

**Desenvolvimento e estabilidade preliminar de um fitocosmético contendo extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) (L.) Kuntze (Theaceae)**

Development and preliminary stability of a phytocosmetic containing green tea extract  
(*Camellia sinensis*) (L.) Kuntze (Theaceae)

Bruna Kauffmann Figueiredo<sup>1</sup>, Paula Cressoni Martini<sup>1</sup> & Daniele Carvalho Michelin<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>Centro Universitário Herminio Ometto, UNIARARAS, Araras, SP, Brasil.

**\*Autor correspondente:** Daniele Carvalho Michelin, Centro Universitário Herminio Ometto, UNIARARAS. Av. Dr. Maximiliano Baruto, 500 - Jd. Universitário, Araras - SP - CEP: 13607-339. Telefone: (19) 3543-1402. E-mail: danielemichelin@uniararas.br

**RESUMO**

O uso de ativos da biodiversidade brasileira, aliado à preocupação estética visando uma aparência jovem, tem motivado a pesquisa e o desenvolvimento de novas formulações cosméticas que apresentem segurança, eficácia e estabilidade confiável. O chá verde é obtido das folhas da *Camellia sinensis*, sendo consumido no mundo principalmente pelo seu benefício como antioxidante, uma vez que é rico em polifenóis. O estudo teve por objetivo desenvolver um fitocosmético contendo extrato de chá verde e avaliar a sua estabilidade preliminar. Para as análises, o fitocosmético foi submetido a seis condições de temperatura, durante 15 dias. Foram realizadas as metodologias para o controle de qualidade físico-químico, onde os parâmetros avaliados foram aspectos organolépticos, pH, densidade, e atividade antioxidante pelo método DPPH, além do controle microbiológico, no qual realizou-se a contagem do número total de micro-organismos e pesquisa de micro-organismos patogênicos. Foi possível observar que o fitocosmético ficou estável quanto ao pH, à densidade e as características macroscópicas, e originou resultados dentro dos limites permitidos para os testes microbiológicos, não apresentando risco de contaminação com a sua utilização, fornecendo assim, informações para orientar e auxiliar os estudos quanto ao desenvolvimento e ação antienvhecimento desse fitocosmético.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cosméticos, Estabilidade de cosméticos, Antioxidantes.

**ABSTRACT**

The use of active principles from the Brazilian flora, combined with an aesthetic concern in order to look young, has motivated research and development of new cosmetic formulations that have safe, effective and reliable stability. Green tea is made from the leaves of *Camellia sinensis*, being consumed in the world mainly for their benefit as an antioxidant, since it is rich in polyphenols. The study aimed to develop a phytocosmetic containing green tea extract and assess their preliminary stability. To carry out the analysis, the phytocosmetic was subjected to six temperature conditions for 15 days. Methodologies were performed to control the physico-chemical parameters in which were evaluated organoleptic aspects, pH, density, and antioxidant activity by DPPH method, in addition to microbiological control, where there was the presence or absence of pathogenic microorganisms. It was observed that the phytocosmetic remained stable in terms of pH, density and macroscopic features, and led to results within allowable limits for microbiological testing, presenting no risk of contamination with its use, thus providing, information to guide and assist the studies on development and action of this anti-aging phytocosmetic.

**KEYWORDS:** Cosmetics, Cosmetic Stability, Antioxidants.

## INTRODUÇÃO

O uso de ativos da biodiversidade brasileira, aliado à preocupação estética visando uma aparência jovem, tem motivado a pesquisa e o desenvolvimento de novas formulações cosméticas que apresentem segurança, eficácia e estabilidade confiável.

O chá verde é obtido das folhas da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae), planta nativa da China e da Índia. Esta planta dá origem a quatro variedades de chás: branco, verde, oolong e preto, sendo popularmente consumidos no mundo devido ao seu sabor característico e seus benefícios a saúde, principalmente como antioxidante, uma vez que é rico em componentes como os flavonóides, sendo assim uma espécie interessante para o desenvolvimento de um fitocosmético (Dal’Belo, 2008).

Fitocosmético pode ser definido como o cosmético que contém ativo natural, de origem vegetal, seja um extrato, óleo ou óleo essencial, cuja ação define a atividade do produto (Cefali, 2009; Isaac et al., 2008), devendo, portanto, passar por todas as etapas de pesquisa: proposição, criação e desenvolvimento, incluindo os testes de estabilidade que indicam o comportamento do produto, em diferentes condições ambientais e em determinado intervalo de tempo para assegurar a atividade durante toda sua vida útil (Brasil, 2004; Isaac et al., 2008).

Os antioxidantes são substâncias que podem diminuir ou bloquear as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres, agindo no bloqueio da propagação dos radicais na cadeia, desfazendo a peroxidação lipídica de ácidos graxos, podendo diminuir ou evitar o envelhecimento da pele (Primavera & Berardesca, 2005; Scotti & Velasco, 2003). A atividade antioxidante é evidenciada em pequenas concentrações, quando comparados com um substrato oxidável, prevenindo significativamente a ação do mesmo (Cai et al., 2004; Michelin, 2008).

