

**DANIELLE APARECIDA FERREIRA DE OLIVEIRA
MARRAFON**

**CASCA DE BANANA VERDE COMO
CONSERVANTE NATURAL EM
FORMULAÇÃO FITOCOSMÉTICA**

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do título de
Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde

POUSO ALEGRE – MG

2021

**DANIELLE APARECIDA FERREIRA DE OLIVEIRA
MARRAFON**

**CASCA DE BANANA VERDE COMO
CONSERVANTE NATURAL EM
FORMULAÇÃO FITOCOSMÉTICA**

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do título de
Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Jaqueline Jóice Muniz

COORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça

POUSO ALEGRE – MG

2021

Marrafon, Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira

Casca da banana verde como conservante natural em formulação fitocosmética /
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon.-- Pouso Alegre: UNIVÁS, 2021.
xi 60f.:il.

Trabalho Final do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde,
Universidade do Vale do Sapucaí, 2021.

Título em Inglês: Green banana shell as a natural preservative in phytocosmetic
formulation.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jaqueline Joice Muniz

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça

1. Estabilidade de cosméticos, 2. Fitoterapia. 3. Extratos vegetais.
4. Cosméticos. 5. Banana. I. Título.

CDD - 615.321

UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

**MESTRADO PROFISSIONAL EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**

COORDENADORA: Prof^a. Dr^a. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho às pessoas que me fizeram entender a importância de sempre prosseguir.

À minha querida família, por tudo que sou e pelo significado de minha existência; cada etapa cumprida com êxito, também é fruto do esforço desse importante pilar. Aos meus irmãos, cunhadas, sobrinha, afilhado, sogra e sogro, gratidão pelo apoio incondicional.

À minha querida mãe **MÍRIAM FERREIRA DE OLIVEIRA** que me ensinou que a fé é muito mais do que acreditar que Deus existe, é viver desse encontro com Ele cada vez mais renovado e profundo, acreditando que tudo é possível tendo Nossa Senhora como nossa intercessora.

Ao meu pai, **ANTÔNIO CARLOS ROCHA DE OLIVEIRA** que sempre esteve presente em todas as minhas decisões, apoiando-me e incentivando-me.

Em especial ao meu esposo **MATHEUS MAGALHÃES MARRAFON** e minha amada filha **ANA CLARA DE OLIVEIRA MARRAFON**, que de perto sempre me acompanharam. Estiveram presentes comigo em cada módulo, em cada visita técnica, mostrando o verdadeiro sentido do amor familiar. Obrigada por todo amor, paciência e compreensão nos momentos de ausência. Essa conquista só foi possível porque tenho vocês como meu alicerce. A vocês meu amor eterno e gratidão! Minha admiração pela família que construímos é infinita... Essa vitória também é de vocês!

A todas as pessoas que direta e indiretamente me ajudaram a concretizar este sonho.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus volto meu olhar e dobro meus joelhos ontem, hoje e sempre.

Ao pró-reitor de Pós-graduação e Pesquisa da Universidade Vale do Sapucaí (UNIVÁS) professor doutor **JOSÉ DIAS DA SILVA NETO** pelos conselhos e conduta exemplar.

À coordenadora do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde e co-orientadora professora doutora **ADRIANA RODRIGUES DOS ANJOS MENDONÇA** pela colaboração valiosa durante toda esta pesquisa, conduzindo-me nos momentos em que minha orientadora não pôde estar presente.

À professora doutora **DANIELA FRANCESCATO VEIGA**, coordenadora adjunta do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde, pelo exemplo de dedicação e amor à pesquisa.

À minha orientadora professora doutora **JAQUELINE JÓICE MUNIZ** por me direcionar, estender-me as mãos e me ajudar superar todas as dificuldades encontradas. Obrigada pela amizade que construímos, por abraçar minha ideia e por despertar em mim o instinto de pesquisadora até então adormecido.

Ao professor doutor **PAULO ROBERTO MAIA** por toda disponibilidade e competência na realização da análise estatística.

Aos demais professores do Mestrado, meu respeito e admiração; boa parte de meu melhor será sempre fruto dos seus ensinamentos.

Aos funcionários da Pró-Reitoria de Pós Graduação e Pesquisa da UNIVÁS, representados pelo secretário **GUILHERME OLIVEIRA SANTOS**, pelo dinamismo e orientações ao longo de todo o mestrado.

Aos colaboradores do Laboratório de Fitoterapia e Botânica da UNIVÁS, **JOICE BALBINO E JOSÉ DONIZETE**, que me auxiliaram nas etapas iniciais da pesquisa, contribuindo com toda experiência e dedicação.

Ao chefe da Farmácia Universitária da Universidade Federal de Alfenas – Minas Gerais (UNIFAL-MG), professor doutor **TIAGO REIS MARQUES**, por permitir a minha inserção neste programa de pós-graduação e à Comissão Técnico-Científico da Farmácia Universitária por autorizar a realização de todos os experimentos.

Ao professor doutor **MARCELO APARECIDO** e doutor **RENAN GOMES BASTOS** da UNIFAL-MG pela colaboração na realização dos testes fitoquímicos. A todos os professores e funcionários dessa instituição que de alguma forma contribuíram para os resultados alcançados.

À minha amiga e colega de trabalho doutora **MILENA CARLA ESPÓSITO** que esteve comigo ao longo desses 13 anos de UNIFAL-MG, colaborando com todo seu conhecimento e auxiliando-me, principalmente na execução deste trabalho.

Às alunas **ANA LAURA DOS SANTOS** e **LÍVIA MARQUES DOS SANTOS** da UNIFAL-MG que estiveram sempre disponíveis para auxiliar na realização das etapas da pesquisa.

Ao Centro de Tecnologia das Radiações/Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (CETER/IPEN) da Universidade de São Paulo (USP-SP) pela colaboração prestada na utilização do Irradiador Multipropósito de Cobalto-60.

Aos colegas do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde pela cumplicidade, experiências compartilhadas, sugestões e críticas. Em especial à colega **SÔNIA MARIA DE BRITO RIBEIRO**, que além de animar todos nossos encontros, mesmo que virtuais, empenhou-se na elaboração de toda documentação para o pedido de patente à frente do NIT (Núcleo de Inovação Tecnológica) da UNIVÁS.

“Pedras no caminho? Eu guardo todas, um dia vou construir um castelo....”

(Nemo Nox)

SUMÁRIO

1	CONTEXTO	1
2	OBJETIVOS	6
3	MÉTODOS	7
3.1	DELINEAMENTO E LOCAL DO ESTUDO	7
3.2	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO	7
3.2.1	Preparação do pó da casca da banana verde	7
3.2.2	Preparação dos extratos	8
3.2.3	Análise fitoquímica dos extratos	10
3.2.3.1	Detecção de taninos	10
3.2.3.2	Detecção de flavonoides	11
3.2.4	Caracterização por Cromatografia em Camada Delgada	11
3.3	DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO	12
3.4	REALIZAÇÃO DOS TESTES DE ESTABILIDADE	15
3.4.1	Estabilidade Preliminar	16
3.4.2	Estabilidade Acelerada	20
3.4.3	Teste de Prateleira	20
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4	RESULTADOS	23
4.1	SELEÇÃO DO EXTRATO	23
4.1.1	Análise fitoquímica e cromatográfica dos extratos	23
4.2	TESTES DE ESTABILIDADE	27
4.2.1	Estabilidade Preliminar	27
4.2.2	Estabilidade Acelerada	30
4.2.3	Estabilidade de Prateleira	34
4.3	ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	36
4.4	PRODUTOS	36
5	DISCUSSÃO	39
5.1	APLICABILIDADE	43
5.2	IMPACTO PARA A SOCIEDADE	43
6	CONCLUSÃO	45

7	REFERÊNCIAS	46
	NORMAS ADOTADAS	53
	ANEXOS	54
	FONTES CONSULTADAS	62

RESUMO

Contexto: Os cosméticos à base de produtos vegetais são atualmente importante foco das pesquisas e desenvolvimento de produtos. Nos fitocosméticos são adicionados adjuvantes farmacotécnicos denominados conservantes, sendo os parabenos os mais utilizados. Porém, esses componentes estão associados a efeitos adversos. A substituição dos conservantes químicos por extratos vegetais é alternativa valiosa. Assim, sendo as cascas da banana verde ricas em substância bioativa com ação antimicrobiana, este ativo pode ser utilizado como conservante natural. **Objetivos:** Desenvolver e avaliar a estabilidade de formulação cosmética semissólida, utilizando extrato da casca da banana verde como “conservante verde”. **Métodos:** Depois de preparados pó e extratos da casca da banana *Musa sapientum* em estágio verde, foi selecionado o extrato glicólico por apresentar melhor perfil cromatográfico, que revelou a presença de taninos e flavonoides. O extrato glicólico, obtido por maceração da casca da banana verde com mistura de água e propilenoglicol, foi esterilizado por radiação ionizante e incorporado em formulação cremosa. Foram propostos a sequência e os ensaios organolépticos, físico-químicos e microbiológicos a serem realizados nos testes de estabilidade preliminar, acelerada e de prateleira, para o fitocosmético submetido a diferentes condições de temperaturas. **Resultados/Produto:** A formulação cremosa foi desenvolvida sem adição de conservantes químicos, apresentou-se estável microbiologicamente e sem variações significativas (Teste de Levene) para os parâmetros físico-químicos em todos os testes de estabilidade propostos, possibilitando determinar prazo de validade mínimo de 180 dias. **Conclusão:** Foi desenvolvida formulação cremosa utilizando casca da banana verde como conservante natural, que se mostrou estável nas avaliações físicas, químicas e microbiológicas.

Palavras-chave: Estabilidade de cosméticos. Fitoterapia. Extratos vegetais. Cosméticos. Banana.

ABSTRACT

Context: Cosmetics based on plant products are currently an important focus of product research and development. In phytocosmetics, pharmaceutical adjuvants called preservatives are added, with parabens being the most used. However, these components are associated with adverse effects. The substitution of chemical preservatives for plant extracts is a valuable alternative. Thus, as the green banana peels are rich in bioactive substance with antimicrobial action, this asset can be used as a natural preservative. **Objectives:** To develop and evaluate the stability of a semi-solid cosmetic formulation, using green banana peel extract as a “green preservative”. **Methods:** After preparing powder and extracts of the banana peel *Musa sapientum* in the green stage, the glycolic extract was selected because it presents a better chromatographic profile, which revealed the presence of tannins and flavonoids. The glycolic extract, obtained by macerating the green banana peel with a mixture of water and propylene glycol, was sterilized by ionizing radiation and incorporated in a creamy formulation. The sequence and organoleptic, physical-chemical and microbiological tests to be carried out in the preliminary, accelerated and shelf stability tests were proposed for the phytocosmetic subjected to different temperature conditions. **Results / Product:** The creamy formulation was developed without the addition of chemical preservatives, it was microbiologically stable and without significant variations (Levene test) for the physical-chemical parameters in all the proposed stability tests, making it possible to determine the minimum shelf life 180 days. **Conclusion:** A creamy formulation was developed using green banana peel as a natural preservative, which proved to be stable in physical, chemical and microbiological evaluations.

Keywords: Cosmetic stability. Phytotherapy. Plant extracts. Cosmetics. Banana.

1 CONTEXTO

Do início da história da medicina até o século 20, a terapia era baseada, na sua maioria, em utilizar de fontes naturais. De 1983 a 1994, compostos naturais representaram cerca de 40% dos novos medicamentos aprovados na América do Norte. Entre 1981 e 2006, 70% dos novos medicamentos surgiram de pesquisas sobre produtos naturais (MINGHETTI *et al.*, 2016). O uso de fitoterápicos continua em ascensão em todo mundo, com a previsão de que os consumidores mundiais gastem mais de 140 bilhões de dólares nestes produtos (PAINE e ROE, 2018). Sendo os medicamentos fitoterápicos amplamente utilizados em todas as áreas médicas (FALZON e BALABANOVA, 2017), é prática incentivada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), especialmente em países emergentes (MATTOS *et al.*, 2018).

Atualmente, progressos mundiais foram demonstrados no estudo de plantas com ação terapêutica para cicatrização e, conseqüentemente, o esclarecimento dos mecanismos subjacentes (ZHANG *et al.*, 2017). A terapia com fitoterápicos tornou-se estratégia promissora como alternativa para tratamento das lesões teciduais (JARIC *et al.*, 2018).

As feridas são caracterizadas por ruptura da pele, levando a distúrbios anatômicos e funcionais, ocorrendo perda da continuidade do tecido epitelial com ou sem redução de tecido conjuntivo adjacente (LORDANI *et al.*, 2018). As lesões da pele afetam a população mundial e apresentam várias manifestações clínicas e complicações como dor e infecções (KYAW *et al.*, 2018). A cicatrização, processo complexo, porém dinâmico, restabelece integridade e homeostasia tecidual. Apesar de haver várias preparações farmacêuticas utilizadas para a cicatrização, existe demanda por produtos de menor custo, com menos efeitos adversos e com início de ação rápida para o tratamento clínico (LORDANI *et al.*, 2018).

A demanda por esta terapia com plantas medicinais é emergente devido à conscientização dos efeitos colaterais que produtos sintéticos podem causar. O desenvolvimento de extratos e formulações padronizadas com eficácia clínica deve ser incentivado para uso nessas lesões (MALEŠ *et al.*, 2019). A indústria farmacêutica avançou muito na síntese de formulações cicatrizantes. Porém, apenas 1 a 3% dos produtos contidos em farmacopeias oficiais são destinados ao uso em lesões teciduais. Desse montante, pelo menos um terço é obtido de plantas (LORDANI *et al.*, 2018). Os benefícios do uso dos fitoterápicos no tratamento de feridas (sob a forma de chás, decocções, tinturas, xaropes,

óleos, pomadas, cataplasmas e infusões), de acordo com Carneiro *et al.* (2014), vão desde acessibilidade, até ao ponto de ser recurso natural confiável, com menos efeitos colaterais comprovados em comparação a agentes químicos.

Os produtos de uso tópico e ação cicatrizante podem ser classificados como cosméticos tipo II. Possuem indicações específicas e comprovação de segurança e/ou eficácia, informações e cuidados, modo e restrições de uso (BRASIL, 2015).

Uma formulação fitoterápica, podendo ser farmacêutica e / ou cosmética, contém um ou mais ingredientes ativos e aditivos que são comumente referidos como excipientes (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2015). Esses compostos adjuvantes podem ser utilizados para auxiliar a composição do produto, proteger ou melhorar a estabilidade da formulação e aumentar a aceitabilidade do paciente (LOFTSSON, 2015; PATIL *et al.*, 2018).

Os cosméticos, sendo produtos que contém água e compostos orgânicos/inorgânicos, exigem estratégias físicas, químicas e físico-químicas para preservação do produto da deterioração microbiana. A estratégia mais comum consiste na adição de agentes antimicrobianos naturais ou sintéticos como adjuvantes, os conservantes (HALLA *et al.*, 2018). Esses componentes nas formulações mantêm a pureza microbiológica durante a fabricação, embalagem e armazenamento, garantindo segurança daqueles que utilizam os produtos (HERMAN, 2019).

