



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NANOEMULSÃO A BASE DE ÓLEO DA SEMENTE DE GOIABA (*Psidium guajava* L.) CONTENDO ÁCIDO HIALURÔNICO PARA APLICAÇÃO TÓPICA

Hellen Caroline Oliveira Santos

BELÉM – PA

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NANOEMULSÃO A BASE DE ÓLEO DA SEMENTE DE GOIABA (*Psidium guajava* L.) CONTENDO ÁCIDO HIALURÔNICO PARA APLICAÇÃO TÓPICA

Autora: Hellen Caroline Oliveira Santos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Roseane Maria Ribeiro Costa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para o título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área: Fármacos e Medicamentos

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e Avaliação de Medicamentos Naturais e Sintéticos

BELÉM – PA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

S237n Santos, Hellen Caroline Oliveira.
Nanoemulsão a base de óleo da semente de goiaba
(Psidium guajava L.) contendo ácido hialurônico para
aplicação tópica / Hellen Caroline Oliveira Santos. — 2020.
87 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Roseane Maria Ribeiro Costa
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, ,
, Belém, 2020.

1. Nanoemulsões. 2. Óleo de goiaba. 3. Cosméticos.
4. Ácido hialurônico. I. Título.

CDD 615.4

FOLHA DE APROVAÇÃO

Hellen Caroline Oliveira Santos

NANOEMULSÃO A BASE DE ÓLEO DA SEMENTE DE GOIABA (*Psidium guajava* L.) CONTENDO ÁCIDO HIALURÔNICO PARA APLICAÇÃO TÓPICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para o título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Roseane Maria Ribeiro Costa (Orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

Prof. Dr. Flávio de Vasconcelos

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

Prof. Dr. Eduardo Dias Almeida

Universidade Federal do Pará

BELÉM – PA

2020

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Eliene Santos e Jessé Santos que são a base de tudo que sou hoje e ao meu filho Filipe Reis, minha maior inspiração na vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao meu bom Deus e Pai misericordioso que me guiou e me sustentou nesta caminhada. Sem o seu amparo e o seu cuidado não teria conseguido forças para chegar até aqui. MUITÍSSIMO obrigada, meu Pai.

Aos meus pais, Eliene Santos e Jessé Santos que em todos os momentos estiveram ao meu lado me apoiando, me orientando e me exortando. Se hoje eu consegui concluir esta fase, eles são os responsáveis. Obrigada por todo amor, cuidado e carinho transbordante mesmo com toda distância.

Ao meu filho, Filipe Reis que me dá forças para levantar todos os dias e correr atrás do melhor para as nossas vidas. Ele é o meu sentido na vida e o maior de todos os ensinamentos que um dia poderia obter.

A minha irmã Geise Bonneterre por desde pequena cuidar de mim como uma super-heroína, me defendendo, me apoiando e cuidando de mim contra todo mal que há lá fora. Eu te amo, viada. Não esquecendo do meu querido cunhado Nixon Bonneterre pelos apelidos carinhosos que só ele consegue colocar em mim, levantando meu auto astral e por estar presente em 100% dos momentos mais importantes da minha vida.

As amigas que ganhei na pós-graduação, Erika Mourão, Lindalva Ferreira, Luana Leal e Suellen Sanches por acrescentarem na minha vida ensinamentos, companheirismo e o sentido de parceria nesse mundo acadêmico.

Ao meu querido amigo João Victor, o meu MUITÍSSIMO obrigado. Pessoa que me ajudou com seus conselhos e orientações nos altos e baixos desta caminhada.

Ao meu parceiro de todas as horas (literalmente) Lucas Araújo, que me motiva e incentiva a dar o melhor de mim todos os dias independentemente das circunstâncias e me ensina que não há grandes barreiras para quando decidimos focar e correr atrás dos nossos sonhos.

Ao laboratório P&D, em especial a Dr^a. Rayanne Pereira e Prof. Dr. Otávio Carrera por me receberem no início desta caminhada e me auxiliarem no desenvolvimento deste projeto.

A todos do laboratório NANOFARM, com um agradecimento especial a minha orientadora Dr^a Roseane Costa por me ensinar a não desistir fácil dos meus sonhos, mesmo com toda a dificuldade que apareça no caminho e pela paciência e devida orientação em cada passo.

A secretaria do PPGCF, Cliciane e a Brasília por todo auxílio e excelente serviço.

A coordenadora do PPGCF, Prof^a Dr^a Marta Chagas pelos conselhos, paciência e orientação nos momentos difíceis.

A Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pelo apoio estrutural e profissional para concretização deste mestrado.

RESUMO

SANTOS, H. C. O. NANOEMULSÃO A BASE DE ÓLEO DA SEMENTE DE GOIABA (*Psidium guajava* L.) CONTENDO ÁCIDO HIALURÔNICO PARA APLICAÇÃO TÓPICA. 85 f. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2020.

As sementes de goiaba apresentam em seu óleo compostos bioativos que podem ser utilizados na neutralização de radicais livres na pele e que permitirão substituir os antioxidantes sintéticos ou fazer associações entre eles, contendo componentes de origem vegetal que poderão ser associados a formulações contendo ativos, como ácido hialurônico, que proporcionará liberação controlada do ativo e atuará contra o envelhecimento cutâneo além da potencialização dos resultados da formulação devido os compostos bioativos naturais. Desta forma o objetivo central deste trabalho foi desenvolver uma nanoemulsão à base de óleo de goiaba, incorporando ácido hialurônico. Os valores da caracterização do óleo de goiaba encontraram-se dentro dos padrões aceitáveis pela legislação brasileira. Constatou-se predomínio de ácidos graxos mono e poli-insaturados, como os ácidos linoleico e oleico. A espectroscopia na região do infravermelho revelou bandas características dos grupos funcionais existentes nas cadeias carbônicas dos ácidos graxos. A avaliação da estabilidade oxidativa do óleo revelou que este apresenta um tempo de indução acima de 15 horas. A degradação térmica do óleo ocorreu acima de 300°C. O teor de compostos fenólicos e flavonoides foram altos quando em comparação com outras matrizes e diferentes tipos de solventes encontradas na literatura. Observou-se que o óleo de goiaba apresenta boa atividade antioxidante, demonstrando-se como uma alternativa de fonte nova e acessível de antioxidante natural que pode ser utilizada em formulação cosmética. Podemos constatar que o EHL do óleo de goiaba é 9,0 e o método de inversão de fases foi eficiente na preparação das nanoemulsões, onde a caracterização das formulações por pH, densidade, viscosidade, tamanho de partícula, PDI e potencial zeta foram satisfatórios dentro da normativa que se aplica a via de administração tópica, sendo um produto de qualidade e eficiente penetração. Após incorporação do ácido hialurônico e seu doseamento, em 30 dias de preparo, este se manteve com adequada concentração na formulação, assim proporcionando uma proposta de cosmético que concede uma hidratação profunda e promove a renovação celular.

Palavras-chave: óleo de semente da goiaba; formulação tópica; compostos bioativos; antioxidantes naturais; caracterização físico-química; ácido hialurônico; nanoemulsões; antienvhecimento.

ABSTRACT

SANTOS, H. C. O. NANOEMULSION BASED ON GUAVA SEED OIL (*Psidium guajava L.*) CONTAINING HYALURONIC ACID FOR TOPICAL APPLICATION. 85 f. Masters Dissertation, Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pará, Belém, 2020.

Guava seeds contain bioactive compounds in their oil that can be used to neutralize free radicals in the skin and that will allow replacing synthetic antioxidants or making associations between them, containing components of plant origin that can be associated with formulations containing assets, such as acid hyaluronic, which will provide controlled release of the active and act against skin aging in addition to enhancing the results of the formulation due to natural bioactive compounds. Thus, the main objective of this work was to develop a nanoemulsion based on guava oil, incorporating hyaluronic acid. The values of the characterization of guava oil were within the standards acceptable by Brazilian legislation. There was a predominance of mono and polyunsaturated fatty acids, such as linoleic and oleic acids. Spectroscopy in the infrared region revealed bands characteristic of the functional groups existing in the carbon chains of fatty acids. The evaluation of the oxidative stability of the oil revealed that it has an induction time above 15 hours. The thermal degradation of the oil occurred above 300°C. The content of phenolic compounds and flavonoids was high when compared to other matrices and different types of solvents found in the literature. It was observed that guava oil has good antioxidant activity, showing itself as an alternative to a new and accessible source of natural antioxidant that can be used in cosmetic formulation. We can verify that the EHL of guava oil is 9.0 and the phase inversion method was efficient in the preparation of nanoemulsions, where the characterization of the formulations by pH, density, viscosity, particle size, PDI and zeta potential were satisfactory within the regulations that apply to the topical administration route, being a quality product and efficient penetration. After incorporation of hyaluronic acid and its dosage, in 30 days of preparation, it remained with adequate concentration in the formulation, thus providing a cosmetic proposal that provides deep hydration and promotes cell renewal.

Keywords: guava seed oil; topical formulation; bioactive compounds; natural antioxidants; physical-chemical characterization; hyaluronic acid; nanoemulsions; anti aging.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Árvore da goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.) e seu fruto..... | 17 |
| Figura 2. Estrutural básica do fenol..... | 19 |
| Figura 3. Estrutura básica dos flavonoides..... | 19 |
| Figura 4. Estrutura Fenólica dos antioxidantes sintéticos..... | 22 |
| Figura 5. Representação esquemática da pele..... | 24 |
| Figura 6. Estrutura química do ácido hialurônico..... | 25 |
| Figura 7. Representação de uma partícula (a) e a dispersão dos seus componentes na gotícula (b)..... | 27 |
| Figura 8. Espectro vibracionais do FT-IR do óleo da semente de goiaba..... | 45 |
| Figura 9. Estabilidade oxidativa versus tempo de indução por oxidação (Rancimat) do óleo da semente de goiaba..... | 47 |
| Figura 10. Curva TG/DTG do óleo da semente de goiaba..... | 48 |
| Figura 11. Cromatograma do óleo da semente de goiaba com o perfil de ácidos graxos..... | 51 |
| Figura 12. Tamanho de partícula da formulação branca, após 30 dias..... | 62 |
| Figura 13. Tamanho de partícula formulação com concentração de 0,2% de AH, após 30 dias..... | 62 |
| Figura 14. Tamanho de partícula formulação com concentração de 0,5% de AH, após 30 dias..... | 62 |
| Figura 15. Tamanho de partícula formulação com concentração de 1,0% de AH, após 30 dias..... | 62 |
| Figura 16. Curva analítica do ácido hialurônico usando como solvente água destilada..... | 66 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Concentração em % (p/p) de tensoativo hidrofílico, lipofílico, óleo e água destilada utilizada na formulação para obtenção do EHL requerido pelo óleo da semente de goiaba..... | 37 |
| Tabela 2. Características físico-químicas do óleo da semente de goiaba..... | 41 |
| Tabela 3. Bandas de absorções no infravermelho do óleo da semente de goiaba..... | 45 |
| Tabela 4. Composição percentual dos ácidos graxos presente no óleo da semente de goiaba..... | 49 |
| Tabela 5. Comportamento das emulsões nas concentrações pré-estabelecidas de Procetyl AWS® e Span® 80 para determinação do EHL do óleo da semente de goiaba..... | 55 |
| Tabela 6. Análise macroscópica e comportamento da formulação após centrifugação..... | 57 |
| Tabela 7. Determinação do pH e desvio padrão das nanoemulsões após 24h, 15 e 30 dias..... | 58 |
| Tabela 8. Determinação da densidade e viscosidade das formulações..... | 59 |
| Tabela 9. Tamanho (nm) das formulações após 24h, 15 e 30 dias..... | 61 |
| Tabela 10. Índice de Polidispersão (IP) das formulações após 24h, 15 e 30 dias..... | 63 |
| Tabela 11. Determinação do Potencial Zeta das formulações após 24h, 15 e 30 dias..... | 65 |
| Tabela 12. Concentrações de AH ($\mu\text{g/mL}$) nas formulações no decorrer de 30 dias..... | 66 |

LISTA DE EQUAÇÕES

| | |
|--|----|
| Equação 1. Densidade..... | 30 |
| Equação 2. Índice de Iodo..... | 31 |
| Equação 3. Índice de Acidez..... | 31 |
| Equação 4. Índice de Saponificação..... | 31 |
| Equação 5. Redução da absorbância..... | 35 |
| Equação 6. Porcentagem de oxidação..... | 35 |
| Equação 7. Porcentagem de proteção..... | 35 |
| Equação 8. Cálculo do EHL..... | 36 |
| Equação 9. Comportamento Reológico..... | 39 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|-------------------|---|
| ABTS | 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) |
| AGE | Ácido Graxo Essencial |
| AH | Ácido Hialurônico |
| AlCl ₃ | Cloreto de Alumínio |
| ANP | Agência Nacional de Petróleo |
| ASTM | American Society for Testing and Materials |
| BHA | Butil-hidroxianisol |
| BHT | Butil-hidroxitolueno |
| CF | Compostos Fenólicos |
| CG | Cromatografia Gasosa |
| DTG | Termogravimetria Derivada |
| EHL | Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico |
| EIP | Emulsion Inversion Point |
| FAMEs | Ácidos Graxos em Ésteres Metílicos |
| FT-IR | Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier |
| ISO | Organização Internacional de Normalização |
| KBr | Brometo de Potássio |
| KOH | Hidróxido de Potássio |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |
| NaNO ₂ | Nitrito de Sódio |
| NEs | Nanoemulsões |
| PDI | Índice de Polidispersão |
| PG | Propil Galato |
| pH | Potencial Hidrogenionico |
| PIT | Phase Inversion Temperature |
| PUFA | Ácidos Graxos Poli-insaturados |
| RDC | Resolução de Diretoria Colegiada |
| TBHQ | Terc-butil-hidroquinona |
| TEAC | Troxol Equivalent Antioxidant Activity |
| TG | Termogravimetria |
| UV | Radiação Ultravioleta |

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

| | |
|------------------------|--|
| mg EAG.g ⁻¹ | Miligrama de Ácido gálico por grama |
| μM TE.g ⁻¹ | Micromol de Trolox por grama |
| nm | Nanômetro |
| mm | Milimetro |
| g | grama |
| mL | Mililitro |
| °C | Graus Celsius |
| g/mL | Grama por Mililitro |
| N | Normal |
| L/h | Litro por Hora |
| cm ⁻¹ | Centímetro Inverso |
| g/mol | Grama por mol |
| mL/min | Mililitro por minuto |
| °C/min | Graus por minutos |
| mol/L | Mol por litro |
| μL | Microlitro |
| m/V | Massa por volume |
| mM | Milimolar |
| gI ² /100g | Gramas de iodo por 100 gramas |
| mg KOH/g | Miligramas de hidróxido de potássio por grama |
| mm ² /s | Milimetro ao quadrado por segundo (Viscosidade cinemática) |
| μg/mL | Micrograma por mililitro |
| cP | Centipoise |

SUMÁRIO

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 17 |
| 2.1 | Goiaba (<i>Psidium guajava</i> L.) | 17 |
| 2.3 | Compostos Fenólicos | 18 |
| 2.4 | Atividade Antioxidante de óleos vegetais | 20 |
| 2.5 | Antioxidantes sintéticos..... | 21 |
| 2.6 | Óleos vegetais em aplicações cosméticas..... | 22 |
| 2.7 | A pele e sua estrutura | 23 |
| 2.8 | Ácido Hialurônico | 25 |
| 2.9 | Nanoemulsões em aplicações cosméticas..... | 26 |
| 3 | OBJETIVOS..... | 29 |
| 3.1 | Geral | 29 |
| 3.2 | Específicos..... | 29 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 30 |
| 4.1 | Materiais..... | 30 |
| 4.1.1 | Matéria-prima..... | 30 |
| 4.2 | Métodos | 30 |
| 4.2.1 | Caracterização físico-química do óleo de goiaba | 30 |
| 4.2.1.1 | Densidade | 30 |
| 4.2.1.2 | Índice de Refração..... | 31 |
| 4.2.1.3 | Índice de Iodo | 31 |
| 4.2.1.4 | Índice de Acidez | 31 |
| 4.2.1.5 | Índice de Saponificação..... | 31 |
| 4.2.1.6 | Viscosidade Cinemática | 32 |
| 4.2.2 | Espectrometria na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) 32 | |
| 4.2.3 | Estabilidade oxidativa – Rancimat | 32 |
| 4.2.4 | Análise térmica do óleo de goiaba..... | 32 |
| 4.2.5 | Ácidos graxos do óleo de goiaba por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG-MS) | 33 |
| 4.2.6 | Determinação do teor de compostos fenólicos (CF)..... | 33 |
| 4.2.7 | Determinação do teor de flavonoides total | 34 |

| | | |
|---------|---|----|
| 4.2.8.1 | Método ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico))... | 34 |
| 4.2.17 | Análise estatística..... | 40 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 41 |
| 5.1 | Caracterização Físico-Química do Óleo de Goiaba | 41 |
| 5.1.1 | Densidade Relativa, Índice de Refração, Iodo, Acidez, Saponificação.. | 41 |
| 5.1.2 | Viscosidade Cinemática | 43 |
| 5.2 | Análise espectroscópica por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)..... | 44 |
| 5.3 | Estabilidade oxidativa..... | 46 |
| 5.4 | Análise térmica do óleo de goiaba | 47 |
| 5.5 | Determinação do perfil de ácidos graxos do óleo de goiaba por CGMS | 49 |
| 5.6 | Determinação do teor de compostos fenólicos (CF) e flavonoides total..... | 51 |
| 5.7 | Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS | 52 |
| 5.8 | Sistema β -caroteno/Ácido Linoleico..... | 53 |
| 5.9 | Estudos de pré-formulação..... | 54 |
| 5.9.1 | Determinação do EHL e obtenção das nanoemulsões..... | 54 |
| 5.10 | Estudos de estabilidade preliminar..... | 56 |
| 5.11 | Densidade e Viscosidade das Nanoemulsões..... | 58 |
| 5.12 | Caracterização das nanoemulsões..... | 59 |
| 5.12.1 | Determinação do Tamanho de Partícula, Índice de Polidispersão (PDI) e Potencial Zeta..... | 59 |
| 5.13 | Doseamento do ácido hialurônico pelo método Carbazol..... | 65 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 68 |
| 7 | REFERÊNCIAS..... | 69 |
| | ANEXO..... | 87 |

1 INTRODUÇÃO

A goiaba faz parte da família das Myrtaceae e tem como origem regiões tropicais da América Central e América do Sul (PEREIRA, 1995). No gênero *Psidium*, a que mais se destaca é a *Psidium guajava* L. (ACCORSI et al. 1960; MANICA et al. 2000), que produz um fruto de grande importância de valor nutritivo e econômico, mas também pela excelente aceitação para o consumo *in natura* e ampla aplicação industrial (IHA et al. 2008, NASCIMENTO et al. 2010).

Tem-se observado o aumento da demanda de pesquisas à base dos co-produtos da goiaba por apresentar interessantes compostos bioativos, elementos funcionais e benefícios à saúde (VERMA et al. 2013), gerando o aumento da demanda de pesquisas à base dos subprodutos da goiaba (MORAES et al. 2014). Este elevado interesse está também relacionado à tendência do uso de produtos de origem natural, contendo compostos bioativos, como polifenóis e vitamina C, que protegem contra danos da pele, além de possuírem ação anti-inflamatória, antimicrobiana e principalmente atividade antioxidante (WOJDYLO, OSZMIANSKI e CZEMERYYS, 2007; OLIVEIRA, FONSECA e FONSECA, 2008; BATISTA, 2010; JELASSI et al. 2014).

É incessante a necessidade da busca por antioxidantes naturais derivados de plantas, como a goiaba, constituindo-se como um tipo natural de antioxidante que pode ser utilizado na neutralização de radicais livres na pele, bem como na profilaxia do câncer de pele (POLONINI, RAPOSO e BRANDÃO, 2011; FALOWO, FAYEMI e VOSTER, 2014). Com isso, houve um aumento de pesquisas em alternativas aos antioxidantes sintéticos, devido seu potencial carcinogênico (NTP, 2016). Os mais utilizados nas indústrias são: butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroxianisol (BHA) e o propil galato (PG), onde, muitos destes, têm demonstrado efeitos tóxicos e/ou mutagênicos (GUPTA et al. 2010; FARIAS et al. 2013). Isso leva ao desenvolvimento de projetos de pesquisas direcionadas no sentido de encontrar produtos naturais com ação antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com intuito de diminuir sua quantidade em formulações cosméticas tópicas.

A atenuação do envelhecimento cutâneo por meio da busca e do estudo de substâncias naturais e eficazes, oferecidas em produtos cosméticos aos consumidores, se torna uma solução eficaz na proteção da pele, que por possuir

uma área extensa e função protetora do organismo ao ambiente, fica muito exposta ao ataque radicalar, sendo a defesa antioxidante constantemente requisitada (SCOTTI et al. 2007; BAREL et al. 2014).

Desta forma, o envelhecimento cutâneo é um processo biológico complexo e contínuo que se caracteriza por alterações celulares e moleculares, com a perda de água, colágeno e outras biomoléculas importantes na estrutura e manutenção da pele. Entre estas, se destaca o ácido hialurônico (AH), sendo esta uma molécula presente nos tecidos conjuntivos do corpo humano (MORAES et al. 2017). A aplicação de um produto contendo AH constitui um tratamento eficaz no combate a desidratação cutânea e, por conseguinte, na prevenção do envelhecimento da pele, o que está diretamente relacionado com a sua capacidade de retenção de água, ação antioxidante e propriedades hidratantes nas aplicações dermatológicas (GUILLAUMIE et al. 2006; RUIVO, 2014).

Pesquisas de novos sistemas de liberação de uso tópico contendo componentes ativos de origem vegetal têm aumentado nos últimos tempos (BAJERSKI et al. 2016). A produção de sistemas nanotecnológicos, como nanoemulsões, contendo derivados vegetais, proporciona vantagens como aumento da solubilidade e biodisponibilidade, redução da toxicidade, melhora da estabilidade e proteção contra degradação química, quando comparada com os derivados vegetais em preparações convencionais (AJAZUDDIN, 2010; PACHECO, 2017).