Os componentes fenólicos agem seqüestrando radicais livres e muitos já possuem atividade antioxidante comprovada (Cai et al., 2004), e para promover um efeito satisfatório na ação antienvhecimento, a formulação deve ser estável e promover a efetiva liberação do ativo na pele, para apresentar atividade antioxidante (Isaac et al., 1998).

Uma série de fatores interfere no processo de extração tais como características do material vegetal, o seu grau de divisão, o líquido extrator (solvente) e o método (Simões et

al., 2003). Maceração designa a operação na qual a extração de matéria-prima vegetal é realizada em recipiente fechado, com temperatura ambiente, durante um período prolongado (horas ou dias), sob agitação ocasional sem renovação do líquido extrator (Prista et al., 1996).

A estabilidade da formulação pode ser afetada por alterações extrínsecas (tempo, temperatura, luz e oxigênio, umidade, material de acondicionamento, microrganismos e vibração) e intrínsecas, relacionadas à natureza das formulações (pH, reações de óxido-redução, reações de hidrólise, interação entre ingredientes da formulação e interação entre ingredientes da formulação e o material de acondicionamento) (Brasil, 2004; Isaac et al., 2008).

As condições de armazenagem mais comuns para os testes de estabilidade são: temperaturas (elevada, do ambiente e baixa), exposição à luz e ciclos de congelamento e de descongelamento (Brasil, 2004).

Os parâmetros a serem avaliados são definidos pelo pesquisador e dependem não só das características do produto, como também dos componentes da formulação e, principalmente, da forma cosmética. Podem ser classificados em organolépticos, físico-químicos e microbiológicos. Um cuidado a ser tomado é que os ensaios realizados devem, de fato, representar o conjunto de parâmetros que avaliem a estabilidade do produto (Brasil, 2004; Isaac et al., 2008).

A força da gravidade atua sobre os produtos fazendo com que as partículas se movam no seu interior. A centrifugação promove estresse na amostra, simulando aumento na força da gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis sinais de instabilidade, como precipitação, separação de fases, formação de sedimento compacto, coalescência, entre outras. (Brasil, 2007).

Cada vez mais há necessidade em manter a qualidade dos produtos, principalmente quando falamos em saúde, em indivíduos, em vida (Hernandez, 1996).

Os micro-organismos estão distribuídos na natureza. Eles crescem na presença de umidade e nutrientes, e são dispersos através do ar e vetores, como os seres humanos, animais e insetos (Eguchi, 2001).

Fármacos e cosméticos necessitam de um controle rígido em seu preparo e manipulação, por serem altamente susceptíveis à contaminação microbiana. Produtos contaminados sofrem alterações, tornando-se ineficazes pela perda de suas propriedades e, comprometem a segurança do usuário final (Eguchi, 2001, Pinto et al., 2010).

A avaliação da qualidade microbiológica de cosméticos consiste na determinação da carga microbiana viável e na comprovação da ausência de micro-organismos patogênicos, considerados de risco para o usuário (Ohara, 2001; Farmacopéia Brasileira V, 2010).

Proteger os produtos da contaminação por bactérias, fungos e leveduras desde a fase do seu desenvolvimento até o uso pelo consumidor, chegando ao final do prazo de validade, é uma tarefa que requer bastante empenho (Siqueira, 2004).

O estudo teve por objetivo desenvolver um fitocosmético contendo extrato de chá verde, avaliar a sua estabilidade preliminar e sua atividade antioxidante, além de realizar o controle de qualidade microbiológico da formulação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O chá verde utilizado neste estudo foi adquirido comercialmente e é constituído de folhas e talos de *Camellia sinensis* produzidas no Brasil pela empresa Mãe Terra Produtos Naturais Ltda., lote 146/0101. O material veio acompanhado de laudo de análise do fornecedor.

A formulação do fitocosmético empregada nos ensaios de estabilidade foi manipulada em um único lote, usando as mesmas matérias-primas, para não haver possibilidade de interferência na estabilidade do sistema.

### **Preparação do extrato**

O extrato foi obtido a partir da maceração das folhas e talos do chá verde, com solução hidroalcoólica 70%, na proporção de 1:10 (droga vegetal/solvente), durante 7 dias, em recipiente fechado, sob agitação ocasional, sendo em seguida, submetida a rotaevaporação para a eliminação do etanol.

## Preparo da formulação

Preparou-se uma emulsão O/A pela técnica de inversão de fases, com os componentes descritos na Tabela 1. Após, incorporou-se 5% do extrato de chá verde com a formulação, apresentando uma coloração amarelada.

Tabela 1. Composição percentual da formulação do fitocosmético contendo chá verde.

<b>Componentes (Nomenclatura INCI)</b>	<b>Função*</b>	<b>Concentração (%)</b>
Cetareth-20	Umulsionante não-iônico	2,0
Cetyl Alcohol	Espessante	5,0
Glyceryl stearate	Co-emulsionante	5,0
Glycerin	Umectante	2,0
Propylene Glycol	Umectante	2,0
Emulsifying Wax NF	Emulsionante/Agente de consistência	3,0
Methylparaben	Preservante	0,18
Propylparaben	Preservante	0,02
Aqua	q.s.p. Veículo	100
Cyclopentasiloxane	Agente de espalhabilidade	0,5
Extrato hidroalcoólico de chá verde	Ativo	5

\*Fonte: Formulário Médico Farmacêutico, 2011.