A qualidade microbiológica das formulações cosméticas tem sido questão seriamente tratada pelas indústrias farmacêuticas, já que contaminação microbiana leva a alterações na estabilidade das formulações, ocasionando mudanças de cor, odor, consistência e separação de fases (KOČEVAR GLAVACĀ e LUNDER, 2018). Portanto, mesmo em produtos não-estéreis, os padrões qualiquantitativos de microrganismos presentes na formulação devem ser definidos, assegurando que a carga microbiana esteja dentro dos limites especificados, o que possibilitará inocuidade e eficácia terapêutica ao usuário (MATOS e CRUZ, 2018).

Parabenos são os conservantes mais empregados na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética há mais de 70 anos. São os biocidas mais utilizados em cosméticos e seus principais representantes são etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno que podem ser utilizados sozinhos ou em associação a outros agentes conservantes (FRANSWAY *et al.*, 2019). Entre as diversas substâncias capazes de ocasionar reações indesejadas, parabenos foram relatados como aquelas mais sensibilizantes e causadoras de alergia/dermatite de

contato presentes em formulações cosméticas (HOPPE e PAIS, 2017). Esses compostos também alteram negativamente o sistema endócrino. Interferem nos receptores para andrógenos, estrógenos, glicocorticoides e progesterona, modulando a atividade enzimática sobre hormônios naturais, podendo também ter ação na síntese de esteroides (NOWAK *et al.*, 2018). Os parabenos foram associados a efeitos adversos na reprodução feminina, reduzindo fecundidade e prejudicando fertilidade (JUREWICZ *et al.*, 2020). Estudos relataram que a exposição materna a esses conservantes em cobaias pode contribuir para sobrepeso na infância (LEPPERT *et al.*, 2020). Há também associação entre uso de parabenos e síndrome metabólica em homens (KIM e CHEVRIER, 2020). Existem várias evidências epidemiológicas relacionando parabenos ao câncer de mama (LILLO *et al.*, 2017 e STIEL *et al.*, 2016).

O aumento do número de efeito indesejáveis causados pelos conservantes sintéticos, tem despertado interesse do consumidor pelos chamados “conservantes verdes” (KOČEVAR GLAVAČ e LUNDER, 2018). Como alternativa aos conservantes sintéticos, óleos essenciais e extratos vegetais criam um grupo de agentes antimicrobianos utilizados como conservantes naturais (HERMAN, 2019). Assim, a população tem intensificado o uso de formulações com componentes naturais, esperando ser menos alergênicos e evitando o acúmulo de metabólitos tóxicos. Neste cenário, as frutas são frequentemente utilizadas por serem consideradas mais seguras (SILVERBERG, 2017). Dentre as frutas utilizadas como ativos em fitoterapia pode-se citar o limão (KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ, SZOPA, EKIERT, 2020), abacaxi (CAMPOS *et al.*, 2020), goiaba (MOTA *et al.*, 2019), maçã (NEŠIĆ *et al.*, 2019), kiwi (D'ELISEO *et al.*, 2018), uva (BREZOIU *et al.*, 2019), mamão e banana (SIDDIQUE *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2016).

A banana pertence à família *Musaceae*, incluindo vários híbridos do gênero *Musa* e apresenta várias aplicações medicinais. Entre as 70 espécies disponíveis, Carl Von Linné (1707-1778) classificou as mais utilizadas como *Musa paradisiaca* e *Musa sapientum* (PEREIRA e MARASCHIN, 2015; AYOOLA-ORESANYA *et al.*, 2019; AUTA e KUMURYA, 2015). Por apresentar semelhanças genotípicas, alguns autores classificam *Musa paradisiaca* como variação heterotípica da *Musa sapientum* (NORMAYUNITA, ANAM e KHUMAIIDI, 2015; IBISI e ASOLUKA, 2018).

As cascas da banana verde (*Musa spp*) possuem uma gama de compostos bioativos como carotenoides, fenólicos e aminas, os quais são fontes de pró-vitaminas

(PEREIRA e MARASCHIN, 2015). Em outro estudo de Barroso *et al.* (2019) foram identificados 12 compostos de diferentes classes em extrato de *Musa cavendish*, incluindo derivados de ácidos fenólicos, aglicona flavonoides, flavonoides glicosídeos, taninos e catecolaminas.

A banana verde (*Musa spp*) é usada para ajudar a superar depressão, câncer e para aplicação tópica na cicatrização de feridas (PEREIRA e MARASCHIN, 2015; VIJAY, SHASHIKANT e MOHINI, 2019). Como cicatrizante, ela contém leucocianidina, flavonoide que induz proliferação celular, acelerando a cicatrização de feridas cutâneas (LEWIS, FIELDS e SHAW, 1999). Estudo realizado por Atzingen *et al.* (2013) demonstrou que gel contendo 4% de extrato da casca da banana verde (*Musa sapientum*) aplicado em feridas cirúrgicas de ratos, resultou no aumento de polimorfonucleares, redução da contração da ferida e da proliferação vascular e aumento da concentração de fibras de colágeno na área lesada. Em outro estudo, Atzingen *et al.* (2015) evidenciaram atividade anti-inflamatória e cicatrização de feridas na pele de ratos, após aplicação de gel na concentração de 10% do pó da casca da banana verde de mesmo gênero e espécie do trabalho anterior. A casca da banana verde (*Musa spp*) tem sido usada no tratamento de mamilos rachados e úlceras pépticas. Estudos com ratos demonstraram a eficácia da banana verde na prevenção e tratamento de úlceras pépticas, devido seu potencial cicatrizante (NOVAK *et al.*, 2003). Agarwal *et al.* (2009) relataram atividade de cicatrização de feridas no extrato aquoso e metanólico em ratos. Ambos os extratos de *Musa sapientum* aumentaram hidroxiprolina, ácido hexurônico, hexosamina, superóxido dismutase, bem como a força de ruptura da ferida e reduziram o nível de glutathione. Eles também diminuíram a área da ferida e da cicatriz, assim como a peroxidação lipídica.

As plantas medicinais possuem ampla variedade de metabólitos secundários com potencial antimicrobiano (AKRAM, 2020). De acordo com Siddique *et al.* (2018), a casca da banana verde (*Musa sapientum*) possui também em sua composição polifenóis, os taninos. Sendo os taninos apontados como inibidores do crescimento microbiano (RAITANEN *et al.*, 2020), pode-se qualificar a casca da banana verde como possível conservante natural (AHMED; HAFEZ E EISSAWY, 2018). Estudo de Loyola e colaboradores (2018) demonstra o potencial antimicrobiano e o efeito no processo de cicatrização do extrato da casca verde de *Musa sapientum* em pacientes portadores de úlceras venosas e feridas causadas pelo diabetes. Em outro estudo, Asoso *et al.* (2016) avaliaram a atividade antimicrobiana da casca e do fruto

da *Musa paradisiaca*. Ambos os extratos de casca da banana e frutos apresentaram potencial antibacteriano em bactérias Gram positivas e Gram negativas mais especialmente com extrato metanólico. Visando ao efeito antimicrobiano da casca da banana, optou-se pela casca verde dessa fruta, pois essa apresenta maior concentração de taninos do que a banana madura, já que à medida que as bananas amadurecem, o teor de taninos diminui e torna-se parte da polpa (SUNDARAM *et al.*, 2011).

A fitoterapia muitas vezes é questionada pela carência de eficácia clínica documentada e comprovação da segurança. O estigma da segurança e eficácia é removido quando o produto é desenvolvido e testado adequadamente (THORNFELDT, 2018). Para isso, testes de estabilidade em formulações, especialmente emulsões, são essenciais para garantir padrões de qualidade físicos e microbiológicos em diferentes condições de armazenamento (TEH e MAH, 2018), já que juntamente com temperatura, pH, oxigênio, umidade e luz são fatores que afetam a estabilidade das formulações (PATIL *et al.*, 2018).

Esse trabalho justifica-se, pois, sabendo-se que parabenos estão associados a grande número de efeitos adversos, formulação que apresente os próprios extratos vegetais como conservantes poderia ser alternativa. Dessa forma, tendo a casca da banana verde atividade cicatrizante e antimicrobiana, esse ativo poderia ser incorporado à formulação cosmética, originando fitocosmético com possível ação cicatrizante e sem adição de conservantes químicos.

2 OBJETIVOS

Desenvolver e avaliar estabilidade de formulação cosmética, utilizando extrato da casca de banana verde como “conservante verde”.

3 MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO E LOCAL DO ESTUDO

Trata-se de estudo experimental *in vitro*, explicativo/analítico com abordagem quali-quantitativa, realizado na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) em Alfenas-MG e Universidade do Vale do Sapucaí (UNIVÁS) em Pouso Alegre-MG.

3.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

3.2.1 Preparação do pó da casca da banana verde

Empregou-se banana *Musa sapientum*, que foi depositado no herbário da UNIVÁS na forma de exsicata, sob o número UNIVAS-003. De acordo com o uso desejado, a banana pode ser processada em vários estágios de maturação e pode ser classificada, de acordo com Von Loesecke (1950) (Figura 1) do estágio 1, casca verde; ao estágio 7, casca amarela com manchas pretas (EMAGA, WATHELET, PAQUOT, 2008). Foi utilizado o estágio 1 para selecionar as bananas, as quais eram homogêneas e de alta qualidade. Foram adquiridas pelo próprio pesquisador de um único fornecedor local.



Figura 1 – Escala de maturação das bananas, conforme Von Loesecke (1950)

As bananas foram lavadas utilizando-se bucha com detergente líquido. Após serem enxaguadas com água corrente, foram secas à temperatura ambiente (Figura 2). As bananas tiveram suas cascas retiradas e secas em estufa a 60°C (grau Celsius) por sete dias (Figura 3). Posteriormente, foram trituradas em moinho de facas e o pó foi peneirado. Esta etapa foi realizada no laboratório de botânica da UNIVÁS.



Figura 2 – Bananas verdes higienizadas



Figura 3 – Cascas de bananas verdes secas em estufa

3.2.2 Preparação dos extratos

Foram preparados, no setor de manipulação da Farmácia Universitária da UNIFAL, três extratos para serem testados, sendo um deles selecionado para compor a formulação fitocosmética.

Para o extrato 1 (hidroalcolólico), foram pesados 20 g (gramas) do pó da casca da banana verde e adicionados ao béquer juntamente com 40 g de água e 40g de álcool 96°GL (*Gay Lussac*). Essa mistura ficou em maceração, em frasco de vidro âmbar, por sete dias, sendo agitado diariamente e posteriormente filtrado em gaze. O extrato obtido foi mantido em geladeira, em frasco de vidro âmbar (Figura 4), até ser utilizado.



Figura 4 – Extratos hidroalcolólicos de pó da casca da banana verde armazenados em frascos de vidro âmbar

Para o extrato 2 (glicólico), foram pesados 20 g do pó da casca da banana verde e adicionados ao béquer juntamente com 20 g de propilenoglicol e 60 g de água. Após homogeneização, essa mistura ficou em maceração, em frasco de vidro âmbar, por sete dias, sendo agitado diariamente. Posteriormente, foi filtrado em gaze e em bomba de vácuo, conforme ilustrado abaixo (Figura 5). O extrato obtido também foi mantido em geladeira, em frasco de vidro âmbar, até ser utilizado.



Figura 5 – Filtração do extrato glicólico do pó da casca da banana verde em bomba de vácuo

Para o extrato 3 (glicólico), foi utilizada a mesma composição do extrato 2, porém foi empregado o aparelho de *Soxhlet*, realizando seis ciclos até completa exaustão dos ativos. Foi conectado o extrato de *Soxhlet* ao balão de fundo chata de junta esmerilhada de 500 mL. O conjunto foi conectado ao condensador e foi utilizado chapa aquecedora (Sinergia Científica; modelo 500 e 180 *watts*). Esse extrato foi preparado pelo laboratório de botânica da UNIVÁS e armazenado em frasco de vidro âmbar na geladeira.

3.2.3 Análise fitoquímica dos extratos

A detecção fitoquímica de flavonoides e taninos nos extratos foi adaptada da metodologia apresentada por Simões *et al.* (2010) e foi realizada no laboratório de Farmacognosia da UNIFAL.

3.2.3.1 Detecção de taninos

- Reação com cloreto férrico: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL (mililitros) do extrato. Posteriormente, adicionou-se 5 gotas de uma solução alcoólica de cloreto férrico a 2%. Agitou-se e foi observado o aparecimento de coloração cinza escura, indicando presença de taninos.
- Reação de precipitação com proteínas: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL do extrato. Foram adicionadas 5 gotas de ácido clorídrico 10% e agitou-se. Posteriormente, 5 gotas de uma solução de gelatina a 3% foram colocadas no tubo de ensaio. Agitou-se e foi observado o aparecimento do precipitado, que indica presença de taninos.
- Reação de precipitação com alcaloides: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL do extrato. Foram adicionadas 6 gotas de uma solução de sal alcaloídico e agitou-se. O aparecimento de precipitado ou de turvação indica presença de taninos.
- Reação com acetato de cobre: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL do extrato. Foram adicionadas 6 gotas de uma solução de acetato de cobre 3% e agitou-se. O aparecimento de precipitado ou de turvação indica presença de taninos.
- Reação para taninos condensados: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL de extrato. Ao tubo de ensaio, 0,5 mL de uma solução alcoólica de vanilina 1% e 1 mL de ácido clorídrico concentrado foram adicionados. O aparecimento de uma coloração vermelha indica presença de taninos condensados.

3.2.3.2 Detecção de flavonoides

- Reação de Shinoda: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL do extrato. Acrescentou-se cuidadosamente três fragmentos pequenos de magnésio metálico. Com o tubo de ensaio imerso em um banho de gelo, adicionou-se pelas paredes do tubo, 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O aparecimento de uma coloração rósea a vermelha indica presença de flavonoides.
- Reação com cloreto de alumínio: Pingou-se o extrato sobre o papel de filtro em dois lugares diferentes. Sobre um dos pontos onde foi aplicado o extrato, pingou-se 1 gota de solução alcoólica de cloreto de alumínio e observou-se na luz ultravioleta (254 a 325 nanômetros). A intensificação da fluorescência com mudança de cor para verde amarelado indica presença de flavonoides.
- Reação com cloreto férrico: Em tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL do extrato. Foram adicionadas 4 gotas de cloreto férrico. O aparecimento da cor azul escuro esverdeado indica presença de fenóis (taninos).

3.2.4 Caracterização por Cromatografia em Camada Delgada

Os extratos foram submetidos à análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), permitindo identificação de seus componentes. A CCD foi realizada no laboratório de Farmacognosia da UNIFAL e seguiu metodologia proposta por Wagner, Bladt e Zgainsky (2009).

As soluções extrativas preparadas foram primeiramente secas até resíduo, em chapa de aquecimento a 50°C, para a concentração dos metabólitos (Figura 6).



