

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS NATURAIS, HUMANAS E SOCIAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

Juliana Cristina de Souza Cavaletti

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES UTILIZANDO EXTRATO
DE *Sapindus saponaria* LINNAEUS**

**SINOP
MATO GROSSO - BRASIL
ANO 2023**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS NATURAIS, HUMANAS E SOCIAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

Juliana Cristina de Souza Cavaletti

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES UTILIZANDO EXTRATO
DE *Sapindus saponaria* LINNAEUS**

Orientadora: Prof.a Dra. Dênia Mendes de Sousa Valladão

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus Universitário de Sinop, na área de concentração Biodiversidade e Bioprospecção, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Linha de pesquisa: Produtos Naturais.

**SINOP
MATO GROSSO - BRASIL
ANO 2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

C376d Cavaletti, Juliana Cristina de Souza.

Desenvolvimento de formulações utilizando extrato de *Sapindus saponaria* Linnaeus [recurso eletrônico] / Juliana Cristina de Souza Cavaletti. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 34 f., il., pdf). -- 2023.

Orientadora: Dênia Mendes de Sousa Valladão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Sinop, 2023.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. Tensoativo. 2. Sabonete Líquido. 3. Saponinas. I. Valladão, Dênia Mendes de Sousa, *orientador*. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES UTILIZANDO EXTRATO DE *Sapindus saponaria* Linnaeus

AUTOR (A): MESTRANDO (A) Juliana Cristina de Souza Cavaletti

Dissertação defendida e aprovada em 30 de novembro de 2023.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. **Doutor(a) Dênia Mendes de Sousa Valladão** (Presidente Banca)
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Mato Grosso
2. **Doutor(a) Dênia Mendes de Sousa Valladão** (Presidente Banca)
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Mato Grosso
3. **Doutor(a) Elton Brito Ribeiro** (Membro Interno)
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Mato Grosso
4. **Doutor(a) Virgínia Claudia Paulino Silva** (Membro Externo)
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de São Carlos – campus Araras
5. **Doutor(a) Nádia Aléssio Velloso** (Suplente)
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Mato Grosso
6. **Doutor(a) Elma Neide Vasconcelos Martins Carrilho** (Suplente)
INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de São Carlos – campus Araras

Sinop, 30/11/2023.



Documento assinado eletronicamente por **VIRGINIA CLAUDIA PAULINO SILVA**, Usuário Externo, em 04/12/2023, às 14:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **ELTON BRITO RIBEIRO**, **Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 04/12/2023, às 19:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **DENIA MENDES DE SOUSA VALLADAO**, **Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 04/12/2023, às 19:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6439500** e o código CRC **D1C2324A**.

DEDICATÓRIA

“Ao meu amado irmão Lucas (*in memoriam*), guardo em meu coração as lembranças de sua motivação e determinação para ir atrás de seus objetivos e após cada obstáculo que venci para celebrar este momento, te dedico a felicidade desta realização”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela presença genuína em minha vida, pela luz, direção, amparo e por me permitir passar pelos obstáculos que estiveram nesta caminhada.

Aos meus pais, por serem mais uma vez minha casa, pelo incentivo e acolhimento, pela ensinamentos que permitiram ser o que sou hoje e buscar sempre por minha evolução.

Ao meu esposo e filho pela compreensão da minha ausência, por entenderem o quanto esse processo era significativo em minha vida e me confortarem em todos os momentos que precisei.

À minha orientadora Dênia, pela paciência, pelos ensinamentos, oportunidades e incentivos, por ser fundamental no meu aprendizado compartilhando do seu vasto conhecimento. É imensurável minha admiração e gratidão por ti, me sinto abençoada por Deus pelo presente que é tê-la como mentora.

Aos professores Elton, Carla, Cibele e Aron pelo auxílio em análises que contribuíram com o meu trabalho e meu aprendizado.

Aos colegas Wellington, Maycon, Alexia, gratidão pelos convivência, troca de experiências e conversas que fizeram com que a solidão do mestrado fosse apenas um pequeno fragmento de tempo.

Ao PPGCAM e UFMT por me oportunizar a realização de um sonho, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

A todos que participaram, direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

Gratidão a todos!

“A menos que modifiquemos nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein

RESUMO

A *Sapindus saponaria* L., comumente chamada de “árvore-sabão”, é uma angiosperma presente em todo o Brasil e possui propriedades tensoativas que a torna uma alternativa para aproveitar as riquezas da flora brasileira, contribuindo para o desenvolvimento de produtos biodegradáveis e biocompatíveis. É rica em saponinas, compostos anfifílicos com capacidade de redução da tensão superficial, produção de espuma e detergência. Tais atividades são de interesse biotecnológico, da indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. O objetivo do trabalho foi desenvolver, avaliar as características tensoativas e verificar a estabilidade de formulações de sabonete íntimo contendo extrato de *Sapindus saponaria* (ESP). Foram desenvolvidas 3 formulações denominadas de F1 (sem extrato), F2 e F3 (contendo ESP), que foram submetidas aos ensaios de estabilidade preliminar e acelerada avaliando as características organolépticas foram observadas cor, odor e aspecto visual e dos parâmetros físico-químicos foram determinados pH, condutividade elétrica índice de refração e densidade. As formulações que se mantiveram estáveis foram repreparadas e analisadas os parâmetros reológicos, o poder e estabilidade da espuma, a tensão superficial e o índice de emulscionamento. As formulações apresentaram: pH entre 4,2 e 4,5, condutividade elétrica entre 13,6 e 16,6 mScm⁻¹, índice de refração 1,3, densidade entre 1,03 e 1,05 g.mL⁻¹ e características organolépticas em conformidade com o indicado para sabonetes líquidos. A incorporação do ESP melhorou a altura e a estabilidade de espuma, o potencial de emulscionamento e diminuiu a tensão superficial. O comportamento reológico apresentou perfil não newtoniano do tipo pseudoplástico. Assim, o uso do extrato de *S. saponaria* como tensoativo se mostrou promissor para o desenvolvimento de formulações de sabonete íntimo líquido.

Palavras-chave: Tensoativo. Sabonete Líquido. Saponinas.

ABSTRACT

Sapindus saponaria L., commonly called "árvore-sabão", is an angiosperm found throughout Brazil and has surfactant properties that make it an alternative to explore the richness of the Brazilian flora, contributing to the development of biodegradable and biocompatible products. It is rich in saponins, amphiphilic compounds capable of reducing surface tension, producing foam and detergency. These activities are of interest for the biotechnological, food, pharmaceutical, and cosmetic industries. The aim of this work was to develop, evaluate the surfactant characteristics, and verify the stability of intimate soap formulations containing *Sapindus saponaria* extract (ESP). Three formulations called F1 (without extract), F2, and F3 (containing ESP) were developed. All formulations were subjected to preliminary and accelerated stability tests, where color, odor, and visual appearance were observed to determine the organoleptic characteristics and, for the physicochemical parameters, pH, electrical conductivity, refractive index, and density were determined. Formulations that remained stable were reprepared and analyzed for their rheological parameters, foaming power and foam stability, surface tension, and emulsification index. The formulations presented: pH between 4.2 and 4.5, electrical conductivity between 13.6 and 16.6 mScm⁻¹, refractive index of 1.3, density between 1.03 and 1.05 g/mL⁻¹ and organoleptic characteristics in accordance with that indicated for liquid soaps. The incorporation of ESP improved foam height, foam stability, and the emulsifying potential, and decreased surface tension. The rheological behavior presented a non-Newtonian profile of the pseudoplastic type. Therefore, the use of *S. saponaria* extract as a surfactant has shown to be promising for the development of liquid intimate soap formulations.

Keywords: Surfactant. Liquid soap. Saponins.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14 15
CAPÍTULO I.....	18 19
ANEXO 1 – CARTA DE ACEITE	28 29
ANEXO 2 – INSTRUÇÃO AOS AUTORES	29 30

INTRODUÇÃO GERAL

A biodiversidade Brasileira é mundialmente conhecida pela riqueza de produtos advindos de origem animal, vegetal, aquáticos e microscópicos que oferecem enorme potencial para estudos científicos (PEIXOTO *et al.*, 2019; TORRES *et al.*, 2019). O conhecimento de compostos ativos presentes na flora brasileira tem um papel crucial na busca por produtos sustentáveis e na redução de impactos ambientais, sem comprometer as propriedades benéficas das matérias-primas (FONSECA-SANTOS *et al.*, 2015). Isso reflete uma demanda da indústria para substituição de ingredientes sintéticos por opções sustentáveis, que além de serem mais biodegradáveis, são capazes de interagir sinergicamente com sistemas biológicos, minimizando reações adversas como irritações e toxicidade. (SEREJO *et al.*, 2021; DEBIASI *et al.*, 2023).

Uma posição de destaque no mercado global é ocupada pela indústria de cosméticos, perfumaria e higiene pessoal, representando o 4º (quarto) lugar no ranking de consumos de acordo com dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC) (2022), o que demonstra a importância e a preocupação dos indivíduos com a higiene, manutenção da saúde, estética e bem-estar (INFANTE; CALIXTO; CAMPOS, 2016).

Por definição da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes são preparações que consistem em substâncias naturais ou sintéticas, destinadas ao uso externo nas diversas partes do corpo humano, com o objetivo de limpar, perfumar ou alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais, proteger ou manter em bom estado (BRASIL, 2004).