## Teste de centrifugação

Antes de iniciar os estudos de estabilidade, submeteu-se o fitocosmético ao teste de centrifugação, em que, pesou-se 5 g da amostra, que foi centrifugada em três ciclos de 3.000 rpm durante 30 minutos cada, a temperatura ambiente (Brasil, 2004). A não ocorrência de separação de fases não assegura sua estabilidade, somente indica que o produto pode ser submetido, sem necessidade de reformulação, aos testes de estabilidade (Isaac et al., 2008).

### Estabilidade preliminar

O teste consiste da avaliação na fase inicial do desenvolvimento do produto, empregando condições extremas de temperatura para verificar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de instabilidades (Brasil, 2004).

A formulação proposta passou por testes de estabilidade preconizados pelo Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA, que fornece indicações sobre o comportamento do produto, em determinado intervalo de tempo, frente a condições ambientais a que possam ser submetidas.

A formulação foi submetida a 6 condições de temperatura, sendo as condições: temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), luz indireta, geladeira ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ), freezer ( $-5 \pm 2^\circ\text{C}$ ), estufa ( $45 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e ciclo de congelamento e descongelamento, durante 15 dias consecutivos.

Os parâmetros avaliados foram aspectos organolépticos: aspecto, cor e odor, e características físico-químicas: pH e densidade.

### Avaliação macroscópica

Fornece parâmetros para avaliar o estado em que se encontra a amostra. Para a avaliação macroscópica foi observado os parâmetros organolépticos: cor, odor e aspecto. Assim como, alterações: separação de fases, precipitação e turvação (Brasil, 2004).

### Determinação do valor de pH

O pH do fitocosmético foi determinado através de uma dispersão aquosa a 10% (1:10) da amostra em água destilada, a temperatura ambiente, utilizando-se peagâmetro digital (Brasil, 2004), e os valores mantidos entre 5,5 e 6,5, compatíveis com o pH cutâneo, foram usados como critério de estabilidade (Isaac et al., 2008).

### Densidade

A densidade é utilizada para avaliar a pureza de certas substâncias e a identidade da amostra. Foi determinada utilizando-se um picnômetro limpo e seco, com capacidade de 5 mL, previamente calibrado, a uma temperatura de  $20^\circ\text{C}$ . A calibração consistiu na

determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água. Calculou-se a densidade relativa determinando a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água. Utilizou-se a densidade relativa para calcular a densidade de massa ( $\rho$ ) do fitocosmético, expressa em g/mL (Farmacopéia Brasileira V, 2010).

#### Atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada com 2,2 difenil-2-picril-hidrazil (DPPH), sendo ele um radical livre estável com falta de um elétron em sua estrutura, usado para testar o potencial de doação de elétrons de outros compostos, como os compostos fenólicos. Uma substância ao doar um elétron para o DPPH faz com que este mude sua cor, permitindo o monitoramento da reação pelo espectrofotômetro (Gao et al., 1999).

As amostras de cada condição a que a formulação foi submetida foram diluídas em metanol a uma concentração de 4 g/L. Adicionou-se 1 mL dessas amostras à 2 mL da solução de DPPH (4 mg de DPPH em 100 mL de metanol). Após este procedimento, as amostras foram incubadas à temperatura ambiente, protegidas da luz por 30 minutos, e depois foi feita a leitura a 517 nm, calibrando-se o espectrofotômetro com metanol nessa faixa de absorvância. A leitura do branco foi feita com 2 mL de solução de DPPH adicionada em 1 mL de metanol.

Os cálculos foram feitos pela fórmula:  $\% = (A_o - A / A_o) \times 100$ , em que % é a porcentagem de inibição do radical DPPH,  $A_o$  é a absorvância do DPPH em metanol e  $A$  é a absorvância da amostra após 30 minutos de reação.

Foi utilizado como padrão, o potencial antioxidante do extrato obtido pela maceração hidroalcoólica 70%. O extrato foi diluído em metanol, adicionado em diferentes concentrações (5, 10, 15, 20, 25 e 30  $\mu\text{g/mL}$ ), à solução de DPPH, e submetido ao mesmo procedimento.

#### Análise estatística

Após a determinação do valor de pH, densidade e atividade antioxidante, os dados foram submetidos ao programa Prism 3.0, através do teste ANOVA seguida pela comparação entre as médias com o teste de Tukey, adotando um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## Controle de qualidade microbiológico

As análises da qualidade microbiológica, das amostras de cada uma das condições submetidas, foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pela Farmacopéia Brasileira V (2010).

