



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Extrato de pitaya (*Hylocereus undatus*): prospecção de
novo ativo e sua aplicação em cosmético antioxidante e
fotoprotetor**

Jéssica Tambor

Orientador: Prof.^a Dr^a Vera Lucia Borges Isaac

Araraquara-SP

2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Extrato de pitaya (*Hylocereus undatus*): prospecção de
novo ativo e sua aplicação em cosmético antioxidante e
fotoprotetor**

Jéssica Tambor

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr^a Vera Lucia Borges Isaac

Araraquara-SP

2019

T156e Tambor, Jéssica.
Extrato de pitaya (*Hylocereus undatus*): prospecção de novo ativo e sua aplicação em cosmético antioxidante e fotoprotetor / Jéssica Tambor. – Araraquara: [S.n.], 2019.
117 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Vera Lucia Borges Isaac.

1. *Hylocereus undatus*. 2. Antioxidante. 3 Cuidado com a pele. 4. Antienvelhecimento. 5. Cosméticos. I. Isaac, Vera Lucia Borges, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Extratos de pitaya (*hylocereus undatus*): prospecção de novo ativo e sua aplicação em cosmético antioxidante e fotoprotetor

AUTORA: JÉSSICA TAMBOR

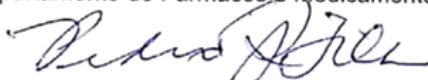
ORIENTADORA: VERA LUCIA BORGES ISAAC

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de conhecimento: Sem Área de Conhecimento pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. VERA LUCIA BORGES ISAAC

Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. PEDRO ALVES DA ROCHA FILHO

Departamento de Ciências Farmacêuticas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Ribeirão Preto da USP



Prof. Dr. JOSÉ RICARDO SOARES DE OLIVEIRA

Departamento de Ciências da Saúde / Centro Universitário de Araraquara / UNIARA

Araraquara, 04 de julho de 2019

SUMÁRIO

I	AGRADECIMENTOS.....	7
II	EPÍGRAFE.....	9
III	RESUMO.....	10
IV	ABSTRACT.....	11
V	LISTA DE FIGURAS.....	12
VI	LISTA DE QUADROS	14
VII	LISTA DE TABELAS.....	14
VIII	LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	15
1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	PELE.....	18
2.1.1	EPIDERME.....	19
2.1.2	DERME.....	19
2.2	RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.....	20
2.3	FOTOENVELHECIMENTO.....	23
2.4	COSMÉTICOS	25
2.5	MERCADO COSMÉTICO.....	27
2.6	COSMÉTICOS ANTI IDADE.....	28
2.7	<i>Hylocereus undatus</i>	29
3	OBJETIVO.....	32
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1	MATERIAL.....	33
4.1.1	REAGENTES.....	33
4.1.2	MATÉRIAS PRIMAS COSMÉTICAS.....	33
4.1.3	VIDRARIAS E ACESSÓRIOS.....	34
4.1.4	EQUIPAMENTOS.....	35
4.2	MÉTODOS.....	36
4.2.1	AMOSTRAS.....	36
4.2.2	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	36
4.2.2.1	TURBÓLISE.....	36
4.2.2.2	CENTRIFUGAÇÃO.....	36
4.2.2.3	FILTRAÇÃO A VACUO.....	37
4.2.2.4	ROTA EVAPORAÇÃO.....	37
4.2.2.5	LIOFILIZAÇÃO.....	37
4.2.3	AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO EXTRATO LIOFILIZADO.....	37
4.2.4	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	38
4.2.4.1	METODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL DPPH•.....	38
4.2.4.2	METODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL ABTS•+.....	39
4.2.5	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ABSORÇÃO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA POR ESPECTROFOTOMETRIA DE TRANSMITÂNCIA.....	40
4.2.6	PREPARO DA EMULSÃO.....	40
4.2.7	ESTUDO DA ESTABILIDADE.....	43
4.2.7.1	TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO.....	43

4.2.7.2	AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA.....	43
4.2.7.3	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA.....	43
4.2.7.4	DETERMINAÇÃO DO VALOR DE pH.....	44
4.2.7.5	DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE.....	44
4.2.8	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	44
4.2.8.1	AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE SINÉRGICA DO EXTRATO NA DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	46
5.2	SOLUBILIDADE	47
5.3	METODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL DPPH [•]	49
5.4	METODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL ABTS ^{•+}	52
5.5	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ABSORÇÃO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA POR ESPECTROFOTOMETRIA DE TRANSMITÂNCIA.....	53
5.6	PREPARO DA EMULSÃO.....	54
5.7	ESTUDO DA ESTABILIDADE.....	56
5.7.1	TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO.....	56
5.7.2	AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA.....	56
5.7.3	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA.....	64
5.7.4	DETERMINAÇÃO DO VALOR DE pH.....	66
5.7.5	DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE.....	67
5.8	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	68
5.8.1	AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE SINÉRGICA DO EXTRATO NA DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	70
6.	CONCLUSÕES	72
7.	REFERÊNCIAS	73

AGRADECIMENTOS

Aos **meus pais, Rose e Marco**, por serem meu porto seguro para todas as horas, onde posso encontrar amor, respeito e empatia. Obrigada pelo incentivo incondicional em todos os momentos da minha vida, por terem sempre feito o possível e o impossível para que eu realizasse meus sonhos, pelo suporte emocional e financeiro mesmo nos momentos difíceis e pelo amor infinito que têm por mim.

Aos meus **avós, Dadá e Tito**, pelo amor, respeito, incentivo e apoio que sempre me deram. Vô Tito sei que onde estiver está muito orgulhoso da sua neta estar se tornando mestre, obrigada por sempre ter acreditado no meu potencial.

À **Laura, minha namorada e parceira de vida**, pela lealdade estando sempre ao meu lado tanto nas conquistas, me aplaudindo, quanto nas derrotas, me dando apoio emocional. Obrigada por ter me mostrado luz em momentos de escuridão e me incentivado quando só o que eu sabia sentir era medo. Você esteve ao meu lado ajudando em cada passo dessa etapa da minha vida – inclusive me ajudando com a formatação e sumário –, serei eternamente grata.

Aos meus **Guias e Orixás** que me conduziram por bons caminhos e me deram a força que precisei em diversos momentos para me manter de pé e sã. Odoyá, minha Mãe **Iemanjá**.

Aos meus **amigos**, família que escolhi para a vida, **Mayara, Rodrigo, Daiane, Nayara** – que foram os presentes que Assis me deu –, **Michelle, Danieli, Elida e Magdiel** – presentes da Morada do Sol –, obrigada pela lealdade e companheirismo, por estarem sempre de braços abertos para me ouvirem nos momentos de aflição e de alegria.

Aos **meus ex-professores e amigos, Maria Lúcia, Stela e Luiz**, que trago comigo desde a escola, por todo o carinho e amor que sempre tiveram por mim. Obrigada pelo incentivo que me deram para que eu pudesse passar no vestibular mesmo com todas as dificuldades por ter vindo de uma escola pública. O apoio de vocês foi fundamental.

A todos os **amigos do Laboratório de Cosmetologia**, Elida, Ilza, Bia, Gabi, Bruna e Wagner, pela amizade, risadas, ajudas e companheirismo. E entre todos, eu agradeço, especialmente, à **Danieli Camilo Marcato**, pois sua sabedoria, ajuda, companheirismo e amizade foram essenciais para que eu conseguisse trilhar esse mestrado.

Aos **professores e técnicos de laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas**, Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa, Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos, Caio, Mateus e Angélica, por permitirem a utilização de seus laboratórios, cederem materiais, equipamentos ou ensinamentos que colaboraram para que este trabalho fosse desenvolvido.

À **Prof. Dra. Vera Lucia Borges Isaac** pela amizade, por ter me aberto as portas do Laboratório de Cosmetologia para me orientar e dividir comigo suas experiências em cosmetologia.

À **CAPES**, uma vez que este trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigada a todos!

EPÍGRAFE

*“ Só quando nosso cérebro inteligente e nosso coração humano
trabalham juntos é que nós podemos atingir todo o nosso
potencial. ”*

— Jane Goodall

RESUMO

A tendência atual da indústria cosmética é o desenvolvimento de produtos antienvelhecimento (*age-intelligence*). Isso se deve ao aumento da expectativa de vida da população e à preocupação constante com uma aparência mais jovem. Ativos naturais provenientes de plantas são alternativas interessantes como substitutos dos ativos sintéticos, uma vez que são matrizes complexas e, muitos deles, apresentam significativa atividade antioxidante, o que confere ao produto, ao qual for incorporado, atividade antienvelhecimento. Os ativos de origem vegetal podem diminuir os custos de produção, o que é visto como vantagem do ponto de vista industrial. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antioxidante e fotoprotetora de extratos da casca e do cladódio de *Hylocereus undatus* para incorporação em emulsão e obter um cosmético multifuncional. Foram realizados testes de atividade antioxidante, pelo método de inibição do radical DPPH[•]; de capacidade despigmentante, pelo método de inibição da tirosinase; além da avaliação da atividade fotoprotetora e de sinergismo do fator de proteção solar de filtros químicos e físicos. O extrato do cladódio se mostrou mais eficiente como ativo cosmético, portanto foi adicionado a uma emulsão facial antienvelhecimento multifuncional. Apesar de serem necessários estudos complementares para garantir a eficácia, o fitocosmético desenvolvido com o extrato de cladódio de *H.undatus* apresenta enorme potencial de aplicação, e pode ser considerado uma preparação cosmética multifuncional.

Palavras-chave: *Hylocereus undatus*, Antioxidante, Cuidado com a pele, Antienvelhecimento, Cosméticos.

ABSTRACT

The current trend in the cosmetic industry is the development of antiaging products. This is due to the increased life expectancy of the population and the constant concern with a more youthful appearance. Natural actives from plants are interesting alternatives as substitutes for synthetic assets, since they are complex matrices and many of them have a significant antioxidant activity, which gives the product, to which it is incorporated, an anti-aging activity. Assets of plant origin can reduce production costs, which is seen as advantage from the industrial point of view. In this context, the objective of the present study was to evaluate the antioxidant and photoprotective activity of the shell and cladode extracts of *Hylocereus undatus*, for incorporation in emulsion and to obtain a multifunctional cosmetic. Antioxidant activity tests were performed by the DPPH radical inhibition method; of depigmenting capacity, by the tyrosinase inhibition method; besides the evaluation of the photoprotective activity and synergism of the sun protection factor of chemical and physical filters. The cladodium extract proved to be more efficient as a cosmetic active, so it was added to a multifunctional anti-aging facial emulsion. Although complementary studies are required to ensure efficacy, the phytocosmetics developed with the cladode extract of *H.undatus* presents enormous potential for application, and can be considered a multifunctional cosmetic preparation.

Keywords: *Hylocereus undatus*, Antioxidant, Skin care, Antiaging, Cosmetics

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotomicrografia de corte de pele fina.....	18
Figura 2. Efeitos celulares da radiação ultravioleta até o fotoenvelhecimento.....	21
Figura 3. Representação esquemática da penetração da radiação ultravioleta na pele.....	22
Figura 4. Gráfico comparativo do faturamento do setor cosmético entre 2006 e 2017.....	28
Figura 5. Pitaya de polpa vermelha (<i>Hylocereus undatus</i>)	30
Figura 6. Cladódios e frutos de pitaya.....	31
Figura 7. Coloração final dos tubos após a reação com extrato de cladódio.....	49
Figura 8. Curva de concentração x resposta do extrato de casca pelo método de inibição do Radical DPPH•.....	50
Figura 9. Curva de concentração x resposta do extrato de cladódio pelo método de inibição do Radical DPPH•.....	51
Figura 10. Curva de concentração x resposta do extrato de cladódio pelo método de inibição do Radical ABTS• ⁺	52
Figura 11. Espectro de absorção do extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio.....	53
Figura 12. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya no dia 1.....	57
Figura 13. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 15° dia de ensaio.....	57
Figura 14. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 15° dia de ensaio.....	58
Figura 15. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 15° dia de ensaio.....	58
Figura 16. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 30° dia de ensaio.....	59
Figura 17. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 30° dia de ensaio.....	59
Figura 18. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 30° dia de ensaio.....	60
Figura 19. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 60° dia de ensaio.....	60
Figura 20. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 60° dia de ensaio.....	61
Figura 21. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 60° dia de ensaio.....	61
Figura 22. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 90° dia de ensaio.....	62
Figura 23. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 90° dia de ensaio.....	62