Figura 6 – Secagem das soluções extrativas em chapa aquecedora

Após esta etapa, cada um dos extratos secos obtidos foi dissolvido, separadamente, em metanol, a fim de se obter uma concentração de 1,0 mg/mL (miligramas por mililitros). As análises cromatográficas foram feitas em microplacas de sílica gel (fase estacionária) 60 F254 (5 x 5 cm), utilizando uma mistura de acetato de etila, metanol, água e ácido acético glacial (81:11:6:2) como fase móvel, contida em cuba de vidro.

Para a identificação dos compostos químicos presentes, 10 µL(microlitros) das soluções-amostra e de soluções de padrões autênticos (Sigma®) na mesma concentração (1,0 mg/mL) – rutina, quercetina, ácido gálico, ácido tânico, catequina, quinina e linalol – foram aplicadas a cada uma das placas, de acordo com o tipo de revelador usado. Em seguida, cada placa, separadamente, foi submetida a reveladores diferentes: anisaldeído sulfúrico com aquecimento a 100°C (identificação geral), NP-PEG/UV (Difenilboriloxietilamina/polietilenoglicol/ Ultravioleta) e cloreto de alumínio/UV (flavonoides), cloreto férrico (compostos fenólicos), acetato de cobre (taninos em geral), vanilina clorídrica com aquecimento a 70°C (taninos condensados) e *Dragendorff* (alcaloides).

Todas as classes de substâncias foram determinadas pela comparação das colorações das manchas observadas nas placas, quando reveladas, com as colorações das classes padrões descritas na literatura.

3.3 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO

Foram desenvolvidas, inicialmente, quatro tipos distintos de bases galênicas (gel) sem adição de conservantes, acrescentando o extrato da casca da banana verde na concentração definida (50% do extrato que corresponde a 10% do pó, concentração que apresentou efeito antimicrobiano, segundo Loyola *et al.* (2018) e cicatrizante segundo Atzingen *et al.* (2015)). As fórmulas utilizadas seguiram composição (com exceção do conservante) e técnica de preparo descrita no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2012). Essas formulações foram desenvolvidas no setor de manipulação da Farmácia Universitária da UNIFAL.

Foram preparados géis de sepigel, carbopol, hidroxietilcelulose convencional e hidroxietilcelulose de alta viscosidade, sendo incorporados o extrato previamente preparado e esterilizado por radiação ionizante gerada por fontes de Cobalto 60 (⁶⁰Co). A esterilização foi necessária, pois análises microbiológicas da formulação inicial (Anexo 1) revelaram

contagem total de bactérias e fungos fora dos parâmetros estabelecidos em compêndios oficiais. A radioesterilização foi realizada pelo irradiador multipropósito do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), localizado na cidade universitária da Universidade de São Paulo (USP) em São Paulo-SP.

Almejou-se que estando o extrato vegetal estéril, os próprios componentes de ação antimicrobiana (taninos) conseguissem manter baixos os limites microbianos desse extrato e da formulação. Na Figura 7, a piscina no irradiador multipropósito compacto do IPEN – USP, onde foi realizada a radioesterilização. Na Figura 8, extratos glicólicos após o processo de esterilização por radiação ionizante.



Fonte: IPEN, 2020

Figura 7 – Piscina no irradiador com fonte de ^{60}Co exposta



Figura 8 – Extratos glicólicos esterilizados por radiação ionizante

No primeiro momento, foi selecionado gel de hidroxietilcelulose (natrosol) de alta viscosidade como veículo do extrato da casca da banana verde, já que as demais bases galênicas testadas não foram capazes de segurar o ativo.

Após os testes preliminares, houve necessidade de selecionar outra formulação, desenvolvendo uma cremosa, pois o gel não se mostrou estável durante os 15 dias de análise. A fórmula final selecionada (Figura 9), bem como suas respectivas concentrações e funções estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1– Matérias-primas utilizadas na formulação cremosa selecionada

Matéria-prima	Concentração	Fase	Função
Estearato de octila	5%	A	Emoliente
Cosmowax J	15%	A	Cêra autoemulsionável
BHT	0,05%	A	Antioxidante
Silicone volátil	3%	B	Emoliente
Propilenoglicol	15%	B	Umectante
EDTA	0,1%	B	Quelante
Extrato glicólico	50%	B	Cicatrizante/conservante
Água qsp	100%	B	Veículo

Cosmowax J (Cêra auto-emulsionante não-iônica)

Fase A (Fase aquosa)

Fase B (Fase oleosa)

EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético)

BHT (Butil Hidroxitolueno)

qsp (quantidade suficiente par

A fase A (oleosa) e a fase B (aquosa), com exceção do extrato, foram levadas ao aquecimento em banho-maria até temperatura de 65°C e 60°C, respectivamente. Verteu-se a fase B sobre a fase A, homogeneizando. Logo em seguida, acrescentou-se o extrato da casca da banana, agitando-se até obtenção da consistência cremosa. Completou-se peso com o veículo aquoso. O pH da formulação foi mantido entre cinco e seis.



Figura 9 – Formulação selecionada: cremosa e sem parabenos

3.4 REALIZAÇÃO DOS TESTES DE ESTABILIDADE

Uma vez que a formulação foi desenvolvida, o estudo da estabilidade objetivou monitorar a degradação de seus constituintes provocada por instabilidade físico-química, organoléptica ou mesmo microbiológica. Por isso, foram realizados testes e os parâmetros avaliados, definidos pelo pesquisador de acordo com as características da formulação.

Os testes foram executados no laboratório de controle de qualidade da Farmácia Universitária da UNIFAL, em triplicata (Figura 10), conforme preconizado pelo Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004).



Figura 10 – Formulações que foram submetidas aos estudos de estabilidade

3.4.1 Estabilidade Preliminar

Também conhecido como teste de triagem ou de curto prazo, visou à escolha das formulações. Empregaram-se condições extremas de temperaturas, acelerando possíveis reações entre seus componentes.

Os parâmetros avaliados:

- a) Características organolépticas: aspecto, cor, odor.
- b) Características físico-químicas: valor de pH e densidade.
- c) Características microbiológicas: no início dos testes.

As preparações foram armazenadas em potes brancos opacos de polietileno de alta densidade e estocadas em geladeira a $5 \pm 2^\circ\text{C}$, em temperatura ambiente ($27 \pm 2^\circ\text{C}$), em estufa termostaticada a $45 \pm 2^\circ\text{C}$ e em freezer a $-5 \pm 2^\circ\text{C}$. As preparações foram submetidas à avaliação macroscópica (características organolépticas) e do pH, durante 15 dias

consecutivos. Os testes de densidade foram realizados nos dias 0 para a amostra estocada em temperatura ambiente ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) e nos dias 7 e 15 para todas as amostras.

Cerca de 30g da amostra foram submetidas a condições extremas de temperaturas, nos chamados ciclos, totalizando ao longo do teste, seis ciclos. Os ciclos de congelamento e descongelamento alternaram 24 horas em temperaturas elevadas e 24 horas em temperaturas baixas, sendo os conjuntos realizados apresentados no Quadro 1, com variação de $\pm 2^\circ\text{C}$ na temperatura (ISAAC *et al.*, 2008). A determinação dos caracteres organolépticos, densidade e pH foram realizados no início e fim dos seis ciclos (12 dias), conforme sugerido por Lima *et al.* (2008).

Quadro 1 – Temperaturas utilizadas nos ciclos de congelamentos e descongelamentos, durante o teste de estabilidade preliminar

1º Ciclo (0 hora)	2º Ciclo (24 horas)	3º Ciclo (48 horas)	4º Ciclo (72 horas)	5º Ciclo (96 horas)	6º Ciclo (120 horas)
$40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$	$-5^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$	$45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$	$-5^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$	$50^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$	$-5^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$

Fonte: Adaptado de Isaac *et al.* (2008).

- Determinação do pH:

O pH foi determinado por potenciometria, utilizando-se pHmetro (peagâmetro) digital de bancada portátil, marca TecnoPON, fabricado por MS TecnoPON Instrumentação Científica, Brasil. O pHmetro foi devidamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 à temperatura de 25°C . A determinação do pH foi realizada em dispersão aquosa a 10% (peso por peso) das amostras em água purificada (BRASIL, 2004). O eletrodo foi inserido diretamente na dispersão aquosa sob agitação, resultando no pH da amostra (BRASIL, 2010).

- Determinação da densidade:

Determinou-se a massa do picnômetro vazio e a massa de seu conteúdo com água a 20°C . Transferiu-se a amostra para o picnômetro. Foi removido o excesso da substância e pesou-se. Obteve-se o peso da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. Calculou-se a densidade relativa, determinando a razão entre a massa da amostra e a massa da água, ambas a 20°C . Utilizou-se a densidade relativa para determinar a densidade de massa (r) que é calculada pela fórmula: $r = 0.99820 \times \text{densidade relativa a } 20^\circ\text{C} + 0.0012$ (BRASIL, 2019).

Os parâmetros de cada amostra foram anotados em formulário próprio, contendo avaliação das características organolépticas, bem como valores para os aspectos físico-químicos, conforme Quadro 2:

Quadro 2 – Formulário para coleta de dados das amostras durante os ensaios de estabilidade

Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3	
Organolépticos		Organolépticos		Organolépticos	
Aspecto		Aspecto		Aspecto	
Normal, sem alteração	()	Normal, sem alteração	()	Normal, sem alteração	()
Levemente separado, precipitado ou turvo	()	Levemente separado, precipitado ou turvo	()	Levemente separado, precipitado ou turvo	()
Separado, precipitado ou turvo	()	Separado, precipitado ou turvo	()	Separado, precipitado ou turvo	()
Cor		Cor		Cor	
Normal, sem alteração	()	Normal, sem alteração	()	Normal, sem alteração	()
Levemente modificada	()	Levemente modificada	()	Levemente modificada	()
Modificada	()	Modificada	()	Modificada	()
Intensamente modificada	()	Intensamente modificada	()	Intensamente modificada	()
Odor		Odor		Odor	
Normal, sem alteração	()	Normal, sem alteração	()	Normal, sem alteração	()
Levemente modificada	()	Levemente modificada	()	Levemente modificada	()
Modificada	()	Modificada	()	Modificada	()
Intensamente modificada	()	Intensamente modificada	()	Intensamente modificada	()
pH		pH		pH	
Densidade		Densidade		Densidade	

Segue no Quadro 3, representação esquemática dos testes de estabilidade preliminar:

Quadro 3 – Modelo esquemático proposto para os testes de estabilidade preliminar da formulação cremosa

AMBIENTES	TEMPO DOS ENSAIOS (dias)															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Geladeira (3 amostras)	-	Org. e pH	Organolépticos, pH, densidade	Org. e pH	Org. e pH	Org. e pH	Organolépticos, pH e densidade									
Freezer (3 amostras)	-	Org. e pH	Organolépticos, pH, densidade	Org. e pH	Org. e pH	Org. e pH	Organolépticos, pH e densidade									
Ambiente (3 amostras)	Organolépticos, pH, densidade, e microbiológico	Org. e pH	Organolépticos, pH, densidade	Org. e pH	Org. e pH	Org. e pH	Organolépticos, pH e densidade									
Estufa (3 amostras)	-	Org. e pH	Organolépticos, pH, densidade	Org. e pH	Org. e pH	Org. e pH	Organolépticos, pH e densidade									
Ciclos (6 ciclos) (3 amostras)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Organolépticos, pH e densidade	-	-	-

org.= organolépticos

3.4.2 Estabilidade Acelerada

A estabilidade acelerada, conhecida também como exploratória, teve como objetivo certificar a estabilidade do produto. As amostras foram submetidas às condições de *stress* por 90 dias.

Os parâmetros avaliados foram:

- Características organolépticas: aspecto, cor e odor.
- Características físico-químicas: valor de pH e densidade.
- Características microbiológicas: durante e após o estudo.

Para a realização do teste de estabilidade acelerada, os ensaios (características organolépticas, pH, densidade) foram realizados nos intervalos de 0, 24 horas, 7, 15, 30, 60 e 90 dias de análise, usando as mesmas condições de temperaturas e os mesmos testes do ensaio anterior.

No Quadro 4 encontra-se a representação esquemática dos testes de estabilidade acelerado:

Quadro 4 – Modelo esquemático proposto para os testes de estabilidade acelerada da formulação cremosa

AMBIENTES	TEMPO DOS ENSAIOS (dias)						
	0	24 HORAS	7	15	30	60	90
Geladeira (3 amostras)	–	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade
Freezer (3 amostras)	–	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade
Ambiente (3 amostras)	Organolépticos, pH, densidade e microbiológico	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH , densidade e microbiológico	Organolépticos, pH, densidade e microbiológico	Organolépticos, pH, densidade e microbiológico
Estufa (3 amostras)	–	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade	Organolépticos, pH e densidade

3.4.3 Teste de Prateleira

Também conhecido como estabilidade de longa duração ou *shelf life*, o teste de prateleira validou limites de estabilidade do produto. Nesse estudo, amostras representativas foram armazenadas à temperatura ambiente. Os mesmos testes organolépticos e físico-químicos foram realizados no tempo 0, 3 e 6 meses após a preparação da fitocosmético.

Segue no Quadro 5, a representação esquemática dos testes de estabilidade de prateleira:

Quadro 5 – Modelo esquemático proposto para os testes de estabilidade de prateleira da formulação cremosa

AMBIENTE	TEMPO DOS ENSAIOS (meses)		
	0	3	6
Ambiente (3 amostras)	Coincide com o acelerado no tempo 0	Coincide com o acelerado no tempo 90	Organolépticos, pH, densidade e microbiológico

A fim de avaliar sua capacidade antimicrobiana e ação conservante do extrato, foram realizados os seguintes ensaios microbiológicos específicos para produto acabado não-estéril de origem vegetal de uso tópico, conforme determina a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019).

- Contagem Total de Bactérias Viáveis;
- Contagem Total de Fungos e Leveduras;
- Pesquisa de *Staphylococcus aureus*;
- Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*;
- Pesquisa de *Escherichia coli*;
- Pesquisa de *Salmonella* spp.