Durante o desenvolvimento de formas farmacêuticas e cosméticas, uma das maiores preocupações é assegurar a estabilidade dos componentes da formulação evitando a degradação dos mesmos. A estabilidade refere-se à capacidade de resistir à perda do ativo devido à decomposição (SIQUEIRA, 2016). Uma das alternativas para solucionar limitações envolvendo a degradação, bem como, a estabilidade do ácido hialurônico seria a sua incorporação em um sistema nanoemulsionado a base do óleo de goiaba que atuaria como antioxidante natural na formulação de aplicação tópica.

Nesse contexto, o desafio deste trabalho foi preparar e caracterizar uma nanoemulsão à base de óleo de semente da goiaba, visando uma estratégia promissora, visto que as nanoemulsões (NEs) podem facilitar a penetração de ativos, como o ácido hialurônico, principalmente pelo tamanho reduzido das suas gotículas que leva a uma hidratação oclusiva para via que se destina (MOU et al. 2008; PRAKASH e THIAGARAJAN, 2011; LUCCA et al. 2015).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Goiaba (*Psidium guajava* L.)

Originária da América tropical e pertencente à família Myrtaceae (NASCIMENTO et al. 2010; PEREIRA et al. 2005; SANTOS, 2011), a goiaba (*Psidium guajava* L.) (Figura 1) abrange mais de 130 gêneros e 3.600 espécies disseminadas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (HAIDA et al. 2015). Dentre os maiores centros produtores mundiais estão o Brasil, que possui maior relevância, junto com México, Índia, China, Paquistão e África do Sul (SOUZA et al., 2016; PEREIRA e KAVATI, 2011). A produção brasileira da goiaba nos últimos anos passou de 328.255 toneladas (2006) para 414.960 toneladas (2016), distribuídos em 17.179 hectares de área colhida destinada à colheita (IBGE, 2017).

Figura 1. Árvore da goiaba (*Psidium guajava* L.) e seu fruto (HOFFMANN J, 2009).



Em sua composição, a goiaba apresenta elevados teores de ácido ascórbico, vitamina A, vitamina E e complexo B, além de constituir uma rica fonte de fibras e minerais como cálcio, fósforo e ferro (TEIXEIRA et al. 2006; FERNANDES et al. 2007; ARSHIYA, 2013). A partir dos seus compostos bioativos, a goiaba traz benefícios à saúde humana, sendo o carotenoide licopeno (representando 80% da totalidade) o composto de maior interesse, visto que está relacionado à prevenção de diversos tipos de câncer, bem como de doenças cardiovasculares (UCHOA, 2008; PEREIRA, 2009; CORRÊA et al. 2011).

A goiaba é rica em compostos fenólicos, como flavonoides, taninos, óleos essenciais, entre outros, os quais as suas propriedades antioxidantes estão relacionadas à prevenção de doenças crônicas degenerativas não transmissíveis (NASCIMENTO et al. 2010; BARBALHO et al. 2012).

2.2 Óleo da semente de goiaba

Os óleos vegetais, segundo o regulamento técnico do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005), são definidos como os produtos constituídos de glicerídeos de ácidos graxos de espécie(s) vegetal(is) e que podem conter ainda pequenas quantidades de outros lipídios como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo, que a temperatura de 25 °C se apresentam na forma líquida.

Os estudos sobre a utilização de resíduos gerados pelas indústrias de alimentos vêm demonstrando que estes produtos são uma fonte rica de constituintes que podem ser reaproveitados para alimentação humana e animal (BERNARDINO-NICANOR et al. 2006). A literatura indica que o conteúdo de óleo extraído da semente da goiaba está entre 10 e 16%, e que estes valores são variáveis em função da diversidade, processamento e condições de cultura (FONTANARI et al. 2007; SINHA et al. 2012).

O principal interesse pelo óleo de semente da goiaba deve-se ao seu alto conteúdo em ácidos graxos insaturados, como o ácido linoleico. A composição em ácidos graxos dos alimentos é de grande importância, sobretudo os poli-insaturados (PUFA) das famílias ômega-3 e ômega-6, aos quais se atribuem numerosos benefícios ao organismo humano, uma vez que os PUFA são essenciais para o corpo humano, uma vez que não são sintetizados pelo organismo (LUZIA e JORGE, 2009; ROCKENBACH et al. 2014).

Destes componentes, os ácidos graxos oleico e linoleico são de particular importância devido suas muitas propriedades e usos. A quantidade de ácido linoleico presente nas sementes de goiaba permite considerar este composto como fonte potencial com uma ampla gama de aplicações nas indústrias de alimento e cosmética, bem como na medicina. A extração e a exploração podem proporcionar um alto valor agregado ao subproduto de resíduos das frutas, fortalecendo a cadeia produtiva da goiaba (CASTRO et al. 2015).

2.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (Figura 2), incluindo grupos funcionais tais como ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos (RODRIGUES et al, 2016). Esses compostos estão subdivididos em fenólicos diterpenicos, ácidos

fenólicos, taninos e flavonoides (Figura 3), apresentando como característica biológica principal sua capacidade antioxidante por meio da inibição dos mecanismos oxidativos que podem levar ao aparecimento de doenças degenerativas (HU et al, 2016; OLIVEIRA, 2018).

Figura 2. Estrutural básica do fenol (DIAS, 2018)

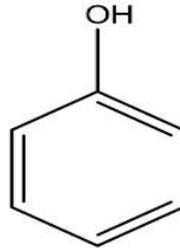
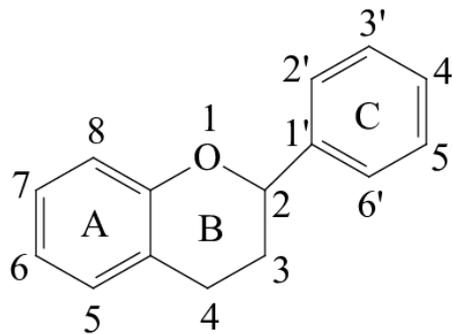


Figura 3. Estrutura básica dos flavonoides (DENISOV et al. 2005).



Os compostos fenólicos têm recebido atenção nos últimos anos por sua ação antioxidante, inibindo a peroxidação lipídica *in vitro*. Estes compostos desempenham um papel importante, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOUSA et al., 2007; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

Os antioxidantes atuam como quelantes de metais e sequestradores de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a um carbono metilênico, podendo atuar como protetores e regeneradores de antioxidantes primários como ácido ascórbico, tocoferol e b-caroteno (WANG et al, 2017).

A ação antioxidante dos compostos fenólicos apresenta um papel importante na redução da oxidação lipídica, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade dos alimentos, mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias como doenças cardiovasculares, câncer, úlceras, processos inflamatórios, fragilidade vascular e infecções (BARBALHO et al. 2012; HATAMNIA, ABBASPOUR, DARVISHZADEH, 2014; HO et al, 2014).

Estudos relatam que sementes e cascas e resíduos de algumas frutas amazônicas e especificidades, possuem teores significativos de compostos fenólicos com elevado potencial antioxidante (GABBAY, 2018; COSTA et al. 2018; FERREIRA, 2019).

O método colorimétrico Folin Ciocalteu é o mais empregado na quantificação de compostos fenólicos. O reagente Folin Ciocalteu é formado pela mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotúngstico, onde o molibdênio se encontra no estado de oxidação (cor amarela – $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Os compostos fenólicos em meio alcalino sofrem desprotonação, originando os ânions fenolatos, os quais atuam como agentes redutores sobre os componentes do reagente de Folin formando o complexo molibdênio-tungstênio de coloração azul $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$, permitindo a determinação da concentração das substâncias redutoras (OLIVEIRA et al. 2009).

2.4 Atividade Antioxidante de óleos vegetais

Radicais livres são átomos ou moléculas produzidas continuamente durante os processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes ao metabolismo (BAE et al. 1999; MORAES e COLLA, 2006). Para combater os radicais livres as plantas produzem substâncias que são capazes de regenerar ou prevenir os danos oxidativos, exercendo seu papel como antioxidante.

Os óleos vegetais em sua composição natural possuem propriedades antioxidantes, ácidos graxos poliinsaturados, bloqueiam a peroxidação da camada lipídica, evitando a produção de radicais livres (HAAG, JUNIOR e FARIA, 2013), essa atividade antioxidante é derivada de tocoferóis, carotenoides, triterpenos, flavonoides e ácidos fenólicos que protegem das espécies reativas de oxigênio (NISHIGORI, 2006; SAMPLE e HE, 2017; SILVA, MICHNIAK-KOHN e LEONARDI, 2017).

A maioria dos antioxidantes lipofílicos são extraídos no óleo durante a prensagem e em extrações com solvente. Antioxidantes mais polares, no entanto, são parcialmente removidos durante a etapa de refino (SCHMIDT e POKORNÝ, 2005). Óleos prensados a frio retêm altos níveis de antioxidantes naturais e, desta forma, apresentam elevada vida de prateleira sem a adição de antioxidantes sintéticos, promovendo, ainda, benefícios à saúde (PARKER et al. 2003).

Os antioxidantes podem ser classificados em sintéticos e naturais

(NASCIMENTO, ARAÚJO e MELO, 2010). Apesar dos antioxidantes sintéticos possuírem maior estabilidade e terem uma boa eficiência, a busca por novas fontes naturais de antioxidantes está mais intensa, visto que o uso de sintéticos está relacionado a reações adversas às enzimas do sistema biológico humano, sendo que a combinação destes com os antioxidantes naturais apresentam maior efeito protetor em processos de oxidação do que o uso isolado dos sintéticos (HUBER et al. 2012).

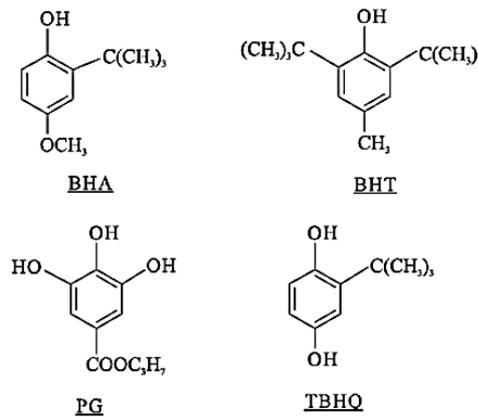
Existem diferentes métodos para avaliar a capacidade antioxidante in vitro de compostos bioativos em óleos vegetais, fluidos biológicos e tecidos (ARNAO, 2000). Dentre eles temos o ABTS, onde seus resultados podem ser expressos em TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Activity – Atividade antioxidante equivalente ao Trolox). Trolox® é um composto sintético hidrossolúvel análogo da vitamina E e as leituras realizadas no comprimento de onda específico para o radical formado pelo ensaio são interpolados em uma curva de calibração e expressas em capacidade antioxidante equivalente de Trolox®, que indica o número de μ moles de Trolox que produz a mesma atividade correspondente a 1 mg de amostra (PEREIRA, 2009; RIBEIRO, 2011).

2.5 Antioxidantes sintéticos

Antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria para preservar a qualidade dos cosméticos são o butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA), propil galato (PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (SHEBIS et al. 2013), atuando também como conservantes, inibindo o crescimento de microorganismos.

Os mais usados em alimentos e formulações são o BHA e o BHT (FREITAS et al. 2013) e a utilização de antioxidantes sintéticos para consumo humano e animal foi aprovada em meados da década de 40, e desde então, o seu uso se tornou fundamental para garantir a vida de prateleira de muitos produtos (VASCONCELOS, 2011). De modo geral, apresentam em sua estrutura fenólica um hidrogênio lábil, que pode ser doado a um radical livre, o íon oxidado a partir da reação é estável (Figura 4), portanto, não promove ou propaga reações de oxidação, preservando as características dos produtos (BUCK, 1981).

Figura 4. Estrutura Fenólica dos antioxidantes sintéticos (RAMALHO e JORGE, 2006).



Visando prolongar a vida de prateleira das formulações cosméticas, a aplicação de antioxidantes sintéticos é uma prática comum. No entanto, seu uso tem sido atribuído a efeitos tóxicos e carcinogênicos (UKRAINETS et al. 2016; LEÃO et al., 2017), ao qual, alguns países como o Canadá e a Comunidade Europeia já proibiram o uso de TBHQ (FIB, 2009). Visto a preocupação com os efeitos gerados pelo uso prolongado de antioxidantes sintéticos, e a crescente demanda da população por produtos mais seguros e saudáveis, elevando assim, o interesse por antioxidantes de origem natural.

2.6 Óleos vegetais em aplicações cosméticas

Óleos vegetais são compostos basicamente por triglicerídeos e não evaporam facilmente. Sua extração ocorre normalmente por prensagem mecânica e são mais utilizados na indústria de cosméticos como ingredientes de base, emolientes, lubrificantes e outros (HAAG, JUNIOR e FARIA, 2013), onde, a sua utilização em formulações para uso dermatológico e cosmético tem sido cada vez mais notória, pois repõem as frações lipídicas e promovem a hidratação (TADROS e KESSELL, 2014). São comumente incorporados em formulações cosméticas emulsionadas, como dispersões de duas fases líquidas imiscíveis entre si e com a presença de um tensoativo tornam-se estáveis (FERNANDEZ et al. 2013).

Constituem uma classe de emolientes cuja composição é bastante semelhante à da pele, proporcionando maior compatibilidade. Ácidos graxos, especificamente os monoinsaturados, como ácido oleico, podem romper a barreira da pele e agir como promotores de permeabilidade para outros compostos presentes em óleos vegetais (CORREA et al. 2014). Outros componentes, como

compostos fenólicos e tocoferóis, além de exibirem um efeito antioxidante, podem modular processos fisiológicos, tais como homeostase da barreira da pele, inflamação e cicatrização da pele (KURIYAMA et al. 2002; PARISH, READ e PATERSON, 2005; CUBA et al., 2016).

Além de seu papel na restauração/ruptura da barreira cutânea, os óleos vegetais enriquecidos com ácidos graxos também foram estudados como promotores de penetração, por exemplo, liberação transdérmica de medicamentos (CORREA et al. 2014; VILJOEN et al. 2015).

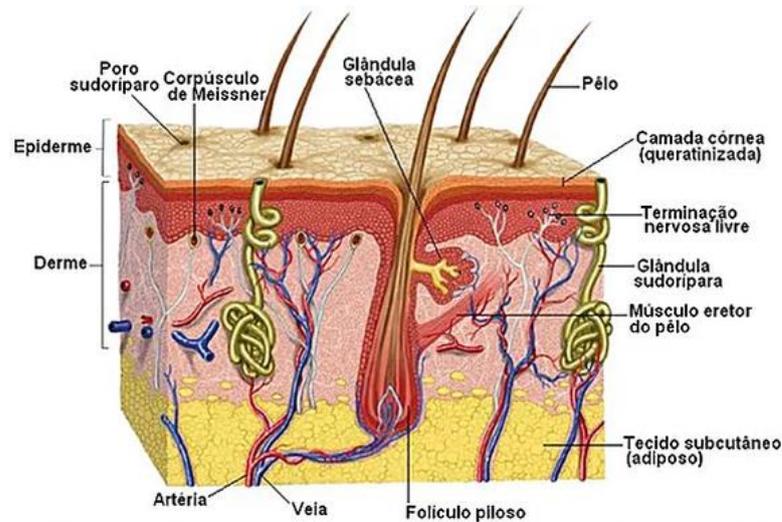
Os produtos tópicos têm o benefício de maior biodisponibilidade na pele e possui um efeito localizado, em vez de efeitos sistêmicos. Pesquisas anteriores sobre óleos vegetais quando aplicados topicamente demonstraram que eles permanecem principalmente na superfície da pele, sem penetração profunda além das primeiras camadas superiores da epiderme (PATZELT et al. 2012).

Quando aplicados topicamente, os constituintes dos óleos vegetais (triglicérides, fosfolipídios, ácidos graxos, compostos fenólicos e antioxidantes) podem atuar sinergicamente por vários mecanismos, como, promover a homeostase da barreira cutânea; propriedades anti-inflamatórias; propriedades antimicrobianas diretas e indiretas (regulação positiva de peptídeos antimicrobianos); promover a cicatrização de feridas; e propriedades anticancerígenas (LIN, ZHONG, e SANTIAGO, 2018).

2.7 A pele e sua estrutura

A pele é o maior órgão do corpo humano, resistente, flexível, multifuncional e dinâmico, possuindo várias funções biológicas (Figura 5). Constitui-se em três camadas: epiderme, derme e hipoderme, onde possuem a capacidade de se adaptar a muitas variações do meio externo e às necessidades do organismo que protege (BATTISTI, 2015; SOARES, 2013). A sua principal função é ser uma barreira, responsável pela defesa primária do organismo, controlando a entrada de substâncias estranhas (OLIVEIRA et al., 2004; SANTOS, 2015).

Figura 5. Representação esquemática da pele (MEZADRI, 2010).



A epiderme é um epitélio escamoso estratificado, pavimentoso, queratinizado composto por diferentes camadas (estrato córneo, lúcido, granular, espinhoso e basal) (KEDE e SABATOVICH, 2004). A epiderme é a camada do corpo que está em contacto direto com o meio externo, que se renova a cada 14-30 dias dependendo da região do corpo. Existem quatro tipos de células na epiderme: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, sendo as mais abundantes os queratinócitos responsáveis pela produção da queratina (CARVALHO et al. 2005; BATTISTI, 2015).

A derme é uma camada espessa de tecido fibroelástico denso e é a principal barreira mecânica da pele, aonde, contém extensa vascularização, muitos receptores sensitivos, é constituída por um tecido conjuntivo irregular, composto de colágeno, elastina e glicosaminoglicanos. É dividida em duas regiões: a derme papilar ou superficial e a derme reticular ou profunda (CARVALHO et al. 2005; BATTISTI, 2015). A superfície da derme possui um pH ácido em torno de 4 a 7, havendo um gradiente até ao pH neutro na direção do interior, que se estende até à epiderme (MEHTA et al. 2015).

Internamente à derme encontra-se a hipoderme (camada mais profunda da pele) que tem origem a partir do mesoderma e se apresenta rica em tecido adiposo, tendo como função armazenar substrato energético, proteger contra choques mecânicos, maior flexibilidade, age como isolante térmico, possui variação de espessura (1 a 4 mm) conforme a parte do corpo e contém o maior número de vasos sanguíneos da pele (CARVALHO et al., 2005; ROSANI, 2011; SOARES, 2013).

À medida que os indivíduos envelhecem, a pele perde uma de suas grandes

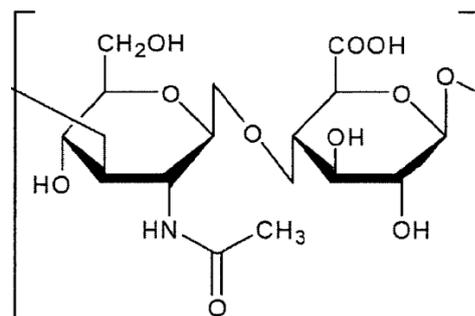
propriedades: a elasticidade. Associado a isto, também ocorre perda de colágeno e reduz sua hidratação, tornando-se seca por menor capacidade funcional das glândulas sudoríparas e sebáceas (STRUTZEL et al., 2007; BEYLOT, 2008). Fatores como radiação ultravioleta, radicais livres, temperatura, tabaco e poluição, genética e cor da pele contribuem para este processo (RIBEIRO, 2006).

A perda de hidratação cutânea é uma das desordens mais evidentes da pele envelhecida, por isso, um dos gestos diários essenciais para manter a pele saudável é o uso de produtos hidratantes. Com isso, torna-se cada vez mais importante estudar moléculas, mecanismos e formas farmacêuticas que visam colaborar na melhoria das condições de envelhecimento da pele, contribuindo para atenuação dos sinais.

2.8 Ácido Hialurônico

O ácido hialurônico (AH) é um mucopolissacarídeo linear, natural, que contém unidades alternadas de ácido D-glucurônico e N-acetil-glicosamina unidas por ligações β -1,3 e β -1,4 (Figura 6). Ele está presente em todos os vertebrados e também na cápsula de algumas cepas de estreptococos, mas está ausente em fungos, plantas e insetos (KOGAN et al., 2007).

Figura 6. Estrutura química do ácido hialurônico (FERREIRA, 2015).



O AH pode reter água no tecido da pele e dessa forma mudar o volume e a compressibilidade da derme. No fluido sinovial, ele proporciona a lubrificação necessária para as juntas e serve como absorvedor de impacto (KOGAN et al. 2007; KRETZ, LIMBERGER e AUFFARTH, 2014) e é reconhecido por desempenhar importantes papéis na embriogênese, transdução de sinais, mobilidade celular e está associado ao tratamento de câncer invasivo (KOGAN et al. 2007).

O AH natural é rapidamente degradado *in vivo* tanto pela via enzimática

quanto por radicais livres e espécies reativas de oxigênio associadas a respostas inflamatórias (PRESTWICH et al. 2004). Além disso, o AH natural é solúvel em água à temperatura ambiente, porém, as substâncias hidrofílicas são difíceis de transportar pelas camadas da pele, tornando-se necessária a aplicação em sistemas que facilitem a sua penetração (TOMIHATA e IKADA, 1997; JAHN et al. 2014).

A perda do AH natural na pele é considerada a principal causa de ressecamento e perda de elasticidade associada ao envelhecimento. Logo, alguns cosméticos denominados anti-idade são formulados com AH com o intuito de evitar o aparecimento de marcas da idade (KOGAN et al. 2007). Caso a pessoa não sinta a necessidade de usá-lo como preenchimento, o AH pode ser adquirido a partir de alguns produtos dermatológicos, onde ele atua recrutando mais água aos tecidos que se tornam desvitalizados com o envelhecimento.

Estudos têm demonstrado que a aplicação tópica de hidratantes contendo AH constitui um tratamento eficaz no combate à desidratação cutânea e, por conseguinte, na prevenção do envelhecimento da pele, o que está diretamente relacionado com a sua capacidade de retenção da água (GUILLAUMIE et al. 2016). Além disso, o AH exibe efeito antioxidante, pois sequestra os chamados de radicais livres, o que aumenta a proteção da pele em relação à radiação UV e contribui para aumentar a capacidade de reparação tecidual (FRASER, LAURENT e LAURENT, 2012).