Figura 24. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 90° dia de ensaio.....	63
Figura 25. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida ao ciclo congelamento/ descongelamento.....	63
Figura 26. Gráfico dos valores de pH da emulsão com o extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya nas condições de 5° C, 25° C, 40° C e 3 ciclos de congelamento/descongelamento durante 90 dias de análise.....	66
Figura 27. Gráfico dos valores de viscosidade da emulsão com o extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya nas condições de 5° C, 25° C, 40° C e 3 ciclos de congelamento/descongelamento durante 90 dias de análise...	67
Figura 28. Equipamento Optometrics SPF 290S e seu respectivo software.....	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Alterações cutâneas provocadas por envelhecimento intrínseco e extrínseco	24
Quadro 2. Termos descritivos de solubilidade e seus significados.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da emulsão base.....	42
Tabela 2. Solubilidade do extrato hidroalcoólico liofilizado de <i>H. undatus</i> em diferentes solventes a 25 °C.....	48
Tabela 3. Composição percentual da emulsão proposta.....	55
Tabela 4. Avaliação macroscópica da cor em condições de estresse.....	64
Tabela 5. Avaliação do odor em condições de estresse.....	65
Tabela 6. Avaliação macroscópica de separação de fases em condições de estresse.....	65
Tabela 7. Valores de pH das emulsões propostas em condições de estresse.....	66
Tabela 8. Valores de viscosidade das emulsões propostas em condições de estresse.....	68
Tabela 9. Fator de proteção solar das emulsões propostas.....	69
Tabela 10. Fator de proteção solar de amostras para avaliação de sinergismo.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABIHPEC: Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

ABS: Absorbância

ABTS^{•+}: Radical 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CPDs: Dímeros de pirimidina-ciclobutano

DMSO: Dimetilsufóxido;

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

DPPH[•]: Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila;

FDA: *United States Food and Drug Administration*

FPS: Fator de proteção solar;

°GL: Graus Gay Lussac

H. undatus: Hylocereus undatus

INCI: International Nomenclature of Cosmetic Ingredients;

rpm: Rotações por minuto

SBD: Sociedade Brasileira de Dermatologia

SVS: Secretaria de Vigilância Sanitária

UV: Ultravioleta;

1. INTRODUÇÃO

A palavra cosmético tem sua origem do grego *kosmein*, que significa enfeitar, adornar, ornamentar, glorificar, homenagear. No início da civilização, as preparações cosméticas tinham o objetivo apenas de enfeitar e limpar, conservando a beleza da pele e dos cabelos (CORREIA, 2012), mas, atualmente, os cosméticos agregam outros benefícios, por isso é necessário que haja regulamentação. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão regulamentador dos produtos cosméticos no Brasil classificando-os em grau I ou II, diferenciando-os em função do grau do risco que podem provocar no consumidor (BRASIL, 2005).

Assim, os cosméticos deixaram de ter, unicamente, funções de enfeite e limpeza para serem, também, utilizados no cuidado com a pele. Este nicho de mercado é denominado *skin care* e apresenta formulações com ativos que mantêm a jovialidade e saúde da pele.

O mercado brasileiro ocupa o 4º lugar em consumo mundial de cosméticos e esse dado se deve a vários fatores, mas o principal deles é o aumento da expectativa de vida da população que, por sua vez, trouxe novas preocupações aos consumidores. Entre elas, a necessidade de conservar uma impressão de juventude (ABIHPEC, 2018).

O processo de envelhecimento cronológico é natural e acontece conforme a idade avança. Porém, fatores extrínsecos como dieta alimentar deficiente em nutrientes, poluição e, principalmente, a exposição à radiação ultravioleta são capazes de aumentar a quantidade de radicais livres e gerar um estresse oxidativo, causando o fotoenvelhecimento. Diante desse cenário, os cosméticos de *skin care* com ativos antienvelhecimento têm se destacado, visto que são capazes de evitar este estresse oxidativo causador do fotoenvelhecimento (MONTAGNER E COSTA, 2009).

Os produtos antienvelhecimento são grau II e devem ter sua eficácia comprovada cientificamente e, muitas vezes, durante o processo de testes, esses ativos acabam apresentando outras propriedades, o que configura multifuncionalidade: o cosmético apresenta vários benefícios ao mesmo tempo. Cosméticos multifuncionais são muito interessantes para o consumidor, pois, no dia a dia, ajudam a reduzir o tempo dedicado aos cuidados diários com a pele – algo precioso no cotidiano dos consumidores (WIECHERS, 2003).

Ativos naturais, provenientes de plantas, são interessantes no desenvolvimento desta categoria de produtos cosméticos multifuncionais, devido à diversidade da sua composição química, que pode apresentar diferentes mecanismos de ação e, em consequência, conferir mais de uma função ao produto desenvolvido. Uma vez que muitos extratos naturais têm se mostrado com elevada atividade antioxidante, pesquisas sobre eles têm crescido muito nos últimos anos. Além disso, as substâncias de origem natural podem atenuar a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos na pele do consumidor, além de diminuir os custos de produção, o que é visto com vantagem do ponto de vista industrial (CHIARI et al., 2014).

Diante do cenário exposto e da importância de pesquisar novos ativos naturais para uso cosmético, neste trabalho foram utilizados dois tipos de extrato de pitaya (*Hylocereus undatus*) - da casca e do cladódio -, com o objetivo de compará-los, testar sua eficácia e incorporar o mais benéfico a uma emulsão facial antienvelhecimento multifuncional, estudada em relação à estabilidade e comprovação de sua atividade cosmética.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Pele

A pele – ou *cútis* – reveste o organismo de maneira semelhante a um manto, pois se trata de um órgão resistente, flexível e impermeável (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Ademais, desempenha múltiplas funções, como proteger o organismo contra desidratação, atrito, agentes químicos e patógenos. Os tecidos se inter-relacionam de modo a desempenhar todas essas funções. Ela representa cerca de um quarto do peso corporal e é considerada, portanto, o maior órgão do corpo humano (CORRÊA, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

A pele consiste em duas camadas principais, epiderme e derme (Figura 1).



Figura 1. Fotomicrografia de corte de pele fina.

Fonte: Junqueira e Carneiro, 2017.

2.1.1.Epiderme

A epiderme humana se renova a cada 15 ou 30 dias, dependendo da idade, do local onde o indivíduo vive, a área corporal, exposição solar e cuidado diário com a pele. Constituída de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, a epiderme cresce continuamente, uma vez que suas células se proliferam continuamente, mas mantém sua espessura normal devido ao processo de descamação. Na epiderme, é possível identificar quatro camadas internas: o estrato basal ou germinativo – constituído pelas células-tronco da epiderme; o estrato espinhoso – composto pelas células com prolongamentos citoplasmáticos; o estrato granuloso – cujas células possuem grânulos ricos em cistina e histidina, e o estrato córneo – cujas células sofrem uma diferenciação, perdendo o núcleo e tendo seu citoplasma rico em filamentos de queratina, denominados corneócitos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; ROSS; PAWLINA, 2008).

A principal função da epiderme é produzir o estrato córneo para manutenção da hidratação natural da pele e controle de penetração de substâncias externas. É possível dizer que o estrato córneo funciona como uma barreira que garante a homeostase cutânea, pois é formado por lamelas lipídico proteicas presentes nos espaços extracelulares entre os corneócitos, de modo a proteger os tecidos vivos da perda excessiva de água (CORRÊA, 2012).

A proteção contra os raios ultravioleta devido à presença da melanina, pigmento produzido e acumulado na epiderme a partir dos melanócitos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017). Segundo Corrêa (2012), a melanina é capaz de proteger a pele da radiação do sol através da difração e/ou reflexão da energia radiante.

2.1.2.Derme

É constituída de tecido conjuntivo denso que dá à pele sustentação mecânica, resistência e espessura. Além disso, é essencial para a termorregulação e nutrição da epiderme, visto que a derme possui vasos sanguíneos. Nela, é possível identificar duas camadas: papilar e reticular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; ROSS; PAWLINA, 2008).

A camada papilar é a mais superficial e delgada, e possui tecido conjuntivo frouxo com fibrilas especiais de colágeno, que contribuem para a junção da derme com

a epiderme, além de terminações nervosas sensoriais que proporcionam tato e percepção de temperatura e dor (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; ROSS; PAWLINA, 2008).

A camada reticular está situada mais profundamente e possui feixes grossos e irregulares de colágeno e fibras do sistema elástico, que proporcionam elasticidade para a pele. Nesta camada, são encontradas glândulas sebáceas e sudoríparas, todas derivadas da epiderme (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; ROSS; PAWLINA, 2008).

2.2 Radiação Ultravioleta

Os raios solares que atingem a superfície terrestre são essenciais para dar as condições ideais de vida ao planeta. Entre eles, a radiação ultravioleta (UV) é a menos incidente, pois boa parte de sua energia é absorvida pelo oxigênio e pela camada de ozônio que circunda o planeta. Apesar disso, ela é a que gera o maior impacto para os seres humanos, devido à sua capacidade de promover reações fotoquímicas na pele (NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR, 2014).

O DNA é a molécula mais atingida pelos raios UV, que podem ocasionar diversos processos mutagênicos. Isso se deve aos produtos gerados de reações fotoquímicas, sendo os dímeros de pirimidina-ciclobutano (CPDs) os principais (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011). O órgão alvo dessas mutações é, principalmente, a pele, por estar permanentemente exposta aos raios solares (GUARATINI et al., 2009). As consequências dos danos causados pela radiação UV (Figura 2) incluem pigmentação irregular, queimaduras, melanoma (ARAUJO; SOUZA, 2008), e o fotoenvelhecimento (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011).

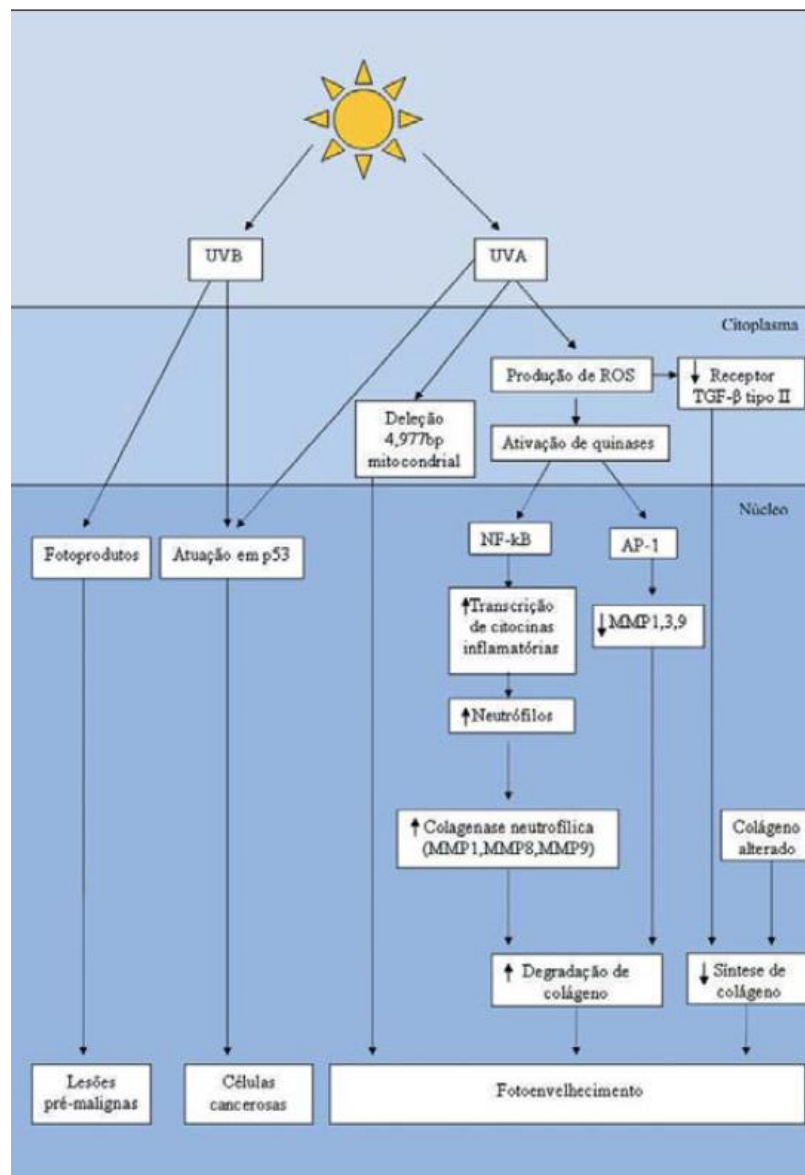


Figura 2. Modificações celulares provocadas pela radiação solar

Fonte: Montagner e Costa, 2009

A radiação UV pode ser dividida em três tipos:

- UVA, primeira banda espectral, que corresponde à onda longa (de 320 a 400nm) (GUARATINI et al., 2009; WIDEL et al., 2013), capaz de gerar significativo dano cutâneo por penetrar profundamente a epiderme e o tecido subcutâneo. Ela configura o maior risco para a saúde, pois é a radiação UV mais presente (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011);

- UVB, banda espectral intermediária, corresponde à onda média (290 a 320 nm) (GUARATINI et al., 2009; WIDEL et al., 2013). A exposição a ela pode causar danos ao DNA, além de fotoimunossupressão e espessamento do estrato córneo (TOFETTI; OLIVEIRA, 2006);

- UVC, última banda espectral, corresponde à onda curta (200 a 290 nm) (GUARATINI et al., 2009; WIDEL et al., 2013). É bloqueada pela camada de ozônio (Figura 3) (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011) e, portanto, não atinge o homem e, por isso, não é tão nociva quanto as outras (TOFETTI; OLIVEIRA, 2006).

