

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO
SECO DAS SEMENTES DE *MYRCIARIA DUBIA* (KUNTH)
MCVAUGH E DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO
SEMISSÓLIDA

JANAYNA FREITAS DE ARAÚJO LIBÓRIO

MANAUS
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

JANAYNA FREITAS DE ARAÚJO LIBÓRIO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO
SECO DAS SEMENTES DE *MYRCIARIA DUBIA* (KUNTH)
MCVAUGH E DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO
SEMISSÓLIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ádley Antonini Neves de Lima

Co-Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Cândida da Silva

MANAUS

2016

Ficha Catalográfica

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

L696c Liborio, Janayna Freitas de Araújo
Caracterização físico-química do extrato seco das sementes de
Myrciaria dubia (kunth) mcvaugh e desenvolvimento de formulação
semissólida / Janayna Freitas de Araújo Liborio. 2016
110 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Ádley Antonini Neves de Lima,
Coorientador: Cláudia Cândida Silva
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Myrciaria dubia (Camu-camu). 2. Extrato seco. 3.
Antioxidantes. 4. Ácido ascórbico. I. Lima,, Ádley Antonini Neves de
II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

JANAYNA FREITAS DE ARAÚJO LIBÓRIO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO
SECO DAS SEMENTES DE *MYRCIARIA DÚBIA* (KUNTH)
MCVAUGH E DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO
SEMISSÓLIDA

Dissertação aprovada em 29 de fevereiro de 2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ádley Antonini Neves de Lima
Orientador
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. João Vicente Braga Souza
Membro
Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas

Prof. Dr. Antônio Batista da Silva
Membro
Universidade Federal do Amazonas

**“Dedico ao meu Deus, ao meu
esposo e ao meu
pai Damião Pereira de Araújo: um
farmacêutico nato e
apaixonado pela sua profissão (*in
memoriam*)”**

AGRADECIMENTOS

À fonte de toda inteligência e sabedoria: Deus. É Ele quem renova as minhas forças a cada manhã e é o grande motivo da minha alegria! Ele é a razão de se existir!

Ao meu esposo, Anderson, meu grande amigo de todas as horas, meu incentivador, encorajador. Obrigada por sempre cuidar de mim e por sempre ser um grande exemplo de abnegação, amor e alegria!

Ao meu pai (*in memoriam*) que sempre me incentivou a estudar, sendo ele o próprio exemplo, sempre me ensinou a correr atrás dos meus objetivos e a concluir tudo o que eu começasse, independente do que acontecesse. Concluí pai!

À minha mãe, mulher de força! Obrigada mãe por me amar e me ajudar, e por ser um exemplo dedicação e amor aos filhos! Você não está só agora!

Aos meus sogros, sempre muito queridos e prestativos, não medem esforços para ajudar, muito generosos, a minha gratidão a vocês!

Aos meus irmãos, cunhados (as), sobrinhos por torcerem por mim e quererem sempre ver o meu melhor.

Aos meus amigos e irmãos na fé que sempre me apoiam, me motivam e oram por mim (Franciane Nascimento, Adriana Ramos, Jackeline Marinho, Jhossy Chaves, Mônica Viana, Priscilla Reis, Karla Sombra, meu G.O, Karla Patrícia, Felipe Araújo, Fredson Nascimento, Michel Araújo, Josivaldo Reis, todos os componentes dos meus ministérios...) O que seria de nós se não tivéssemos amigos nos momentos difíceis! Muito obrigada!

Ao meu orientador, profº Dr. Ádley Antonini Neves de Lima, por acreditar na capacidade de seus alunos expressando isso com suas palavras e atitudes, e por me orientar durante esses anos.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Cláudia Cândida da Silva por ser um exemplo de paciência e compreensão; o seu falar manso é como se uma música de conforto estivesse sendo tocada aos nossos corações.

Aos meus amigos de grupo de pesquisa, sempre disponíveis; em especial à Priscila Tobias, sempre presente e incansável em ajudar e ensinar; à Carolina Valentim que sempre presente quando solicitada.

À Karla Açussena por tanto amor e eficiência. Sua solicitude é admirável! Você é muito querida. Ao José Valente por abrir mão da atenção da sua amada esposa em prol de mim.

Ao meu amigo Fabrício Rolim, muito esforçado e prestativo. Ele é um professor nato.

À toda equipe Oligoflora que aguentaram firmes e fortes, guerreiros e guerreiras! Vocês são ótimos!

À prof.^a Dr.^a Tatiane Pereira (UFAM) por ter aberto um grande espaço no seu laboratório e permitido que pudesse realizar ali o projeto de pesquisa, Muito obrigada pela acolhida e por me fazer sentir em casa.

Ao Prof.º Dr. Emerson Lima (UFAM) por abrir as portas de seu laboratório para me receber e me auxiliar.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) por me apoiarem e por ser uma extensão da minha casa.

À CAPES pelo grande incentivo com a bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); ao Centro de Tecnologia Estratégicas do Nordeste (CETENE) e à Universidade do Estado do Amazonas (UEA) que me ajudaram bastante na elaboração desse projeto.

À todos vocês o meu muito, muito obrigada!

RESUMO

A polpa do fruto da espécie vegetal *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, popularmente conhecida como camu-camu é conhecida por seu elevado conteúdo em ácido ascórbico e estudos com a casca e as sementes têm demonstrado que estas partes vegetais também apresentam propriedades antioxidantes devido a presença de compostos fenólicos do tipo flavonoides. Sabendo-se dessa característica antioxidante presentes na casca e nas sementes de camu-camu e do não aproveitamento desses resíduos como matéria-prima; o presente trabalho tem o objetivo de verificar a viabilidade do uso do extrato seco das sementes para o desenvolvimento de uma formulação cosmética semissólida. Foram realizados ensaios para a caracterização da MPV (perda por dessecação, análise granulométrica, teor de extrativos, cinzas totais, triagem fitoquímica), para a caracterização da solução extrativa (pH, densidade, resíduo seco) e para a caracterização do extrato seco (granulometria a laser, análise S_{BET} , microscopia eletrônica de varredura (MEV), DPPH, ABTS); bem como estudos de Estabilidade preliminar e acelerada para o controle de qualidade da formulação desenvolvida. Na caracterização da MPV a perda por dessecação foi de 8,8%, em na granulometria foi classificada como sendo um pó grosso, o teor de extrativos de 27,9%, cinzas totais de 0,34%. Na triagem fitoquímica o resultado foi fortemente positivo para fenóis, heterosídeos flavônicos e taninos. A solução extrativa é ácida de pH 3,74. O extrato seco 7,5% foi classificado como sendo um pó finíssimo, com área superficial específica de 1.6448 m²/g e partículas com poros reduzidos, do tipo mesoporos. O resultado para fenóis totais de 26,93% e para flavonoides totais de 4,15%. No MEV as imagens revelaram partículas irregulares quanto ao tamanho e a forma e com forte tendência à aglomeração. A CI_{50} do DPPH foi de 16,77µg/mL e do ABTS foi de 29,77µg/mL. No desenvolvimento da formulação, 5 bases foram manipuladas e partir dessas foram testadas 15 formulações, sendo 5 aprovadas para os testes de pré-estabilidade, e das 5 formulações, 1 foi aprovada e denominada de Formulação 1 (F1) contendo 1% de extrato seco das sementes de camu-camu incorporado à base contendo 1% de manteiga de Karité, esta foi submetida aos testes de estabilidade preliminar e acelerada. A F1 apresentou um fluxo reológico não-newtoniano com comportamento pseudoplástico e tixotropia. Os resultados obtidos possibilitaram o estabelecimento dos parâmetros do controle de qualidade da MPV e do extrato seco. Desta maneira, a caracterização da MPV e de seus extratos, bem como o desenvolvimento de uma formulação cosmética semissólida contendo o extrato seco puro das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh abre o caminho para futuros estudos de desenvolvimento de fitocosméticos utilizando-se os resíduos dessa espécie, de modo sustentável, sendo o extrato das sementes o principal componente bioativo da formulação devido ao seu potencial antioxidante.

Palavras-chave: *Myrciaria dubia*, camu-camu, sementes, extrato seco, antioxidante.

ABSTRACT

The pulp of the fruit of the plant species *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, popularly known as camu-camu is known for its high content of ascorbic acid and studies with the peel and seeds have shown that these plant parts also exhibit antioxidant properties due to the presence phenolic compounds of flavonoid type. Knowing this characteristic antioxidant present in the peel and seed Camu Camu, and does not use these residues as raw material; this study aims to verify the feasibility of using the dry extract of the seeds for the development of a semi-solid cosmetic formulation. Tests were performed to characterize the plant drug (loss on drying, particle size analysis, extractive content, total ash, phytochemical screening) for the characterization of extractive solution (pH, density, dry residue) and to characterize the dry extract (particle size analysis, analysis of specific surface area, scanning electron microscopy (SEM), DPPH, ABTS); as well as studies of preliminary stability and accelerated stability for the quality control of the developed formulation. In characterizing the plant drug loss on drying was 8.8%, the particle size was classified as a coarse powder, the extractives yield was 27.9%, total ash of 0.34%. In phytochemical screening the result was strongly positive for phenols, flavonoid glycosides and tannins. The pH of the extraction solution is acidic, the was pH 3.74. The dry extract 7.5% was classified as a fine powder with specific surface area of 1.6448 m² / g and particles with reduced pores of mesoporous type. The result for total phenols of 26.93% and total flavonoid 4.15%. In the SEM images revealed irregular particles in size and shape with a strong tendency to agglomerate. The IC₅₀ of DPPH was 16,77µg / ml and ABTS was 29,77µg/ml. In the development of the formulation, 5 bases were manipulated and from these were tested 15 formulations, 5 formulations were approved for pre-stability tests, and these formulations 5, 1 has been approved and called F1 formulation containing 1% of the dry extract of camu camu seed-embedded base containing 1% shea butter, this was submitted and the preliminary and accelerated stability tests. The F1 introduced a non-Newtonian rheological flow with pseudoplastic and thixotropic behavior. The results enabled the establishment of quality control parameters of plant drug and dry extract. Thus, the characterization of plant drug and its extracts as well as the development of a semi-solid cosmetic formulation containing pure dry extract of the seeds *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh opens the way for future phytocosmetics development studies using plant residues this species in a sustainable manner, the seeds being the main bioactive component of the formulation due to its antioxidant potential.

Keywords: *Myrciaria dubia*, camu-camu, seeds, dry extract, antioxidant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fruto de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh	19
Figura 2: Fruto com semente de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth).	20
Figura 3. Histograma da determinação granulométrica da droga vegetal (sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh.	53
Figura 4: Histograma com distribuição granulométrica do extrato seco 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh.	62
Figura 5: Fotomicrografia do extrato seco 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth).	65
Figura 6: Viabilidade celular em B16F10 após exposição a extratos de sementes e casca de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh por 48 h.	68
Figura 7: Formulação FB3 P 1% de ESMD 7,5% que passou no teste de pré-estabilidade.	73
Figura 8: Gráfico com a variação de pH do Branco e da Formulação F1 no Estudo de Estabilidade Preliminar de 15 dias em 8 alternados de Gelo-Degelo- 5°C±2/45°C±2).	75
Figura 9: Comportamento reológico do Branco no tempo zero (estudo da estabilidade preliminar - ciclo gelo-degelo).	78
Figura 10: Comportamento da variação da viscosidade versus velocidade de agitação do Branco no tempo zero (estudo da estabilidade preliminar - ciclo gelo-degelo.	78
Figura 11: Comportamento reológico da Formulação 1 (F1) no tempo zero (estudo de estabilidade preliminar – ciclo gelo-degelo.	79
Figura 12: Comportamento reológico da Formulação 1 (F1) no tempo zero (estudo de estabilidade preliminar – ciclo gelo-degelo.	80
Figura 13: Diagrama de viscosidade em função da velocidade de agitação e diagrama de tensão de cisalhamento (N/m ²) em função da taxa de cisalhamento (s ⁻¹) do Branco no estudo da estabilidade preliminar.	81
Figura 14: Comportamento da variação da viscosidade versus velocidade de agitação da Formulação (F1) no Tempo 15 (término estudo da estabilidade preliminar-ciclo gelo-degelo) e o comportamento reológico da Formulação (F1) no Tempo 15	82
Figura 15. Comportamentos reológicos. : Comportamentos reológicos.	83
Figura 16: Reograma apresentando tixotropia com a histerese	84
Figura 17: Comportamento Reológico do Branco no tempo zero (A) em relação ao Branco Ambiente (B), Branco Geladeira (C) e Branco Estufa (D) no Tempo 30 no estudo da Estabilidade acelerada.	89
Figura 18: Reogramas demonstrando o comportamento Reológico da Formulação F1 no tempo zero (A) em relação a Formulação F1 Ambiente (B), Formulação F1 Geladeira (C) e Formulação F1 Estufa (D) no Tempo 30 no estudo da Estabilidade acelerada.	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das empresas que atuam no mercado de produtos de Higiene pessoal, Perfumaria e Cosméticos por região no país.	32
Tabela 2. Matérias-primas utilizadas para obtenção das bases-pilotos para incorporação do extrato seco de 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh.	47
Tabela 3. Formulações com diferentes tipos de incorporação de extrato seco 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh.	50
Tabela 4. Resultados dos testes de Perda por Dessecação, Teor de Extrativos e Cinzas Totais.	54
Tabela 5. Resultados dos ensaios de triagem fitoquímica das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh..	56
Tabela 6. Determinação do pH, densidade relativa e Resíduo Seco do extrato líquido 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh.....	58
Tabela 7. Determinação do teor de Fenóis e Flavonoides totais do extrato seco das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh.	63
Tabela 8. Atividade antioxidante do extrato de camu-camu e padrões antioxidante expressa como CI50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), mensuradas pelos métodos de varredura dos radicais DPPH e ABTS.....	64
Tabela 9. Aspecto físico das 15 formulações testadas após incorporação de ESMD 7,5%.....	71
Tabela 10. Determinação subjetiva das características organolépticas durante a Estabilidade Preliminar.....	76
Tabela 11. Descrição dos parâmetros organolépticos e físico-químicos do Branco e Formulação da Estabilidade preliminar (Ciclo Gelo-Degelo).	85
Tabela 12. pH do Branco e da Formulação F1 no estudo de estabilidade acelerada.	88
Tabela 13. Densidade relativa da Formulação F1 e do Branco no estudo de Estabilidade acelerada.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABHIPEC= Associação Brasileira da Indústria da Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

ABTS = 2,2-Azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato, sal de diamônio)

ANVISA= Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASAP= Área Superficial e Tamanho de Poros

BET = Brunauer, Emmett e Teller

BHT = Butil Hidroxi Tolueno

CETENE= Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste

DPPH = 1,1- Difenil-2-picril-hidrazil

DV = Droga Vegetal

EDTA= Ácido etilenodiaminotetracético

ESMD= Extrato seco de *Myrciaria dubia*

EMBRAPA= Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

INFARMED=Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde.

INPA= Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

ISAPS= Sociedade Internacional de Cirurgia Plástica

m = Massa

MEV= Microscopia eletrônica de varredura.

MPV = Matéria-prima Vegetal

p= peso

SBET= Área Superficial

UEA=Universidade do Estado do Amazonas

UFAM= Universidade Federal do Amazonas

USP = United States Pharmacopeia

v = Volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Gênero <i>Myrciaria</i>.....	17
2.1.1 Histórico.....	17
2.1.2 Espécie <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh	18
2.1.3 O “camu-camu”: Características gerais.....	19
2.2 Extratos vegetais	21
2.2.1 Métodos de obtenção de extratos vegetais	22
2.2.2 Tipos de extratos vegetais	22
2.2.3 Extrato seco por aspersão (<i>Spray dryer</i>)	23
2.3 Formulações semissólidas: Emulsão.....	24
2.4 Produtos naturais versus cosméticos	27
2.5 Controle de Qualidade de formulações cosméticas.....	29
2.5.1 Estudos de Estabilidade	29
2.6 O mercado cosmético	31
3 OBJETIVOS.....	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Material.....	35
4.2 Caracterização da Droga Vegetal.....	35
4.2.1 Análise Granulométrica por Tamisação.....	35
4.2.2 Determinação da Perda por Dessecação.....	35
4.2.3 Teor de Extrativos.....	36
4.2.4 Cinzas Totais.....	36
4.2.5 Ensaio Fitoquímico	37
4.2.5.1 Pesquisa de alcalóides	37
4.2.5.2 Pesquisa de ácidos orgânicos	38
4.2.5.3 Pesquisa de fenóis	38
4.2.5.4 Pesquisa de flavonoides	38
4.2.5.5 Pesquisa de triterpenos e/ou esteroides	38
4.2.5.6 Pesquisa de heterosídeos antociânicos	39
4.2.5.7 Pesquisa de taninos	39
4.2.5.8 Pesquisa de aminogrupos	39
4.2.5.9 Pesquisa de ácidos voláteis	40

4.2.5.10 Pesquisa de ácidos fixos.....	40
4.3 Obtenção da Solução Extrativa.....	40
4.4 Caracterização da solução extrativa.....	41
4.4.1 Determinação do valor do pH para a solução extrativa	41
4.4.2 Determinação da Densidade Relativa para a solução extrativa.....	41
4.4.3 Determinação do Resíduo Seco para a solução extrativa.....	41
4.5 Obtenção do extrato seco por aspersão.....	42
4.6 Caracterização do Extrato seco por aspersão	42
4.6.1 Área Superficial Específica e Diâmetro dos Poros	42
4.6.2 Análise de distribuição de tamanho de partícula por espalhamento de luz.....	42
4.6.3 Determinação da Umidade Residual (Resíduo seco)	43
4.6.4 Determinação do teor de fenóis totais	43
4.6.5 Determinação do teor de flavonoides totais	44
4.6.6 Atividade sequestrante do radical DPPH	45
4.6.7 Ensaio de varredura do radical ABTS.....	45
4.6.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	45
4.6.9 Avaliação da citotoxicidade do extrato seco 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dúbia</i> (Kunth) Mc Vaugh.....	46
4.7 Desenvolvimento das Formulações.....	47
4.7.1 Desenvolvimento das Bases Semissólidas	47
4.7.2 Incorporação do extrato seco de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh aos cremes	49
4.7.3 Estudo de pré-estabilidade	50
4.7.4 Estudo de Estabilidade Preliminar	50
4.7.5 Estudo de Estabilidade Acelerada.....	51
4.7.6 Parâmetros avaliados no Estudo de Estabilidade	51
4.7.6.1 Determinação do pH	51
4.7.6.2 Determinação da densidade relativa.....	52
4.7.6.3 Determinação da viscosidade aparente e comportamento reológico.....	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5.1 Caracterização da matéria-prima vegetal.....	53
5.1.1 Análise granulométrica por tamisação	53
5.1.2 Perda por Dessecação, Teor de Extrativos e Cinzas Totais	54
5.1.3 Ensaio de Triagem Fitoquímica.....	55
5.1.4 Obtenção de Solução Extrativa	57
5.2 Caracterização da solução extrativa 7,5%.....	58
5.2.1 Determinação do valor do pH, Densidade relativa e Resíduo seco.....	58
5.3 Caracterização do extrato seco por aspersão	60

5.3.1 Área superficial específica e diâmetro dos poros (S_{BET})	60
5.3.2 Granulometria a laser	61
5.3.3 Determinação da Umidade Residual	62
5.3.4 Determinação do Teor de fenóis e flavonoides totais	63
5.3.5 Determinação da Atividade Antioxidante: DPPH e ABTS.....	63
5.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	65
5.3.7 Avaliação da Citotoxicidade do Extrato seco das sementes.....	67
5.4 Desenvolvimento das formulações	69
5.4.1 Desenvolvimento das bases e incorporação do extrato seco.....	69
5.4.2 Estabilidade Preliminar	74
5.4.3 Estabilidade Acelerada.....	86
6 CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

1 INTRODUÇÃO

A espécie vegetal *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh popularmente conhecida como camu-camu apresenta propriedades antioxidantes atribuídas, principalmente, ao seu elevado teor em ácido ascórbico presentes na polpa do fruto. A indústria farmacêutica tem obtido o extrato seco da polpa com a finalidade de incorporá-lo em diversas formulações fitoterápicas (ALVES, 2002; FUJITA, 2015).

Do camu-camu, a parte mais aproveitada, até o momento, é a polpa, sendo a casca e as sementes dos frutos, descartadas. No entanto, estas partes vegetais também apresentam propriedades antioxidantes decorrentes não apenas da presença da vitamina C, mas também de constituintes fenólicos, como flavonas, flavonoides, ácido elágico, antocianinas (CHIRINOS *et al.*, 2010; FUJITA, 2015).

O extrato líquido de camu-camu obtido a partir das sementes do fruto apresentou uma elevada concentração de compostos fenólicos, principalmente ácido elágico e elagitaninos. As proantocianidinas foram encontradas tanto nas sementes quanto na casca dos frutos (CHIRINOS *et al.*, 2010; FRACASSETTI *et al.*, 2013).

A ausência de mais estudos relacionados à casca e as sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh faz com que estas partes vegetais sejam tidas como resíduo orgânico e, portanto, não aproveitadas pela indústria, como matéria-prima para o desenvolvimento de novos produtos

Desta forma, este estudo traz consigo o interesse de se aproveitar, de modo sustentável, as sementes dessa espécie vegetal a fim de que esse resíduo seja utilizado como matéria-prima para o desenvolvimento de uma formulação cosmética semissólida. Como para qualquer outra formulação, isso requer um amplo conhecimento sobre as

propriedades físico-químicas do princípio ativo e dos excipientes empregados no processo de fabricação (AULTON, 2005; RUFINO, 2010; YUYAMA, 2003).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Gênero *Myrciaria*

2.1.1 Histórico

A família Myrtaceae destaca-se como sendo uma das famílias com maior riqueza de espécies na maioria das formações vegetais do Brasil compreendendo cerca de 100 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos que estão distribuídos por todos os continentes, sendo predominante em regiões tropicais e subtropicais do globo (ROMAGNOLO & SOUZA, 2004; BARROSO, 1991; MARCHIORI & SOBRAL, 1997).

A família Myrtaceae é representada por vegetais importantes dentre os quais estão: os que dão frutos comestíveis, como *Psidium guajava* (goiabeira), *Eugenia jambosa* (jamboeira) e *Bertholletia excelsa* (castanheira-do-Pará); os que são aromáticos como, por exemplo, o *Syzygium aromaticum* (craveiro-da-Índia), *Myrtus communis* (murta) e *Melaleuca leucadendron* (cajeputo); bem como os que oferecem madeira de qualidade, como, por exemplo, *Couratari legalis* (jequitibá-rosa) e *C. estrellensis* (jequitibá-vermelho) (MAEDA & ANDRADE, 2003).

Os membros desta família são conhecidos devido ao grande potencial tecnológico de suas espécies nativas e de seus frutos tendo a possibilidade de industrialização. Os frutos pertencentes a esta família possuem um sabor agradável e proporcionam um considerável rendimento em polpa com atividade antioxidante (CAMLOFSKI, 2008).

Myrciaria é um gênero botânico pertencente à família Myrtaceae. Este gênero é formado por aproximadamente 99 espécies conhecidas, das quais 21 são nativas do Brasil.

Vários estudos têm demonstrado que os frutos do gênero *Myrciaria* apresentam atividade antioxidante e um significativo conteúdo de antocianinas (IPNI, 2012; BORGES *et al.*, 2014).

As espécies pertencentes ao gênero *Myrciaria* estão distribuídas em diversos biomas brasileiros entre eles: a Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e os Pampas (IPNI, 2012). As espécies desse gênero são amplamente utilizadas na medicina popular, geralmente, em distúrbios gastrointestinais, estados hemorrágicos e doenças infecciosas, podendo sua ação estar relacionada às suas propriedades adstringentes (CRUZ e KAPLAN, 2004).