O AH possui vasto campo de aplicações nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e nas áreas médicas, como na oftalmologia, ortopedia e oncologia, devido a suas propriedades físico-químicas e a sua biocompatibilidade,

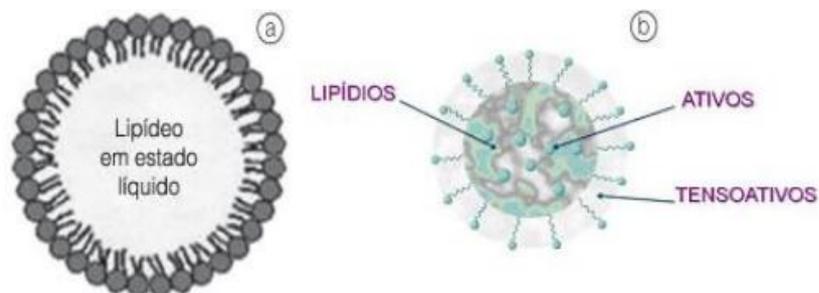
2.9 Nanoemulsões em aplicações cosméticas

Para favorecer a interação do fármaco com sistemas biológicos, proteger da biotransformação, aumentar a solubilidade e reduzir possíveis efeitos colaterais, o desenvolvimento de nanocarreadores que aprimoram a eficácia terapêutica da forma farmacêutica tem-se mostrado bastante promissor como nova alternativa para veiculação de fármacos (FORMARIZ et al. 2005; BORGES et al. 2018).

Nanoemulsões são dispersões metaestáveis (Figura 7), ou seja, estáveis por um longo período de tempo, além de serem biodegradáveis, biocompatíveis e fáceis de produzir, com diâmetro de 50-200 nm (KONG e PARK, 2011). Em razão do pequeno tamanho das partículas, possui grande área superficial, alta liberação de

compostos ativos, difusão mais rápida através da camada da pele e mucosas (YU e HUANG, 2013; SIVAKUMAR, TANG e TAN, 2014; TING et al. 2014). Por conta destes fatores, as nanoemulsões podem inibir a oxidação de compostos bioativos quimicamente lábeis, devido ao caráter líquido das gotículas de óleo, e desse modo, aumentam o “shelf life” (vida de prateleira dos produtos) (MULLER et al. 2007; AUGUSTIN et al., 2011; FREDE et al. 2014), fazendo destas um sistema atrativo para aplicação nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica (GHOSH et al. 2013).

Figura 7. Representação de uma partícula (a) e a dispersão dos seus componentes na gotícula (b).



As nanoemulsões podem ser formadas a partir de baixa ou alta demanda energética (SOLANS e SOLÉ, 2012). Na literatura científica é possível encontrar diferentes métodos os quais são utilizados atualmente no desenvolvimento de uma nanoemulsão. Entre os métodos classificados de baixa energia destacam-se: Emulsificação Espontânea (Spontaneous Emulsification), Temperatura de Inversão de Fase – TIF (Phase Inversion Temperature – PIT) e Ponto de Inversão da Emulsão (Emulsion Inversion Point – EIP) (FERNANDEZ et al. 2004; SHAFIQ-UN-NABI et al. 2007; ANTON e VANDAMME, 2009; MCCLEMENTS, 2012).

Já os métodos classificados de alta energia baseiam-se na utilização de dispositivos ou equipamentos mecânicos, capazes de fornecer energia suficiente para reduzir a tensão interfacial entre o óleo e água, possibilitando assim a geração de gotículas de óleo submicrônicas ou nanométricas. Entre os equipamentos disponíveis que são utilizados para estes processos destacam-se os homogeneizadores de alta pressão, dispositivos ultrassônicos, etc. (ANTON & VANDAMME, 2011; GHOSH et al. 2013).

As nanoemulsões são consideradas os sistemas vetorizados mais atrativos para aplicação tópica, uma vez que apresentam gotículas nanométricas quando em contato com a região aplicada formam uma barreira protetora na pele promovendo uma hidratação por oclusão proporcionando, elevada penetração e absorção mais

eficaz de ativos por esta via (BERNARDI, 2011; CARNEIRO, 2013; TADROS et al. 2014; SARI et al. 2015). No setor cosmético, em virtude da crescente busca de uma melhor estética e dos cuidados com a pele, são apresentados diversos produtos nanoemulsionados para diferentes finalidades como: hidratantes, protetor solar, liberação de ativos antirrugas e proteção de ativos contra degradação (BERNARDI, 2011; TADROS et al. 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Obter e caracterizar uma nanoemulsão a base de óleo da semente de goiaba contendo ácido hialurônico para aplicação tópica.

3.2 Específicos

- Caracterizar as propriedades físico-químicas do óleo de goiaba;
- Avaliar a estabilidade oxidativa do óleo da semente de goiaba por Rancimat, comportamento térmico, perfil de ácidos graxos e grupamentos funcionais por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR);
- Determinar a atividade antioxidante do óleo da semente de goiaba;
- Realizar estudos de pré-formulação para obtenção da nanoemulsão;
- Obter a nanoemulsão com e sem ácido hialurônico;
- Realizar os estudos de caracterização e estabilidade acelerada da nanoemulsão;
- Realizar o doseamento do ácido hialurônico nas nanoemulsões.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Matéria-prima

O óleo bruto da semente de goiaba, lote AMO 104 001/0118, foi obtido por prensagem a frio pela empresa Amazon oil (Ananindeua, Pará). Foi adquirido 650 g de óleo, onde, este foi fracionado em frasco âmbar em quantidade de 150 mL e hermeticamente fechado e armazenado sob temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.1.2 Ácido Hialurônico

Fornecido pela Pharmaspecial Especialidades químicas e farmacêuticas LTDA, com lote PS-009531/F01.

4.2 Métodos

4.2.1 Caracterização físico-química do óleo da semente de goiaba

4.2.1.1 Densidade

A densidade do óleo da semente de goiaba foi determinada à temperatura ambiente de 25°C , através do método do picnômetro e realizado conforme a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019).

O picnômetro com capacidade de 5mL, foi previamente calibrado, limpo e seco. A quantidade de 5mL da amostra foi transferida para o picnomêtro e a massa da amostra foi obtida através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. A densidade é igual a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água, ambas na mesma temperatura. A densidade foi calculada com auxílio da Equação 1. O ensaio foi feito em triplicata.

$$\text{Densidade relativa a } 25^{\circ}\text{C} = A-B/C, \quad (1)$$

Onde, A é a massa do picnômetro contendo óleo; B é a massa do picnômetro vazio e C é a massa da água à temperatura de 25°C .

4.2.1.2 Índice de Refração

Para a determinação do índice de refração, utilizou-se o refratômetro de Abbé. A leitura foi feita na temperatura de 25°C, obedecendo a metodologia IAL 327/IV (IAL, 1985).

4.2.1.3 Índice de Iodo

O índice de iodo foi determinado seguindo o protocolo American Oil Chemists's Society (AOCS) Cd 1c-85, onde foi calculado de acordo com a Equação 2.

$$\text{Índice de iodo} = (\% \text{ ácido palmitoleico} \times 0,950) + (\% \text{ ácido oleico} \times 0,860) + (\% \text{ ácido linoleico} \times 1,732) + (\% \text{ ácido linolênico} \times 2,616) \quad (2)$$

4.2.1.4 Índice de Acidez

O índice de acidez do óleo da semente de goiaba foi determinado segundo o protocolo da AOCS Cd3d-63.

Pesou-se 0,2g da amostra em um frasco erlenmeyer de 125mL e adicionou-se 50mL de uma solução éter etílico:etanol etílico (1:1), previamente neutralizada com KOH 0,1N. Em seguida foram adicionadas 2 gotas de fenolftaleína e a solução foi titulada com KOH 0,1N, até coloração rósea, que permaneceu por aproximadamente 30 segundos o índice de acidez foi calculado com a Equação 3.

$$IA = 5,61 n/m \quad (3)$$

Onde, IA é o índice de acidez, n é o volume de hidróxido de potássio 0,1N gasto na titulação e m a massa da amostra.

4.2.1.5 Índice de Saponificação

O índice de saponificação foi determinado segundo o protocolo AOCS Cd 3-25 e foi calculado a partir da Equação 4.

$$I.S. = \frac{3 \times 56,1 \times 1000}{PM \times 3 + 92,09 - (3 \times 18)} \quad (4)$$

Onde, PM é o peso molécula (ou massa molar) médio dos ácidos graxos (g/mol); 3 é o número de ácidos graxos por triacilglicerol; 56,1 é o peso molecular do KOH (g/mol); 1000 é a conversão de g para mg; 92,09 é o peso molecular do glicerol (g/mol); 18 é o peso molecular da água.

4.2.1.6 Viscosidade Cinemática

A viscosidade cinemática foi determinada de acordo com o método ASTM (American Society of Testing and Materials, 2001) D 445 a 40 °C, utilizando-se um analisador de viscosidade manual SCHOTT CT52, Gerate 150 (Typ 51313), KPG Cannon Fenske, em banho termostático.

4.2.2 Espectrometria na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A análise de FT-IR do óleo de goiaba, foi realizada utilizando o espectrômetro Shimadzu® IRPrestige-21 (Nº. 206-73600-36- Kyoto-Japan), com o detector de refletância total atenuada (ATR). As leituras foram realizadas em temperatura ambiente a 25 °C, na faixa de absorção de 4000 a 500 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras, onde o modo de medição foi a transmitância (COSTA et al., 2013).

4.2.3 Estabilidade oxidativa – Rancimat

O índice de estabilidade oxidativa (OSI) foi avaliado pelo equipamento Rancimat 743 Metrohm (Herissau/Suíça) a 100 °C, sob fluxo de ar de 20 L/h, utilizando-se amostras de 5 g de óleo, seguindo o método AOCS Cd 12b-92.

4.2.4 Análise térmica do óleo de goiaba

O óleo da semente de goiaba foi submetido às análises de termogravimetria (TG), onde a TG foi realizada em um analisador térmico Shimadzu® (modelo TGA: 50/50H).

As amostras foram pesadas de 5 a 10 mg, adicionadas em cadinhos de platina e as análises foram executadas nas seguintes condições: atmosfera de nitrogênio e de ar sintético (50 mL/min) e razão de aquecimento de 10 °C/min numa faixa de temperatura de 25 a 600 °C. Os cálculos de perda de massa foram realizados com auxílio do programa TA 50w Shimadzu® (NUNES et al., 2009; COSTA et al., 2013).

4.2.5 Ácidos graxos do óleo de goiaba por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG-MS)

A composição de ácidos graxos foi determinada pela conversão de ácidos graxos em ésteres metílicos (FAMES). Os ácidos graxos foram convertidos no seu éster metílico correspondente por meio de saponificação e esterificação com KOH em metanol (0,1mol/L) e ácido clorídrico em metanol (0,12mol/L) (RODRIGUES et al., 2010). Os FAMES foram detectados utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (Varian modelo CP 3380), equipado com um detector de ionização de chama e com uma coluna capilar CP-Sil 88 (comprimento 60 m, diâmetro interno 0,25 mm, espessura 0,25 mm; Varian Inc., EUA). As condições de operação foram: hélio como gás de arraste com vazão de 0,9 mL/min, um detector FID a 250°C, um injetor (split razão de 48 1:100) a 250°C, um volume de injeção de 1 µL. A temperatura programada da coluna: 4 min a 80°C e um aumento subsequente a 205°C a 4°C/min. Os picos de ácidos graxos individuais foram identificados a partir dos tempos de retenção. Os resultados foram expressos em porcentagem relativa do total de ácidos graxos.

4.2.6 Determinação do teor de compostos fenólicos (CF)

O teor de compostos fenólicos foi determinado através do método espectrofotométrico (DJERIDANE et al., 2006). Foi construída uma curva padrão nas concentrações de 6 a 20 mg/mL usando o padrão ácido gálico. Em balão volumétrico de 10 mL contendo as diferentes concentrações, foi adicionado 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, 6 mL de água destilada, esperou-se 1 min, em seguida, foi adicionado 2 mL de solução de carbonato de sódio à 10% (m/V) a solução foi agitada por 30 segundos, o volume foi completado com água destilada. As soluções permaneceram em repouso por 2 horas em seguida, foi realizado as leituras em espectrofotômetro (Shimadzu UV 1800) no comprimento de onda de 760 nm. Os resultados foram expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico Sigma (Steinhein, Alemanha) por grama de óleo (mg EAG/g) com equação da reta $y=0,138x-0,064$ e $R^2= 0,9941$.

4.2.7 Determinação do teor de flavonoides total

A determinação do teor de flavonoides total foi realizada pelo método de Funari e Ferro (2006). Foi construída uma curva padrão nas concentrações nas concentrações de 5 a 35 mg/mL de quercetina. Em balão volumétrico de 10 mL contendo as diferentes concentrações foi adicionado 1mL da solução de cloreto de alumínio a 2,5% e completou o volume com água destilada. As soluções permaneceram em repouso por 30 min na ausência da luz. Em seguida, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu UV 1800) a 425 nm. Este procedimento foi realizado em triplicata com o acréscimo de 800 µL da amostra e 400 µL da solução de cloreto de alumínio. O mesmo procedimento foi repetido para o branco. Os resultados foram expressos em miligrama de quercetina equivalente por grama do óleo (mg QUE/g) com equação da reta $y=0,0735x+0,1411$ e $R^2=0,9984$.

4.2.8 Determinação da atividade antioxidante do óleo da semente de goiaba

4.2.8.1 Método ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico))

A determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS foi realizada em espectrofotômetro. O radical ABTS foi preparado a partir da reação de 5mL da solução estoque de ABTS (7mM) com 88µL da solução de persulfato de potássio (140mM) mantido em temperatura ambiente no escuro por 16 horas. Após o tempo necessário 1 mL da mistura foi diluído em álcool etílico até obter a absorvância de $0,7 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ a 734 nm em espectrômetro Shimadzu UV 1800. Em seguida foi construída uma curva padrão de Trolox (2.000 µM) com concentrações variando de 100 µM a 2.000 µM. Para isso, em ambiente escuro foi transferido uma alíquota de 30 µL de cada solução de Trolox (100 µM, 500 µM, 1000 µM, 1500 µM e 2.000 µM) para tubos de ensaio e misturado 3.0 mL da solução do radical ABTS. Em seguida foi homogeneizado em vortex e após 6 min da mistura foi realizado as leituras a 734nm. O álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro (RE et al., 1999 adaptado por RUFINO et al., 2007). O poder antirradical foi calculado utilizando uma curva padrão de Trolox com equação $y = 0,0003x + 0,6947$ ($R^2= 0,9966$). A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em µM Trolox/g de amostra.

4.2.8.2 Sistema β - caroteno/Ácido Linoleico

A determinação da atividade antioxidante total no Sistema β -caroteno/Ácido Linoleico foi realizada segundo a metodologia descrita por Marco (1968) e modificada por Miller (1971). Para o preparo do sistema β -caroteno/ácido linoléico, adicionou-se 20 μ L de ácido linoléico, 200 mg de Tween 40, 25 μ L de solução de β -caroteno a 2 mg/mL em clorofórmio e 500 μ L de clorofórmio em erlenmeyer. Posteriormente, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio. A esta mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se 25 mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 min e agitou-se vigorosamente. A mistura reativa apresentou-se límpida com absorvância entre 0,6 e 0,7 em 470 nm.

Posteriormente foi misturado 0,4 mL do óleo de goiaba com 5 mL da mistura reativa. Como controle foi utilizado 0,4 mL da solução de trolox com 5 mL da solução sistema β -caroteno/ácido linoléico, ao qual os tubos de ensaios foram homogeneizado em agitador e mantido em banho-maria a 40 °C. O espectrofotômetro foi calibrado com água.

Os resultados são expressos em percentagem de inibição da oxidação. A redução da absorvância do sistema sem antioxidante (Equação 5) é considerada como 100% de oxidação.

$$\text{Redução da absorvância} = \text{Abs}_{\text{inicial}} - \text{Abs}_{\text{final}} \quad (5)$$

O decréscimo da leitura da absorvância das amostras é correlacionado com o sistema e estabelece a percentagem de oxidação (Equação 6), subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada amostra de 100 (Equação 7). Verifica-se a ação antioxidante da amostra (óleo), comparando-a com a atividade do antioxidante sintético (trolox).

$$\% \text{ Oxidação} = \frac{[(\text{Redução Abs})_{\text{amostra}} \times 100]}{(\text{Redução Abs})_{\text{sistema}}} \quad (6)$$

$$\% \text{ Proteção} = 100 - (\% \text{ Oxidação}) \quad (7)$$

4.2.9 Estudos de pré-formulação

4.2.9.1 Determinação do Equilíbrio Hidrofílico Lipofílico (EHL)

A determinação do EHL requerido para o óleo de goiaba foi realizada a partir de um par de tensoativos obtidos na CRODA (Brasil), onde, possuíam EHL conhecidos. Foi utilizado o tensoativo lipofílico Monooleato de sorbitán (Span® 80) com EHL igual a 4,3 e o tensoativo hidrofílico Procetyl AWS® com EHL igual a 16. Então, foram preparadas 13 emulsões empregando misturas de tensoativos com EHL entre 4,3 e 16 com intervalos de 1 ponto (Tabela 1), segundo metodologia preconizada por Aulton (2005). O cálculo das quantidades de tensoativos hidrofílicos e lipofílicos necessários para a obtenção de cada valor de EHL foi feito pela Equação 8.

$$\text{EHLf} = (\text{EHLA} \times 0,01\text{A}) + (\text{EHLB} \times 0,01\text{B}) \quad (8)$$

com $\text{A} + \text{B} = 100$

Onde, A - quantidade de tensoativo lipofílico em %; B - quantidade de tensoativo hidrofílico em %; EHLf - valor de EHL da formulação; EHLA - valor de EHL do tensoativo lipofílico; EHLB - valor de EHL do tensoativo hidrofílico.

A determinação do EHL requerido para o óleo de goiaba foi o da formulação que apresentou maior estabilidade, indicada pela ausência de separação de fases.

Tabela 1. Concentração em % (p/p) de tensoativo hidrofílico, lipofílico, óleo e água destilada utilizada na formulação para obtenção do EHL requerido pelo óleo da semente de goiaba.

| FORMULAÇÕES | EHL | PROCETYL AWS® (%) | SPAN® 80 (%) | ÓLEO (%) | ÁGUA (%) |
|-------------|------|----------------------|-----------------|-------------|-------------|
| F1 | 4,3 | 0 | 5,00 | | |
| F2 | 5,0 | 0,31 | 4,69 | | |
| F3 | 6,0 | 0,75 | 4,25 | | |
| F4 | 7,0 | 1,20 | 3,80 | | |
| F5 | 8,0 | 1,63 | 3,37 | | |
| F6 | 9,0 | 2,08 | 2,92 | | |
| F7 | 10,0 | 2,52 | 2,48 | 5 | 90 |
| F8 | 11,0 | 2,96 | 2,04 | | |
| F9 | 12,0 | 3,21 | 1,79 | | |
| F10 | 13,0 | 3,74 | 1,26 | | |
| F11 | 14,0 | 4,32 | 0,68 | | |
| F12 | 15,0 | 4,76 | 0,24 | | |
| F13 | 16,0 | 5,00 | 0 | | |

4.2.10 Obtenção das nanoemulsões

4.2.10.1 Método de preparo das formulações

As nanoemulsões foram preparadas seguindo o método de inversão de fases, onde, separadamente em placa agitadora com aquecimento (Fisatom, Modelo 752a) a fase aquosa (água destilada) e oleosa (óleo da semente de goiaba) foi aquecida até a temperatura de $80 \pm 5^\circ\text{C}$. Os tensoativos (Procetyl AWS® e Span® 80) foram adicionados na fase oleosa e para obtenção final de 100g, as proporções das fases correspondiam a 90g água destilada, 5g óleo de goiaba, 3g tensoativo lipofílico (Span 80®) e 2g tensoativo hidrofílico (Procetyl AWS®). Em seguida, verteu-se lentamente a fase aquosa sobre a oleosa em agitação (600 rpm) contínua até que as formulações atingissem a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

4.2.10.2 Incorporação do ácido hialurônico

A nanoemulsão selecionada foi testada quanto à adição do ácido hialurônico nas concentrações de 0,2%, 0,5% e 1%. O preparo foi realizado pelo método de inversão de fase, conforme item 4.2.10.1, com a adição do ácido hialurônico na fase oleosa em temperatura de $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

4.2.11 Estudos de estabilidade preliminar

As formulações que após 24 horas de seu preparo foram consideradas macroscopicamente estáveis e homogêneas, sem separação de fases, foram expostas aos testes de estabilidade. Assim, as nanoemulsões foram acondicionadas após a manipulação em frascos vedados, limpos, porém não estéreis.

4.2.11.1 Avaliação Macroscópica

Foram analisados os sinais de instabilidade após 24 horas de realização do preparo das formulações. Foram avaliados os aspectos da instabilidade das nanoemulsões como agregação, cremeação, coalescência e/ou separação fases, além de aspectos físicos como coloração, fluidez e reflexo azulado (ROLAND et al. 2003).

4.2.11.2 Estresse de força centrífuga

As amostras foram transferidas para tubos de ensaio graduados para centrífuga e submetidas à centrifugação (Centribio), sob ciclo de 30 minutos de duração a 3000 rpm (OLIVEIRA et al. 2011).

O experimento foi realizado em triplicata e as nanoemulsões foram analisadas macroscopicamente quanto à homogeneidade e a ocorrência de separação de fases. Ao final do teste, para avaliar variações no diâmetro das partículas, foi analisada a dispersão granulométrica das mesmas.

4.2.11.3 Ciclo Gela-Degela

As amostras foram submetidas a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}/24$ horas (Geladeira, 28A) e $40 \pm 2^{\circ}\text{C}/24$ horas (Estufa 502, Fanem), completando assim, um ciclo. As leituras foram realizadas antes do início do teste, após 15 dias e no final do 15º ciclo (30 dias). Foram analisadas quanto a sua homogeneidade, tamanho de partícula e pH.