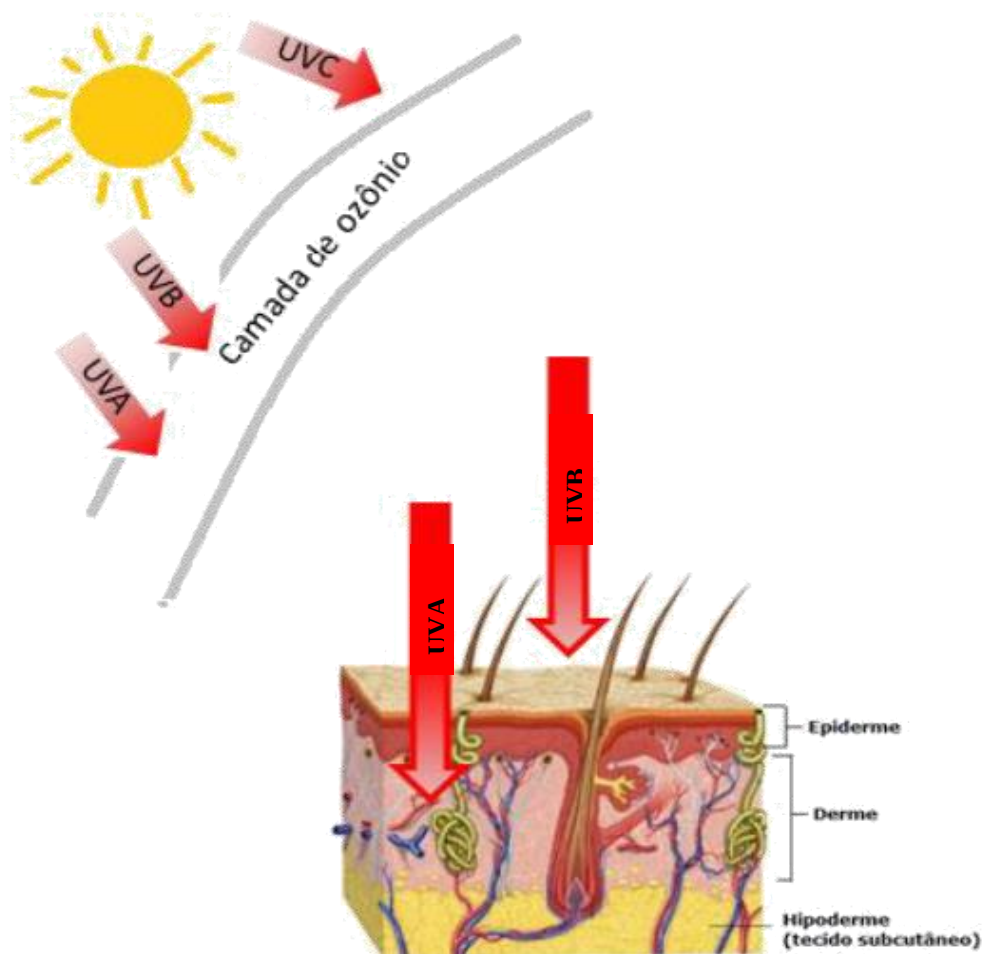


Figura 3. Representação esquemática da penetração da radiação ultravioleta na pele.
Fonte: Adaptado de www.afh.bio.br.

2.3. Fotoenvelhecimento

O funcionamento ideal de um organismo ocorre quando existe um equilíbrio entre as moléculas oxidantes e antioxidantes, de modo que o envelhecimento cronológico aconteça no tempo certo (LIU, 2003), diferentemente do envelhecimento intrínseco (cronoenvelhecimento), uma vez que fotoenvelhecimento não depende da idade para acontecer. Ao contrário, está associado a um desequilíbrio molecular denominado *estresse oxidativo* (LIU, 2003).

O estresse oxidativo é consequência da formação de muitos radicais livres, que são pequenas moléculas instáveis – nas quais falta um elétron na última camada de valência. É necessária a presença de substâncias com atividade antioxidante para neutralizar os radicais livres.

O organismo produz antioxidantes naturais; porém, muitas vezes eles não são suficientes para neutralizar todos os radicais livres, já que fatores exógenos como poluição, estresse, má alimentação e exposição à radiação aumentam significativamente essa produção, o que corrobora para o fotoenvelhecimento da pele. De acordo com Bagatin (2008), o fotoenvelhecimento corresponde a 85% das rugas presentes na pele envelhecida.

O fotoenvelhecimento difere do cronoenvelhecimento não só na causa, mas também nas consequências expressas na pele, como pode ser visto na comparação apresentada no Quadro 1.

	Envelhecimento intrínseco (Cronológico)	Envelhecimento extrínseco (Fotoenvelhecimento)
• Rugas	Finas	Profundas
• Camada córnea	Inalterada	Afilada
• Células displásicas	Poucas	Muitas
• Fibras de colágeno	Pequena alteração no tamanho	Grande alteração no tamanho e na organização
• Fibras elásticas	Reorganizadas	↓ Produção e ↑ degeneração
• Folículo capilar	↓ Número e afinamento	↓ Número e estrutura: perda capilar
• Melanócitos	Normal	↓ Número e melanina
• Glândulas sebáceas e sudoríparas	↓ Número	↓ Número: pele seca
• Junção dermoepidérmica	Leve achatamento	Importante achatamento
• Microvasculatura	Área reduzida	Telangiectasias, equimoses, infiltrado inflamatório perivascular.
• Alterações benignas	Queratose seborreica	Queratose seborreica
• Alterações pré-malignas	-	Queratose actínica
• Alterações malignas	-	Carcinoma basocelular

Quadro 1. Alterações cutâneas provocadas por envelhecimento intrínseco e extrínseco.

Fonte: Adaptado de Montagner e Costa, 2009

2.4. Cosméticos

As palavras gregas *Kosmos*, que está associada ao espaço e mundo e *Kosmein*, que está relacionada a organizar, arrumar, enfeitar e adornar deram origem à palavra Cosmético. Desde sua origem, os cosméticos têm como principal função embelezar e enfeitar o indivíduo, portanto, quando se compra um produto cosmético, não se compra só uma embalagem com uma mistura de ingredientes e sim um sonho, um carinho para si mesmo e várias outras expectativas, que independentemente do apelo mercadológico, jamais serão perdidas (CORRÊA, 2012).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que foi criada em 1999 substituindo a antiga SVS - Secretaria de Vigilância Sanitária, é o órgão regulamentador dos cosméticos no Brasil e se aproxima muito dos padrões internacionais encontrados na FDA – *United States Food and Drug Administration*. Segundo a ANVISA (2015):

Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes: são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado (BRASIL, 2005).

As preparações cosméticas receberam duas classificações pela ANVISA, Grau 1 e Grau 2, diferenciadas segundo suas finalidades de uso, cuidados a serem observados quando utilizados e graus de risco que oferecem aos consumidores.

Grau 1 são produtos cosméticos que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares e que não precisem de informações detalhadas e específicas para o modo de uso. Os produtos dessa classificação, inicialmente, não precisam ter sua eficácia comprovada, pois conferem um risco mínimo (ANVISA, 2015).

Grau 2 são produtos cosméticos que se caracterizam por apresentar indicações específicas e complexas, que possuem informações e cuidados para o modo de uso correto e restrições de uso para certo tipo de consumidor. Para os produtos dessa classificação, é exigida pela ANVISA a comprovação de eficácia e segurança, pois conferem um risco potencial para os consumidores (ANVISA, 2015).

É imprescindível que o produto cosmético permaneça estável, mantendo suas características organolépticas, físico-químicas e ou microbiológicas, durante todo o seu prazo de validade; portanto, fica a cargo da empresa detentora, a responsabilidade de disponibilizar produtos que tenham tido sua estabilidade avaliada previamente. A falta do estudo de estabilidade configura uma infração sanitária, afinal, a apresentação dos resultados de estabilidade é exigida no ato de regularização na ANVISA (ANVISA, 2004; ISAAC, 2008).

O teste de estabilidade deve ser feito ainda na etapa de desenvolvimento do produto cosmético, pois fornece subsídio para o aperfeiçoamento das formulações para que se for necessária alguma alteração de matéria prima, que isso seja feito antes de o produto ser finalizado. A estabilidade pode ser afetada tanto por fatores intrínsecos – como incompatibilidade física ou química –, quanto extrínsecos – como tempo, temperatura, luz, umidade, microrganismos, vibração e embalagem, portanto o teste deve ser feito na embalagem em que o produto será comercializado ou em vidro e deverá ser exposto a diferentes condições de estresse (ANVISA, 2004; ISAAC, 2008).

Há uma grande diversidade de sinônimos e abreviações quando se descreve matéria prima cosmética, o que pode gerar confusão e incompreensão por parte do consumidor; portanto, a fim de minimizar erros de interpretação e uniformizar os termos mundialmente, a ANVISA, assim como diversos órgãos regulatórios de outros países, exige que todos os rótulos de cosméticos comercializados no Brasil tenham os ingredientes expressos com a nomenclatura *Internacional Nomenclature of Cosmetic Ingredient* (INCI) (ANVISA, 2015).

O INCI é um sistema reconhecido e utilizado mundialmente que traz benefícios para diversos setores da sociedade, pois permite, de forma simplificada, codificar a nomenclatura de matérias primas cosméticas de modo que mesmo um consumidor leigo seja capaz de interpretar claramente as informações em rótulos tanto de produtos nacionais quanto importados, além beneficiar empresas que exportam seus produtos e não precisam adequar seus rótulos ao idioma de cada país (CORRÊA, 2012).

2.5. Mercado Cosmético

O mercado cosmético e da beleza mundial é bilionário e tem se destacado de forma crescente ao redor do mundo, permanecendo imune aos altos e baixos da economia global. Em 1990, a indústria cosmética movimentou US\$ 147 bilhões; em 2006, US\$ 269,8 bilhões e, recentemente, em 2017, US\$ 532,43 bilhões. A expectativa para o futuro é de que seja capaz de atingir o valor de US\$ 805,61 bilhões até o ano de 2023 (CORRÊA, 2012; ORBIS RESEARCH, 2018).

O Brasil, atualmente, ocupa o 4º lugar no *ranking* mundial de consumo de cosméticos, perdendo somente para os Estados Unidos, a China e o Japão. Dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC) mostram que, em 2006, o setor cosmético teve faturamento estimado em R\$17,5 bilhões, enquanto que no ano de 2017 o faturamento foi de R\$47,5 bilhões; ou seja, houve um aumento significativo de 171% (Figura 5). Hoje em dia existem 2.718 indústrias cosméticas no Brasil e somente as 15 principais delas representam 75% do faturamento total do setor (ABIHPEC, 2018).

Tal crescimento tem como principais fatores influenciadores a participação crescente da mulher no mercado de trabalho; lançamentos constantes de produtos inovadores; o público masculino, que vêm se tornando, cada vez mais, compradores potenciais e, principalmente, o aumento da expectativa de vida da população, que faz com que os indivíduos busquem uma aparência mais jovem e pele sem rugas. Apesar de o Brasil estar na 8ª posição mundial no consumo de cosméticos para pele, essa categoria tem crescido muito nos últimos anos devido aos avanços na tecnologia e investimentos na área (ABIHPEC, 2014).

Algumas das apostas atuais, das indústrias cosméticas, para conquistar os compradores, são os lançamentos de cosméticos com ativos multifuncionais inovadores incorporados na formulação – pois eles são capazes de proporcionar vários benefícios em um só produto, tornam o dia-a-dia do consumidor mais prático –, e com extratos de origem vegetal – pois além de serem biodegradáveis, agradam o consumidor que prefere fitocosméticos.