A classificação taxonômica para várias espécies da família Myrtaceae, gênero *Myrciaria* é controverso, isto interfere na intensificação de pesquisas e estudos taxonômicos. Com a finalidade de abordar esta questão, muitos autores identificam as espécies do gênero *Myrciaria* através de comparações com espécimes de herbário, revisões de literatura e análise com o uso de marcadores moleculares (BORGES *et al.*, 2014).

2.1.2 Espécie *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh

A Amazônia apresenta um dos maiores índices de biodiversidade do mundo, no qual estão incluídas espécies vegetais com grande potencial econômico (YUYAMA, 2011). A espécie *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh se distribui por grande parte da Amazônia brasileira, entre os estados do Pará, Amapá, Amazonas, Rondônia, Roraima e Mato Grosso, sendo também encontrada na Amazônia peruana e na Amazônia venezuelana (PINEDO *et al.*, 2004, IMAN *et al.*, 2011).

No Brasil, em áreas de ocorrência natural, a espécie é conhecida por diversos nomes vernáculos: araçá, araçarana, araçazinho, araçá-d'água, araçá-do-lago, caçari, murta, sarão e

socoró, entretanto, a maioria das referências sobre *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh adotou a denominação que a espécie recebe no Peru, isto é, camu-camu (VILLACHICA, 1996; ZANATTA & MERCADANTE, 2007).

2.1.3 O “camu-camu”: Características gerais

O “camu-camu” é um fruto proveniente de um arbusto que é encontrado às margens inundáveis dos rios e lagos da Bacia Amazônica (CHAGAS *et al.*, 2012). O arbusto mede até 3m de altura, com galhos glabros, folhas lanceoladas ou elípticas, com ápice agudo, base cuneiforme, feixe de nervura central, inflorescências axilares. (PINEDO *et al.*, 2004).

“O fruto” é uma baga esférica de superfície lisa e brilhante, de cor vermelho-arroxeadada, com dois a quatro centímetros de diâmetro, contendo de uma a quatro sementes, como apresentando nas Figuras 1 e 2. O fruto é muito apreciado para a confecção de sorvetes, sucos e licores, apresentando um grande potencial econômico (VILLACHICA, 1996).



Figura 1: Fruto de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh
FONTE: <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/987001/camu-camu>.

O camu-camu, se comparado com outros frutos tropicais, é o que apresenta o mais elevado teor de ácido ascórbico (TORRES *et al.*, 2012, VÁSQUEZ, 2000, RUFINO, 2011).

Esta característica faz com que exista um mercado promissor para este fruto no país e no exterior (TAYLOR, 1988, FERREIRA & GENTIL, 1997, ROJAS *et al.*, 2011).

A “polpa” do fruto é de cor esbranquiçada e com elevado conteúdo em ácido ascórbico. Além disso, “a polpa” do camu-camu destaca-se também por conter considerável concentração de potássio e cálcio (YUYAMA *et al.*, 2003). Enquanto que “a casca” possui antocianinas, vitamina A e carotenóides (ZANATTA & MERCADANTE, 2007).



Figura 2: Fruto com semente de *Myrciaria dubia* (Kunth).

FONTE: <http://www1.folha.uol.com.br/comida/2015/04/1616663-guia-reune-196-ingredientes-brasileiros-e-receitas-de-pratos-tipicos.shtml>

Os frutos de camu-camu apresentam também uma composição fenólica e dentre os compostos fenólicos presentes no fruto estão: as famílias fenólicas flavan-3ol (catequina e seus derivados), flavonoides (rutina e seus derivados), flavononas (naringerina e derivados eriodictiol) e derivados de ácido elágico (CHIRINOS, *et al.*, 2010).

Análises dos “resíduos frescos” de camu-camu indicaram a presença de ácido elágico e elagitaninos, principalmente nas “sementes”, enquanto que as proantocianidinas estavam presentes tanto nas “sementes quanto na casca” (FRACASSETTI *et al.*, 2013).

Sendo assim, o potencial antioxidante do fruto de camu-camu não está relacionado apenas ao seu conteúdo em ácido ascórbico, mas também a presença de compostos fenólicos em sua casca e sementes (CHIRINOS, *et al.*, 2010).

2.2 Extratos vegetais

Os ativos de origem vegetal devem apresentar disponibilidade, isto é, devem estar disponíveis em função de sua incorporação no veículo/excipientes. Logo, esses ativos devem apresentar uma ação, seja em função de sua permeação cutânea, proteção à pele ou mesmo por permanecer na superfície da pele (SOUZA *et al.*, 2011).

A natureza dos ativos cosméticos de origem vegetal pode ser hidrossolúvel, tais como os extratos vegetais e lipossolúvel, que são os óleos vegetais. Os extratos vegetais podem ser obtidos à frio ou à quente, a partir das diversas partes das plantas secas (flores, folhas, caules, raízes) e utilizando-se vários líquidos extratores, como por exemplo: álcool, água, glicóis e misturas entre eles que tenham compatibilidade com a formulação (SOUZA *et al.*, 2011).

Em formulações cosméticas, a concentração de extratos vegetais que são usualmente empregadas varia em torno de 0,1 a 5%, podendo atingir de 15 a 20% para preparações cujo tempo de aplicação é muito curto (por exemplo, máscaras faciais que são aplicadas e removidas num intervalo de tempo que varia de 20 a 30 minutos). (SOUZA *et al.*, 2011).

A concentração escolhida deve levar também em consideração a natureza do líquido extrator, bem como a sua compatibilidade com a pele e com a formulação. Em se tratando de óleos vegetais, estes geralmente são incorporados na concentração de 0,1 a 8% na fase oleosa da preparação ou em formulações de natureza aquosa que apresentarem hidrossolubilidade, por reações com óxidos de etileno (SOUZA *et al.*, 2011).

2.2.1 Métodos de obtenção de extratos vegetais

Os extratos vegetais podem ser obtidos por maceração, digestão, infusão, decocção, extração com ultrassom, percolação, extração com soxhlet, extração por fluido supercrítico. Esses tipos de extração originam extratos totais ou parciais, isto é, extratos parciais são àqueles preparados a partir da planta integral e os parciais são àqueles produzidos pela separação seletiva de determinado constituinte ou faixa de constituintes por meio físico ou químico utilizando-se um ou mais órgãos da planta (SOUZA *et al.*, 2011).

2.2.2 Tipos de extratos vegetais

Os extratos são as mais simples e tradicionais formas de derivados de plantas medicinais e que podem ser utilizados no desenvolvimento de medicamentos e cosméticos. Os extratos vegetais podem ser líquidos, sólidos ou intermediários, no que se refere a consistências dos mesmos, sendo, portanto, classificados em extratos fluidos, extratos moles e extratos secos (DE SOUZA & SOARES, 2011)

Os “extratos fluidos” são preparações líquidas que são normalmente obtidos utilizando-se misturas hidroalcoólicas como solvente, ou por dissolução de extrato seco ou diluição de um extrato concentrado e padronizados em termos de concentração do solvente, do teor dos constituintes ou do resíduo seco. Para cada mililitro do extrato contém os constituintes ativos correspondentes a 1g da droga vegetal (DE SOUZA & SOARES, 2011)

Os “extratos moles” são preparações viscosas ou de consistência pastosa obtidos por evaporação parcial do solvente utilizado na sua preparação, podendo ser ou não adicionados de adjuvantes. Já os “extratos secos” são preparações sólidas obtidas pela eliminação total do solvente, utilizando-se uma operação de secagem. Podem ser

adicionados adjuvantes, conforme a necessidade. O extrato seco deve apresentar uma umidade residual máxima de 5% (DE SOUZA & SOARES, 2011).

As principais técnicas de secagem utilizadas para a obtenção de extratos secos vegetais são: cintos de secagem à vácuo, cilindros de secagem, secagem por aspersão, liofilização, leite fluidizado (DE SOUZA & SOARES, 2011).

Desta forma, para se obter extratos secos, a técnica e as condições de secagem devem ser estabelecidas de acordo com a constituição química do material que se pretende secar, bem como, com as características que se desejam ao produto acabado (PALMA *et al.*, 1990, DE SOUZA *et al.*, 2000)

Portanto, a seleção adequada do equipamento e parâmetros de secagem, bem como a prévia incorporação de adjuvantes farmacêuticos, com alto poder de sorção, à matéria-prima vegetal líquida são algumas das medidas que podem melhorar as características tecnológicas dos produtos secos obtidos (PALMA *et al.*, 1990, DE SOUZA *et al.*, 2000).

2.2.3 Extrato seco por aspersão (*Spray dryer*)

O extrato seco é uma preparação sólida que é obtida pela evaporação do solvente utilizado na sua preparação, apresentam no mínimo 95% de resíduo seco, calculado como percentagem de massa. O processo de secagem por aspersão envolve a formação de gotículas a partir de soluções, suspensões ou emulsões, que são imediatamente transformadas em um produto seco (pó) através da ação do ar quente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; ARARUNA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012).

Os produtos obtidos por *spray dryer*, em geral, são solúveis e concentrados. O processo envolve a extração primária da planta com solventes apropriados, como soluções

de etanol-água em diferentes proporções. O extrato bruto é então concentrado e seco por aspersão a temperaturas que variam entre 100-200°C (SILVA *et al.*, 2012).

Esse tipo de secagem é muito utilizada nas empresas químicas, alimentícias, bioquímicas e farmacêuticas, sendo considerado um dos mais importantes processos para a indústria farmacêutica, especialmente por causa de algumas vantagens apresentadas pelo presente sistema, uma das vantagens desse processo é que a secagem acontece em condições assépticas, evitando possíveis contaminações durante o processamento (SILVA *et al.*, 2012; ARARUNA *et al.*, 2012, DE SOUZA & SOARES, 2011).

Os extratos secos se destacam em comparação aos extratos líquidos por ter uma manipulação mais simples, conferindo a forma final uma melhor garantia da dose empregada devido a homogeneidade e distribuição dos constituintes da preparação (DE SOUZA & SOARES, 2011).

Enfim, para as finalidades industriais o extrato seco apresenta várias vantagens em relação às formas líquidas: extrato seco tem alta estabilidade química, são facilmente manuseáveis, padronizáveis, transportáveis e armazenados (COUTO *et al.*, 2012).

2.3 Formulações semissólidas: Emulsão

As formas farmacêuticas semissólidas incluem as pomadas, pastas, emulsões cremosas, géis, unguentos. Essas formulações são geralmente desenvolvidas para exercer uma ação local, quando aplicadas sobre a pele ou membrana mucosa (IDSON & LAZARUS, 2001; FERREIRA, 2008).

Os semissólidos apresentam como propriedade comum a capacidade de adesão à superfície de aplicação por um período de tempo razoável antes de serem removidos. Esta adesão se deve ao comportamento reológico plástico que permite aos mesmos manter a sua forma e aderir como um filme até a aplicação de uma força externa que os façam deformar e fluir (IDSON & LAZARUS, 2001; FERREIRA, 2008).

A emulsão é um sistema que consiste em duas fases líquidas imiscíveis (oleosa e aquosa) na qual uma das fases se encontra dispersa no meio de outra fase, na forma de finas gotículas. Um terceiro componente, o agente emulsificante, é necessário para estabilizar as emulsões (ATTWOOD, 2005).

Só haverá uma emulsão quando um líquido estiver dividido em pequenos glóbulos no seio de um outro líquido (PRISTA *et al.*, 2003). A fase que se apresenta dividida constitui a fase interna (dispersa ou descontínua), já o líquido que rodeia as gotículas da fase dispersa recebe o nome de fase externa (contínua ou dispersante) (PRISTA *et al.*, 2003).

As emulsões podem ser de dois tipos:

- Óleo em água (O/A): A fase interna é a fase oleosa e a fase externa é a fase aquosa. Nesse tipo de emulsão as gotículas de óleo estão dispersas na fase aquosa. A maioria das emulsões cosméticas são O/A, pois permitem um melhor espalhamento sobre a pele, evitando a oleosidade excessiva, e aumentando, desta maneira, a adesão à terapêutica (AULTON, 2005).
Essas preparações são usadas para aplicação tópica de fármacos hidrofílicos, visando, principalmente, um efeito local (AULTON, 2005).
Elas não possuem o aspecto gorduroso associado a substâncias oleosas e, por esta razão, são agradáveis ao uso e facilmente removidas da superfície da pele (AULTON, 2005).
As emulsões O/A são menos eficientes para limpar a pele, mas em geral são mais aceitas pelo consumidor, em especial para uso sobre as mãos. (AULTON, 2005)

- Água em óleo (A/O): Este tipo de emulsões é desejável quando se tem o objetivo de composições com características mais oleosas. Nesse tipo de emulsão a água encontra-se dispersa em óleo.

Quando se fala em emulsões do tipo A/O convém deixar bem claro que nesta linguagem considera-se “óleo” praticamente todos os líquidos hidrofóbicos não polares e “água” os líquidos hidrofílicos altamente polares (AULTON, 2005).

Esses tipos de emulsões possuem um efeito oclusivo, com hidratação das camadas superficiais do estrato córneo e inibição da evaporação das secreções écrinas, podendo isso, por sua vez, afetar a velocidade de absorção de fármacos a partir dessas preparações (AULTON, 2005).

- Observação: também é possível se formar emulsões múltiplas ou complexas, como por exemplo: emulsão água-óleo-água (A/O/A), nessas emulsões, as gotas de óleos que estão dispersas em água são grandes e capazes de abrigar em seu interior gotículas de água. Já na emulsão óleo-água-óleo (O/A/O), acontece o inverso (AULTON, 2005; LACHMAN, LIEBERMAN, KANIG, 2001).

As emulsões podem ser tanto para uso interno quanto para uso externo. As de uso interno podem ser administradas por via oral ou intravenosa, e com menos frequência se utilizam emulsões O/A ou A/O por via intramuscular. As de uso externo constituem uma das formas mais usadas em dermatologia e elas podem ser do tipo O/A e do tipo A/O, tornando-se possível a preparação de fórmulas de consistência muito variável (PRISTA, *et al.*, 2003).

Existem vários métodos simples para distinguir emulsões O/A e A/O, entre os mais comuns, têm-se: Testes de miscibilidade em água ou em óleo (ensaio de diluição),

medidas de condutividade (ensaio de condutividade elétrica), testes de coloração (ensaio com corantes) (AULTON, 2005; PRISTA *et al.*, 2003).

Emulsões contendo emulsionantes não-iônicos são amplamente empregadas em formulações cosméticas devido às suas características e propriedades, como, por exemplo, compatibilidade do pH cutâneo, estabilidade frente a diferentes valores de pH e possibilidade de incorporações de diferentes substâncias ativas (MILAN *et al.*, 2007).

2.4 Produtos naturais *versus* cosméticos

Nas últimas décadas, tem-se observado uma mudança de valores na sociedade contemporânea no que se refere aos conceitos de saúde e estética, bem-estar e qualidade de vida. A beleza, a juventude e a aparência saudável tem sido cada vez mais ligada ao uso de produtos com “ingredientes” da natureza em suas formulações (MIGUEL, 2011).

O interesse em produtos sob o rótulo de “naturais” tem se expandido significativamente. Na Europa, por exemplo, tem surgido um mercado cada vez mais adepto das campanhas do chamado “consumo verde”, isto é, dos produtos cujas formulações contém ativos naturais (MIGUEL, 2011).

Dentro de um dos ramos da Cosmetologia, a que trata do estudo e da utilização de substâncias de origem vegetal que são empregadas para a manutenção e/ou promoção da beleza da pele, surgiu uma terminologia específica chamada Fitocosmética. “*Phyton*”, vem do grego “planta” e “*Kosmein*”, do grego “cosméticos”; deste modo, temos os “fitocosméticos”, os quais tem tido uma procura cada vez maior pelos consumidores que estão na busca do que é “natural” (SOUZA *et. al.*, 2011).

A Fitocosmética pode ser definida como sendo um segmento da ciência cosmética que vai se dedicar ao estudo e à aplicação dos conhecimentos da ação dos princípios ativos extraídos de espécies do reino vegetal, em proveito da higiene, da estética, da correção e da manutenção de um estado normal (eudérmico) da pele (VALFRÉ, 1990).

Os cosméticos tidos como “naturais” podem ser entendidos como sendo aqueles produtos que não contenham em sua formulação substâncias resultantes da síntese química, mesmo que contenham conservantes sintéticos. Sendo assim, o “cosmético natural” seria aquele produto que contém, como ativos, um extrato ou um óleo vegetal (SOUZA *et. al.*, 2011).

Tendo em vista essa tendência de mercado, a indústria cosmética tem buscado nos produtos naturais uma alternativa aos produtos sintéticos e de origem animal; sendo àqueles elegidos como essenciais no desenvolvimento de novos produtos com atividade antioxidante que possam prevenir, proteger e recuperar a pele (SILVA, *et al.*, 2013; MIGUEL, 2011).

Quando se trata de produtos para serem utilizados sobre a pele, a busca por produtos cosméticos com uma formulação de qualidade tem sido muito grande. As formulações semissólidas que contenham extratos naturais são as preferidas quando se trata de uso tópico (GUARATINI *et al.*, 2009; PINTO *et al.*, 2012). Dentre as formulações cosméticas mais comuns disponíveis no mercado destinada ao cuidado com a pele estão as emulsões (EPSTEIN, 2009).

A capacidade de veiculação de princípios ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis, a diminuição da irritabilidade dérmica de certos fármacos e a boa aceitação por parte dos pacientes são algumas das características que tem aumentado à utilização desse tipo de forma farmacêutica (MENDONÇA *et al.*, 2009; RIEGER, 2001; MILAN *et al.*, 2007).

Já no que se refere as matérias-primas com maior potencial econômico para o desenvolvimento de produtos naturais na indústria cosmética, estão em destaque os diferentes tipos e frações de plantas medicinais e extratos vegetais; provenientes da flora tropical (MIGUEL, 2011).

2.5 Controle de Qualidade de formulações cosméticas

2.5.1 Estudos de Estabilidade

Um dos métodos mais eficazes para avaliar, prever e prevenir problemas relacionados à qualidade de um produto é a monitorização da estabilidade. (CARVALHO *et al*, 2005; NÓBREGA *et al*, 2006). A segurança e a eficácia de um fármaco também podem ser avaliadas através do monitoramento da formação de produtos de degradação que podem levar a perda da atividade terapêutica ou à toxicidade (CARVALHO *et al*, 2005; NÓBREGA *et al*, 2006).

O estudo da estabilidade das formulações tem por finalidade avaliar o comportamento do fármaco em função do tempo, bem como a influência de uma variedade de condições e fatores levando em consideração tanto o fármaco, quanto a mistura dos excipientes utilizados, bem como a interação entre ambos, frente às condições em que estão submetidos (BRASIL, 2005; MAMED *et al.*, 2006).

Para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica estável se faz necessário um estudo para se conhecer as propriedades físico-químicas dos ativos, excipientes e suas combinações. Este estudo para cada formulação é chamado de estudos de pré-formulação. (MAMEDE *et al.*, 2006)

Os estudos de pré-formulação incluem a estabilidade do fármaco isolado em seu estado sólido e a sua estabilidade na presença dos excipientes. Estas etapas são realizadas para reduzir ou prevenir a ocorrência de deterioração devido à hidrólise, à oxidação, dentre outros processos (BRASIL, 2005; MAMED *et al.*, 2006).

Para o desenvolvimento de um fármaco ou formulação cosmética o estudo da estabilidade é um fator determinante uma vez que as alterações físicas, químicas, físico-

químicas e microbiológicas que podem ocorrer desde a fabricação até o fim da sua data de validade podem ser previamente estabelecidas. Para se verificar tais alterações pode-se determinar o valor do pH, viscosidade, densidade, condutividade elétrica, umidade, tamanho da partícula, entre outros (BRASIL, 2004).

Apesar de não existir no Brasil um protocolo que padronize os ensaios de determinação da estabilidade a serem realizados nos produtos cosméticos, no meio acadêmico, inúmeros estudos para a determinação da estabilidade de matérias-primas específicas já têm sido realizados (ISAAC *et al.*, 2008).

No entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou um Guia de estabilidade que sugere os testes de estabilidade, sendo estes: testes de pré-estabilidade (centrifugação), testes preliminares (ou de triagem, ou ainda de curto prazo) tendo duração de aproximadamente 15 dias e os testes de estabilidade acelerada ou exploratória que têm duração de até 90 dias. (BRASIL, 2004).

No teste de estabilidade preliminar os parâmetros para serem analisados para cada amostra são: aspecto, cor, odor, pH, viscosidade, densidade, condutividade elétrica e devem ser apresentados como a média aritmética dos valores obtidos dos testes realizados em triplicata. (BRASIL, 2004).

Além destes, recomenda-se realizar o teste de prateleira, também denominado de teste de longa duração ou *shelf-life*. Nesse teste, a amostra acondicionada em embalagem apropriada e mantida em temperatura ambiente deverá ser analisada periodicamente, até o término do prazo de validade, em relação aos vários parâmetros de acordo com a forma cosmética em estudo (DE SOUZA & SOARES, 2011).

Desta forma, os testes de estabilidade dirigem o desenvolvimento de formulações cosméticas uma vez que fornecem informações que levam a melhorias na preparação

além de manifestar se há caso de instabilidade e / ou de incompatibilidade entre os ingredientes da formulação (BRASIL, 2004; NISHIKAWA *et al.*, 2007; BABY *et al.*, 2008).

2.6 O mercado cosmético

Os cuidados com a beleza, isto é, com o corpo e com o rosto, nunca saem de moda. Uma roupa, um sapato, ou quaisquer outros adereços entram e saem do mercado de acordo com a conveniência dos estilistas. No entanto, o “se cuidar” não fica ultrapassado, ao contrário; homens e mulheres estão cada vez mais preocupados com a pele, com os cabelos, com as unhas; enfim, com tudo que envolve à estética facial/corporal e que possam torná-los mais belos perante o espelho.

A vaidade do ser humano não é algo novo, ela sempre existiu e tornou-se um tempero que dá sabor à definição dos padrões estéticos. Uma boa alimentação, a atividade física e os devidos cuidados com o rosto e com o corpo, conferem a cada indivíduo um padrão de beleza que independe da roupa e do sapato pertencer à “coleção de verão” ou de “inverno”. Sendo assim, os produtos cosméticos, os equipamentos e procedimentos voltados à beleza sempre estarão em alta, sendo um mercado crescente e promissor que servem de combustível à indústria da beleza.

De acordo com a pesquisa realizada em 2013, pela Sociedade Internacional de Cirurgia Plástica (ISAPS), o Brasil ocupou uma posição de destaque dentre as 23 milhões de cirurgias plásticas realizadas ao redor do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos que lidera o *ranking* no que se refere a procedimentos estéticos cirúrgicos e não-cirúrgicos.

Ainda dentro desta mesma pesquisa, a ISAPS afirma que dentre os procedimentos estéticos não-cirúrgicos mais populares mundialmente estão: a aplicação de toxina

botulínica, preenchimento cutâneo, remoção de pêlos a laser, rejuvenescimento facial não-invasivo e *peelings* químicos.

Não é apenas no campo das cirurgias plásticas que o Brasil está entre os primeiros colocados. Conforme dados do Euromonitor (2014), o Brasil ocupa a terceira posição em relação ao mercado mundial de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China. Atualmente existem no Brasil 2.540 empresas atuando no mercado de produtos de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2015).

