-se que as amostras mantiveram a cor e odor característicos do padrão, o aspecto continuou homogêneo, com boa espalhabilidade e brilhante durante todo o tempo de estudo da estabilidade da formulação.

Araujo *et al.* (2022) mostraram, em suas pesquisas, que o *pH* da pele se apresenta levemente ácido, variando de 4,6 a 5,8. Esse *pH* contribui para que se tenha uma proteção bactericida e fungicida de sua superfície; além disso, tem-se uma importante capacidade tamponante pelas secreções cutâneas. O *pH* das formulações interfere nas características físico-químicas do produto, em sua estabilidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade; a variação do *pH* pode mostrar uma instabilidade da formulação (Pastafiglia, 2011).

Pode-se observar, no Gráfico 1, que os valores de *pH* da formulação padrão e das amostras mantiveram-se uniformes dentro da faixa indicada para a formulação, entre 5,0 e 5,5. Essa faixa de *pH* foi escolhida com base na estabilidade das matérias-primas utilizadas e do *pH* da pele.

Ao se realizar a análise estatística pelo método Anova – fator único, cujos resultados encontram-se na Tabela 4 –, observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores de *pH* durante os dias em que foram feitas as análises, pois o valor de *F* (1,359551) foi menor que o valor de *F* crítico (7,708647).

Gráfico 1: Determinação do *pH*



Fonte: dados da pesquisa, 2023.

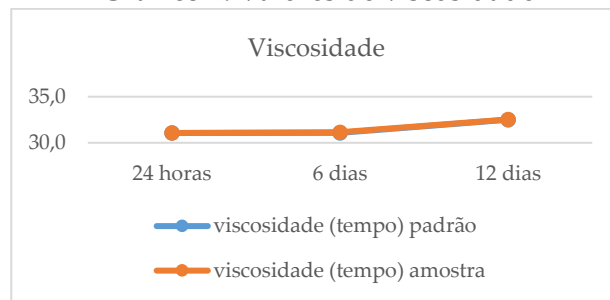
Tabela 4: Análise estatística do pH

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,022407	1	0,022407	1,359551	0,308398	7,708647
Dentro dos grupos	0,065926	4	0,016481			
Total	0,088333	5				

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

A viscosidade é um parâmetro importante para determinar se o produto oferece a consistência e a fluidez adequadas de um produto com fácil aplicação, mostrando o comportamento do produto ao longo do tempo com relação a sua estabilidade (Brasil, 2004). No Gráfico 2, têm-se os valores de viscosidade obtidos. Pode-se observar um comportamento semelhante entre as amostras do ciclo gelo-degelo e as amostras padrão, sugerindo que as condições impostas no ciclo gelo-degelo não geraram alterações em relação a esse parâmetro.

Gráfico 2: Valores de viscosidade



Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Realizou-se a análise estatística pelo método Anova - fator único, e os resultados (Tabela 5) mostraram que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores de viscosidade durante os dias de análise das amostras e do padrão, pois o valor de F (0,001826) foi menor que o valor de F crítico (7,708647), portanto pode-se considerar que as amostras estão aprovadas em relação a esse critério.

Tabela 5: Análise estatística da viscosidade

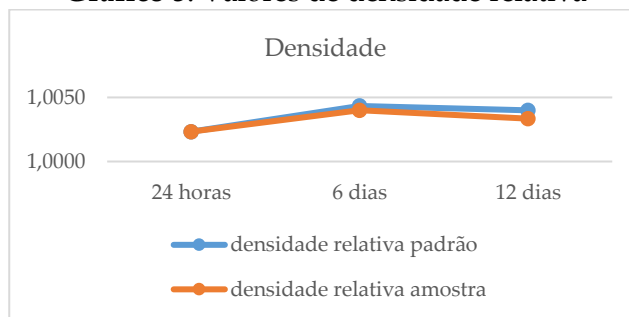
ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,000555	1	0,000555	0,001826	0,96796	7,708647
Dentro dos grupos	1,215395	4	0,303849			
Total	1,21595	5				

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Para a avaliação das características de uma formulação cosmética, a viscosidade é de grande importância. A partir dela pode-se determinar a espalhabilidade da formulação na pele e a aceitabilidade do produto pelo consumidor; é um método que determina se um produto oferece a consistência ou a fluidez adequada, mostrando seu comportamento ao longo do tempo com relação a sua estabilidade (Silva *et al.*, 2019).