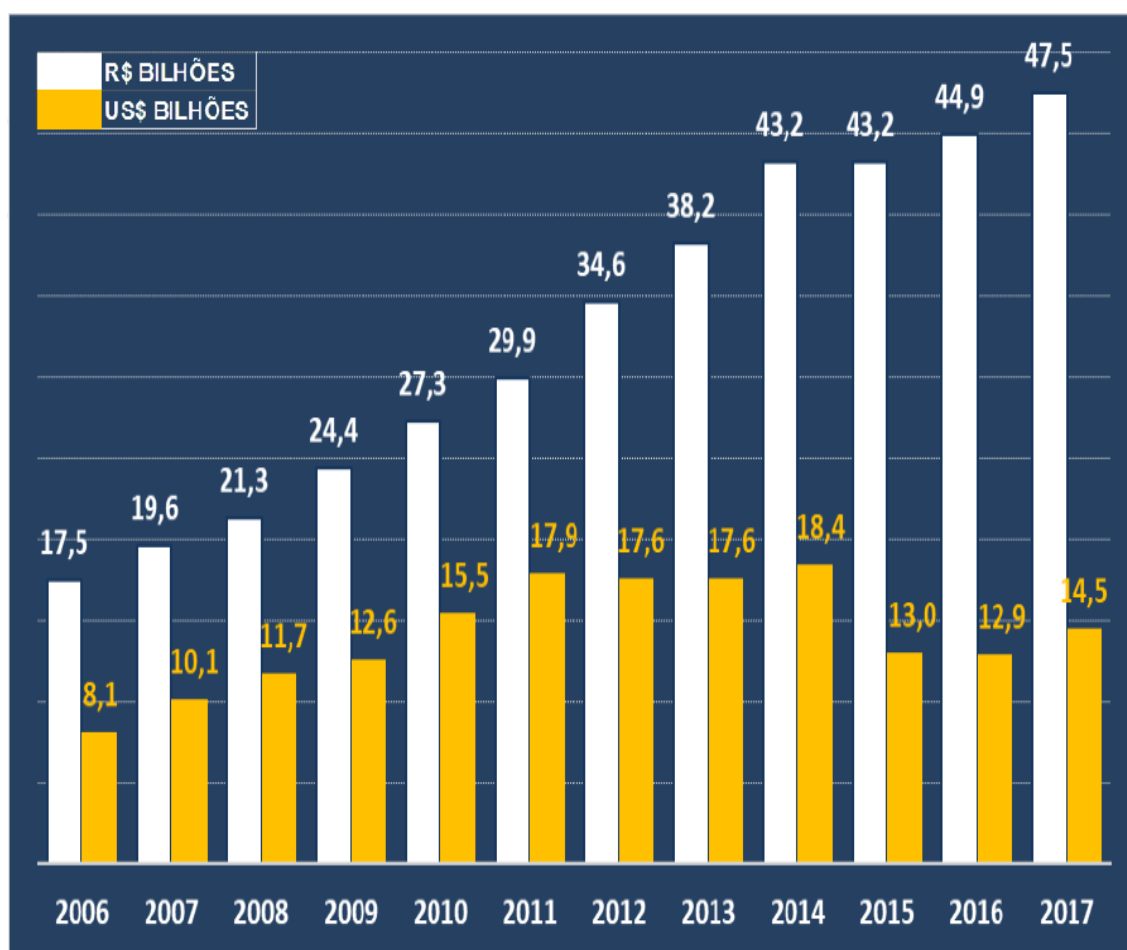


Figura 4. Gráfico comparativo do faturamento do setor cosmético entre 2006 e 2017.
Fonte: ABIHPEC, 2018.

2.6. Cosméticos Anti-idade

Dentre as medidas utilizadas para a prevenção do fotoenvelhecimento, as mais eficientes, segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD), são a utilização de fotoprotetores, que possuem filtros solares que funcionam como uma barreira mecânica, diminuindo a exposição da pele aos raios solares (NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR, 2014), e o uso de cosméticos antioxidantes, que são capazes de neutralizar a ação dos radicais livres formados pela radiação solar, de modo a evitar o estresse oxidativo.

Diante do aumento da expectativa de vida dos consumidores e a busca constante por soluções que mantenham a jovialidade, surgiram estudos, com elevado

investimento, cujo objetivo é encontrar substâncias antioxidantes novas, que atuem diminuindo ou evitando os danos do estresse oxidativo gerado pela radiação UV e, consequentemente, evitando o fotoenvelhecimento da pele (GÁLVEZ, 2010). Muitas das substâncias que vêm sendo pesquisadas são obtidas a partir de extratos de plantas, o que comprova que os estudos de antioxidantes orgânicos estão em expansão.

As substâncias de origem natural atenuam a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos na pele do consumidor, além de diminuïrem os custos de produção, o que é visto como vantagem do ponto de vista industrial (CHIARI et al., 2014). Os extratos de plantas que contêm flavonoides são ótimos candidatos a compor uma formulação antioxidante, pois os flavonoides são capazes de absorver a luz ultravioleta nos espectros de 240-280 nm e 300-550 nm (SOUZA et al., 2004), além de conferirem alta capacidade antioxidante às plantas.

2.7. *Hylocereus undatus*

A pitaya, ou “Fruta do Dragão”, é uma fruta exótica pertencente à família Cactácea. As duas espécies mais comuns são a *Hylocereus undatus* (Figura 6), que possui polpa branca, e a *Hylocereus costaricensis*, com polpa vermelha (JUNQUEIRA et al., 2010). Ambas são sustentadas por cladódios, que são modificações caulinares típicas da família dos cactos (PERWEEN; MANDAL; HASAN, 2018).



Figura 5. Pitaya de polpa branca (*Hylocereus undatus*).
Fonte: Internet.

As frutas possuem uma casca vermelha repleta de escamas pontiagudas. Dessa especificidade se originou o seu nome, que significa “fruta escamosa” (PERWEEN; MANDAL; HASAN, 2018). São cultivadas principalmente na Colômbia e no México, mas vêm ganhando espaço no Brasil devido ao clima tropical propício para o seu desenvolvimento (NURLIYANA et al., 2010).

Diferente da maioria das espécies do gênero *Hylocereus*, que se desenvolvem melhor em meia sombra, a espécie *H. undatus* prefere sol pleno (PERWEEN; MANDAL; HASAN, 2018). Por isso, deve ser plantada, preferencialmente, em terrenos abertos.

A pitaya tem se tornado mais conhecida e procurada não só pelo gosto adocicado e refrescante de sua polpa, mas, também, por suas propriedades nutricionais e antioxidantes (LIMA et al., 2014). É um dos exemplos de plantas ricas em flavonoides que pode ser encontradas na natureza (PERWEEN; MANDAL; HASAN, 2018). Além disso, a presença destes ativos não fica restrita somente à parte comestível, pois,

segundo Wu et al. (2006), a quantidade de flavonoides por grama de extrato de *Hylocereus undatus* é aproximadamente cinco vezes maior na casca do que na polpa. Além disso, há relatos que a casca tem potencial antioxidante maior em comparação à polpa (WU et al.,2006).

Apesar de serem escassas na literatura pesquisas envolvendo quantificação de flavonoides e avaliação da atividade antioxidante quando associada ao uso do extrato do cladódio de *Hylocereus undatus* (Figura 7), uma pesquisa realizada por Souza (2012) demonstrou que o cladódio de Figueira da Índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) possui uma quantidade de flavonoide semelhante à do seu fruto; portanto, o cladódio da pitaya pode, também, apresentar possível atividade antioxidante e seu extrato pode ser incorporado a preparações cosméticas para obtenção de fitocosméticos.



Figura 6. Cladódios e frutos de pitaya.

Fonte: worldofsucculents.com.

Deste modo, as partes descartadas pelos produtores rurais e pelas indústrias alimentícias podem ser as mais promissoras para a produção de cosméticos de origem

natural, o que evidencia a importância de pesquisá-las cada vez mais, a fim de que possam ser reutilizadas.

3. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi a comparação da atividade antioxidante de dois extratos hidroalcoólicos de *Hylocereus undatus* – da casca do fruto e do cladódio – com a finalidade de detectar o extrato mais promissor como ativo cosmético e incorporá-lo em um sistema emulsionado estável para desenvolvimento de uma emulsão facial multifuncional.

3.1. Objetivos específicos

- Obtenção dos extratos da casca e do cladódio de *H. undatus*.
- Avaliação do potencial antioxidante de dois extratos de *H. undatus* e seleção do extrato mais promissor como ativo cosmético;
- Análise do potencial fotoprotetor do extrato por varredura espectrofotométrica.
- Desenvolvimento de um sistema emulsionado para incorporação do extrato de *H. undatus*;
- Avaliação da estabilidade da formulação;
- Avaliação do fator de proteção solar da formulação, bem como avaliação do efeito sinérgico no FPS associado a filtros químicos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Reagentes

Ácido acético (J.T. Baker[®]), ácido ascórbico (Sigma-Aldrich[®]), água destilada, álcool 70° GL, dimetilsulfóxido (DMSO), etanol, L-dopa (Sigma-Aldrich[®]), metanol (Synth[®] e panreac[®]), radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH) (Sigma-Aldrich[®]), tampão fosfato pH 7,4, tampão fosfato pH 6,8, tirosinase.

4.1.2 Matérias primas cosméticas

- **Adipato de dibutila (*dibutyl adipate*):** líquido incolor levemente amarelado, confere emoliência ao cosmético.
- **BHT (*butilhidroxitolueno*):** pó cristalino branco ou com pouca coloração e de odor leve. Praticamente insolúvel em água e propilenoglicol; altamente solúvel em acetona, facilmente solúvel em etanol. Possui propriedade antioxidant.
- **Carbômero (*carbomer*):** polímero de fácil e rápida dispersão em água. Derivado do ácido acrílico, de alto peso molecular, dispersível em água. É um eficiente modificador de reologia, proporcionando, às formulações cosméticas, farmacêuticas e industriais, géis transparentes com alto poder de viscosidade a baixas concentrações.
- **EDTA Dissódico (*Disodium EDTA*):** composto orgânico que atua como agente quelante. É um agente sequestrante de alta pureza, que forma quelatos estáveis, solúveis em água, com íons de metal polivalente, em um intervalo de pH entre 4 e 6.
- **Emulfeel SGP (*Helianthus Annuus (Sunflower) Seed Oil (and) Polyacrylic Acid (and) Xylityl Sesquicaprylate (and) Glyceryl Stearate (and) Euphorbia Cerifera (Candelilla) Wax (and) Sodium Hydroxide*):** Agente de estruturação para obtenção de formas cosméticas, por processo a frio ou a quente e que proporciona versatilidade na criação de diferentes sensoriais com redução de ingredientes na formulação.

- **Estearato de octila (*ethyl hexyl stearate*):** éster emoliente de cadeia ramificada com excelente espalhamento, lubricidade e propriedades de sobreengorduramento para a pele e cabelos. Especialmente indicado em formulações para peles mistas e oleosas.
- **Glicerina (*glycerin*):** líquida em temperatura ambiente é usada como solvente para diversas substâncias e possui ação umectante e protetora da pele.
- **Manteiga de manga (*mangifera indica seed butter*):** umectante e protetora, restaura a flexibilidade da pele. Usada contra o ressecamento da pele após a exposição ao sol e a outros elementos agressores, proporcionando toque seco não-oleoso e aveludado.
- **Metilparabeno (*methylparaben*):** conservante antimicrobiano efetivo em uma ampla faixa de pH (4 a 8). Possui amplo espectro de ação antimicrobiana, sendo mais ativo contra as Gram positivas.
- **Propilparabeno (*propylparaben*):** conservante antimicrobiano, possui amplo espectro de ação antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, fungos e leveduras.
- **Sepigel® 305 (*Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*):** apresenta forma líquida. Polímero que se expande ao entrar em contato com a água, em temperatura ambiente, sem necessidade de neutralização. Emulsificante a frio.

4.1.3 Vidrarias e acessórios

Balão volumétrico de 500 ml, bastões de vidro, béqueres, filtro de papel, fita Transpore®, funil de Buchner, garrafa âmbar de 5 litros, kitassato, papel alumínio, peneira comum, pipetas, placa de 96 poços (Falcon®), termômetros, tubos de ensaio de vidro.

4.1.4 Equipamentos

Agitador (AT: 56, Phoenix[®]), balança analítica (Owa labor[®]), balança analítica (Shimadzu AY220), balança semi-analitica (Gehaka BG2000), banho HB10 digital, banho frio (TE-2005, Tecnal[®]), bomba a vácuo, centrífuga (Hitachi[®] High Speed Refrigerate Himac CR22GII), espectrofotômetro de transmitância (SPECTROStar nano, BMG LABTECH[®]), estufas, liofilizador, refrigerador (Sanyo[®]), pipetadores automáticos com volume variável de 10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL (Eppendorf), Optometrics SPF 290, rotoevaporador (IKA[®] RV10), turboprocessador, viscosímetro.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 AMOSTRAS

Os cladódios e as cascas pitayas (*Hylocereus undatus*) foram obtidos a partir da pitaya de polpa branca de uma plantação caseira da cidade de Araraquara-SP, cujas coordenadas geográficas são: latitude -21.8160514 e longitude -48.1928335.

Os frutos foram higienizados e as partes deterioradas foram removidas e descartadas. A polpa foi separada manualmente da casca e as amostras foram homogeneizadas separadamente. Os cladódios foram limpos e, tanto a porção central quanto os espinhos, foram descartados.

4.2.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

4.2.2.1 Turbólise

Foi adicionada, ao turboprocessador, a porção de 30% de massa picada (cladódio e casca, separadamente, para 70% de álcool 70° GL. Após um minuto de turbólise, o conteúdo foi colocado em uma garrafa âmbar de 5 litros envolvida em papel alumínio, para proteger o extrato da luminosidade.

O tempo de extração foi de 24 horas. Após a extração, os extratos foram peneirados com peneira comum de plástico, a fim de que as porções maiores fossem retiradas.

4.2.2.2 Centrifugação

Para a separação dos resíduos sólidos do extrato, foi utilizada uma centrífuga Hitachi High Speed Refrigerate Himac CR22GII que foi preenchida com na qual foram colocados 6 frascos com capacidade de 10 mL que continham, cada um, a mesma quantidade de extrato. A velocidade empregada foi de 13.000 rpm pelo tempo de 15 minutos, com temperatura de 25°C.