4.2.12 Determinação do pH

Determinado com auxílio de um potenciômetro (Modelo H1221-HANNA Instruments) calibrado com pH 4,0 e 7,0, foi feita uma diluição aquosa 1:10 (p/p) da amostra e inserindo o eletrodo diretamente para efetivação da leitura. As amostras foram analisadas nos tempos de 24 horas de formulada, 15 e 30 dias em triplicata.

4.2.13 Densidade

Conforme a análise realizada com o óleo de goiaba, como consta no item 4.2.1.1.

4.2.14 Comportamento Reológico

O comportamento reológico das formulações foi determinado através de viscosímetro rotacional programável da marca Brookfield (modelo DV-II, Middleboro, USA), utilizando velocidade de rotação de 20 a 120 rpm, com variação em intervalo de 10 rpm (FERRARI, 2002). Os resultados da viscosidade foram obtidos utilizando a Lei das Potências, dada pela fórmula 9:

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (9)$$

Onde, τ - tensão de cisalhamento; k - o índice de consistência; $\dot{\gamma}$ - taxa de cisalhamento; n - é o índice de fluxo.

4.2.15 Caracterização das nanoemulsões

4.2.15.1 Determinação do tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão (PDI)

O diâmetro médio da partícula e o índice de polidispersão das nanoemulsões foram determinados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz e o potencial zeta das formulações foi obtido pelo método de mobilidade eletroforética com a utilização do equipamento Zetasizer[®] Nano-ZS (Malvern, Inglaterra). As amostras foram diluídas em água ultrapura na razão 1:100 e colocadas no Zetasizer[®] Nano para realização das leituras. As amostras foram acompanhadas após 24 horas, 15 e 30 dias em triplicata.

4.2.16 Doseamento do ácido hialurônico pelo método Carbazol

Inicialmente, fez-se o preparo da solução 0,025 M de tetraborato de sódio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) em ácido sulfúrico, em seguida, 3 mL desta solução foi adicionada em tubo de ensaio e resfriado a $4\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente, 0,5 mL da amostra com concentração desconhecida foi adicionada ao tubo, que ficou mantido e fechado com papel alumínio, sob agitação em vortex Mixer (Vixar, VM3000). A mistura é colocada em um banho-maria (Quimis) a $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 10 minutos e então, espera-se o resfriamento da mesma à temperatura ambiente. Adiciona-se 0,1 mL da solução de carbazol (0,125% em etanol) com subsequente agitação. Após, a solução é colocada em banho-maria a $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos e, novamente, espera-se resfriar a temperatura ambiente. As análises foram realizadas em triplicatas e a leitura das amostras foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis à 530 nm (BITTER e MUIR, 1962). A técnica foi utilizada para construção da curva padrão do AH, bem como para amostra. O doseamento das amostras foi realizado após 24 horas, 15 e 30 dias e os resultados foram expostos com suas médias e desvio padrão. Equação da reta $y = 14,567x - 2,1142$ e $R^2 = 0,9965$.

A curva padrão foi preparada em seis concentrações diferentes: 1,5, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 12,5 $\mu\text{g/mL}$. Os valores obtidos no espectrofotômetro foram utilizados para plotar a curva padrão e obter a equação da reta, que foi utilizada para cálculo das concentrações das amostras desconhecidas. A linearidade do método foi realizada segundo a RE nº 899 (ANVISA, 2003).

4.2.17 Análise estatística

Neste estudo, os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão sendo a análise estatística realizada em EXCEL 2010. As correlações entre os dados obtidos da composição fenólica e atividade antioxidante foram calculadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson (r) no Bioestat 5.0. Foi utilizada Anova 2 critérios para avaliar o tamanho de partículas, Pdl e potencial zeta e o tempo de armazenamento da amostra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização Físico-Química do Óleo da semente de Goiaba

A segurança e autenticidade de um óleo vegetal devem ser inseridas no leque de características de qualidade deste (KAMM et al. 2001). Para avaliar a qualidade do óleo da semente de goiaba foram considerados parâmetros físico-químicos, determinados por diferentes técnicas analíticas complexas ou mais simples, ao qual, forneceram informações importantes sobre sua natureza e propriedades que estão relacionadas à qualidade da matéria-prima, às condições de processamento e armazenamento.

5.1.1 Densidade Relativa, Índice de Refração, Iodo, Acidez, Saponificação

A Tabela 2 mostra as características físico-químicas encontradas no óleo de goiaba analisado.

Tabela 2. Características físico-químicas do óleo da semente de goiaba (lote AMO 104 001/0118).

| Parâmetros | Resultados |
|--|------------|
| Densidade | 0,911 |
| Índice de Refração (25 °C) | 1,460 |
| Índice de Iodo (gl ² /100g) | 134,25 |
| Índice de Acidez (mg KOH/g) | 2,12 |
| Índice de Saponificação (mg KOH/g) | 191 |

A densidade do óleo vegetal diminui linearmente com o aumento da temperatura (RODENBUSH, HSIEH e VISWANATH, 1999), sendo influenciada pelo comprimento da cadeia e pelo grau de insaturação dos ácidos graxos que fazem parte de sua composição. Maiores comprimentos de cadeia causam menor densidade, enquanto altos graus de insaturação levam a um aumento na densidade (FATOUH et al. 2005). A densidade do óleo da semente de goiaba encontrada neste trabalho foi de 0,911 analisada à temperatura de 24 °C. Este valor é semelhante à densidade dos óleos de coco (0,908), amendoim (0,912), babaçu (0,914) e semente de uva (0,920) apresentados pelo regulamento da Comissão do Codex Alimentarius

(1999), e ao de castanha do Pará (0,911) encontrado por Muniz et al. (2015), sugerindo que esses óleos possuem insaturação similar.

O índice de refração avalia o grau de insaturação de óleos vegetais, onde a obtenção de um valor alto deste parâmetro indica um alto grau de insaturação e o comprimento de cadeia longa de ácidos graxos, sendo utilizado como critério de qualidade na identificação e no controle de processos de hidrogenação de óleos insaturados (CECHI, 2003; WALIA et al. 2014). O índice de refração do óleo de goiaba foi de 1,460 à temperatura de 25 °C, que está semelhante aos resultados encontrados por Kobori e Jorge (2005) e Prasad e Azeemoddin (1994), 1,460 e 1,477, respectivamente, quando avaliaram o óleo da semente de goiaba a 40 °C. Portanto, isso demonstra que mesmo com a diferença entre as temperaturas avaliadas, o valor do índice de refração encontrado não foi alterado, onde, sabe-se que com o aumento da temperatura, a refração do material diminui.

O valor do índice de iodo encontrado neste trabalho foi de 134,25 $\text{gl}^2/100\text{g}$. Este valor é muito semelhante aos óleos de goiaba obtidos e analisados por Kobori e Jorge (2005) e por Prasad e Azeemoddin (1994), 134,3 $\text{gl}^2/100\text{g}$ e 134 $\text{gl}^2/100\text{g}$, respectivamente. Este valor é superior ao encontrado no óleo da castanha do Brasil (103,36 $\text{gl}^2/100\text{g}$) por Costa (2011), no óleo de andiroba (65,4 $\text{gl}^2/100\text{g}$) por Vasconcelos et al. (2008) e açaí (71 $\text{gl}^2/100\text{g}$) por Pereira (2015), demonstrando um maior grau de insaturação do óleo de goiaba em relação a estes óleos. O valor encontrado nesta análise é sugestivo do grau de pureza do óleo vegetal analisado bem como a ausência de adulterantes (MAIA, 2006; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

A acidez é quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres e o processo de decomposição dos triglicerídeos geralmente é acelerada pelo aquecimento e pela luz (ZENI, 2010). Diversos fatores podem influenciar a acidez de um óleo vegetal, sendo que o principal é o tratamento dado às sementes durante a colheita e armazenamento (ALMEIDA et al. 2011; MORETTO e FETT, 1998). O valor do índice de acidez obtido neste trabalho para o óleo de goiaba foi 2,12 mg KOH/g. Segundo a RDC 270 da ANVISA (2005), o índice de acidez recomendado é no máximo de 4 mg KOH/g para óleos vegetais, demonstrando assim, que o valor encontrado está dentro do limite determinado pela ANVISA, indicando boa qualidade.

O índice de saponificação nos permite estabelecer o grau de deteriorização, estabilidade e verificar se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações, identificando possíveis fraudes e adulterações com substâncias insaponificáveis (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004). O valor do índice de saponificação encontrado neste trabalho foi 191 mg KOH/g. Valor similar ao encontrado no óleo da semente de goiaba por Prasad & Azeemoddin (1994) e Kobori e Jorge (2005), 196 mg KOH/g e 189 mg KOH/g, respectivamente, demonstrando assim que o óleo de goiaba não apresenta adulteração na sua obtenção.

A oxidação de óleos vegetais pode acarretar mudanças na alteração de sabor e odor, além da redução do valor nutritivo. É difícil avaliar o efeito de um fator específico no processo de oxidação, pois pode haver ação simultânea. Mas sabe-se que quanto maior o grau de insaturação dos ácidos graxos presentes, maior a intensidade de oxidação (REGITANO–D'ARCE, 2010).

Diante dessas análises, conhecer as propriedades físico-químicas do óleo de goiaba se fez necessário para constatar os possíveis processos de oxidação e degradação que o óleo pode ter sofrido, fazendo com que haja alterações em sua composição e em seus aspectos organolépticos, comprometendo suas aplicações. Porém o óleo de goiaba possui características boas e consistentes para seu uso.

5.1.2 Viscosidade Cinemática

O principal parâmetro obtido no estudo reológico de soluções e substâncias é a viscosidade, onde esta é utilizada para caracterizar a textura do fluido (SANTOS, SANTOS e SOUZA, 2005). A viscosidade em óleos vegetais aumenta com o comprimento da cadeia dos ácidos graxos dos triglicerídeos e diminui com o grau de insaturação. Portanto, a viscosidade de um fluido é em função da dimensão e orientação da molécula (KNOTHE e STEIDLEY, 2005).

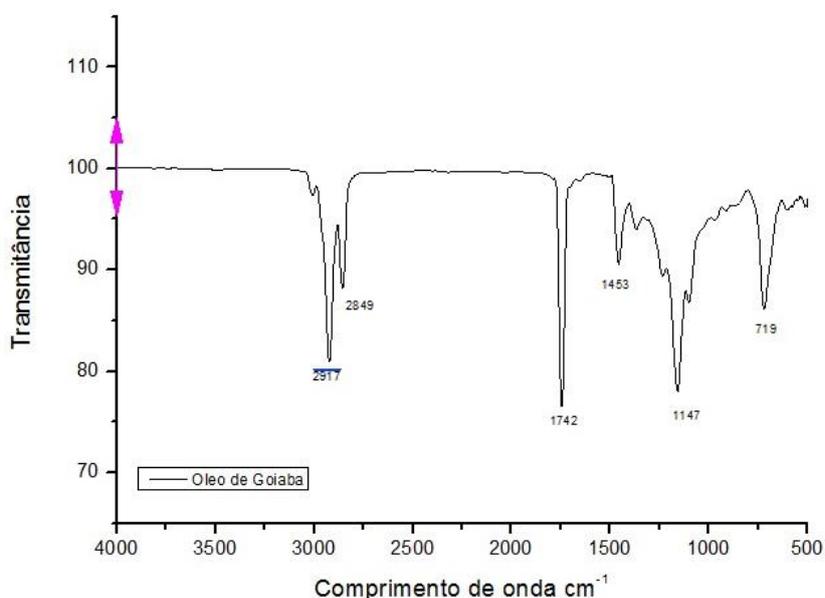
A viscosidade cinemática encontrada no óleo de goiaba foi de 32,9 mm²/s. Os resultados da viscosidade cinemática a 40°C dos óleos de coco babaçu (29,52 mm²/s) e andiroba (40,15 mm²/s) apresentaram valores próximos ao encontrado no óleo de goiaba. Porém em estudos, com o aumento da temperatura, alguns óleos vegetais apresentaram valores maiores, indicando possuírem maior resistência às forças de cisalhamento a temperaturas elevadas (SYAHRULLAIL, KAMITANI e SHAKIRIN, 2014; FILHO et al. 2016).

De forma geral, pode-se afirmar que na temperatura de 25°C, os óleos vegetais têm um satisfatório resultado de viscosidade, mas com a elevação da temperatura para 40°C, há uma redução natural nos valores de viscosidade. Do ponto de vista do uso em formulações, quanto menor a viscosidade de um óleo empregado, melhor será a qualidade de aplicação nos processos.

Conhecer e controlar essa propriedade é muito importante na formulação e preparação de emulsões, cremes, géis, soluções, entre outros produtos (SHAMES, 1999). O estudo da viscosidade é essencial para várias aplicações que incluem desde os projetos e avaliação de processos até o controle de qualidade, a correlação com a avaliação sensorial e a compreensão da estrutura do óleo de goiaba.

5.2 Análise espectroscópica por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho tem o objetivo de identificar ou mesmo determinar os grupos funcionais característicos dos compostos orgânicos, propiciando um conhecimento preliminar da sua estrutura química e tem sido uma ferramenta importante no que diz respeito a análise e avaliação da qualidade de óleos e gorduras. Os espectros vibracionais do FTIR obtidos na região de 4000 a 500 cm^{-1} , da amostra do óleo de goiaba estão ilustrada na Figura 8 e as bandas com seus grupamentos funcionais correspondentes, encontram-se na Tabela 3. A banda em 2917 cm^{-1} é referentes a ligação O-H em quelatos e a banda 2849 cm^{-1} corresponde a cadeias carbônicas alifáticas saturadas. Vibrações da ligação C-O em 1147 cm^{-1} é diagnostico para ligação éster no triacilglicerol, o maior constituinte de um óleo em ácidos graxos de cadeia longa (COSTA et al. 2013), quando analisadas no óleo de goiaba.

Figura 8. Espectros vibracionais FT-IR do óleo da semente de goiaba.**Tabela 3.** Bandas de absorções no infravermelho do óleo da semente de goiaba.

| Faixa de absorção (cm ⁻¹) | Grupo funcional |
|---------------------------------------|-----------------------|
| 2917 | O-H |
| 2849 | C-H |
| 1742 | C=O |
| 1453 | CH ₂ |
| 1147 | C-O |
| 719 | -(CH ₂)n- |

A vibração do estriamento do grupo C=O absorveu em, aproximadamente, 1742 cm⁻¹, que corresponde a grupos carbonilas, presentes em ácidos carboxílicos e ésteres (FERREIRA et al. 2012; JAVDINIA et al. 2013; COSTA et al. 2013), banda também observada por (ARAIN et al. 2017) quando analisaram o óleo obtido da semente de goiaba extraído por Soxhlet. Foi possível observar no espectro a banda 1453 cm⁻¹, sendo que esta banda corresponde as vibrações de estiramento simétrico dos radicais CH₂ (FIGUEIRA, 2012). A banda 1153 cm⁻¹, sugere as ligações éster presentes nos triacilglicerois (FONSECA e YOSHIDA, 2009). Em 719 cm⁻¹, observa-se as bandas de deformação angular (rocking).

A constituição química dos óleos vegetais, em geral, é muito parecida. Estes são compostos, principalmente por triacilglicerois, tri-ésteres formados pela ligação

do glicerol com três moléculas de ácido graxo (JAVDINIA et al. 2013). Sabe-se que a composição dos ácidos graxos em óleos vegetais apresentam diferenças. No entanto, essas não são evidentes em espectros de FTIR, devido ao fato de que a alteração na composição dos ácidos graxos não altera significativamente o número de grupos funcionais não equivalentes. Nota-se então, que os dados apresentados no espectro de absorção na região do IV, são sugestivos da presença de éster graxos de cadeia insaturada.

Em estágios mais avançados da oxidação, há degradação dos hidroperóxidos com formação de compostos secundários como aldeídos e cetonas que absorvem em 1728 cm^{-1} (FRANKEL, 1980), região na qual não foi observada banda característica reiterando as boas condições do óleo analisado neste estudo.

5.3 Estabilidade oxidativa

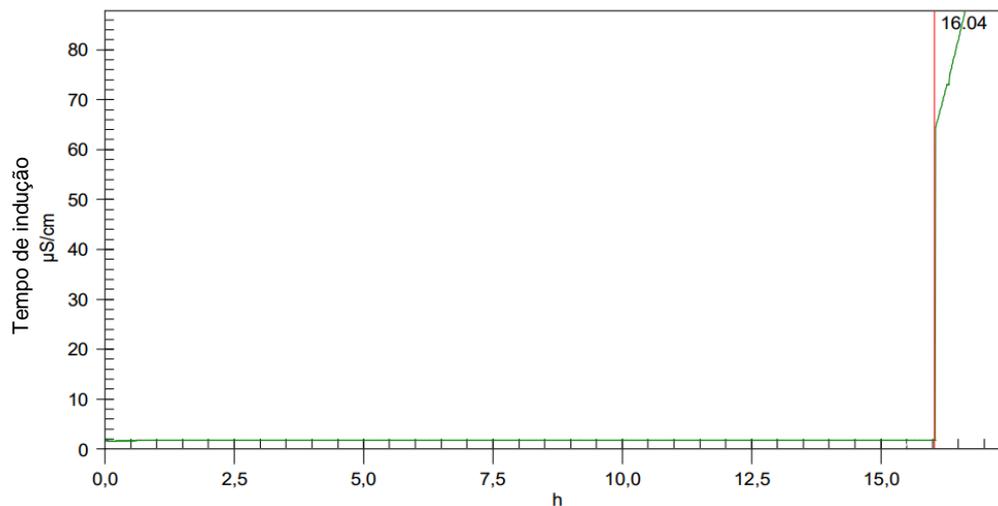
A estabilidade oxidativa constitui um parâmetro global para a avaliação da qualidade de óleos e gorduras que não depende apenas da sua composição química e da qualidade da matéria-prima (HILL, 1994). Reflete também as condições às quais foram submetidos durante o processamento e armazenamento (SCHAWARZ et al. 2001; REGITANO-D'ARCE, 2010). A partir do resultado verificado pelo método de estabilidade oxidativa determina-se o período de indução ou índice de estabilidade oxidativa, o qual é definido como tempo necessário para que o óleo atinja um nível de rancidez detectável ou ocorra uma brusca mudança na taxa de oxidação (MCCORD, 1994; HILL, 1994; ABDALLA e ROOZEN, 1999; REGITANO-D'ARCE, 2010). Atualmente, este parâmetro é de grande valia para previsão do tempo de vida útil de óleos vegetais.

A análise apresentou a curva de estabilidade oxidativa versus (vs) tempo de indução por oxidação, onde mostra um ponto que corresponde ao índice de estabilidade oxidativa ou o período de indução de 16,04h, como podemos observar na Figura 9. A Resolução da ANP nº 14/2012, sugere que o tempo de indução aceitável deve ser de no mínimo 6 horas, onde, encontramos valor significativamente superior ao encontrado no óleo analisado. Acima desse tempo determinado, praticamente não existe formação de compostos provenientes da oxidação, enquanto que abaixo do mesmo ocorre rápido aumento da taxa de oxidação e formação de voláteis. Ou seja, óleos vegetais quando acometidos por

maior oxidação apresentam diminuição do tempo de indução e do tempo de prateleira, assim como os produtos derivados (ANTONIASSI, 2001).

Kobori e Jorge (2005) extraíram óleos de resíduos de tomate, laranja, maracujá e goiaba e encontraram valores para estabilidade oxidativa de 14,41, 3,25, 16,50 e 20,33 h, respectivamente. Embora as estabilidades oxidativas tenham sido medidas na mesma temperatura, os valores obtidos não são similares aos encontrados no presente trabalho já que os resíduos eram constituídos por sementes, fibras, cascas e resquícios de polpas, gerando, possivelmente, óleos com composições químicas diversas dos extraídos apenas das sementes das frutas. Além disso, os óleos foram obtidos em extrator Soxhlet utilizando como solvente o éter de petróleo, gerando, possivelmente, óleos com composições químicas diversas dos óleos das sementes de frutos extraídos por prensagem à frio.

Figura 9. Estabilidade oxidativa versus tempo de indução por oxidação (Rancimat) do óleo da semente de goiaba.



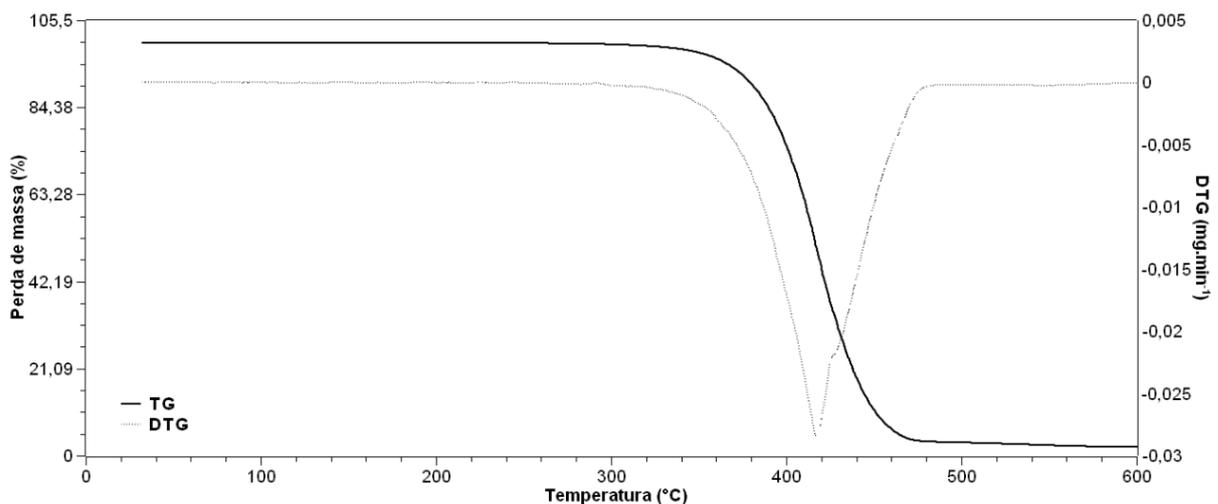
5.4 Análise térmica do óleo de goiaba

A análise térmica de óleos vegetais possibilita uma ampla aplicação para analisar as medidas de propriedades físicas, estudar reações químicas, avaliar a estabilidade térmica, determinar a composição de materiais e desenvolver metodologias analíticas (FARIA et al. 2002). As técnicas Termogravimetria e a sua derivada (TG/DTG), por sua vez podem ser usadas para estimular o patamar de estabilidade destes óleos e gorduras, sendo imprescindível a realização desta análise, uma vez com a finalidade de uso na indústria farmacêutica e em cosméticos.

