



FACULDADE DE PINDAMONHANGABA

**Bruna Caroline Andrade Silva
Mariana Seraphim de Castro**

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÃO
FOTOPROTETORA CONTENDO EXTRATO DE *VACCINIUM
ULIGOSUM***

Pindamonhangaba – SP

2013



Bruna Caroline Andrade Silva
Mariana Seraphim de Castro

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÃO
FOTOPROTETORA CONTENDO EXTRATO DE *VACCINIUM*
ULIGOSUM

Monografia apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Diploma de bacharel pelo curso de Farmácia da Faculdade de Pindamonhangaba.

Orientador: Prof. Heleneide Campos Brum

Co-orientador: Nadia Ruscinc

Pindamonhangaba – SP

2013



BRUNA CAROLINE ANDRADE SILVA

MARIANA SERAPHIM DE CASTRO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE FORMULAÇÃO FOTOPROTETORA
CONTENDO EXTRATO DE *VACCINIUM ULIGOSUM***

Monografia apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Diploma de bacharel pelo curso de Farmácia da Faculdade de Pindamonhangaba.

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof . _____ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura _____

Prof . _____ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura _____

Prof . _____ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura _____

Dedicamos esta monografia aos nossos pais que nos deram muito apoio nos momentos mais difíceis, aos nossos professores pela compreensão, apoio e contribuição para nossa formação acadêmica e a Deus por tudo que proporciona em nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

A Deus que iluminou o nosso caminho durante esta caminhada.

À Faculdade de Pindamonhangaba pela concessão da bolsa de estudo que permitiu que atingíssemos nosso objetivo.

À Prof. Heleneide Campos Brum, pela maneira com que orientou nosso trabalho.

À Prof. Nadia Ruscinc pela colaboração, atenção, paciência e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia.

À CCB Indústria e Comércio de Cosméticos por disponibilizar seu laboratório, materiais e equipamentos para a realização dos testes.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo a avaliação da estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo o extrato de *Vaccinium uligosum*. Com a exposição cada vez maior às radiações solares e o crescente risco do desenvolvimento de câncer de pele e fotoenvelhecimento existe uma grande preocupação do setor cosmético no desenvolvimento de formulações fotoprotetoras seguras e eficazes. Baseando nas propriedades fotoprotetoras e antioxidantes dos compostos fenólicos realizou-se um estudo exploratório onde desenvolveu-se formulações fotoprotetoras com extratos vegetais de mirtilo. Buscando eficácia e segurança realizou-se ensaios de qualidade que visam avaliar se determinadas características do produto estão em conformidade com as especificações estabelecidas. Observou-se que os parâmetros permaneceram estáveis em relação a amostra padrão nos testes preliminares e de estabilidade acelerada.

Palavras-chave: Fotoproteção. Antioxidante. Mirtilo. Bioativos.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 Radiação solar e fotoproteção.....	10
2.2 Filtros solares físicos e químicos.....	11
2.3 Estudo da estabilidade de produtos cosméticos.....	12
2.4 Atividade antioxidante de flavonoides.....	12
2.5 Mirtilo.....	14
3 MÉTODOS.....	15
3.1 Equipamentos e outros materiais.....	15
3.2 Desenvolvimento das formulações.....	15
3.2.1 Matéria-prima.....	16
3.2.2 Procedimento de Preparo.....	18
3.3 Testes.....	19
3.3.1 Teste de estabilidade preliminar.....	19
3.3.1.1 Definição de forma padrão e caracterização.....	19
3.3.1.2 Teste de centrifugação.....	20
3.3.2 Estresse térmico – ciclos alternados.....	20
3.3.2.1 Teste de estabilidade acelerada.....	21
3.3.3 Características organolépticas e físico-químicas.....	21
3.3.3.1 Aspecto.....	21
3.3.3.2 Odor.....	22
3.3.3.3 pH.....	22
3.3.3.4 Cor.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Teste de Estabilidade Preliminar.....	23
4.1.1 Teste de centrifugação.....	23
4.1.2 Estresse térmico.....	24
4.2 Teste de estabilidade acelerada.....	25
4 CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

A luz solar é comumente reconhecida pelos seus efeitos benéficos para a saúde e bem-estar. As ondas de energia eletromagnéticas, transmitidas através do espaço, variam em razão de seus respectivos comprimentos de onda; de suas amplitudes e sua frequência. Nossos sentidos corporais estão adaptados para perceber somente uma proporção muito pequena destes raios: a luz e o calor. A maioria das radiações somente pode ser detectada ou registrada por instrumentos mais delicados e sensíveis que nossos olhos e nossas terminações nervosas.¹

O espectro solar terrestre é composto por um espectro contínuo de radiação eletromagnética apresentando divisão e denominação em concordância com o intervalo de comprimento de onda, denominadas radiação ultravioleta (UV), visível e infravermelho (IV). A radiação UV é subdividida em UVC (100-280 nm), UVB (280-315 nm) e UVA (315-400 nm).^{1,2}

O homem dispõe de três sistemas de proteção contra radiação solar: a camada córnea, a secreção sudorípara e a melanina. A energia absorvida pela pele inicia mudanças moleculares e atômicas que podem resultar em alterações das funções bioquímicas e biológicas da mesma, com consequente predisposição a sérias patológicas.¹

A pele humana possui mecanismos para a prevenção de danos causados pela exposição às radiações solares. Entretanto, estes mecanismos tornam-se insuficientes, devido às mudanças de hábitos e crenças estéticas que acreditam que uma pele bronzeada seja sinal de saúde e beleza, sendo necessário buscar outras estratégias a fim de minimizar os danos causados pelos raios UV.