4.2.2.3 Filtração a vácuo

Para a filtração do extrato foi utilizada a técnica de filtração a vácuo. Em seguida, o extrato de cladódio hidroalcoólico foi armazenado em uma garrafa de vidro âmbar de 4L, envolta com papel alumínio em geladeira.

4.2.2.4 Rotoevaporação

Nesta etapa, foi utilizado um rotoevaporador IKA RV10 com banho HB10 digital e, no banho frio do condensador, utilizado para resfriar a serpentina, foi utilizado o equipamento TE-2005 da Tecnal. O extrato rotoevaporado foi acondicionado em uma garrafa de vidro de cor âmbar, encapada envolta com papel alumínio e, posteriormente, conservado em geladeira.

4.2.2.5 Liofilização

Para que fosse executada a liofilização, 4 porções de 250 mL do extrato, previamente congelado a -80°C, foram igualmente distribuídas em 4 frascos de vidro de 500 mL específicas para liofilizador. Para o resfriamento, as amostras foram colocadas em um refrigerador de marca Sanyo a -83°C, no Laboratório de Bioequivalência da FCF-UNESP.

4.2.3 AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO EXTRATO LIOFILIZADO

Foram utilizados, neste ensaio, os seguintes solventes: água purificada, etanol, metanol e dimetilsulfóxido (DMSO). Os quatro ensaios foram realizados em tubos de ensaio com 25 mm de diâmetro x 150 mm de altura, com auxílio de micropipetas e agitador Phoenix modelo AT: 56.

Em cada tudo de ensaio foram adicionados 10 mg do extrato de cladódio liofilizado, aos quais foram acrescidas alíquotas crescentes de solvente, sob agitação e monitoramento constante da solubilização do extrato. O ensaio foi realizado a 25°C.

Após a realização do ensaio, o extrato foi avaliado, em relação à solubilidade, em função do ensaio de solubilização adotado pela Farmacopeia Brasileira, (2010), descrito no Quadro 2, permitindo a escolha do melhor solvente para continuidade dos experimentos. A expressão “partes” indica a dissolução de 1 g de extrato no número de mililitros do solvente estabelecido no número de partes.

Solvente	Termo descritivo
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10 000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10 000 partes

Quadro 2. Termos descritivos de solubilidade e seus significados.

Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2010.

4.2.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.2.4.1 Método de inibição do radical DPPH•

Neste ensaio, 1,0 mL da solução hidroalcoólica do extrato foi adicionado a 2,5 mL de solução etanólica de DPPH• (0,004%; m/v) (CHIARI et al., 2011).

A reação foi mantida ao abrigo da luz durante 30 minutos, para posterior avaliação espectrofotométrica, com determinação dos valores de absorbância a 515 nm. Como branco da reação foi utilizado 1,0 mL de álcool etílico em substituição à solução do extrato.

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada extrato. A porcentagem de inibição do radical DPPH• foi calculada pela equação (1) (MOLYNEUX, 2004):

$$\% \text{ Inibição} = \frac{A_{\text{max}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{max}}} \times 100$$

Equação 1, em que:

- % Inibição = porcentagem de inibição do radical DPPH•;
- $A_{\text{máx}}$ = absorbância do radical DPPH• em 515 nm na ausência de amostra (controle);
- A_{amostra} = absorbância do DPPH• em 515 nm na presença de amostra.

A partir dos valores de porcentagem de inibição foi possível obter uma curva de concentração x resposta) e calcular a concentração expressa em valor de IC₅₀, que representa a quantidade de extrato necessária para inibir 50% dos radicais DPPH• em solução.

4.2.4.2 MÉTODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL ABTS^{•+}

Para a avaliação da atividade antioxidante pelo método de inibição do radical 2,2'azinobis-(3-ethylbensothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS^{•+}), foi utilizado o método proposto por Almeida et al., 2013 .

Foi preparada uma solução estoque de 7 mM de radical ABTS^{•+} (0,384 mg diluídos em 10 mL de água) e outra solução estoque de 140 mM de persulfato de potássio (378,4 mg em 10 mL de água). Para o preparo da reação, foram misturados 5 mL da solução estoque do radical ABTS^{•+} com 88 µL da solução estoque de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida à temperatura ambiente por 16 h, em frasco âmbar. Decorrido este tempo, uma alíquota desta mistura foi diluída em etanol, afim de obter absorbância de aproximadamente 0,7± 0,05.

Em seguida, foram transferidos 3 mL dessa solução a 11 tubos de ensaio. Nos mesmos tubos, foram acrescentados volumes crescentes do extrato e volumes

decrecentes de etanol. O mesmo experimento foi realizado substituindo o extrato pelo ácido ascórbico.

Posteriormente, foram determinadas as absorbâncias a 734 nm, para calcular a porcentagem de inibição do radical livre através da equação 2 (MOLYNEUX, 2004). (Equação 1), em que:

%Inibição = porcentagem de inibição do radical ABTS^{•+};

$A_{amostra}$ = absorbância do radical ABTS^{•+} na presença de amostra em 734 nm;

$A_{controle}$ = absorbância do radical ABTS^{•+} na ausência de amostra em 734 nm.

A partir dos valores de porcentagem de inibição foi possível obter a curva de concentração x resposta) e calcular a porcentagem de inibição expressa em valor de IC₅₀ (quantidade de substância necessária para inibir 50% do radical ABTS^{•+}).

4.2.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ABSORÇÃO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA POR ESPECTROFOTOMETRIA DE TRANSMITÂNCIA

O potencial em absorver a radiação ultravioleta do extrato de cladódio foi averiguada a partir de varredura em espectrofotômetro de transmitância SPECTROStar nano BMG LABTECH, em comprimento de onda entre 220 e 700 nm, utilizando extrato hidroalcolóico liofilizado de cladódio de pitaya, solubilizado em água purificada, na concentração de 156 µg/mL⁻¹, em cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

A partir das absorbâncias obtidas, foi possível construir o gráfico ABS x λ (nm) a fim de verificar em quais comprimentos de onda o extrato de cladódio de pitaya é capaz de absorver a radiação ultravioleta.

4.2.6 PREPARO DA EMULSÃO

A Tabela 1 apresenta os constituintes utilizados para o preparo da emulsão facial desenvolvida para este estudo, bem como a função de cada componente e o intervalo de concentração de cada matéria prima, conforme indicação do fabricante.

A emulsão foi preparada a frio, uma vez que o Emulfeel® SPG é auto emulsionante, não necessitando de aquecimento para mistura homogênea dos constituintes da formulação.

Todas as matérias primas foram adicionadas a um béquer e homogeneizadas, até completa solubilização, com exceção do extrato liofilizado de cladódio e da água, que foram incorporados para finalizar o preparo da emulsão.

INCI name	Nome comercial
<i>Helianthus annuus</i> (sunflower) seed oil, polyacrylic acid, xylityl sesquicaprylate, glyceryl stearate, <i>Euphorbia cerifera</i> (candelilla) wax, sodium hydroxide [usual]:0,50 – 7,00%	Emulfeel® SGP
Dibutyl adipate [usual]:2,00 – 10,00%	Adipato de dibutila
Ethylhexyl stearate [usual]:2,00 – 10,00%	Estearato de octila
Mangifera Indica Seed butter [usual]:0,50 – 2,00%	Manteiga de manga
Butilhidroxitolueno [usual]:0,05%	BHT
Glycerin [usual]:2,00 – 10,00%	Glicerina
Methylparaben [usual]:0,18%	Metilparabeno
Propylparaben [usual]:0,02%	Propilparabeno
Disodium EDTA [usual]:0,05 – 0,10%	EDTA Na ₂
Carbomer (dispersão aquosa a 2%) [usual]:2,00 – 50,00%	Carbopol® 980
Polyacrylamide, C13-14 Isoparaffin, Laureth – 7 [usual]:0,50 – 5,00%	Sepigel® 305
Aqua	Água

Tabela 1. Composição da emulsão base.

Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.7. ESTUDO DE ESTABILIDADE

Após a manipulação da emulsão, foram separadas alíquotas que foram submetidas a diferentes temperaturas: $5 \pm 2^\circ\text{C}$, $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (mantida no ambiente), $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclos de congelamento/descongelamento. O estudo de estabilidade foi conduzido conforme preconiza o Guia de Estabilidade de Estudos Produtos Cosméticos da ANVISA (2004) e Isaac et al., 2008.

O tipo de teste adotado foi o da estabilidade acelerada, e as variáveis foram: características organolépticas (aspecto, cor, odor) e as características físicas (microscopia, valor de pH e viscosidade), além de separação de fases e/ou coalescência. Foi adotada como amostra de referência, considerada padrão, a avaliação do dia 1 (24 h após a manipulação da fórmula).

4.2.7.1. TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO

A centrifugação foi realizada a 3.000 rpm durante 15 min com 5 g de amostra para todas as emulsões propostas (ANVISA, 2004).

4.2.7.2. AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

A avaliação microscópica foi realizada utilizando microscópio Carl Zeiss MicroImaging GmbH, a fim de observar o comportamento da emulsão nas condições ensaiadas.

4.2.7.3. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

A formulação foi avaliada quanto a alterações na coloração, aspecto e odor, além da observação de possível separação de fases e/ou coalescência, tomando-se como referências, as avaliações do dia 1 (24 h após a manipulação).

4.2.7.4. DETERMINAÇÃO DO VALOR DE pH

Após dispersão das amostras a 10% (m/m) (ISAAC, 2008), o valor de pH foi determinado em peagômetro, Gehaka PG1800, conforme protocolo proposto (ANVISA, 2004). Os valores de pH foram determinados em triplicata.

4.2.7.5. DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE

A viscosidade foi determinada para cada amostra, em triplicata, utilizando um viscosímetro Brookfield RV-DVIII, com o dispositivo de pequenas amostras e *spindle* 27. Cada amostra analisada foi submetida a velocidades crescentes e, depois, decrescentes, para determinação da viscosidade aparente.

4.2.8. DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

Para a avaliação do fator de proteção solar (FPS) das amostras foi utilizado o equipamento Optometrics SPF 290S. As medidas foram realizadas segundo o protocolo recomendado pelo fabricante.

Na fita Transpore® (50 cm²), colocada diretamente sobre o suporte, foram aplicados 110mg da amostra estudada para formação de um filme uniforme de 2mg/cm². Após a aplicação, as fitas foram mantidas em repouso para secagem por 15 minutos.

Em seguida, o suporte foi introduzido diretamente no equipamento e as leituras foram realizadas pela emissão da radiação ultravioleta gerada por uma lâmpada de Xenônio, com comprimento de onda no intervalo de 290 a 400 nm, o que possibilitou, enfim, a determinação do FPS.

O software empregado, WINSPF, utiliza a equação 4 para calcular o valor de FPS após 12 medidas (Optometrics - SPF Analyzer, (2014) (GAIKWAD, 2011):

Equação 4: Cálculo de FPS pelo software WINSPF

$$SPF_{SC4N} = \frac{\sum_{290}^{400} E\lambda B\lambda}{\sum_{290}^{400} \frac{E\lambda B\lambda}{MPF\lambda}}$$

Onde:
 MPF λ = valor da varredura
 E λ = radiação espectral da luz solar terrestre sob condições controladas
 B λ = eficácia contra eritema

4.2.8.1 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE SINÉRGICA DO EXTRATO NA DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

Alguns filtros químicos podem ter seu fator de proteção potencializado pela adição de outros compostos químicos ou naturais, permitindo a obtenção de elevados fatores de proteção solar. Entre as substâncias naturais que promovem o aumento do FPS de algumas misturas de filtros estão óleos e extratos de origem vegetal (LEONE, 2018).

Para avaliar o potencial sinérgico do extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya, foi determinado o FPS utilizando Optometrics SPF 290S das seguintes amostras:

- 1- Emulsão base (tabela 3);
- 2- Emulsão base (tabela 3) + filtros (Tinosorb S 0,5%, Univel A Plus 1% e Metoxicinamato de octila 4,5%);
- 3- Emulsão base (tabela 3) + extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya 5% + filtros (Tinosorb S 0,5%, Univel A Plus 1% e Metoxicinamato de octila 4,5%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A turbólise foi escolhida para o preparo dos extratos, em função da dureza do cladódio. Tanto o extrato da casca quanto o extrato de cladódio foram obtidos com 30% de massa de casca ou de cladódio e 70% de etanol 70° GL.

Na técnica de turbólise, a extração ocorre concomitantemente com a redução do tamanho da partícula, em função de elevadas forças de cisalhamento em rotações aplicadas no material, da ordem de 5000 a 2000 rpm.

Embora o processo da turbólise produza aquecimento pela rápida agitação das hastes do processador, vários autores usam essa técnica para obtenção de seus extratos de plantas e ou de frutos, uma vez que o tempo do processamento é curto (MIGLIATO et al., 2009; SALVAGNINI et al., 2008; SOUZA et al., 2010).

A turbólise pode gerar problemas com substâncias voláteis, em função da liberação de calor que, por sua vez, pode interferir em processos metabólicos, sendo, portanto, recomendada sua utilização apenas quando se tratar de materiais de elevada dureza ou muito fibrosos como caules, raízes, rizomas ou lenhos (F.BRAS, 2010), o que se aplica ao cladódio da pitaya.