Esses testes foram realizados nas amostras submetidas às condições de temperatura ambiente nos tempos 0, 30, 60, 90, 180.dias, abrangendo os períodos dos testes de estabilidade preliminar, acelerado e de prateleira. Essas análises foram terceirizadas ao Núcleo de Controle de Qualidade da UNIFAL.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados no Microsoft Excel 2016 e submetidos à análise estatística. Foram utilizadas medidas de tendência central para variáveis quantitativas e frequência absoluta e relativa para variáveis categóricas. Utilizaram-se o programa Minitab versão 18.1 e *Statistical Package for the Social Sciences*, inc. (SPSS) Chicago, USA, versão

22.0. Para avaliação dos resultados, foram aplicados análise de variância pelo teste de Levene. O nível de significância utilizado como critério de aceitação ou rejeição nos testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 SELEÇÃO DO EXTRATO

4.1.1 Análise fitoquímica e cromatográfica dos extratos

Na análise fitoquímica, os três extratos apresentaram resultados compatíveis com o proposto para a presença de flavonoides e taninos, excetuando-se a presença de taninos condensados. A intensidade da coloração e/ou turvação para o terceiro extrato foram evidentemente menos intensas. Os resultados encontram-se nos Quadros 6 e 7:

Quadro 6 - Análises fitoquímicas dos extratos para a detecção de taninos

Reação	Coloração/turvação/precipitação
Cloreto férrico	Cinza escuro
Precipitação com proteínas	Precipitado presente
Precipitação com alcaloides	Precipitado presente
Acetato de cobre	Turvação
Taninos condensados	Ausência da cor vermelha

Quadro 7 – Análises fitoquímicas dos extratos para a detecção de flavonoides

Reação	Coloração
Shinoda	Róseo
Cloreto de alumínio	Fluorescência
Cloreto férrico	Azul

Abaixo seguem os cromatogramas obtidos para os três extratos (Extratos 1, 2 e 3), utilizando-se diferentes padrões e reveladores:



Figura 11 – Cromatograma de identificação geral dos compostos do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3), utilizando-se como padrões a Quercetina (Qc) e Linalol (Lin), reveladores Anisaldeído sulfúrico com aquecimento a 100°C.

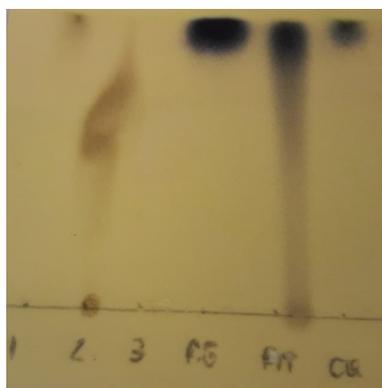


Figura 12 – Cromatograma de identificação de fenóis do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3) , utilizando-se como padrões o Ácido Gálico (AG), Ácido Tânico (AT), Catequina (CQ) e revelador cloreto férrico.

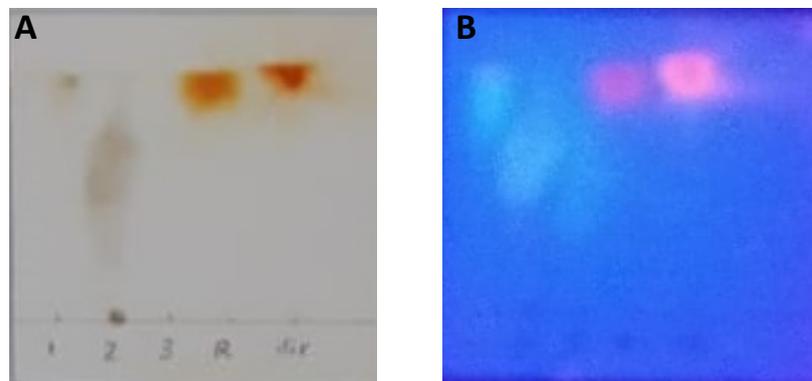


Figura 13 – Cromatograma de identificação de flavonoides (A) do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3), utilizando-se como padrões a Rutina (R), Quercetina (QC) e revelador NP-PEG, seguido de UV (Ultravioleta) (B).

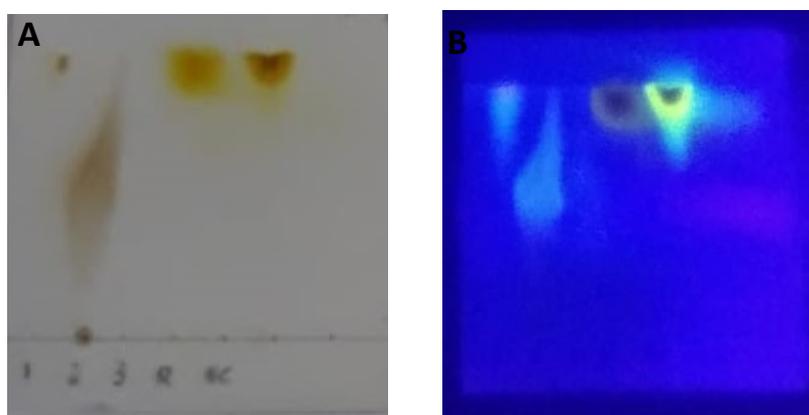


Figura 14 - Cromatograma de identificação de flavonoides (A) do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3), utilizando-se como padrões a Rutina (R), Quercetina (QC) e revelador cloreto de alumínio, seguido de UV (Ultravioleta) (B).

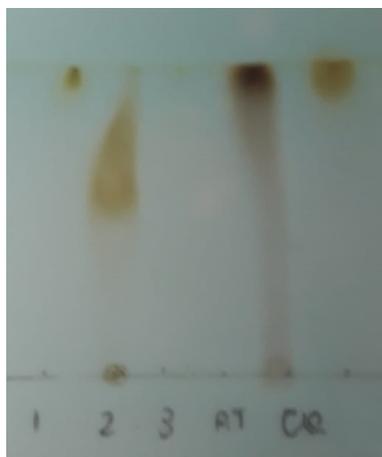


Figura 15 – Cromatograma de identificação de taninos (geral) do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3), utilizando-se como padrões o Ácido Tânico (AT), Catequina (CQ) e revelador Acetato de Cobre.



Figura 16 – Cromatograma de identificação de taninos condensados do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3), utilizando-se como padrão Catequina (CQ) e revelador vanilina clorídrica com aquecimento a 70°C.



Figura 17 – Cromatograma de identificação de alcaloides do Extrato 1 (1), Extrato 2 (2), Extrato 3 (3), utilizando-se como padrão a Quinina (QN) e revelador solução de *Dragendorff*.

A análise dos cromatogramas revelou, especialmente para o extrato 2, presença de compostos químicos fenólicos. A fluorescência indicou flavonoides, já a coloração marrom-alaranjada do extrato 2 evidenciou a presença de taninos, porém não deixou claro existência de taninos condensados. O cromatograma também mostrou ausência de alcalóides.

O extrato glicólico 2, apresentando melhor perfil cromatográfico para flavonoides e taninos, foi selecionado para ser incorporado à formulação.

4.2 TESTES DE ESTABILIDADE

4.2.1 Estabilidade Preliminar

Durante os 15 dias de estudo, características organolépticas e físico-químicas das amostras submetidas às temperaturas de geladeira, freezer, estufa, ambiente e ciclos foram avaliadas e não foram observadas alterações no aspecto, cor e odor. Os resultados das características físico-químicas (média aritmética do pH e densidade das três amostras) durante o estudo de estabilidade preliminar foram demonstrados nas Figuras 18, 19, 20 e 21 e não apresentaram variações significativas, de acordo com o teste de Levene ($p > 0,05$).

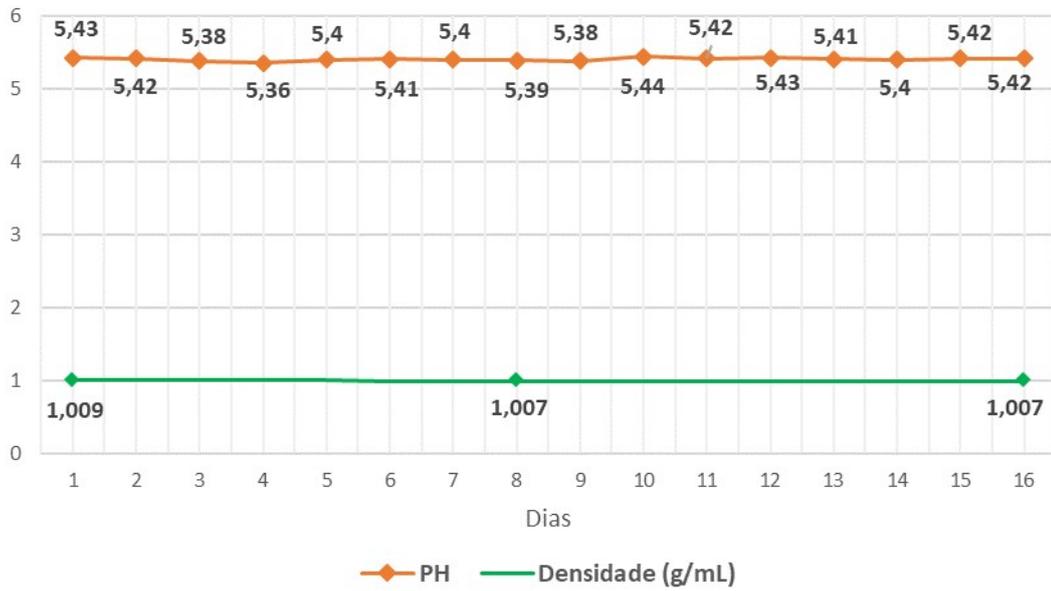


Figura 18 – Características físico-química das amostras armazenadas em temperatura ambiente durante os 15 dias do estudo de estabilidade preliminar, sem diferença estatística de acordo com Levene

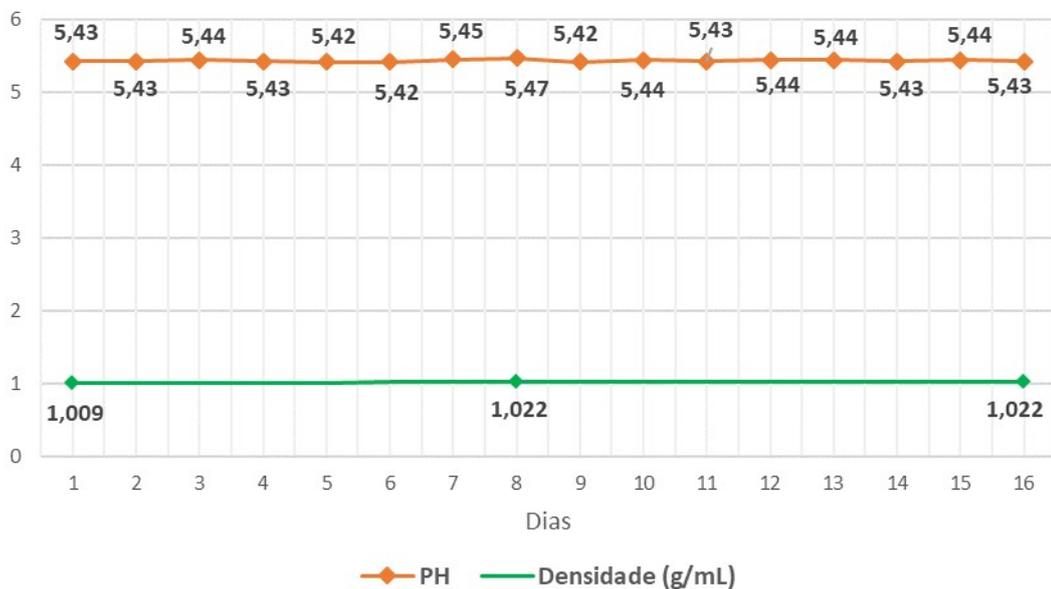


Figura 19 – Características físico-química das amostras armazenadas no freezer durante os 15 dias do estudo de estabilidade preliminar, sem diferença estatística de acordo com Levene

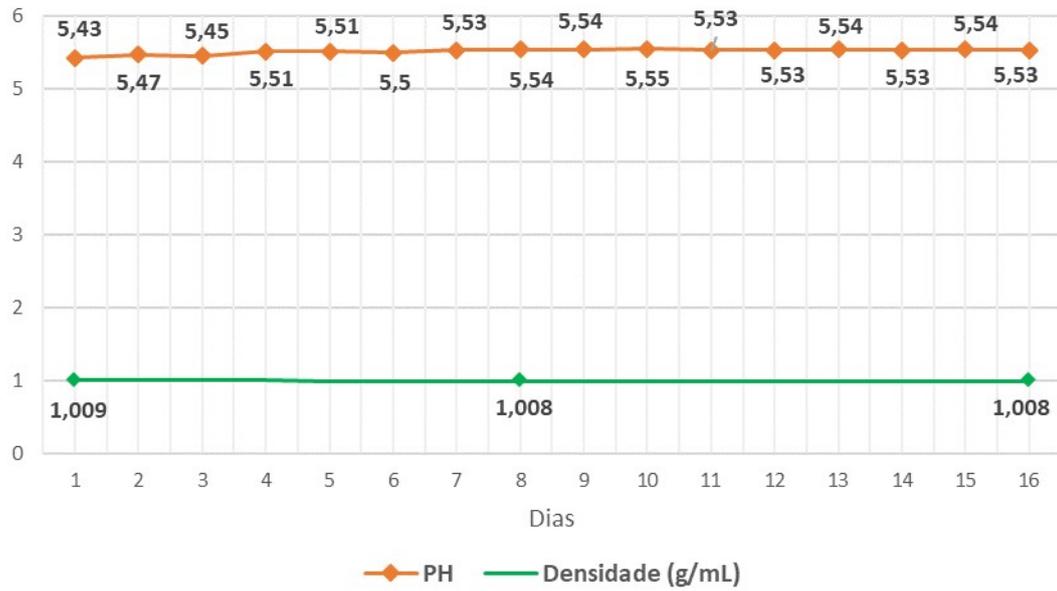


Figura 20 – Características físico-química das amostras armazenadas na geladeira durante os 15 dias do estudo de estabilidade preliminar, sem diferença estatística de acordo com Levene

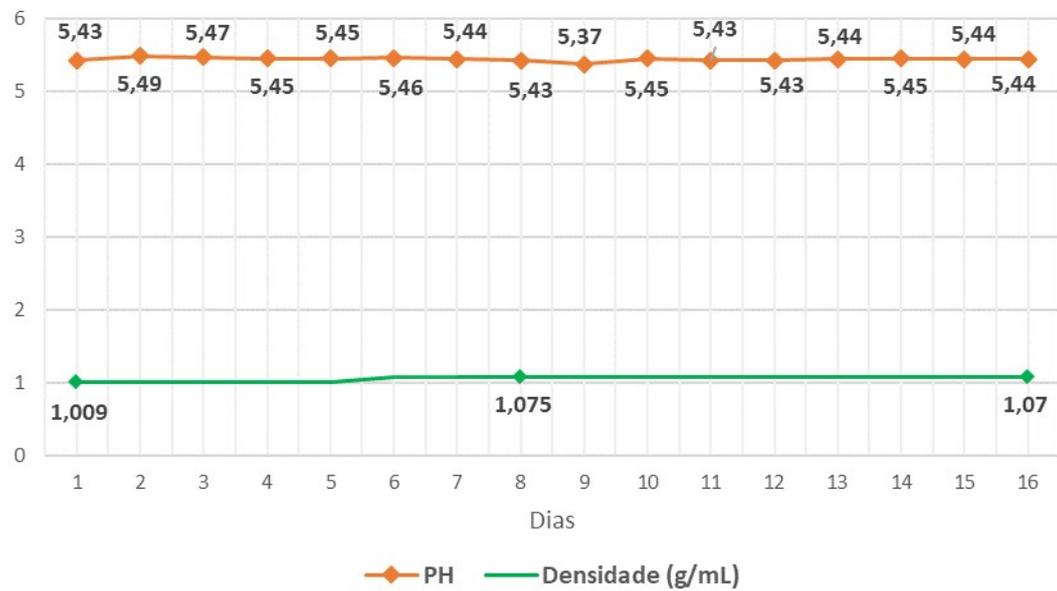


Figura 21 – Características físico-química das amostras armazenadas na estufa durante os 15 dias do estudo de estabilidade preliminar, sem diferença estatística de acordo com Levene

As amostras submetidas aos ciclos gelo-degelo não tiveram alterações nas características organolépticas. O pH médio após os seis ciclos passou a ser 5,44 e a densidade de 1,008 g/mL, sem alterações significativas ($p>0,05$).