Entre os produtos de higiene, os sabonetes merecem evidência pois são amplamente utilizados pela população para a remoção de sujidades, podendo ser utilizados em todas as regiões do corpo (GERÔNIMO *et al.*, 2021). Os sabonetes líquidos têm ganhado popularidade por razões que incluem a capacidade de ajuste de pH para que as formulações possam ser direcionadas às diferentes regiões do corpo (MONTEIRO; SANTOS, 2019). Produtos para região íntima, em particular, devem apresentar um pH levemente ácido, na faixa de 3,8 a 4,5

com o objetivo de auxiliar na manutenção do equilíbrio da microbiota, colaborando na prevenção de infecções fúngicas e bacterianas (ROSA *et al.*, 2020).

Nas formulações de sabonete líquido, os tensoativos desempenham um papel fundamental, atuando na redução da tensão superficial e na formação de micelas que favorecem o emulscionamento dos componentes da fórmula, e nos processos de detergência e remoção de sujidades (GERÔNIMO *et al.*, 2021). O uso de tensoativos sintéticos pela indústria é expressivo, fato explicado pela disponibilidade e custo relativamente baixo, no entanto, trazem desafios relacionados a poluição ambiental, toxicidade aquática e são frequentemente associados a irritações cutâneas (WOJTON *et al.*, 2021).

Uma abordagem promissora para substituir os tensoativos sintéticos é a utilização de saponinas, compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas com diversidade e complexidade estrutural notáveis que as tornam mais resistentes aos processamentos industriais como altas temperaturas e variações de pH (MARINHO *et al.*, 2022). Se destacam ainda por serem menos agressivas e tóxicas aos sistemas biológicos, são biodegradáveis, obtidas de fontes renováveis, o que contribui com a sustentabilidade (SOCHACKI; VOGT, 2022).

Estruturalmente, as saponinas (Figura 1) são compostos anfifílicos com uma porção polar conhecida com glicana, que pode ser um, dois ou três resíduos de açúcar e uma porção apolar denominada sapogenina podendo ser triterpênica ou esteroidal (IMUETINYAN *et al.*, 2022; RAI *et al.*, 2021). Essa estrutura as torna particularmente interessantes na área industrial e biotecnológica, uma vez que exibem uma combinação de propriedades terapêuticas como ação anti-inflamatória e antimicrobiana, resultando em uma sinergia que intensifica o aumento da compatibilidade permitindo maior interação com sistemas biológicos (PETKOVA *et al.*, 2022).

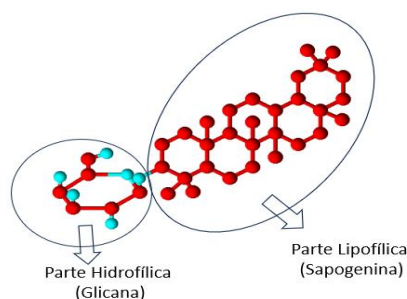


Figura 1 – Estrutura química básica da Saponina

Fonte: autor

A *Sapindus saponaria* L., popularmente conhecida como “árvore-sabão” é uma angiosperma distribuída amplamente no território brasileiro (GRISI et al., 2013), rica em saponinas triterpênicas que possui três resíduos de açúcar em sua porção glicana (Figura 2). Seus frutos quando friccionados em água produzem espuma. Este fenômeno é uma das razões pelas quais a planta tem sido utilizada como sabão e na medicina tradicional é relatado seu uso como vermífugo, anti-inflamatório, antioxidante, antiviral e antifúngico (TAVARES et al., 2021; TSUZUKI et al., 2007). A configuração anfifílica das saponinas confere à *S. saponaria* propriedades tensoativas, incluindo a capacidade de reduzir a tensão superficial da água, formar espuma, agir como detergentes e emulsificantes (AKBARI et al., 2018; MARINHO et al., 2022).

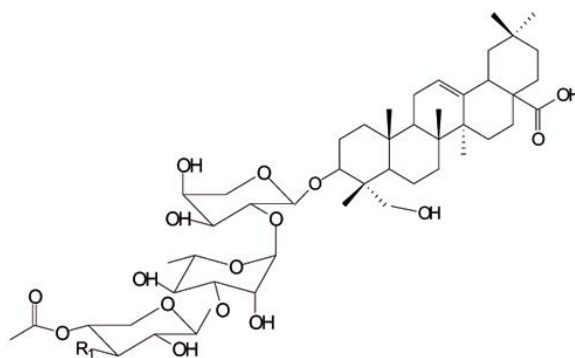


Figura 2 – Estrutura química da saponina encontrada no pericarpo da *Sapindus saponaria*: Hederagenina-3-O-(4-O-acetil- β -D-xilopiranosose) – (1®3) – α -L-ramnopiranosose- (1®2) – α -L-arabinopiranosose.

Fonte: TSUZUKI *et al.*, 2007.

A utilização do extrato de *S. saponaria* como biotensoativo em formulações cosméticas se alinha com a crescente tendência de produtos mais naturais, sustentáveis e biocompatíveis, e ainda permite reduzir a carga de tensoativos sintéticos (PANOTIN *et al.*, 2022). Nesse sentido, esta pesquisa teve por objetivo o desenvolvimento, avaliação das características tensoativas e estabilidade de formulações contendo o extrato de *S. saponaria*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIHPEC. Associação Brasileira Da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Publicações. Disponível em <https://abihpec.org.br/site2019/wp-content/uploads/2023/01/Panorama-do-Setor_Atualizado_17.10.23_sem_eXs.pdf>. Acesso em 26 de mai. 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerencia Geral de Cosméticos. **Guia de guia de estabilidade de produtos cosméticos.** 1. ed. Brasília: Anvisa, v. 1, p. 52, 2004.

DEBIASI, B. W.; RAISER, A. L.; DOURADO, S. H. A.; TORRES, M. P. R.; ANDRIGHETTI, C. R.; BONACORSI, C.; BATIROLLA, L. D.; RIBEIRO, E. B.; VALLADÃO, D. M. S., Phytochemical screening of *Cordia glabrata* (Mart.) A. DC. Extracts and its potential antioxidant, photoprotective, antimicrobial and antiviral activities. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e248083, 2023. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.248083>.

FONSECA-SANTOS, B.; CORRÊA, M. A.; CHORILLI, M., Sustainability, natural and organic cosmetics: consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 17-26, 2015. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100002>

GERONIMO, D. M.; OLIVEIRA, S. C.; SOARES, F. L. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; NAGATA, N., Determination of main raw material source in bar soaps using mid-infrared spectroscopy combined with classification tools. **Microchemical Journal**, n. 164, p. 106029, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106029>

GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. D., Phytotoxic activity of crude aqueous extracts and fractions of young leaves of *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 1, p. 62-70, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062013000100009>

IMUETINYAN, H.; AGI, A.; GBADAMOSI, A.; JUNIN, R. Extraction, characterization and evaluation of saponin-based natural surfactant for enhanced oil recovery. **Arabian Journal of Geosciences**, v. 15, n. 3, p. 226, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12517-021-09275-6>

INFANTE, V. H. P.; CALIXTO, L. S.; CAMPOS, P. M. B. G. M., Comportamento de homens e mulheres quanto ao consumo de cosméticos e a importância na indicação de produtos e adesão ao tratamento. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 8, n. 2, p. 134-141, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201682817>

MARINHO, P. S. S.; DA SILVA, R. R.; LUNA, J. M., Biossurfactantes microbianos e aplicações ambientais: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. e103111234123-e103111234123, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34123>

MONTEIRO, A. D.; SANTOS, V. M., Caracterização físico-química de sabonetes líquidos e em barra / Physicochemical characterization of liquid and bar soaps. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 18060-18067, 2019. <https://doi.org/10.34117/bjdv5n10-070>

PANONTIN, J. F.; RAMBO, M. K. D.; ISAAC, V.; SEIBERT, C. S.; SCAPIN, E., New antioxidant lauryl-free herbal shampoo formulation with a Brazilian plant extract. **Brazilian**

Journal of Biology, v. 82, p. e264677-e264677, 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.264677>

PEIXOTO, J. D.C.; NEVES, B. J.; VASCONCELOS, F. G.; NAPOLITANO, H.B.; BARBALHO, M. G. D. S.; ROSSETO, L. P., Flavonoids from Brazilian cerrado: Biosynthesis, chemical and biological profile. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2891, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24162891>

PETKOVA, H.; JAREK, E.; DOYCHINOV, M.; KRZAN, M.; MILEVA., Synergy in aqueous systems containing bioactive ingredients of natural origin: Saponin/pectin mixtures. **Polymers**, v. 14, n. 20, p. 4362, 2022. <https://doi.org/10.3390/polym14204362>

RAI, S.; ACHARYA-SIWAKOTI, E.; KAFLE, A.; DEVKOTA, H. P.; BHATTARAI, A., Plant-derived saponins: A review of their surfactant properties and applications. **Sci**, v. 3, n. 4, p. 44, 2021. <https://doi.org/10.3390/sci3040044>

ROSA, L. L.; SOBREIRA, F. H. O.; SOARES, T. C. A. E.; SANTOS, J. R. B.; BRITO, L. M., Uso do sabonete líquido como estratégia de higiene no controle da COVID-19 no Município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 89861-89872, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-412>

SEREJO, A. P. M.; OLIVEIRA, A. C. D. S.; COSTA, I. C.; NOGUEIRA, A. D. J. L.; LACERDA, H. D. C. C.; DIAS, A. A. S.; COUTINHO, D. F., Reaproveitamento de resíduos gerados pelas espécies *Persea americana* e *Theobromagrandiflorum*: Uma alternativa para sustentabilidade ambiental. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e89101321053-e89101321053, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21053>