Protetores solares são preparações cosméticas que possuem formas de apresentação diversas. Podendo ser encontrados na forma de loções hidroalcoólicas, óleos, géis oleosos, emulsões óleo em água (O/A), emulsões água em óleo (A/O), bastões e aerossóis, entre outras. As loções hidroalcoólicas apresentam reduzida proteção e podem provocar o ressecamento da pele. Os óleos apresentam proteção superior às loções hidroalcoólicas, mas não atingem valor de fator de proteção solar (FPS) alto. Os géis oleosos apresentam proteção superior aos óleos fluidos; e as emulsões são as formas de apresentação com maior proteção.²

Os protetores solares têm a finalidade de proteger contra as radiações, sendo a melhor prevenção contra o fotoenvelhecimento e o câncer de pele. O fotoenvelhecimento consiste no exagero das alterações cutâneas resultantes da exposição ao sol.³

Para que a formulação contendo filtro solar seja segura e eficaz, deve possuir algumas condições fundamentais: ter ação na faixa de radiação UVA e UVB, aderir bem à epiderme

sem atingir as camadas mais profundas da pele; não manchar vestuários; não ser volátil; não ser absorvido pela pele; ser hipoalergênico; não ser fototóxico; ser resistente à água; possuir compatibilidade entre os componentes da formulação e material de acondicionamento devendo ser quimicamente estável.⁴

Define-se estabilidade como a amplitude na qual um produto mantém dentro de limites especificados, as mesmas propriedades e características que possuía após a fabricação, durante o seu período de armazenamento e uso. Sua avaliação faz-se necessária para garantir a qualidade da formulação, desde a fabricação até a expiração do prazo de validade.⁵

Variáveis relacionadas à formulação, ao processo de fabricação, ao material de acondicionamento e às condições ambientais e de transporte, bem como cada item da formulação seja ativo ou não podem influenciar na estabilidade do produto.⁶

O uso de matérias-primas de origem vegetal em cosméticos é uma das tendências promissoras do mercado consumidor que busca cada vez mais produtos que aproveitem os benefícios que a natureza proporciona.⁷

Em formulações fotoprotetoras, o uso de filtros isolados origina produtos com uma proteção limitada e eficácia reduzida. Portanto, a associação de filtros físicos e químicos é sugerida com a finalidade de obter amplo espectro e formulações mais eficazes. Isto permite o uso de uma menor concentração de cada filtro isolado por causa do efeito sinérgico, diminuindo assim a possibilidade de reações alérgicas.⁸

Atualmente, muitos trabalhos pesquisam a ação dos antioxidantes na fotoproteção. Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos.³² A maior contribuição para a atividade antioxidante total de frutos deve-se a composição de compostos fitoquímicos, onde há influência dos compostos fenólicos totais, principalmente os flavonóides.⁹

Extratos vegetais ricos em constituintes fenólicos, como flavonoides, vêm sendo aplicados em formulações fotoprotetoras associadas aos filtros UV. Uma vez que, comprovada sua capacidade de absorver a radiação solar e antioxidante tais componentes podem intensificar a proteção final do produto e/ou neutralizar os radicais livres produzidos na pele após exposição ao Sol.⁷ Os flavonoides não apresentam tendência à absorção cutânea, assim interpreta-se que a atividade seria exercida nas camadas superficiais da pele, ação desejada para os filtros solares.³⁵ Devido à similaridade estrutural dos flavonoides com os filtros solares químicos, ao potencial de prevenção do estresse foto-oxidativo na pele e à similaridade dos espectros de absorção na região da radiação UV, tais compostos bioativos apresentam potencial para exercerem atividade fotoprotetora.¹⁰

Entre os extratos vegetais antioxidantes e com possível ação fotoprotetora inclui-se o extrato de mirtilo (*Vaccinium uligosum*),⁷ tal extrato tem sido estudado quanto aos seus teores de compostos fenólicos e associações no que concerne à sua atividade antioxidante. Entre estes compostos fenólicos, as antocianinas (do grego *anthos* – flor – e *kianos* – azul) são metabólitos amplamente encontrados nas células vegetais, sendo necessário sua extração para uma adequada quantificação e utilização.^{11,12}

Esse trabalho teve por objetivo a avaliação da estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo o extrato de *Vaccinium uligosum*. Verificou-se a estabilidade dos ativos veiculados em formulação com FPS previamente determinado, sendo testados por centrifugação, pH e análise visual. O estudo da estabilidade fornece indicações sobre o comportamento do produto, em determinado intervalo de tempo, frente a condições ambientais a que possa ser submetido, desde a fabricação até o término da validade.¹³

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Radiação solar e fotoproteção

O espectro solar terrestre compreende três zonas fundamentais: a luz visível ou branca, a ultravioleta (UV) e a infravermelha (IV). Sendo a radiação ultravioleta a que mais interessa em fotoproteção. São extremamente energéticas e divididas em três partes: UV A (315 – 400 nm) – responsáveis pela pigmentação imediata de curta duração; UV B (280 – 315 nm) – responsáveis pelo bronzeamento indireto e tardio; UV C (100 – 280 nm) – são absorvidas pela atmosfera.¹

Os raios UVA são responsáveis pelo bronzeamento por serem mais penetrantes, atingem a derme profunda, tornando-se o principal fator responsável pelo fotoenvelhecimento, fotossensibilização e o aparecimento de rugas e flacidez. A radiação UVB, tem uma menor penetração através da pele, mas pode chegar até a derme e provocar alterações às fibras de elastina e colágeno. Os raios UVB são mais nocivos, provocam queimadura, câncer de pele e catarata; além de atingirem a epiderme, provocando a sensação de ardência, vermelhidão e queimaduras.¹⁴