O método consistiu na contagem da população de micro-organismos que apresentam crescimento visível (bactérias aeróbias e fungos e leveduras), e na pesquisa de micro-organismos patogênicos, verificando a presença ou a ausência de micro-organismos específicos em meios seletivos (Farmacopéia Brasileira V, 2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo da estabilidade contribui para orientar o desenvolvimento da formulação e do material de acondicionamento; fornecer subsídios para aperfeiçoamento das formulações; estimar o prazo de validade e fornecer informações para sua confirmação; auxiliar no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica, produzindo informações sobre a confiabilidade e segurança dos produtos (Isaac et al., 2008).

A estabilidade preliminar consiste na realização de testes na fase inicial do desenvolvimento do produto, em um curto intervalo de tempo, empregando condições extremas de temperatura com o objetivo de acelerar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de sinais que devem ser observados e analisados conforme as características específicas de cada tipo de produto, não tendo a finalidade de estimar a vida útil do produto, somente de orientar e auxiliar na triagem das formulações (Brasil, 2004).

## Centrifugação

A centrifugação produz estresse na amostra, antecipando possíveis instabilidades e mostrando a necessidade de alteração na sua composição (Brasil, 2007). O fitocosmético, após ser submetido à centrifugação por três ciclos de 3000 rpm, durante 30 minutos cada, a temperatura ambiente, não apresentou instabilidade, caracterizada pela separação das fases, não sendo necessária a alteração da sua formulação para a continuação do estudo.

## Avaliação macroscópica

A avaliação macroscópica fornece parâmetros que permitem avaliar, de imediato o estado da amostra, com o objetivo de verificar alterações como separação de fases, precipitação e turvação, possibilitando o reconhecimento primário do produto (Brasil, 2007).

O aspecto e o odor não foram alterados durante o teste de estabilidade preliminar do fitocosmético desenvolvido. Quanto à coloração, sofreu escurecimento apenas quando submetido à luz indireta, devido à oxidação de seus componentes, uma vez que a exposição do produto à radiação luminosa pode alterar a cor, levando à degradação de componentes da formulação (Brasil, 2004; Isaac et al., 2008). É importante que o aspecto de um fitocosmético se mantenha estável, sem alterações, uma vez que poder causar modificações na eficácia e segurança do produto, além de influenciar a compra do consumidor.

## Determinação do valor de pH

A importância da medida de pH de formas farmacêuticas se relaciona à eficácia e segurança do produto, em atributos como a estabilidade dos ingredientes da formulação, biodisponibilidade e biocompatibilidade (Brasil, 2004; Gil, 2010).

Os valores de pH obtidos em dispersão aquosa por potenciometria direta das condições submetidas do fitocosmético estão apresentados na Figura 1.

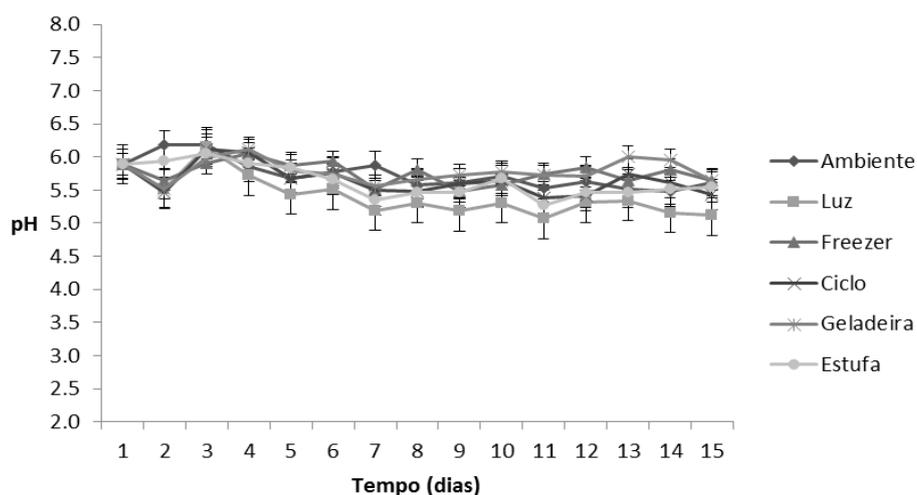


Figura 1. Médias dos valores de pH nas condições em que o fitocosmético foi submetido durante 15 dias.

Os valores das médias  $\pm$  desvios padrão e os valores da variância (VAR) estão apresentados na Tabela 2. A Farmacopéia Brasileira V (2010) recomenda uma variação máxima de apenas 5%.

Conforme os valores de pH apresentados na Tabela 2, pode ser verificado que a amostra do fitocosmético exposta à radiação luminosa apresentou, durante os 15 dias de análise, valores de pH abaixo dos valores de pH cutâneo (5,5- 6,5), podendo ser observada uma diferença significativa ( $p=0,008$ ) nesses valores de pH com relação às demais condições, indicando que ocorreu oxidação dos componentes da formulação, uma vez que, valores baixos de pH podem estar relacionados à degradação de qualquer componente do fitocosmético (Cefali, 2009). Com exceção da amostra exposta à luz indireta, os valores apresentaram uma variação inferior a 5%, mantendo-se estável quanto a esse parâmetro (Figura 1).