SOCHACKI, M.; VOGT, O., Triterpenoid Saponins from Washnut (*Sapindus mukorossi* Gaertn.) - A source of natural surfactants and other active components. **Plants**, v. 11, n. 18, p. 2355, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11182355>

TAVARES, G. D. B.; AIUB, C. A. F.; FELZENSZWALB, I.; DANTAS, E. K. C.; ARAÚJO-LIMA, C. F.; JÚNIOR, C. L. S., In vitro biochemical characterization and genotoxicity assessment of *Sapindus saponaria* seed extract. **Journal of Etnopharmacology**, v. 276, p. 114170, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114170>

TORRES, M. D. P. R.; ESPRENDOR, R. V. D. F.; BONALDO, S. M.; RIBEIRO, E. B.; VALLADÃO, D. M. S., Development, characterization and stability of microemulsional formulations of bacaba, *Oenocarpus bacaba* oil. **Acta Amazonica**, v. 49, p. 246-255, 2019. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201802702>

TSUZUKI, J. K.; SVIDZINSKI, T. I.; SHINOBU, C. S.; SILVA, L. F.; RODRIGUES-FILHO, E.; CORTEZ, D. A.; FERREIRA, I. C. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, p. 577-583, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652007000400002>

WOJTOŃ, P.; SZANIAWSKA, M.; HOŁYSZ, L.; MILLER, R.; SZCZEŚ, A., Surface activity of natural surfactants extracted from *Sapindus mukorossi* and *Sapindus trifoliatus* soapnuts. **Colloids and Interfaces**, v. 5, n. 1, p. 7, 2021. <https://doi.org/10.3390/colloids5010007>

CAPÍTULO I.**DEVELOPMENT AND STABILITY OF INTIMATE SOAP
FORMULATIONS USING *Sapindus saponaria* L. EXTRACT AS A
NATURAL SURFACTANT**

O presente manuscrito seguiu as normas adotadas pelo periódico *Brazilian Journal of Biology*, no qual o presente trabalho foi aceito (Anexo “A”).

Original Article

Development and stability of intimate soap formulations using *Sapindus saponaria* L. extract as a natural surfactant

Desenvolvimento e estabilidade de formulações de sabonete íntimo usando como tensoativo natural o extrato de *Sapindus saponaria* L.

J. C. S. Cavaletti^{a*} , W. L. M. Prando^a , E. B. Ribeiro^b , and D. M. de S. Valladão^{a,b} 

^aUniversidade Federal do Mato Grosso, Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais – PPGCAM, Sinop, MT, Brasil

^bUniversidade Federal do Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Sinop, MT, Brasil

Abstract

The use of synthetic surfactants reflects the high demand in the hygiene and cleaning sector for products with low-cost and good-effectiveness. These ingredients are the main components of intimate soap formulations. *Sapindus saponaria* L. is a plant rich in saponins, with the potential to be used as a natural surfactant due to its amphiphilic character and its foam-forming properties. Therefore, this study aimed to develop intimate soap formulations using *S. saponaria* extract as a natural surfactant and analyze its stability and surfactant characteristics. Preliminary and accelerated stability parameters, rheological characteristics, surface tension, foaming power, foam stability and emulsification potential were evaluated. The formulations were stable at a pH suitable for the intimate region (4.0 to 4.5), the presence of *S. saponaria* extract provided greater reduction of surface tension, better foaming and foam stability and greater emulsification power, desirable characteristics for an intimate liquid soap. These results demonstrate that the incorporation of *S. saponaria* extract into liquid soap formulations is an excellent option as a natural surfactant to reduce the use of synthetic anionic surfactants such as SLES.

Keywords: saponins, surfactant, cosmetics, lauryl-free.

Resumo

O uso de tensoativos sintéticos reflete a alta demanda do setor de higiene e limpeza por produtos de baixo custo e boa eficácia. Estes ingredientes, são os principais componentes das formulações de sabonete íntimo. A *Sapindus saponaria* L. é uma planta rica em saponinas, com potencial para ser utilizada como tensoativo natural devido a seu caráter anfifílico e suas propriedades espumógenas. Diante disso, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de formulações de sabonete íntimo utilizando o extrato de *S. saponaria* como tensoativo natural e analisar sua estabilidade e características tensoativas. Foram avaliados parâmetros de estabilidade preliminar e acelerada, características reológicas, tensão superficial, poder e estabilidade de espuma e potencial de emulsificação. As formulações se mostraram estáveis em pH adequado para a região íntima (4,0 a 4,5), a presença do extrato de *S. saponaria* proporcionou maior redução da tensão superficial, melhor poder e estabilidade de espuma e maior poder emulsificação, características estas desejáveis para um sabonete líquido íntimo. Esses resultados demonstram que a incorporação do extrato de *S. saponaria* em formulações de sabonete líquido é uma excelente opção como tensoativo natural para reduzir o uso de tensoativos aniônicos sintéticos como o LESNa.

Palavras-chave: saponinas, tensoativo, cosméticos, livre de lauril.

1. Introduction

The personal hygiene, perfumery, and cosmetics sector has been growing exponentially over the years (Almukainzi et al., 2022; Rocca et al., 2022) and soaps are among the most used items (Alquadeib et al., 2018). They have the function of removing dirt from the body helping to maintain skin health (Rai et al., 2021).

Soaps are used in various parts of the human body, however, to be used in the intimate region, the pH needs

to be adjusted between 3.8 and 4.5, in order to contribute to the maintenance of vaginal flora and protection against diseases such as candidiasis and bacterial vaginosis (Bezerra et al., 2016). They are presented in solid or liquid forms, although the ease of pH adjustment is an advantage of liquid soaps.

Surfactants are the main ingredients of liquid soaps, organic substances of amphipathic character that

*e-mail: julianacavaletti@gmail.com

Received: July 25, 2023 – Accepted: October 6, 2023



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

have a hydrophilic portion and a hydrophobic portion (Felipe and Dias, 2016) and despite the different classes, anionic surfactants are the most used, due to their detergency and cleaning potential, while cationic, amphoteric, and non-ionic are used as secondary surfactants for foam stabilization and maintenance of skin hydration (Jurek et al., 2021).

The high demand of the sector for low-cost products associated with cleaning effectiveness makes synthetic surfactants derived from petrochemicals the most used (Wojtoń et al., 2021), however, the interest of the industry in replacing this type of ingredient is increasing due to toxicity to the environment and aquatic life (Johnson et al., 2021), in addition to often being associated with skin, eye, and scalp irritation (Jurek et al., 2021).

In this sense, the environmental concern arising from the use of products from non-renewable raw materials has mobilized studies for more ecological alternatives (Meshram et al., 2021), which can be obtained from natural sources and are less irritating to the skin and biodegradable (Chen et al., 2010; Johnson et al., 2021).

Saponin-rich plants are interesting because saponins are potential surfactants, since they have an amphiphilic character and the ability to produce foam (Bezerra et al., 2018; Tucker et al., 2020; Pradhan et al., 2022) and, although foam is not a guarantee of cleaning, it is an important aspect for the consumer (Daltin, 2011).

Sapindus saponaria L. is an angiosperm, belonging to the Sapindaceae family, found widely in the Brazilian territory (REFLORA - Herbário Virtual, 2023). Its fruits when rubbed under water, produce a soap-like foam (Wei et al., 2021) resulting from the presence of saponins in its metabolic structure (Tsuzuki et al., 2007; Damke et al., 2013; Gasca et al., 2019).

Because it is considered a natural surfactant, *S. saponaria* extract becomes of scientific and biotechnological interest to be used in the development of hygiene and cleaning products (Rai et al., 2021; Souza et al., 2019). Within this context, the objective of the study was to develop an intimate soap formulation using *S. saponaria* extract, as well as to evaluate the stability, and surfactant properties of the formulations.

2. Material and Methods

2.1. Plant material obtention

The *S. saponaria* fruits were collected at the Federal University of Mato Grosso (UFMT) campus of Sinop, municipality of Sinop/MT. Botanical identification was performed at the Centro-Norte-Mato-Grossense Herbarium (CNMT) at the Federal University of Mato Grosso, Campus of Sinop, where an exsiccata was stored under registration number 0759 and code AD2F8E4 at Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen).

In the Quality Control laboratory (LaCQ), the fruits were dried in a forced convection drying oven at a temperature of $45 \pm 2^\circ\text{C}$ for a period of 48 h. After that, the fruits were ground and stored in a freezer at a temperature of $-14 \pm 2^\circ\text{C}$ for later use.

2.2. Preparation of the extracts

The extracts were prepared by maceration in a 1:4 (w/v) ratio, using 70% ethanol (v/v), for a period of seven days in amber vials, with manual agitation every 24 h. Afterwards, they were filtered and the solvent evaporated in a rotary evaporator under reduced pressure providing an extract with semi-solid consistency which was then stored away from light and under refrigeration at $5 \pm 2^\circ\text{C}$ (Debiasi et al., 2023).

2.3. Reagents

Ethyl alcohol and propylene glycol were provided by "Synth", coconut fatty acid diethanolamide, Cocamidopropyl betaine, polyethylene glycol 6000 diesterate, hydroxyethyl cellulose and Nipaguard were purchased from "Engenharia das essências", disodium EDTA from "Sintética", citric acid from "Neon" and paraffin from "Vicpharma".

2.4. Formulations development

Three intimate soap formulations were developed, named F1 to F3 according to Table 1. The formulations were developed without the use of anionic surfactants and the ethanolic extract of *S. saponaria* was incorporated into two formulations.

Table 1. Developed formulations of intimate soap.