Apesar de a radiação UVB ser a principal responsável pelo desenvolvimento de câncer de pele, a UVA age sinergicamente com a UVB, aumentando o risco de neoplasias cutâneas, além de causar fotoenvelhecimento. Já existem no mercado formulações fotoprotetoras diversas, porém muitas não protegem adequadamente contra radiação UVA. Perante a isso, evidencia-se a necessidade de proteger a pele de toda faixa UVA/UVB para diminuir o risco de câncer de pele causado pelo Sol.¹⁵

É tendência do mercado o uso de protetores solares contendo filtros químicos associados a filtros físicos micronizados e anti-radicais livres, bem como, outros componentes que potencializam FPS. A combinação destes componentes representa a mais moderna geração de fotoprotetores.³

Os fotoprotetores são produtos cosméticos contendo filtros solares que desempenham ação refletora ou de absorção da radiação ultravioleta sobre a pele, os quais são substâncias orgânicas ou inorgânicas. Os filtros solares inorgânicos ou físicos refletem a radiação ultravioleta A e ultravioleta B e os filtros orgânicos ou químicos absorvem a radiação ultravioleta A ou B ou ambas, dependendo das propriedades da substância. Dentre os filtros

químicos destacam-se os filtros naturais, que são substâncias isoladas de espécies botânicas que promovem ou contribuem para o aumento da eficácia fotoprotetora das formulações.¹⁶

Ultimamente, a perspectiva de mercados, principalmente o cosmético, tem investido no desenvolvimento de produtos com maior número de componentes de origem natural em sua fórmula pela sua menor toxicidade em comparação com moléculas sintéticas, assim destaca-se um interesse crescente para o desenvolvimento de filtros solares baseado em produtos naturais, tornando-se um desafio a sua qualidade e estabilidade.¹⁷

O emprego de extratos vegetais na tentativa de proteger a pele contra o fotoenvelhecimento vem crescendo muito, uma vez que muitos destes extratos apresentam compostos com atividade fotoprotetora ou sinérgica em associação a filtros solares, além do alto potencial antioxidante.⁷

Pesquisas de fotoprotetores bioativos que contêm extratos vegetais e compostos naturais isolados são relevantes, uma vez que dados da literatura confirmam que flavonoides isolados ou presentes em extratos vegetais padronizados demonstraram ter propriedades fotoprotetoras potentes quando aplicadas topicamente na pele.¹⁵

2.2 Filtros solares físicos e químicos

Os fotoprotetores podem ser compostos de vários filtros UV, incluindo os filtros inorgânicos (físicos) e orgânicos (químicos). Os filtros químicos são moléculas orgânicas, capazes de absorver radiação UV e a transformar em radiações inócuas ao ser humano. São compostos aromáticos e possuem um grupo doador de elétrons, que evidenciam sua característica antioxidante. O mecanismo de ação dos filtros químicos envolve a absorção da radiação UV e excitação da molécula que ao retornarem aos seus estados fundamentais, liberam o excesso de energia absorvida na forma de calor.^{15,29}

A utilização de filtros isolados em formulações fotoprotetoras origina produtos com uma proteção limitada e eficácia reduzida. Portanto, recomenda-se a associação de filtros com a finalidade de obter amplo espectro e formulações mais eficazes, permitindo o uso de uma concentração reduzida de cada filtro isolado por causa do efeito sinérgico, o que reduz a possibilidade de reações alérgicas. Compostos naturais ou bioativos podem ser utilizados para o efeito sinérgico em associação com filtros, aumentando a eficácia fotoprotetora da formulação. Isto ocorre devido às semelhanças na estrutura química entre estes compostos e

os filtros orgânicos, o que sugere que estes compostos podem exercer atividade fotoprotetora.⁸

2.3 Estudo da estabilidade de produtos cosméticos

Teste de estabilidade avalia a capacidade que um produto possui em manter suas características estéticas, físicas, químicas e microbiológicas sob condições de controle estabelecidas para acelerar seu envelhecimento.¹⁸

O estudo da estabilidade de produtos cosméticos concede informações que indicam o grau de estabilidade relativa de um produto nas diferentes condições a que possa estar sujeito, desde sua fabricação até o término de sua validade.

Cada componente pode afetar a estabilidade de um produto. Variáveis relacionadas à formulação, fabricação, material de acondicionamento e às condições ambientais e de transporte podem influenciar na estabilidade do produto. As alterações são classificadas como extrínsecas, advindas de fatores externos; ou intrínsecas, geradas por fatores inerentes à formulação.

Os testes de estabilidade devem ser realizados sob condições que permitam fornecer informações sobre a estabilidade do produto no menor tempo possível. As amostras devem ser armazenadas em condições que acelerem mudanças passíveis de ocorrer durante o prazo de validade.