Dentre as 2.540 empresas, 20 delas, de grande porte, apresentam um faturamento líquido de impostos acima de 100 milhões, representando 73% do faturamento total. As empresas deste setor estão distribuídas por região/estado da seguinte maneira:

ESTADOS	Nº DE EMPRESAS	TOTAL DE EMPRESAS POR REGIÃO
ES	34	
RJ	234	REGIÃO SUDESTE
SP	1.058	1.553
PR	214	
RS	188	REGIÃO SUL
SC	96	498
AL	09	
BA	71	
CE	57	
MA	10	REGIÃO NORDESTE
PB	13	262
PE	68	
PI	11	
RN	13	
SE	10	
DF	17	
GO	144	REGIÃO CENTRO-OESTE
MS	03	179
MT	15	
AC	03	
AM	16	
AP	01	REGIÃO NORTE
PA	13	48
RO	09	
RR	0	
TO	06	

Tabela 1. Distribuição das empresas que atuam no mercado de produtos de Higiene pessoal, Perfumaria e Cosméticos por região no país.

Diversos são os fatores que têm contribuído para o crescimento do setor cosmético, dentre os quais estão: o acesso das classes D e E aos produtos do setor devido ao aumento da renda, o consumo de produtos com maior valor agregado pelos integrantes da classe C, bem como o aumento da expectativa de vida que traz consigo uma necessidade de se conservar uma impressão de juventude (ABIHPEC, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterização físico-química das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh e aproveitamento como matéria-prima vegetal para a obtenção de extrato seco visando o desenvolvimento de uma formulação cosmética semissólida.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar físico-quimicamente a droga vegetal;
- Obter e caracterizar físico-quimicamente o extrato seco por aspensão proveniente das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.
- Desenvolver emulsões semissólidas e incorporar o extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh avaliando a pré-estabilidade a fim de selecionar a formulação;
- Realizar estudo de estabilidade preliminar da formulação selecionada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Os frutos de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh foram obtidos do cultivo da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária (Embrapa), estrada AM 010, Km 29, Manaus-Itacoatiara. A coleta foi realizada pelos mateiros da Embrapa sob orientação do Dr. Francisco Célio Maia Chaves, engenheiro agrônomo e pesquisador da Embrapa. A exsicata está depositada no herbário do INPA sob nº 168782. As sementes foram separadas da casca e da polpa dos frutos e submetidas à secagem em estufa de circulação de ar forçado à 40°C durante 5 dias e depois foram trituradas em moinho de facas. A droga vegetal foi acondicionada em recipientes opacos e à temperatura ambiente.

4.2 Caracterização da Droga Vegetal

4.2.1 Análise Granulométrica por Tamisação

Conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição. (2010), cerca de 25g da DV foram submetidos à passagem através de tamises com abertura de malha de 2,00; 1,00; 0,850; 0,710; 0,600; 0,500; 0,425; 0,355, 0,250 e mais o coletor. A tamisação foi realizada, em equipamento tamisador, utilizando-se 60 vibrações por segundo durante 15 minutos. As frações retidas nos tamises e no coletor foram pesadas, e os dados analisados por método gráfico. Os resultados foram expressos a partir da média de triplicatas.

4.2.2 Determinação da Perda por Dessecação

Conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), cerca de 0,5g da amostra foram colocados em pesa-filtros, previamente tarados. O pesa-filtro foi posto em

estufa à $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, retirando-se a tampa, deixando-a também na estufa, por um período de 2 horas. O pesa-filtro foi esfriado em dessecador por 20 minutos e depois pesado. Este procedimento se repetiu até peso constante. Em seguida, foi calculada a diferença de peso entre a amostra inicial e a final determinando-se a perda por dessecação. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.3 Teor de Extrativos

Seguindo a metodologia de BUNDESVEREINIGUNG (1986), cerca de 1,0 g da DV foi transferido para um erlenmeyer adicionando-se 100mL de água destilada, o conjunto foi pesado e submetido à extração por decocção durante 10 minutos. Após resfriamento, o conjunto foi novamente pesado, reconstituindo-se a massa inicial com água destilada, filtrando-se e desprezando os primeiros 20mL do filtrado. Cerca de 20 g do filtrado, pesados, foram colocados em pesa-filtro, previamente tarado, e evaporados à em banho-maria, com agitação ocasional. Após a evaporação, o pesa-filtro, contendo a amostra, foi levado à estufa à $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até obtenção do peso constante, calculando-se o teor de sólidos. O resultado foi expresso em triplicata e o teor extrativo foi calculado segundo a equação abaixo:

$$\text{TE} = (\text{gxFD} \times 100) / (\text{m} - \text{pd}) \times 100$$

Onde; TE= teor de extrativos (% , m/m); g= massa (g) do resíduo seco, FD= constante, igual a 5; m= massa da amostra inicial (g); pd= perda por dessecação da amostra (m/m).

4.2.4 Cinzas Totais

Conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), 3g da amostra foram transferidas e distribuídas uniformemente em cadinhos, previamente tarados. As

amostras foram incineradas em mufla a 500°C até que toda matéria orgânica fosse eliminada, em seguida os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados. Foi calculada a porcentagem de cinzas em relação à droga seca ao ar. A análise foi realizada em triplicata.

4.2.5 Ensaios Fitoquímicos

A triagem fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia de MOREIRA (1979). Pela metodologia de maceração preparou-se um extrato hidroalcoólico a 20% e outro extrato aquoso a 20% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. A partir desses extratos foi determinada a presença dos seguintes grupos químicos:

- Extrato hidroalcoólico 20%: alcaloides, ácidos orgânicos, fenóis, flavonoides, triterpenos e/ou esteroides.
- Extrato aquoso 20%: heterosídeos antociânicos, taninos condensados e hidrolisáveis, aminogrupos, ácidos voláteis e ácidos fixos.

4.2.5.1 Pesquisa de alcalóides

Foi realizada utilizando-se os reativos gerais de alcaloides (Mayer, Dragendorff, Bouchardart e Berthrand) da seguinte forma: levou-se para secar 25mL do extrato hidroalcoólico em banho-maria, seguido de dissolução do resíduo em 1mL de etanol e 20mL de ácido clorídrico a 1%. Dividiu-se o extrato clorídrico em 5 tubos de ensaio (1mL em cada tubo) e adicionou-se em cada um os reativos mantendo o quinto tubo como branco. O aparecimento de precipitado indicou reação positiva. Para contraprova, 15mL do extrato hidroalcoólico foram transferidos para um funil de separação e alcalinizados com hidróxido de amônio até pH 10. Foi realizada a extração com a mistura

éter/clorofórmio numa proporção de 3:1 (v/v) e submeteu-se o extrato às mesmas reações de alcaloides.

4.2.5.2 Pesquisa de ácidos orgânicos

O excedente da solução etérea da pesquisa de alcaloides foi levado à secagem e redissolvido em 5mL de água destilada. O pH ácido desta solução indicou a presença de ácidos orgânicos.

4.2.5.3 Pesquisa de fenóis

Foi utilizado 2mL da solução obtida na pesquisa de ácidos orgânicos adicionando-se 2 gotas de solução aquosa de cloreto férrico 1%. O desenvolvimento de coloração entre o azul e o vermelho confirmou a presença de fenóis.

4.2.5.4 Pesquisa de flavonoides

Os flavonoides foram pesquisados pela reação de Shinoda (reação de cianidina). Em um tubo de ensaio foi transferido 5mL de extrato hidroalcoólico e adicionado 200mg de limalha de magnésio e 1mL de ácido clorídrico pelas paredes do tubo. A formação de cor alaranjada indicou a presença de flavonóis.

4.2.5.5 Pesquisa de triterpenos e/ou esteroides

Foram evaporados 10mL do extrato alcoólico e extraído por 3 (três) vezes sucessivas com 3mL de diclorometano. Os extratos obtidos foram concentrados a um volume de 3mL e após transferidos para um tubo de ensaio, onde adicionou-se 2mL de anidrido acético. Cautelosamente foram adicionadas 3 gotas de ácido sulfúrico. O

desenvolvimento de uma coloração azul-esverdeada demonstrou a presença de esteroides e /ou triterpenos.

4.2.5.6 Pesquisa de heterosídeos antociânicos

Foram separados em 3 tubos de ensaio 3mL do extrato aquoso e após foram neutralizados com solução de hidróxido de potássio 5% até se obter o pH 5,5 (pH do extrato aquoso), 7,0 (neutro) e 9,5 (básico). A mudança na coloração das porções neutralizadas indicou a presença de heterosídeos antociânicos.

4.2.5.7 Pesquisa de taninos

Foram adicionadas 5 gotas de cloreto férrico 1% a 5ml de extrato aquoso. Na formação de precipitado escuro, transferiu-se 5mL do extrato aquoso para um balão de fundo chato de 100mL e nele acrescentou-se 5 gotas de formaldeído a 37% e 4mL de ácido clorídrico. Levou-se a mistura para o refluxo por 1 hora. Após seu resfriamento, filtrou-se a solução e o material retido foi lavado com água destilada e álcool.

Foram adicionadas algumas gotas de solução aquosa de hidróxido de potássio 5% ao material retido no filtro e não houve a formação de cor indicando a ausência de taninos condensados. Ao filtrado adicionou-se 10 gotas de cloreto férrico 1% e ocorreu a formação de um precipitado azul escuro, isto indicou a presença de taninos hidrolisáveis.

4.2.5.8 Pesquisa de aminogrupos

Foram concentrados 10mL de extrato aquoso à temperatura de 50°C. Em um papel de filtro, foram colocadas 5 gotas do extrato concentrado e após secar o papel, este foi borrifado com solução butanólica de ninhidrina. Em seguida foi aquecido em estufa à

90-100°C por 15 minutos. O aparecimento de cor azul-violácea indicou a presença de aminogrupos.

4.2.5.9 Pesquisa de ácidos voláteis

Foram acidificados 10mL do extrato aquoso com ácido sulfúrico 1N e fervido em um tubo de ensaio em banho-maria. Com papel indicativo de pH foi medida a acidez dos vapores.

4.2.5.10 Pesquisa de ácidos fixos

Foram transferidos 20mL de extrato para um balão de destilação juntamente com 2mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 1N. O conteúdo foi levado ao refluxo por 30 minutos, após resfriar foi acidificado com ácido sulfúrico 1N e extraído por 3 vezes com 10mL de éter etílico. Os extratos etéreos foram unidos, filtrados e levados à secagem. O resíduo foi aquecido durante 10 minutos à 100°C e após, foi adicionado 5mL de solução de hidróxido de amônio 1N, novamente foi filtrado e transferido para um papel de filtro 3 gotas de modo a obter uma mancha de 1 cm de diâmetro. O papel foi seco em estufa à 100°C por 10 minutos e então foi tratado com o Reagente de Nessler. O desenvolvimento de coloração indicou a presença de ácidos fixos.

4.3 Obtenção da Solução Extrativa

Foi preparada uma solução hidroalcoólica 20% (v/v). Pesou-se 75g da droga vegetal (sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh) para 1000ml de solução hidroalcoólica 20% (v/v). Verteu-se a solução hidroalcoólica sobre a droga vegetal. O extrato líquido obtido foi submetido à maceração por 48h, sob agitação constante, à temperatura ambiente. Após 48h de maceração, o extrato líquido passou por uma filtragem comum, utilizando-se gazes e algodão; e, logo em seguida, por uma filtragem à

vácuo. O extrato líquido obtido foi de concentração 7,5% (m/v). Foram obtidos também, nas mesmas condições anteriormente citadas, o extrato líquido das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh nas concentrações de 5% (m/v) e 10% (m/v). Foram realizados testes-piloto utilizando-se as concentrações 5% e 10% (m/v) com o intuito de verificar qual seria a melhor extrato líquido para a obtenção do extrato seco. O extrato que se mostrou com melhores características nos testes-pilotos foi o extrato líquido das sementes na concentração 7,5% (m/v).

4.4 Caracterização da solução extrativa

4.4.1 Determinação do valor do pH para a solução extrativa

Seguindo a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), após a calibração com solução tampão de pH 7,0 e 4,0, o eletrodo foi lavado com água e inserido diretamente na amostra líquida à temperatura de 25°C.

4.4.2 Determinação da Densidade Relativa para a solução extrativa

Seguindo a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), foi utilizado o método do picnômetro, no qual o mesmo foi pesado vazio, pesado com água e depois pesado com a amostra, após a remoção do excesso das substâncias. Obteve-se o peso da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. Calculou-se a densidade relativa determinando a razão da amostra líquida e a massa da água, ambas a 20°C.

4.4.3 Determinação do Resíduo Seco para a solução extrativa

Seguindo a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) com modificações, foram transferidos 2ml de extrato para o pesa-filtro. O pesa-filtro com amostra foi levado para secagem em banho-maria e posterior secagem em estufa à 100- 105°C, por 3 horas.

Depois, foi deixado em dessecador por 30 minutos para esfriar e pesar. Levou-se para a estufa por 1 hora, foi deixado em dessecador e depois pesado, repetiu-se até peso constante. Calculou-se o resíduo seco em porcentagem sobre volume.

4.5 Obtenção do extrato seco por aspersão (*Spray Dryer*)

Após a filtração à vácuo, 1000ml da solução extrativa 7,5% (m/v) foi submetida à secagem em equipamento *Spray dryer* do modelo LM MSD 1.0 da empresa Labmaq do Brasil Ltda. Foi utilizada a temperatura de entrada e saída de 140/100°C, respectivamente e vazão de 13ml/min.

4.6 Caracterização do Extrato seco por aspersão (ESA)

4.6.1 Área Superficial Específica e Diâmetro dos Poros (S_{BET})

A área superficial específica e o diâmetro médio dos poros do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh foi determinada por meio da técnica de adsorção de nitrogênio aplicando-se o modelo proposto por Brunauer, Emmett e Teller [BET] (MAXIMIANO *et al.* 2010; USP 30). Uma amostra de aproximadamente 200mg do fármaco foi transferida para o tubo de amostra (*Sample Tube*) e degaseificada por 72h a 120°C para remover qualquer material adsorvido no interior dos poros e na superfície do material. Foi utilizado um Analisador de Área Superficial e Tamanho de Poros modelo ASAP® 2420 da empresa Micromeritics. Análise realizada em parceria com o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE.

4.6.2 Análise de distribuição de tamanho de partícula por espalhamento de luz (granulometria a laser)

A amostra foi dispersa em uma solução de tensoativo Triton 100 X a 0,02% e em seguida submetidas a ultrassom por 3 minutos. Para análise da distribuição granulométrica foi utilizado um analisador de distribuição de partícula Microtac, modelo S3500, com tempo de medida de 10 segundos, fluxo de 70%, distribuição por volume e utilizando o método Fraunhofer. Análise realizada em parceria com o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE.

4.6.3 Determinação da Umidade Residual (Resíduo seco)

Seguindo a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) com modificações, foram pesados 0,5g de extrato seco. Posteriormente, levados para dessecar em estufa a 100-105°C, por 3 horas. Foi deixado em dessecador por 30 minutos para esfriar e posteriormente pesado. Levou-se para a estufa por uma hora, deixou-se em dessecador e depois pesou-se, esse processo repetiu-se até peso constante. Calculou-se o resíduo seco em porcentagem sobre a massa.

4.6.4 Determinação do teor de fenóis totais

A determinação de fenóis totais presentes no extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh foi realizada por meio de espectrofotometria utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu segundo SINGLETON e ROSSI (1965) com modificações.

Primeiramente foram preparadas soluções de 1mg/ml do extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh 7,5% (m/v). Em placas de 96 poços foram adicionados 50µl de Folin-Ciocalteu (Sigma) a 10µL de extrato/ácido gálico/água. A microplaca foi incubada a 37°C por 8 minutos e realizada primeira leitura no leitor de Elisa DTX 800 (Beckman Coulter) a 715nm.

Após essa leitura, foram adicionados 240µL de carbonato de sódio a 0,4%. A placa foi incubada por três minutos e então realizada a segunda leitura. O teste foi feito em triplicata. O teor de polifenóis em mgEAG/mg do extrato foi calculado a partir da fórmula gerada pela curva de ácido gálico e convertida para ser expressa em termos de porcentagem através da fórmula abaixo:

$$\% \text{Fenóis Totais} = (\text{mgEAG} / \text{mgextrato}) \times 100$$

4.6.5 Determinação do teor de flavonoides totais

A determinação de flavonoides totais foi realizada, segundo metodologia utilizada por CHANG *et al.* (2002), com modificações. Primeiramente, o extrato foi diluído em etanol na concentração de 0,5mg/ml. Em seguida, foram adicionados 30µl de extrato e/ou padrão quercetina (diluída em etanol 80% na concentração de 0,5mg/ml) e 90µL de em cada cavidade da microplaca. Logo após, foram adicionados 6µl de cloreto de alumínio a 10% e 6µl de acetato de potássio (1mol/l), ambos diluídos em água destilada.

Para finalizar, foram adicionados mais 168µl de água destilada. E para o branco, foram utilizados 30µl de extrato e/ou padrão quercetina e 270µl de etanol. A placa, então, foi incubada por 30 min em temperatura ambiente e, em seguida, foi realizada a determinação da absorvância no comprimento de onda de 405nm, em leitor ELISA (DTX 800, Backman Counter).

O ensaio foi realizado em triplicata. Os resultados foram obtidos utilizando-se, primeiramente, a diferença das absorvâncias das amostras e do padrão pela absorvância dos respectivos brancos. Logo após, foi calculada a determinação da concentração de flavonoides em porcentagem.

4.6.6 Atividade sequestrante do radical DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada por meio da capacidade dos antioxidantes, presentes nas amostras, em sequestrar o radical estável DPPH, segundo metodologia utilizada por MOLYNEUX (2004), com modificações. Foram adicionados, primeiramente, em cada cavidade da microplaca 270µl de DPPH (1 mg/ml) e 30µl das soluções das amostras e/ou padrão quercetina, na concentração de 100 µg/ml, com suas respectivas diluições. Para o controle, foram utilizados 270µl de DPPH e 30µl de etanol. A placa foi incubada por 30 min em temperatura ambiente no escuro e a leitura realizada em 517nm. Os cálculos de inibição foram feitos mediante fórmula a seguir:

$$\% \text{ Inibição} = 100 \times [1 - (\text{Abs2 amostra} - \text{Abs controle}) / \text{Abs controle}]$$

4.6.7 Ensaio de varredura do radical ABTS

A determinação de atividade antirradical seguiu a metodologia descrita por RE *et al* (1999) com pequenas modificações. Inicialmente foi preparada a solução de ABTS pela reação de 0,7mM do radical ABTS dissolvido em 5ml de água deionizada com 5mL de 5mM de persulfato de potássio e a mistura reacional foi incubada à temperatura ambiente, na ausência de luz, por 12 horas. O padrão utilizado nesta determinação foi a quercetina. Os cálculos de inibição foram feitos mediante a fórmula a seguir:

$$\% \text{ Inibição} = 100 \times [1 - (\text{Abs2 amostra} - \text{Abs controle}) / \text{Abs controle}]$$

4.6.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica de MEV consiste numa das mais refinadas técnicas de para a análise micro-estrutural, permitindo obtenção de imagens tridimensionais detalhadas acerca da microestrutura dos sólidos, com grande confiabilidade e precisão. Desta maneira, durante

a caracterização de drogas e extratos secos vegetais proporciona uma melhor elucidação quanto às características físicas e superficiais dos componentes da amostra (DEDAVID *et al.*, 2007; IOSIO *et al.*, 2011).

O MEV também se revela como uma técnica aliada para a avaliação morfológica da reprodutibilidade e padronização de diferentes lotes de extrato vegetal, bem como estimar as condições de produção (SPANIOL *et al.*, 2009; QUINTÃO *et al.*, 2011).

O extrato seco 7,5% de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh foi colocado sob dupla-fita de carbono e analisado utilizando-se o equipamento Microscope TM-3000 modelo Hitachi Tabletop, em voltagem de 15kV em aumentos de 500kx, 1000kx, 2000kx e 3000kx. A análise foi realizada em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

4.6.9 Avaliação da citotoxicidade do extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dúbia* (Kunth) Mc Vaugh

O teste de exclusão por azul de Tripán foi realizado a fim de avaliar a viabilidade celular após a exposição das células B16F10 ao extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. Foram adicionados 10 μ L de Tripán 0,4% em eppendorfs contendo 90 μ L de suspensão de células B16F10. Os eppendorfs foram suavemente homogeneizados e postos em repouso por aproximadamente 2 minutos. Após o repouso foi transferido 10 μ L desta solução para uma câmara de Neubauer para a contagem do total de células viáveis (não coradas com o azul de Tripán) e não viáveis (coradas pelo azul de Tripán) nos quatro quadrantes externos da câmara. Após a contagem foi calculado o percentual de células viáveis e não viáveis para triplicata de cada tratamento. A análise estatística utilizada foi

por análise de variância com teste de Tukey com a finalidade de determinar se há significância estatística na morte celular causada pelo tratamento com o extrato.

4.7 Desenvolvimento das Formulações

4.7.1 Desenvolvimento das Bases Semissólidas

Foram desenvolvidas emulsões do tipo creme, a fim de verificar a melhor base para incorporação do extrato seco 7,5% das sementes *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

Os cremes foram desenvolvidos utilizando-se as seguintes matérias-primas:

Matéria-prima	Função
Álcool cetó-estearílico 30:70	Agente de consistência
Álcool cetó-estearílico etoxilado 20 OE	Emulsionante não-iônico
Água	Veículo
Base auto-emulsionante	Agente de consistência
BHT	Antioxidante
Ciclometicona	Emoliente
EDTA	Quelante
Estearato de octila	Emoliente
Glicerina	Umectante
Imidazolidinil uréia	Conservante
Manteiga de cupuaçu	Emoliente
Manteiga de Karité	Emoliente
Metilparabeno	Conservante
Monoestearato de glicerila	Agente de consistência
Óleo de castanha	Emoliente
Propilenoglicol	Umectante
Propilparabeno	Conservante
Trietanolamina	Neutralizante

Tabela 2. Matérias-primas utilizadas para obtenção das bases-pilotos para incorporação do extrato seco de 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

Foram desenvolvidas cinco bases e estas foram identificadas com a letra B e enumeradas de 1 a 5. A base B1 é um creme hidratante contendo 1% de óleo de castanha (*Bertholletia excelsa* H.B.K) (LEONARDI, 2004). A base B2 é um creme contendo 1% de manteiga de cupuaçu (CAMPOS *et. al.*; 1999). A base B3 é um creme contendo 1% de manteiga de Karité (CAMPOS *et. al.*; 1999). Já as bases B4 e B5 são cremes contendo,

respectivamente, 2% de manteiga de cupuaçu e 2% de manteiga de Karité (CAMPOS *et. al.*; 1999).

A base B1 teve suas fases (aquosa e oleosa) preparadas em banho-maria, sob agitação constante, em temperatura entre 75 e 80°C; vertendo-se a fase aquosa sobre a fase oleosa, e resfriando-se sob agitação contínua.

As bases B2 à B5 tiveram suas fases (aquosa e oleosa) preparadas em banho-maria, sob agitação constante, em temperaturas entre 70 e 75°C; vertendo-se a fase aquosa sobre a fase oleosa mantendo-se agitação constante até o resfriamento. À 50°C foi adicionada a ciclometicona e 30°C foi adicionado o conservante imidazolidinil uréia (termossensível) previamente solubilizado em quantidade mínima de água.

Em todas as bases que foram preparadas, fez-se uma modificação na preparação das mesmas (acrécimo de matéria-prima) quando comparadas à literatura utilizada como parâmetro de obtenção.

4.7.2 Incorporação do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth)

McVaugh aos cremes

Para a incorporação do extrato seco 7,5% de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh aos cremes, utilizou-se três formas: diluição do extrato seco em quantidade suficiente (q.s.) de água, diluição do extrato seco em quantidade suficiente (q.s.) de propilenoglicol e incorporação direta do pó.