Phase	Raw material	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
A	Cocamidopropyl betaine	25	25	15
A	Coconut fatty acid diethanolamide	5	5	10
A	Polyethylene glycol 6000 distearate	3	3	3
B	Propylene glycol	2	2	2
B	Nipaguard	0.2	0.2	0.2
C	<i>S. saponaria</i> Extract	0	10	10
C	Disodium EDTA*	0.05	0.05	0.05
C	Distilled water	64.75	54.75	59.75
D	Citric acid	q.s. pH 4-5	q.s. pH 4-5	q.s. pH 4-5

*EDTA- Ethylenediaminetetraacetic acid

The preparation was adapted from the methodology of Esprendor et al. (2019) where phases A, B, and C were heated separately. Phase B was poured over phase A and homogenized, then the volume was completed with phase C. After cooling, the pH was corrected with phase D.

2.5. Quality control and stability of formulations

The organoleptic characteristics and some physico-chemical parameters of the developed formulations were evaluated after 24 h of preparation. The same parameters were evaluated in the preliminary stability tests (alternating temperature cycles of 45 ± 2 °C and 5 ± 2 °C every 24 h for a period of 14 days) and accelerated stability, where new formulations were prepared and subjected to different storage temperatures (5, 25, and 45 ± 2 °C) and exposure to light radiation for a period of 90 days. All tests were performed in triplicate.

2.5.1. Organoleptic characteristics

The formulations had their organoleptic characteristics visually evaluated by verifying homogeneity, color, and odor or changes such as the presence of precipitates, lumps, and dispersed particles (Brasil, 2004; Almukainzi et al., 2022).

2.5.2. Physico-chemical parameters

The parameters were evaluated according to (Cosmetics Europe, 2004; Brasil, 2004):

Centrifugation (Quimis®) was performed at 1000 g for 30 min to check for signs of instability and need for formulation adjustments.

The pH (Del Lab®) and conductivity (Tecnopon®) were evaluated by direct insertion of the electrode into the formulations.

The relative density was performed by the pycnometer method, through the ratio of the sample mass to the water mass at a given temperature, and then calculated the mass density (ρ).

The refractive index (Polax WYA-2S) was evaluated with the equipment previously calibrated with distilled water.

2.5.3. Rheological characterization

The rheological analysis was performed using a Modular Compact Rheometer – MCR 102 (Anton Paar®, Germany) coupled to the Rheoplus V3.61 Software, with permanent control of the measurement gap with a 0.099 mm TruGap™ support, a Toolmaster™ CP 50 measuring cell, and precise temperature control with the T-Ready™ feature. The assay was performed according to Ribeiro et al. (2020) using 600 μ L of sample.

For the flow and viscosity curves, the shear stress (τ) was established to vary from 0 to 5 Pa for the upward curve and from 5 to 0 Pa for the downward curve. These measurements were performed under isothermal conditions at 25 °C, comprising 75 readings per analysis.

2.5.4. Determination of Surface Tension (γ)

It was performed by the drop-counting method (Teixeira Neto et al., 2009) with solutions at concentrations of 0.1, 1.0, and 10% of formulations F1, F2, F3, and *S. saponaria* extract.

The number of drops formed in a constant flow of 3 mL was correlated with the surface tension through the Equation 1 below:

$$\gamma_{\text{sample}} = H_2O \text{ drop number} \times \gamma_{H_2O} / \text{sample drop number} \quad (1)$$

Where γ = surface tension and H_2O = water.

2.5.5. Determination of Foaming Power and Foam Stability

The foaming power and foam stability were determined by the stirring method (Chen et al., 2010; Gomes et al., 2022), where 20 mL of solutions at 0.5% and 1.0% (v/v) concentrations of formulations F1, F2, F3, and *S. saponaria* extract were manually stirred for 15 s and, after 30 s of rest, the volume (mL) of the formed foam was measured. After 5 min of rest, the foam stability (R5) was determined by the Equation 2:

$$R5 = (\text{foam volume after 5 min} / \text{foam volume after 30 s}) \times 100 \quad (2)$$

Where R5 = ratio of foam volume in 5 min to foam volume in 30 s

2.5.6. Determination of the Emulsification

The percentage of emulsification was measured using the methodology of Basu et al. (2015) where 2 mL of liquid paraffin and 2 mL of formulations F1, F2, F3, and of the *S. saponaria* extract were subjected to agitation in a Vortex mixer (Norte Científica, model NA 3600) for a period of 2 min and then allowed to rest for 24 h. The percentage of paraffin emulsification was determined using the Equation 3:

$$\% \text{ emulsification} = \frac{\text{emulsified area height}}{\text{total solution height}} \quad (3)$$

2.6. Analysis of the results

The results of the stability tests were subjected to analysis of variance (ANOVA) and the significant difference between the mean values were verified by Tukey's multiple comparisons test with 95% significance ($p < 0.05$). Results were expressed as mean $\pm$ standard deviation using the Origin Pro software version 8.5.1 (OriginLab®).

3. Results and Discussion

Three formulations of liquid soap for the intimate area were prepared. They were liquid, homogeneous and translucent. The formulations in which the extract was incorporated had a brown color and a sweet smell, characteristic of the fruit.

The surfactants used were an extract obtained from *S. saponaria* and amphoteric and non-ionic auxiliary surfactants to contribute to foam stability and hydration. The most commonly used anionic surfactant, SLES, was not present in the formulations.

In the case of liquid soaps, formulating a product that replaces anionic surfactants such as Sodium Lauryl Ether Sulphate (SLES) is a challenge, as they are associated with factors such as foaming and cleaning (Jurek et al., 2021). The use of natural surfactants rich in saponins has been gaining prominence as they contribute to the detergency and emulsification process (Panotin et al., 2022).

The industry's interest in natural ingredients reflects consumer demand for less aggressive and more sustainable products, and the replacement of synthetic raw materials with natural ingredients offers better biocompatibility and less risk of allergens, as well as socio-environmental benefits with impact reduction (Rocca et al., 2022).

Table 2 shows the results for the organoleptic characteristics and physico-chemical parameters obtained during the preliminary stability test of formulations F1, F2, and F3, which remained stable at the end of the 14-day cycle.

The preliminary stability parameters (Table 2) showed the adequacy of the formulations, remaining stable throughout the entire period. New samples were prepared and subjected to accelerated stability (Table 3).

The formulations stored at a temperature of 25 °C maintained all their organoleptic characteristics during the 90-day test period. The pH values were stable and within the established range of 4.0 to 4.5. Although there is no consensus, the literature suggests that the pH of intimate soaps should be in this range, as this prevents an imbalance of the intimate microbiota (Sousa et al., 2019; Gupta et al., 2019).

The incorporation of *S. saponaria* extract as a natural surfactant favored the acidic pH of the intimate liquid soap formulations because, due to the extract's pH of 4.29, the formulations had a pH of 3.8 to 4.8, being possible to adjust formulations to the desired range if necessary.

The electrical conductivity values of the formulations contributed to the evaluation of stability since the increase or decrease of these values are indicators of coalescence or aggregation of constituents in the formulation (Brasil, 2004).

The formulations submitted to a temperature of 5 °C presented similar results to the formulations at 25 °C. At a temperature of 45 °C, all formulations presented one or more changes (color, pH, and electrical conductivity). Changes at high temperatures are expected, by the possibility of evaporation of water from the formulation, or by enzymatic oxidation of compounds present in the extract that are sensitive to temperature (Silva and Cavalcante, 2022).

When subjected to light radiation, the formulations remained stable, that is, they did not present any type of change, showing that transparent packaging can be used, which favors the acceptance of the product by the consumer (Pires et al., 2021; Silva and Cavalcante, 2022).

The mass density result of the formulations (Table 4) was between 1.0369 and 1.0562 g/mL. Although there are no established values for density, authors such as Hawa et al. (2022) and Pires et al. (2021) found values between 1.0077 and 1.066 g/mL with plant extracts. According to Rusdianto et al. (2021), values between 1.01 and 1.10 g/mL are acceptable for liquid soaps. This is an important parameter since it interferes with consumer experience with the product and the weight and volume of the final packaging (Brasil, 2004).

The rheology of the formulations showed that the behavior of the upward and downward flows occurs in a non-linear manner and that as the shear rate increases, a slight decrease in viscosity occurs (Figure 1 and Figure 2), demonstrating that the samples behave as pseudoplastic type non-Newtonian fluids with a tendency to Newtonian, verified by the minimum hysteresis area.

Literature reports that pseudoplastic behavior is a desirable characteristic in liquid soaps because it is related to the consistency of the formulation (Kumar and Mali, 2010; Sharma et al., 2011; Alquadeib et al., 2018). Also, the incorporation of the extract into the formulations led to a reduction in viscosity from approximately 3.5 Pa·s to values less than 0.5 Pa·s, a behavior that provides less resistance to flow and improves characteristics such as spreadability (Cornwell, 2018).

The surface tension has great significance in the evaluation of liquid soap formulations since it is related to the detergency process. Figure 3 shows the surface tension data of formulations F1, F2, F3, and *S. saponaria* extract, which ranged from 48.22 to 31.72 m/Nm as the concentration of the samples increased.

All formulations showed good surface tension reduction and the addition of the extract in F2 and F3 potentiated this effect in all concentrations evaluated. This is an important parameter to be analyzed since surfactants, when in aqueous solutions, tend to interfere with factors such as wettability, wetting (Daltin, 2011), cleaning potential and particle dispersion (Teixeira Neto et al., 2009).