A partir dos testes, avaliam-se os parâmetros organolépticos e físico-químicos através de teste de centrifugação, estabilidade preliminar e estabilidade acelerada. Antes de iniciar os estudos de estabilidade, sugere-se centrifugar a amostra devendo esta permanecer estável para então ser submetida aos testes de estabilidade. O teste de estabilidade preliminar é realizado na fase inicial do desenvolvimento do produto e é feito para auxiliar na escolha das formulações. Já o teste de estabilidade acelerada é realizado no desenvolvimento do produto e tem o objetivo de fornecer dados para prever a estabilidade do produto.¹³

2.4 Atividade antioxidante de flavonoides

Antioxidantes são substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de um substrato, quando encontradas em concentrações menores comparadas a um substrato oxidável. Agem evitando a formação dos radicais livres, reparando seus danos ou

sequestrando-os. Uma grande variedade de produtos cosméticos apresentam antioxidantes em sua formulação com o intuito de combater os sinais de envelhecimento da pele. Muitos trabalhos vêm sendo realizados para investigar sua ação na fotoproteção, analisando seus efeitos protetores nos danos causados pelos raios UV.^{19,20}

Os extratos vegetais ricos em compostos fenólicos estão em discussão para emprego em formulações de uso diário, devido a sua ação antioxidante, com a intenção de proteger a pele contra danos causados pelos radicais livres.²¹ Muitos flavonoides identificados recentemente demonstraram atividade fotoprotetora quando utilizados topicamente. A estrutura de suas moléculas se assemelha a dos filtros químicos. Estes compostos naturais podem exercer atividade fotoprotetora ou aperfeiçoar o valor do FPS, mesmo se forem reduzidas as concentrações de filtros químicos.^{22,23}

Os flavonoides são os grupos de compostos fenólicos considerados com maior poder antioxidante. Eles apresentam em comum a sua origem, com uma estrutura química formada por dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três átomos de carbono, formando um heterocíclico oxigenado. De acordo com sua estrutura molecular podem ser divididos em classes, denominadas compostos fenólicos. Os flavonoides possuem como estrutura básica 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos, A e B interligados via carbono heterocíclico do pirano (Figura 1). Conforme o estado de oxidação da cadeia heterocíclica do pirano, têm-se diferentes classes de flavonoides: antocioninas, flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavononas.²⁴

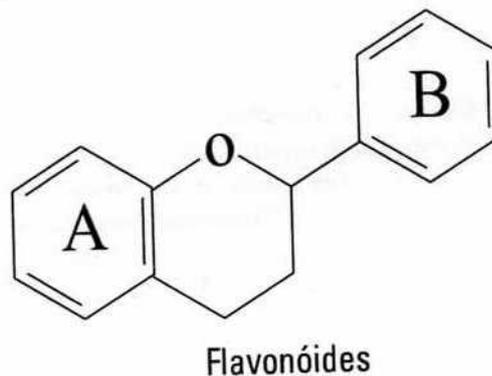


Figura 1. Estrutura básica dos flavonoides²⁵

Os compostos fenólicos presentes nas plantas contribuem na pigmentação, adstringência e estabilidade oxidativa, além de serem essenciais para o crescimento e reprodução dos vegetais. As antocianinas estão entre os compostos fenólicos do grupo dos flavonoides. São pigmentos que conferem uma coloração que varia entre o laranja, vermelho e

azul.²⁵ São encontradas em maior quantidade nas angiospermas e fazem parte do maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal.²⁶

A molécula da antocianina é formada por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, comumente, um grupo de ácido orgânico (Figura 2). Elas possuem uma estrutura adequada para a ação antioxidante, sendo capaz de doar elétrons ou átomos de hidrogênio para radicais livres.^{30,31}

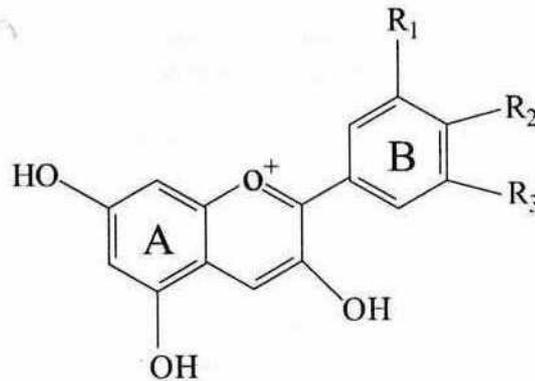


Figura 2. Estrutura geral da molécula de antocianina²⁵

2.5 Mirtilo

Uma infinidade de produtos de cosmetologia tem utilizado mirtilo, uma pequena fruta com inúmeras alegações de propriedades biológicas, na formulação de uma variedade de produtos como protetores da radiação ultravioleta, entre outros. A composição química dessa pequena fruta é associada a estas propriedades biológicas.¹¹

O mirtilo, também conhecido por *blueberry*, pertence à família das Ericaceae e se inclui no grupo de pequenas frutas.²⁷ Foi identificado através de estudos que os extratos obtidos de mirtilo contem grande quantidade de compostos fenólicos, principalmente antocianinas, sendo necessário sua extração para uma adequada quantificação e utilização.^{33,34} A fruta é rica em pigmentos de origem antociânica, substâncias de alto poder antioxidante.²⁸

3 MÉTODOS

3.1 Equipamentos e outros materiais

Os quadros 1 e 2 descrevem os equipamentos e materiais empregados no trabalho.

Quadro 1 – Equipamentos selecionados

Equipamento	Marca	Modelo
Estufa microprocessada	Quimis®	Q316M2
Refrigerador	CCE®	310L
Chapa aquecedora	Nova Ética®	208-D
pHmetro digital microprocessado	GEHAKA®	PG2000
Agitador mecânico eletrônico macro	Quimis®	Q250
Condutivímetro portátil	GEHAKA®	CG-220

Quadro 2 - Materiais selecionados

Materiais
Vidro de relógio
Becker
Espátulas
Gral e pistilo

3.2 Desenvolvimento das formulações

Para o desenvolvimento das formulações, foram levadas em consideração as matérias-primas geralmente utilizadas em farmácias magistrais que pudessem ser associadas, para obtenção de um produto de boa espalhabilidade, com boa formação de filme sobre a pele, segura e eficaz. Deve-se assegurar a quantidade de material necessária para produzir amostra suficiente para realização de todos os ensaios.