Foram realizados testes-pilotos para definir a concentração de extrato a ser incorporado aos cremes. As concentrações testadas foram 1% (p/p), 1,5% (p/p) e 2% (p/p), sendo que a concentração de 1% (p/p) foi eleita como a concentração ideal para a continuidade dos testes de formulação.

Cada um dos cinco cremes testados que tiveram a incorporação de 1% (p/p) do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh receberam uma nova identificação: **FB1, FB2, FB3, FB4, FB5**, sendo que, cada uma destas cinco formulações, foram também identificadas em subtipos **A** (Extrato seco diluído em água), **P** (Extrato seco diluído em propilenoglicol) e **D** (Extrato seco com incorporação direta do pó), conforme exemplificado na Tabela 3:

Formulação	Creme	Tipo de incorporação ESMD 7,5%
FB1 A	1% de óleo de castanha	Diluído em água
FB1 P	1% de óleo de castanha	Diluído em propilenoglicol
FB1 D	1% de óleo de castanha	Incorporação direta do pó
FB2 A	1% de manteiga de cupuaçu	Diluído em água
FB2 P	1% de manteiga de cupuaçu	Diluído em propilenoglicol
FB2 D	1% de manteiga de cupuaçu	Incorporação direta do pó
FB3 A	1% de manteiga de karité	Diluído em água
FB3 P	1% de manteiga de karité	Diluído em propilenoglicol
FB3 D	1% de manteiga de karité	Incorporação direta do pó

FB4 A	2% de manteiga de cupuaçu	Diluído em água
FB4 P	2% de manteiga de cupuaçu	Diluído em propilenoglicol
FB4 D	2% de manteiga de cupuaçu	Incorporação direta do pó
FB5 A	2% de manteiga de karité	Diluído em água
FB5 P	2% de manteiga de karité	Diluído em propilenoglicol
FB5 D	2% de manteiga de karité	Incorporação direta do pó

Tabela 3. Formulações com diferentes tipos de incorporação de extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

4.7.3 Estudo de pré-estabilidade

Todas as formulações desenvolvidas foram submetidas ao teste de centrifugação, seguindo a recomendação do Guia de estabilidade de produtos cosméticos. O teste consiste em centrifugar as amostras a 3.000 rpm durante 30 minutos. O produto deve permanecer estável e qualquer sinal de instabilidade indica a necessidade de reformulação. Se for aprovado nesse teste, o produto pode ser submetido aos testes de estabilidade (BRASIL, 2004).

4.7.4 Estudo de Estabilidade Preliminar

Na Estabilidade Preliminar, as amostras foram submetidas às condições extremas de temperatura, sendo a primeira avaliação feita no tempo zero (T_0) e as análises seguintes realizadas diariamente, a cada 24h. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram: o pH, a densidade e a viscosidade (T_0 , T_1 , T_{14} , T_{15}). Os parâmetros organolépticos avaliados foram: aspecto, cor e odor.

A formulação testada e o branco foram submetidos à condição de estresse com o intuito de acelerar o aparecimento de possíveis sinais de instabilidade. As amostras ficaram sujeitas a ciclos alternados (24h) de congelamento em freezer à -5°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e

descongelamento em estufa à 45°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). A duração do teste foi de 15 dias, totalizando 8 ciclos.

4.7.5 Estudo de Estabilidade Acelerada

A Estabilidade Acelerada, também conhecida como Estabilidade Normal ou Exploratória tem como objetivo fornecer os dados que fazem a previsão para a estabilidade do produto, isto é, a sua vida útil bem como a compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento (BRASIL, 2004).

O teste de Estabilidade Acelerada funciona como um estudo preditivo que pode ser empregado para estimar o prazo de validade de um produto. Geralmente, esse teste tem duração de 90 dias, podendo se estender, dependendo do produto, por 6 meses e até 1 ano (BRASIL, 2004)

Tanto a formulação quanto o branco (o conjunto) foram submetidos a temperaturas diferentes, um conjunto foi mantido em refrigerador à 5°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), outro conjunto foi mantido em estufa à 40°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e outro mantido à temperatura ambiente controlada à 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Os parâmetros físico-químicos e organolépticos analisados durante todo o teste foram: pH, densidade, viscosidade; e, aspecto, cor e odor, respectivamente.

4.7.6 Parâmetros avaliados no Estudo de Estabilidade

4.7.6.1 Determinação do pH

Para a determinação do pH foi utilizado um PHmetro de bancada PH21 da marca Prolab, sendo previamente calibrado com a solução tampão pH 7 e depois com a solução tampão pH 4, o eletrodo foi lavado com água e inserido diretamente na diluição aquosa 1:10 (p/v) das amostras homogeneizadas à temperatura de 25°C, a análise foi realizada em triplicata (BRASIL, 2010).

4.7.6.2 Determinação da densidade relativa

Seguindo a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), para a determinação da densidade relativa foi realizado o método do picnômetro. Foi utilizado um picnômetro de metal devido as amostras serem semissólidas. O picnômetro foi pesado vazio e depois pesado com água e por fim, pesado com a amostra. Obteve-se o peso da amostra através da diferença da massa do picnômetro cheio e vazio, foi calculada a densidade relativa determinando a razão da amostra e a massa da água, ambas a 20°C. A análise foi realizada em triplicata.

4.7.6.3 Determinação da viscosidade aparente e comportamento reológico

A determinação da viscosidade aparente e do comportamento reológico da formulação e do branco foi realizada utilizando-se o Viscosímetro Rotacional Digital Brookfield, modelo DV II + pró. As análises reológicas foram obtidas com variação de velocidade de 0 a 120 rpm (curva ascendente) e de 120 a 0 rpm (curva descendente), com um tempo de 10 segundos de leitura e 20 pontos. Utilizou-se o *spindle* do tipo LV-4. Os dados fornecidos pelo equipamento foram referentes a tensão de cisalhamento e taxa de deformação através do *software* Brookfield Rheocalc versão 3.2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da matéria-prima vegetal

5.1.1 Análise granulométrica por tamisação

Observa-se no histograma apresentado na Figura 3 que a maior parte das partículas da droga vegetal está numa faixa granulométrica $> 1000\mu\text{m}$. O pó obtido pela moagem das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh pode ser classificado, conforme a Farmacopeia Brasileira 5ª ed. (2010), como sendo um pó grosso, no que se refere às partículas que passam em sua totalidade pelo tamis de malha 1,70mm e no máximo 40% pelo tamis de malha 0,35mm.

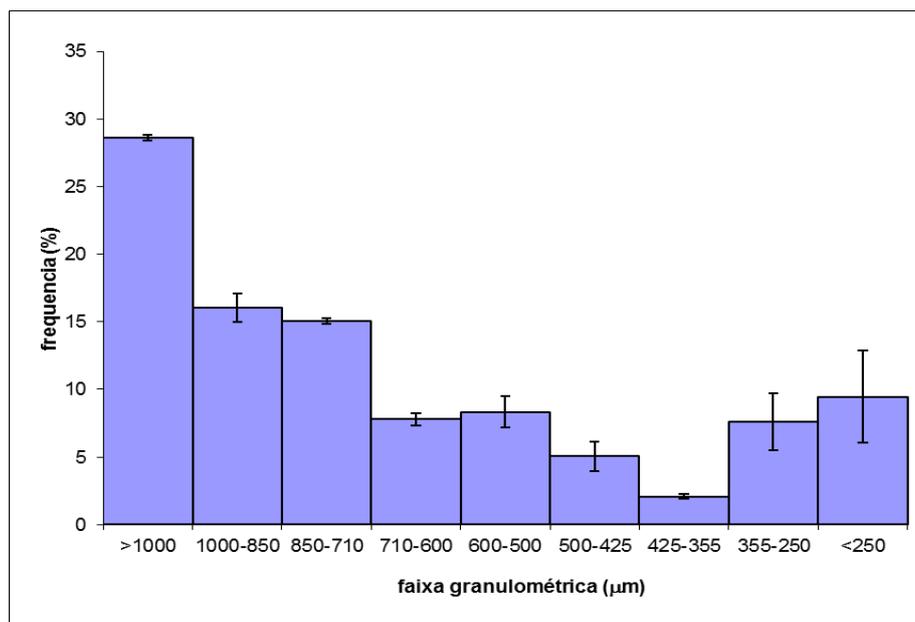


Figura 3. Histograma da determinação granulométrica da droga vegetal (sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh).

As partículas da droga vegetal ficaram numa faixa granulométrica elevada; porém, quando se trata de drogas vegetais, de acordo com SHARAPIN (2000) e FONSECA *et al.*, (2010) os pós mais grossos são os mais recomendados para a maioria das drogas vegetais, visto que os pós finos podem vir a comprometer a extração, uma vez que as

partículas finas, por serem mais coesivas, são mais afetadas por forças gravitacionais quando comparadas às partículas grossas.

Desta forma, as sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, em relação ao tamanho de suas partículas, demonstrou resultados satisfatórios, uma vez que se classificou como sendo um pó grosso viabilizando com isso uma melhor extração de seus princípios ativos.

5.1.2 Perda por Dessecação, Teor de Extrativos e Cinzas Totais

Os resultados obtidos para os testes de Perda por Dessecação, Teor de Extrativos e Cinzas Totais estão descritos na tabela a seguir:

Testes	Resultado	Desvio-padrão
Perda por dessecação	8,8%	±0,3
Teor de extrativos	27,9%	± 0,15
Cinzas totais	0,34%	±0,06

Tabela 4. Resultados dos testes de Perda por Dessecação, Teor de Extrativos e Cinzas Totais.

Pode-se observar que os valores obtidos para a perda por dessecação se encontram dentro dos limites preconizados pela Farmacopeia Brasileira, 4ª ed. (1988), para drogas vegetais, que variam de 8 a 14% de umidade para a droga seca.

Observando-se do ponto de vista tecnológico e de produção, este resultado é de grande relevância para assegurar a estabilidade microbiológica e química da formulação, visto que, os teores de umidade acima do especificado levam a proliferação de bactérias e fungos, bem como, possíveis degradações de substâncias químicas por processos de hidrólise mesmo à curto prazo (FONSECA *et al.*, 2010; SCHIMIDT, 1989). Sendo assim,

o resultado encontrado demonstra que o material está dentro dos parâmetros estabelecidos para minimizar a contaminação microbiana e degradação química.

Nessa pesquisa, o Teor de Extrativo foi empregado exclusivamente como um ensaio auxiliar na caracterização físico-química da droga vegetal estando relacionado aos compostos hidrossolúveis presentes na matéria-prima (açúcares, aminoácidos etc.) visto que essas características também fazem parte dos parâmetros de qualidade da matéria-prima vegetal, além de demonstrar a eficiência da água como líquido extrator. (OLIVEIRA *et al.*, 1999, BARNI *et al.*, 2008).

Na literatura não existe, até o momento, estudos com sementes de camu-camu que avalie o teor de extrativos, no entanto, com o resultado obtido é possível se observar uma boa extração sendo a solução hidroalcoólica utilizada no processo se comportado como um líquido extrator bem favorável, confirmando a eficiência do processo extrativo.

A determinação do teor de cinzas permitiu verificar a presença de inorgânicas não voláteis presentes nas substâncias orgânicas, isto é, verificar a presença de matéria inorgânica na amostra analisada. Quanto mais baixo forem os resultados obtidos para teor de cinzas totais, menor será a quantidade de compostos inorgânicos não voláteis presentes na amostra (BARNI *et al.*, 2008 ; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Desta maneira, conforme os resultados obtidos na determinação de cinzas totais pode-se verificar que a amostra analisada possui uma quantidade muito baixa de matéria inorgânica. Não existe na literatura um teor máximo de cinzas para as sementes da espécie em estudo.

5.1.3 Ensaio de Triagem Fitoquímica

Os ensaios de Triagem Fitoquímica indicaram no extrato das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh a presença fortemente positiva de: fenóis,

heterosídeos flavônicos, esteróis, triterpenos e taninos; e indicaram também a presença positiva de: aminogrupos, ácidos voláteis e ácidos fixos, conforme os dados representados na Tabela 5.

Grupos Químicos	Resultado
ALCALÓIDES	(+)
ÁCIDOS ORGÂNICOS	(+)
FENÓIS	(+++)
HETEROSÍDEOS	FLAVÔNICOS:
Reação de Taubock ou oxalato-bórica	(+++)
Reação de Shinoda	(+++)
Reação de Pacheco	(+)
ESTERÓIS	(+++)
TRITERPENOS	(+++)
CUMARINAS	(-)
ANTRAQUINONAS	(-)
HETEROSÍDEOS ANTOCIÂNICOS	(+)
HETEROSÍDEOS CIANOGENÉTICOS	(-)
HETEROSÍDEOS SAPONÍNICOS	(-)
GOMAS, TANINOS E MUCILAGENS	(-)
TANINOS	(+++)
AMINOGRUPOS	(++)
ÁCIDOS VOLÁTEIS	(++)
ÁCIDOS FIXOS	(++)

Tabela 5. Resultados dos ensaios de triagem fitoquímica das sementes de *Myrciaria dúbia* (Kunth) McVaugh. A representação de (+) = Fracamente positiva; (++) = Positivo; (+++) = Fortemente positivo; (-) = Negativo para a presença dos compostos pesquisados.

Na Tabela 5, observa-se também que a amostra apresentou resultado negativo para cumarinas, antraquinonas, heterosídeos cianogênicos e saponínicos. Enquanto que heterosídeos antocianogênicos, alcaloides e ácidos orgânicos apresentaram-se fracamente positivos.

A presença fortemente positiva dos compostos fenólicos é uma característica da *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh que apresenta ricas propriedades funcionais bioativas ligadas a sua alta atividade antioxidante. Compostos fenólicos, tais como: elagitaninos, ácido elágico, quercetina, ácido siríngico e miricetina já foram detectados nesses frutos (FUJITA *et al.*, 2015).

Estudos realizados com extratos das sementes e da casca de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh apresentaram uma forte atividade antioxidante ligada a presença de taninos, da classe dos elagitaninos. Os elagitaninos são taninos hidrolisáveis, derivados do metabolismo do ácido gálico (CARVALHO, 2010).

5.1.4 Obtenção de Solução Extrativa

Na preparação da solução extrativa foram utilizadas as sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, estas foram previamente submetidas à secagem em estufa de circulação de ar forçado à 45°C durante 5 dias e, posteriormente, trituradas em moinho de facas.

A solução extrativa de 7,5% (m/v) foi obtida utilizando-se 75g de droga vegetal para 1000 ml de solvente hidroalcoólico a 20% (v/v). Foi realizada a maceração por 48h, sob agitação constante e à temperatura ambiente, sendo logo em seguida submetido à filtração comum e depois à filtração à vácuo.

A agitação teve o objetivo de diminuir a duração do processo extrativo, uma vez que o processo de extração é dependente dos fenômenos de difusão e que a renovação do

solvente em contato com as substâncias a serem extraídas desempenham um papel importante na velocidade da extração (SIMÕES, *et al.*, 2010).

Em relação à escolha do solvente de extração foi levado em consideração a toxicidade e/ou riscos quanto ao manuseio, bem como a disponibilidade e os custos do solvente, além da eficiência do processo extrativo (SIMÕES, *et al.*, 2010).

A mistura etanol e água, foi utilizada como solvente extrator uma vez que a extração de substâncias polares e apolares é facilitada por esse tipo de mistura. Desta forma, levando-se em consideração a adequação tecnológica de solventes para a extração, a solução hidroalcoólica cumpre o papel de ter a facilidade de sua eliminação da solução extrativa como também a reduzida toxicidade para o ser humano (SOUZA *et al.*, 2008).

A solução extrativa 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh apresentou-se com uma coloração amarelo escuro.

5.2 Caracterização da solução extrativa 7,5%

5.2.1 Determinação do valor do pH, Densidade relativa e Resíduo seco.

Os resultados obtidos para o pH, densidade relativa e resíduo seco referentes a solução extrativa 7,5% estão descritos na tabela a seguir:

Testes	Resultado	Desvio-padrão
pH	3,74 (ácido)	±0,05
Densidade	0,9753 %	± 0,01
Resíduo seco	24,62% (rendimento)	±0,007

Tabela 6. Determinação do pH, densidade relativa e Resíduo Seco do extrato líquido 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh.

O pH para o extrato líquido das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh demonstrou um caráter ácido. Esse resultado é aceitável, uma vez que a fruta camu-camu é conhecida por sua elevada acidez (RIBEIRO, *et al.*, 2010). Essa acidez do extrato não é, em geral, ruim uma vez que o pH baixo é uma característica tecnológica desejável tendo em vista os tratamentos industriais a serem utilizados para obtenção do produto (MAEDA e ANDRADE, 2000).

Este ensaio é de fundamental importância para as futuras formulações a serem desenvolvidas a partir do extrato da espécie *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh onde as faixas de pH das formulações serão definidas a partir desse valor encontrado.

Quanto a densidade relativa os valores demonstram que o extrato líquido hidroalcoólico das sementes está com densidade próxima a da densidade da água, isso é justificável uma vez que o extrato é uma solução água:álcool (v/v), com apenas 20% de álcool e 80% de água.

A determinação da densidade é um ensaio farmacopeico importante para substâncias líquidas e semissólidas uma vez que ajuda na projeção de novas formulações farmacêuticas e/ou cosméticas.

No teste de resíduo seco o resultado encontrado mostra que a solução hidroalcoólica demonstrou-se eficiente como líquido extrator, tendo o rendimento permanecido dentro de uma faixa aceitável quando comparando aos resultados obtidos com estudos realizados em sementes de outras espécies vegetais, cujo rendimento se estabeleceu numa faixa de 17% à 29% utilizando-se o mesmo líquido extrator (ANTONELLI-USHIROBIRA *et al.*, 2004).

5.3 Caracterização do extrato seco por aspersão

5.3.1 Área superficial específica e diâmetro dos poros (S_{BET})

A área superficial específica e o diâmetro dos poros são parâmetros importantes uma vez que estão intimamente ligados com a solubilidade dos sólidos. A determinação da porosidade de um material é relevante uma vez que esta determina a adsorção, a resistência mecânica, a molhabilidade, característica de dissolução etc., que são importantes propriedades físico-químicas (NERY *et al.*, 2008; PORTE *et al.*, 2011; SCHOONMAN *et al.*, 2001).

A classificação do tamanho dos poros é especificada de acordo com o seu diâmetro e segue as recomendações da IUPAC, podendo então ser classificada como: microporo (largura interna menor que 20 Å), mesoporo (largura interna entre 20 Å e 500 Å) ou macroporo (largura interna maior que 500 Å) (NERY *et al.*, 2008).

A área superficial específica do extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh determinada pelas isotermas de adsorção do nitrogênio, revelou um valor de superfície específica de 1.6448 m²/g e reduzida porosidade das partículas, estimada em 135,156 Å, o que é indicativo de presença de poros do tipo mesoporos.

O extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh apresentou um resultado bom quanto a sua porosidade, pois para formulações é importante que o extrato seco tenha uma porosidade na faixa de 20 a 500 Å o que confere uma classificação em mesoporos. Esse tamanho de poro apresenta uma melhor facilidade de penetração de líquidos, favorecendo a solubilização do pó, característica importante no desenvolvimento de formulações contendo extrato seco por aspersão (PEIXOTO, 2012).

5.3.2 Granulometria a laser

Esse ensaio permite analisar a distribuição do tamanho de partículas por espalhamento de luz, isto é, a luz será espalhada (mudança de direção) ao interagir com as partículas do pó, sem sofrer alteração de sua energia (espalhamento Rayleigh), e esse espalhamento se dá em função do tamanho da partícula podendo, desta maneira, a distribuição do tamanho de partículas ser determinada pela análise do espalhamento de luz produzido (SILVA, 2010).

No histograma da Figura 4, referente ao extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, podemos observar que a maior parte da distribuição granulométrica se encontra na faixa de 1 µm a 16 µm. O percentual de retenção do extrato seco da semente foi de 55% e o tamanho de partícula com menor representação na amostra foi o de 16,17 µm (95%).

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª ed. (2010) que descreve os tipos de pós, o extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh classifica-se como sendo um pó finíssimo. Esse tipo de pó é aquele que passa totalmente pelo tamis de abertura nominal de malha 125 µm, sendo, desta maneira, considerado um pó que tem um reduzido tamanho de partículas.

Quanto menor for o tamanho da partícula, melhor será a solubilidade do extrato seco devido ao aumento da superfície específica e, por consequência disso, a melhor biodisponibilidade do insumo vegetal. O tamanho das partículas reduzidas de um pó é vantajoso para as formulações, sobretudo a de uso tópico pois além de diminuir a sensação arenosa influencia também em fatores como estabilidade (SILVA 2010; ALLEN, 2007)

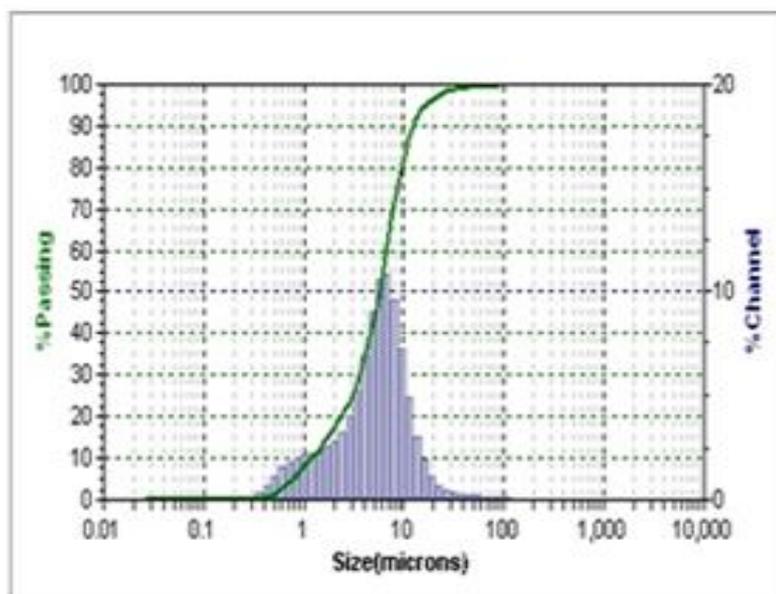


Figura 4: Histograma com distribuição granulométrica do extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

5.3.3 Determinação da Umidade Residual

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª ed. (2010), os extratos secos, que são preparações sólidas obtidas a partir da evaporação do solvente utilizado em sua preparação, apresentam no mínimo 95% de resíduo seco, calculados como porcentagem de massa. Os extratos secos padronizados poderão ter o teor de seus componentes ajustados por adição de materiais inertes que sejam adequados.

A umidade residual também influencia na qualidade farmacotécnica dos pós, podendo afetar em especial, suas características reológicas e sua estabilidade físico-química (PEIXOTO, 2012).

O extrato seco, sem adição de adjuvantes de secagem, apresentou uma umidade residual de 6%. Desta forma, para a obtenção do extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh padronizado, se ajustados o teor de seus constituintes pela a

adição de um material inerte adequado, esses valores referentes a umidade residual tendem a se enquadrar dentro dos limites estabelecidos pela literatura.

5.3.4 Determinação do Teor de fenóis e flavonoides totais

Os resultados obtidos, em porcentagem, para fenóis totais e flavonoides totais no extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh estão descritos na tabela a seguir:

Testes	Extrato seco 7,5% das sementes de <i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh
Teor de fenóis totais	26,93 ± 1,47
Teor de Flavonoides Totais	4,15 ± 0,01

Tabela 7. Determinação do teor de Fenóis e Flavonoides totais do extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh.

Os resultados obtidos demonstram que o extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh apresenta um considerável teor de fenóis totais e flavonoides totais, levando-se em consideração o processo de obtenção do extrato seco.