Tabela 2. Valores de pH do fitocosmético durante a estabilidade preliminar

<b>Dia</b>	<b>Ambiente*</b>	<b>Luz indireta*</b>	<b>Freezer*</b>	<b>Ciclo*</b>	<b>Geladeira*</b>	<b>Estufa*</b>
<b>1</b>	5,89 $\pm$ 0,22	5,89 $\pm$ 0,30	5,89 $\pm$ 0,16	5,89 $\pm$ 0,23	5,89 $\pm$ 0,17	5,89 $\pm$ 0,24
<b>2</b>	6,18 $\pm$ 0,22	5,52 $\pm$ 0,30	5,65 $\pm$ 0,16	5,46 $\pm$ 0,23	5,52 $\pm$ 0,17	5,93 $\pm$ 0,24
<b>3</b>	6,19 $\pm$ 0,22	6,15 $\pm$ 0,30	5,90 $\pm$ 0,16	6,12 $\pm$ 0,23	5,98 $\pm$ 0,17	6,06 $\pm$ 0,24
<b>4</b>	5,85 $\pm$ 0,22	5,72 $\pm$ 0,30	6,05 $\pm$ 0,16	6,07 $\pm$ 0,23	6,11 $\pm$ 0,17	5,90 $\pm$ 0,24
<b>5</b>	5,68 $\pm$ 0,22	5,44 $\pm$ 0,30	5,87 $\pm$ 0,16	5,67 $\pm$ 0,23	5,79 $\pm$ 0,17	5,84 $\pm$ 0,24
<b>6</b>	5,78 $\pm$ 0,22	5,51 $\pm$ 0,30	5,93 $\pm$ 0,16	5,76 $\pm$ 0,23	5,75 $\pm$ 0,17	5,66 $\pm$ 0,24
<b>7</b>	5,87 $\pm$ 0,22	5,19 $\pm$ 0,30	5,51 $\pm$ 0,16	5,49 $\pm$ 0,23	5,57 $\pm$ 0,17	5,35 $\pm$ 0,24
<b>8</b>	5,58 $\pm$ 0,22	5,30 $\pm$ 0,30	5,81 $\pm$ 0,16	5,48 $\pm$ 0,23	5,66 $\pm$ 0,17	5,47 $\pm$ 0,24
<b>9</b>	5,61 $\pm$ 0,22	5,18 $\pm$ 0,30	5,48 $\pm$ 0,16	5,60 $\pm$ 0,23	5,73 $\pm$ 0,17	5,47 $\pm$ 0,24
<b>10</b>	5,71 $\pm$ 0,22	5,30 $\pm$ 0,30	5,58 $\pm$ 0,16	5,65 $\pm$ 0,23	5,78 $\pm$ 0,17	5,68 $\pm$ 0,24
<b>11</b>	5,53 $\pm$ 0,22	5,07 $\pm$ 0,30	5,74 $\pm$ 0,16	5,39 $\pm$ 0,23	5,72 $\pm$ 0,17	5,27 $\pm$ 0,24
<b>12</b>	5,63 $\pm$ 0,22	5,31 $\pm$ 0,30	5,84 $\pm$ 0,16	5,41 $\pm$ 0,23	5,71 $\pm$ 0,17	5,47 $\pm$ 0,24
<b>13</b>	5,52 $\pm$ 0,22	5,34 $\pm$ 0,30	5,65 $\pm$ 0,16	5,74 $\pm$ 0,23	6,00 $\pm$ 0,17	5,46 $\pm$ 0,24
<b>14</b>	5,48 $\pm$ 0,22	5,16 $\pm$ 0,30	5,81 $\pm$ 0,16	5,61 $\pm$ 0,23	5,96 $\pm$ 0,17	5,52 $\pm$ 0,24
<b>15</b>	5,61 $\pm$ 0,22	5,12 $\pm$ 0,30	5,65 $\pm$ 0,16	5,43 $\pm$ 0,23	5,65 $\pm$ 0,17	5,54 $\pm$ 0,24
<b>VAR</b>	0,0385	0,0563	0,0286	0,0407	0,0290	0,0423

\* Média de três leituras.

## Densidade

A manutenção da densidade também é um parâmetro importante que precisa ser avaliado na determinação da estabilidade de uma formulação. As densidades de todas as condições submetidas do fitocosmético desenvolvido podem ser avaliadas na Figura 2.