O material utilizado foi manipulado em um único lote, empregando as mesmas matérias-primas, assim não há probabilidade de interferência na estabilidade do sistema se as matérias-primas forem de diversos fornecedores e apresentarem prazos de validade diferentes.

3.2.1 Matéria-prima

O quadro 3 descreve as matérias-primas empregadas na fórmula nº 1 (fórmula fotoprotetora composta por filtros físicos e químicos) no presente projeto

Quadro 3 - Fórmula do Produto, função e quantidade centesimal dos componentes

Fase	Nome comercial	INCI	%	Função
7	Sepigel 305	Laureth-7, C 13-14 Isoparaffin, Polyacrylamide	0,50	Emulsionante
1	Água Deionizada	Aqua (Water)	67,55	Veículo
2	Aristoflex AVC	Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer	0,30	Regulador de Viscosidade
4	Tinosorb M	Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol	6,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVA
3	BHT	BHT	0,05	Antioxidante do produto
3	Cosmowax J.	Cetearyl Alcohol, Cetareth-20	5,00	Emulsionante
3	Eusolex 9020	Butyl Methoxydibenzoylmethane	1,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVB
3	Octocrileno	Octocrylene	1,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVB
3	Polymol 812	Caprylic/Capric Triglyceride	4,00	Emoliente
3	Eusolex 6300	4-Methylbenzylidene Camphor	3,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVB
5	Liquid Germall® Plus	Diazolidinyl Urea, Iodopropynyl Butylcarbamate	0,20	Conservante

Fase	Nome comercial	INCI	%	Função
6	Silicone DC 245	Cyclomethicone, Cyclopentasiloxane	3,00	Condicionante
6	Silicone DC 9040	Cyclomethicone, Dimethicone Crosspolymer	3,00	Condicionante
3	Escalol Block	Titanium Dioxide, Caprylic/Capric Triglyceride	3,40	Fotoprotetor da pele/Filtro Físico

O quadro 4 descreve as matérias-primas empregadas na fórmula nº 2 (fórmula fotoprotetora composta por filtros físicos e químicos + extrato de mirtilo).

Quadro 4 - Fórmula do Produto, função e quantidade centesimal dos componentes

Fase	Nome comercial	INCI	%	Função
7	Sepigel 305	Laureth-7, C 13-14 Isoparaffin, Polyacrylamide	0,50	Emulsionante/regula dor de viscosidade
1	Água Deionizada	Aqua (Water)	65,55	Veículo
2	Aristoflex AVC	Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer	0,30	Regulador de Viscosidade
4	Tinosorb M	Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol	6,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVA
3	BHT	BHT	0,05	Antioxidante do produto
3	Cosmowax J.	Cetearyl Alcohol, Cetareth-20	5,00	Emulsionante
3	Eusolex 9020	Butyl Methoxydibenzoylmethane	1,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVB
3	Octocrileno	Octocrylene	1,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVB
3	Polymol 812	Caprylic/Capric Triglyceride	4,00	Emoliente

Fase	Nome comercial	INCI	%	Função
3	Eusolex 6300	4-Methylbenzylidene Camphor	3,50	Fotoprotetor da pele Proteção UVB
5	Liquid Germall® Plus	Diazolidinyl Urea, Iodopropynyl Butylcarbamate	0,20	Conservante
6	Silicone DC 245	Cyclomethicone, Cyclopentasiloxane	3,00	Condicionante
6	Silicone DC 9040	Cyclomethicone, Dimethicone Crosspolymer	3,00	Condicionante
3	Escalol Block	Titanium Dioxide, Caprylic/Capric Triglyceride	3,40	Fotoprotetor da pele Filtro Físico
8		Bilberry extract	2,00	Antioxidante

3.2.2 Procedimento de Preparo

As matérias-primas foram agrupadas em Fases de acordo com suas características físico-químicas conforme apresentadas nos quadros 3 e 4.

Os componentes foram pesados em quantidade adequada para elaborar 500g de preparação.

Preparo da Fórmula:

- A. Aquecer a fase 1 à temperatura de 75 °C.
- B. Adicionar a fase 2 e agitar até obtenção de um gel.
- C. Separadamente, aquecer a fase 3 à temperatura de 75°C e acrescentar na mistura B. Agitar vigorosamente. Diminuir a velocidade de agitação.
- D. Resfriar o produto a temperatura de 50°C e acrescentar a fase 4. Homogeneizar.
- E. Resfriar a mistura D abaixo de 45°C, acrescentar a fase 5 e homogeneizar.
- F. Homogeneizar a fase 6 e adicionar à mistura E. Homogeneizar.

G. Adicionar a fase 7 sobre a mistura F e homogeneizar perfeitamente.

Ao final da preparação retirou-se 250g (fórmula nº 1). O restante foi utilizado para a produção da fórmula nº 2, seguindo o seguinte item:

H. Levigar o Bilberry na água e adicionar à mistura anterior. Homogeneizar perfeitamente.

As amostras 1 e 2 foram fracionadas para realização dos testes em duplicata. A formulação 1, contendo filtro solar, foi nomeada em 1A e 1B. Do mesmo modo, a formulação 2 contendo filtro solar acrescida de extrato de mirtilo foi nomeada em 2A e 2B.

3.3 Testes

3.3.1 Teste de estabilidade preliminar

O teste de estabilidade preliminar resume-se em submeter a amostra a condições extremas de temperatura, podendo assim realizar os ensaios em relação a vários parâmetros. Este teste tem duração de 15 dias e a primeira avaliação é realizada no tempo zero (t_0), que corresponde a 24h após a manipulação, a fim de que o produto adquira viscosidade e consistência final, após a sua maturação. As outras avaliações são realizadas diariamente, durante toda a duração do teste. Os parâmetros que foram analisados para cada amostra, são: aspecto, cor, odor, pH, e foram apresentados como a média aritmética dos valores obtidos dos testes realizados em duplicata.⁶

3.3.1.1 Definição de forma padrão e caracterização

Após o preparo das amostras elas foram mantidas em repouso por um período de 24h. Passado esse período, foi feita a primeira avaliação macroscópica para caracterização do padrão, sendo analisados suas características organolépticas (aspecto, cor e odor) e pH.