O turboprocessador, com copo de alumínio, foi usado em potência alta, por um minuto, sem intervalos, para garantir eficiência no processo extrativo, uma vez que a turbólise propicia uma diminuição rápida e drástica no tamanho das partículas do material vegetal, com consequente rompimento das células e, portanto, dissolução rápida dos ativos, com elevado rendimento, em minutos.

O material vegetal permaneceu em contato com o líquido extrator, por 24 horas, para esgotamento da planta. Após o tempo pré-estabelecido, o extrato se apresentava bifásico: um *pellet* gelatinoso na parte inferior do frasco e o extrato translúcido na porção superior. A porção gelatinosa foi retirada e descartada e a porção líquida foi submetido à filtração a vácuo.

Foi criado um sistema de filtração no qual foi conectado um funil de Buchner a um kitassato acoplado à uma bomba de vácuo, que foi capaz de reduzir a pressão dentro do kitassato, sugar o líquido presente no extrato e reter o sólido no filtro de papel sobre o funil. Desta forma, foi possível obter os extratos de casca e cladódio de pitaya.

Em um ensaio prévio de avaliação da atividade antioxidante, pelo método de inibição do radical DPPH•, o extrato da casca apresentou IC₅₀ de 45,12 µL.mL⁻¹, enquanto o extrato de cladódio apresentou IC₅₀ de 56,58 µL.mL⁻¹. Estes resultados permitiram definir o extrato de cladódio para continuidade dos experimentos.

Para a conservação do extrato, é necessária a separação da água e do etanol e isso é possível pelo método de rotaevaporação. O rotaevaporador ou evaporador rotativo é um equipamento indicado para remoção de solventes voláteis. A rotaevaporação consiste em um processo de separação térmica de compostos líquidos, através de evaporação em seu ponto de ebulição e, consequentemente, de condensação. Esta etapa foi necessária para separar o etanol da água no extrato.

Para esse processo, foi empregado um rotaevaporador IKA RV 10, com banho HB 10 digital e TE-2005, para o banho frio, acoplados a um balão volumétrico de fundo redondo, de capacidade de 500 ml contendo 250 ml de amostra do extrato. O banho foi ajustado a 50° C, com rotação de 120 RPM, pressão de -600 na bomba de vácuo, até que o solvente se esgotasse por completo, o que levou cerca de 40 minutos.

Em seguida, o extrato sem o solvente foi acondicionado em uma garrafa de vidro âmbar, revestida com papel alumínio e conservado em geladeira, para ser liofilizado.

A liofilização é um processo de estabilização, no qual uma substância está previamente congelada. Em seguida, a quantidade de solvente, em geral, a água, é reduzida, primeiro por sublimação e, posteriormente, por dessorção, a valores tais que inexistam atividade biológica e reações químicas. A substância passa, portanto, pelos processos de congelamento inicial, secagem primária e secagem secundária (F. Bras., 2010; Liofilizador, 2018).

Os frascos contendo as amostras foram retirados do refrigerador e acoplados ao liofilizador de bancada. O processo durou 4 dias. Terminada a liofilização o extrato sólido foi obtido.

5.2 SOLUBILIDADE

A solubilidade é uma propriedade física de suma importância para todos os demais ensaios, pois possibilita a manipulação de uma substância na forma líquida (F. BRAS., 2010). Tal forma auxilia na incorporação na emulsão, embora possa promover uma degradação, portanto é necessário o estudo de estabilidade.

O quadro 2 apresenta os significados dos termos descritos conforme estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (2010). A expressão partes indica a dissolução de 1 g de extrato no número de mililitros do solvente estabelecido no número de partes.

A Tabela 2 mostra os resultados observados nos ensaios de solubilidade para o extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de *Hylocereus undatus*, segundo os termos descritivos (F. BRAS., 2010). Foram utilizados 10 mg de extrato liofilizado em cada teste.

Solvente	Termo descritivo
Água	Solúvel
Etanol	Muito pouco solúvel
Metanol	Praticamente insolúvel
Dimetilsulfóxido	Praticamente insolúvel

Tabela 2. Solubilidade do extrato hidroalcoólico liofilizado de *H. undatus* em diferentes solventes a 25 °C.

Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com os resultados obtidos para o extrato hidroalcoólico liofilizado de *H. undatus*, foi possível inferir que o extrato obtido é solúvel em água, muito pouco solúvel em etanol e praticamente insolúvel em metanol e em dimetilsulfóxido.

Dessa forma, a água foi adotada como solvente padrão do extrato em todos os ensaios seguintes, uma vez que demonstrou melhor solubilidade do extrato e, ainda, conferir menos risco de interferência nos experimentos laboratoriais.

5.3 MÉTODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL DPPH•

A avaliação da atividade antioxidante dos dois extratos de *H. undatus* foi realizada pelo método de inibição do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH•), seguindo a metodologia descrita por Chiari (2011).

A captura do radical DPPH• por antioxidantes é o princípio do método de inibição. Quando o radical é estabilizado, ocorre a mudança da coloração de violeta para amarelo claro (ALMEIDA, 2013). A Figura 9 apresenta a mudança de coloração que ocorreu no teste, mostrando que houve a reação.

Este ensaio foi realizado para os dois extratos: da casca e do cladódio; entretanto, face aos resultados, o extrato da casca foi descartado dos experimentos, uma vez que seu potencial antioxidante é menor.



Figura 7. Coloração final dos tubos após a reação com extrato de cladódio

Fonte. Fotografia realizada pela autora

Após os cálculos de porcentagem de inibição do extrato da casca, foi possível plotar uma curva analítica c, Figura 9, que foi utilizada para o cálculo do IC₅₀ que foi equivalente a 45,12 $\mu\text{L.mL}^{-1}$.

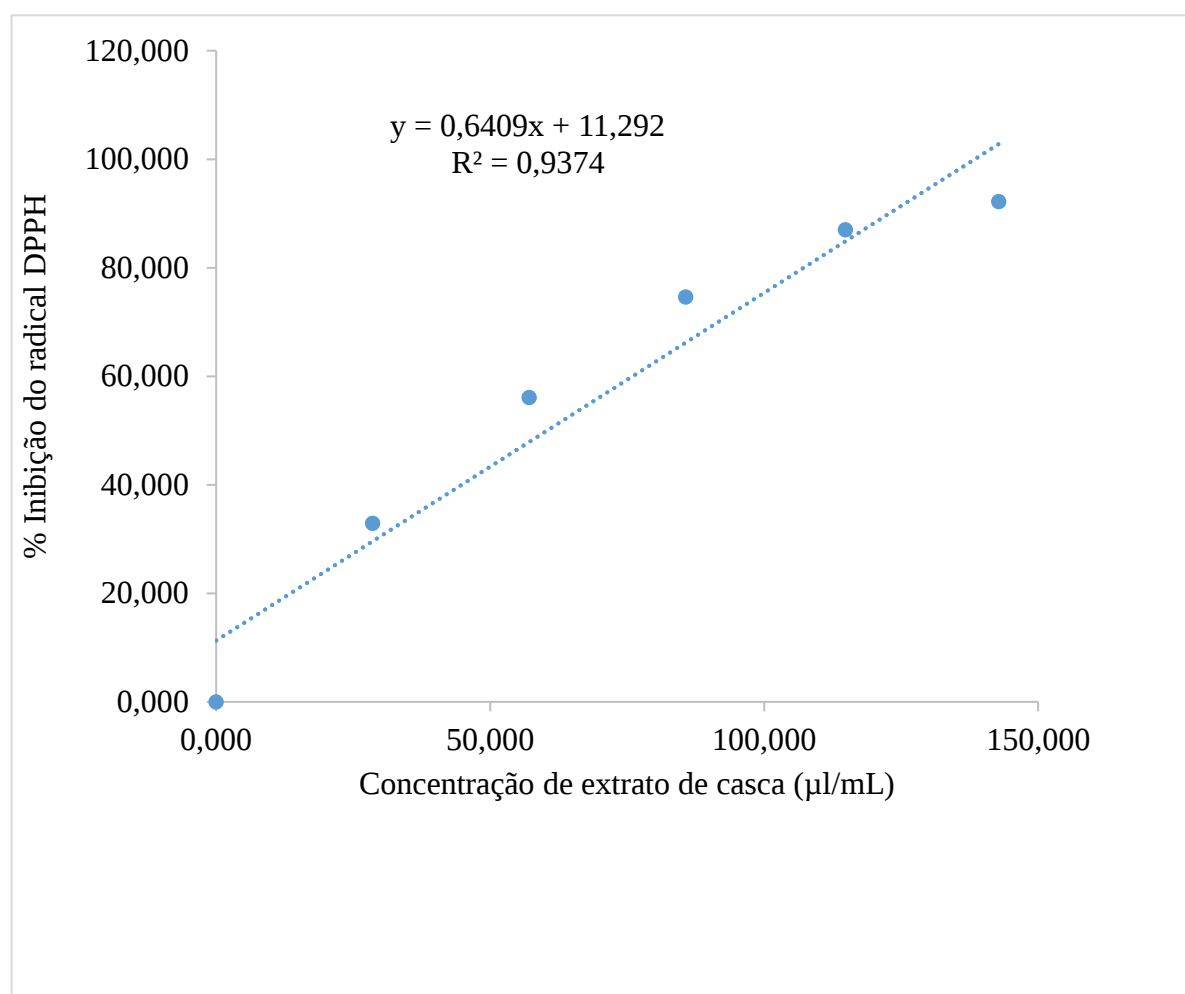


Figura 8 - Curva de concentração x resposta do extrato de casca pelo método de inibição do radical DPPH•

Fonte: Autora

O cálculo do IC₅₀ do extrato do cladódio da pitaya feito a partir da curva de concentração x resposta, como mostra a Figura 10, foi igual a 56,58 $\mu\text{L.mL}^{-1}$.

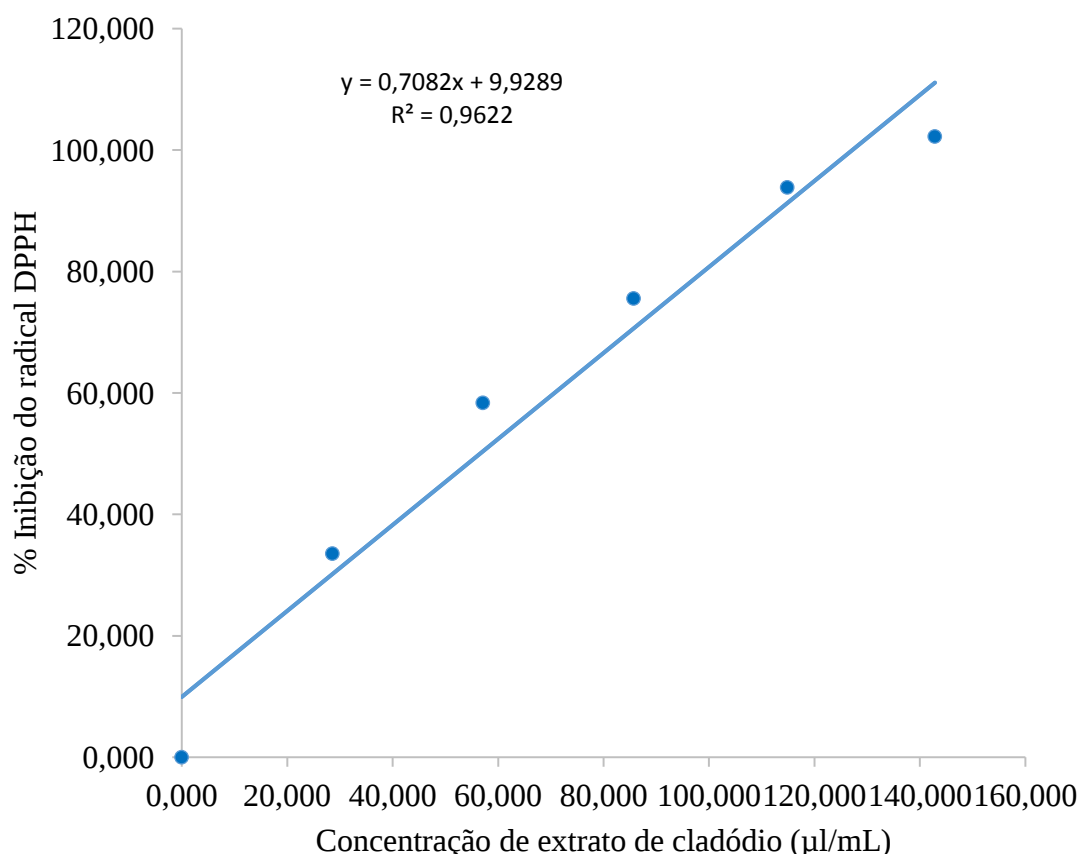


Figura 9 - Curva de concentração x resposta do extrato de cladódio pelo método de inibição do radical DPPH•

Fonte: Autora

De acordo com os resultados, a casca da pitaya possui atividade antioxidante, como relatado por Lima et al., (2014) e Wu et al., (2006). Assim como a casca, o cladódio mostrou ter atividade antioxidante considerável, apesar de mais baixa; entretanto, o subproduto da pitaya possui importância nutricional e, também, grande importância na indústria cosmética, visto que a atividade antioxidante é essencial para estabilizar os radicais livres e evitar o fotoenvelhecimento (GÁLVEZ, 2010).