A DTG é a derivada primeira da TG, onde, os “degraus” correspondentes às variações de massa da curva TG são substituídos por picos que determinam áreas proporcionais às variações de massa, tornando as informações referentes à estabilidade térmica do óleo de goiaba, visualmente, mais acessíveis (SILVA et al. 2007; PEREIRA, 2015). Neste sentido, a estabilidade térmica do óleo foi determinada pelo intervalo de tempo que a massa permaneceu inalterada.

O estudo de perda de massa através do comportamento térmico do óleo de goiaba extraído das sementes por prensagem a frio, é pouco visto na literatura. Porém, o estudo da estabilidade térmica do óleo de goiaba analisado, é demonstrado através da curva TG/DTG em atmosfera inerte de N₂ (Figura 10), onde, apresentou extrapolação *onset* de 393,58 °C e *endset* 449,69 °C, com 97,48% de perda de massa. Através da curva DTG observamos claramente um único pico descendente resultado dessa perda de massa. Essa perda deve-se principalmente a degradação dos ácidos graxos, tipicamente quanto maior for o grau de insaturação do ácido graxo, menor a estabilidade térmica. Isso ocorre porque o ponto de ebulição dos ácidos graxos insaturados é menor, em relação aos seus equivalentes saturados (KOWALSKI e KOT, 1989; SOLIS-FUENTES et al. 2010; COSTA et al. 2013; CONTENTE, 2016). Com este resultado, podemos concluir que a degradação do óleo de goiaba ocorre em temperaturas acima de 300 °C.

Figura 10. Curva TG/DTG do óleo da semente de goiaba.



5.5 Determinação do perfil de ácidos graxos do óleo da semente de goiaba por CGMS

A determinação do perfil de ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras é considerada um parâmetro muito importante na avaliação da autenticidade destes materiais, sendo que este procedimento geralmente é realizado por meio de cromatografia gasosa (CG) (GUNGSTONE, 2004). Os ácidos graxos são uma classe de compostos que contêm uma longa cadeia hidro-carbonada e um grupamento carboxila terminal, fazendo parte de numerosas funções celulares como a integridade e fluidez das membranas (YOUUDIM et al. 2000).

Os resultados desta análise demonstraram que o óleo de goiaba é constituído por ácidos graxos insaturados, representando 94,67% em sua totalidade, corroborando com os resultados da caracterização físico-química. Dentre os ácidos graxos identificados, o ácido linoleico (59,19%) e o ácido oleico (25,36%) foram predominantes com relação aos demais ácidos, seguidos pelo palmitoleico (9,93%) e esteárico (4,71%), sendo que o esteárico foi o principal constituinte dentre os ácidos graxos saturados (5,33%), como podemos observar na Tabela 4. A Figura 11 apresenta o perfil dos ácidos graxos do óleo de goiaba.

Tabela 4. Composição percentual dos ácidos graxos presente no óleo de goiaba.

| Ácidos graxos | Área % | Literatura | |
|-----------------------------|--------|--------------------|-----------------|
| | | Arain et al., 2017 | Malacrida, 2009 |
| Ácido linoleico (C18:2 n-6) | 59,19 | 60,03 | 78,40 |
| Ácido oleico (C18:1 n-9) | 25,36 | 12,57 | 9,74 |
| Ácido palmitoleico (C16:1) | 9,93 | 0,13 | n.d. |
| Ácido esteárico (C18:0) | 4,71 | 9,08 | 4,61 |
| Ácido beênico (C22:0) | 0,30 | 0,33 | n.d. |
| Ácido nonadecanoico (C19:0) | 0,28 | 0,04 | n.d. |
| Ácido linolênico (C18:3) | 0,19 | n.d. | n.d. |
| Ácido palmítico (C16:0) | 0,04 | 14,81 | 6,90 |
| ∑ saturados | 5,33 | 26,45 | 11,85 |
| ∑ insaturados | 94,67 | 73,55 | 88,14 |
| ∑ Monoinsaturados | 25,36 | 13,40 | 9,74 |
| ∑ poli-insaturados | 59,19 | 60,15 | 78,40 |

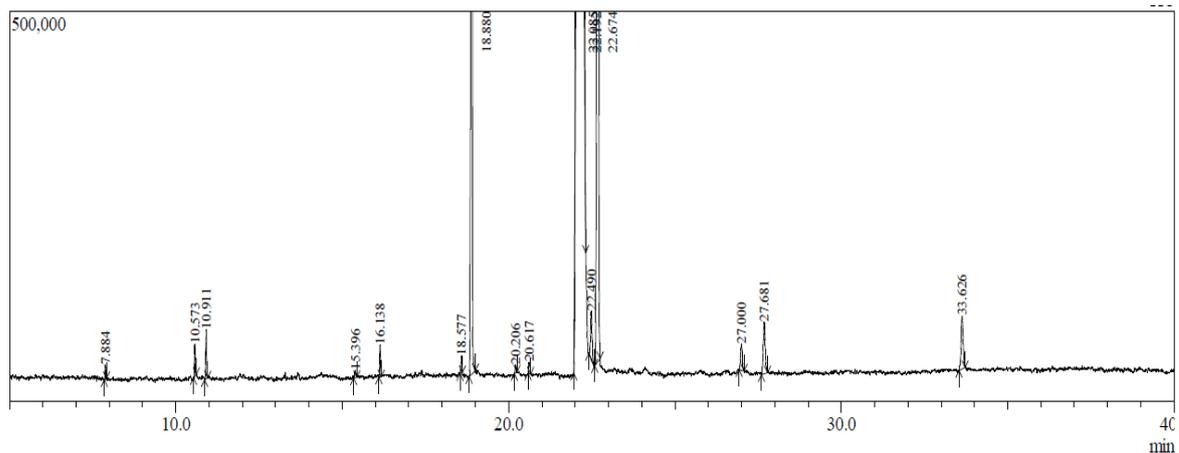
n.d.: valores não informados pelos autores.

Em recente estudo realizado por Arian *et al.*, (2017) sobre o perfil de ácidos graxos do óleo de goiaba, foi observado que 60,15% eram poli-insaturados, demonstrando um resultado muito semelhante ao encontrado neste trabalho. Malacrida (2009), ao analisar o óleo da semente de goiaba, relatou 88,14% de ácidos insaturados, 11,85% saturados e 9,74% monoinsaturados, sendo que o majoritário dentre todos os ácidos relatados foi ácido linoleico (78,40%). As diferenças na composição do óleo goiaba podem ser explicadas por ele ser um produto de origem natural e sua composição pode variar conforme a época e local de coleta, além do método de extração, solvente e conservação (NASCIMENTO *et al.* 2008; KUNLE *et al.* 2012; SILVEIRA, 2014).

Existem diversos tipos de ácidos graxos, mas se tratando de aplicações em cosméticos e produtos dermatológicos, o ácido oleico, um dos principais ácidos graxos insaturados encontrados no óleo de goiaba, pertence à classe dos lipídios vitais na construção da membrana celular (YOUDIM *et al.* 2000). O ácido linoleico é um dos mais importantes, pois não pode ser sintetizados pelos mamíferos, por não possuírem a enzima delta 9-dessaturase, sendo assim chamado de ácido graxo essencial (AGE). O alto conteúdo de ácido linoleico (C18:2) é extremamente importante, pois este é um ácido graxo essencial, precursor dos demais ácidos graxos da família ômega-6, assim chamados por apresentarem a primeira dupla ligação da cadeia no sexto átomo de carbono, contando-se a partir do grupamento metil no final da cadeia de carbonos, além de possuírem ação na resposta antiinflamatória (CALDER, 2001; JUMP, 2002; MAHAN e KRAUSE, 2005).

Com isso, o óleo de semente de goiaba pode ser considerado como uma boa fonte de ácido oleico e principalmente de ácido linoleico, o qual possui uma ampla gama de aplicações na nutrição, na medicina e em cosméticos. Os resultados desta análise também são úteis para as indústrias farmacêuticas que buscam estabelecer seu perfil de controle de qualidade a partir do emprego de compostos naturais como insumos em formulações.

Figura 11. Cromatograma do óleo da semente de goiaba com o perfil de ácidos graxos.



5.6 Determinação do teor de compostos fenólicos (CF) e flavonoides total

Os compostos fenólicos (CF) agem como antioxidantes, pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, que impedem a oxidação principalmente de lipídeos (SOARES et al. 2008; SILVA et al. 2010). Estão naturalmente presentes em frutas, sendo que apresentam altas concentrações de determinados grupos (ALMEIDA et al. 2006), onde, os flavonoides representam um dos mais importantes subgrupos dos polifenóis (SKERGET et al. 2005).

O teor de compostos fenólicos encontrado no óleo da semente de goiaba neste trabalho foi de $101,37 \pm 0,021$ mg EAG.g⁻¹. Malacrida (2009) encontrou teores altamente significativo de compostos fenólicos no óleo extraído da semente de goiaba, quando comparados ao encontrado neste trabalho, com valor de 922,62 mg EAG.g⁻¹, analisado a partir de extração com álcool metílico. Em outros estudos, foi observado que os teores foram progressivamente maiores quando analisado o extrato das folhas de goiaba (CHEN, LIN e HSIEH, 2007; SANTOS e VIEIRA, 2010; HAIDA et al. 2011).

As concentrações e os tipos de substâncias fenólicas em frutas e em seus coprodutos dependerão de vários fatores como as diferenças de variedades, maturação e estação, fatores ambientais, tais como o tipo de solo e clima, fatores genéticos e métodos de processamento e extração (MARTÍNEZ et al. 2012). A recuperação de polifenóis de materiais de plantas é influenciada pela solubilidade dos compostos fenólicos no solvente utilizado para o processo de extração. Além disso, a polaridade do solvente desempenha um papel chave no aumento da solubilidade dos compostos fenólicos (NACZK e SHAHIDI, 2006).

O teor de flavonoides encontrado no óleo de goiaba analisado neste trabalho foi de $30,29 \pm 0,016$ mg QUE.g⁻¹. Estudos na literatura que relatam quantificações de flavonoides no óleo da goiaba são escassos, porém podemos observar uma concentração significativa de flavonoides neste estudo, quando comparados aos resíduos da goiaba analisados por Amaya-Cruz et al. (2015), onde, obtiveram o teor de flavonoides de 2,3 mg QUE.g⁻¹. Sohafy, Metwalli e Harraz (2009), demonstraram que extratos da folha de goiaba apresentaram teor de flavonoides de 6,95 mg QUE.g⁻¹.

As variações dos componentes básicos ocorrem devido à biodiversidade das espécies resultando em composições diferentes dos compostos bioativos, como flavonoides (TOLEDO e BURLINGAME, 2006). Estes são produzidos em resposta a condições ambientais, por isso, pode-se explicar a diferença nos teores de flavonoides de uma mesma fruta em suas partes e regiões diferentes, uma vez que sua concentração pode variar em resposta ao ambiente (GOBBO-NETO e LOPES, 2007; MACEDO et al., 2013).

5.7 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS

O ABTS, expresso como TEAC (Capacidade Antioxidante Trolox Equivalente) é um método caracterizado pelo sequestro de radicais cátions ABTS•+ por antioxidantes presentes na reação em longo prazo, sendo um método indireto com boa estabilidade (PEREIRA, 2009; TIVERON, 2010).

O óleo da semente de goiaba apresentou atividade antioxidante de $103,17 \pm 0,73$ µM TE.g⁻¹. Martinez et al. (2012) relataram que ao analisar extratos do co-produto da goiaba, obtiveram atividade antioxidante de 20,9 µM TE.g⁻¹, ao utilizar metanol e acetona como solventes. Já nos estudos realizados por Sousa et al. (2011), os valores de TEAC para os resíduos da polpa de goiaba foram de 0,148 µM TE.g⁻¹ e 0,421 µM TE.g⁻¹, quando analisados nos extratos aquosos e hidroalcoólicos, respectivamente. Rufino et al. (2010), obtiveram valores próximo ao analisar o extrato aquoso da acerola (96,6 µM TE.g⁻¹) e Almeida et al. (2011) relataram que as atividades antioxidantes de algumas frutas exóticas do Brasil, como tamarindo (*Tamarindus indica*), mamão (*Carica papaya*) ou murici (*Byrsonima crassifolia*) foram 8,3, 7,6 e 15,6 µM TE.g⁻¹, respectivamente, valores inferiores ao encontrado neste trabalho quando analisados.

Ferreira (2019), ao analisar o extrato lipofílico do co-produto obtido no processamento da amêndoa do tucumã, obteve 537,12 $\mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$, demonstrando que em matrizes e métodos de extração diferentes os valores da atividade antioxidante variam de forma considerável.

O resultado da determinação da atividade antioxidante por ABTS $\bullet+$, é dependente do tempo de incubação assim como da taxa da amostra quantificada (EVANS et al. 1996). Esta dependência somada a pouca seletividade do ABTS $\bullet+$ na reação com átomos doadores de hidrogênio constituem a limitação desse método (CAMPOS e LISSI, 1997). Deste modo, divergências nos resultados de TEAC podem ser atribuídas a fatores limitantes como a diferença no tempo de incubação ou na estratégia de obtenção de ABTS $\bullet+$.

Com resultado a correlação entre a concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante do óleo de goiaba, obtivemos o $r=0,994$, demonstrando uma correlação positiva, por estarem próximas de 1. Os resultados obtidos para os compostos fenólicos demonstraram que na concentração analisada, eles apresentaram atividades antioxidantes. Diversos estudos verificaram correlações diretas entre os polifenóis e atividade antioxidante, sendo esses os componentes de maior ação antioxidante em frutas (OLIVEIRA et al. 2011; VIEIRA et al. 2011; MELO et al. 2011).

5.8 Sistema β -caroteno/Ácido Linoleico

Diante da importância na saúde humana como precursor da vitamina A, muitos autores tem investigado a composição do β -caroteno em diversas frutas, visto que os seres humanos não produzem a vitamina A e com isso, devem consumir alimentos ricos nesta provitamina, sendo a goiaba um dos alimentos mais ricos em β -caroteno (SANTOS, 2011; OLIVEIRA et al. 2014), ao qual apresenta capacidade antioxidante proporcionado retardo do envelhecimento e prevenção de várias doenças e processos inflamatórios.

Em relação ao método utilizado para determinação do β -caroteno, o seu resultado é expresso em porcentagem (%) de atividade antioxidante, onde encontramos neste trabalho 22,39% ($\pm 0,701$). Para efeito de comparação, utilizou-se o antioxidante sintético Trolox, onde a porcentagem de inibição obteve 78% ($\pm 3,223$). Diversos estudos demonstram que a fruta *in natura* contém expressivos teores de carotenoides onde há maiores concentrações na sua polpa, casca e co-

produtos (PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA, 1986; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001, FERREIRA, 2019) e, por conseguinte menor em suas sementes como observamos neste trabalho.

O β -caroteno é o caroteno mais ativo em termos nutritivos e integra 15 a 30% da totalidade dos carotenos séricos (HORST e MORENO, 2009). Atualmente, não existe uma dose diária recomendada para os carotenoides e o consumo de grandes quantidades de β -caroteno na sua forma natural não representa qualquer perigo para a saúde (GORDON, 2012).

Os carotenoides, como β -caroteno, são antioxidantes que podem ser utilizados na aplicação cosmética diminuindo o fotoenvelhecimento e contra a ação de radicais livres prevenindo o desenvolvimento de rugas (DARVIN et al. 2008). Um estudo realizado com 40 mulheres saudáveis que apresentavam sinais de envelhecimento cutâneo demonstrou que um tratamento combinado de carotenoides (oral e tópico) promoveu uma maior redução da peroxidação lipídica, devido à melhoria da elasticidade cutânea (PALOMBO et al. 2007).

Com base nos resultados encontrados na caracterização do óleo de goiaba, observamos que o óleo de goiaba apresentou boa estabilidade e conservação. Os valores encontrados para os compostos fenólicos e atividade antioxidante foram promissores. Assim, infere-se que estes servem de base para estudos futuros que busquem novas fontes naturais de compostos com esta propriedade, tornando-se uma nova proposta para a indústria farmacêutica, a partir do desenvolvimento de diferentes cosméticos e suplementos nutricionais que podem contribuir na prevenção do envelhecimento prematuro da pele.

5.9 Estudos de pré-formulação

5.9.1 Determinação do EHL e obtenção das nanoemulsões

O valor de EHL requerido para um óleo pode ser determinado através do preparo de diversas emulsões variando as porcentagens dos tensoativos de diferentes EHL e levando em consideração a solubilidade da cadeia lipídica dos tensoativos presentes na fase oleosa, obtendo-se emulsões mais estáveis (BECHER, 2001; LACHMAN, LIEBERMAN e KANIG, 2001).

Esta fase foi realizada com os tensoativos Procetyl AWS®/Span® 80, onde o estudo do EHL requerido do óleo de goiaba mostrou que a F6 foi a mais estável e não houve separação de fases após 24 horas da manipulação com valor de EHL 9,0

(Tabela 5), proporcionando o seguimento do trabalho e incorporação do AH na formulação. Zanin et al. (2002) e Santos (2006), determinaram o EHL de óleos vegetais e constaram que a maioria possuem EHL entre 7,0 e 12,0, demonstrando assim que o óleo de goiaba encontra-se nessa faixa.

Tabela 5. Comportamento das emulsões nas concentrações pré-estabelecidas de Procetyl AWS® e Span® 80 para determinação do EHL do óleo da semente de goiaba.

| FORMULAÇÕES | EHL | PROCETYL AWS® (%) | SPAN® 80 (%) | EMULSÃO |
|-------------|------------|----------------------|-----------------|-----------|
| F1 | 4,3 | 0 | 5,00 | CR |
| F2 | 5,0 | 0,31 | 4,69 | SF |
| F3 | 6,0 | 0,75 | 4,25 | SF |
| F4 | 7,0 | 1,20 | 3,80 | SF |
| F5 | 8,0 | 1,63 | 3,37 | LS |
| F6 | 9,0 | 2,08 | 2,92 | ES |
| F7 | 10,0 | 2,52 | 2,48 | LS |
| F8 | 11,0 | 2,96 | 2,04 | LS |
| F9 | 12,0 | 3,21 | 1,79 | SF |
| F10 | 13,0 | 3,74 | 1,26 | SF |
| F11 | 14,0 | 4,32 | 0,68 | CR |
| F12 | 15,0 | 4,76 | 0,24 | CR |
| F13 | 16,0 | 5,00 | 0 | CR |

Legenda: SF: Separação de Fases; ES: Estável; LS: Leve Separação; CR: Cremação.

A escolha de se utilizar uma mistura de um tensoativo hidrofílico e um lipofílico é justificada por formar emulsões mais estáveis. Os tensoativos Span® 80 e Procetyl AWS® são recomendados para o processo de emulsificação, pois são bons estabilizadores. Além disso, o Span® 80 apresenta semelhanças químicas estruturais com o óleo de goiaba e quando os tensoativos possuem cadeia carbônica similares, a obtenção de emulsões mais estáveis é facilitada, além da presença de insaturação na cadeia desse tensoativo não-iônico estar relacionada a formação de emulsões com partículas menores (MELO-ESPINOSA et al. 2016; NEJADMANSOURI et al. 2016).

O tensoativo utilizado, Procetyl AWS®, também classificado como não-iônico da classe dos polietilenos e polioxipropilenos, pode ser usado em preparações de uso tópico, numa concentração de até 60% sem provocar danos ao usuário (ROCHA E SILVA et al. 2010).

Sistemas de liberação de fármacos estabilizados com tensoativos não-iônicos são, geralmente, menos afetados pela presença de aditivos e mudanças de pH que os tensoativos iônicos, além de serem mais seguros e menos susceptíveis em causar irritação, reduzindo a complexidade do sistema e a possibilidade de toxicidade (LAWRENCE e REES, 2000; URBAN, 2004).

O método de emulsificação de baixa energia faz uso das propriedades físico-químicas do sistema para formar nanoemulsões, pois se aproveita da energia envolvida no processo de inversão de fases que ocorre durante a emulsificação (SOLANS et al. 2005). A partir da determinação do EHL do óleo de goiaba e obtenção de uma emulsão estável, o ácido hialurônico foi incorporado em três concentrações diferentes: 0,2%, 0,5% e 1,0%. As formulações mantiveram-se estáveis após 24 horas, possibilitando o segmento do trabalho.

Achados na literatura demonstram que de acordo com o aumento da temperatura de emulsificação ocorre uma diminuição na viscosidade da fase oleosa, diminuindo assim, as forças de coesão entre as moléculas e facilitando a solubilização do óleo no tensoativo, o que proporciona a formação de glóbulos de pequeno diâmetro (LIU et al. 2006).

Ao se trabalhar com o ácido hialurônico, estudos demonstram que as formas farmacêuticas não devem ser aquecidas a temperaturas acima de 80°C e o acondicionamento deve ocorrer em recipientes ao abrigo de calor, luz e umidade (BROWN e JONES, 2005). A concentração de uso do sal incorporado a produtos cosméticos é de 0,05 a 1%, mas na forma de solução, a faixa de concentração é de 1% a 3%, sendo que resultados de um estudo indicaram que todas as formulações de ácido hialurônico a 0,1% levaram a uma melhoria significativa na hidratação e elasticidade da pele (BATISTUZZO, ITAYA e ETO, 2011; PAVICIC et al. 2011).