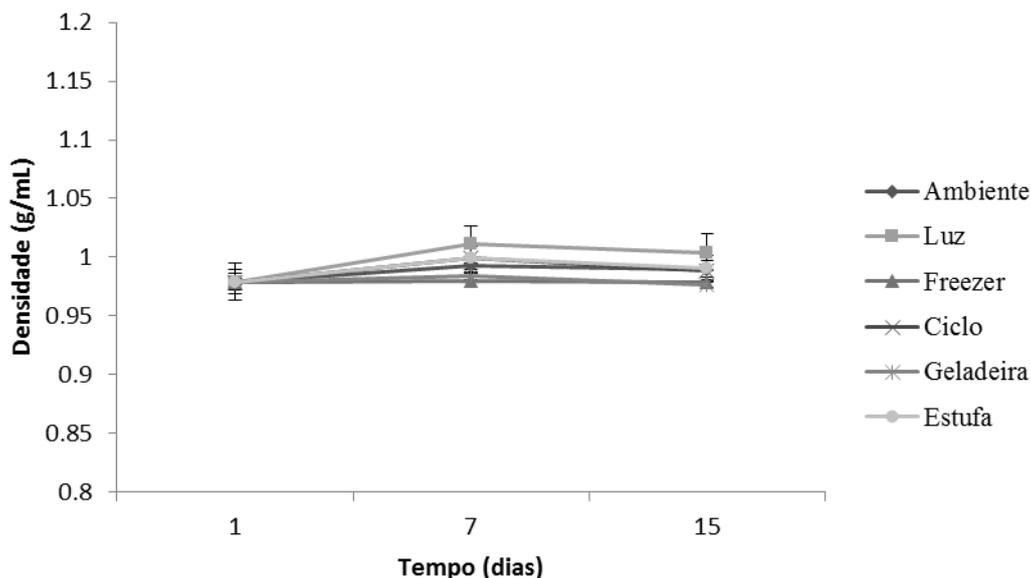


Figura 2. Médias dos valores de densidade nas condições em que o fitocosmético foi submetido durante 15 dias.

Os valores das médias  $\pm$  desvios padrão e os valores da variância (VAR) estão apresentados na Tabela 3. A Farmacopéia Brasileira V (2010) recomenda uma variação máxima de apenas 5%.

Tabela 3. Valores de densidade (g/mL) do fitocosmético durante a estabilidade preliminar

Condições	1º dia	7º dia	15º dia	VAR
<b>Ambiente*</b>	0,979 $\pm$ 0,007	0,993 $\pm$ 0,007	0,990 $\pm$ 0,007	7,40x10 <sup>-3</sup>
<b>Luz indireta*</b>	0,979 $\pm$ 0,016	1,011 $\pm$ 0,016	1,004 $\pm$ 0,016	0,0168
<b>Freezer*</b>	0,979 $\pm$ 0,0005	0,980 $\pm$ 0,0005	0,979 $\pm$ 0,0005	5,10x10 <sup>-4</sup>
<b>Ciclo*</b>	0,979 $\pm$ 0,010	0,999 $\pm$ 0,010	0,988 $\pm$ 0,010	0,0101
<b>Geladeira*</b>	0,979 $\pm$ 0,003	0,984 $\pm$ 0,003	0,977 $\pm$ 0,003	3,67x10 <sup>-3</sup>
<b>Estufa*</b>	0,979 $\pm$ 0,010	0,999 $\pm$ 0,010	0,991 $\pm$ 0,010	0,0101

\* Média de três leituras.

Conforme os valores de densidade obtidos (Tabela 3), o fitocosmético, em todas as condições submetidas, apresentou variações inferiores a 5%, não havendo diferença significativa, e mantendo-se estável quanto a esse parâmetro.

A amostra submetida à luz indireta apresentou um valor médio de densidade maior que os valores das demais condições, provavelmente, devido a uma maior perda de água, fazendo com que a densidade aumentasse (Isaac et al, 2008). Entretanto, a alteração não foi suficiente para determinar se esta propriedade promoveu instabilidade do fitocosmético (Figura 2).

#### Atividade antioxidante

A atividade antioxidante é uma propriedade fundamental para a vida humana, uma vez que muitas das funções biológicas, incluindo antimutagenicidade, anticarcinogenicidade e antienvhecimento, entre outras, são dependentes dessa propriedade (Cai et al., 2004).

O potencial antioxidante do extrato obtido pela maceração hidroalcoólica 70%, nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 30  $\mu\text{g/mL}$ , pode ser analisado na Figura 3, através da porcentagem de inibição ao DPPH.

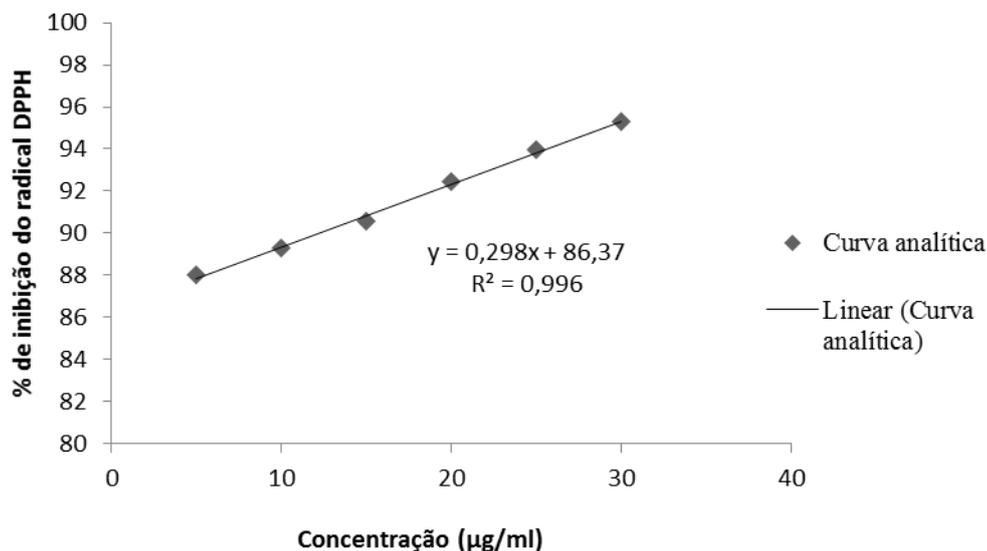


Figura 3. Porcentagem de inibição do radical DPPH do extrato obtido pelo processo de maceração com solução hidroalcoólica 70%.