4.2.2 Estabilidade Acelerada

As características organolépticas e físico-químicas das amostras submetidas a diferentes temperaturas durante estudo de estabilidade acelerada foram descritas nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 e Figuras 22, 23, 24 e 25, respectivamente. As características físico-químicas também não apresentaram variações significativas ($p>0,05$), de acordo com o teste de Levene.

Tabela 2 – Características organolépticas das amostras submetidas à temperatura ambiente durante a estabilidade acelerada

Temperatura Ambiente (27°C±2°C)							
Aspecto							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N
Cor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N
Odor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N

N = Normal, LM = Levemente modificado, M = Modificado, IM = Intensamente modificado

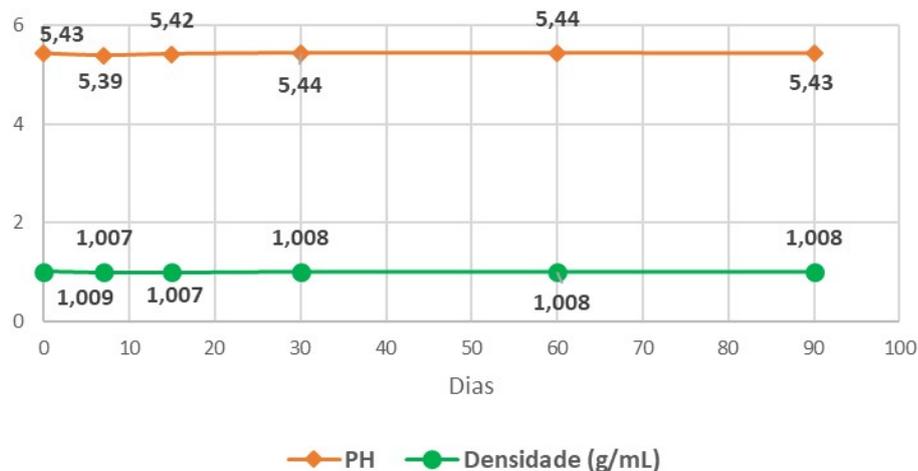


Figura 22 – Características físico-química das amostras armazenadas na temperatura ambiente durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerado, sem diferença estatística de acordo com Levene

Tabela 3 – Características organolépticas das amostras submetidas ao freezer durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerada

Temperatura Freezer (-5°C ± 2°C)							
Aspecto							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N
Cor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N
Odor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N

N = Normal, LM = Levemente modificado, M = Modificado, IM = Intensamente modificado

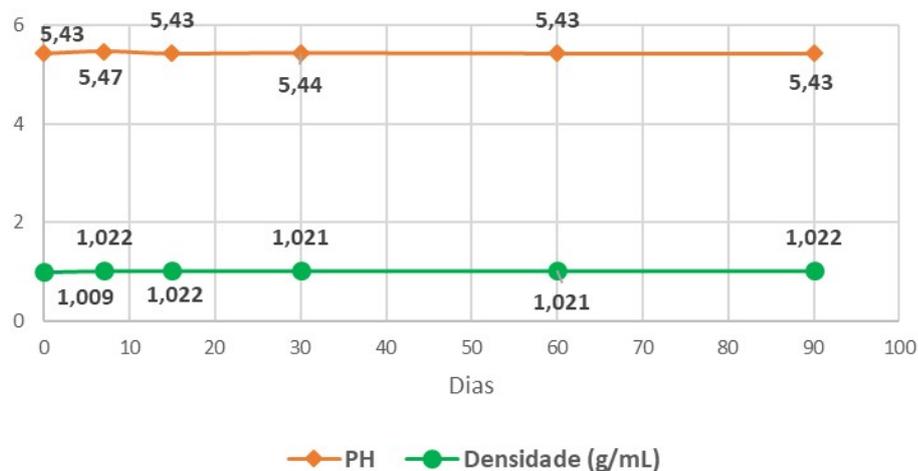


Figura 23 – Características físico-química das amostras armazenadas no freezer durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerado, sem diferença estatística de acordo com Levene

Tabela 4 – Características organolépticas das amostras submetidas à geladeira durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerada

Temperatura Geladeira ($5 \pm 2^\circ\text{C}$)							
Aspecto							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N
Cor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N
Odor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 2	N	N	N	N	N	N	N
Amostra 3	N	N	N	N	N	N	N

N = Normal, LM = Levemente modificado, M = Modificado, IM = Intensamente modificado

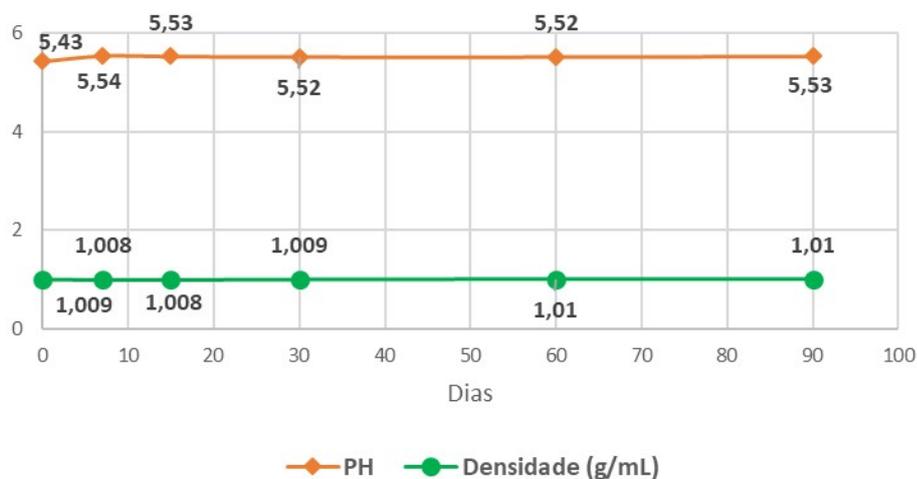


Figura 24 – Características físico-química das amostras armazenadas na geladeira durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerado, sem diferença estatística de acordo com Levene

Tabela 5 – Características organolépticas das amostras submetidas à estufa durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerada

Temperatura Estufa (45 ± 2°C)							
Aspecto							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	LM	LM	LM
Amostra 2	N	N	N	N	LM	LM	LM
Amostra 3	N	N	N	N	LM	LM	LM
Cor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	LM	LM	LM
Amostra 2	N	N	N	N	LM	LM	LM
Amostra 3	N	N	N	N	LM	LM	LM
Odor							
Tempo (Dias)	0	1	7	15	30	60	90
Amostra 1	N	N	N	N	LM	LM	LM
Amostra 2	N	N	N	N	LM	LM	LM
Amostra 3	N	N	N	N	LM	LM	LM

N = Normal, LM = Levemente modificado, M = Modificado, IM = Intensamente modificado

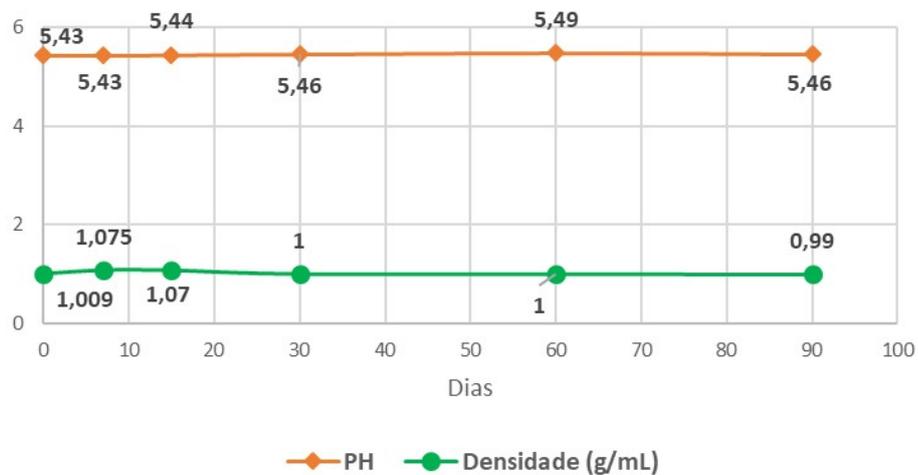


Figura 25 – Características físico-química das amostras armazenadas na estufa durante os 90 dias do estudo de estabilidade acelerado, sem diferença estatística de acordo com Levene

4.2.3 Estabilidade de Prateleira

As características organolépticas e físico-químicas das amostras à temperatura ambiente durante estudo de estabilidade de prateleira estão descritas na Tabela 6 e Figura 26, respectivamente. O pH e a densidade não tiveram variações significativas ($p > 0.05$) durante esse estudo.

Tabela 6 – Características organolépticas das amostras submetidas à temperatura ambiente durante a estabilidade de prateleira

Temperatura Ambiente (27°C±2°C)			
Aspecto			
Tempo (Meses)	0	3	6
Amostra 1	N	N	N
Amostra 2	N	N	N
Amostra 3	N	N	N
Cor			
Tempo (Meses)	0	3	6
Amostra 1	N	N	N
Amostra 2	N	N	N
Amostra 3	N	N	N
Odor			
Tempo (Meses)	0	3	6
Amostra 1	N	N	N
Amostra 2	N	N	N
Amostra 3	N	N	N

N = Normal, LM = Levemente modificado, M = Modificado, IM = Intensamente modificado

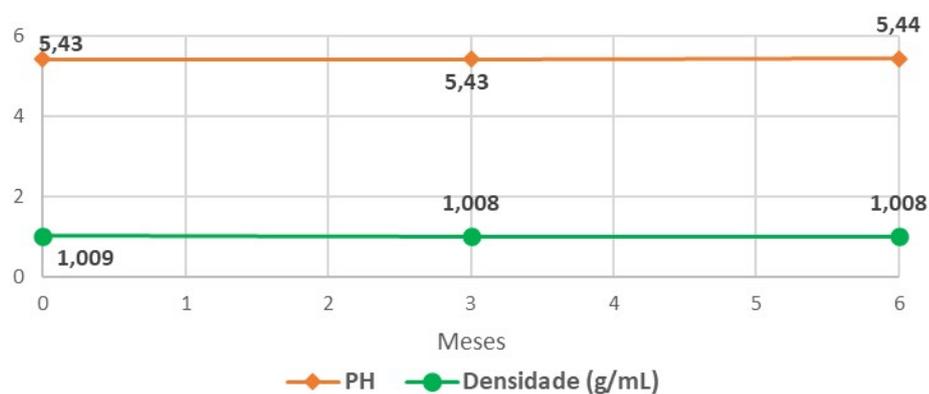


Figura 26 - Características físico-química das amostras armazenadas na temperatura ambiente durante os 180 dias de estudo de estabilidade de prateleira, sem diferença estatística de acordo com Levene

4.3 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

Os laudos resultantes das análises microbiológicas das formulações estão nos Anexos 2 a 6 e revelaram os seguintes resultados de acordo com a Tabela 7:

Tabela 7 – Resultados dos ensaios microbiológicos durante os estudos de estabilidade

Ensaio Microbiológico	Tempo (dias)				
	0	30	60	90	180
Contagem total de bactérias viáveis (UFC/g)	< 01	10	01	< 01	< 01
Contagem total de fungos e leveduras (UFC/g)	< 01	< 01	< 01	< 01	< 01
Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Pesquisa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø

UFC/g = Unidade Formadora de Colônia por grama de produto

Ø = Ausente

4.4 PRODUTOS

- **Produto 1**

Foi obtida formulação cremosa com prazo de validade determinado e sem adição de conservantes químicos. A formulação final apresentou-se estável por, no mínimo, 180 dias nos testes de estabilidade de prateleira, mantendo suas características físico-químicas durante a estabilidade preliminar e acelerada, conforme Figura 27.



Figura 27 – Formulação cremosa estável por no mínimo 180 dias

Este produto teve sua patente depositada junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), tendo como número de processo: BR 10 2020 026725 6 (Anexo 7).

- **Produto 2**

Padronização da técnica de extração glicólica da casca da banana verde.

- **Produto 3**

Testes propostos para a formulação, bem como sua sequência para avaliar a estabilidade nos estudos preliminar, acelerado e de prateleira que foram publicados no *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences* (ISSN: 2349- 2759) em 15 de outubro de 2020 com o título: ``METHODS FOR ASSESSING THE STABILITY OF PHYTocosMETICS``, conforme Figura 28.



Research article

Methods for assessing the stability of phytocosmetics

Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon¹, Milena Carla Espósito¹,
Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça², Jaqueline Joice Muniz^{2*}

¹Federal University of Alfenas (UNIFAL), Faculty of Pharmaceutical Sciences, School-Pharmacy, Alfenas-MG, Brazil.

²Vale do Sapucaí University (UNIVAS), Professional Master's Degree in Applied Health Sciences, Pouso Alegre-MG, Brazil.

Received on: 26/08/2020, Revised on: 06/09/2020, Accepted on: 28/09/2020, Published on: 15/10/2020.

*Corresponding Author : Jaqueline Joice Muniz, Vale do Sapucaí, University - Professional Master's Degree in Applied Health Sciences, 470, Prefeito Tuany Toledo, Av. - Fátima, Pouso Alegre – MG – Brazil, ZIP: 37554-210.
Email id: jaquelinejoice@yahoo.com.br

Copyright © 2020 Jaqueline Joice Muniz *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial-Share Alike 4.0 International License which allows others to remix, tweak, and build upon the work non-commercially, as long as the author is credited and the new creations are licensed under the identical terms.

Keywords: Cosmetic Stability,
Phytotherapy, Plant Extracts, Shelf life,
Date of Validity of Products.

Vol. 7 (4): 13-19, Oct-Dec, 2020.

Abstract

Plant-based cosmetics are currently an important focus of product research and development. The formulation of phytocosmetics is challenging, since the function of its components must be kept stable and conserved. For this, stability tests in formulations are essential to guarantee physical and microbiological quality standards under different storage conditions. Since the parameters can be defined by the researcher, the objective was to propose a sequence of stability tests to be used for a creamy phytocosmetic formulation, using green banana peel extract as an active ingredient. Organoleptic, physical-chemical and microbiological tests have been proposed for preliminary, accelerated and shelf stability studies. The developed formulation remained microbiologically stable during the stability studies. Having its organoleptic and physical-chemical characteristics also preserved during the 6 months of the shelf test, it is possible to determine the minimum validity period of the formulation of 180 days. The proposed test sequence establishes a protocol to evaluate the stability of phytocosmetics and consists of physical-chemical tests compatible with the structure of pharmacies, allowing to determine the shelf life of the products handled.