The extract of *S. saponaria* presented a minimum surface tension value of 48.22 m/Nm. Formulations and extracts analyzed by Kumar and Mali (2010), Wojton et al. (2021), and Yang et al. (2010), presented corroborating surface tension values and although there are no pre-established values of surface tension, these data indicate that *S. saponaria* extract offers the potential to be used for detergent purposes.

Table 2. Organoleptic characteristics and physico-chemical parameters of intimate soap formulations during the preliminary stability test.

Time	Formulation	Color, Odor and Appearance	pH	Electric Conductivity (mS/cm)	Refractive index
After 24 h	F1	N	4.03 ± 0.37	16.91 ± 0.20	1.3704 ± 0.01
	F2	N	4.14 ± 0.24	15.26 ± 0.12	1.3877 ± 0.02
	F3	N	4.16 ± 0.24	10.25 ± 0.19	1.3975 ± 0.01
After 14 days	F1	N	4.06 ± 0.14	16.85 ± 0.18	1.3755 ± 0.01
	F2	N	4.13 ± 0.36	15.22 ± 0.20	1.3946 ± 0.00
	F3	N	4.17 ± 0.36	10.07 ± 0.19	1.3875 ± 0.02

Appearance, color and odor: N – normal. Results expressed as mean values and relative standard deviation.

Table 3. Accelerated stability test of intimate soap formulations at different temperatures (5, 25, and 45 ± 2 °C) and light radiation (UV).

Sample	T (°C)	Days	Organoleptic Characteristics	pH	Electric Conductivity (mS/cm)	Refractive Index
F1	5 ± 2	0	N	4.23 ± 0.00	15.53 ± 0.00	1.3705 ± 0.00
		30	N	4.28 ± 0.13	15.85 ± 0.28	1.3711 ± 0.02
		60	N	4.30 ± 0.13	15.64 ± 0.09	1.3704 ± 0.02
		90	N	4.30 ± 0.35	15.72 ± 0.47	1.3710 ± 0.03
	25 ± 2	0	N	4.23 ± 0.00	15.53 ± 0.00	1.3705 ± 0.00
		30	N	4.24 ± 0.35	15.99 ± 0.25	1.3745 ± 0.02
		60	N	4.26 ± 0.23	15.81 ± 0.41	1.3744 ± 0.04
		90	N	4.26 ± 0.13	16.08 ± 0.12	1.3722 ± 0.02
	45 ± 2	0	N	4.23 ± 0.00	15.53 ± 0.00	1.3705 ± 0.00
		30	M	4.46 ± 0.48	16.26 ± 0.21	1.3744 ± 0.046
		60	M	4.50 ± 0.15	16.67 ± 0.19	1.3752 ± 0.06
		90	M	4.57 ± 0.15	16.49 ± 0.08	1.3728 ± 0.01
	UV	0	N	4.23 ± 0.00	15.53 ± 0.00	1.3705 ± 0.00
		30	N	4.27 ± 0.27	16.00 ± 0.40	1.3732 ± 0.03
		60	N	4.32 ± 0.13	16.52 ± 0.36	1.3732 ± 0.04
		90	N	4.29 ± 0.46	16.49 ± 0.12	1.3771 ± 0.04
F2	5 ± 2	0	N	4.25 ± 0.00	13.62 ± 0.00	1.3812 ± 0.00
		30	N	4.27 ± 0.35	13.70 ± 0.40	1.3850 ± 0.03
		60	N	4.28 ± 0.13	13.67 ± 0.37	1.3848 ± 0.06
		90	N	4.27 ± 0.46	13.70 ± 0.22	1.3824 ± 0.02
	25 ± 2	0	N	4.25 ± 0.00	13.62 ± 0.00	1.3812 ± 0.00
		30	N	4.24 ± 0.23	13.84 ± 0.15	1.3882 ± 0.05
		60	N	4.22 ± 0.23	13.88 ± 0.40	1.3878 ± 0.02
		90	N	4.23 ± 0.36	13.89 ± 0.21	1.3849 ± 0.04
	45 ± 2	0	N	4.25 ± 0.00	13.62 ± 0.00	1.3812 ± 0.00
		30	M	4.26 ± 0.16	13.65 ± 0.25	1.3840 ± 0.03
		60	M	4.27 ± 0.13	13.95 ± 0.25	1.3834 ± 0.05
		90	M	4.27 ± 0.13	14.02 ± 0.10	1.3848 ± 0.03
	UV	0	N	4.25 ± 0.00	13.62 ± 0.00	1.3812 ± 0.00
		30	N	4.24 ± 0.35	13.58 ± 0.25	1.3873 ± 0.03
		60	N	4.25 ± 0.13	13.87 ± 0.23	1.3879 ± 0.03
		90	N	4.24 ± 0.35	13.94 ± 0.21	1.3847 ± 0.01
F3	5 ± 2	0	N	4.28 ± 0.00	12.19 ± 0.00	1.3848 ± 0.06
		30	N	4.28 ± 0.13	12.67 ± 0.19	1.3865 ± 0.03
		60	N	4.30 ± 0.13	12.43 ± 0.42	1.3864 ± 0.04
		90	N	4.29 ± 0.13	12.55 ± 0.21	1.3860 ± 0.02
	25 ± 2	0	N	4.28 ± 0.00	12.19 ± 0.00	1.3859 ± 0.00
		30	N	4.24 ± 0.13	12.36 ± 0.28	1.3890 ± 0.03
		60	N	4.25 ± 0.13	12.16 ± 0.21	1.3909 ± 0.02
		90	N	4.30 ± 0.48	12.69 ± 0.23	1.3852 ± 0.05
	45 ± 2	0	N	4.28 ± 0.00	12.19 ± 0.00	1.3859 ± 0.00
		30	M	4.47 ± 0.31	11.04 ± 0.10	1.3822 ± 0.01
		60	M	4.50 ± 0.12	10.69 ± 0.33	1.3846 ± 0.04
		90	M	4.58 ± 0.21	10.30 ± 0.20	1.3833 ± 0.02
	UV	0	N	4.28 ± 0.00	12.19 ± 0.00	1.3859 ± 0.00
		30	N	4.28 ± 0.23	12.21 ± 0.12	1.3882 ± 0.04
		60	N	4.29 ± 0.13	12.67 ± 0.20	1.3907 ± 0.06
		90	N	4.29 ± 0.48	12.84 ± 0.20	1.3928 ± 0.04

Appearance, color and odor: N – normal, M – modified. Results expressed as mean values and relative standard deviation.

Foam, although not essential and does not contribute to the detergency process, is a relevant factor for the consumer when choosing a soap, due to the fact it is associated with greater cleaning power (Rai et al., 2021). Foam height values are in Table 5.

The formulation without extract, F1, presented foam volume values of 96 and 108 mL in 0.5 and 1.0% solutions. The incorporation of the extract in formulations F2 and F3 contributed in enhancing this power. These values corroborate those found in shampoos (formulation with characteristics similar to liquid soaps) with plant extracts by Sharma et al. (2011) and Panotin et al. (2022).

The foam potential of the extract in a solution at the same concentrations of the formulations demonstrated that the foam increase percentage of the formulations is equivalent to the foam percentage of the extract solution

at the same concentration of the formulation solution. The legislation does not present pre-established values for this parameter, but the findings are in agreement with authors such as Rusdianto et al. (2021) and Meshram et al. (2021), who worked with plant extracts.

Table 4. Mass density of intimate soap formulations.

Sample	Density (g/mL)
F1	1.0369 ± 0.01
F2	1.0478 ± 0.00
F3	1.0562 ± 0.00

Results expressed as mean values and relative standard deviation.

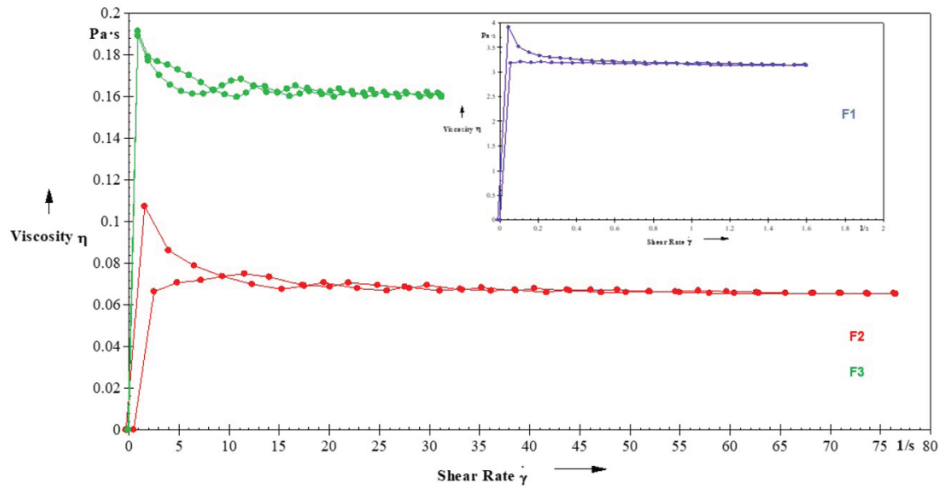


Figure 1. Viscosity curve by shear rate of formulations F1, F2 and F3.