Devido ao fato de o cladódio ser um subproduto da fruta, e, por isso, não gerar desperdício da porção alimentícia e poder ser cedido, por produtores agrícolas, com custo mais baixo do que a pitaya propriamente dita; assim, frente a proposta deste trabalho, de otimização de recursos, evidencia que o melhor extrato para seguir os testes seria o de cladódio.

5.4 MÉTODO DE INIBIÇÃO DO RADICAL ABTS^{•+}

Para a avaliação da atividade antioxidante pelo método de inibição do radical 2,2'azinobis-(3-ethylbensothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS^{•+}), foi utilizado o método proposto por Almeida et al. (2013). O radical ABTS^{•+} é formado através de uma reação com persulfato de potássio.

Para minimizar o uso de reagentes, foi realizada uma tentativa de miniaturizar a técnica, mas por não ter sido reprodutível em microplaca, não foram feitas adaptações.

A Figura 11 mostra a curva elaborada com os dados da avaliação da inibição do radical ABTS^{•+}

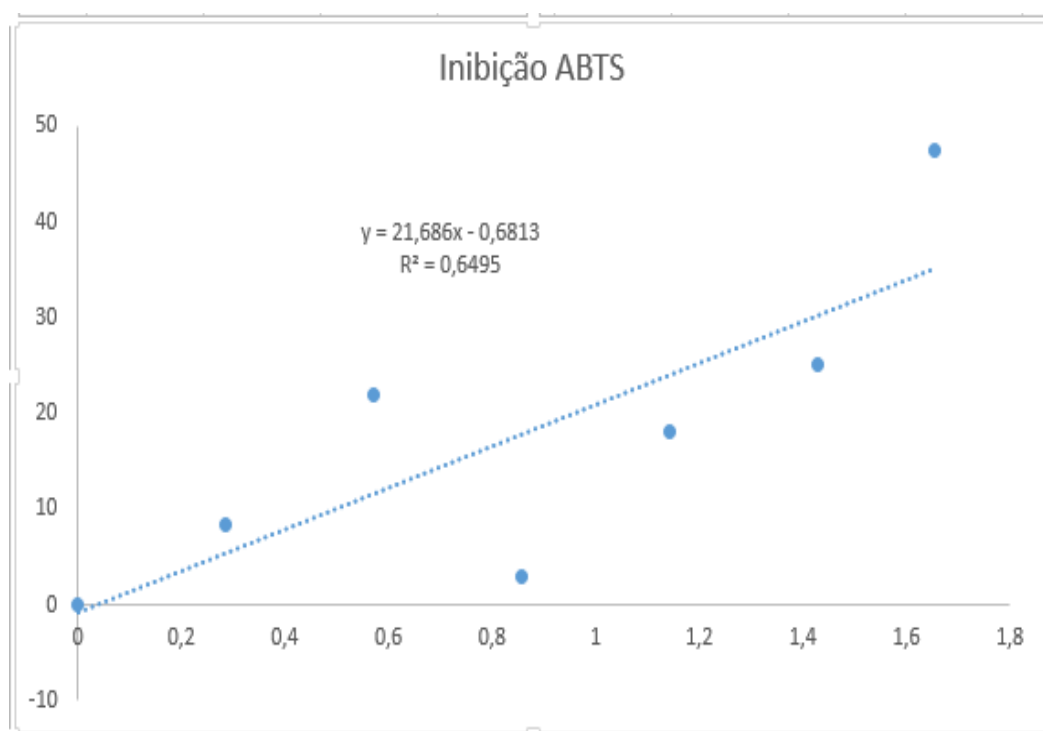


Figura 10. Curva de concentração x resposta do extrato de cladódio pelo método do radical ABTS^{•+}

Fonte: Autora

Os valores obtidos não foram satisfatórios para elaboração da curva analítica com coeficiente de correlação próximo a 1.

5.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ABSORÇÃO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA POR ESPECTROFOTOMETRIA DE TRANSMITÂNCIA

O extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio, em concentração de $156 \mu\text{g.mL}^{-1}$, demonstrou ser capaz de absorver a radiação em comprimentos de onda equivalentes aos 3 tipos de radiação UV (A, B e C), como pode ser visualizado na Figura 12.

A partir das absorbâncias obtidas, foi possível construir o gráfico $\text{ABS} \times \lambda(\text{nm})$, a fim de verificar em quais comprimentos de onda o extrato de pitaya foi capaz de absorver a radiação ultravioleta.

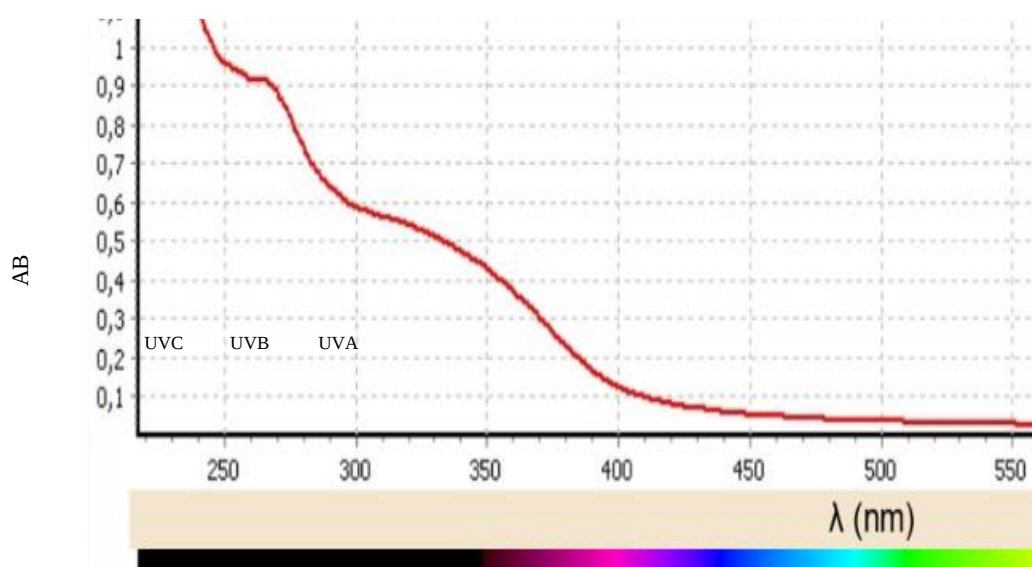


Figura 11. Espectro de absorção do extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio.

Fonte: Elaborado pela autora

A Figura 12 permite inferir que a proteção é na faixa do UVB e, também, do UVA, o que mostra potencial capacidade fotoprotetora do extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio.

5.6. PREPARO DA EMULSÃO

O Emulfeel® SGP é uma matéria prima emulsionante que possui tecnologia *Double Gel Network*, capaz de estruturar a fase lipídica e aquosa com alto grau de vegetalização. Possibilita a redução de ingredientes e suporta até 10% de carga oleosa, o que não foi atingido nesta formulação proposta, que contém, apenas, 4,5 de material graxo. Proporciona versatilidade na criação de texturas viscosas ou fluidas além de garantir sensoriais leves e filme residual aveludado. Pode ser empregado em processos a frio ou a quente e ser usado, também, como modificador sensorial ou para ajuste de viscosidade (CHEMYUNION, 2018).

A emulsão base, previamente estudada por integrantes do nosso grupo de pesquisa, foi preparada a frio, pela mistura de seus componentes, um a um; entretanto, os conservantes sólidos foram previamente solubilizados em glicerina. O extrato foi dissolvido em água e incorporado à mistura contendo os outros componentes. Por ter apresentado baixa viscosidade e o objetivo era um produto mais viscoso, foram acrescentados 2,00% de polímero carboxivinílico, em dispersão aquosa a 2%, para aumento da viscosidade.

Para o preparo da emulsão, os ingredientes foram pesados em balança analítica. Os conservantes (methylparaben, propylparaben, disodium EDTA) e o antioxidante (BHT) foram solubilizados em glicerina. Após completa solubilização, foram acrescentados os ésteres graxos emolientes (dibutyl adipate, ethylhexyl stearate) e o agente de consistência e modificador sensorial (mangifera indica seed butter). Após completa homogeneização, foram acrescentados o agente emulsificante (Emulfeel® SGP), o espessante hidrofílico (dispersão aquosa de Carbopol®), o espessante emulsificante (Sepigel® 305) e a solução aquosa de extrato, sob agitação constante, até perfeita homogeneização.

A Tabela 3 mostra a composição quali e quantitativa, em porcentagem massa/massa, da formulação proposta, ajustada para a viscosidade necessária para obtenção de emulsão mais viscosa.

INCI name	%m/m
<i>Helianthus annuus</i> (sunflower) seed oil, polyacrylic acid, xylityl sesquicaprylate, glyceryl stearate, <i>Euphorbia cerifera</i> (candelilla) wax, sodium hydroxide	3,00
Dibutyl adipate	1,00
Ethylhexyl stearate	1,00
Mangifera Indica Seed butter	2,50
BHT	0,05
Glycerin	3,00
Methylparaben	0,18
Propylparaben	0,02
Disodium EDTA	0,10
Carbomer (dispersão aquosa a 2%)	2,00
Polyacrylamide C13-14 Isoparaffin, Laureth – 7	3,00
Aqua	q.s.p. 100,00
<i>Hylocereus undatus</i> stem extract (liofilizado)	0,10

Tabela 3. Composição percentual da emulsão proposta.

Fonte: Elaborado pela autora.

5.7. ESTUDO DE ESTABILIDADE

Os ensaios para avaliação da estabilidade do cosmético proposto foram realizados segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004) e o Protocolo de Estabilidade de Fitocosméticos, proposto por ISAAC, 2008.

Para realização dos ensaios de estabilidade, foram submetidos cerca de 200g em geladeira, a 5° C; em ambiente, a 25° C; em estufa, a 45° C, distribuídos com 50 g em 4 potes de 60 g de capacidade cada um, para realização dos ensaios no 15°, 30°, 60° e 90° dias após o preparo.

5.7.1. TESTE DE CENTRIFUGAÇÃO

O teste de centrifugação foi realizado a fim de avaliar a manutenção da estabilidade da formulação quanto à separação de fases e coalescência, conforme preconiza o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004).

Após a centrifugação de 5 g do cosmético proposto por 15 min a 3.000 rpm, não houve separação de fases, o que pode ser um indício de estabilidade. Dessa forma, foi possível dar continuidade aos ensaios que determinaram a estabilidade.

5.7.2. AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

A avaliação microscópica foi realizada utilizando microscópio Carl Zeiss MicroImaging GmbH, a fim de observar o comportamento da emulsão nas condições ensaiadas.

As Figuras 13 a 26 mostram a microscopia da formulação no dia do preparo e nos dias avaliados no período de 90 dias de ensaio, submetidas às condições de estresse.

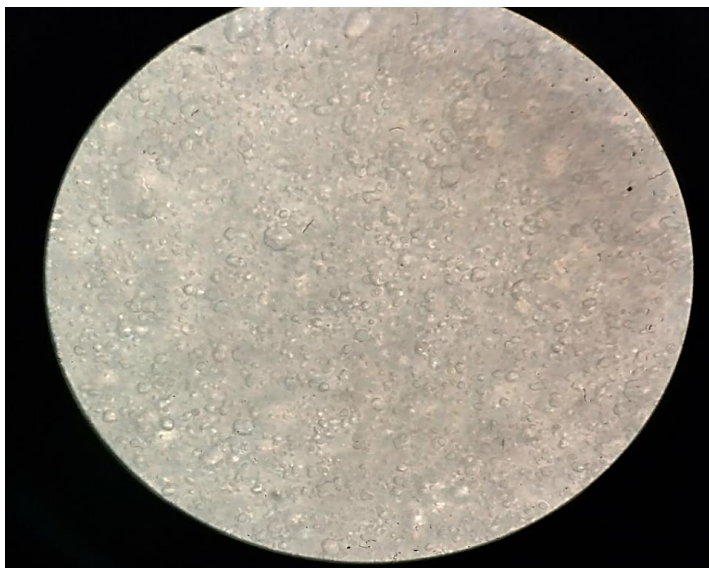
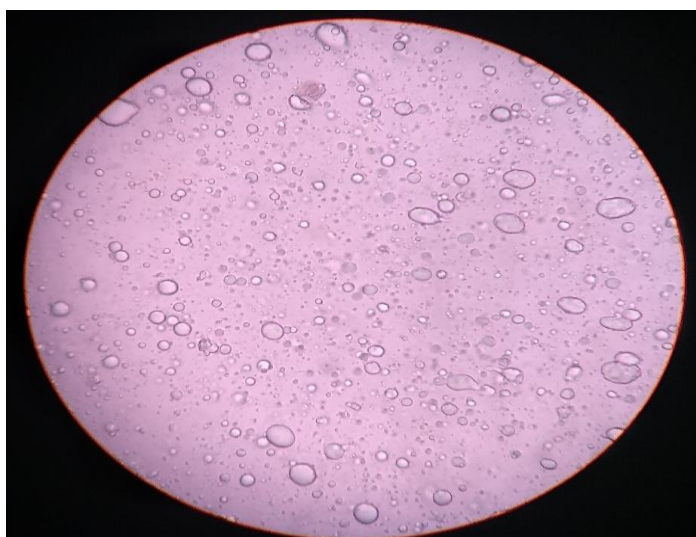


Figura 12. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya no dia 1



Fonte: Autora

Figura 13. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 15° dia de ensaio.