Por ação de um antioxidante, o DPPH é reduzido formando o difenilpicrilhidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento de absorção, monitorado pelo decréscimo de absorbância (Michelin, 2008). Os resultados mostraram que o extrato obteve uma boa linearidade, apresentando um  $R^2$  de 0,996, e ação antioxidante perante o DPPH, inibindo 95,28% do radical, na maior concentração analisada (Figura 3).

Além de determinar a atividade antioxidante das substâncias ativas, é importante analisar também a sua atividade depois de incorporado em uma forma cosmética, como por exemplo, em emulsões utilizadas como antienvhecimento, muito comuns no mercado e em pesquisas na área cosmética (Cefali, 2009). O teste de determinação da atividade antioxidante foi então realizado no fitocosmético para verificar, quanto às condições a que foi submetido, possíveis alterações na ação do ativo.

A avaliação da atividade antioxidante do fitocosmético, durante os 15 dias, pode ser analisada na Figura 4, através da porcentagem de inibição ao DPPH provocada pelos polifenóis presentes no chá verde.

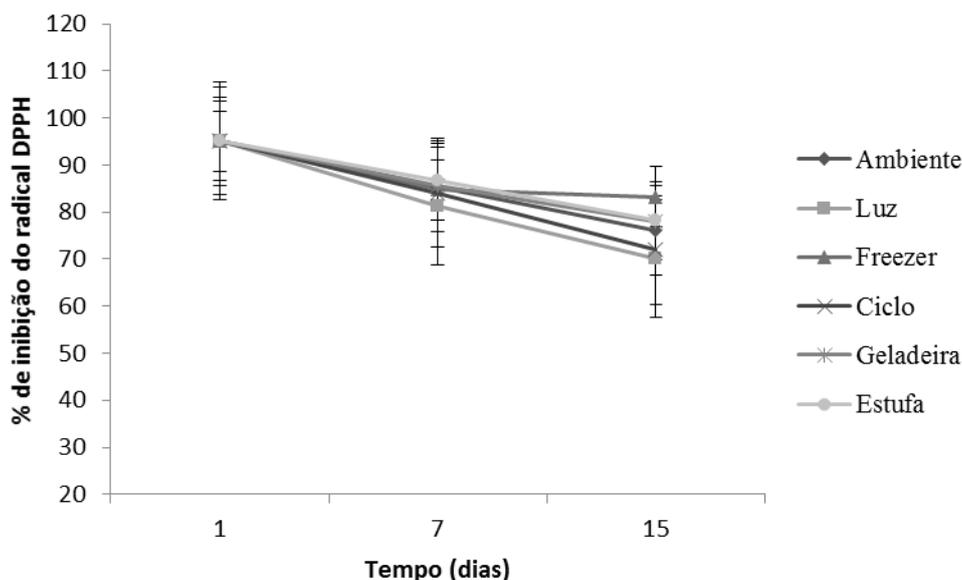


Figura 4. Porcentagem de inibição do radical DPPH nas condições em que o fitocosmético foi submetido durante 15 dias.

Os valores das médias das porcentagens de inibição  $\pm$  desvio padrão, estão apresentados na Tabela 4, assim como os valores da variância (VAR) dessas porcentagens.

Tabela 4. Valores de inibição (%) do radical DPPH durante a estabilidade preliminar.

Condições	1º dia	7º dia	15º dia	VAR
<b>Ambiente*</b>	95,10 ± 9,49	85,33 ± 9,49	76,11 ± 9,49	0,1110
<b>Luz indireta*</b>	95,10 ± 12,5	81,16 ± 12,5	70,06 ± 12,5	0,1527
<b>Freezer*</b>	95,10 ± 6,44	84,71 ± 6,44	83,31 ± 6,44	0,0734
<b>Ciclo*</b>	95,10 ± 11,6	84,12 ± 11,6	71,97 ± 11,6	0,1381
<b>Geladeira*</b>	95,10 ± 8,55	85,60 ± 8,55	78,03 ± 8,55	0,0992
<b>Estufa*</b>	95,10 ± 8,46	86,68 ± 8,46	78,18 ± 8,46	0,0976

\* Média de três leituras.