Figura 28 – Artigo publicado no *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences* em outubro de 2020

5 DISCUSSÃO

Brasil, Índia e Filipinas são os principais países produtores de bananas. Essas frutas estão disponíveis o ano todo e crescem em grande variedade de ambientes (MADUWANTHI e MARAPANA, 2019). Dessa forma, há facilidade na aquisição do ativo da formulação proposta. Além disso, o baixo custo do fitocosmético facilita o acesso à população. Masiukovich, Murtazashvili e Bakuridze (2018) defendem a busca por produtos naturais com propriedade físico-químicas vantajosas que podem substituir as preparações mais caras.

Além disso, ao se utilizar as cascas de banana verde evita-se o desperdício, concordando com Mathew e Negi (2017) que o uso de subprodutos de frutas em grande parte desprezados cria potencial para o uso sustentável desses materiais. A casca da banana representa de 35 a 40% do peso total da banana e quantidades significativas de resíduos são gerados no processo industrial de diversos tipos de produtos que utilizam a banana como matéria-prima. Sem qualquer tipo de tratamento, essas cascas são descartadas no ambiente, levando a sérios riscos ambientais (PALACIOS *et al.*, 2017). Portanto, a utilização da casca da banana verde como ativo pode contribuir para solucionar esse problema ambiental.

O efeito cicatrizante da casca da banana verde já foi demonstrado em vários trabalhos. Optou-se por empregar a concentração de 10% do pó da casca da banana verde como proposto por Atzingen *et al.* (2015), o qual apresentou ação anti-inflamatória e estimulou a cicatrização de feridas em cobaias.

O risco de infecção em feridas crônicas não cicatrizadas é uma das grandes preocupações médicas (AMPAWONG e ARAMWIT, 2017). Visando atender essa demanda, a casca da banana verde, possuindo ativo de ação antimicrobiana, possibilita a cicatrização e evita infecções cutâneas (JOUNEGHANI *et al.*, 2020).

A casca da banana verde *Musa acuminata* já foi utilizada como conservante de carnes em estudo realizado por Ahmed; Hafez e Eissawy (2018) em que o extrato aquoso da casca da banana apresentou efeito contra *Staphylococcus aureus* em diferentes concentrações. A ação da casca de *Musa cavendishi* contra *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* foi comprovada por Mokbel e Hashinaga (2005) e a atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* e *Aeromonas hydrophila* por Singh *et al.* (2013). Além disso, a casca da banana verde *Musa*

paradisiaca também apresentou atividade contra *Porphyromonas gingivalis* (KAPADIA, PUDAKALKATTI e SHIVANAİKAR, 2015) que são as causadoras da periodontite. Dessa forma, tendo ação antimicrobiana demonstrada em vários estudos, a casca da banana verde *Musa spp* pode ser utilizada como conservante em formulações cosméticas.

A maioria dos produtos cosméticos contém ingredientes ativos ou excipientes nocivos. Os componentes particularmente preocupantes são os agentes cancerígenos, alergênicos e desreguladores endócrinos (SINGH *et al.*, 2019). A formulação desenvolvida conta com ativo natural e livre de parabenos, que estão entre as substâncias mais alergênicas contidas nos cosméticos.

A formulação livre de parabenos possui maior segurança na utilização durante a gestação e lactação. Complicações que ocorrem durante a gravidez pode ter impacto no desenvolvimento da criança, por isso mulheres grávidas estão no grupo de cuidados especiais. Pycke *et al.* (2015) descobriram que a concentração de parabenos no sangue do cordão umbilical era cerca de 10 vezes menor que a da urina de mulheres grávidas. A presença de parabenos no leite também é evidenciado por Souza *et al.* (2016) que encontraram 100% de presença de metilparabeno, etilparabeno e propilparabeno e 25% de butilparabeno nas amostras de leite estudadas.

Cosméticos contendo parabenos podem também ter efeitos nocivos na pele quando expostos à luz solar. Estudo realizado por Handa *et al.* (2006) investigou os efeitos da exposição ao ultravioleta-B (UVB) nos queratinócitos da pele humana tratados com metilparabeno. A exposição ao UVB aumentou significativamente a morte celular, estresse oxidativo, produção de óxido nítrico, peroxidação lipídica e ativação dos fatores de transcrição nos queratinócitos. Dessa forma, produtos sem parabenos são mais seguro para ser empregado na pele ao se expor à radiação solar.

O produto desenvolvido no presente estudo também apresenta apelo sustentável, já que de acordo com Xue *et al.*, (2017) a contaminação da água potável aumentou consideravelmente com o crescimento da produção dos parabenos, levando absorção desses compostos pelos animais aquáticos. Foram documentados presença de parabenos e seus metabólitos em peixes, algas marinhas, além de manguezais e sedimentos oceânicos.

Com o objetivo de conhecer os constituintes químicos naturais presentes nos extratos propostos da casca da banana verde, foram realizados testes fitoquímicos e cromatográficos. Esse é um diferencial do extrato desenvolvido, já que até o presente estudo,

nesta linha de pesquisa, não foram realizados testes qualitativos. Segundo Simões (2010), testes fitoquímicos e cromatográficos consistem em triagem de classes de metabólitos secundários, permitindo avaliar sua presença em determinado material e posteriormente, realizar a extração dessas substâncias de interesse farmacológico.

Os limites microbianos de cosméticos são bem restritos e de acordo com Brasil (2019), um produto acabado deve apresentar valor inferior a 1000 UFC/g e 100 UFC/g para a contagem total de bactérias viáveis e fungos/leveduras, respectivamente; ausência/1g de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e ausência/10g de *Salmonella* spp. A carga microbiana do extrato vegetal, nas indústrias, é bem reduzida, já que são adicionados parabenos. Não sendo possível a utilização de tal conservante sintético, para a incorporação do extrato na formulação, houve necessidade de selecionar um método de esterilização a frio, pois altas temperaturas podem degradar as substâncias bioativas e termosensíveis presentes no extrato (GARCIA *et al.*, 2010). Utilizou-se, portanto, radiação gama que, de acordo com Padoveze e Graziano (2010), é um método que utiliza baixas temperaturas. A radioesterilização consiste em processo não térmico que inativa microrganismos, expondo os materiais à radiação ionizante que inclui principalmente raios gama (proveniente do cobalto 60), raios X e feixe de elétrons. Tem a vantagem de ser processo altamente eficaz, de fácil controle e baixo custo de energia (HUANG, ZHANG, BHANDARI, 2019). Atualmente, a radiação gama é utilizada para esterilização de frascos, embalagens, fármacos, chás, fitoterápicos, cosméticos, entre outros. Uma das principais vantagens da esterilização por radiação decorre de sua capacidade de destruir microrganismos contaminantes, preservando as propriedades e características do produto. É um processo seguro e confiável, já que nenhum resíduo ou radioatividade permanece no produto (HAMAAD, 2008).

A formulação apresenta inovação em sua técnica de preparação. Primeiramente, foi apresentado a incorporação do extrato glicólico ao invés do pó da casca da banana. Esse desenvolvimento de fitoterápico padronizado agrega valor tecnológico ao cosmético contendo plantas medicinais, ao contrário das formulações que contém apenas material vegetal moído (KLEIN *et al.*, 2009).

Outra inovação consistiu na substituição da água da fase aquosa da emulsão (creme) pelo extrato glicólico vegetal. Buscou-se também uma formulação livre de parabenos como novidade, que de acordo com Buhler e Ferreira (2008) tem levado muitas indústrias a

desenvolver produtos terapêuticos com finalidade de proporcionar bem-estar físico e emocional, apresentando sempre uma inovação.

O pH ideal da pele é entre quatro e sete e formulações de uso tópico devem atender a esse parâmetro (BLAAK e STAIB, 2018). Estudos de Brown, Ashley e Koh (2018) revelaram que feridas crônicas exibem no leito das feridas pH ligeiramente básico entre 7.15 a 8.8. O fitocosmético desenvolvido teve seu pH mantido entre cinco e seis, o que aumenta a atividade dos fibroblastos, diminui o crescimento bacteriano e conseqüente infecção, diminui formação anormal de colágeno, favorecendo a cicatrização adequada.

A formulação de produtos cosméticos é desafiadora. O consumidor deseja produtos eficazes, seguros e atraentes. Para isso, segundo Thornfeldt (2018), a formulação deve ser produzida de maneira a manter a estabilidade e função de seus componentes. O autor ainda afirma que dentro da formulação, múltiplas reações químicas podem ocorrer por interação entre os componentes, por isso testes são essenciais para a eficácia e segurança do produto final. Sobretudo, testes de estabilidade são importantes para produtos com extratos vegetais, pois contém múltiplas moléculas reativas.

Os parâmetros a serem avaliados nos testes de estabilidade são determinados pelo pesquisador e dependem tanto das características do produto, como dos componentes da formulação. Podem ser classificados em organolépticos, físico-químicos e microbiológicos (BRASIL, 2004; ISAAC *et al.*, 2008). Diante do exposto, foi proposta uma sequência de testes de estabilidade a serem utilizados para o fitocosmético desenvolvido, envolvendo análises físico-químicas e microbiológicas. Assim, os farmacêuticos trazem contribuições especializadas na obtenção, garantia da qualidade e segurança dos produtos fitoterápicos (PAINE e ROE, 2018). Tendo as características organolépticas, físico-químicas e microbiológicas preservadas durante os seis meses do teste de prateleira, determinou-se o prazo de validade mínimo da formulação de 180 dias.

Como limitação do estudo e perspectivas de novas pesquisas, pode-se citar a pesquisa clínica ainda não realizada com o produto para comprovação do efeito cicatrizante em diversas lesões teciduais.

5.1 APLICABILIDADE

Os conservantes mais utilizados em fórmulas de uso externo, os parabenos, estão associados a vários efeitos indesejáveis. Assim, a casca da banana verde possibilitou obtenção de um fitocosmético livre de parabenos. Com a casca verde desta fruta, que possui ação cicatrizante e antimicrobiana devidamente comprovada em estudos anteriores, foi desenvolvida formulação que poderá ser utilizada amplamente em feridas agudas e crônicas. Outros estudos poderão ser realizados empregando o extrato puro e a formulação fitocosmética em vários tipos de lesões teciduais.

O extrato glicólico da casca da banana verde desenvolvido poderá ser incorporado em outras formas farmacêuticas, originando diversos produtos com inúmeras aplicações como: no uso em prevenção de lesões teciduais e em melasmas,

Os ensaios propostos, bem como a sequência dos estudos de estabilidade preliminar, acelerado e de prateleira poderão ser utilizados no desenvolvimento de novas formulações fitocosméticas, garantindo segurança e qualidade dos produtos. Os testes, podendo ser realizados empregando a estrutura básica de uma farmácia de manipulação, auxiliará esses estabelecimentos a determinarem o prazo de validade de seus produtos fitocosméticos.

5.2 IMPACTO PARA A SOCIEDADE

A demanda por ingredientes naturais para cosméticos está aumentando devido aos benefícios funcionais e apelo ambiental. Assim, os fitocosméticos estão inseridos no mercado de produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos, ampliando significativamente a participação no comércio mundial.

Recentemente, tem havido interesse renomado na identificação de compostos ativos derivados de plantas, sendo amplamente utilizados na indústria de cosméticos devido às suas vantagens. Os fitoterápicos são alternativas para tratamento e controle das lesões teciduais, com baixos índices de efeitos colaterais e custos reduzidos de tratamento com alta eficácia.

A banana é uma fruta com usos terapêuticos aclamados, cultivada amplamente nos trópicos como fonte de alimento e renda para as pessoas. É muito aceita pela população,

já que possui agradáveis aspectos sensoriais e valores nutracêuticos significativos, sendo fonte de carboidratos, minerais (potássio) e vitaminas. Além disso, ela está disponível para consumo o ano inteiro, possui baixo custo e é de fácil acesso. A casca da banana verde possibilitou, portanto, a obtenção de fitocosmético que pode satisfazer a expectativa do consumidor pela obtenção de produto cosmeticamente atrativo, física e quimicamente estável e de baixo custo.

Grande parte das cascas de banana verde são desprezadas ou utilizadas na alimentação animal, bem como na compostagem. O descarte inadequado dessas cascas pode acarretar impacto ambiental significativo ao serem lançadas em rios e nascentes, levando a desequilíbrio do ecossistema aquático, já que eleva a demanda bioquímica por oxigênio.

Com o advento do conceito “Extração Verde”, citado por Chemat, Vian e Cravotto (2012), têm-se adotado diminuição da utilização de solventes petroquímicos e compostos orgânicos voláteis nos processos extrativos. A maioria dos solventes orgânicos é inflamável, volátil, frequentemente tóxico e são responsáveis pela poluição ambiental e pelo efeito estufa. Portanto, segurança, meio ambiente e aspectos econômicos estão voltando-se para o emprego dos solventes “verdes”, como o principal solvente utilizado neste estudo: a água. Além disso, Propilenoglicol também utilizado como solvente extrator é aplicado em extração verde de produtos naturais por seu poder solvente, alta estabilidade química e térmica e baixa inflamabilidade.

Este estudo tornou-se relevante, pois apresentou possibilidade de utilizar a fruta, ou parte dela, com atividade antimicrobiana, como conservante em formulações cosméticas. Assim, esses ativos poderão ser efetivos contra microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos sintéticos comumente utilizados.

6 CONCLUSÃO

Foi desenvolvida formulação cremosa utilizando casca da banana verde como conservante natural, que se mostrou estável nas avaliações físicas, químicas e microbiológicas.

7 REFERÊNCIAS

- Agarwal PK, Singh A, Gaurav K, Goel S, Khanna HD, Goel RK. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) in rats. *Indian J Exp Biol.* 2009;47(1):32-40.
- Ahmed AM, Hafez TA, Eissawy MM. Effect of banana peel extract on sensory and bacteriological quality of marinated beef. *Escientific.* 2018;1(1):1-11.
- Akram M, Riaz M, Munir N, Rasul A, Daniyal M, Ali Shah SM, Shariati MA, Shaheen G, Akhtar N, Parveen F, Akhter N, Owais Ghauri A, Chishti AW, Usman Sarwar M, Said Khan F. Progress and prospects in the management of bacterial infections and developments in phytotherapeutic modalities. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2020;47(7):1107-19.
- Ampawong S, Aramwit P. A study of long-term stability and antimicrobial activity of chlorhexidine, polyhexamethylene biguanide, and silver nanoparticle incorporated in sericin-based wound dressing. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2017;28(13):1286-302.
- Asoso OS, Akharaiyi FC, Animba LS. Antibacterial activities of plantain (*Musa paradisiaca*) peel and fruit. *Der Pharmacia Lettre.* 2016;8(5):5-11.
- Atzingen DA, Mendonça AR, Filho M, Alvarenga VA, Assis VA, Penazzo AE, Muzetti JH, Rezende TS. Repair of surgical wounds in rats using a 10% unripe *Musa sapientum* peel gel. *Acta Cir Bras.* 2015;30(9):586-92.
- Atzingen DA, Gragnani A, Veiga DF, Abla LE, Cardoso LL, Ricardo T, Mendonça AR, Ferreira LM. Unripe *Musa sapientum* peel in the healing of surgical wounds in rats. *Acta Cir Bras.* 2013;28(1):33-8.
- Auta SA, Kumurya AS. Comparative proximate, mineral elements and antinutrients composition between *Musa sapientum* (Banana) and *Musa paradisiaca* (Plantain) pulp flour. *Sky J Biochem Res.* 2015;4(4):25-30.
- Ayoola-Oresanya IO, Sonibare MA, Gueye B, Paliwal R, Abberton MT, Morlock GE. Effect-directed profiling and identification of bioactive metabolites from field, in vitro-grown and acclimatized *Musa spp.* accessions using high-performance thin-layer chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2019:460774.
- Barroso WA, Abreu IC, Ribeiro LS, Rocha CQ, Souza HP, Lima TM. Chemical composition and cytotoxic screening of *Musa cavendish* green peels extract: Antiproliferative activity by activation of different cellular death types. *Toxicol In Vitro.* 2019;59:179-86.
- Blaak J, Staib P. The relation of pH and skin cleansing. *Curr Probl Dermatol.* 2018;54:132-42.