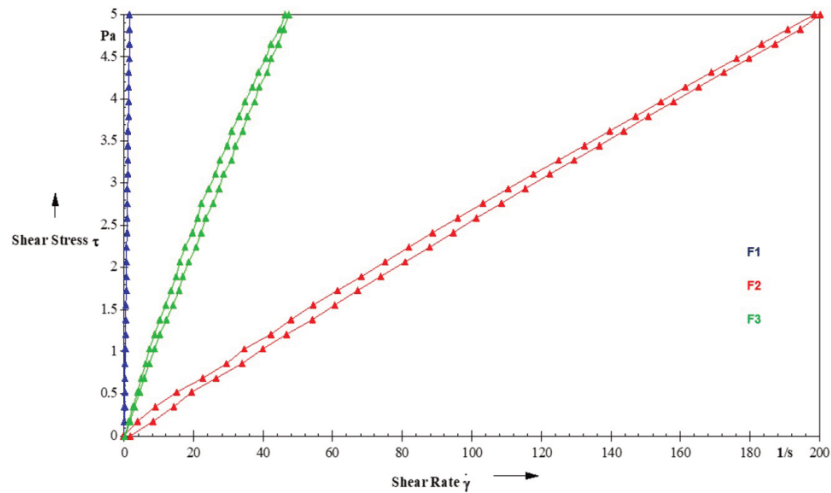


Figure 2. Shear stress by shear rate curve of formulations F1, F2 and F3.

Table 5. Foaming power and foam stability of F1, F2, F3, and *S. saponaria* extract in 0.5% and 1.0% solutions, measured after 30 s and after 5 min.

Sample	Foam (cm)					
	0.5% after 30 s	0.5% after 5 min	R5* (%)	1.0% after 30 s	1.0% after 5 min	R5* (%)
F1	96 ± 1.28	77 ± 1.48	80.20	108 ± 1.04	76 ± 1.44	70.37
F2	304 ± 0.36	280 ± 0.34	92.10	332 ± 0.33	299 ± 0.32	90.06
F3	325 ± 0.34	294 ± 0.38	90.46	360 ± 0.31	327 ± 0.34	90.83
Ext	191 ± 1.55	166 ± 1.35	86.91	235 ± 0.82	197 ± 0.99	83.82

*R5 is the ratio of foam volume in 5 min to volume in 30 s. Results expressed as mean values and relative standard deviation.

Table 6. Percentage of paraffin emulsification for formulations F1, F2, F3, and *S. saponaria* extract.

Sample	% Emulsification
F1	18.47 ± 2.17
F2	88.75 ± 1.99
F3	89.90 ± 1.58
Ext 10%	62.90 ± 3.62

Results expressed as mean values and relative standard deviation.

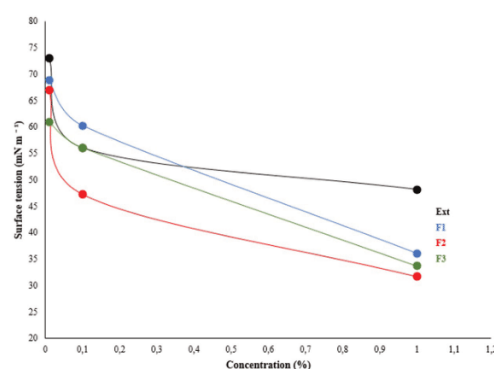


Figure 3. Surface tension of formulations F1, F2 and F3, and *S. saponaria* extract at concentrations of 0.01%, 0.1% and 1% through the drop-counting method.

The stability of the foam over time is an important aspect for the consumer because it means that the foam does not evaporate immediately when it comes into contact with the environment. All formulations showed good foam stability, and in F2 and F3, the presence of the extract enhanced stability, remaining greater than 90%. These results are in line with those found by Panotin et al. (2022) and Hawa et al. (2022) in formulations with plant extracts.

Regarding the foam stability of the *S. saponaria* extract at 0.5%, the value of 86.73% was found, results consistent with the findings of Chen et al. (2010), Yang et al. (2010), and Meshram et al. (2021). Foaming stability is associated with activity at the liquid-air interface, thus, it is a parameter

that contributes to justify the potential of the extract as a surfactant (Wisetkomolmat et al., 2019).

The cleaning potential (Table 6) was calculated by the percentage of paraffin emulsification, and the values ranged between 18.47 and 89.90%.

F1, which does not have the extract in its composition, presented a value of 18.47%, and the addition of *S. saponaria* extract to F2 and F3, enhanced the emulsification, with results close to 90%. *S. saponaria* extract in a 10% solution showed 62.20% of emulsification, demonstrating excellent potential for incorporation into cleaning formulations. Natural surfactants need to have an emulsifying activity of 50 to 90% (Bezerra et al., 2018), a fact that is directly related to the surfactant potential of the product (Daltin, 2011). The values found corroborate the results of authors such as Saripalla et al. (2022) and Basu et al. (2015) in formulations and in plant extracts.

Emulsification is an important attribute because it is related to detergency through the removal of dirt from the body, such as oiliness (Daltin, 2011) and also brings the possibility of *S. saponaria* extract being used as an emulsifier in cosmetic formulations.

4. Conclusions

The incorporation of *S. saponaria* extract in an intimate soap formulation enabled the development of stable formulations at an appropriate pH for the intimate region and potentiated parameters such as emulsifying capability, foam, and reduction of surface tension.

Also, the replacement of synthetic surfactants such as SLES by a natural one contributes to sustainability due to its greater biodegradability, in addition to minimizing risks of skin irritations, which makes this formulation of intimate soap with *S. saponaria* extract an innovative option.

Acknowledgements

This study was financed by the Researcher Financial Assistance Program (PAPesqPG/UFMT) and Pos-graduate Support Program (PROAP/CAPEs 2021) and Project and Research Financing (FINEP) (agreement 2013: 01.13.0434.00, ref. 0645/13). The authors would like to thank the Federal University of Mato Grosso (UFMT) for the infrastructure provided for the research.

Cavaletti, J.C.S. et al.

References

- ALMUKAINZI, M., ALOTAIBI, L., ABDULWAHAB, A., ALBUKHARY, N. and EL MAHDY, A.M., 2022. Quality and safety investigation of commonly used topical cosmetic preparations. *Scientific Reports*, vol. 12, no. 1, pp. 18299. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-21771-7>. PMID:36316522.
- ALQUADEIB, B.T., ELTAHIR, E.K., BANAFSA, R.A. and AL-HADHAIRI, L.A., 2018. Pharmaceutical evaluation of different shampoo brands in local Saudi market. *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 26, no. 1, pp. 98-106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2017.10.006>. PMID:29379340.
- BASU, A., BASU, S., BANDYOPADHYAY, S. and CHOWDHURY, R., 2015. Optimization of evaporative extraction of natural emulsifier cum surfactant from *Sapindus mukorossi* - Characterization and cost analysis. *Industrial Crops and Products*, vol. 77, pp. 920-931. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.006>.
- BEZERRA, K.G.O., RUFINO, R.D., LUNA, J.M. and SARUBBO, L.A., 2018. Saponins and microbial biosurfactants: potential raw materials for the formulation of cosmetics. *Biotechnology Progress*, vol. 34, no. 6, pp. 1482-1493. <http://dx.doi.org/10.1002/btpr.2682>. PMID:30051974.
- BEZERRA, P.X., SOUZA, J.B.P., CARMO, E.S. and LUIS, J.A.S., 2016. Avaliação da rotulagem e parâmetros de qualidade de sabonetes íntimos. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, vol. 20, no. 1, pp. 51-60. <http://dx.doi.org/10.4034/RBCS.2016.20.01.08>.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2004 [viewed 15 June 2023]. *Guia de estabilidade de produtos cosméticos* [online]. Brasília: ANVISA. Qualidade em cosméticos, vol. 1. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view>
- CHEN, Y.F., YANG, C.H., CHANG, M.S., CIOU, Y.P. and HUANG, Y.C., 2010. Foam properties and detergent abilities of the saponins from *Camellia oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 11, no. 11, pp. 4417-4425. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms11114417>. PMID:21151446.
- CORNWELL, P.A., 2018. A review of shampoo surfactant technology: consumer benefits, raw materials and recent developments. *International Journal of Cosmetic Science*, vol. 40, no. 1, pp. 16-30. <http://dx.doi.org/10.1111/ics.12439>. PMID:29095493.
- COSMETICS EUROPE, 2004 [viewed 15 June 2023]. *Guidelines on stability testing of cosmetic products* [online]. Brussels: Cosmetics Europe – The Personal Care Association. Available from: https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/Guidelines_on_Stability_Testing_of_Cosmetics_CE-CTFA_-_2004.pdf
- DALTIN, D., 2011. *Tensoativos: química, propriedades e aplicações*. São Paulo: Editora Blucher.
- DAMKE, E., TSUZUKI, J.K., CHASSOT, F., CORTEZ, D.A., FERREIRA, I.C., MESQUITA, C.S., SILVA, V.R.S. and SVIDZINSKI, T.I.E. and CONSOLARO, M.E., 2013. Spermicidal and anti-*Trichomonas vaginalis* activity of Brazilian *Sapindus saponaria*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 13, no. 1, pp. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-13-196>.
- DEBIASI, B.W., RAISER, A.L., DOURADO, S.H.A., TORRES, M., ANDRIGHETTI, C.R., BONACORSI, C., BATIROLLA, L.D., RIBEIRO, E.B. and VALLADÃO, D.M.S., 2023. Phytochemical screening of *Cordia glabrata* (Mart.) A.DC. extracts and its potential antioxidant, photoprotective, antimicrobial and antiviral activities. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, vol. 83, pp. e248083. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.248083>.
- ESPENDOR, R.V.F., RAISER, A.L., TORRES, M.P.R., RIBEIRO, E.B., NOGUEIRA, R.M., ANDRIGHETTI, C.R. and VALLADÃO, D.M.S., 2019. Development and stability study of products containing cupuaçu butter. *Scientific Electronic Archives*, vol. 12, no. 6, pp. 77-85. <http://dx.doi.org/10.36560/1262019998>.
- FELIPE, L.O. and DIAS, S.C., 2016. Surfactantes sintéticos e biosurfactantes: vantagens e desvantagens. *Química e Sociedade*, vol. 39, no. 3, pp. 228-236. <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160079>.
- GASCA, C.A., DASSOLER, M., BRAND, G.D., NÓBREGA, Y.K.M., GOMES, S.M., JAMAL, C.M., MAGALHÃES, P.O., BAZZO, Y.M.F. and SILVEIRA, D., 2019. Chemical composition and antifungal effect of ethanol extract from *Sapindus saponaria* L. fruit against banana anthracnose. *Scientia Horticulturae*, vol. 259, pp. 108842. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108842>.
- GOMES, I.V.M., GOMES, A.T.A., BRÍGIDO, H.P.C. and SILVA, T.F., 2022. Desenvolvimento de sabonete em barra com manteiga de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *Research, Social Development*, vol. 11, no. 8, pp. e46811831146. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i8.31146>.
- GUPTA, S., KAKKAR, V. and BHUSHAN, I., 2019. Crosstalk between vaginal microbiome and female health: a review. *Microbial Pathogenesis*, vol. 136, pp. 103696. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103696>. PMID:31449855.
- HAWA, L.C., FARHANRIKA, N.L. and AHMAD, A.M., 2022. Utilization of lerak juice (*Sapindus rarak* DC.) as natural surfactant in the liquid washing soap production. *Journal Teknik Pertanian Lampung*, vol. 11, no. 1, pp. 24-34. <http://dx.doi.org/10.23960/jtep-l.v11i1.24-34>.
- JOHNSON, P., TRYBALA, A., STAROV, V. and PINFIELD, V.J., 2021. Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants. *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 288, pp. 102340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2020.102340>. PMID:33383470.
- JUREK, I., SZUPLEWSKA, A., CHUDY, M. and WOJCIECHOWSKI, K., 2021. Soapwort (*Saponaria officinalis* L.) extract vs. synthetic surfactants - effect on skin-mimetic models. *Molecules (Basel, Switzerland)*, vol. 26, no. 18, pp. 5628. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26185628>. PMID:34577098.
- KUMAR, A. and MALI, R., 2010. Evaluation of prepared shampoo formulations and to compare formulated shampoo with marketed shampoos. *Evaluation*, vol. 3, no. 1, pp. 025.
- MESHAM, P.D., SHINGADE, S. and MADANKAR, C.S., 2021. Comparative study of saponin for surfactant properties and potential application in personal care products. *Materials Today: Proceedings*, vol. 45, pp. 5010-5013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2021.01.448>.
- PANOTIN, J.F., RAMBO, M.K.D., ISAAC, V., SEIBERT, C.S. and SCAPIN, E., 2022. New antioxidant lauryl-free herbal shampoo formulation with a Brazilian plant extract. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, vol. 82, pp. e264677. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.264677>.
- PIRES, V.R., PIRES, F.A.R., LOPES, E.M.S., AGUIAR, V.G., CAVALCANTE, O.S.S., OLIVEIRA, E.S., DOURADO, R.C.M. and DE MORAIS, A.C.L.N., 2021. Desenvolvimento de um sabonete líquido a partir do extrato da casca do fruto da pitomba (*Talisia esculenta*). *Research, Social Development*, vol. 10, no. 15, pp. e325101522791. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i15.22791>.
- PRADHAN, A., BHUYAN, S., CHHETRI, K., MANDAL, S. and BHATTACHARYA, A., 2022. Saponins from *Albizia procera* extract: surfactant activity and preliminary analysis. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 643, pp. 128778. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128778>.