As nanoemulsões do óleo de goiaba com ácido hialurônico preparadas nesse trabalho nas diferentes concentrações 0,2%, 0,5% e 1,0%, apresentaram translucência e fluidez, sem qualquer indício de degradação por perda de estabilidade, ao qual são características essenciais neste sistema emulsionado.

5.10 Estudos de estabilidade preliminar

O estudo de estabilidade preliminar visa auxiliar a triagem das formulações, indicando quais estão mais estáveis após as análises ao qual a amostra é submetida, ao invés de determinar a vida útil do produto (ANVISA, 2004). Após 24 horas as formulações selecionadas para prosseguir o estudo, apresentaram as mesmas características macroscópicas sem evidências de instabilidade e ao final da centrifugação não ocorreram alterações no sistema disperso (Tabela 6).

Tabela 6. Análise macroscópica e comportamento da formulação após centrifugação.

| Formulações | Estabilidade Preliminar | | |
|----------------|-------------------------|----------------|---------------|
| | Macroscopia | | Centrifugação |
| | Aspecto | Coloração | |
| Goiaba* | Leitosa, Fluída | Branca azulada | Sem alteração |
| GAH0,2% | Leitosa, Fluída | Branca azulada | Sem alteração |
| GAH0,5% | Leitosa, Fluída | Branca azulada | Sem alteração |
| GAH1,0% | Leitosa, Fluída | Branca azulada | Sem alteração |

*: Formulação sem o ácido hialurônico; GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações.

O teste de centrifugação acelera a desestabilização do produto e simula seu período de validade. Se for assumido que a estabilidade é diretamente proporcional à força gravitacional atuante sobre as gotículas, o comportamento em longo prazo do sistema disperso pode ser estimado pela centrifugação em velocidades moderadas (LATREILLE e PAQUIN, 1990). A vida de prateleira em condições normais de estocagem pode ser prevista pela observação da separação da fase dispersa, devido à cremeação ou coalescência quando a emulsão é exposta à centrifugação. De acordo com os resultados obtidos, as emulsões apresentaram-se fisicamente estáveis conforme literatura (MASSON et al. 2005).

O controle do pH é fundamental para determinar a estabilidade das nanoemulsões, onde variações indicam a ocorrência de reações que degradam o óleo. As emulsões preparadas com óleos vegetais podem exibir um decréscimo do pH pela hidrólise dos ésteres de ácidos graxos em ácidos graxos livres, que é o produto majoritário de degradação (MASMOUDI et al. 2005).

Observa-se que de acordo com o aumento da concentração do AH, o pH das formulações foram aumentando, onde estudos demonstram que o pH final das formulações que contêm AH tendem a ficar em torno de 5,5 – 7,5 (BROWN e JONES, 2005). A Tabela 7 reúne os resultados obtidos pela determinação do pH nas formulações que foram submetidas a temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), geladeira ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) e estufa ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), para constatação de alterações de acordo com a mudança de temperatura no decorrer do tempo. As nanoemulsões com incorporação do AH não variaram de pH de forma significativa, mantendo-se entre 5,64 (GAH0,2% em temperatura ambiente, 24h) à 6,45 (GAH1,0% em temperatura ambiente, 15 dias), no período analisado.

Tabela 7. Determinação do pH e desvio padrão das nanoemulsões após 24h, 15 e 30 dias.

| Condição | Formulações | pH | | |
|--|-------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 24h | 15 Dias | 30 Dias |
| Temperatura Ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) | Goiaba* | 5,08 \pm 0,026 | 5,22 \pm 0,115 | 5,10 \pm 0,033 |
| | GAH0,2% | 5,64 \pm 0,108 | 5,71 \pm 0,057 | 6,24 \pm 0,040 |
| | GAH0,5% | 6,34 \pm 0,025 | 6,35 \pm 0,119 | 6,33 \pm 0,025 |
| | GAH1,0% | 6,39 \pm 0,005 | 6,45 \pm 0,030 | 6,42 \pm 0,011 |
| Geladeira ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) | Goiaba* | 6,01 \pm 0,054 | 6,11 \pm 0,060 | 6,08 \pm 0,022 |
| | GAH0,2% | 6,35 \pm 0,010 | 6,17 \pm 0,036 | 6,23 \pm 0,025 |
| | GAH0,5% | 6,35 \pm 0,083 | 6,37 \pm 0,020 | 6,27 \pm 0,037 |
| | GAH1,0% | 6,36 \pm 0,028 | 6,37 \pm 0,025 | 6,40 \pm 0,017 |
| Estufa ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) | Goiaba* | 5,01 \pm 0,012 | 5,28 \pm 0,031 | 5,21 \pm 0,016 |
| | GAH0,2% | 5,92 \pm 0,046 | 6,09 \pm 0,043 | 6,18 \pm 0,040 |
| | GAH0,5% | 6,31 \pm 0,030 | 6,32 \pm 0,036 | 6,35 \pm 0,015 |
| | GAH1,0% | 6,37 \pm 0,107 | 6,42 \pm 0,015 | 6,33 \pm 0,102 |

*: Formulação sem o ácido hialurônico; GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações (média e desvio padrão).

As formulações destinadas ao uso tópico devem possuir valor de pH próximo ao da pele (4,0 à 7,0) a fim de evitar alterações fisiológicas que possam comprometer sua integridade (OLIVEIRA, 2008). Nesse contexto, as nanoemulsões obtidas com e sem o AH encontram-se estáveis, dentro da faixa de pH e são

promissoras para aplicação tópica ao qual o estudo se propõe.

5.11 Densidade e Viscosidade das Nanoemulsões

A determinação das densidades das formulações realizadas a 25 °C variou entre 0,992 a 1,004 (Tabela 8), valores um pouco próximo da densidade do óleo 0,911, bem como, próximo da água 1,00, resultados compatíveis com a literatura (SILVA JÚNIOR et al. 2013). Apesar de estarem em menor proporção, os surfactantes Procetyl AWS®, e Span 80®, também possuem densidades próximas a 1, sendo 1,05 e 1,00, respectivamente, proporcionando um sistema com estes valores.

Tabela 8. Determinação da densidade e viscosidade das formulações.

| Formulações | Densidade | Comportamento Reológico | |
|----------------|-----------|-------------------------|------------------|
| | | Índice de fluxo | Viscosidade (cP) |
| Goiaba* | 1,004 | 0,41 | 8,61 |
| GAH0,2% | 0,998 | 0,34 | 6,38 |
| GAH0,5% | 1,002 | 0,38 | 7,37 |
| GAH1,0% | 0,992 | 0,51 | 6,69 |

*: Formulação sem o ácido hialurônico; GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações.

A viscosidade é uma característica importante porque determina a facilidade ou dificuldade de escoamento. Em nanoemulsão, este parâmetro pode estimar a estabilidade do sistema e o tempo de vida útil da amostra para testes (SILVA JÚNIOR, et al. 2013).

As formulações foram testadas à temperatura controlada de 25±2°C e apresentaram índice de fluxo $n < 1$ (Tabela 8), significando que elas apresentaram comportamento pseudoplástico (dependente do tempo e diminui a viscosidade com a taxa de cisalhamento). Quando submetidas a uma tensão de cisalhamento, suas partículas tendem a se orientar na direção da força aplicada e quanto maior esta força, conseqüentemente, menor será a sua viscosidade aparente (NUNES et al. 2017). As formulações apresentaram baixa viscosidade aparente, o que já era esperado devido ao tamanho reduzido das partículas das nanoemulsões.

5.12 Caracterização das nanoemulsões

5.12.1 Determinação do Tamanho de Partícula, Índice de Polidispersão (PDI) e Potencial Zeta

A determinação do diâmetro de gotícula e da sua distribuição é uma análise fundamental nas nanoemulsões. Os limites de diâmetro são relacionados à estabilidade do sistema (cuja desestruturação é manifestada pela fusão de gotículas, levando à coalescência), bem como à segurança do sistema de acordo com a via de uso (BRUXEL et al. 2012). Formulações contendo os menores diâmetros tendem a ser fisicamente mais estáveis, sendo o diâmetro influenciado pela composição quali- e quantitativa das formulações e pelo método de preparo utilizado. Uma variação na concentração de óleo e tensoativos/cotensoativos utilizados nas formulações podem aumentar ou diminuir significativamente o diâmetro (JUMAA et al. 1999; MARTINI et al. 2007).

Analisando-se os tamanhos de partículas em diferentes temperaturas, demonstrado pela Tabela 9, pode-se observar que houve variação de 98,5nm (GHA 0,2% 30 dias, geladeira) até 154,1nm (Formulação Branca 24h, ambiente). Foi constatado que o método de emulsificação escolhido é aceitável, pois ocorreu uma tendência na diminuição dos tamanhos para a maior parte das formulações no decorrer do estudo, sendo que todas as formulações se encontraram com tamanho excelente, onde para cosméticos os valores devem estar entre 50 e 200 nanômetros para que haja boa absorção e fixação na pele.

Tabela 9. Tamanho (nm) das formulações após 24h, 15 e 30 dias.

| Condição | Formulações | Tamanho (nm) | | |
|--------------------------------------|----------------|--------------|------------|------------|
| | | 24h | 15 Dias | 30 Dias |
| Temperatura Ambiente (25±2°C) | Goiaba* | 154,1±0,52 | 147,3±0,51 | 141,0±1,06 |
| | GAH0,2% | 105,7±0,98 | 104,4±0,88 | 102,2±0,92 |
| | GAH0,5% | 112,6±0,50 | 108,7±0,23 | 107,5±0,32 |
| | GAH1,0% | 132,3±0,09 | 131,5±1,76 | 131,6±0,95 |
| Geladeira (4±2°C) | Goiaba* | 146,2±1,87 | 144,5±0,20 | 144,7±2,27 |
| | GAH0,2% | 99,2±1,17 | 98,7±0,24 | 98,5±0,68 |
| | GAH0,5% | 112,2±0,18 | 106,6±0,37 | 106,2±0,20 |
| | GAH1,0% | 133,8±1,04 | 133,6±0,55 | 133,0±1,27 |
| Estufa (40±2°C) | Goiaba* | 145,5±0,66 | 145,9±0,40 | 144,2±0,86 |
| | GAH0,2% | 107,1±0,15 | 108,9±0,66 | 107,6±0,37 |
| | GAH0,5% | 135,7±0,54 | 129,4±1,04 | 108,3±0,55 |
| | GAH1,0% | 132,9±0,66 | 132,4±0,86 | 132,1±0,72 |

*: Formulação sem o ácido hialurônico; GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações (média e desvio padrão).

Após a incorporação do AH na formulação, constatamos que houve uma diminuição no tamanho em relação à formulação branca. Apesar desta tendência na diminuição dos tamanhos no decorrer dos 30 dias, quando foi aplicado o Teste F (Análise de Variância) para tamanhos entre os grupos de tempos 24h e 30 dias, encontrou-se o $F = 1,267$, valor abaixo do F Crítico, com valor de $p > 0,05$, demonstrando que não existe diferença significativa entre os dois grupos de tempos.

Os tamanhos de partículas encontrados proporcionam uma redução da força gravitacional e conseqüentemente o vencimento desta força pelo movimento browniano indicando que não ocorrerão processos de cremação ou sedimentação, evitando a floculação e mantendo o sistema disperso e estável, além de facilitar a permeação do ativo na pele devido o tamanho reduzido. Nas Figuras 12, 13, 14 e 15, podemos observar que as formulações encontraram-se monodispersas após 30 dias.

Figura 12. Tamanho de partícula da formulação branca, após 30 dias.

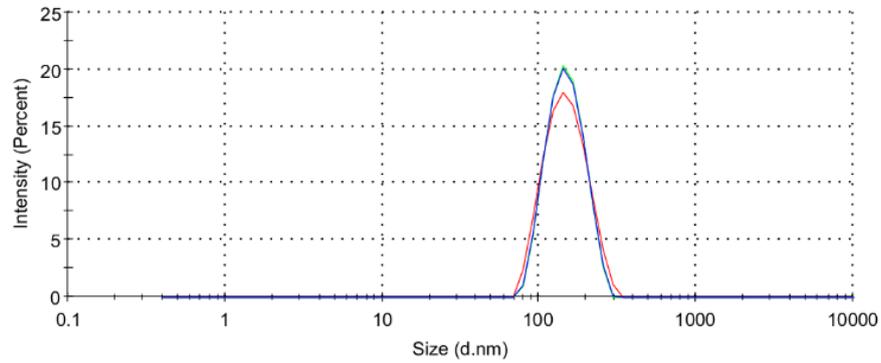


Figura 13. Tamanho de partícula formulação com concentração de 0,2% de AH, após 30 dias.

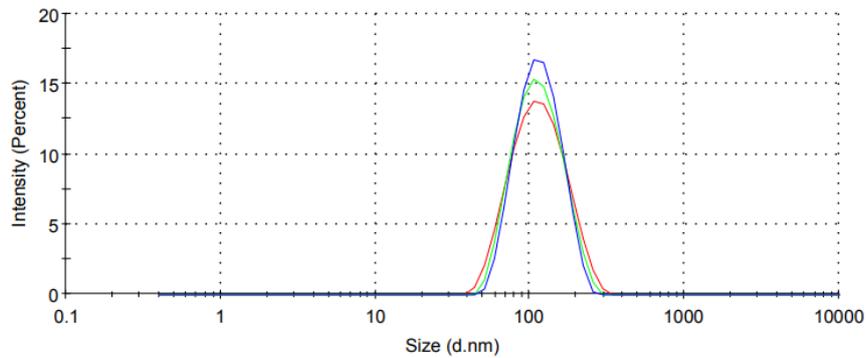


Figura 14. Tamanho de partícula formulação com concentração de 0,5% de AH, após 30 dias.

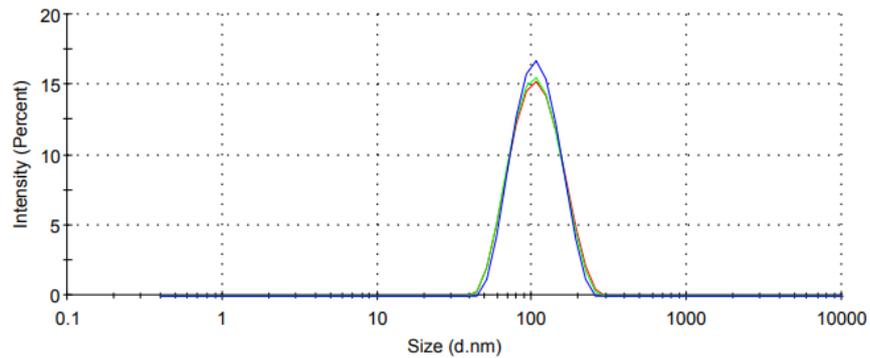
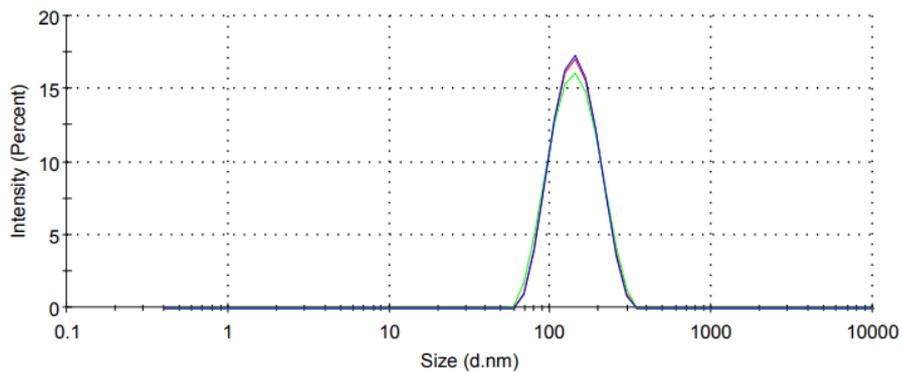


Figura 15. Tamanho de partícula formulação com concentração de 1,0% de AH, após 30 dias.



O índice de polidispersividade (PDI) é uma medida que avalia a homogeneidade da dispersão em relação ao diâmetro, com variações de 0 a 1. Valores próximos de zero indicam homogeneidade da dispersão, enquanto valores que se aproximam de 1 indicam alta heterogeneidade (YUAN et al. 2006). O PDI dos sistemas coloidais mostrou-se bastante variado entre as diferentes formulações e tempos, não demonstrando uma tendência evidente, porém pode-se dizer que possui leve tendência ao aumento do seu valor no decorrer no estudo. Para a polidispersividade o ideal de um sistema nanoestruturado é que apresente valores até 0,3. De forma geral, os sistemas coloidais aqui obtidos elucidaram valores do PDI com variação de 0,01 (GAH 1,0% 24h, geladeira) até 0,22 (GAH 0,5% 24h, ambiente), onde os menores valores ocorreram após os 30 dias de análise, indicando sua tendência a uma condição estável devido uma maior homogeneidade do sistema nesse período (Tabela 10).

Tabela 10. Índice de Polidispersão (IP) das formulações após 24h, 15 e 30 dias.

| Condição | Formulações | PDI | | |
|----------------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | | 24h | 15 Dias | 30 Dias |
| Temperatura Ambiente (25±2°C) | Goiaba* | 0,14±0,02 | 0,09±0,01 | 0,06±0,02 |
| | GAH0,2% | 0,09±0,01 | 0,09±0,01 | 0,10±0,02 |
| | GAH0,5% | 0,22±0,01 | 0,14±0,01 | 0,11±0,01 |
| | GAH1,0% | 0,09±0,01 | 0,09±0,02 | 0,09±0,01 |
| Geladeira (4±2°C) | Goiaba* | 0,05±0,02 | 0,07±0,01 | 0,08±0,01 |
| | GAH0,2% | 0,14±0,01 | 0,10±0,01 | 0,08±0,01 |
| | GAH0,5% | 0,11±0,01 | 0,10±0,01 | 0,10±0,01 |
| | GAH1,0% | 0,01±0,01 | 0,10±0,01 | 0,09±0,01 |
| Estufa (40±2°C) | Goiaba* | 0,08±0,01 | 0,08±0,01 | 0,05±0,01 |
| | GAH0,2% | 0,23±0,01 | 0,10±0,01 | 0,10±0,02 |
| | GAH0,5% | 0,09±0,01 | 0,24±0,01 | 0,09±0,01 |
| | GAH1,0% | 0,09±0,01 | 0,09±0,01 | 0,09±0,01 |

*: Formulação sem o ácido hialurônico; GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações (média e desvio padrão).

Assim, quando foi aplicado o Teste F (Análise de Variância) para PDI entre os grupos de tempos 24h e 30 dias, encontrou-se o $F = 13,64$, valor acima do F Crítico, com valor de $p < 0,05$, demonstrando que existe diferença significativa entre os dois grupos de tempos.

O potencial zeta reflete o potencial de superfície das gotículas, o qual é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão, determinado pela eletroforese (SCHAFFAZICH et al. 2003).

Em relação ao potencial zeta (Tabela 11), tem-se que as formulações na condição da temperatura ambiente apresentou um comportamento crescente dos valores de potencial zeta, mas nas formulações da geladeira e estufa não foram observados valores considerados suficientes para que tivesse um grande efeito de estabilização eletrostática dos glóbulos, o que já era esperado, devido ao fato de os tensoativos empregados serem não iônicos, tendo em vista que houve variação entre -19,6 (GHA0,2% 24h, geladeira) até -35,8 (Formulação Branca, 15 dias, geladeira). Ao final dos 30 dias as formulações se mantiveram com valores próximos a -30,0, ao qual são valores ideais de potencial zeta.

Tabela 11. Determinação do Potencial Zeta das formulações após 24h, 15 e 30 dias.

| Condição | Formulações | Potencial Zeta (mV) | | |
|-------------------------------------|-------------|---------------------|------------|------------|
| | | 24h | 15 Dias | 30 Dias |
| Temperatura Ambiente (25±2°C) | Goiaba* | -28,9±0,45 | -29,8±1,32 | -34,5±1,78 |
| | GAH0,2% | -27,4±2,42 | -27,8±0,35 | -30,9±2,63 |
| | GAH0,5% | -24,5±0,30 | -26,2±3,33 | -28,3±2,44 |
| | GAH1,0% | -24,4±0,89 | -29,7±0,35 | -31,1±0,35 |
| Geladeira (4±2°C) | Goiaba* | -35,6±1,73 | -35,8±2,00 | -31,2±2,01 |
| | GAH0,2% | -19,6±2,09 | -28,7±2,80 | -30,0±1,16 |
| | GAH0,5% | -30,5±0,30 | -25,6±1,72 | -31,9±2,40 |
| | GAH1,0% | -31,3±0,40 | -26,8±0,64 | -29,1±0,92 |
| Estufa (40±2°C) | Goiaba* | -32,9±1,14 | -30,7±3,72 | -27,5±1,59 |
| | GAH0,2% | -27,4±1,81 | -22,8±0,43 | -31,0±2,46 |
| | GAH0,5% | -30,2±1,11 | -28,0±0,79 | -28,3±2,44 |
| | GAH1,0% | -28,4±1,19 | -25,0±0,50 | -29,1±0,92 |

*: Formulação sem o ácido hialurônico; GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações (média e desvio padrão).

Quando foi aplicado o Teste F (Análise de Variância) para Potencial Zeta entre os grupos de tempos 24h e 30 dias, encontrou-se o $F = 4,82$, valor acima do F Crítico, com valor de $p < 0,05$, demonstrando que existe diferença significativa entre os dois grupos de tempos.