As características organolépticas foram avaliadas por observação visual. A determinação do pH foi feita através da realização de três avaliações em cada amostra, obtendo-se a média.

3.3.1.2 Teste de centrifugação

A força da gravidade atua sobre os produtos fazendo com que as partículas se movam no seu interior. A centrifugação causa estresse na amostra, aparentando aumento na força da gravidade, isso causa aumento na mobilidade das partículas e antecipa possíveis sinais de instabilidade, como precipitação, separação de fases, formação de sedimento compacto e coalescência.¹³ A ANVISA recomenda que o produto seja submetido à centrifugação, durante 30 minutos, a uma velocidade de 3.000 rpm com três leituras para cada amostra, antes do início dos testes de estabilidade. A ocorrência de instabilidade indica que é necessária reformulação. As amostras consideradas estáveis podem ser submetidas ao Teste de Estabilidade Preliminar.

Em tubo de ensaio para centrífuga, cônico, graduado, de 10g de capacidade, devem ser pesados, em balança semi-analítica, 5g de cada formulação a ser analisada, os quais devem ser submetidos a rotações de 3000 rpm por 30 minutos, a temperatura ambiente. O teste foi feito em duplicata para cada formulação.

Após a centrifugação as amostras foram observadas visualmente, verificando a ocorrência ou não de alterações, seguindo os parâmetros: estável; levemente não homogênea; iniciando separação; separação total das fases. Sua estabilidade não é assegurada apenas pela não ocorrência de separação de fases, isso somente indica que o produto pode ser submetido aos testes de estabilidade.⁶

3.3.2 Estresse térmico – ciclos alternados

Em embalagem adequada, semelhante àquela a ser usada para a comercialização do produto cosmético, 10 g da amostra devem ser submetidos a condições extremas de temperatura, como 5 °C e 45 °C, para detecção de sinais de instabilidade a mudanças de temperaturas e sob manutenção de temperaturas baixas e elevadas por um determinado intervalo de tempo. A não ocorrência de separação de fases deve ser indicativa de estabilidade do produto ensaiado.

As formulações 1 e 2 foram fracionadas em potes adequados, fechadas com tampa rosca. Os frascos contendo as amostras, ambas em duplicatas (1A e 1B, 2A e 2B), foram submetidas ao estresse térmico. Ciclos de 24h alternando armazenagem em estufa e geladeira.¹³

O procedimento foi composto por 6 ciclos de temperaturas de armazenamento, nas seguintes condições:

- Temperatura: $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ – por 24h
- Temperatura: $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ – por 24h

Uma amostra foi armazenada em temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), protegida da luz e, foi utilizada como amostra controle das formulações.¹³ Os frascos que continham as citadas amostras, foram acondicionadas em armário fechado.

Esse procedimento de ciclos alternados perdurou 12 dias. Durante os finais de semana e feriados, as amostras permaneceram no local onde estavam expostas no dia anterior ao feriado ou na sexta-feira, pois nesses dias o laboratório estava fechado.

A cada ciclo as amostras eram submetidas aos seguintes ensaios: determinação de pH e verificação das características organolépticas (cor, odor e aspecto). As amostras foram avaliadas e comparadas em relação à amostra controle.

3.3.2.1 Teste de estabilidade acelerada

O objetivo deste teste é fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de condicionamento.¹³

O teste de estabilidade acelerada teve duração de 90 dias. As amostras foram submetidas a aquecimento em estufas (a $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), resfriamento em refrigerador (a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e ao ambiente (a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e analisadas em relação aos vários parâmetros (características organolépticas e físico-químicas). A avaliação das amostras foi feita em: T0, 24h, 7^o dia, 15^o dia, 30^o dia, 60^o dia e 90^o dia.

3.3.3 Características organolépticas e físico-químicas

3.3.3.1 Aspecto

A amostra deve ser analisada em relação ao padrão, com o objetivo de avaliar as características macroscópicas para verificação de sinais de instabilidade. A não ocorrência de separação de fases, de precipitação, de turvação, deve indicar estabilidade da amostra. A amostra deve ser descrita como: normal, sem alteração; levemente separado, precipitado ou turvo; separado, precipitado ou turvo.¹³

3.3.3.2 Odor

O odor da amostra ensaiada é comparado ao do padrão, diretamente através do olfato. A amostra pode ser classificada em: normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada.

3.3.3.3 pH

A determinação do pH é realizada em uma dispersão aquosa a 10% (p/p) da amostra ensaiada em água recém destilada, usando pHmetro digital, avaliando a diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na amostra em estudo.¹³ O eletrodo deve ser inserido diretamente na dispersão e valores mantidos entre 5,5 e 6,5, compatíveis com o pH cutâneo, devem ser usados como critério de estabilidade.¹²

3.3.3.4 Cor

A colorimetria foi realizada pela comparação visual, sob condições de luz branca, da cor da amostra com a cor do padrão, armazenado nas mesmas condições e embalagem que a amostra. A comparação visual da cor da amostra ensaiada com a cor do padrão foi realizada em 5g da amostra acondicionados em frascos iguais. A fonte de luz empregada deve ser a luz branca, natural. A amostra foi classificada em normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste de Estabilidade Preliminar

As emulsões foram preparadas e mantidas em repouso por um período de 24h. Em seguida, fez-se a leitura e definiu-se os padrões de referência para as características organolépticas e físico-químicas, conforme descritos no quadro 5.