- RAI, S., ACHARYA-SIWAKOTI, E., KAFLE, A., DEVKOTA, H.P. and BHATTARAI, A., 2021. Plant-derived saponins: a review of their surfactant properties and applications. *Sci*, vol. 3, no. 4, pp. 44. <http://dx.doi.org/10.3390/sci3040044>.
- REFLORA - HERBÁRIO VIRTUAL [online]. 2023 [viewed 4 October 2023]. Available from: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/>
- RIBEIRO, E.B., MARCHI, P.G.F., HONORIO-FRANÇA, A.C., FRANCA, E.L. and SOLER, M.A.G., 2020. Interferon-gamma carrying nanoemulsion with immunomodulatory and anti-tumor activities. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, vol. 108, no. 2, pp. 234-245. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.36808>. PMID:31587469.
- ROCCA, R., ACERBI, F., FUMAGALLI, L. and TAISCH, M., 2022. Sustainability paradigm in the cosmetics industry: state of the art. *Cleaner Waste Systems*, vol. 3, pp. 100057. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clwas.2022.100057>.
- RUSDIANTO, A.S., YULIANTI, A., SUWASONO, S. and WIYONO, A.E., 2021. The characteristics of liquid soap with additional variations of moringa seed extract (*Moringa oleifera* L.). *International Journal on Food, Agriculture and Natural Resources (Bangkok)*, vol. 2, no. 3, pp. 5-11. <http://dx.doi.org/10.46676/ij-fanres.v2i3.43>.
- SARIPALLA, D.D., KHOKHANI, N.D., KAMATH, A., RAI, R.P. and NAYAK, S., 2022. Propriedades organolépticas e físico-químicas de formulações de xampu de ervas à base natural com *Cyclea peltata* como ingrediente-chave. *Revista de Dermatologia Cosmética*, vol. 21, no. 4, pp. 1666-1674. <http://dx.doi.org/10.1111/jocd.14269>. PMID:34085368.
- SHARMA, R., SHAH, K. and PATEL, J., 2011. Evaluation of prepared herbal shampoo formulations and to compare formulated shampoo with marketed shampoos. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 3, no. 4, pp. 402-405.
- SILVA, R.N.S. and CAVALCANTE, H.L., 2022. Planejamento experimental aplicado ao desenvolvimento de sabonete líquido utilizando extratos de andiroba e mulateiro. *Research, Social Development*, vol. 11, no. 13, pp. e302111335474. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35474>.
- SOUSA, T.S.B., SILVA LIMA, A.D., SILVA, E.K. and LIMA, E.N., 2019. Análise dos parâmetros físico-químicos e organolépticos de sabonetes líquidos íntimos. *Brazilian Journal of Natural Sciences*, vol. 2, no. 3, pp. 115-122. <http://dx.doi.org/10.31415/bjns.v2i3.62>.
- SOUZA, C.G., MOURA, A.K.B., SILVA, J.N.P., SOARES, K.O., SILVA, J.V.C. and VASCONCELOS, P.C., 2019. Fatores antinutricionais de importância na nutrição animal: composição e função dos compostos secundários. *Pubvet*, vol. 13, no. 5, pp. 1-19. <http://dx.doi.org/10.31533/pubvet.v13n5a3271-19>.
- TEIXEIRA NETO, E., MALTA, M.M. and SANTOS, R.G., 2009. Medidas de tensão superficial pelo método de contagem de gotas: descrição do método e experimentos com tensoativos não-iônicos etoxilados. *Química Nova*, vol. 32, no. 1, pp. 223-227. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100037>.
- TSUZUKI, J.K., SVIDZINSKI, T.I., SHINOBU, C.S., SILVA, L.F., RODRIGUES-FILHO, E., CORTEZ, D.A. and FERREIRA, I.C., 2007. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria* L. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, vol. 79, no. 4, pp. 577-583. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652007000400002>. PMID:18066429.
- TUCKER, I.M., BURLEY, A., PETKOVA, R.E., HOSKING, S.L., THOMAS, R.K., PENFOLD, J., LI, P.X., MA, K., WEBSTER, J.R.P. and WELBOURN, R., 2020. Surfactant/biosurfactant mixing: adsorption of saponin/nonionic surfactant mixtures at the air-water interface. *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 574, pp. 385-392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2020.04.061>. PMID:32339821.
- WEI, M.P., QIU, J.D., LI, L., XIE, Y.F., YU, H., GUO, Y.H. and YAO, W.R., 2021. Saponin fraction from *Sapindus mukorossi* Gaertn as a novel cosmetic additive: Extraction, biological evaluation, analysis of anti-acne mechanism and toxicity prediction. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 268, pp. 113552. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.113552>. PMID:33152431.
- WISETKOMOLMAT, J., SUPPAKITTPAISARN, P. and SOMMANO, S.R., 2019. Detergent plants of northern Thailand: potential sources of natural saponins. *Resources*, vol. 8, no. 1, pp. 10. <http://dx.doi.org/10.3390/resources8010010>. PMID:33365398.
- WOJTOŃ, P., SZANIAWSKA, M., HOŁYSZ, L., MILLER, R. and SZCZĘŚ, A., 2021. Surface activity of natural surfactants extracted from *Sapindus mukorossi* and *Sapindus trifoliatus* soapnuts. *Colloids and Interfaces*, vol. 5, no. 1, pp. 7. <http://dx.doi.org/10.3390/colloids5010007>.
- YANG, C.H., HUANG, Y.C., CHEN, Y.F. and CHANG, M.H., 2010. Foam properties, detergent abilities and long-term preservative efficacy of the saponins from *Sapindus mukorossi*. *Yao Wu Shi Pin Fen Xi*, vol. 18, no. 3, pp. 7. <http://dx.doi.org/10.38212/2224-6614.2270>.

ANEXO 1 – CARTA DE ACEITE

Carta de aceite do artigo “Development and stability of intimate soap formulations using *Sapindus saponaria* L. extract as a natural surfactante”.