A densidade é uma propriedade física de grande importância; é empregada na identificação e no controle de qualidade de um determinado produto (Brasil, 2004). Os valores da densidade da formulação padrão e da amostra estão descritos no Gráfico 3. Pode-se observar um comportamento semelhante entre as amostras do ciclo gelo-degelo e as amostras padrão, sugerindo que as condições impostas no ciclo gelo-degelo não geraram alterações em relação a esse parâmetro.

Gráfico 3: Valores de densidade relativa



Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Ao realizar análise estatística pelo método Anova - fator único cujos resultados descritos na Tabela 6, observou-se que não há diferenças estatisticamente significantes entre os valores de densidade relativa durante os dias de análise das amostras e do padrão, pois o valor de F (0,18) foi menor que o valor de F crítico (7,708647), portanto pode-se considerar que as amostras estão aprovadas em relação a esse critério.

Tabela 6: Análise estatística da densidade relativa

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,67E-07	1	1,67E-07	0,18	0,693197	7,708647
Dentro dos grupos	3,7E-06	4	9,26E-07			
Total	3,87E-06	5				

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

A densidade é uma propriedade física importante para a distinção de um material puro de um impuro, pois a densidade caracteriza a composição dos produtos, indica se o produto está dentro das especificações; também é utilizada no controle de qualidade de um determinado produto industrial e suas concentrações (César; Paoli; Andrade, 2004).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das análises fitoquímicas qualitativas do extrato de *Punica granatum* L., pode-se observar a presença dos metabólitos especiais: taninos hidrolisáveis, flavonoides e terpenos, os quais influenciam nas atividades antioxidantes, anti-

inflamatórias, antimicrobianas e antissépticas do extrato, o que contribui para sua utilização terapêutica.

No estudo de estabilidade preliminar, a formulação desenvolvida manteve-se estável, não ocorreram alterações estatisticamente significativas nos parâmetros analisados macroscópicos (aspecto, cor, odor e tato), assim como nos parâmetros físico-químicos realizados (pH, densidade relativa e viscosidade), sendo positivo para a qualidade do produto.

Para avaliar melhor a estabilidade e estimular a validade do produto, sugere-se a realização dos estudos futuros de estabilidade acelerada e de longa duração.

REFERÊNCIAS

AMANTER. **Ficha técnica extrato glicólico de pitanga**. [S. l.]: AMANTER, 2019.

ARAUJO, B. *et al.* pH de cosméticos e sua analogia com o pH biológico: uma abordagem investigativa no ensino de Química. **Pesquisa em Foco**, Maranhão, v. 27, n. 2, p. 44-66, 2022.

BIOVITAL. **Ficha técnica óleo de abacate**. [S. l.]: BIOVITAL, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília: ANVISA. p. 52, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 1, de 29 de julho de 2005**. Guia para Realização de Estudos de Estabilidade. Brasília. ANVISA, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos**. 2. ed. Brasília: ANVISA, 2008. 121 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia brasileira**. 6. ed. Volume 1. Brasília: ANVISA, 2019.

CÉSAR, J.; PAOLI, M. A. de; ANDRADE, J. C. Determinação de densidade de sólidos e líquidos. **Chemkeys**, n. 7, p. 01-08, 2004.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5. ed. Volume 2. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

FERREIRA, J. B. *et al.* Avaliação da atividade antimutagênica/mutagênica da romã (*Punica granatum* L.) através do teste do micronúcleo *in vivo*. **Scientific Electronic Archives**, Mato Grosso, v. 10, n. 3, p. 76-82, 2017.

FLORIEN. **Ficha técnica extrato glicólico romã**. [S. l.]: FLORIEN, 2016.

FORTUNATO, T. R.; MENDES, I. A. **Fitocosméticos para o tratamento da acne: uma pesquisa de mercado**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização de Tecnologia em Cosmetologia e Estética), Universidade do Sul de Santa Catarina, Brasília, 2021.