5.3.5 Determinação da Atividade Antioxidante: DPPH e ABTS

Quando se compara o extrato com o padrão de ácido ascórbico utilizado para a realização dos testes de DPPH e o ABTS, observa-se que o extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh demonstrou possuir atividade antioxidante.

Essa atividade antioxidante no extrato das sementes está provavelmente relacionada a presença de compostos fenólicos, esses compostos agem como sequestrantes de ânions superóxidos e outros compostos reativos, doando elétrons para os radicais livres fazendo com que sejam convertidos em moléculas não nocivas (SOARES, 2002).

Os resultados dos testes de DPPH e ABTS para determinação da atividade antioxidante do extrato seco das sementes estão descritos na Tabela 8.

Testes	Extrato seco das sementes de <i>Myrciaria dúbia</i> (Kunth) Mc Vaugh	Padrão Ácido Ascórbico
CI ₅₀ (µg/mL) DPPH	16,77 ± 0,14	2,74 ± 0,3
CI ₅₀ (µg/mL) ABTS	29,77 ± 0,72	4,84 ± 0,3

Tabela 8. Atividade antioxidante do extrato de camu-camu e padrões antioxidante expressa como CI50 (µg/mL), mensuradas pelos métodos de varredura dos radicais DPPH e ABTS.

Desta forma, o extrato seco 7,5% de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh demonstrou uma atividade antioxidante moderada, sendo confirmado pelos resultados do método de sequestro de radical ABTS, que é um dos ensaios de antioxidantes mais amplamente usado para amostras de plantas (FERNANDES, 2013).

O extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh tem atividade antioxidante apenas seis vezes menor em comparação com a atividade antioxidante do ácido ascórbico, e isso é esperado uma vez que a atividade antioxidante do padrão é superior, por se tratar de uma substância pura, em relação a atividade antioxidante do extrato seco, e tendo o extrato passado pelo método de secagem por *spray*

dryer é possível também que alguma atividade seja perdida durante o processo de secagem (FERNANDES, 2013).

5.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise da morfologia das partículas do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh 7,5% foi realizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O extrato seco foi analisado em sua forma pura sem a presença de adjuvantes de secagem. A amostra foi colocada sob dupla-fita de carbono e analisada com auxílio de um equipamento Microscope TM-3000 modelo Hitachi Tabletop, em voltagem de 15 kV. A Figura 5 mostra as fotomicrografias do extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh nos aumentos de 500x, 1000x, 2000x e 3000x, respectivamente.

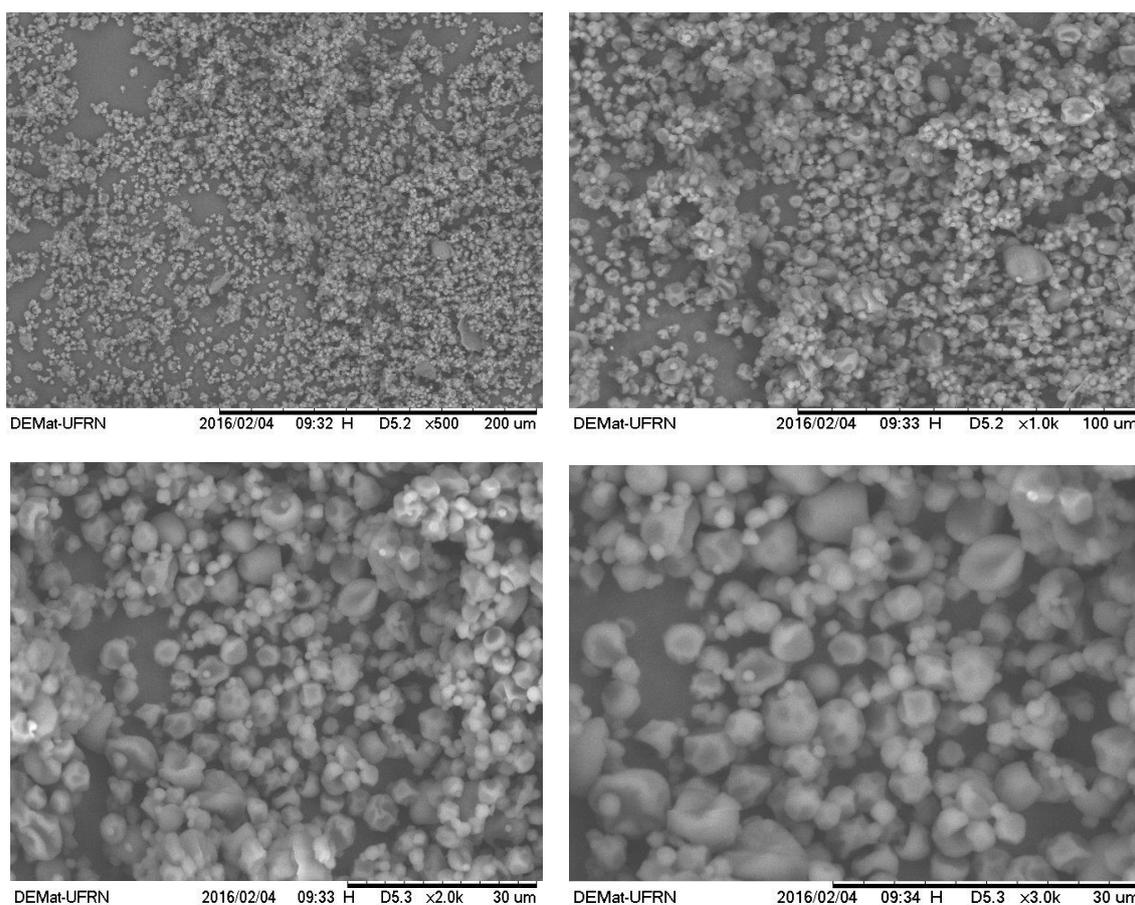


Figura 5: Fotomicrografia do extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh sem adição de adjuvante de secagem e no aumento de 500kx, 1000kx, 2000kx e 3000kx com escala de campo de imagem de 200μm, 100μm, 30μm.

FONTE: DEMat-UFRN

De acordo com o tipo de material a ser submetido a secagem por *spray dryer* distintos materiais secos serão produzidos com diferentes características morfológicas, podendo apresentar-se como esferas intactas, de superfície lisa ou fragmentada, podendo ser sólidas ou ocas (RANKELL *et al.*, 2001).

As imagens do extrato seco 7,5% de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh revelaram partículas irregulares quanto ao tamanho e a forma, com uma forte tendência à formação de aglomerados. As partículas com morfologia irregular, em geral, tendem a aglomeração e sugerem ser extratos com maior higroscopicidade. As partículas pequenas do pó que aparecem nas imagens se deve a baixa viscosidade no líquido de alimentação (no caso, o extrato líquido) que leva a formação de gotículas menores durante a etapa de aspersão (FOSTER e LEATHERMAN, 1995).

Em geral, para se propiciar a formação de gotículas menores, faz-se o uso de tensoativos com o objetivo de se diminuir a tensão superficial do material a ser seco, no entanto, na secagem do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh 7,5% não houve a adição de tensoativos, porém, as partículas formadas foram pequenas, sugerindo que o extrato líquido tem baixa tensão superficial (DE CAMPOS, 1996; SOARES, 2002).

Já a superfície enrugada das partículas segundo TONON *et al.* (2008) pode acontecer quando a temperatura de entrada do ar é mais baixa. Quando se aumenta a temperatura de secagem ocorre a formação de um maior número de partículas com superfície lisa, pelo fato das temperaturas mais elevadas causarem uma rápida evaporação de água, levando a formação de uma crosta lisa e dura.

De acordo com ALLAMILLA-BELTRAN *et al.* (2005), as diferenças morfológicas entre pós obtidos em temperaturas diferentes podem também ser decorrentes das características físicas da crosta, que pode ser flexível e colapsada, quando

temperaturas baixas e intermediárias são utilizadas, ou pode ser rígida e porosa em temperaturas mais elevadas. Temperaturas mais baixas também permitem a formação de partículas de menor tamanho com uma fina crosta, compacta e irregular, como se pode observar nas fotomicrografias.

As características morfológicas do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh ficaram dentro das características gerais para extratos secos sem adjuvantes, caracterizada por esferas enrugadas e aglomerações de partículas. A utilização de adjuvantes e temperaturas altas de ar de secagem (200°C, por exemplo) podem formar partículas com formas mais regulares e esféricas (OSÓRIO *et al.*, 2011).

5.3.7 Avaliação da Citotoxicidade do Extrato seco das sementes

A citotoxicidade dos extratos de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, tanto das sementes, quanto da casca foram avaliadas em linhagem celular B16F10 de melanoma murino, com a finalidade de avaliar o efeito modulador do extrato sob a morte dessas células. O ensaio de citotoxicidade foi o de exclusão ao corante azul de Tripan. O corante azul de Tripan consegue distinguir células viáveis de células não-viáveis. As células que se coram de azul na presença do corante são aquelas que apresentam lesões na membrana plasmática. Os resultados obtidos estão representados n gráfico da Figura 6.

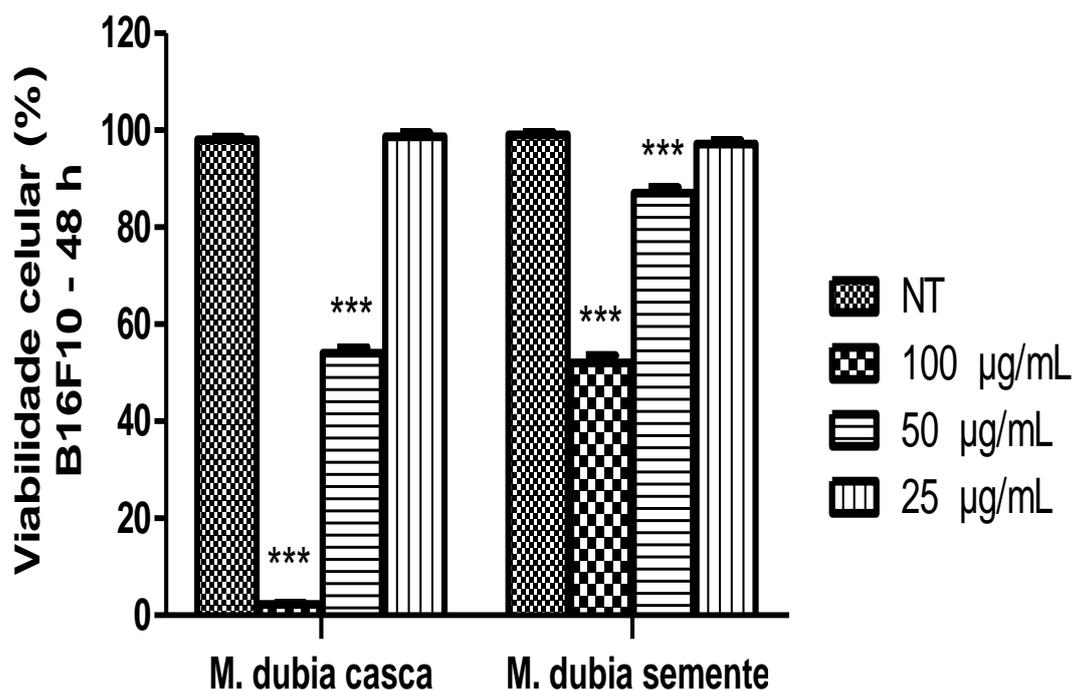


Figura 6: Viabilidade celular em B16F10 após exposição a extratos de sementes e casca de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh por 48 h. Cada barra representa a média \pm desvio padrão de três experimentos isolados. *** $p > 0,001$ em comparação com o controle. As linhagens estudadas não apresentaram alterações morfológicas após os tratamentos.

O teste de citotoxicidade do extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh em células B16F10 apresentou, após 48 horas de exposição ao extrato seco, uma viabilidade da linhagem de quase 55% para a concentração de 100 µg/ml, 85% para a concentração de 50 µg/ml e 98% para a concentração de 25 µg/ml, equiparando-se ao Controle.

Sendo assim, pode-se inferir que as concentrações menores 50 µg/ml do extrato não apresentam possíveis risco de citotoxicidade em células da linhagem B16F10, enquanto que concentrações maiores que 50µg/ml sugerem um aumento no risco de citotoxicidade e concentrações acima de 100 µg/ml uma citotoxicidade maior que 55% a essa linhagem. As fotomicrografias demonstram que a linhagem estudada não apresentou alterações morfológicas após 48h de tratamento com o extrato.

5.4 Desenvolvimento das formulações

5.4.1 Desenvolvimento das bases e incorporação do extrato seco

As emulsões foram desenvolvidas com a finalidade de se obter uma base que tivesse compatibilidade com o extrato de seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh a ser incorporado.

Essa base, por ter uma finalidade cosmética, deveria ter algumas características importantes como por exemplo: ser hidratante, de toque seco e de rápida absorção, além de ter um aspecto bonito e estável. As bases de escolha foram do tipo creme.

Para o desenvolvimento das bases em creme, foram utilizadas literaturas que descrevem alguns tipos de formulações, como por exemplo, LEONARDI, 2004 e CAMPOS *et al.*, 1999.

As formulações encontradas foram reproduzidas e sofreram algumas modificações como: alterações na proporção de umectantes e emolientes com intuito de melhorar o aspecto físico das formulações. Na Tabela 2 estão descritas as matérias-primas que foram utilizadas para o desenvolvimento das bases.

Foram testadas cinco formulações de bases. Após 24 horas as características organolépticas de aspecto, cor e odor das bases foram analisadas, bem como o pH das mesmas. Todas as cinco bases foram aprovadas no teste e seguiram para a etapa de incorporação do extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (ESMD 7,5%) sem a presença de adjuvantes.

Foi incorporado às bases o ESMD 7,5% a uma concentração de 1% (p/p). O objetivo foi encontrar uma base que fosse compatível com o ESMD 7,5% puro. Em ensaios-piloto com esse mesmo extrato, foi identificada a concentração ideal a ser incorporada. Foram testadas concentrações de 1% (p/p), 1,5% (p/p) e 2% (p/p), de extrato a ser incorporado às bases, no entanto, essas concentrações maiores levaram a coalescência das formulações quando submetidas aos testes de pré-estabilidade, demonstrando serem concentrações incompatíveis com as bases testadas.

O ESMD 7,5% foi incorporado às bases de três maneiras: (1) incorporação direta do extrato seco, (2) incorporação do extrato seco diluído em propilenoglicol (q.s.) e (3) incorporação do extrato seco diluído em água (q.s.). Ao término da etapa de incorporação do ESMD 7,5% foram observadas as ocorrências de instabilidades. Cada uma das bases que tiveram o extrato seco incorporado conforme descrito anteriormente receberam a denominação FB.

Cada formulação do tipo FB foi classificada em 1, 2, 3, 4, e 5 (os números indicam o tipo de Base utilizada) e cada uma foi subdividida conforme o modo de incorporação do extrato em A (diluído em água), P (diluído em propilenoglicol) e D (incorporação direta), passando a serem classificadas FB1 A, P e D/ FB2 A, P e D e assim por diante.

Cada uma das formulações do tipo FB (1, 2, 3, 4, e 5) foram testadas dentro dos seus subtipos (A, P e D) nas concentrações de extrato: 1% gerando com isso 15 novas formulações que foram avaliadas em (1) uniformes e (2) não uniformes quanto ao aspecto físico das mesmas. Foram consideradas formulações uniformes àquelas que não formaram grumos e nem apresentaram finas granulações (aspecto arenoso). Na Tabela 9 estão os dados referentes ao aspecto físico das 15 formulações testadas nas concentrações

de 1% (p/p), 1,5%(p/p) e 2% (p/p) do ESMD 7,5% de acordo com o modo de incorporação do extrato.

Formulação (% em extrato)	Creme	Tipo de incorporação ESMD 7,5%	Aspecto Uniforme (U) Sem uniformidade (SU)
1-FB1 A 1%	1% de óleo de castanha	Diluído em água	SU
2-FB1 P 1%	1% de óleo de castanha	Diluído em propilenoglicol	U
3-FB1 D 1%	1% de óleo de castanha	Incorporação direta do pó	SU
4-FB2 A 1%	1% de manteiga de cupuaçu	Diluído em água	SU
5-FB2 P 1%	1% de manteiga de cupuaçu	Diluído em propilenoglicol	U
6-FB2 D 1%	1% de manteiga de cupuaçu	Incorporação direta do pó	SU
7-FB3 A 1%	1% de manteiga de karité	Diluído em água	SU
8-FB3 P 1%	1% de manteiga de karité	Diluído em propilenoglicol	U
9-FB3 D 1%	1% de manteiga de karité	Incorporação direta do pó	SU
10-FB4 A 1%	2% de manteiga de cupuaçu	Diluído em água	SU
11-FB4 P 1%	2% de manteiga de cupuaçu	Diluído em propilenoglicol	U
12-FB4 D 1%	2% de manteiga de cupuaçu	Incorporação direta do pó	SU
13-FB5 A 1%	2% de manteiga de karité	Diluído em água	SU
14-FB5 P 1%	2% de manteiga de karité	Diluído em propilenoglicol	U
15-FB5 D 1,5%	2% de manteiga de karité	Incorporação direta do pó	SU

Tabela 9. Aspecto físico (U= uniformes/ SU= sem uniformidade) das 15 formulações testadas após incorporação de ESMD 7,5% diluído em água, diluído em propilenoglicol e incorporação direta do pó na concentração de 1% de extrato seco.

A possível incompatibilidade do ESMD 7,5% com os excipientes das bases, bem como o modo de incorporação do extrato fez com que as mesmas perdessem algumas de suas características gerando alterações em seu aspecto físico. As incorporações cujo extrato foi adicionado diretamente a base e cujo extrato foi diluído em água, fez com que as formulações formassem grumos e finas granulações. O aspecto físico dessas formulações ficou com características arenosas.

Dentre as 15 formulações, foram escolhidas cinco formulações para serem submetidas ao teste de pré-estabilidade. As cinco formulações escolhidas foram as que apresentaram as melhores características organolépticas, com ênfase no aspecto dessas formulações, isto é, àquelas que se mostraram com um aspecto mais homogêneo e uma coloração mais atraente. As formulações que apresentaram melhor uniformidade quanto ao aspecto foram àquelas cujo ESMD 7,5% foi diluído em propilenoglicol.

A incorporação do extrato diluído em propilenoglicol não formou grumos e nem finas granulações, ao contrário, a formulação ficou bonita, apresentando-se como um creme de aspecto brilhante e de textura leve. Na Figura 7 podem ser observadas essas características de aspecto da formulação.

O aspecto de uma formulação no que se refere a sua homogeneidade e coloração é importante do ponto de vista comercial, uma vez que pode influenciar a compra do produto por parte do consumidor, que pode ou não se sentir atraído pela aparência do produto (ISAAC *et al.*, 2008).

No teste de pré-estabilidade apenas uma única formulação se manteve estável e não sofreu coalescência, sendo esta a que foi submetida aos testes seguintes de estabilidade. A instabilidade física de uma emulsão pode se manifestar através de um fenômeno chamado de coalescência, nesse processo, uma ou mais gotículas aproxima-se uma da outra com uma energia suficiente para fundirem-se formarem uma gotícula maior. Esse processo é irreversível e resultará na separação de fases da emulsão (ou quebra da emulsão) (TOPAN, 2012).

A formulação que se manteve estável foi a FB3 P 1% (p/p) de ESMD 7,5% diluído em propilenoglicol (q.s.) e base contendo 1% de manteiga de Karité representada pelo

número 8 e em negrito na Tabela 9. Na Figura 7 está representada a formulação FB3 P 1% de ESMD 7,5% que passou no teste de pré-estabilidade.



Figura 7: Formulação FB3 P 1% de ESMD 7,5% que passou no teste de pré-estabilidade.

FONTE: Autora

A quebra de fases das formulações contendo 1% de ESMD 7,5% incorporado à base contendo 1% e 2% de manteiga de cupuaçu e 2% de manteiga de Karité foi bem discreta, quase que imperceptível. Estas amostras foram deixadas sobre a bancada do laboratório, à temperatura ambiente por 24h; quando reavaliadas, apresentaram uma quebra de fase bem mais perceptível.

A quebra da formulação se deu por incompatibilidade do ESMD 7,5% com concentrações maiores das manteigas (2% de manteiga), e no caso da manteiga de cupuaçu 1%, pode ter sido por incompatibilidade do extrato com a própria manteiga de cupuaçu visto que, com a manteiga de Karité em mesma concentração de 1%, não ocorreu quebra de fases. Já a base contendo 1% de óleo de castanha teve quebra muito evidente de fases demonstrando que os constituintes dessa base são incompatíveis com ESMD 7,5%.

Desta maneira, a manteiga de Cupuaçu ou o óleo de castanha (*Bertholletia excelsa*) são incompatíveis com o extrato seco 7,5% de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, não podendo fazer parte da formulação como agentes de hidratação (emolientes).

5.4.2 Estabilidade Preliminar

A formulação que passou no teste de centrifugação foi submetida aos Estudos de Estabilidade Preliminar e recebeu uma nova identificação, isto é, passou a ser identificada, a partir desse momento, por F1 (Formulação 1).

As amostras (F1 e o Branco) foram submetidas a 8 ciclos alternados de congelamento ($-5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e descongelamento ($45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), estando estas sob controle de qualidade diário em relação às características organolépticas (aspecto, cor e odor) e físico-químicas (pH, densidade relativa e viscosidade).

Ao longo de 15 dias não houve alterações significativas em relação às características organolépticas, apenas em relação ao aspecto, houve uma discreta liberação de líquido em F1, porém alterações aceitáveis devido às variações extremas de temperatura (BRASIL, 2004).

As alterações em relação a cor e o odor foram imperceptíveis. Essas alterações quanto ao odor principalmente quanto a aparência do produto, podem acontecer devido as reações de oxidação causada pelo oxigênio atmosférico ou ainda pela ação de microrganismos, especialmente na fase oleosa. A reação de oxidação é um dos fatores que mais podem ocasionar a instabilidade de uma emulsão (ZANON, 2010)

Em relação ao pH do Branco e de F1, os mesmos não sofreram alterações significativas, mantiveram-se numa faixa de oscilação muito pequena desde o tempo zero

(t_0) e o 15º dia. O Branco manteve o pH numa faixa de 5,69 - 5,89 desde o t_0 ao t_{15} . Já F1 manteve um pH na faixa de 5,34 - 5,21 desde o t_0 ao t_{15} .

Durante esses 15 dias de análise de pH pode-se verificar que o Branco teve um discreto aumento no pH enquanto F1 teve uma discreta redução no pH. No entanto, apesar dessas discretas alterações, ambas amostras permaneceram dentro de uma faixa de pH compatível com pH cutâneo, pois a pele possui um pH levemente ácido (4,6- 6,5) (LEONARDI *et al.*, 2002, ISAAC *et al.*, 2008).

Valores muito baixos de pH em produtos para a pele podem gerar irritações dérmicas, e quando essas alterações de pH acontecem em um produto, isso pode estar relacionado à degradação de qualquer componente do fitocosmético (ISAAC *et al.*, 2008).