Quadro 5 - Padrões de referência para as características organolépticas e físico-químicas

Parâmetros analisados	Emulsão fotoprotetora	Emulsão fotoprotetora com antocianina
Aspecto	Emulsão de media viscosidade	Emulsão de media viscosidade
Cor	Levemente amarelada	Lilás
Odor	Característico das matérias primas	Característico das matérias primas
pH (22 °C ±2)	6,0 a 7,0	6,0 a 7,0

4.1.1 Teste de centrifugação

As quatro amostras permaneceram homogêneas após a centrifugação. Não houve separação de fase, indicando que a formulação em primeiro momento permaneceu estável, como mostra o quadro 6, podendo dar continuidade com o teste de estabilidade preliminar. Este teste não é conclusivo para estabilidade, ele é um teste seletivo e indica que podemos dar sequencia aos testes.

Quadro 6 – Teste de centrifugação

Amostra	Resultado
1 ^a	Homogêneo/estável
1B	Homogêneo/estável
2 ^a	Homogêneo/estável
2B	Homogêneo/estável

4.1.2 Estresse térmico

As amostras foram submetidas a condições extremas de temperatura e seus parâmetros de estabilidade foram avaliados. No período de 12 dias foram realizados 6 ciclos alternados de 24h nas temperaturas de $5^{\circ}\text{C}\pm 2$ e $45^{\circ}\text{C}\pm 2$. As amostras foram submetidas a comparação com a amostra controle que permaneceu em temperatura ambiente. Não foram observadas alterações nos parâmetros (pH, cor, odor e aspecto) nas quatro amostras submetidas ao teste de estresse térmico.

Conforme pode-se observar no quadro 7, as amostras mantiveram a homogeneidade e as características organolépticas e físico-químicas. As formulações apresentaram desempenho satisfatório e foram submetidas as teste de estabilidade acelerada.

Quadro 7 – Teste de stress térmico das formulações 1(A e B) e 2 (A e B): determinação das propriedades organolépticas e valor de pH

Amostra	pH (média)	Cor	Odor	Aspecto
T0 fórmula 1 padrão	6,2	Branca	Característico	Emulsão homogênea
T0 fórmula 2 padrão	6,4	Lilás	Característico	Emulsão homogênea
T1 1A	6,2	N	N	N
T1 1B	6,4	N	N	N
T1 2A	6,2	N	N	N
T1 2B	6,4	N	N	N
T2 1A	6,2	N	N	N
T2 1B	6,4	N	N	N
T2 2A	6,2	N	N	N
T2 2B	6,4	N	N	N
T3 1A	6,2	N	N	N
T3 1B	6,4	N	N	N
T3 2A	6,2	N	N	N
T3 2B	6,4	N	N	N
T4 1A	6,3	N	N	N
T4 1B	6,4	N	N	N
T4 2A	6,0	N	N	N

Amostra	pH (média)	Cor	Odor	Aspecto
T4 2B	6,3	N	N	N
T5 1A	6,2	N	N	N
T5 1B	6,4	N	N	N
T5 2A	6,2	N	N	N
T5 2B	6,3	N	N	N
T6 1A	6,2	N	N	N
T6 1B	6,4	N	N	N
T6 2A	6,2	N	N	N
T6 2B	6,3	N	N	N

Legenda: N: Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial

4.2 Teste de estabilidade acelerada

Quando submetidas à comparação com a amostra controle, observou-se que não houve alteração no pH, porém dentre os parâmetros organolépticos observamos que o aumento da temperatura favoreceu o escurecimento da amostra 2 (A e B), que pode ser consequência das alterações do flavonoide, apresentando coloração roxo acinzentado (quadro 8).

Quadro 8 – Cor das amostras 1A, 1B, 2A e 2B

Tempo (dias)	Temperatura Ambiente				Geladeira				Estufa			
	1 ^a	1B	2A	2B	1A	1B	2A	2B	1A	1B	2 ^a	2B
T0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
24 Horas	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
7 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
15 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
30 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
60 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM
90 ^o Dia	N	N	LM	LM	N	N	LM	LM	LM	LM	LM	LM

Legenda: N: Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial. LM: Levemente Modificada

Quadro 9 – Aspecto das amostras 1A, 1B, 2A e 2B

Tempo (dias)	Temperatura Ambiente				Geladeira				Estufa			
	1A	1B	2A	2B	1A	1B	2A	2B	1A	1B	2A	2B
T0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
24 Horas	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
7 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
15 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
30 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
60 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
90 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Legenda: N: Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial.

Quadro 10 – Odor das amostras 1A, 1B, 2A e 2B

Tempo (dias)	Temperatura Ambiente				Geladeira				Estufa			
	1A	1B	2A	2B	1A	1B	2A	2B	1A	1B	2A	2B
T0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
24 Horas	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
7 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
15 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
30 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
60 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
90 ^o Dia	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Legenda: N: Normal, sem alteração em relação ao aspecto inicial.

4 CONCLUSÃO

Para determinar a qualidade de uma emulsão, devemos submetê-la a diversos testes que comprovem sua estabilidade. Neste trabalho, onde foi avaliado a estabilidade de uma formulação fotoprotetora contendo extrato de mirtilo, observa-se que os parâmetros permaneceram estáveis em relação à amostra padrão nos testes preliminares e de estabilidade acelerada.

Foi verificado que as antocianinas provenientes do mirtilo, quando adicionadas na emulsão fotoprotetora, não alteraram a estabilidade do produto final, mantendo as características organolépticas e físico-química previamente definidas.