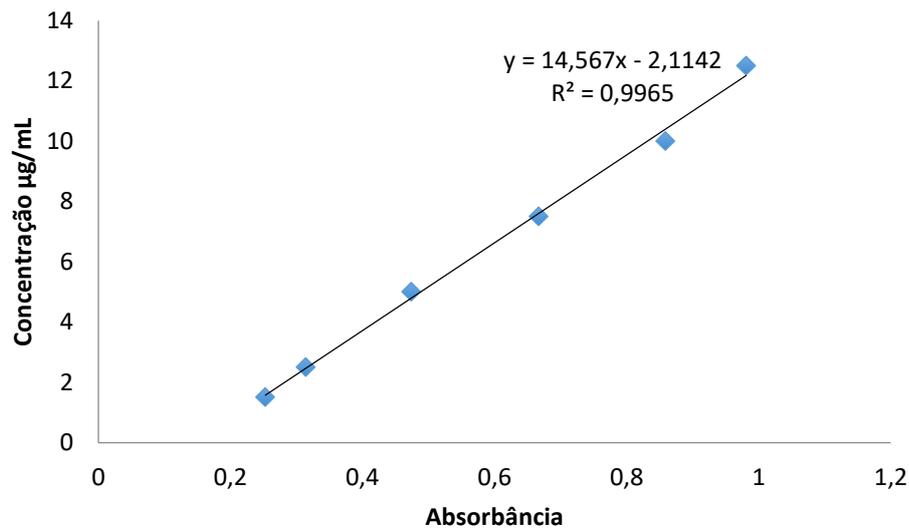
A partir dos resultados obtidos na caracterização morfológica das nanoemulsões, podemos considerar as formulações estáveis, onde o potencial zeta demonstra uma força existente que supera a tendência natural à agregação (SCHAFFAZICK et al. 2003). O tamanho de partícula de todas as formulações durante o período de estudo, evidenciou um sistema monodisperso e homogêneo, mostrando que o método de inversão de fase com baixo aporte de energia, foi eficiente para desenvolvimento das nanoemulsões contendo AH.

5.13 Doseamento do ácido hialurônico pelo método Carbazol

O método utilizado para quantificação do ácido hialurônico é por colometria pelo método do carbazol (BITTER e MUIR, 1962). A curva analítica do AH

elaborada, foi feita em água destilada, onde a quantificação do ácido hialurônico mostrou linearidade na faixa das concentrações utilizadas (1,5, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 12,5 µg/mL). A Figura 16 representa a curva analítica de ácido hialurônico usando como solvente água que apresentou equação da reta $y = 14,567x - 2,1142$ e coeficiente de correlação de 0,9965.

Figura 16. Curva analítica do ácido hialurônico usando como solvente água destilada.



Para o doseamento do AH, em todas as formulações foi tomado como partida concentrações teóricas equivalentes a 9,9 µg/mL. Podemos observar (Tabela 12) que após 30 dias de análises a formulação de AH a 1,0% foi a que se manteve mais estável com menor perda durante o período analisado, ao qual, no final do experimento foi constatado 88,78% de AH incorporado na formulação, representando um excelente teor para aplicação dermatológica.

Tabela 12. Concentrações de AH ($\mu\text{g/mL}$) nas formulações no decorrer de 30 dias.

| FORMULAÇÕES | CONCENTRAÇÃO TÉORICA ($\mu\text{G/ML}$) | CONCENTRAÇÃO EXPERIMENTAL ($\mu\text{G/ML}$) | | | PERCENTUAL EXPERIMENTAL (%) | | |
|----------------|--|---|-----------------|-----------------|-----------------------------|---------|---------|
| | | 24h | 15 DIAS | 30 DIAS | 24h | 15 DIAS | 30 DIAS |
| GAH0,2% | | 9,06 \pm 0,02 | 8,84 \pm 0,01 | 7,97 \pm 0,01 | 91,51 | 89,29 | 80,50 |
| GAH0,5% | 9,90 | 9,11 \pm 0,01 | 8,68 \pm 0,02 | 8,63 \pm 0,01 | 92,02 | 90,41 | 87,17 |
| GAH1,0% | | 8,96 \pm 0,01 | 8,81 \pm 0,04 | 8,79 \pm 0,02 | 90,50 | 88,99 | 88,78 |

GAH: Formulações com o ácido hialurônico e suas respectivas concentrações (média e desvio padrão).

Segundo alguns estudos, os antioxidantes naturais presentes em alguns vegetais podem auxiliar na resposta endógena e contribuir para depuração das espécies reativas de oxigênio (EROs). A incorporação dos óleos e extratos vegetais em bases para fins cosméticos é uma prática bastante difundida, sendo de fundamental importância à escolha adequada da base à qual os princípios ativos de uso tópico serão incorporados, garantindo, assim, a estabilidade e absorção dos princípios ativos e, conseqüentemente, obtenção de seus efeitos farmacodinâmicos esperados (SOUZA e FERREIRA, 2010).

Assim, a incorporação do AH em sistema nanoemulsionado a base de óleo de goiaba por método de preparação envolvendo baixa energia foi visto como processo simples e de baixo custo, atrativo para o estudo em bancada, quanto para a produção em escala industrial.

O controle de qualidade físico-químico e a investigação da atividade antioxidante do óleo mostraram-se que o óleo de goiaba pode ser empregado para o desenvolvimento de sistemas nanoemulsionados, por método de preparação envolvendo baixa energia, o que torna o processo de baixo custo e atrativo para o estudo em bancada, quanto para a produção em escala industrial. O AH uma molécula importante no processo do antienvhecimento, o seu emprego e estudo tem sido extenso, especialmente em novas formas de liberação em nanoescala, que facilita sua penetração cutânea. Assim, as nanoemulsões a base de óleo de goiaba mantiveram-se estáveis e com concentrações de AH desejáveis para via de administração que o trabalho propôs.

6 CONCLUSÃO

O controle de qualidade físico-químico do óleo de goiaba foi necessário para avaliar suas características frente a literatura, bem como, verificar perante padrões aceitáveis pela legislação brasileira. A realização dos ensaios de caracterização faz parte para aplicação do óleo como base de uma formulação cosmética para aplicação tópica. No perfil de ácidos graxos do óleo, constatou-se o predomínio de ácidos graxos mono e poli-insaturados, como os ácidos linoleico e oleico.

A espectroscopia na região do infravermelho revelou bandas características dos grupos funcionais existentes nas cadeias carbônicas dos ácidos graxos. E a avaliação da estabilidade oxidativa do óleo revelou que este apresenta um tempo de indução acima de 15 horas. A análise térmica mostrou um perfil típico de óleos vegetais, onde a degradação térmica ocorre acima de 300 °C.

Os elevados teores de compostos fenólicos e flavonoides presentes no óleo das sementes de goiaba conferiu a ele, excelente atividade antioxidante. Assim, tem-se uma alternativa de fonte nova e acessível de antioxidante natural que pode ser utilizada em formulação cosmética.

Constatou que o EHL do óleo de goiaba foi 9,0 e o método de inversão de fases foi eficiente na preparação das nanoemulsões. O pH foi aceitável para uso dermatológico não havendo grande variação durante o período do estudo. A densidade das formulações foi próxima do componente majoritário e a viscosidade apresentou comportamento não newtoniano, pseudoplástico, ao qual é característico de produtos cosméticos.

As nanoemulsões contendo ácido hialurônico foram caracterizadas com resultados interessantes de tamanho de partícula, PDI, potencial zeta e elevado teor do AH nas formulações, apresentando-se estáveis para que se pretende direcionar. Observou-se que o AH não degradou de forma significativa no decorrer de 30 dias, nas diferentes condições de armazenamento.

O óleo de goiaba utilizado como base da nanoemulsão tem efeito antioxidante (contra os radicais livres) e após incorporação do AH que possui efeito tensor (favorece o tônus e a firmeza da pele) proporcionou uma proposta de cosmético que concede uma hidratação profunda e promove a renovação celular. Outros estudos, como de liberação e permeação devem ser realizados como proposta de segmento deste trabalho.

7 REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. E.; ROOZEN, J. P. **Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion.** Food Chemistry, Barking, v. 64, n. 3, p. 323-329, 1999.
- ACCORSI, W. R.; HAAG, H. P.; MELLO, F. A. F.; SOBRINHO, M. O. C. B. **Sintomas externos (morfológicos) e internos (anatômicos), observados em folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), de plantas cultivadas em solução nutritiva com carência de macronutrientes.** Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 3-13, 1960.
- AJAZUDDIN, S. S. **Applications of novel drug delivery system for herbal formulations.** Fitoterapia, v. 81, n. 7, p. 680-689, 2010.
- ALMEIDA, J. K. P. et al. **Caracterizações Físico-Químicas De Óleos Vegetais Utilizados Para Produção de Biodiesel Com Metodologias Alternativas Simples.** Disponível em: <http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2011_TN_STP_135_855_18349.pdf>. XXXI Encontro Nacional De Engenharia De Produção. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2011. Acesso: julho/2018.
- ALMEIDA, J. M. D. et al. **Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β caroteno/Ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH.** Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452. 2006.
- ALMEIDA, M. M. B. et al. **Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil.** Food Research International, 44, 2155–2159. 2011.
- AMAYA-CRUZ, et al. **Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis.** Journal of Functional Foods. 17, 93–102. 2015.
- Antioxidantes.** Revista FIB. (6): 16-30. 2009.
- ANTON, N.; VANDAMME, T. F. **The universality of low-energy nanoemulsification.** International Journal of Pharmaceutics, 377, 142–147, 2009.
- ANTONIASSI, R. **Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras.** Boletim do CEPPA, v. 19, p. 325-380, Curitiba, 2001.
- ARAIN, A. et al. **Spectroscopic and chromatographic evaluation of solvent extracted guava seed oil.** International journal of food properties. v. 20, n. 1, p. 556–563. 2017.
- ARNAO, M. B. **Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case.** Trendx in food Science & Technology Cambridge, v. ff, n. ff, p. 4f9–42f, 2000.
- ARSHIYA, S. **The antioxidant effect of certain fruits: - a review.** Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, v. 5, n. 12, p. 265- 268, 2013.
- ASTM D 445. **Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (the Calculation of Dynamic Viscosity).** Annual Book of ASTM Standards, Vol. 05.01, p. 185-193, 2001.
- AUGUSTIN, et al. **Effects of microencapsulation on the gastrointestinal transit and tissue distribution of a bioactive mixture of fish oil, tributyrin and resveratrol.** Journal of Functional Foods, 3, 25–37. 2011.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677 p.

BAJERSKI, L. et al. **The use of Brazilian vegetable oils in nanoemulsions: an update on preparation and biological applications**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 52, p. 347-363, 2016.

BAE, G. U.; SEO, D. W.; KWON, H. K.; LEE, H. Y.; HONG, S.; LEE, Z. W.; HA, K. S.; LEE, H. W.; HAN, J. W. **Hydrogen Peroxide Activates p70^{S6k} Signaling Pathway**. Journal Biological Chemistry, v. 274, p. 32596, 1999.

BARBALHO, et al. **Psidium guajava (Guava): a plant of multipurpose medicinal applications**. Medicinal & Aromatic Plants, v. 1. n. 4, 2012.

BAREL, A. O.; TAEYMANS, J.; CLARYS, P. **Use of food supplements as nutricosmetics in health and fitness - A review**. 2014. In: Barel A.O.; Paye M.; Maibach, H. I. Handbook of Cosmetic Science and Technology. 3rd ed. Taylor & Francis, 2009.

BATISTA, P. F. **Qualidade, compostos bioativos, atividade antioxidante em frutos produzidos no Vale São Francisco**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2010.

BATISTUZZO, J.; ITAYA, M.; ETO, Y. **Formulário Médico Farmacêutico**. São Paulo, Pharmabooks.4 ed. 2011.

BATTISTI, M. A. **Desenvolvimento de nanocarreador lipídico contendo extrato padronizado de folhas de *Cecropia pachystachya Trécul* visando à obtenção de medicamento de uso tópico**, Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 2015.

BECHER, P. **Emulsions: Theory and Practice**. American Chemical Society: Washington, DC, 2001.

BERNARDI, D. S. **Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento de dermatite atópica e psoríase**. Riberão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Riberão Preto, USP, p. 104. 2011.

BERNARDINO-NICANOR, et al. **Guava seed storage protein: Fractionation and characterization**. LWT - Food Science and Technology, v.39, p. 902–910. 2006.

BEYLOT, C.. **Skin aging: clinicopathological features and mechanisms**. Annales De Dermatologie Et De Venereologie. 135, pp. 157-161. 2008.

BITTER, T.; MUIR, H. M. **A modified uronic acid carbazole reaction**. Analytical Biochemistry, v. 4, p. 330-334, 1962.

BORGES, R.S. et al. **Atividade anti-inflamatória de nanoemulsões de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.: estudos in vitro e em peixes-zebra**. Inflammofarmacologia, v. 26, ed 4, pp 1057-1080, 2018.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 23 set. 2005.

BUCK, D. F. **Antioxidants in soya oil**. J. Am. Oil Chem. Soc. 58 (3): 275-78. 1981.

BROWN, M. B.; JONES, S.A. **Hyaluronic acid: a unique topical vehicle for the localized delivery of drugs to the skin.** J Eur Acad Dermatol Venereol. 19(3): 308-18. 2005.

BRUXEL, et al. **Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos.** Quim. Nova, Vol. 35, No. 9, 1827-1840, 2012.

BURNS, et al. **Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. Chicago: v. 49, p. 5797-5808, 2001.

CAMPOS, A. M.; LISSI, E. A. **Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols.** International Journal of Chemical Kinetics. 219–224. 1997.

CALDER, P. C. **N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and Immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale.** Nutrition Research, v. 21, p.309-341, 2001.

CARNEIRO, S. P. **Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de propionato de clobetasol obtidas por polimerização in situ para tratamento de psoríase.** Universidade Federal de Ouro Preto - Escola de Farmácia, p. 96. 2013.

CAROCHO M.; FERREIRA I. C. **A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives.** Food Chemistry. 51: 15-25. 2013.

CARVALHO, et al. **“Bioquímica da Beleza”**, Curso de verão, São Paulo, Brasil, 2005.

CASTRO, et al. **Guava (*Psidium guajava* L.) seed oil obtained with a homemade supercritical fluid extraction system using supercritical CO₂ and co- solvent.** The Journal of Supercritical Fluids, v. 56, p. 238–242. 2015.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** Editora da UNICAMP: 2º Ed. rev.- Campinas, SP, editora da UNICAMP, p. 207, 2003.

CHEN, H. Y.; LIN, Y. C.; HSIEH, C. L. **Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs.** Food Chemistry. v. 104, p. 1418-24. 2007.

CODEX. Codex Stan 210, 1999. **Codex standards for named vegetable oils.** Codex Alimentarius, Rome, 2015.

CONTENTE, D. M. L. **Obtenção e caracterização de nanoemulsão óleo em água a partir de óleo de açaí (*Euterpe oleracea* M.)** Dissertação (Mestrado). Universidade federal do Pará. Programa de pós- graduação em ciências farmacêuticas. 2016.

CORRÊA, L. C. et al. **Antioxidant content in guava (*Psidium guajava*) and araçá (*Psidium* spp.) germplasm from different Brazilian regions.** Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation, Cambridge, v.9, n.3, p. 384–391. 2011.

COSTA, T. **Caracterização e propriedades funcionais de óleos extraídos de castanhas e nozes.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista. 2011.

COSTA, M. N. F. S. et al. **Characterization of *Pentaclethra macroloba* oil.** J. Thermal Anl. Calorim., p.12-28, 2013.

COSTA, R. S. et al. **Optimization of spray drying conditions to microencapsulate cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) seed by-product extract.** Natural Product Research, 2018.

DARVIN, M. et al. **Dermal carotenoid level and kinetics after tropical and systemic administration of antioxidants: Enrichment strategies in a controlled in vivo study.** Journal of Dermatological Science, 64, pp. 53-58. 2011.

DJERIDANE, A. et al. **Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.** Food Chemistry, v.97, n.4, p.654-60, 2006.

EL SOHAFY, S. M.; METWALLI, A. M.; HARRAZ, F. M.; OMAR, A. A. **Quantification of flavonoids of *Psidium guajava* L. preparations by Planar Chromatography (HPTLC).** Phamacog Mag, 5:61-6. 2009.

EVANS, C. A. R.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. **Antioxidant properties of phenolic Compounds,** 152-159, 1996.

FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; VOSTER, M. **Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review.** Food Research International, 64, 171–181, 2014.

FARIA, E. A. et al. **Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA.** Eclét. Quím. v.27, São Paulo. 2002.

FARIAS, K. S. et al. **Antioxidant properties of species from the Brazilian cerrado by different assays.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.15, p.520-528. 2013.

FATOUH, A. E. et al. **Physical, chemical and stability properties of buffalo butter oil fractions obtained by multi-step dry fractionation.** Food Chemistry, 89(2), 243-252. 2005.

Farmacopeia Brasileira, 6ª ed. Parte I. São Paulo, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária,** 2019.

FERNANDES, et al. **Comparação dos teores em vitamina C, carotenóides totais, antocianinas totais e fenólicos totais do suco tropical de goiaba nas diferentes etapas de produção e influência da armazenagem.** Alimentos e Nutrição, Araraquara, v.18, n.4, p. 431-438. 2007.

FERNANDEZ, P.; ANDRÉ, V.; RIEGER, J.; KUHNLE, A. **Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion.** Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 251, 53–58, 2004.

FERNANDEZ, et al. **Nanoemulsions formation by emulsions phase inversion.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, n. 251, p. 53-58, 2013.

FERRARI, M. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etilexila e óleo de andiroba (*Carapa guyanensis*).** 142p. Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2002.

FERREIRA, L.M.M.C. **Obtenção, caracterização e microencapsulação de extratos ricos em antioxidantes naturais a partir do co-produto das amêndoas do tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.).** 164 f Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

FIGUEIRA, L.C. **Espectroscopia vibracional (no infravermelho e Raman) e espectrofotometria de absorção uv-vis dos óleos de buriti (*Mauritia flexuosa*) e de patauá (*Oenocarpus bataua*)**. Dissertação (Mestrado) 72 f. Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Santarém, 2012.

FILHO, P. R. C. F.; JUNIOR, D. M.; DE MORAES, M. S.; SANTOS, A. R. **Propriedades Físicas de Óleos Lubrificantes Minerais e Vegetais e Avaliação de Desgastes por Four Ball**. Revista Brasileira de Energias Renováveis, v.5, p. 154- 163, 2016.

FINLAYS TEA SOLUTIONS. Dossiê antioxidantes. Rev. FIB., n. 6, p. 16-30, 2009. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>>. Acesso: 15 mar. 2018.

FONSECA, M. M.; YOSHIDA, M. I. **Análise térmica do óleo de linhaça natural e oxidado**. Vértices, v. 11, n. 1/3, 2009.

FONTANARI, et al. **Isolado proteico de semente de goiaba (*Psidium guajava*): caracterização de propriedades funcionais**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, p. 73-79. 2007.

FORMARIZ, et al. **Braz. J. Pharm. Sci.** 41, 301. 2005.

FRANKEL, E. N. **Lipid Oxidation**. Pray. Lipid Research, v. 19, p. 1-22, 1980.

FRASER, J. R. E.; LAURENTE, T. C.; LAURENT, U. B. G.; **Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover**. Journal of Internal Medicine, v. 242, p. 27-33, 2012.

FREDE, et al. **Stability and cellular uptake of lutein-loaded emulsions**. Journal of Functional Foods, 8, 118–127. 2014.

FREITAS, et al. **Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras**. Pesq. Agropec. Bras. 48 (7):714-21. 2013.

FREITAS, et al. **Topical application of Aloe vera and vitamin E on induced ulcers on the tongue of rats subjected to radiation: Clinical and histological evaluation**. Support. Care Cancer, 24, 2557–2564. 2016.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. **Análise de própolis**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.26, n.1, p.171-178, 2006.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. **Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity**. Ultrasonics Sonochemistry, 20, 338–344, 2013.

Gobbo-Neto, L.; Lopes, N. P. **Plantas Medicinais: Fatores de Influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Química Nova. 30(2): 374-381. 23. 2007.

GORDON, M.H. **Significance of dietary antioxidants for health**. Int. J. Mol. Sci. 13, 173-179. 2012.

GUILLAIMIE, F. et al. **A new sodium hyaluronate for skin moisturization and antiaging**. Cosmetics & Toiletries, v. 121, p.51-58, 2016.

GUNSTONE, F. D. **The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties and Uses**. USA: CRC Press, 2004.

GUPTA, V. K. et al. **Recent updates on free radicals scavenging flavonoids: an overview**. Asian Journal of Plant Sciences, v.9, p.108-117. 2010.

HAAG; JUNIOR; FARIA. **Manual de Cosméticos**. Universidade de Brasília. Laboratório de Tecnologia Química. 2013.

HAIDA, K. S. et al. **Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de duas variedades de Goiaba e Arruda**. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 9, n. 28. 2011.

HAIDA, et al. **Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.) Fresca e Congelada**. Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol. 9(1): 1-72, 2015.

HATAMNIA, A., A. ABBASPOUR, N., DARVISHZADEH, R. **Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits**. Food Chemistry. v.145, p.306– 311, 2014.

HILL, S.E. **A comparison of modern instruments for the analysis of the oxidation stability of fats, oils and foods**. Inform Champaign, v. 5, n. 1, p. 104-109, 1994.

HORST, M.A., MORENO, F.S. **Carotenoides**. ILSI Brasil, 6, 3-22. 2009.

HU, Q. et al. **Identification of flavonoids from *Flammulina velutipes* and its europrotective effect on pheochromocytoma-12 cells**. Food Chemistry. v. 204, p.274–282. 2016.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos**. Alimentos e Nutrição, v.19, n.1, p. 97-108, 2012.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, 2017. Disponível em:<www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em: 08 ago. de 2018.

IHA, M. S. et al. **Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, Paraíba, v. 18, n. 3, p. 387-393, 2008.

JAHN, et al. **Controlled vesicle selfassembly in microfluidic channels with hydrodynamic focusing**. Journal of the American Chemical Society, v. 126, p. 2674-2675, 2014.

JAVIDNIA, K.; PARISH, M.; KARIMI, S.; HEMMATEENEJAD, B. **Discrimination of edible oils and fats by combination of multivariate pattern recognition and FT-IR spectroscopy: A comparative study between different modeling methods**. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 104, p. 175–181, 2013.

JELASSI, A. et al. **Chemical composition and characteristic profiles of seed oils from three Tunisian *Acacia* species**. Journal of Food Composition and Analysis, v.33, p.49-54. 2014.

JUMAA, M.; KLEINEBUDDE, P.; MULLER, B. W. **Propriedades físico-químicas e efeito hemolítico de diferentes formulações de emulsão lipídica utilizando uma mistura de emulsificantes.** *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 73, 293. 1999.