A Figura 8 representa a variação de pH ao longo dos 15 dias de análise, tanto para o Branco quanto para F1

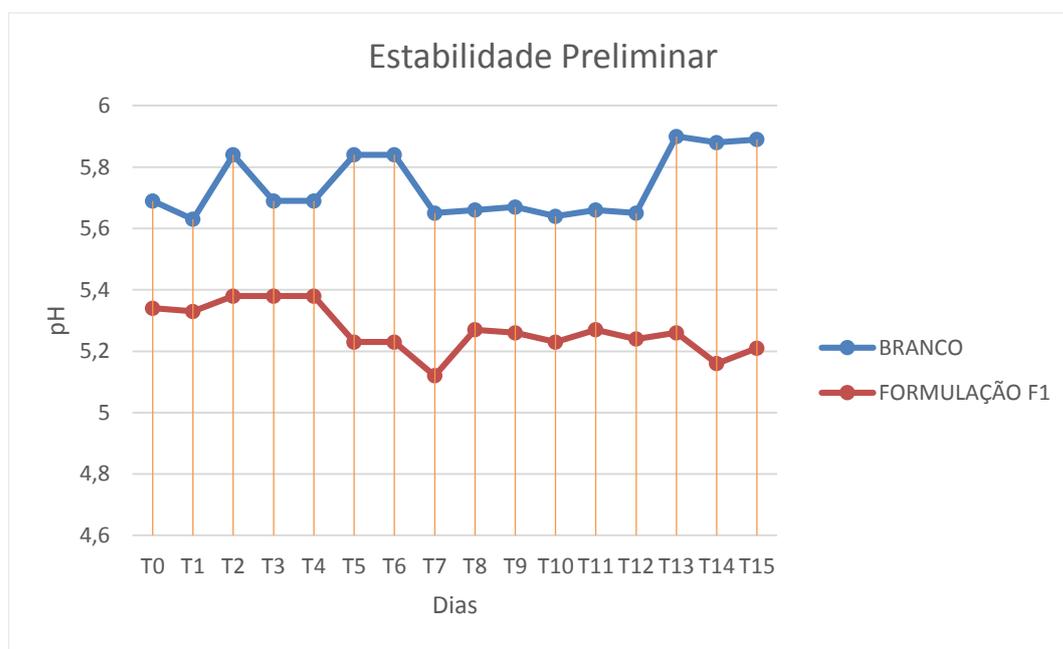


Figura 8: Gráfico com a variação de pH do Branco e da Formulação F1 no Estudo de Estabilidade Preliminar de 15 dias em 8 alternados de Gelo-Degelo- $5^{\circ}\text{C}\pm 2/45^{\circ}\text{C}\pm 2$).
 FONTE: Autora

Quanto à densidade das amostras, vale ressaltar que a densidade relativa é representada pela relação entre a densidade absoluta de uma determinada substância e a densidade absoluta de uma outra substância tida como padrão, no caso, a água. A densidade relativa de líquidos e semissólidos poderá indicar que a amostra sofreu a incorporação de ar ou a perda de constituintes voláteis da formulação (BRASIL, 2004).

A densidade relativa do Branco e de F1 foram de 0,9544 ($\pm 0,001$) e 0,9465 ($\pm 0,001$), respectivamente, apresentando ambas, praticamente o mesmo comportamento. Tendo sido as amostras submetidas as análises de qualidade diariamente, observou-se também mínimas variações da densidade de um dia para outro, a contar do tempo zero (t_0 - primeiro dia de análise) até o tempo 15 (t_{15} - último de dia de análise), tanto para o Branco quanto para F1.

Na Tabela 10 estão os resultados diários referentes aos parâmetros organolépticos ao longo dos 15 dias de análise tanto do Branco quanto da Formulação (F1) no estudo de Estabilidade Preliminar.

Parâmetros Organolépticos	Dias de teste															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Branco	Cor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Odor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Aspecto	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Form. (F1)	Cor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Odor	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	Aspecto	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Tabela 10. Determinação subjetiva das características organolépticas durante a Estabilidade Preliminar. Legendas - Quanto à cor e odor: (N) Normal, sem alteração; (LS) Levemente separado/precipitado/turvo; (S) Separado/precipitado/turvo.

No que se refere a viscosidade, esta é a medida da resistência interna de uma substância ao fluxo quando submetida a uma tensão. A deformação da substância analisada pode ser do tipo elástica ou plástica. A deformação elástica ocorre quando a amostra analisada adquire a sua forma inicial, enquanto que na deformação plástica ocorre uma permanência da deformação (WOOD, 2001).

A reologia consiste no estudo do escoamento ou deformação dos materiais que estão sendo analisados, sejam eles sistemas líquidos, semissólidos ou sólidos, quando estes são submetidos a uma tensão. Dentro das características reológicas os conceitos de viscosidade, elasticidade e plasticidade, taxa de cisalhamento e tensão de cisalhamento estão intimamente relacionados (WOOD, 2001)

Quanto a reologia, a sua quantificação se dá pela medida da tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, sendo a representação gráfica da tensão *versus* taxa de cisalhamento denominada de reograma (ALVES, 2006). De acordo com o comportamento reológico assumido pelos sistemas em estudo os fluxos podem ser newtonianos ou não newtonianos (ALVES, 2006).

Para a avaliação do comportamento reológico do Branco na estabilidade preliminar, fez-se a análise do diagrama de tensão de cisalhamento (N/m^2) em função da taxa de cisalhamento (s^{-1}) e o diagrama de viscosidade em função da velocidade de agitação, respectivamente, nas Figuras 9 e 10.

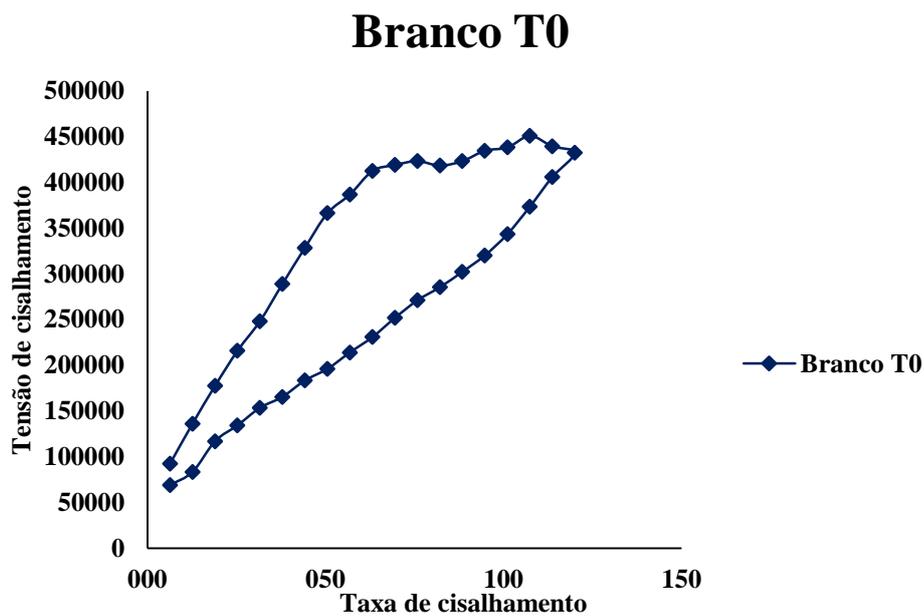


Figura 9: Comportamento reológico do Branco no tempo zero (estudo da estabilidade preliminar - ciclo gelo-degelo).

FONTE: Autora.

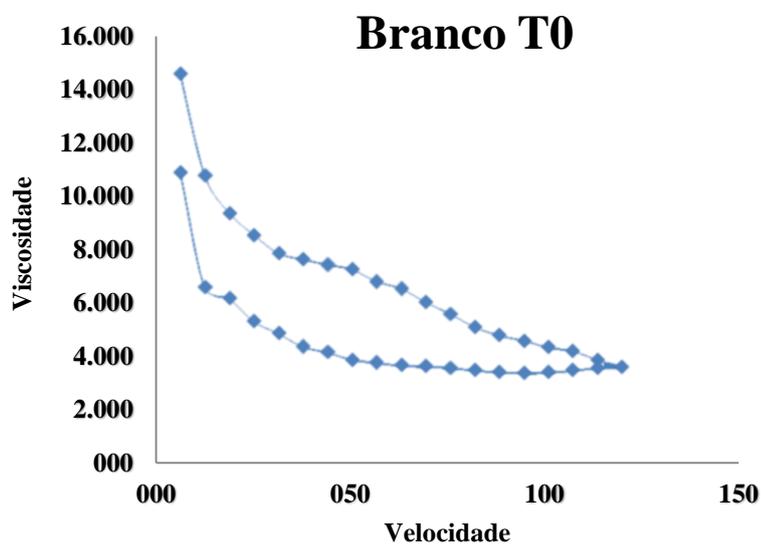


Figura 10: Comportamento da variação da viscosidade versus velocidade de agitação do Branco no tempo zero (estudo da estabilidade preliminar - ciclo gelo-degelo).

FONTE: Autora.

Nesta análise para o Branco no tempo zero, observou-se a presença de um modelo não linear e a ocorrência do fenômeno de tixotropia formando uma área de histerese. O Branco apresenta uma curva característica de fluidos não-newtonianos representando um comportamento do tipo pseudoplástico ou *Shear thinning*. Observando-se a viscosidade do Branco, nota-se que ela vai diminuindo conforme a velocidade de agitação vai aumentando, sendo a viscosidade *versus* velocidade de agitação se comportado como grandezas inversamente proporcionais.

A mesma análise foi realizada para determinar o comportamento reológico de F1 na estabilidade preliminar, conforme representando nas Figuras 11 e 12.

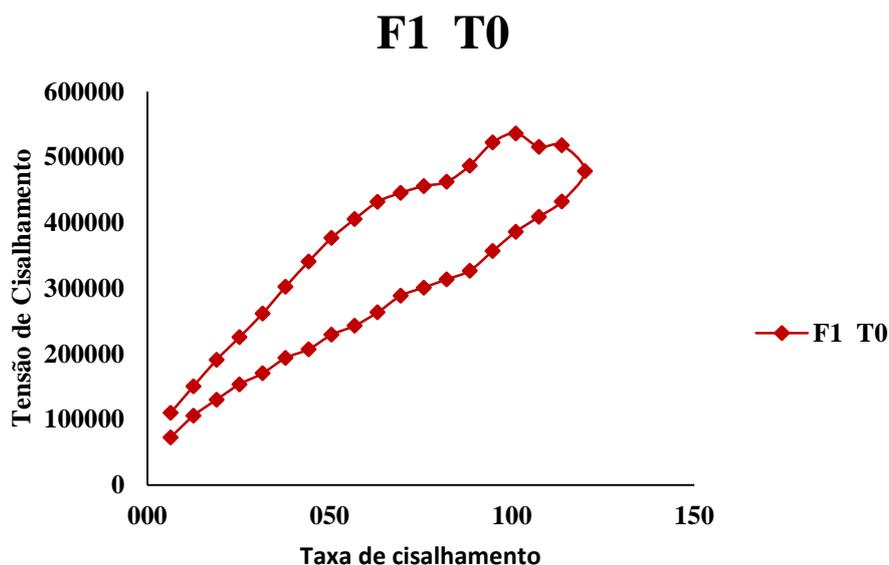


Figura 11: Comportamento reológico da Formulação 1 (F1) no tempo zero (estudo de estabilidade preliminar – ciclo gelo-degelo).

FONTE: Autora.

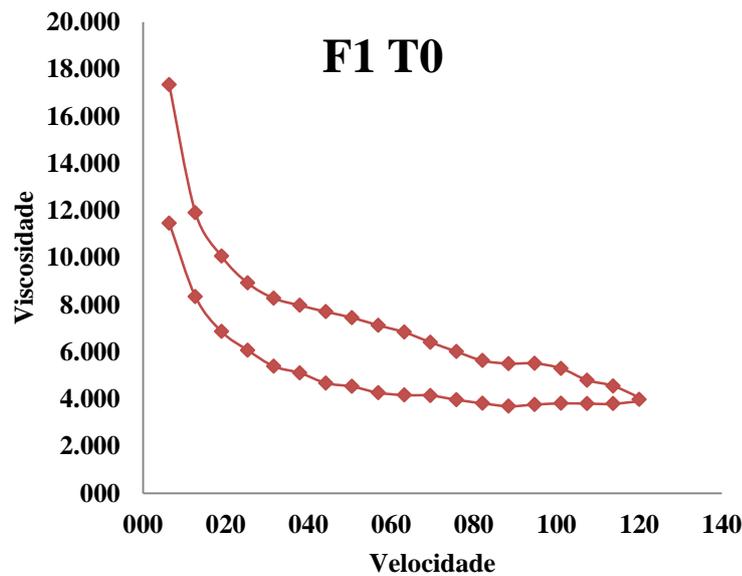


Figura 12: Comportamento reológico da Formulação 1 (F1) no tempo zero (estudo de estabilidade preliminar – ciclo gelo-degelo).
FONTE: Autora.

A análise do comportamento reológico da formulação F1 no tempo zero demonstrou a presença de um modelo não linear e a ocorrência do fenômeno de tixotropia formando uma área de histerese, característica típica de um comportamento pseudoplástico de sistemas com fluxo não-newtoniano. A viscosidade de F1 diminui conforme a velocidade de agitação aumenta. Tanto o Branco quanto F1 apresentaram o mesmo comportamento reológico no Tempo zero, com reogramas semelhantes.

Para a avaliação do comportamento reológico do Branco na estabilidade preliminar no Tempo 15 (término do ciclo gelo-degelo), fez-se também a análise do diagrama de viscosidade em função da velocidade de agitação e do diagrama de tensão

de cisalhamento (N/m^2) em função da taxa de cisalhamento (s^{-1}) como representado, respectivamente, na Figuras 13.

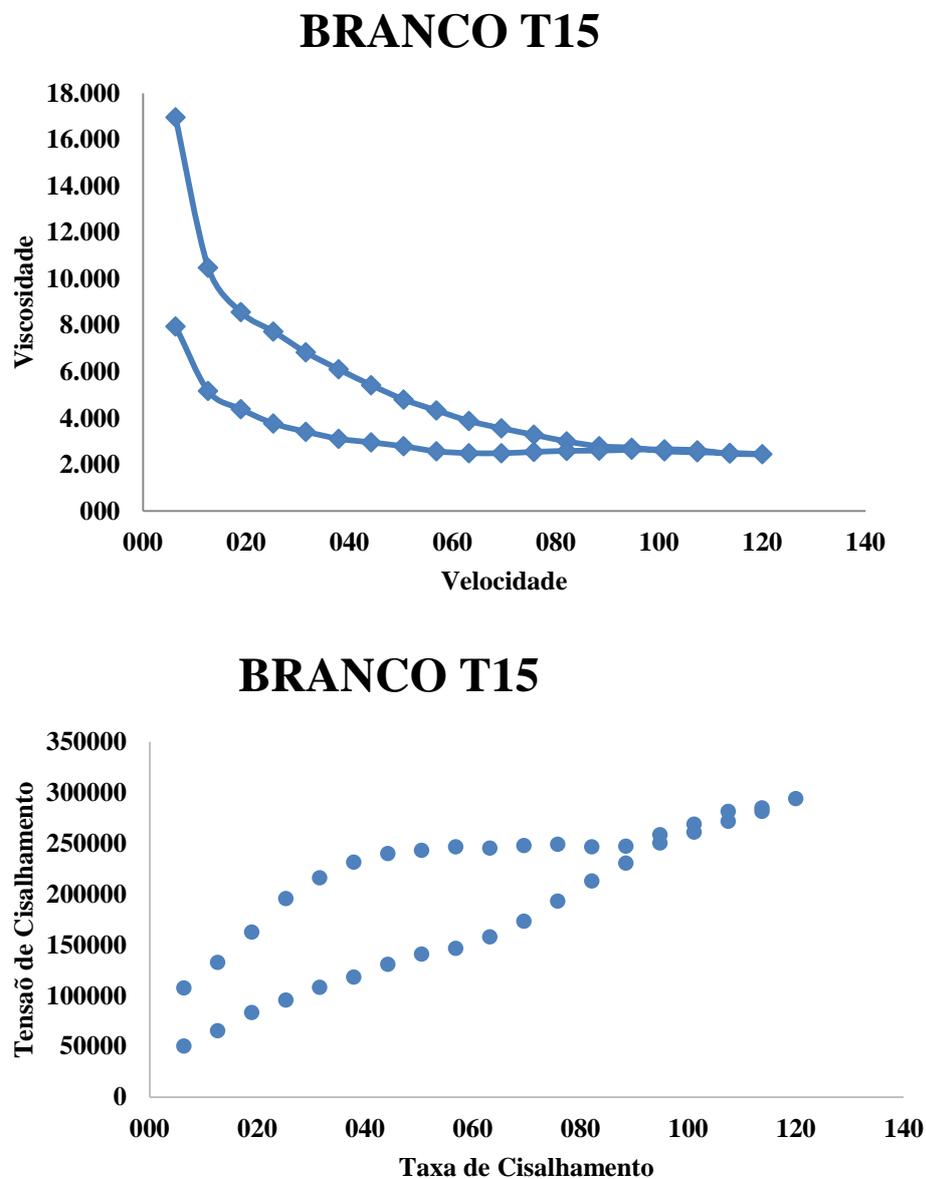


Figura 13: Diagrama de viscosidade em função da velocidade de agitação e diagrama de tensão de cisalhamento (N/m^2) em função da taxa de cisalhamento (s^{-1}) do Branco no estudo da estabilidade preliminar.
FONTE: Autora.

Comparando-se o comportamento reológico do Branco no Tempo zero com o Branco no tempo 15 (término do teste estabilidade preliminar), pode-se observar que o modelo se manteve não linear característico de fluxo não newtoniano com comportamento pseudoplástico, porém houve uma discreta diminuição do fenômeno de

tixotropia, logo uma diminuição da área de histerese, havendo sobreposição de alguns pontos do ramo ascendente e descendente do reograma.

Ao se observar o comportamento da Formulação (F1) no Tempo 15, isto é, ao término do estudo de estabilidade preliminar, nota-se que, assim como o Branco, a formulação também se manteve em modelo não linear, caracterizando o fluxo não newtoniano do tipo pseudoplástico.

Comparando-se F1 no tempo zero com F1 no tempo T15, observa-se também uma discreta diminuição do fenômeno de tixotropia, logo diminuição na área de histerese. No entanto, diferentemente do Branco, não houve sobreposição entre a curva ascendente e descendente do reograma, conforme representado nas Figura 14.

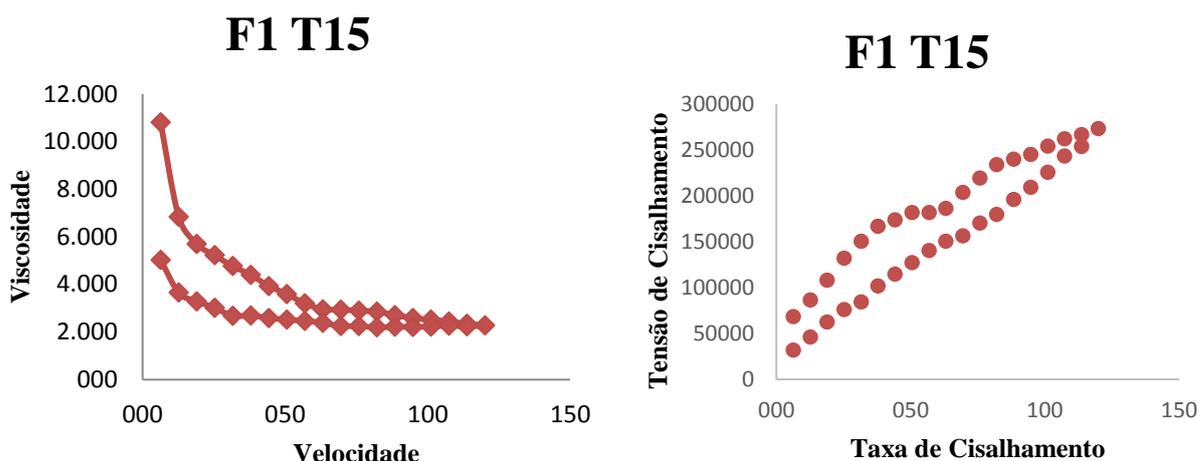


Figura 14: À esquerda o comportamento da variação da viscosidade versus velocidade de agitação da Formulação (F1) no Tempo 15 (término estudo da estabilidade preliminar-ciclo gelo-degelo) e à direita o comportamento reológico da Formulação (F1) no Tempo 15 (término do estudo da estabilidade preliminar).
 FONTE: Autora.

A viscosidade de F1 e do Branco não se mantiveram constantes durante o estudo pois esta diminuía conforme a velocidade de agitação (taxa de cisalhamento) aumentava, esse tipo de comportamento é comum para fluidos com fluxo não-newtoniano.

Nos sistemas com fluxo não-newtonianos não há uma relação linear direta entre tensão e taxa de cisalhamento aplicada. O fluxo não-newtoniano é o observado em sistemas como emulsões (MARRIOTT, 2009). Já os sistemas com fluxo newtoniano são caracterizados por apresentar uma viscosidade constante independente da taxa de cisalhamento. Normalmente são materiais quimicamente puros ou soluções com soluto de massa molar reduzida (ALVES, 2006; WOOD, 2001).

Os fluidos não newtonianos podem apresentar diferentes comportamentos, e isto determina diferentes tipos de reogramas, como por exemplo: plástico de Bingham, pseudoplástico com valor de cedência, pseudoplástico, dilatantes, como representado na Figura 15. Muitas das formulações cosméticas apresentam um comportamento do tipo pseudoplástico, em especial as emulsões e os géis (KAWATRA *et al.*, 1996; KIM *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2004; MILAN *et al.*, 2007).

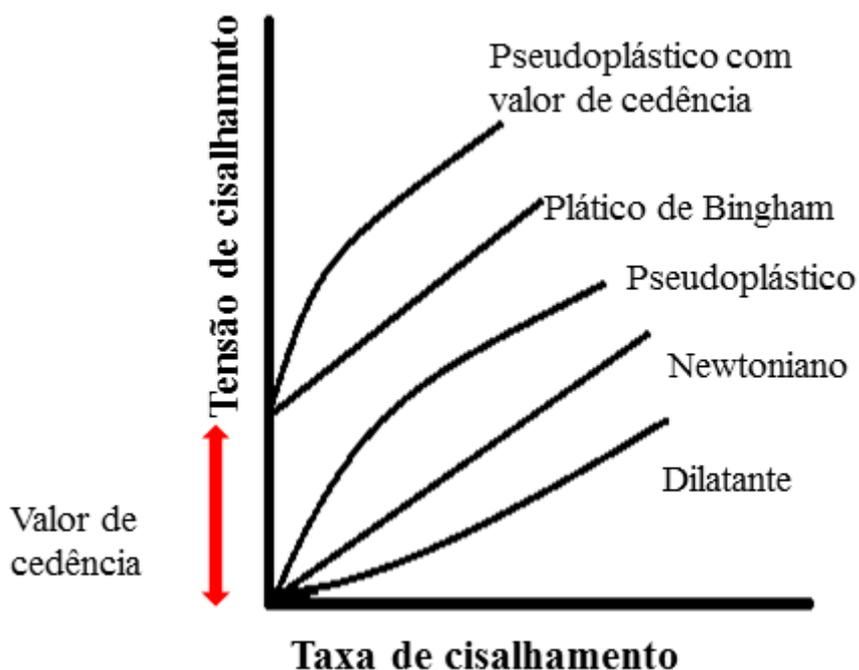


Figura 15. Comportamentos reológicos. : Comportamentos reológicos. FONTE: RIBEIRO, 2015 (Adaptado de KAWATRA *et al.*, 1996)

Quando a tensão de cisalhamento diminui a estrutura do sistema pode ou não se recuperar imediatamente. Caso aconteça uma recuperação imediata, os ramos ascendentes e descendentes dos reogramas são idênticos e se sobrepõem. No entanto, se não houver uma recuperação imediata da estrutura do sistema, o ramo descendente do reograma irá apresentar valores de tensão inferiores ao do ramo ascendente para cada valor referente a taxa de cisalhamento (WOOD, 2001).