GUIMARÃES, G. R. *et al.* Marcas do envelhecimento em macrófagos: consequências para a inflamação da pele. **Jornal Células**, Suíça, v. 10, n. 6, p. 1323, 2021.

INFINITY PHARMA. **Ficha técnica glicerina**. [S. l.]: INFINITY PHARMA, 2014.

LABSYNTH. **Ficha Técnica EDTA sal dissódico**. [S. l.]: LABSYNTH, 2012.

LIGUORI, I. *et al.* Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions Aging**, Nápoles, v. 26, n. 13, p. 757-772, 2018.

MELO, F. J. S. *et al.* Propriedades farmacológicas da droga vegetal *Punica granatum* L. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, São Paulo, v. 7, n. 6, p. 202-210, 2021.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, Coréia, v. 5, n. 35, p. 27986-28006, 2015.

NUTRIFARM. **Ficha técnica extrato glicólico chá verde**. [S. l.]: NUTRIFARM, 2021.

OLIVEIRA, F. C.; PELEGRINI, D. D. Controle de qualidade do sistema de produção de água purificada obtida por osmose reversa em indústria farmacêutica. **SaBios - Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 6, n. 1, p. 36-42, 2011.

OLIVEIRA, M. F. **Metodologia científica: um manual para a realização de pesquisas em administração**. 2011. Manual (pós-graduação) - UFG, Curso de Administração, Catalão, GO. 2011.

PASTAFIGLIA, N. B. **Desenvolvimento de um sabonete líquido íntimo**. 2011. 18 f. Monografia (Graduação em Farmácia), Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2011.

PEREIRA, J. P. R. **Análise quantitativa de flavonoides no extrato da espécie *Punica granatum* L. (romã)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química), Instituto Federal de Goiás, Anápolis, 2022.

PHARMA SPECIAL. **Informativo técnico Aristoflex AVL**. [S. l.]: PHARMA SPECIAL, 2020.

PURIFARMA. **Ficha técnica vitamina E**. [S. l.]: PURIFARMA, 2020.

ROCHA, F. S. *et al.* Uso de fitoterápicos como alternativa para a sintomatologia recorrente na gravidez. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 3, p. e11610313065, 2021.

SILVA JÚNIOR, E. L., GONZALEZ, L. F. C. Uso da fitoterapia no combate ao envelhecimento cutâneo. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, Fortaleza, v. 2, n. 3, p. 14, 2021.

SILVA T. F. *et al.* Desenvolvimento e estudo de estabilidade físico-química de formulações cosméticas antienvelhecimento. **Revista Contexto & Saúde**, [S. l.], v. 19, n. 36, p. 107-113, 2019.

SOLUTIONS N. **Nano hyaluronic solution**. [S. l.]: SOLUTIONS N, 2023.

SOUZA, G. S., FERREIRA, A. J.; TESCAROLLO, I. L. Desenvolvimento tecnológico e avaliação do impacto de emolientes em hidratante de ureia. *In*: SOUZA, G. S., FERREIRA, A. J.; TESCAROLLO, I. L. **Pesquisa, produção, difusão e conhecimentos nas ciências farmacêuticas**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2020. Cap. 1.

SOUZA, M. P. **Estudo de compostos naturais de acerola (*Malphigia emarginata* DC) para cosméticos**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2015.

VIEIRA, L. A. S. L.; SOUZA, R. B. A. Ação dos antioxidantes no combate aos radicais livres e na prevenção do envelhecimento cutâneo. **Revista de Psicologia**, Jaboatão dos Guararapes, v. 13, n. 48, p. 408-418, 2019.

YISIMAYILI, Z.; CHAO, Z. A review on phytochemicals, metabolic profiles and pharmacokinetics studies of the different parts (juice, seeds, peel, flowers, leaves and bark) of pomegranate (*Punica granatum* L.). **Food Chemistry**, China, v. 395, p. 133600, 2022.

YOSHIDA, S. Y. *et al.* Extrato glicólico das folhas de *Psidium guajava* (goiabeira). **Revista Pesquisa e Ação**, Braz Cubas, v. 1, n. 1, p. 110-120, 2015.