JUMP, D. B. **The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids.** *The Journal of Biological Chemistry*. v.277, n.11, p.8755-8758, 2002.

KAMM, W.; DIONISI, F.; HISCENHUBER, C.; ENGEL, K. H. **Authenticity assessment of fats and oils.** *Food Reviews International*, 17(3): 249-290. 2001.

KEDE M.P.V.; SABATOVICH O. **Dermatologia Estética.** São Paulo: Atheneu, 2004.

KINSELLA, et al. **Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine.** *Lancet*. Feb 20;341(8843):454-7. 1993.

KNOTHE, G.; STEIDLEY, K. R. **Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components.** *Fuel*, 84, pp. 1059-1065, 2005.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. **Characterization of some seed oils of fruits for utilization of industrial residues.** *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

KOGAN, et al. **Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications.** *Biotechnol Lett*, v.29, n.1, p.17–25, 2007.

KONG, M.; PARK, H. J. **Stability investigation of hyaluronic acid based nanoemulsion and its potential as transdermal carrier.** *Carbohydrate Polymers*, 83, 1303–1310. 2011.

KOWALSKI, B.; KOT, B. **Thermoanalytical Investigations of Edible Oils and Fats. II. Kinetics of Thermal-Oxidative Decomposition of Soybean and Sunflower Oils,** *Acta Aliment. Pol.*, 1.5, in press. 1989.

KRETZ, F. T. A.; LIMBERGER, I. J.; AUFFARTH, G. U. **Corneal Endothelial Cell Coating During Phacoemulsification Using a New Dispersive Hyaluronic Acid Ophthalmic Viscosurgical Device.** *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, v. 40, p. 1879–1884, 2014.

KURIYAMA, et al. **Vitamin E ointment at high dose levels suppresses contact dermatitis in rats by stabilizing keratinocytes.** *Inflamm. Res.* 51, 483–489. 2002.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**, trad.: João F. Pinto e Ana Isabel Fernandez, Ed. Fundação Calouste Gulbenkian, vol. II, p. 509-1517, 2001.

LATREILLE, B.; PAQUIN, P. **Evaluation of emulsion stability by centrifugation with conductivity measurements.** *Journal of Food Science*, v. 55, n. 6, 1666-1668 p. 1990.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. **Microemulsions-based Media as Novel Drug Delivery Systems.** *Adv. Drug Del. Rev.*, v.45, p. 89-114, 2000.

LEÃO, et al. **Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos.** *Cad. Ciênc. Agra.* 2017; 9 (1): 94- 100.

LIN, T.; ZHONG, L.; SANTIAGO, J. L. **Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils.** *Int. J. Mol. Sci.*, 19(1), 70; doi:10.3390/ijms19010070. 2018.

- LUCCA, L. G. et al. **Determination of -caryophyllene skin permeation/retention from crude copaiba oil (*Copaifera multijuga Hayne*) and respective oil-based nanoemulsion using a novel HS-GC/MS method.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 104, p. 144-148, 2015.
- LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. **Composição centesimal, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos de sementes de jabolão (*Syzygium cumini* L.).** Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v.40, n.2, p.219-223. 2009.
- MACEDO, J. M. et al. **Variação sazonal nos teores de flavonoides, taninos e atividade antioxidante de *Davilla rugosa* Poir.** Revista Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada. 34(4): 585-590. 2013.
- CORREA, M. et al. **Molecular interactions of plant oil components with stratum corneum lipids correlate with clinical measures of skin barrier function.** *Exp. Dermatol.*, 23, 39–44. 2014.
- MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia.** 11ª ed. São Paulo: Roca; 2005.
- MAIA, E. L. **Material Didático Teórico.** Tecnologia do Pescado I, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
- MANICA, I. et al. **Goiaba.** (Serie Fruticultura Tropical), Porto Alegre, RS, p. 374. 2000.
- MASSON, et al. **Polyhydroxy alcohols and peach oil addition influence on liquid crystal formation and rheological behavior of o/w emulsions.** Journal of Dispersion Science and Technology, v. 26, p. 463-468, 2005.
- MARQUELE-OLIVEIRA, F.; FONSECA, Y. M.; FONSECA, M. J. V. **Desenvolvimento de formulações tópicas antioxidantes.** *Cosmetics & Toiletries (Brasil)*, vol.20. n.4, p.64-68, 2008.
- MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. **Significado nutricional de los compuestos fenolicos de la dieta.** *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Caracas, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.
- MARTÍNEZ, R. et al. **Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate.** *Food Chemistry*, v. 135, p.1520-1526, 2012.
- MARTINI, E.; FATTAL, E.; DE OLIVEIRA, M. C.; TEIXEIRA, H. **Effect of cationic lipid composition on properties of oligonucleotide/emulsion complexes: Physico-chemical and release studies.** *Int. J. Pharm.* 352, 280. 2007.
- MCCLEMENTS, D. J. **Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, difference, and similarities.** *Soft Matter*, 8, 1719–1729, 2012.
- MCCORD, J. M. **Free radicals and pro-oxidants in health and nutrition.** *Food Technology*, Champaign, v. 48, n. 3, p. 106-110, 1994.
- MEHTA, D. P.; RATHOD, H. J.; SHAH, D. P. **Microemulsions: A Potential Novel Drug Delivery System.** *Department of Pharmaceutics*, *Acta Scientifica International Journal of Pharmaceutical Science*, 1, 2015.

MELO, P. S. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais.** Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. 2010.

MELO-ESPINOSA, et al. **Emulsified fuels based on fatty acid distillates and rapeseed oil: A physicochemical characterization.** Fuel, 185, 734-742, 2016.

MEZADRI, H. **Desenvolvimento de nanoemulsões contendo extratos dos frutos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) e estudo fitoquímico destes extratos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de farmácia de Ouro Preto, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. 2010.

MILLER, H.E. **A simplified method for the evaluation of antioxidant.** J. Am. Oil Society, v.48, p. 91, 1971.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. **Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde.** Revista Eletrônica de Farmácia, vol 3(2), 109-122, 2006.

MORAES, et al. **Avaliação dos compostos bioativos presentes no resíduo de goiaba vermelha (*Psidium guajava* L.) desidratada.** XX Congresso Brasileiro de engenharia química. Florianópolis. SC. 2014.

MORAES, et al. **Ácido hialurônico dentro da área de estética e cosmética.** Saúde em Foco. pag 552-562. ed. nº 9. 2017.

MORETTO, E.; FETT, R. **Definição de óleos e Gorduras tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo. Varela, 1998.

MOU, D. et al. **Hydrogel-thickened nanoemulsion system for topical delivery of lipophilic drugs.** International Journal of Pharmaceutics, v. 353, n. 1–2, p. 270-276, 2008.

MULLER, et al. **Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products.** Advanced Drug Delivery Reviews, 59, 522–530. 2007.

MUNIZ, M. A. P. et al. **Physicochemical characterization, fatty acid composition, and thermal analysis of *Bertholletia excelsa* HBK oil.** Pharmacogn Mag. 11(41): 147–151. 2015.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Oxford, v. 41, p. 1523–1542. 2006.

NASCIMENTO, R. J. S.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. **Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.),** Alimentos e Nutrição, v. 21, n. 2, p. 209-216. 2010.

NASCIMENTO, R. J. S.; COURI, S; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P. **Composição em ácidos graxos do óleo de açaí extraído com enzimas e com hexano.** Rev. Bras. Frutic. v. 30, n. 2, 2008.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM - NTP. **Report on Carcinogens,** Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, v.14, 2016.

NEJADMANSOURI, et al. **Physicochemical properties and oxidative stability of fish oil nanoemulsions as affected by hydrophilic lipophilic balance, surfactant to oil ratio and storage temperature.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 506, 821-832, 2016.

NIELSEN, S. S. **Food Analysis.** Springer, 2010.

NISHIGORI, C. **Cellular aspects of photocarcinogenesis.** Photochem. Photobiol. Sci., 5, 208–214. 2006.

OLIVEIRA, et al. **Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos,** Química Nova, 27, 1, 2004.

OLIVEIRA, A. C. et al. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes.** Química Nova, São Paulo, v. 32, n.3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, J. S.; AGUIAR, T. A.; MEZADRI, H.; HENRIQUE, O. D. **Attainment of hydrogel-thickened nanoemulsions with tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) and retinyl palmitate.** African Journal of Biotechnology, v. 10, n. 60, p. 13014–13018, 2011.

OLIVEIRA, S. et al. **Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts.** Química Nova, v.37, p.497-503. 2014.

OLIVEIRA, K.A. **Obtenção de extratos padronizados em antioxidantes naturais: aproveitamento dos resíduos da ucuúba (*Virola surinamensis*).**77 f Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.

PADULA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of brasilian guavas (*Psidium guajava* L.).** Food Chem. v.20, p.11-19, 1986.

PACHECO, M. T. **Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão à base de óleo de sucupira (*Pterodon spp.*), avaliação de sua toxicidade e bioatividade *in vitro*.** Dissertação mestrado. Universidade federal de Goiás. Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas. 2017.

PALOMBO, P. et al. **Beneficial long-term effects of combined oral/topic antioxidant treatment with the carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study.** Skin Pharmacology and Physiology, 20(4), pp.199-210. 2007.

PARKER, et al. **Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils.** Journal of food Science, Chicago, v. 68, n. 4, p. f240–f243, 2003.

PARISH, W. E.; READ, J.; PATERSON, S. E. **Changes in basal cell mitosis and transepidermal water loss in skin cultures treated with vitamins C and E.** Exp. Dermatol. 14, 684–691. 2005.

PATZELT, et al. **In vivo investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier.** Skin Res. Technol. 18, 364–369. 2012.

PAVICIC, T. et al. **Efficacy of Cream-Based Novel.** Journal of Drugs Dermatology, 10(9), 990- 1000. 2011.

PEREIRA, F.M. **Cultura da goiabeira.** Jaboticabal, SP: Funep. p. 47.1995.

PEREIRA, et al. **Utilização de farinha obtida a partir de rejeito de batata na elaboração de biscoitos**. Publicatio UEPG. Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias, Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 19-26. 2005.

PEREIRA, A. C. S. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009.

PEREIRA, et al. **Aproveitamento dos coprodutos da agroindústria processadora de suco e polpa de frutas para alimentação de ruminantes**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 30 p. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 220). 2009.

PEREIRA, F. M.; KAVATI, R. **Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. especial, p. 092-108. 2011.

PEREIRA, R. R. **Obtenção e caracterização de sistemas líquido cristalinos contendo óleo de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.)**. Dissertação (Mestrado). Universidade federal do Pará. Programa de pós- graduação em ciências farmacêuticas. 2015.

POLONINI, H. C.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, M. A. F. **Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na prevenção do câncer de pele**. Revista APS, v.14, n.2, p.216-223, 2011.

PRASAD, N. B. L.; AZEEMODDIN, G. **Characteristics and composition of guava (*Psidium guajava* L.) seed and oil**. Journal of the American Oil Chemistry Society, Chicago, v. 71, n. 4, 1994.

PRAKASH, R.; THIAGARAJAN, P. **Nanoemulsions for drug delivery through different routes**. Res. Biotech. v. 2, p. 9, 2013.

PRESTWICH, et al. **Synthesis and biological evaluation of a cross-linked hyaluronan-mitomycin C hydrogel**. Biomacromolecules, v. 5, p. 895-902, 2004.

QUEIROZ, et al. **Desidratação por imersão-impregnação e secagem por convecção de goiaba**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1479-1486. 2007.

RAMALHO C. V.; JORGE N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. Quím. Nova. 2006; 29 (4): 755-60.

RAMARATHNAM, et al. **The contribution of plant food antioxidants to human health**. Trends Food Sci. Technol., v.6, p.75-82, 1995.

RE, R. et al. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay**. Free Radical Biology and Medicine, New York, v.26, p.1231–1237, 1999.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. **Deterioração de lipídios - Ranço**. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2010. cap. 6, p. 243-299.

RIBEIRO, E. M. G. **Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca**. Dissertação (Mestrado em Ciências

Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**, p.194. 2004.

RIBEIRO, C.J. **Cosmetologia aplicada a Dermoestética**. 1. ed. São Paulo: Pharmabook, 2006.

ROCHA E SILVA, et al. **Evaluation of acute dermal toxicity of components of nanostructured systems**. Abstracts/Toxicology Letters, n. 196S, p. S37–S351, 2010.

ROCKENBACH, et al. **Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.)**. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, III SSA, p. 23-26. 2014.

RODENBUSH, C. M.; HSIEH, F. H.; VISWANATH, D. S. **Density and viscosity of vegetable oils**. Jour Amer Oil Chem Soc, 76:1415e9. 1999.

RODRIGUES, M. C. M. et al. **Optimization of ultrasoundassisted extraction of phenolic compounds from *Myrcia amazonica* DC. (Myrtaceae) leaves**. Pharmacognosy magazine. v. 12, n. 45, p. 9-12, 2016.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.R. **A guide to carotenoid analysis in foods**. United States of America, 2001.

ROSANI, L. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade de nanoemulsões do tipo óleo em água com óleos vegetais**, UFSCar, São Paulo, Brasil, 2011.

RUFINO, M. A. S. M. et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 4p. (Comunicado técnico, 128), 2007.

RUFINO, et al. **Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil**. Food Chemistry, 121, 996–1002. 2013.

RUIVO, A. P. **Envelhecimento cutâneo: fatores influentes, ingredientes ativos e estratégias de veiculação**. Dissertação (Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto. 2014.

SAMPLE, A.; HE, Y. Y. **Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma**. Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. 2017.

SANTOS, J. C. O.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. **Effect of heating and cooling on rheological parameters of edible vegetable oils**. Journal of Food Engineering, n°. 67, pp. 401–405, 2005.

SANTOS, O. D. H. **Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética in vivo de emulsões de óleo de *Calendula officinalis* com cristal líquido**. Ribeirão Preto. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. p. 25, 2006.

SANTOS, P. S.; VIEIRA, D. A. **Avaliação da atividade antioxidante de folhas de acerola, araçá-roxo, goiaba, guabiroba, jabuticaba, ora-pronobis e pitanga**. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2010.

- SANTOS, C. X. **Caracterização físico-química e análise da composição química da semente de goiaba oriunda de resíduos agroindustriais**, Dissertação (Mestrado). Engenharia da Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2011.
- SANTOS, P. S. S. **Desenvolvimento e caracterização de microemulsões e microemulgeles contendo ibuprofeno**. Dissertação de Mestrado, FF-UP, Porto, Portugal, 2015.
- SARI, et al. **Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin**. Food Hydrocolloids, 43, 540-546. 2015.
- SCHMIDT, S.; POKORNY, J. **Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids - a review**. Czech Journal of Food Science, 23: 93-102. 2005.
- SCHWAEZ, K. et al. **Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation**. European Food Research and Technology, Berlin, v. 212, n. 3, p. 319- 328, 2001.
- SCOTTI, L. et.al. **Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêutica. vol. 43, p. 14, n. 2, 2007.
- SCHAFFAZICK et al. **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos**. Química Nova, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SHAFIQ-UN-NABI, et al. **Formulation Development and Optimization Using Nanoemulsion Technique: A Technical Note**. AAPS PharmSci Tech., 8, 2, 2007.
- SHAMES, I.H. **Mecânica dos Fluidos** – volume 1. São Paulo: Editora Edgard Blücher, p. 192, 1999.
- SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D.; *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32, 67. 1992.
- SHEBIS, et al. **Natural Antioxidants: Function and Sources**. Food Nutr. Sci. 4: 643-49. 72. 2013.
- SILVA JÚNIOR, et al. **Formação de nanoemulsão do tipo óleo em água contendo óleo de semente de romã**. Ciências Naturais e Tecnológicas, Santa Maria. V. 14, 2013.
- SILVA, M. L. C. et al. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais**. Ciências Agrárias, Londrina, v.31, n. 3, p.669- 682. 2010.
- SILVA, S.; MICHNIAK-KOHN, B.; LEONARDI, G. R. **An overview about oxidation in clinical practice of skin aging**. An. Bras. Dermatol., 92, 367–374. 2017.
- SINHA, N.; SIDHU, J.; BARTA, J.; WU, J. E CANO, M.P. **Handbook of fruits and fruit processing**. Second edition. John Wiley & Sons, Ltd. 2012.
- SIQUEIRA, J. C. **Avaliação da estabilidade de uma emulsão cosmética cold cream contendo diferentes tipos de ceras**. Centro universitário Univates. Lajeado. RS. 2016.

- SIVAKUMAR, M.; TANG, S. Y.; TAN, K. W. **Cavitation technology – A greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions**. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 2069–2083. 2014.
- SKERGET, M., et al. **Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities**. *Food Chemistry*, v.89, n.2, p.191-98. February, 2005.
- SOARES, S. E. **Revista Nutrição**. 15, 01. 2002.
- SOARES M. et al. **Compostos fenólicos e atividade antioxidante de casca de uvas Niágara e Isabel**. *Rev Bras Frutic*, 30(1):59-64. 2008.
- SOARES, T.P. **Nanocosmética à base de produtos naturais aplicada à Psoríase**. Dissertação de Mestrado, IPB, Bragança, Portugal, 2013.
- SOLANS, et al. **Adsorption and Aggregation of surfactants in solution**, New York: Marcel Dekker, v.19, p. 525, 2005.
- SOLANS, C.; SOLÉ, I. **Nano-emulsions: Formation by low-energy methods**. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17, 246–254, 2012.
- SOLÍS-FUENTES, J. A. et al. **Bioresource Technology**, v.101, p. 799-803, 2010.
- SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. **Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais**. *Braz. J. Food Technol.* vol.14 no.3, Campinas. 2011.
- SOUZA, V.B.; FERREIRA, J.R.N. **Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca L.*)**. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 31(3):217-222. 2010.
- SOUZA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; SILVA, M. J. M.; LIMA, A. **Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais**. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 3, p. 554-559. 2011.
- SOUZA, J. C.; SILVA, R. A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; MATOS, C. S. M. **Pragas da goiabeira**. *Informe Agropecuário*. Manejo de pragas de fruteiras tropicais. Belo Horizonte, v. 37, n.293, p. 63, 2016.
- STRUTZEL, E. et al. **Análise dos fatores de risco para o envelhecimento da pele: aspectos gerais e nutricionais**. *Rev Bras Nutr Clin*, v.22, n.2, p. 139-45, 2007.
- SYAHRULLAIL, S.; KAMITANI, S.; SHAKIRIN, A. **Performance of Vegetable Oil as Lubricant in Extreme Pressure Condition**. *Procedia Engineering*, 68, 172 – 177. 2014.
- TADROS, T.; KESSELL, L. **Stabilizing nanodispersions in personal care and cosmetic applications**, *Cosmetics and Toiletries*, n. 119, p. 41-46, 2014.
- TADROS, et al. **Formation and stability of nanoemulsions**. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 109, p. 303-318. 2014.
- TEIXEIRA, J.; PETRARCA, M.H.; TADIOTTI, A.C.; SYLOS, C.M. DE. **Degradação do ácido ascórbico em goiabada industrializada submetida a diferentes condições de estocagem**. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v.17, n.3, p.281-286, 2006.

TING, et al. **Common delivery systems for enhancing in vivo bioavailability and biological efficacy of nutraceuticals.** Journal of Functional Foods, 7, 112–128. 2014.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2010.

TOLEDO, A.; BURLINGAME, B. **Biodiversity and nutrition: a common path toward global food security and sustainable development.** Journal of Food Comp. and Anal. 19: 477-483. 2006.

TOMIHATA, K.; IKADA, Y. **Crosslinking of hyaluronic acid with water-soluble carbodiimide.** Journal of Biomedical Materials Research, v. 37, p. 243-251, 1997.

UCHOA, et al. **Parâmetros físico-químicos, teor de fibra bruta e alimentar de pós alimentícios obtidos de resíduos de frutas tropicais.** Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, v. 15, n. 2, p. 58-65. 2008.

UKRAINETS A. I.; PASICHNIY, V. M.; ZHELUDENKO, Y. V. **Antioxidant plant extracts in the meat processing industry.** Biotechnologia Acta. 9 (2): 19-27. 2016.

URBAN, M. C. C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação micro e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2004.

VASCONCELOS, M. A. M. et al. **Avaliação do processo de extração e caracterização do óleo e sementes de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet).** Conferência do subprograma de ciência e tecnologia - spc&t fase II/PPG7. 2008.

VASCONCELLOS R. S. **A segurança do uso de antioxidantes sintéticos em pet food.** Ver. Pet Food Brasil. 16: 16. 2011.

VERMA, A. K. et al. **Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fibre in sleep meat nuggets.** Asian-Australasia Journal of Animal Science, v. 26, n. 6, p. 886-895, jun. 2013.

VILJOEN, et al. **Penetration enhancing effects of selected natural oils utilized in topical dosage forms.** Drug Dev. Ind. Pharm. 41, 2045–2054. 2015.

WALIA, M. et al. **Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace.** Jour Sci Food Agric. Vol 94, p. 929–934, 2014.

WANG, Y. **Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity.** Food Chemistry. v. 218, p.152–158, 2017.

WOJDYLO, A.; OSZIANSKI, J.; CZEMERYYS, R. **Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs.** Food Chemistry, v.195, p.940-949. 2007.

YOUNDIM, A. K.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. **Essential fatty acids the brain: possible health implications.** Int. Journ. Dev. Neurosci. Oxford, v.18, p.383-399, 2000.

YU, H.; HUANG, Q. **Investigation of the cytotoxicity of food-grade nanoemulsions in Caco-2 cell monolayers and HepG2 cells.** Food Chemistry, 141, 29–33. 2013.

YUAN, Y.; LI, S.M.; MO, F.K; ZHONG, D.F. **Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam.** International Journal of Pharmaceutics, v. 321, p. 117-123, 2006.

ZANIN, et al. **Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) de óleos de origem vegetal.** Visão Acadêmica, v. 3, n. 1, 2002.

ZENI, D. B. **Efeitos da Temperatura na Secagem e da Umidade Relativa no Armazenamento Sobre a Qualidade de Grãos e Óleo de Canola Para Biocombustível.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Pelotas, Rio Grande do Sul, 2010.