Quando um sistema apresenta um reograma cujo ramo ascendente e descendentes não são idênticos e que não se sobrepõem, diz-se que o sistema apresenta tixotropia.

A tixotropia de um sistema é representada por uma histerese, isto é, por uma área formada entre as curvas ascendentes e descendentes obtidas no reograma como mostra a Figura 16 (WOOD, 2001).

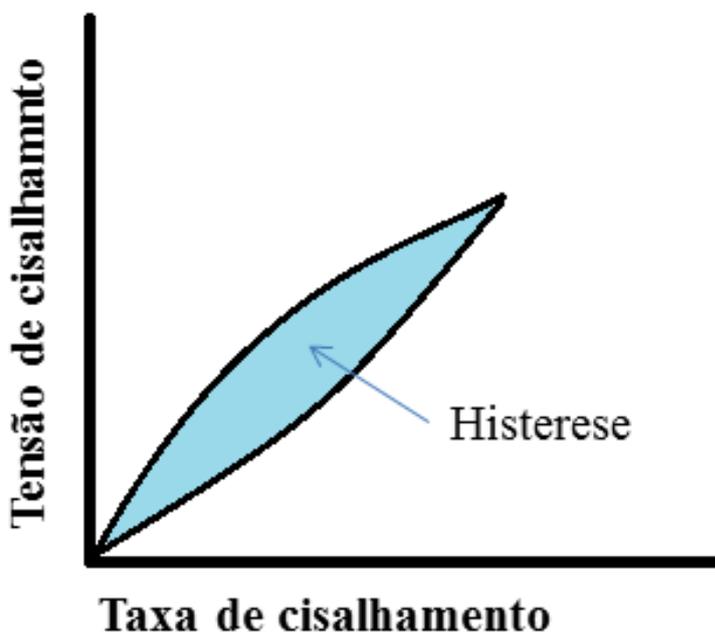


Figura 16: Reograma apresentando tixotropia com a histerese (área formada pela curva ascendentes e descendente que não se sobrepõem).
FONTE: RIBEIRO, 2015.

Desta forma, a Formulação F1 e seu respectivo Branco mantiveram as suas características reológicas inalteradas durante o estudo de estabilidade preliminar; sendo, portanto, classificadas como sistemas de fluxo não-newtonianos de comportamento pseudoplástico, com variação da viscosidade diretamente proporcional ao aumento da tensão de cisalhamento aplicada, apresentando também o fenômeno de tixotropia com a formação da área de histerese.

Quando o fenômeno de tixotropia ocorre num sistema isso indica que houve um desmonte na estrutura tridimensional do mesmo e esse fato é de importante interesse na tecnologia farmacêutica de semissólidos, uma vez que produtos tixotrópicos tornam-se mais fluidos quando submetidos a uma pressão externa, espalhando-se mais facilmente na região a qual estão sendo aplicados e recuperando a viscosidade inicial no momento em que a aplicação é concluída, impedindo que o produto escorra durante o procedimento. (CORRÊA *et al.*, 2005; MILÃO, 2001; MORAIS *et al.*, 2005).

Na Tabela 11 está um resumo generalizado dos parâmetros organolépticos e parâmetros físico-químicos referentes ao Branco e a F1 ao término dos 15 dias de análise.

PARÂMETROS ORGANOLÉPTICOS	BRANCO	FORMULAÇÃO 1 (F1)
Cor	Branco	Marrom-Claro
Odor	Característico	Característico
Aspecto	Homogêneo e brilhante	Homogêneo e brilhante
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS		
pH	Faixa 5,69 - 5,89	Faixa de 5,34 -5,21
Densidade	0,9544	0,9465
Comportamento reológico	Pseudoplástico (Fluxo não-newtoniano)	Pseudoplástico (Fluxo não-newtoniano)

Tabela 11. Descrição dos parâmetros organolépticos (aspecto, cor e odor) e físico-químicos do Branco e Formulação (F1) desde o tempo zero (T0) ao tempo 15 (T15) da Estabilidade preliminar (Ciclo Gelo-Degelo).

5.4.3 Estabilidade Acelerada

Como a formulação F1 passou no teste de Estabilidade Preliminar, mostrando-se estável, esta foi submetida ao Estudo de Estabilidade acelerada com a finalidade de se obter um produto final, bem como uma estimativa quanto ao prazo de validade desse produto.

As análises de qualidade realizadas dentro do estudo de estabilidade acelerada, tanto para F1 quanto para o Branco, foram análises físico-químicas (pH, densidade e viscosidade) e características organolépticas (cor, odor, aspecto). Um conjunto de amostras, isto é, F1 e o Branco foi submetido à temperatura de 40°C (± 2) em estufa, um segundo conjunto de amostra de F1 e o Branco foi submetido à temperatura de 5°C (± 2) em refrigerador e um terceiro conjunto de amostra de F1 e o Branco foi submetido à temperatura de 25°C (± 2), ao ambiente.

As análises físico-químicas, isto é, a determinação do pH, da densidade e da viscosidade, bem como a avaliação subjetiva das características organolépticas (cor, odor e aspecto) foram feitas em cada um dos conjuntos anteriormente citados.

A determinação do pH é um parâmetro analítico muito importante uma vez que alterações no pH podem levar a modificações nas características dos componentes da formulação, inclusive alterações físico-químicas do princípio ativo levando a instabilidades e comprometimento na qualidade do produto no que diz respeito a sua segurança e eficácia (BUGNOTO *et al.*, 2006).

O pH das amostras que permaneceram sob temperatura ambiente, estufa e refrigerador, manteve-se praticamente inalterado, desde o primeiro dia da análise (T_{inicial}) ao último dia de análise (T_{final}), conforme representado na Tabela 12. O pH das amostras

F1 que ficaram no Ambiente e na Estufa tiveram uma discreta diminuição do pH, enquanto que a amostra F1 que permaneceu na geladeira teve um leve aumento do pH.

Para a amostra F1 que permaneceu no Ambiente, é possível que essa redução no seu pH seja mais por conta da presença do ESMD 7,5% que alterações provenientes da temperatura ambiente, uma vez que o seu respectivo Branco não sofreu nenhuma alteração de pH.

Para a amostra F1 que permaneceu na Estufa, a redução no pH pode ser decorrente tanto da presença do ESMD 7,5% quanto da própria elevação da temperatura que promoveu alterações não apenas no extrato, mas também em algum dos ingredientes da base, visto que também houve uma leve redução no pH do Branco.

Já a amostra F1 que ficou sob refrigeração teve o pH aumentado, e o Branco também teve um discreto aumento de seu pH, isso pode ter ocorrido devido a presença do ESMD 7,5% ou por conta da diminuição da temperatura que talvez tenha levado a eventuais modificações no extrato ou nos ingredientes da base.

Como o pH do Branco que esteve no Ambiente, na Estufa e na Geladeira permaneceu em seu Tempo final numa faixa de 5,69 -5,70, quase que inalterado, é bem provável que as alterações em F1 sejam mais por conta da presença do ESMD 7,5% que tende a sofrer modificações em suas características reduzindo o pH da formulação à medida que a temperatura ultrapassa 25°C (Temperatura ambiente) ou tende a aumentar o pH da formulação à medida que a temperatura vai ficando abaixo de 25°C (Temperatura ambiente).

Conforme os resultados obtidos, é mais provável que as alterações no pH de F1 sejam mais decorrentes de modificações no ESMD 7,5% devido às mudanças de temperatura (acima ou abaixo de 25°C) que às alterações nos ingredientes da base. De

qualquer forma, apesar das discretas alterações no pH de F1, os resultados obtidos para o mesmo mantiveram-se dentro da faixa esperada (4,6 - 6,5) que é compatível com o pH cutâneo.

O resumo dos resultados referentes ao pH dos conjuntos de amostras do Branco e Formulação, (F1) desde o início até ao término do estudo da estabilidade acelerada pode ser visto na Tabela 12.

pH	AMBIENTE		ESTUFA		REFRIGERADOR	
	(25°C)		(40°C)		(5°C)	
	Branco	F1	Branco	F1	Branco	F1
Tempo inicial	5,69	5,26	5,69	5,14	5,69	5,49
Tempo final	5,69	5,21	5,68	5,10	5,70	5,54

Tabela 12. pH do Branco e da Formulação F1 no estudo de estabilidade acelerada.

Os resultados referentes a determinação da densidade relativa dos conjuntos de amostras F1 e Branco, nos tempos inicial e final, estão representados na tabela 13.

DENSIDADE	AMBIENTE		ESTUFA		REFRIGERADOR	
	(25°C)		(40°C)		(5°C)	
	Branco	F1	Branco	F1	Branco	F1
Tempo inicial	0,9685	0,9395	0,9682	0,9366	0,9687	0,9374
Tempo final	0,9631	0,9583	0,9629	0,9613	0,9684	0,9484

Tabela 13. Densidade relativa da Formulação F1 e do Branco (conjunto Ambiente, Estufa e Refrigerador) no estudo de Estabilidade acelerada.

A densidade relativa das amostras F1 aumentaram ao longo do estudo, enquanto que as amostras referentes ao Branco tiveram discretas alterações em sua densidade. A amostra F1 que teve o maior aumento em sua densidade foi a que esteve mantida na estufa, e ao término do estudo a sua densidade ficou muito próxima a densidade final do seu respectivo Branco.

Já a densidade relativa das amostras mantidas à temperatura ambiente e no refrigerador também tiveram um aumento ao longo do estudo, porém em comparação aos seus respectivos Brancos permaneceram com a densidade menor. Tais variações de densidade são aceitáveis, por serem inferiores a 10%, permanecendo, desta forma, dentro do limite-padrão (ISAAC *et al.*, 2008).

Quanto ao comportamento reológico dos Brancos submetidos as diferentes temperaturas, os resultados estão representados por reogramas na Figura de 17-A,B,C,D).

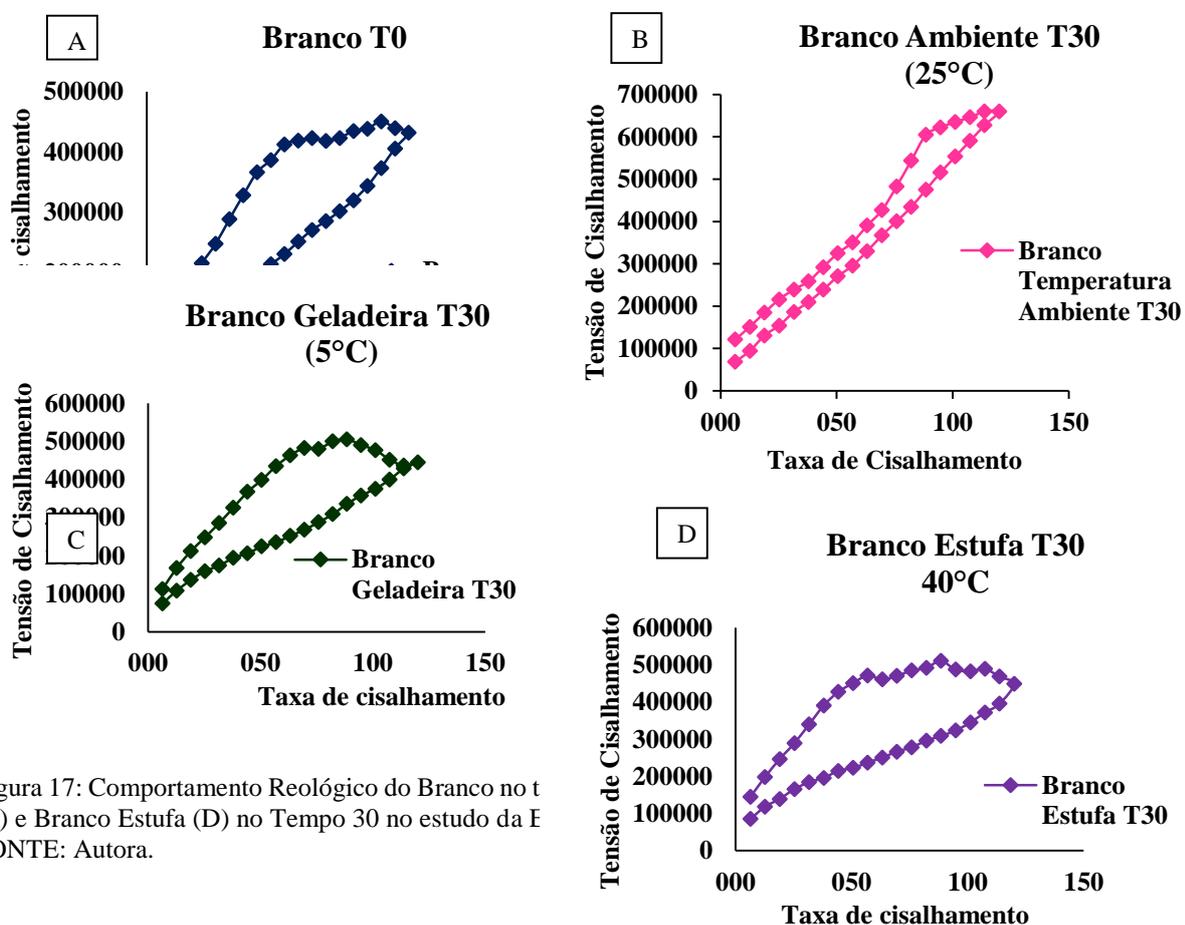


Figura 17: Comportamento Reológico do Branco no t (C) e Branco Estufa (D) no Tempo 30 no estudo da F
 FONTE: Autora.

eladeira

Ao se analisar os reogramas dos Brancos que foram mantidos à temperatura Ambiente, na Geladeira e na Estufa no Tempo 30 em relação ao reograma do Branco no Tempo zero, observa-se que todos mantiveram o comportamento reológico pseudoplástico característico de sistemas não-newtonianos, com diminuição da viscosidade em função da taxa de cisalhamento. Observa-se também que todas sofreram o fenômeno de tixotropia com formação da área de histerese.

A área de histerese formada pela amostra que se manteve sob temperatura ambiente foi menor em relação à histerese das amostras mantidas sob a temperatura de 5°C (na geladeira) e 45° (na estufa). A área de histerese destas amostras após 30 dias foi a que mais se assemelhou com a amostra do Tempo zero.

Desta forma, o Branco testado neste estudo de estabilidade acelerada manteve as suas características organolépticas e físico-químicas ao longo dos dias, portanto esse Branco não apresentou instabilidade física e nem química que pudesse gerar instabilidades na formulação, sendo este branco uma emulsão resistente e favorável à incorporação do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh para o desenvolvimento de uma possível formulação cosmética de uso tópico.

Visto que Branco apresentou características favoráveis ao desenvolvimento de uma formulação cosmética para uso tópico, vamos avaliar agora a interação do extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh com esta base. Os reogramas referentes ao comportamento reológico da Formulação (F1) submetidas as diferentes temperaturas durante o estudo da estabilidade acelerada, do Tempo zero e do último dia do estudo, estão representados a Figura 18 (A, B, C, D).

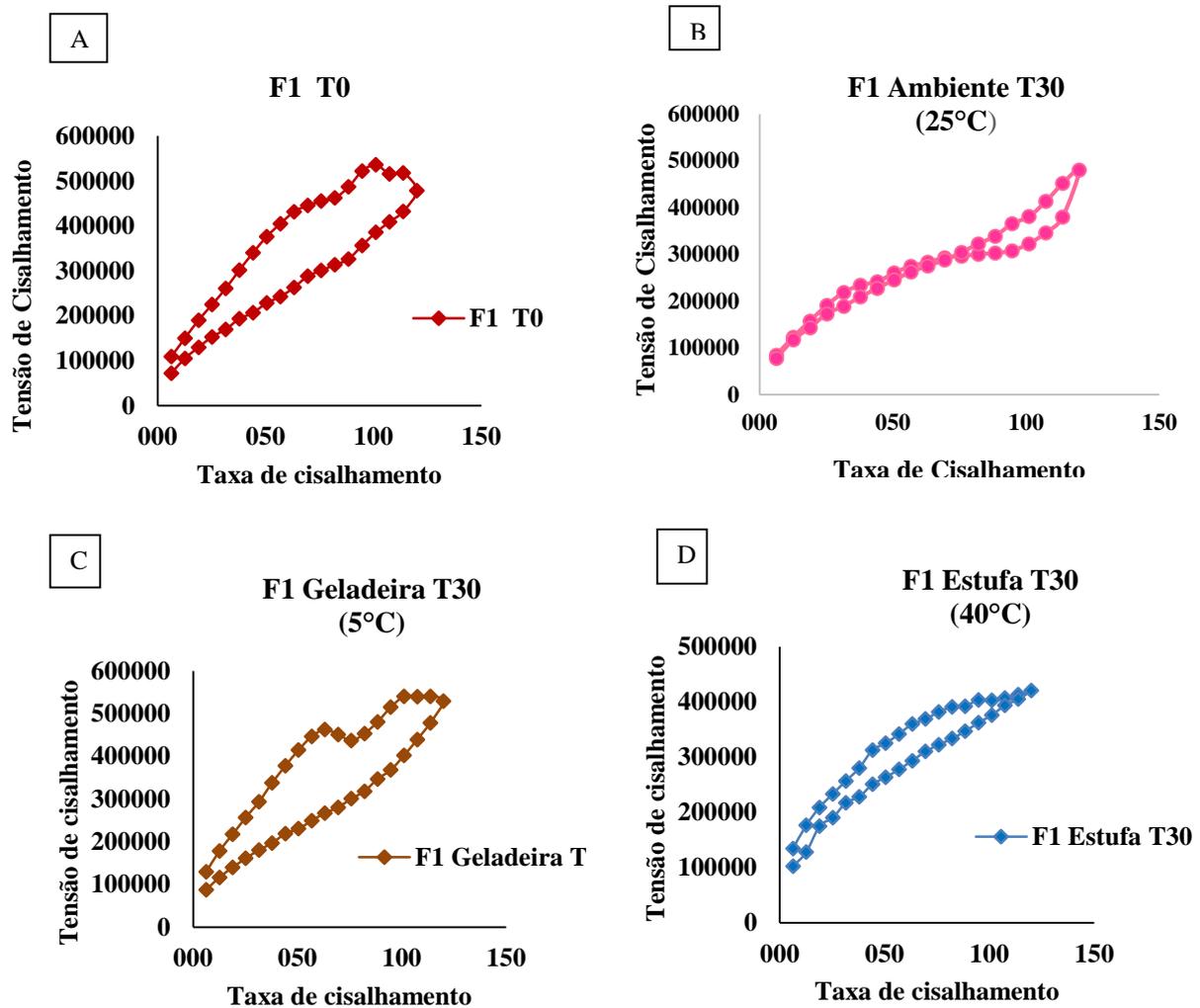


Figura 18: Reogramas demonstrando o comportamento Reológico da Formulação F1 no tempo zero (A) em relação a Formulação F1 Ambiente (B), Formulação F1 Geladeira (C) e Formulação F1 Estufa (D) no Tempo 30 no estudo da Estabilidade acelerada. FONTE: Autora.

Ao se comparar os reogramas das três amostras da Formulação F1 que foram mantidas uma à temperatura Ambiente, outra na Geladeira e outra na Estufa no Tempo 30 em relação ao reograma da Formulação F1 no Tempo zero, observa-se que todas mantiveram o comportamento reológico pseudoplástico característico de sistemas não-newtonianos. Observa-se também que todas sofreram o fenômeno de tixotropia com formação da área de histerese.

A área de histerese formada pela amostra F1 que se manteve sob temperatura ambiente foi significativamente menor em relação à histerese das amostras mantidas sob a temperatura de 5°C (na geladeira) e 45° (na estufa), apresentando até mesmo, em alguns momentos, sobreposição de pontos entre a curva ascendente e a descendente.

Já a amostra F1 que ao término do estudo manteve uma maior área de histerese foi a que esteve submetida à temperatura de 5°C (na geladeira). A área de histerese desta amostra F1, ao término do estudo, foi a que mais se assemelhou com a amostra F1 do Tempo zero.

Apesar da amostra F1 da estufa ter apresentado uma área menor de histerese em comparação a F1 no tempo zero, não ocorreu significativa sobreposição de pontos entre a curva ascendente e descendente do reograma.

Observa-se também que o extrato seco de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh que foi incorporado à base não alterou o comportamento reológico da mesma, apenas gerou um estreitamento entre as curvas ascendentes e descendentes (histerese), sendo isto mais evidente nas amostras da formulação F1 mantidas à temperatura ambiente e à temperatura de 40°C.

Sendo assim, o extrato seco contribuiu para essa diferença pois ao se comparar F1 ambiente com o Branco Ambiente, e F1 Estufa com o Branco Estufa; a diferença da área de histerese entre eles é perceptível; em que a amostra F1 da Estufa em comparação ao seu respectivo Branco teve uma significativa redução da área, enquanto que a amostra F1 Ambiente e seu respectivo Branco teve, além da redução da área, uma sobreposição da curva ascendente e descendente em alguns pontos.

No entanto, em relação todas as amostras F1 analisadas, observa-se que estas não seguiram um comportamento linear da viscosidade em relação a tensão de cisalhamento

(*shear stress*) e a taxa de cisalhamento (*shear rate*), mantendo, desta forma, o fluxo não-newtoniano o que caracteriza o comportamento pseudoplástico, próprio das emulsões.

Desta forma, a Formulação F1 ao término do estudo de estabilidade acelerada manteve as suas características organolépticas (cor, odor e aspecto) e físico-químicas (pH, viscosidade, densidade) dentro dos padrões aceitáveis para uma emulsão cosmética de uso tópico utilizando-se como princípio ativo o extrato seco puro das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, visto que a base testada foi compatível com o extrato.

6 CONCLUSÃO

As sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh apresentaram boas características físico-químicas como droga vegetal; desta forma, essa matéria-prima pode ser utilizada tanto para a obtenção de extratos líquidos quanto de extratos secos por aspersão, bem como a utilização deste extrato seco como componente ativo no desenvolvimento de formulações cosméticas semissólidas.

Em relação a formulação desenvolvida com o extrato seco 7,5% das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh esta manteve-se dentro dos parâmetros preconizados para formulações cosméticas semissólidas de uso tópico, apresentando-se estável quanto aos parâmetros organoléuticos (cor, odor e aspecto) e físico-químicos (comportamento reológico, pH) mostrando com isso uma compatibilidade do extrato seco das sementes com a base semissólida testada.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi alcançado. As sementes da espécie vegetal *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, tidas como resíduos orgânicos, foram aproveitadas como matéria-prima vegetal para o desenvolvimento de uma formulação cosmética semissólida sendo, o extrato seco dessas sementes, o componente ativo da formulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDILLE, M. D.; SINGHA, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 891– 896, 2005.
- ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, acessado em 08 de julho de 2015, às 15:00h.
- AGATI, G.; AZZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, n. 0, p. 67-76, 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para a realização de estudos de estabilidade**. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 01 ago. 2005.
- ALAMILLA-BELTRÁN, L.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; JIMÉNEZ-APARICIO, A. R.; GUTIÉRREZ-LOPÉZ, G. F. Description of morphological changes of particles along spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1-2, p. 179-184, 2005.
- ALMEIDA, R. R.; LACERDA, L. G.; MURAKAMIB, F. S. BANNACHD, G.; DEMIATEA, I. M.; SOCCOL, C. R.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; SCHNITZLER, E. Thermal analysis as a screening technique for the characterization of babassu flour and its solid fractions after acid and enzymatic hydrolysis. **Thermochimica Acta**, 519, p. 50–54, 2011.
- ALVES, M. P. Formas farmacêuticas plásticas contendo nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões de nimesulida: desenvolvimento caracterização e avaliação da permeação cutânea *in vitro*. 2006. 166 f. **Tese** (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- ALVES, Marta Palma. Formas farmacêuticas plásticas contendo nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões de nimesulida: desenvolvimento caracterização e avaliação da permeação cutânea *in vitro*. 2006. 183 f. **Tese** (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; ARAUJO, N.C.C., ALMEIDA, A.S. Camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): A rich natural source os vitamin C. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 46, p. 11-13, 2002.