A partir deste trabalho, sugere-se que novas pesquisas possam ser desenvolvidas, tais como avaliação e determinação da capacidade antioxidante das antocianinas presentes no mirtilo e sua influência no aumento da capacidade fotoprotetora das formulações sem a utilização de filtros químicos sintéticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Corrêa MA. Cosmetologia ciência e técnica. 1ª ed. São Paulo: Medfarma; 2012.
- 2 Balogh TS, Pedriali CA, Baby AR, Velasco MVR, Kaneko TM. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. An Bras Dermatol. 2011;86(4):732-42.
- 3 Cabral LDS, Pereira SO, Partata AK. Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil. Revista científica do ITPAC. 2011;4(3):1983-6708.
- 4 Flor, J. et al. Protetores solares. Quim. Nova, 2007;30(1):153-8
- 5 Brasil. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o regulamento técnico sobre Boas Práticas de Manipulação em Farmácias. Diário Oficial da república federativa do Brasil, poder Executivo, Brasília, DF.
- 6 Isaac VLB, Cefali LC, Chiari BG, Oliveira CCLG, Salgado HRN, Corrêa MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. Revista de Ciências Farmacêuticas básica e aplicada. 2008;29(1):81-96.
- 7 Souza FP, Campos GR, Packer JF. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola. Revista de Ciências Farmacêuticas básica e aplicada. 2013;34(1):69-77.
- 8 Schalka S, Addor F. Protetores solares. Revista brasileira de medicina. 2008;65:6-11.
- 9 Porto RGCL, Cunha EMF, Barros NVA, Silva MGSS, Araujo RSRM. Correlação entre a capacidade antioxidante e o conteúdo de vitamina C, antocianinas, flavonoides e fenólicos totais no jenipapo (*Genipa americana* L.).
- 10 Baby AR. Desenvolvimento e avaliação da eficácia “in vitro” por espectrofotometria de refletância com esfera de integração. Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF). Universidade de São Paulo (USP). 2011.
- 11 Spagolla LC, Santos MM, Passos LML, Aguiar CL. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo “Rabbiteye”(*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. Revista de Ciências Farmacêuticas básica e aplicada. 2009;30(2):187-191.

- 12 Comissão permanente de revisão da farmacopéia brasileira. Farmacopéia brasileira parte II. 4. ed. São Paulo: Atheneu; 2000.
- 13 Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. 2004;1:45.
- 14 Química hoje. Proteção solar o ano inteiro: Com a evolução das pesquisas e a descoberta dos benefícios do Sol, o filtro solar ganha novas funções associadas à estética. 2008;(11):13-5.
- 15 Nishikawa, DO. Desenvolvimento, avaliação da eficácia e estabilidade de formulações fotoprotetoras bioativas [Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2012.
- 16 Larentes IA. Avaliação preliminar da estabilidade de cremes fotoprotetores de farmácias magistrais. Maringá: Faculdade integrada da grande fortaleza – FGF; 2009.
- 17 Guaratini, T, Callejon DR, Pires DC, Lopes JNC, Lima LM, Neto DG et al. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. 2009; 32(3).
- 18 Schueller R e Romanowski P. Iniciação à química cosmética. São Paulo: Tecnopress; 2002.
- 19 Gálvez MV. Antioxidantes en fotoprotección, realmente funcionan? Actas dermosifiliogr. 2010;101:197-200.
- 20 Wang SG, Balagula Y, Osterwalder U. Photoprotection: a review of the current and future technologies. Dermatol. 2010;23:31-47.
- 21 Freitas LS. Desenvolvimento, estabilidade e de eficácia de formulações fotoprotetoras contendo extrato de *Matricaria chamomilla* e seus componentes isolados. 2011;139.
- 22 Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection.. 2003;48(1):1-19.
- 23 Kullavanijaya P, Lim HW. Photoprotection. Journal of the american academy of dermatology. 2005;52(6):937-58.

- 24 Cheynier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am j clin nutr.* 2005;81(1):223-29.
- 25 Jacques AC, Zambiasi RC. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp). *Semina: ciências agrárias.* 2011;32(1):245-60.
- 26 Bridle P, Timberlake CF. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. *Food chemistry.* 1997;58(1-2):103-9.
- 27 Sousa JSI, Peixoto AM, Toledo FF. Enciclopédia agrícola brasileira. Piracicaba: Edusp; 1995. 508 p.
- 28 Pertuzatti PB. Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) [dissertação]. Pelotas: Universidade federal de Pelotas; 2009.
- 29 Lowe NJ, Shaat NA, Pathak MA. Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects. 1997;2(15):3-33.
- 30 Francis FJ. Food colorants: anthocyanins. *Food science and nutrition.* 1989;28(4):273-314.
- 31 Prior RL. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am j clin nutr.* 2003;78(3):570-8.
- 32 Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of nutritional biochemistry.* 2002;13:572-84.
- 33 Katsube T, Tabata H, Ohta Y, Anuurad E, Shiwaku K, Yamane Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay and Folin-Ciocalteu assay. 2004;13:8-17.
- 34 Madhavi DL, Bomser J, Smith MAL, Singletary K. Isolation of bioactive constituents from *Vaccinium myrtillus* (bilberry) fruits and cell cultures. *Plant sci.* 1998;131:95-103.
- 35 Velasco MVR, Balogh TS, Pedriali CA, Sarruf FD, Pinto CASO, Kaneko TM, et al. Associação da rutina com *p*-metoxicinamato de octila e benzofenona-3: Avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. *Latin American Journal of Pharmacy.* 2008;27(1):23-7