Conforme as porcentagens de inibição encontradas (Tabela 4), verificou-se que as amostras expostas à luz indireta e ao ciclo de congelamento e descongelamento apresentaram uma perda maior da ação antioxidante comparada com as outras condições, durante os 15 dias do estudo de estabilidade preliminar (Figura 4), devido à oxidação dos componentes presentes no extrato, uma vez que a exposição do produto à radiação luminosa pode levar a degradação de componentes da formulação, além da amplitude do intervalo da temperatura causada pelo ciclo, não havendo diferença significativa entre as condições.

Pode-se levar em consideração também, com relação às alterações ocorridas no fitocosmético, o material de acondicionamento de cada amostra, sugerindo assim, o uso de embalagens adequadas para a proteção da luz.

#### Controle de qualidade microbiológico

O controle microbiológico é importante para assegurar a estabilidade microbiológica dos produtos, determinando o número total de microrganismos presentes em preparações não estéreis, cosméticos e drogas vegetais, além de visar a identificação dos patogênicos, evitando potenciais riscos provocados por toxinas ou outras substâncias derivadas do metabolismo microbiano, além de manter os atributos do produto, como cor, odor, viscosidade (Pinto et al., 2010).

Os resultados obtidos para os testes microbiológicos realizados com cada condição submetida do fitocosmético, durante os 15 dias, assim como os limites permitidos, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Contagem microbiológica do fitocosmético durante a estabilidade preliminar

Condições	Contagem total de bactérias aeróbias	Contagem total de fungos/ leveduras	Pesquisa de patógenos
Ambiente	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	< 10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausente
Luz indireta	15 UFC/g	< 10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausente
Freezer	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	10 UFC/g	Ausente
Ciclo	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	< 10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausente
Geladeira	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	< 10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausente
Estufa	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	5 UFC/g	Ausente
Recomendação*	≤ 10 <sup>2</sup> UFC/g	≤ 10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1g

\*Fonte: Farmacopéia Brasileira V, 2010.

Estes resultados permitiram observar que não houve crescimento de micro-organismos considerados patogênicos nas condições analisadas, sendo que para as preparações de uso tópico, a Farmacopéia Brasileira V (2010), recomenda a ausência, principalmente, de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Porém, ocorreu crescimento de bactérias e fungos em 3 condições, mas dentro dos limites preconizados.

## CONCLUSÕES

Os dados do presente estudo permitem concluir que a análise da estabilidade preliminar, de um fitocosmético contendo extrato de chá verde, forneceu informações, quanto a características físico-químicas, organolépticas e microbiológicas, além da determinação da atividade antioxidante, para orientar e auxiliar outros estudos quanto ao desenvolvimento e ação antienvhecimento desse fitocosmético.

## AGRADECIMENTOS

Centro Universitário Herminio Ometto – UNIARARAS.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Batistuzzo JAO, Itaya M & Eto Y. Formulário médico farmacêutico. 4 ed. São Paulo: Pharmabook, 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Brasília, DF, 2007. 127 p.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, DF, 2004. 52 p.

Cai Y, Luo Q, Sun M & Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*. (74): 2157-2184, 2004.

Cefali LC. *Desenvolvimento e atividade do fitocosmético contendo licopeno para o combate à aceleração do envelhecimento cutâneo*. 2009. Araraquara. 138 p. Monografia (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Araraquara.

Dal’Belo SE. *Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extrato de chá verde e Ginkgo biloba*. 2008. Ribeirão Preto. 192 p. Monografia (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

Eguchi SY. Controle Microbiológico em Cosméticos. *Rev Racine*. 14-15, 2001.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira. 5.ed. pt.1. Brasília, DF, 2010.

Gao Z, Kaixun H, Yang X & Xu H. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Bioch. et Bioph. Acta*. 1472. 643-650, 1999.

Gil, ES. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. 3 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

Hernandez JN. Conservação e microbiologia de produtos manipulados. *Rev Anfarmag*. (10): 6-7, 1996.

Isaac, VLB. *Desenvolvimento, estabilidade e liberação in vitro de preparações lipolíticas*. 1998. São Paulo. Monografia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

Isaac VLB, Cefali LC, Chiari BG, Oliveira CCLG, Salgado HRN & Corrêa MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 29(1): 81-96, 2008.

Michelin DC. *Estudo químico-farmacológico de Operculina macrocarpa (L.) Urb. (Convolvulaceae)*. 2008. Araraquara. Monografia (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Araraquara.

Ohara MT. Avaliação Microbiológica por Semeadura em Profundidade. *Rev Cosmetics & Toiletries*. 13:68, 2001.

Pinto TJA, Kaneko TM & Pinto AF. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

Primavera G & Berardesca E. Clinical and instrumental evaluation of a food supplement in improving skin hydration. *Int. J. Cosm. Sci*. 27(4): 199-204, 2005.

Prista LN, Alves AC & Morgado R. Tecnologia farmacêutica. 4 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA & Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.

Scotti L & Velasco MVR. Envelhecimento cutâneo à luz da Cosmetologia: estudo do envelhecimento cutâneo e da eficácia das substâncias ativas empregadas na prevenção. São Paulo: Tecnopress, 2003.

Siqueira VL. Estratégia de Proteção Microbiológica de Cosméticos. *Rev Cosmetics & Toiletries*. 16: 100-104, 2004.