ARARUNA, S.M.; SILVA, A.H.; CANUTO, K.M.; SILVEIRA, E.R.; LEAL, L.K.A.M. Influence of process conditions on the physicochemical characteristics of cumaru (*Amburana cearensis*) powder produced by spray drying. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, jan./feb. 2012.

ATTWOOD, D. Sistemas dispersos. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**, 2^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, cap. 4, p. 98-111.

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

BABY, A. R. HAROUTIOUNIAN-FILHO, C. A.; SARRUF, F. D.; TAVANTE-JÚNIOR, C. R.; PINTO, C. A. S. O.; ZAGUE, V.; ARÊAS, E. P. G.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 233-248, 2008.

BAE, H.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JIFON, J.; PATIL, B. S. Extraction efficiency and validation of HPLC method for flavonoid analysis in peppers. **Food Chemistry**, v. 130, p. 751-758, 2012.

BANNACH, G.; PERPÉTUO, G. L.; CAVALHEIRO, E. T. G.; CAVALHEIRO, C. C. S.; ROCHA, R. R. Efeitos da história térmica nas propriedades do polímero PET: Um experimento para ensino de análise térmica. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1825-1829, 2011.

BARATA, A. F. **Cosméticos, Arte e Ciência**. Lisboa: Lidel, 2002. 279 p.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991. 377 p. v. 2.

BAUER, J.; PHILLIPS, L. G. Pressure sores. Plastic and reconstructive surgery. **Galveston**, v. 121, n. 1, p. 1-10, jan. 2008.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais-DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849 - 855, 2002.

BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 153. p. 224-233, 2014.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, out./dez., 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie**. London, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Farmacopeia Brasileira V**, 5ª ed. Brasília, 2010. V. 1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Séries Temáticas: Qualidade 1. **Guia de Estabilidade de produtos cosméticos**. v.1, 45 p. Brasília, 2004.

BUGNOTTO, C. SOARES, G.; LAPORTA, L. V.; ALVES, M. P.; SCHMIDT, C. A.; LIMBERGER, J. B. Estudo de estabilidade de formulação tópica contendo própolis. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2006.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytoterapeutic agents). **Brazilian Journal Of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CAMLOFSKI, Ana Meyre de Oliveira. Caracterização do fruto de Cerejeira ‘*Eugenia involucrata* DC’ visando seu aproveitamento tecnológico. 2008. **Dissertação** (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

CARDOSO, N. K. Desenvolvimento tecnológico de extratos vegetais padronizados a partir de *Lafoensia pacar* A. St. - Hill (Lythraceae). 2013.94 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

CARVALHO, J. P.; SANTOS, A. S.; SÁ A. S.; TEIXEIRA, C. S.; NOGUEIRA, M. S. Estabilidade de medicamentos no âmbito farmacológico. **Revista FÁrmacos e Medicamentos**, v. 34, n. 6, p. 22-7, 2005.

CARVALHO, M. J.; PEDROSA, T. N.; GUILHON-SIMPLÍCIO, F.; NUNES, C. V.; OHANA, D. T.; PEREIRA, M. M.; LIMA, E. S. Estudo farmacognóstico e atividade in vitro sobre a coagulação sanguínea e agregação plaquetária das folhas de *Passiflora nitida* Kunth (Passifloraceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 40, n. 1, p. 199-206, 2010.

CAVALCANTE, D. R.; ALBUQUERQUE, U. P. The ‘‘hidden diversity’’ of medicinal plants in northeastern Brazil: Diagnosis and prospects for conservation and biological

prospecting. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2013, 2013.

CHAGAS, E.A.; CARVALHO, A. S.; BACELAR-LIMA, C.G.; DUARTE, O.R.; NEVES, L.C.; ALBUQUERQUE, T.C.S. Ocorrência e Distribuição geográfica de populações nativas de camu-camu no estado de Roraima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA (**Anais...**). Bento Gonçalves – RS, 2012.

CHAN, C.; YANG, M.; WEN, H.; CHERN, J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food Drug Analysis**, v. 10, n, 3, p. 178-182, 2002.

CHEYNIER, V., COMTE, G., DAVIES, K.M., LATTANZIO, V., MARTENS, S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 0, 2013.

CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D. Antioxidant Compounds and Antioxidant Capacity of Peruvian Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) (McVaugh) Fruit at Different Maturity Stages. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, jun. 2010.

CORREA, M.A. SACARPA, M. V.; FRANZINI, M. C.; OLIVEIRA, A. G. On the incorporation of the nonsteroidal anti-inflammatory naproxen in to cationic O/W microemulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 43, n. 2, p.106-112, 2005.

COTELLE, N.; BERNIER, J. L.; CATTEAU, J. P.; POMMERY, J.; WALLET, J. C.; GAYDOU, E. M. Antioxidant properties of hydroxylflavones. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 20, n. 1, p. 35-43, 1996.

COUTO, R.O.; CONCEIÇÃO, E. C.; CHAUL, L. T.; OLIVEIRA, E. M. S. MARTINS, F. S.; BARA, M. T. F. REZENDE, K. R. ALVEZ, S. F.; PAULA, J. R. Spray-dried rosemary extracts; Physicochemical and antioxidant properties. **Food Chemistry**. v. 131, p. 99-105, 2012.

CRUZ, A.V.M.; KAPLAN, M.A.C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n.1, p. 47-52, 2004.

DALLARMI, L.; MIGUEL, M. D.; CANSIAN, F. C. Desenvolvimento de emulsão contendo manteiga de manga (*Mangifera indica* L.). **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 13, n. 1, p. 31-42, jan/mar. 2012.

DASTMALCHI, K. D. D. H.; KOSAR, M. J.; HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 239-248. 2007.

DE CAMPOS A. M. Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Ilex paraguariensis* St. Hill Aquifoliaceae (erva mate). 1996. 149p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007. 60 p.

DORNAS, W. C. A.; OLIVEIRA, T. T.; DORES, R. G. R.; SANTOS, A. F. N.; TANUS J. Flavonoides: Potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 28. n. 3, p. 241-249, 2007.

FARIAS, M. R. **Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4. ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS/Ed. UFSC, cap.10, 2002. 165-182 p.

FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Propagação assexuada do camu-camu (*Myrciaria dubia*) através de enxertias do tipo garfagem: Asexual propagation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) by grafting. **Acta Amazonica**. Manaus, AM, v.27, n.3, p.163-168, 1997.

FOSTER, T. P.; LEATHERMAN, M. W. Powder characteristics of proteins spray-dried from diferente spray-dryers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, p. 1705-1723. 1995

FRACASSETTI, D.; COSTA, C.; MOULAY, L.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins, and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruits (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 139, p. 578-588, 2013.

FRESHNEY, R. I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. 4. ed. Nova York: Wiley-Liss, 1994. 397 p.

FUJITA, A. Produtos derivados do cam-camu: efeito da secagem sobre elagitaninos e flavonoides, atividade antioxidante e antimicrobiana. 2015. 149 f. **Tese** (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

GALEMBECK F.; CSORDAS Y. **Cosméticos: a química da beleza**. Rio de Janeiro, maio de 2009. Sala de leitura. Disponível em: <http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mscl/Sala%20%20Leitura/conteudo/SL_cosmeticos.pdf>. Acesso em: 21 set. 2014.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em cores**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 456 p.

GUARDANI, R.; ONIMARU, R. S.; CRESPO, F. C. A. Monitoramento de processo de cristalização utilizando difração de laser e modelos de redes neurais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS PARTICULADOS. p. 323-328, São Paulo: EPUSP, 1999.

GUINÉ, R. P. F.; BARROCA, M. J.; GONÇALVES, F.; ALVES, M. OLIVEIRA, S. MENDES, M. Aplicação da modelização por redes neuronais ao teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bananas de diferentes cultivares secadas sob condições distintas. **Livro de atas do 12º Encontro de Química dos Alimentos**. Lisboa, p. 296-299, 2014

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HARBORNE, J. B. **General procedures and measurement of total phenolics**. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. *Methods in plant biochemistry: plant phenolics*. London: Academic, 1989.

HUANG, D.; OU, B.; RONALD, L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856. 2005.

IMAN, C.S.; ZAMUDIO, B.L.; SOLIS, S.V.; CRUZ, O.C. Contenido de vitamina C em frutos de camu camu *Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh em cuatro estados de maduración, procedentes de la Colección de Germoplasma del INIA Loreto, Perú. **Scientia Agropecuaria**, v. 2, n. 3, p. 123-130, 2011.

INFARMED. **Produtos cosméticos**. Disponível em:
<<http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/COSMETICOS>> Acesso: 04 out. 2014.

INPI - INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. **Relação de frutas da Amazônia**. Disponível em:
<<http://img.archive.is/Dz4Vi/69053d3a4797005c17d7eacaa474d504a9ea3e24/scr.pg>> Acesso em: 28 fev. 2014.

IOSIO, T.; VOINOVICH, D.; PERISSUTTI, B.; SERDOZ, F.; HASA, D.; GRABNAR, I.; DALL' ACQUA, S. P.; ZARA, G. P.; MUNTONI, E.; PINTO, J. F. Oral bioavailability of silymarin phytocomplex formulated as self-emulsifying pellets. **Phytomedicine**, v. 18, n. 6, p. 505-512, apr. 2010.

ISAAC, V. L. B. CEFALI L.C.; CHIARI, B.G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.

KAWATRA, S. K., BAKSHI, A. K. On-line measurement of viscosity and determination of flow types for mineral suspensions. **International Journal of Mineral Processing**, v. 47, p. 275-283, 1996.

KAWATRA, S. K.; BAKSHI, A. K. On-line measurement of viscosity and determination of flow types for mineral suspensions. **International Journal of Mineral Processing**, v. 47, n. 3-4, p.275-283, 1996.

KHANAM, U.K.S.; OBA, S.; YANASE, E.; MURAKAMI, Y.; Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 4, p. 979-987, 2012.

KIM, J. Y.; SONG, J. Y.; LEE, E. J.; PARK, S. K. Rheological properties and microstructures of Carbopol gel network system. **Colloid and Polymer Science**, v. 281, n. 7, p. 614, 2003.

KIM, J.Y.; SONG, J. Y.; LEE, E. J.; PARK, S. K. Rheological properties and microstructures of Carbopol gel network system. **Colloid and Polymer Science**, v. 281, p.614, 2003.

KODAMA, D. H.; GONCALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity: comparison between commercial green tea preparations. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 30, n. 4, p. 1077-1082, out./dez. 2010.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian. p. 1517, 2001.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n. 4, p. 508-536. 1997.

LANGE, M. K.; HEBERLÉ, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 45, n. 1, p. 145-151, jan./mar., 2009.

LEONARDI, G. R.; GASPAS, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A,

E ou de ceramidas, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. Rio de Janeiro, v. 77, n. 5, p. 563-569, set/out. 2002.

LIMA, J. D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W.S.; SILVA, R.B. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural**. v.39, n.4, p. 1258-1266, 2009.

MACNEIL, S. Progress and opportunities for tissue-engineered skin. **Nature**. Basingstok, v. 445, n. 7130, p. 874-880, 2007.

MADNANI, N.; KHAN, K. Hair cosmetics. **Indian Journal Dermatology Venereology Leprology**. v. 79, n. 5, p. 654-67, sep/oct. 2013.

MAEDA, R. N.; ANDRADE, J. S. Obtenção de bebida alcoólica de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). In: XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Livros de resumo...** Fortaleza, Ceará, v. 4, p. 11, 2000.

MAEDA, R. N.; ANDRADE, J. S. Aproveitamento do camu-camu (*Myrciaria dubia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. **Acta Amazônica**, v.33, n. 3, p. 489-498. 2003.

MAMEDE, L. C.; CAETNO, B. L.; ROCHA, L. A.; FERIA, E. M.; CESTARI, A.; KFURI, C. R.; CIUF, K.; CALEFI, P. S.; MELO, C.; UNHA, W. R.; NASR, E. J. Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 27, n. 2, p. 151-155, 2006.

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. Dendrologia das angiospermas - Myrtales. Santa Maria: Editora da UFSM, 1997. 304 p.

MARRIOTT, C. Reologia. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**, 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, cap. 4, p. 56-73.

MATOS, J. R. Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Medicamentos. In: STORPIRTS, S.; GONCLAVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. **Biofarmacotécnica**, 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, cap.4, p. 32-65.

MAXIMIANO, F. P.; COSTA, G. H. Y.; SOUZA, J.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Physicochemical characterization of antichagasic benzimidazole. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1714-19, 2010.

MAZZARINO, L.; KNORST, M.T. Desenvolvimento e caracterização farmacotécnica de formas farmacêuticas semi-sólidas contendo nimesulida. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. e, p. 415-19, 2007.

- MCVAUGH, R. Tropical American Myrtaceae. II. Field Museum of Natural History. **Botanical Series**, v. 29, p. 315-532, 1963.
- MENDONÇA, C. C.; SILVA, I. C. L.; RODRIGUES, K. A.; CAMPOS, M. A. L.; MEDEIROS, M.C.M.; CASTELI, V.C.; FERRARI, M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P. Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 1, p. 35-46, apr. 2009.
- MILAN, A. L. K.; MILÃO, D.; SOUTO, A. A.; CORTE, T. W. F. Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 649-657, 2007.
- MILAN, A. L. K.; MILÃO, D.; SOUTO, A. A.; CORTE, T. W. F. Estudo da Hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, out./dez., 2007.
- MILÃO, D. Desenvolvimento tecnológico e avaliação biológica de formas farmacêuticas plásticas contendo nanocápsulas de diclofenaco. 2001. 174p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MORAIS, G. G.; SANTOS, O. D. H.; MASSON, D. S.; OLIVEIRA, W. P.; ROCHA FILHO, P. A. Development of O/W emulsions with annatto oil (*Bixa orellana*) containing liquid crystal. **Journal of Dispersion Science Technology**, v. 26, n. 5, p.591-596, 2005.
- MUTA-TAKADA K; TERADA T; YAMANISHI H; ASHIDA Y; INOMATA S; NISHIYAMA T; AMANO S. Coenzyme Q10 protects against oxidative stress-induced cell death and enhances the synthesis of basement membrane components in dermal and epidermal cells. **Biofactors**, v. 35, n. 5, p. 435-41, sep./ oct. 2009.
- NACZK M, S. F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1, n. 2, p. 95-111. 2004.
- NDIAYEA M.; PHILIPPEA, C.; Mukhtara H; AHMADA N.; The Grape Antioxidant Resveratrol for Skin Disorders: Promise, Prospects, and Challenges. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 508, n. 2, p. 15164–170, apr. 2011.
- NETO, M. A. H. **Aplicação de termogravimetria e análise térmica diferencial de uma droga vegetal**. 2013. 27f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual de Paraíba, Campina Grande.
- NISHIKAWA, D. O.; ZAGUE, V.; PINTO, C. A. S. O.; VIERA, R. P.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R.; BABY, A. R. Avaliação da estabilidade de máscaras faciais *peel-off* contendo rutina. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 28, n. 2, p. 227-32, 2007.

NKENGNE, A; BERTIN, C. Aging and facial changes-documenting clinical signs, part 1: clinical changes of the aging face. **Skinmed**. v. 10, n. 5, p. 284 – 9, sep/oct. 2012.

NÓBREGA, I. M. F.; GRANGEIRO JÚNIOR, S.; SILVA, R. M. F.; ROLIM NETO, P. J.; ALBUQUERQUE, M. M. Estudo de estabilidade de comprimidos de Captopril 25 mg acondicionados em blister frente a diferentes tipos de filmes moldáveis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 87, n. 4, p. 128-31, 2006.

NUNES, E.J.; FARRAR, A.M.; FONT. L.; PATEL, V.; SCHLAR, D.E.; COLLINS, L.E.; SAGER, T.N.; CORREA, M.; SALAMONE, J.D. Differential actions of adenosine A1 and A2A antagonists on the effort-related effects of dopamine D2 antagonism. **Behavioural Brain Research**, v. 201, n. 1, p. 216-22, jul. 2009.

OLIVEIRA, F. AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. Atheneu. Rio de Janeiro, 1996. p. 264- 265.

OLIVEIRA, M. A. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-30, 2011.

OSÓRIO, C.; FORERO, D. P.; CARRIAZO, J. G. Characterisation and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L) microencapsulates obtained by spray drying. **Food Research International**, Oxford, v. 44, n. 5, p. 1174- 1181, 2011.

PEIXOTO, M. S. Obtenção, caracterização e avaliação toxicológica de extrato seco padronizado à base de *Bauhinia forficata*. 2012. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Porto Alegre.

Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do Setor de HPPC**. São Paulo, 2014. 23 p.

PHILLIPS, L. **Cosmeceuticals taking root in Europe: Functional Ingredients**. Disponível em: <<http://newhope360.com/cosmeceuticals-taking-root-Europe>> Acesso em: 9 dez. 2013.

PINEDO, M.; LINARES, C.; MENDOZA, H.; ANGUIZ, R. **Plan de Mejoramiento Genético de Camu Camu**. 1. ed. Iquitos – Peru: R&F publicaciones y servicios S.A.C, 2004. 4 - 9 p.

PRISTA, L. V. N. Formas Farmacêuticas Obtidas por Dispersão Mecânica, in: **Tecnologia Farmacêutica**. 6 ed. Avenida de Berna: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. cap. 6, p. 597-776. v. 1.

QUINTÃO, N. L. M.; SILVA, M. C.; SILVA, G. F.; ANTONIALLI, C. S.; ROCHA, L. W. SILVA, L. R. M.; MALHEIROS, A.; SOUZA, M. M.; FILHO, V. C.; BRESOLIN, T. M. B. *Aleurites moluccana* (L.) Willd. Leaves: Mechanical Antinociceptive

Properties of a Standardized Dried Extract and Its Chemical Markers. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, 2011.

RANKELL, A. S.; LIEBERMAN, H. A.; SCHIFFMAN, R. F. Secagem. In: (Ed.). **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001, p.83-112.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

RATNAN, D. V.; ANKOLA, D. D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D. K.; KUMAM, M. N. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, n. 3, p. 189–207, 2006.

REBELLO, Tereza. **Guia de Produtos Cosméticos**. 7 ed, 2008. 162 p.

RIBEIRO, Claudio. **Cosmetologia aplicada à dermoestética**. 2. ed., São Paulo: Phamabooks Editora, 2010. 460 p.

RIBEIRO, H. M.; Morais, J. A.; Eccleston, G. M. Structure and rheology of semisolid o/w creams containing cetyl alcohol/non-ionic surfactant mixed emulsifier and different polymers. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 26, p. 37-59, 2004.

RIBEIRO, P. T. Desenvolvimento de emulsões usando o extrato seco de *Passiflora nitida* Kunth. 2015. 115 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

RIEGER, M. M. Emulsões. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. 1 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, p. 855-907.

ROJAS, S.; CLEMENT C. H. Y. K.; NAGAO E. O. Diversidade Genética em acessos do banco de germoplasma de camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVough) do INPA usando marcadores microssatélites (EST-SSR). **Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 12, p. 51-64, 2011.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; FABIANO, A. N. F.; EDY, S.B. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International, Essex**, v. 44, p. 2072–5, 2011.

SARKAR, R.; ARORA P.; GARG V. Cosmeceuticals for hyperpigmentation: what is available. **Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery**, v. 6, n. 1, p. 4–11 jan/mar. 2013.

SHARMA, V.; SARKAR I. N.; Bioinformatics opportunities for identification and study of medicinal plants. **Brief Bioinformatic**, v. 14, n. 2, p. 238-50, mar. 2013.

SILVA, J. K.; CAZARINA, C. B. B.; COLOMEU, T. M. B.; BATISTA, A. G.; MELETTI, L. M. M.; PASCHOAL, J. A. L.; BOGUSZ-JÚNIOR, S.; FURLAND, M. F.; REYESA, F. G. R.; AUGUSTO, F.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; ZOLLNER, R. R. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, p. 882-890, 2013.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, 2010.

SILVA, R. M. F.; GOMES, T. C. B. L.; ALBUQUERQUE, M. M.; SILVA JUNIOR, J. O. C.; BARBOSA, W. L. R.; ROLIM NETO, P.J. Abordagem sobre os diferentes processos de secagem empregados na obtenção de extratos secos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 103-109, 2012.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA- RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocateau reagent. **Methods Enzymology**. San Diego, v. 299, p. 152- 178, 1999.

SOARES, J. D. R; RODRIGUES, F. A. PASQUAL, M.; NAVES, V. L.; CHAGAS, E. A. ASMAR, S. A. Análise histoquímica de sementes de camu-camu In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, n. 22, 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012.

SOARES, L. A. L. Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus Ilicifolia* mart. Ex Reissek – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. 2002. 285p. **Tese** (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SPANIOL, B.; BICA, V. C.; RUPPENTHAL, L. R.; VOLPATO, M. R.; PETROVICK, P. R. Compressional behavior of a mixture of granules containing high load of *Phyllanthus niruri* spray-dried extract and granules of adjuvants: comparison between eccentric and rotary tablet machines. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 1013-23, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. 719 p.

TALHI, O.; SILVA, A. M. S. Advances in C-glycosylflavonoid research. **Current Organic Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 859-96, 2012.

TAYLOR, Leslie. **Herbal secrets of the rainforest**. Oxford: Prima Publishing/ Clarendon Press; 1988. p.374.

- TOLEDO, A. C.; HIRATA, L.; BUFFON, M.; MIGUEL, M.; MIGUEL, O. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta, Bragança Paulista**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, jan./dez. 2003.
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n. 13, p. 411-418, 2008.
- TOPAN, J. F. Emulsões à base de óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) com cristal líquido: avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética. 2012. 94 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- TORTORA, G. J. GRABOWSKI, S. R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1047 p.
- UNITED STATES Pharmacopeia, 30th ed. United States Pharmacopeia Convention: Rockville, 2008.
- VASQUEZ, M. R. Flórula de lãs Reservas Biológicas de Iquitos, Péru. Allpahuayo-Mishana. **Missouri Botanical Garden**. Saint-Louis, v. 63, p. 1046, 1997.
- VEIGA-JUNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 308-313, abr./jun. 2008.
- VILLACHICA, H.L. **El cultivo del camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) en la Amazonia peruana**. 1 ed. Lima: Mirigraf, 1996. 95 p.
- WOOD, J.H. Reologia Farmacêutica. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**, ed. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2001, Cap. 6, p. 221- 255.
- WOOD, J.H. Reologia Farmacêutica. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, p. 221- 255, 2001.
- YUYAMA, I.; L.K.O.; AGUIAR, J.P.I.; YUYAMA, K.; LOPES, T.M.; FÁVARO, D.I.T.; BERGLI.; P.C.P.; VASCONCELLOS, M.B.A. Teores de elementos minerais em algumas populações de camu-camu, **Acta Amazônica**, Manaus, v. 33, n. 4, p. 549-554, 2003.

YUYAMA, K., AGUILAR, N.B.; VALENTE, J.P.; Longevidade de sementes de camu-camu submetidas a diferentes ambientes e formas de conservação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 601-607, 2011.

ZANATTA, C. F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F. O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 24, p. 9531-35, nov. 2005.

ZANATTA, C.F.; MERCADANTE, A.Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1526-32, 2007.

ZANON, A. B. Aspecto Teórico e prático sobre a avaliação da estabilidade de emulsões manipuladas em farmácia. 2010. 52 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharel em Farmácia) – Universidade Federal do Rio Grande do sul, Porto Alegre.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL; E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2011.