Brasil. Ministério Da Saúde. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. v.1, Brasília, 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/cosmeticos.pdf>> Acesso em: 08/05/19.

Brasil. Ministério Da Saúde ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Farmacopeia Brasileira, v.1, 7ª ed. Brasília, 2019. Disponível em <:<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259143/Volume+I+Pronto.pdf/4ff0dfe8-8a1d-46b9-84f7-7fa9673e1ee1>.> Acesso em 19/02/20.

Brasil. Ministério Da Saúde. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Farmacopeia Brasileira, v.1, 5ª ed. Brasília, 2010.

Brasil. Ministério Da Saúde. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Formulário Nacional Da Farmacopeia Brasileira, 2ª ed, Brasília, 2012.

Brasil. RDC nº 7, de 10 de fevereiro de 2015. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Diário Oficial da União, 10 fev 2015.

Brezoiu AM, Matei C, Deaconu M, Stanciuc AM, Trifan A, Gaspar-Pintiliescu A, Berger D. Polyphenols extract from grape pomace. Characterization and valorisation through encapsulation into mesoporous silica-type matrices. Food Chem Toxicol. 2019;133:110787.

Brown MS, Ashley B, Koh A. Wearable technology for chronic wound monitoring: Current dressings, advancements, and future prospects. Front Bioeng Biotechnol. 2018;6:47.

Buhler FV, Ferreira JR. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilex paraguariensis* St. Hil. a 5 e 10%. Rev Perspect. 2008;32:47-55.

Campos DA, Ribeiro TB, Teixeira JA, Pastrana L, Pintado MM. Integral valorization of pineapple (*Ananas comosus* L.) by-products through a green chemistry approach towards added value ingredients. Foods. 2020;9(1):1-21.

Carneiro FM, Silva MJP, Borges LL, Albernaz LC, Costa JDP. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais. 2014;3(2):44-75.

Chemat F, Vian MA, Cravotto G. Green extraction of natural products: Concept and principles. Int J Mol Sci. 2012;13(7):8615–27.

D'Eliseo D, Pannucci E, Bernini R, Campo M, Romani A, Santi L, Velotti F. In vitro studies on anti-inflammatory activities of kiwifruit peel extract in human THP-1 monocytes. J Ethnopharmacol. 2019;233:41-6.

Emaga HT, Wathelet B, Paquot M. Changements texturaux et biochimiques des fruits du bananier au cours de la maturation. Leur influence sur la préservation de la qualité du fruit et la maîtrise de la maturation. Biotechnology Agronomy Society and Environment. 2008; 12; 89–98.

Falzon CC, Balabanova A. Phytotherapy: An introduction to herbal medicine. *Prim Care*. 2017;44(2):217-27

Fransway AF, Fransway PJ, Belsito DV, Warshaw EM, Sasseville D, Fowler JF Jr, DeKoven JG, Pratt MD, Maibach HI, Taylor JS, Marks JG, Mathias CGT, DeLeo VA, Zirwas JM, Zug KA, Atwater AR, Silverberg J, Reeder MJ. Parabens. *Dermatitis*. 2019;30(1):3-31.

Garcia PS, Morales AS, Segura AC, Fernández G. Phenolic-Compound-Extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*. 2010; 5: 8813-26.

Halla N, Fernandes IP, Heleno SA, Costa P, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K, Rodrigues AE, Ferreira ICFR, Barreiro MF. Cosmetics preservation: A review on present strategies. *Molecules*. 2018;23(7):1-41.

Hamaad AA. Microbiological aspects of radiation sterilization. In: Trends in radiation sterilization of health care products. Viena: IAEA, 2008.

Handa O., Kokura S., Adachi S., Takagi T., Naito Y., Tanigawa T., Yoshida N., Yoshikawa T. Methylparaben potentiates UV-induced damage of skin keratinocytes. *Toxicology*. 2006;227(1-2):62-72.

Herman A. Antimicrobial ingredients as preservative booster and components of self-preserving cosmetic products. *Curr Microbiol*. 2019;76(6):744-54.

Hoppe AC, Pais MCN. Evaluation of paraben toxicity in cosmetics. *Revinter*. 2017;10(3):49-70.

Huang M, Zhang M, Bhandari B. Recent development in the application of alternative sterilization technologies to prepared dishes: A review. *Crit Ver Food Sci Nutr*. 2019;59(7):1188-96.

Ibisi NE, Asoluka CA. Use of agro-waste (*Musa paradisiaca* peels) as a sustainable biosorbent for toxic metal ions removal from contaminated water. *Chemistry International*. 2018; 4(1):52-59.

Isaac VLB, Cefali LC, Chiari BG, Oliveira CCLG, Salgado HRN, Corrêa MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocósméticos. *Revista de Ciências Farmacêuticas básica e Aplicada*. 2008;9(1):81-96.

Jarić S, Kostić O, Mataruga Z, Pavlović D, Pavlović M, Mitrović M, Pavlović P. Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe). *J Ethnopharmacol*. 2018;211:311-28.

Jouneghani RS, Castro AHF, Panda SK, Swennen R, Luyten W. Antimicrobial activity of selected banana cultivars against important human pathogens, including *Candida* biofilm. *Foods*. 2020;9(4):1-19.

Jurewicz J, Radwan M, Wielgomas B, Karwacka A, Klimowska A, Kałużny P, Radwan P, Hanke W. Parameters of ovarian reserve in relation to urinary concentrations of parabens. *Environ Health*. 2020;19(1):26.

Kapadia SP, Pudakalkatti OS, Shivanaikar, S. Detection of antimicrobial activity of banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. An in vitro study. *Con Temp Clin Dent*. 2015;6(4):496–99.

Kim J, Chevrier J. Exposure to parabens and prevalence of obesity and metabolic syndrome: An analysis of the Canadian Health Measures Survey. *Sci Total Environ*. 2020;713:135116

Klein T, Longhini R, Bruschi MI, Mello JCP. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada*. 2009;30(3):241–8.

Kočevár Glavač N, Lunder M. Preservative efficacy of selected antimicrobials of natural origin in a cosmetic emulsion. *Int J Cosmet Sci*. 2018; 40(3):276-84.

Klimek-Szczykutowicz M, Szopa A, Ekiert H. *Citrus limon* (Lemon) phenomenon-A review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies. *Plants (Basel)*. 2020;9(1):1-24.

Kyaw MS, Aye MM, Grinnell M, Rabach M. Traditional and ethnobotanical dermatology practices in Myanmar. *Clin Dermatol*. 2018;36(3):320-4.

Leppert B, Strunz S, Seiwert B, Schlittenbauer L, Schlichting R, Pfeiffer C, Röder S, Bauer M, Borte M, Stangl GI, Schöneberg T, Schulz A, Karkossa I, Rolle-Kampczyk UE, Thürmann L, von Bergen M, Escher BI, Junge KM, Reemtsma T, Lehmann I, Polte T. Maternal paraben exposure triggers childhood overweight development. *Nat Commun*. 2020;11(1):561.

Lewis DA, Fields WN, Shaw GP. A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum* L. var. *paradisiaca*) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. *J Ethnopharmacol*. 1999;65(3):283-8.

Lillo MA, Nichols C, Perry C, Runke S, Krutilina R, Seagroves TN, Miranda-Carboni GA, Krum SA. Methylparaben stimulates tumor initiating cells in ER+ breast cancer models. *J Appl Toxicol*. 2017;37(4):417-25.

Lima CG, Vilela AFG, Silva AAS, Piannovski AR, Silva KK, Carvalho VFM, Musis CR, Machado SRP, Ferrari M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões OVA contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleífera*). *Rev. Bras. Farm*. 2008;89(3):239-45.

Loftsson T. Excipient pharmacokinetics and profiling. *Int J Pharm*. 2015;480(1-2):48-54.

Lordani TVA, Lara CE, Ferreira FBP, Monich MST, Silva CM, Lordani CRF, Bueno FG, Teixeira JJV, Lonardoni MVC. Therapeutic effects of medicinal plants on cutaneous wound healing in humans: A systematic review. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:7354250.

Loyola ABT, Fernandes RV, Mendes JVB, Neta NAO, Paiva IF, Mendonça ARA, Atzingen DANCY. Antimicrobial action and scaring of 10% green banana peel in chronic wounds. *Open Journal of Medical Microbiology*. 2018; (3):47-55.

Maduwanthi SDT, Marapana RAUJ. Induced ripening agents and their effect on fruit quality of banana. *Int J Food Sci*. 2019;2019:2520179.

Maleš Ž, Drvar DL, Duka I, Žužul K. Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. *Acta Pharm*. 2019;69(4):525-31.

Masiukovich T, Murtazashvili T, Bakuridze A. development of the formulation and technology of hydrogel, containing adjara region sulfide silt peloid. *Georgian Med News*. 2018;(Issue):157-62.

Matos JC, Cruz NRS. Atividade antimicrobiana do óleo de *melaleuca alternifolia* comparada a conservantes químicos usados em bases cosméticas. *Revista Remec*. 2018; 3(4):21-30.

Mattos G, Camargo A, Sousa CA, Zeni ALB. Medicinal plants and herbal medicines in Primary Health Care: the perception of the professionals. *Cien Saude Colet*. 2018 Nov;23(11):3735-44.

Mathew NS, Negi PS. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of wild banana (*Musa acuminata colla*): A review. *J Ethnopharmacol*. 2017;196:124-40.

Minghetti P, Franzè S, Zaccara V, Raso F, Morazzoni P. Innovation in phytotherapy: Is a new regulation the feasible perspective in Europe? *Planta Med* 2016; 82(07): 591-5.

Mota MD, Costa RYS, Guedes AAS, Silva LCRCE, Chinalia FA. Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations. *J Photochem Photobiol B*. 2019;201:111639.

Mokbel MS, Hashinaga F. Antibacterial and antioxidant activities of banana (*Musa*, AAA cv. *Cavendish*) fruits peel. *American J. of Biochemistry and Biotechnology*; 2005; 1(3):125-31.

Nešić I, Stojiljković D, Savić S, Tasić-Kostov M, Tadić V. Stability, antioxidant activity, in vivo safety and efficacy of creams with standardized wild apple fruit extract: a comparison of conventional and biodegradable emulsifiers. *Int J Cosmet Sci*. 2019;41(3):300-10.

Normayunita S, Anam S, Khumaidi A. Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Kulit Buah Mentah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Online J Nat Sci*. 2015; 4(3) :300-309.

Novak FR, Almeida JA, Silva RS. Casca da banana: uma possível fonte de infecção no tratamento de fissuras mamilares. *J Pediatr*. 2003;79(3):221-6.

Nowak K, Ratajczak-Wrona W, Górska M, Jabłońska E. Parabens and their effects on the endocrine system. *Mol Cell Endocrinol*. 2018;474:238-51.

Padoveze MC, Graziano KU. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar (APECIH). Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde. São Paulo: APECIH, 2010.

Paine MF, Roe AL. "Green Medicine": The past, present, and future of botanicals. Clin Pharmacol Ther. 2018;104(3):410-15.

Palacios S, Ruiz HA, Ramos-Gonzalez R, Martínez J, Segura E, Aguilar M, Aguilera A, Michelena G, Aguilar C, Ilyina A. Comparison of physicochemical pretreatments of banana peels for bioethanol production. Food Sci Biotechnol. 2017;26(4):993-1001.

Patil A, Bhide S, Bookwala M, Soneta B, Shankar V, Almotairy A, Almutairi M, Narasimha Murthy S. Stability of organoleptic agents in pharmaceuticals and cosmetics. AAPS PharmSciTech. 2018;19(1):36-47.

Pereira A, Maraschin M. Banana (*Musa spp*) from peel to pulp: ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. J. Ethnopharmacol. 2015;160:149-63.

Pycke BFG, Geer LA, Dalloul M, Abulafia O, Halden RU. Maternal and fetal exposure to parabens in a multiethnic urban U.S. population. Environ Int. 2015; 84, 193–200.

Raitanen JE, Järvenpää E, Korpinen R, Mäkinen S, Hellström J, Kilpeläinen P, Liimatainen J, Ora A, Tupasela T, Jyske T. Tannins of conifer bark as nordic piquancy-Sustainable preservative and aroma? Molecules. 2020;25(3):567.

Siddique S, Nawaz S, Muhammad F, Akhtar B, Aslam B. Phytochemical screening and in-vitro evaluation of pharmacological activities of peels of *Musa sapientum* and *Carica papaya* fruit. Nat Prod Res. 2018;32(11):1333-6.

Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.

Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits - A review. Food Chem. 2016;206:1-11.

Singh Ch.; Kathiresan K.; Boopath N.; Anandhan S. and Govindan T. Evaluation of microbial potential of different colored banana peels. Int J of Preclinical and Pharmaceutical Research. 2013; 4(2); 62-4.

Singh S, Lohani A, Mishra AK, Verma A. Formulation and evaluation of carrot seed oil-based cosmetic emulsions. J Cosmet Laser Ther. 2019;21(2):99-107.

Silverberg NB. Selected active naturals for atopic dermatitis: Atopic Dermatitis Part 1. Clin Dermatol. 2017;35(4):383-6.

Souza, I.D., Melo, L.P., Jardim, I.C., Monteiro, J.C., Nakano, A.M., Queiroz, M.E. Selective molecularly imprinted polymer combined with restricted access material for in-tube SPME/UHPLC-MS/MS of parabens in breast milk samples. *Anal Chim Acta*. 2016; 932, 49–59.

Stiel L, Adkins-Jackson PB, Clark P, Mitchell E, Montgomery S. A review of hair product use on breast cancer risk in African American women. *Cancer Med*. 2016;5(3):597-604.

Sundaram, S. *et al*. Antioxidant Activity and Protective effect of Banana Peel against Oxidative Hemolysis of Human Erythrocyte at Different Stages of Ripening. *Applied Biochemistry Biotechnology*. 2011;164(7):192–1206.