Brazilian Journal of Biology <noreply.ojs2@scielo.org>
para mim, Wellington, Elton, DENIA ▼

6 de out. de 2023, 14:06



Juliana Cristina de Souza Cavaletti, Wellington Luis Marinho Prando, Elton Brito Ribeiro, DENIA MENDES DE SOUSA VALLADAO,

Chegamos a uma decisão sobre a sua submissão do artigo intitulado "DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES DE SABONETE ÍNTIMO USANDO COMO TENSOATIVO NATURAL O EXTRATO DE *Sapindus saponaria* Linnaeus: Desenvolvimento de sabonete íntimo contendo teensoativo natural" ao Brazilian Journal of Biology.

A decisão é: ACEITO

Brazilian Journal of Biology

Rua Bento Carlos, 750

13560-860 São Carlos / SP - Brasil

ANEXO 2 – INSTRUÇÃO AOS AUTORES

Normas do Periódico *Brazilian Journal of Biology*, no qual o capítulo I foi aceito.

Finalidade e normas gerais

O *Brazilian Journal of Biology* publica resultados de pesquisa original em qualquer ramo das ciências biológicas. Estará sendo estimulada a publicação de trabalhos nas áreas de biologia celular, sistemática, ecologia (auto-ecologia e sinecologia) e biologia evolutiva.

A revista publica somente artigos em inglês. Artigos de revisões de temas gerais também serão publicados desde que previamente propostos e aprovados pela Comissão Editorial.

Informações Gerais:

Os originais deverão ser enviados à Comissão Editorial e estar de acordo com as Instruções aos Autores, trabalhos que não se enquadrem nesses moldes serão imediatamente devolvidos ao(s) autor(es) para reformulação.

Os trabalhos que estejam de acordo com as Instruções aos Autores, serão enviados aos assessores científicos, indicados pela Comissão Editorial. Em cada caso, o parecer será transmitido anonimamente aos autores. Em caso de recomendação desfavorável por parte de um assessor, poderá ser solicitada a opinião de um outro. Os trabalhos serão publicados na ordem de aceitação pela Comissão Editorial, e não de seu recebimento.

Os artigos aceitos para a publicação se tornam propriedade da revista.

Preparação de originais

O trabalho a ser considerado para publicação deve obedecer às seguintes recomendações gerais:

Ser digitado em espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho da fonte 12, parágrafo justificado.

O título deve dar uma ideia precisa do conteúdo e ser o mais curto possível. Um título abreviado deve ser fornecido para impressão nas cabeças de página.

Nomes dos autores - As indicações Júnior, Filho, Neto, Sobrinho etc. devem ser sempre antecedidas por um hífen. Exemplo: J. Pereira-Neto. Usar também hífen para nomes compostos (exemplos: C. Azevedo-Ramos, M. L. López-Rulf). Os nomes dos autores devem constar sempre na sua ordem correta, sem inversões. Não usar nunca, como autor ou co-autor nomes como Pereira-Neto J. Usar e, y, and, et em vez de & para ligar o último co-autor aos antecedentes.

TODOS OS AUTORES DEVERÃO INFORMAR O ORCID, INCLUÍ-LOS NO ARQUIVO DO ARTIGO.

Os trabalhos devem ser redigidos de forma concisa, com a exatidão e a clareza necessárias para sua fiel compreensão. Sua redação deve ser definitiva a fim de evitar modificações nas provas de conteúdo e final. Os trabalhos (incluindo ilustração e tabelas) devem ser submetidos através da interface de administração do sistema “Submission da SciELO” cujo endereço www.scielo.br/bjb (SUBMISSÃO - ONLINE).

Serão considerados para publicação apenas os artigos redigidos em inglês.

O Abstract e o Resumo deverão constar no início do trabalho e iniciar com o título traduzido para o idioma correspondente, devem conter as mesmas informações e sempre sumariar resultados e conclusões.

Em linhas gerais, as diferentes partes dos artigos devem ter a seguinte seriação:

1ª página - Título do trabalho. Nome(s) do(s) autor(es). ORCID dos autores. Instituição ou instituições, com endereço. Indicação do número de figuras existentes no trabalho. Palavras-chave em português e inglês (no máximo 5). Título abreviado para cabeça das páginas. Rodapé: nome do autor correspondente e endereço atual com e-mail.

2ª página e seguintes - Abstract (sem título). Resumo: em português (com título); Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos.

Em separado - Referências, Legendas das figuras, Tabelas e Figuras.

As seguintes informações devem acompanhar todas as espécies citadas no artigo:

Para zoologia, o nome do autor e da data de publicação da descrição original deve ser dada a primeira vez que a espécie é citada nos trabalhos;

Para botânica e ecologia, somente o nome do autor que fez a descrição deve ser dada a primeira vez que a espécie é citada nos trabalhos.

O trabalho deverá ter, no máximo, 25 páginas, incluindo tabelas e figuras, em caso de Notes and Comments limitar-se a 4 páginas.

A seriação dos itens de Introdução e Agradecimentos só se aplicam, obviamente, a trabalhos capazes de adotá-la. Os demais artigos (como os de Sistemática) devem ser redigidos de acordo com critérios geralmente aceitos na área.

Referências Bibliográficas:

1. Citação no texto: Use o nome e o ano de publicação: Reis (1980); (Reis, 1980); (Zaluar and Rocha, 2000); Zaluar and Rocha (2000). Se houver mais de dois autores, usar “et al.”
2. Citações na lista de referências devem estar em conformidade com a norma ISO 690/2010.

No texto, será usado o sistema autor-ano para citações bibliográficas (estritamente o necessário), utilizando-se “and” no caso de 2 autores. As referências, digitadas em folha separada, devem constar em ordem alfabética. Nas referências de artigos de periódicos deverão conter nome(s) e iniciais do(s) autor(es), ano, título por extenso, nome da revista (por extenso e em itálico), volume, número, primeira e última páginas. Referências de livros e monografias deverão também incluir a editora e, conforme citação, referir o capítulo do livro. Deve(m) também ser referido(s) nome(s) do(s) organizador(es) da coletânea. Exemplos:

Livro:

LOMINADZE, D.G., 1981. Cyclotron waves in plasma. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press. 206 p. International series in natural philosophy, no. 3.

Capítulo de livro:

WRIGLEY, E.A., 1968. Parish registers and the historian. In: D. J. STEEL, ed. National index of parish registers. London: Society of Genealogists, pp. 15-167.

Artigo de periódico:

CYRINO, J.E. and MULVANEY, D.R., 1999. Mitogenic activity of fetal bovine serum, fish fry extract, insulin-like growth factor-I, and fibroblast growth factor on brown bullhead catfish cells--BB line. *Revista Brasileira de Biologia = Brazilian Journal of Biology*, vol. 59, no. 3, pp. 517-525. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71081999000300017>. PMID: 10765463.

Dissertação ou tese:

LIMA, P.R.S., 2004. Dinâmica populacional da Serra *Scomberomorus brasiliensis* (Osteichthyes; Scombridae), no litoral ocidental do Maranhão-Brasil. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 45 p. Dissertação de Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura.

Trabalho apresentado em evento:

RANDALL, D.J., HUNG, C.Y. and POON, W.L., 2004. Response of aquatic vertebrates to hypoxia. In: *Proceedings of the Eighth International Symposium on Fish Physiology, Toxicology and Water Quality*, October 12-14, Chongqing, China. Athens, Georgia, USA: EPA, 2006, pp. 1-10.

Referência disponível online:

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS – ANA, 2013 [viewed 4 February 2013]. Hidro Web: Sistema de Informações hidrológicas [online]. Available from: <http://hidroweb.ana.gov.br/>

A Revista publicará um Índice inteiramente em inglês, para uso das revistas internacionais de referência.

As provas serão enviadas aos autores para uma revisão final (restrita a erros e composição) e deverão ser devolvidas imediatamente. As provas que não forem devolvidas no tempo solicitado - 2 dias - terão sua publicação postergada para uma próxima oportunidade, dependendo de espaço.

Material Ilustrativo - Os autores deverão limitar as tabelas e as figuras (ambas numeradas em arábicos) ao estritamente necessário. No texto do manuscrito, o autor indicará os locais onde elas deverão ser intercaladas.

As tabelas deverão ter seu próprio título e, em rodapé, as demais informações explicativas. Símbolos e abreviaturas devem ser definidos no texto principal e/ou legendas.

Na preparação do material ilustrativo e das tabelas, deve-se ter em mente o tamanho da página útil da REVISTA (22 cm x 15,0 cm); (coluna: 7 cm) e a idéia de conservar o sentido vertical. Desenhos e fotografias exageradamente grandes poderão perder muito em nitidez quando forem reduzidos às dimensões da página útil. As pranchas deverão ter no máximo 30 cm de altura por 25 cm de largura e incluir barra(s) de calibração.

As ilustrações devem ser agrupadas, sempre que possível. A Comissão Editorial reserva-se o direito de dispor esse material do modo mais econômico, sem prejudicar sua apresentação.

Recomendações Finais: Antes de remeter seu trabalho, preparado de acordo com as instruções anteriores, deve o autor relê-lo cuidadosamente, dando atenção aos seguintes itens: ORCID dos autores, título reduzido para cabeçalho, indicar o autor correspondente com o respectivo e-mail, correção gramatical, correção datilográfica (apenas uma leitura sílaba por sílaba a garantirá), correspondência entre os trabalhos citados no texto e os referidos na bibliografia, tabelas e figuras em arábicos, correspondência entre os números de tabelas e figuras citadas no texto e os referidos em cada um e posição correta das legendas.