Teh SS, Mah SH. Stability evaluations of different types of vegetable oil-based emulsions. *J Oleo Sci*. 2018;67(11):1381-7.

Thornfeldt CR. Therapeutic herbs confirmed by evidence-based medicine. *Clin Dermatol*. 2018;36(3):289-98

United States Pharmacopeia. USP. 38 ed. National Formulary 33. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2015.

Vijay N, Shashikant D, Mohini P. Assessment of antidiabetic potential of *Musa acuminata* peel extract and its fractions in experimental animals and characterisation of its bioactive compounds by HPTLC. *Arch Physiol Biochem*. 2019; 5:1-13.

Wagner H, Blant, S.; Zgainsky, E. *Plant drug analysis*. 2 ed. Berlin: Springer-Verlag, 2009.

Xue X, Xue J, Liu W, Adams DH, Kannan K. Trophic magnification of parabens and their metabolites in a subtropical marine food web. *Environ Sci Technol*. 2017;51, 780–9.

Zhang XN, Ma ZJ, Wang Y, Sun B, Guo X, Pan CQ, Chen LM. *Angelica Dahurica* ethanolic extract improves impaired wound healing by activating angiogenesis in diabetes. *PLOS ONE*. 2017;12(5):e0177862.

NORMAS ADOTADAS

Normas para elaboração do Trabalho de Conclusão do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde, da Universidade do Vale do Sapucaí. Pouso Alegre –MG. Disponível no endereço eletrônico: <http://www.univas.edu.br/mpcas/docs/normas.pdf>.

ANEXOS

ANEXO 1- LAUDO DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FORMULAÇÃO FITOCOSMÉTICA INICIAL



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG



Certificado de Estudo Analítico		
Produto Acabado Microbiológico		

Endereço		
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro, Alfenas, MG, 37.130-001		
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG		
Tel./Fax: (35) 3701-9520		
Nº Certificado	Nome do Estudo	Período do Estudo
19.5327	FITOCOSMÉTICO T0	Início: 26/12/2019
		Término: 03/01/2020

1.0 Dados Cadastrais da Empresa Solicitante		
Razão Social	Nome Fantasia	CPF/CNPJ
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon(Não conveniado)	053.926.536-50
Endereço		
Av. João Soares leite,325 Alfenas - MG 37132-370		
Empresa conveniada		
() SIM (X)NÃO		

2.0 Dados do Produto Acabado Microbiológico Analisado	
Dados da Amostra	Substância Teste
Nome Genérico	FITOCOSMÉTICO T0
Número do Lote	Não consta
Data de Fabricação	23/12/2019
Data de Validade	Não consta
Fornecedor	Não consta
Quantidade Enviada	12 g
Amostrador	Danielle
Data da Coleta	26/12/2019
Data da Entrada	26/12/2019

3.0 Resultados do Produto Acabado Microbiológico Analisado		
Ensaio	Especificação	Resultados
Microbiológicos		
Contagem total de bactérias viáveis	< 1000 UFC/g ou mL	> 1000 UFC/g
Contagem total de fungos e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	> 1000 UFC/g
Pesquisa de Escherichia coli	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Salmonella spp.	Ausência/10g ou 10 mL	Ausente
Pesquisa de Staphylococcus aureus	Ausência/1g ou mL	Ausente

4.0 Observação
Referência Bibliográfica
Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

5.0 Conclusão
Os resultados se referem, exclusivamente, à amostra recebida. Os testes Contagem total de bactérias viáveis e Contagem total de fungos e leveduras estão acima das especificações.

6.0 Responsável Técnico
Marcus Vinicius Martins Rubatino CRF-MG 17404

ANEXO 2- LAUDO DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FORMULAÇÃO FITOCOSMÉTICA DO NÚCLEO DE CONTROLE DE QUALIDADE DA UNIFAL-MG NO TEMPO 0.



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG



Certificado de Estudo Analítico		
Produto Acabado Microbiológico		

Endereço		
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro, Alfenas, MG, 37.130-001		
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG		
Tel./Fax: (35) 3701-9520		
Nº Certificado	Nome do Estudo	Período do Estudo
20.506	FÓRMULA 1 - TO	Início: 10/02/2020
		Término: 17/02/2020

1.0 Dados Cadastrais da Empresa Solicitante		
Razão Social	Nome Fantasia	CPF/CNPJ
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon(Não conveniado)	053.926.536-50
Endereço		
Av. João Soares leite,325 Alfenas - MG 37132-370		
Empresa conveniada		
() SIM (X)NÃO		

2.0 Dados do Produto Acabado Microbiológico Analisado	
Dados da Amostra	Substância Teste
Nome Genérico	FÓRMULA 1 - TO
Número do Lote	não consta
Data de Fabricação	09/02/2020
Data de Validade	não consta
Fornecedor	Danielle Oliveira
Quantidade Enviada	12 g
Amostrador	Danielle Oliveira
Data da Coleta	10/02/2020
Data da Entrada	10/02/2020

3.0 Resultados do Produto Acabado Microbiológico Analisado		
Ensaio	Especificação	Resultados
Microbiológicos		
Contagem total de bactérias viáveis	< 1000 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Contagem total de fungos e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Pesquisa de Escherichia coli	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Salmonella spp.	Ausência/10g ou 10 mL	Ausente
Pesquisa de Staphylococcus aureus	Ausência/1g ou mL	Ausente

4.0 Observação
Referência Bibliográfica
Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010.

5.0 Conclusão
Os resultados se referem, exclusivamente, à amostra recebida.

6.0 Responsável Técnico
Marcus Vinicius Martins Rubatino CRF-MG 17404

**ANEXO 3- LAUDO DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FORMULAÇÃO
FITOCOSMÉTICA DO NÚCLEO DE CONTROLE DE QUALIDADE DA UNIFAL-MG
NO TEMPO 30.**



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG



Certificado de Estudo Analítico		
Produto Acabado Microbiológico		

Endereço		
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro, Alfenas, MG, 37.130-001		
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG		
Tel./Fax: (35) 3701-9520		
Nº Certificado	Nome do Estudo	Período do Estudo
20.924	FITOCOSMÉTICO - FÓRMULA 1	Início: 03/03/2020
		Término: 12/03/2020

1.0 Dados Cadastrais da Empresa Solicitante		
Razão Social	Nome Fantasia	CPF/CNPJ
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon(Não conveniado)	053.926.536-50
Endereço		
Av. João Soares leite,325 Alfenas - MG 37132-370		
Empresa conveniada		
() SIM (X)NÃO		

2.0 Dados do Produto Acabado Microbiológico Analisado	
Dados da Amostra	Substância Teste
Nome Genérico	FITOCOSMÉTICO - FÓRMULA 1
Número do Lote	não consta
Data de Fabricação	09/02/2020
Data de Validade	não consta
Fornecedor	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon
Quantidade Enviada	12 g
Amostrador	Danielle Oliveira
Data da Coleta	não consta
Data da Entrada	03/03/2020

3.0 Resultados do Produto Acabado Microbiológico Analisado		
Ensaio	Especificação	Resultados
Microbiológicos		
Contagem total de bactérias viáveis	< 1000 UFC/g ou mL	10 UFC/g
Contagem total de fungos e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Pesquisa de Escherichia coli	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Staphylococcus aureus	Ausência/1g ou mL	Ausente

4.0 Observação
Referência Bibliográfica
Farmacopeia Brasileira 6ª edição, 2019.

5.0 Conclusão
Os resultados se referem, exclusivamente, à amostra recebida.

6.0 Responsável Técnico
Marcus Vinicius Martins Rubatino CRF-MG 17404

**ANEXO 4- LAUDO DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FORMULAÇÃO
FITOCOSMÉTICA DO NÚCLEO DE CONTROLE DE QUALIDADE DA UNIFAL-MG
NO TEMPO 60.**



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG



Certificado de Estudo Analítico		
Produto Acabado Microbiológico		

Endereço		
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro, Alfenas, MG, 37.130-001		
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG		
Tel./Fax: (35) 3701-9520		
Nº Certificado	Nome do Estudo	Período do Estudo
20.1168	FITOCOSMÉTICO 1 - T60	Início: 06/04/2020
		Término: 13/04/2020

1.0 Dados Cadastrais da Empresa Solicitante		
Razão Social	Nome Fantasia	CPF/CNPJ
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon(Não conveniado)	053.926.536-50
Endereço		
Av. João Soares leite,325 Alfenas - MG 37132-370		
Empresa conveniada		
() SIM (X)NÃO		

2.0 Dados do Produto Acabado Microbiológico Analisado	
Dados da Amostra	Substância Teste
Nome Genérico	FITOCOSMÉTICO 1 - T60
Número do Lote	não consta
Data de Fabricação	09/02/2020
Data de Validade	não consta
Fornecedor	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon
Quantidade Enviada	12 g
Amostrador	Danielle Oliveira
Data da Coleta	não consta
Data da Entrada	06/04/2020

3.0 Resultados do Produto Acabado Microbiológico Analisado		
Ensaio	Especificação	Resultados
Microbiológicos		
Contagem total de bactérias viáveis	< 1000 UFC/g ou mL	01 UFC/g
Contagem total de fungos e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Pesquisa de Escherichia coli	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa	Ausência/1g ou mL	Ausente
Pesquisa de Salmonella spp.	Ausência/10g ou 10mL	Ausente
Pesquisa de Staphylococcus aureus	Ausência/1g ou mL	Ausente

4.0 Observação
Referência Bibliográfica
Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

5.0 Conclusão
Os resultados se referem, exclusivamente, à amostra recebida.

6.0 Responsável Técnico
Marcus Vinicius Martins Rubatino CRF-MG 17404

**ANEXO 5- LAUDO DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FORMULAÇÃO
FITOCOSMÉTICA DO NÚCLEO DE CONTROLE DE QUALIDADE DA UNIFAL-MG
NO TEMPO 90.**



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG



Certificado de Estudo Analítico	
Produto Acabado Microbiológico	

Endereço		
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro, Alfenas, MG, 37.130-001		
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG		
Tel./Fax: (35) 3701-9520		
Nº Certificado	Nome do Estudo	Período do Estudo
20.1245	FITOCOSMÉTICO 1 - T90	Início: 05/05/2020
		Término: 13/05/2020

1.0 Dados Cadastrais da Empresa Solicitante		
Razão Social	Nome Fantasia	CPF/CNPJ
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon(Não conveniado)	053.926.536-50
Endereço		
Av. João Soares leite,325 Alfenas - MG 37132-370		
Empresa conveniada		
() SIM (X)NÃO		

2.0 Dados do Produto Acabado Microbiológico Analisado	
Dados da Amostra	Substância Teste
Nome Genérico	FITOCOSMÉTICO 1 - T90
Número do Lote	não consta
Data de Fabricação	09/02/2020
Data de Validade	não consta
Fornecedor	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon
Quantidade Enviada	12 g

3.0 Resultados do Produto Acabado Microbiológico Analisado		
Ensaio	Especificação	Resultados
Microbiológicos		
Contagem total de bactérias viáveis	< 1000 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Contagem total de fungos e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Pesquisa de Escherichia coli	Ausência/g ou mL	Ausente
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa	Ausência/g ou mL	Ausente
Pesquisa de Salmonella spp.	Ausência/10g ou 10 mL	Ausente
Pesquisa de Staphylococcus aureus	Ausência/g ou mL	Ausente

4.0 Observação	
Referência Bibliográfica	
Farmacopeia Brasileira 5ª edição.	

5.0 Conclusão	
Os resultados se referem, exclusivamente, à amostra recebida.	

6.0 Responsável Técnico	
Marcus Vinicius Martins Rubatino CRF-MG 17404	

**ANEXO 6- LAUDO DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FORMULAÇÃO
FITOCOSMÉTICA DO NÚCLEO DE CONTROLE DE QUALIDADE DA UNIFAL-MG
NO TEMPO 180.**



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG



Certificado de Estudo Analítico		
Produto Acabado Microbiológico		

Endereço		
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Centro, Alfenas, MG, 37.130-001		
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG		
Tel./Fax: (35) 3701-9520		
Nº Certificado	Nome do Estudo	Período do Estudo
20.2317	FITOCOSMÉTICO 1 - T180	Início: 03/08/2020
		Término: 17/08/2020

1.0 Dados Cadastrais da Empresa Solicitante		
Razão Social	Nome Fantasia	CPF/CNPJ
Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafon(Não conveniado)	053.926.536-50
Endereço		
Av. João Soares leite,325 Alfenas - MG 37132-370		
Empresa conveniada		
(X) SIM () NÃO		

2.0 Dados do Produto Acabado Microbiológico Analisado	
Dados da Amostra	Substância Teste
Nome Genérico	FITOCOSMÉTICO 1 - T180
Número do Lote	não consta
Data de Fabricação	09/02/2020
Data de Validade	não consta
Fornecedor	Danielle Aparecida Ferreira de Oliveira Marrafoni
Quantidade Enviada	12 g
Amostrador	Danielle Oliveira
Data da Coleta	não consta
Data da Entrada	03/08/2020

3.0 Resultados do Produto Acabado Microbiológico Analisado		
Ensaio	Especificação	Resultados
Microbiológicos		
Contagem total de bactérias viáveis	< 1000 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Contagem total de fungos e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	< 01 UFC/g
Pesquisa de Escherichia coli	Ausência/g ou mL	Ausente
Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa	Ausência/g ou mL	Ausente
Pesquisa de Salmonella spp.	Ausência/10g ou 10 mL	Ausente
Pesquisa de Staphylococcus aureus	Ausência/g ou mL	Ausente

4.0 Observação
Referência Bibliográfica
Farmacopeia Brasileira 6ª edição, 2019.

5.0 Conclusão
Os resultados se referem, exclusivamente, à amostra recebida.

6.0 Responsável Técnico
Marcus Vinicius Martins Rubatino CRF-MG 17404

ANEXO 7- DEPÓSITO DA PATENTE DO PRODUTO JUNTO AO INPI



28/12/2020 870200161568
09:51

29409161927122979

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2020 026725 6

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: FUNDAÇÃO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 23951916000203

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470 - Bairro Fátima I

Cidade: Pouso Alegre

Estado: MG

CEP: 37550-000

País: Brasil

Telefone: (35) 3449-9218

Fax:

Email: nit@univas.edu.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 28/12/2020 às 09:51, Petição 870200161568

Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 17879859000115

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Cidade: Alfenas

Estado: MG

CEP: 37130-001

País: BRASIL

Telefone: (35) 991 536002

Fax:

Email: inovacao@unifal-mg.edu.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): CASCA DA BANANA VERDE COMO CONSERVANTE NATURAL EM FORMULAÇÃO FITOCOSMÉTICA CREMOSA

Resumo: O presente pedido de patente de invenção diz respeito a um fitocosmético em formulação semissólida cremosa com adição do extrato glicólico da casca da banana verde que atuou como conservante natural na formulação

Figura a publicar: 1

FONTES CONSULTADAS

DECS: http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&interface_language=p&previous_page=homepage&previous_task=NULL&task=start

MESH: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>