Fonte: Autora.

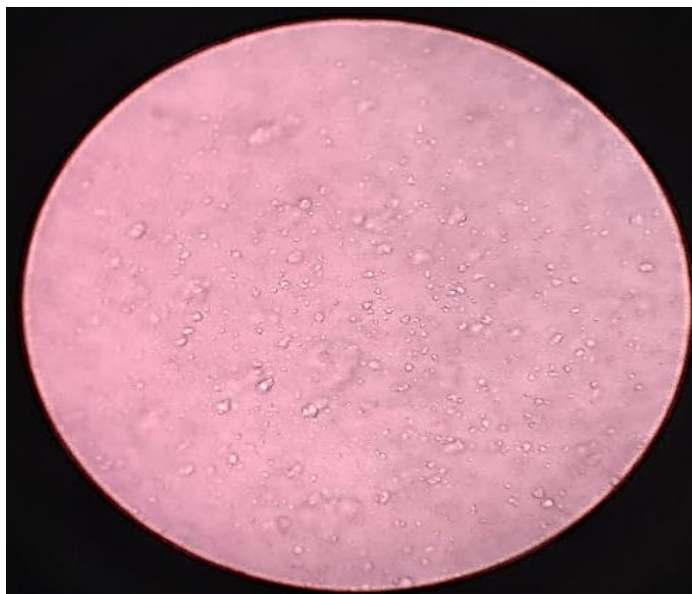


Figura 14: Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 15° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 15. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 15° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 16. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 30° dia de ensaio.

Fonte: Autora.

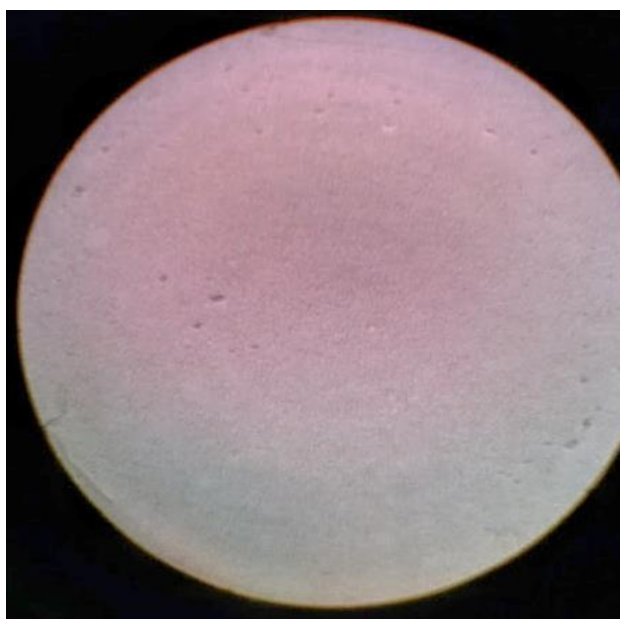


Figura 17. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 30° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 18. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 30° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 19. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 60° dia de ensaio.

Fonte: Autora.

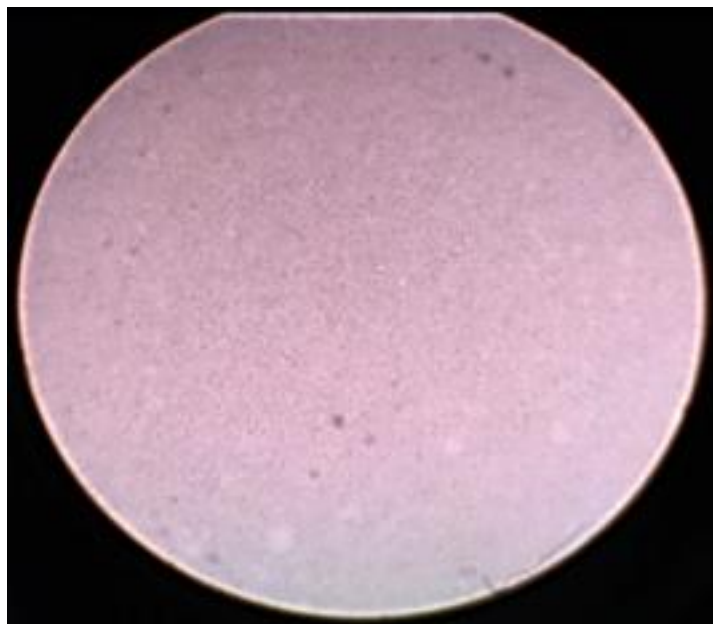


Figura 20. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 60° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 21. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 60° dia de ensaio.

Fonte: Autora.

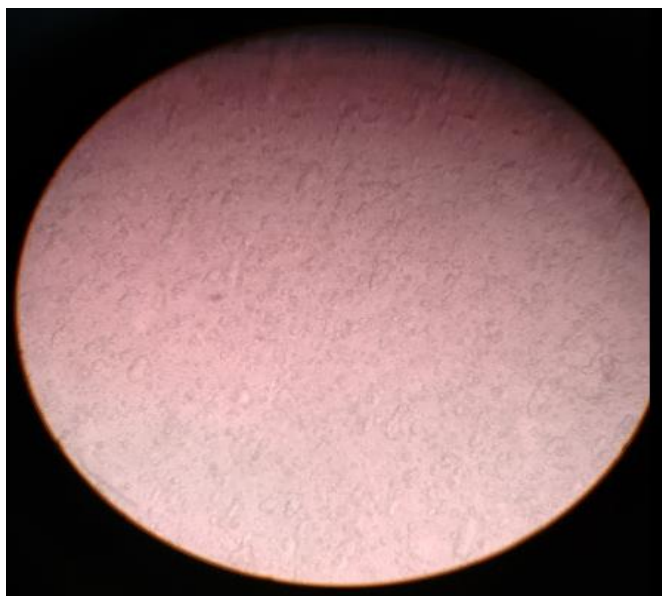


Figura 22. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 5° C, no 90° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 23. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 25° C, no 90° dia de ensaio.

Fonte: Autora.



Figura 24. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida à temperatura de 45° C, no 90° dia de ensaio.

Fonte: Autora.

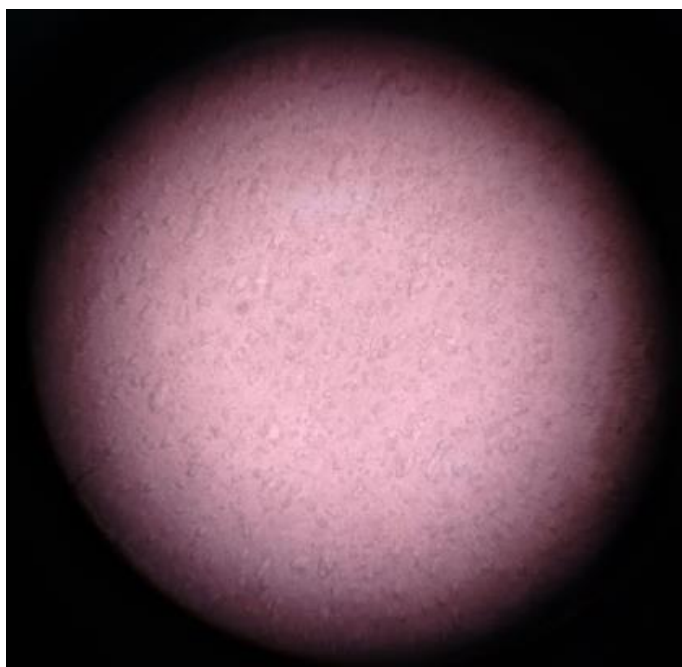


Figura 25. Microscopia da emulsão com extrato de pitaya, submetida ao ciclo congelamento/ descongelamento.

Fonte: Autora.

A microscopia realizada na formulação testada mostrou que as emulsões se mantiveram inalteradas, nas diferentes condições de estresse às quais foram submetidas, ao longo dos 90 dias de análises.

5.7.3. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

A formulação foi avaliada quanto a alterações na coloração, aspecto e odor, além da observação de possível separação de fases e/ou coalescência, tomando-se como referência as avaliações do dia 1 (24 h após a manipulação).

Não ocorreu modificação na aparência macroscópica do cosmético proposto.

A Tabela 4 mostra os resultados das avaliações macroscópicas de cor ao longo dos 90 dias.

Dia de análise	Geladeira a 5° C	Ambiente a 25° C	Estufa a 45° C	Ciclo
1	branco brilhante	branco brilhante	branco brilhante	branco brilhante
15	sem alteração	sem alteração	sem alteração	
30	sem alteração	sem alteração	sem alteração	sem alteração
60	sem alteração	sem alteração	sem alteração	
90	sem alteração	sem alteração	sem alteração	

Tabela 4. Avaliação macroscópica da cor em condições de estresse.

Fonte: Autora.

A Tabela 5 mostra os resultados das avaliações macroscópicas de odor ao longo dos 90 dias.

Dia de análise	Geladeira a 5° C	Ambiente a 25° C	Estufa a 45° C	Ciclo
1	característico	característico	característico	característico
15	sem alteração	sem alteração	sem alteração	
30	sem alteração	sem alteração	sem alteração	sem alteração
60	sem alteração	sem alteração	sem alteração	
90	sem alteração	sem alteração	sem alteração	

Tabela 5. Avaliação do odor em condições de estresse.

Fonte: Autora.

A Tabela 6 mostra os resultados das avaliações macroscópicas de separação de fases ao longo dos 90 dias.

Dia de análise	Geladeira a 5° C	Ambiente a 25° C	Estufa a 45° C	Ciclo
1	sem separação	sem separação	sem separação	sem separação
15	sem alteração	sem alteração	sem alteração	
30	sem alteração	sem alteração	sem alteração	sem separação
60	sem alteração	sem alteração	sem alteração	
90	sem alteração	sem alteração	sem alteração	

Tabela 6. Avaliação macroscópica de separação de fases em condições de estresse.

Fonte: Autora.

5.7.4. DETERMINAÇÃO DO VALOR DE pH

Após dispersão das amostras a 10% (m/m) em água (ISAAC, 2008), o pH foi determinado em peagâmetro Gehaka PG1800, conforme protocolo proposto (ANVISA, 2004). Os valores de pH foram determinados em triplicata, nas amostras submetidas às temperaturas 5°C, 25°C (temperatura ambiente), 40°C, e ciclos de congelamento/descongelamento (ANVISA, 2004) (Figura 27).

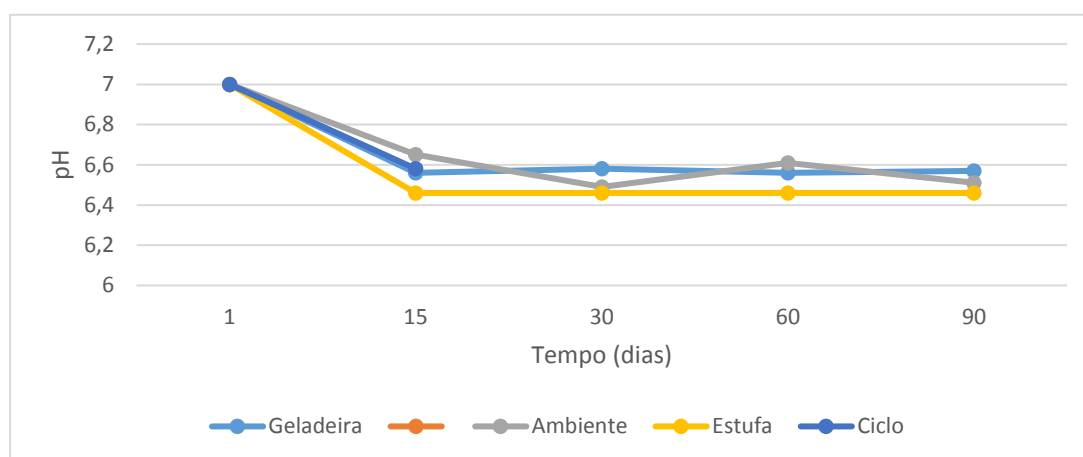


Figura 26. Gráfico dos valores de pH da emulsão com o extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya nas condições de 5° C, 25° C, 40° C e 3 ciclos de congelamento/descongelamento durante 90 dias de análise.

Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 7 mostra a média dos valores obtidos nos resultados de medidas.

Dia de análise	Geladeira a 5° C	Ambiente a 25° C	Estufa a 45° C	Ciclo
1	7,00 ± 0,275	7,00 ± 0,275	7,00 ± 0,275	7,00 ± 0,275
15	6,56 ± 0,423	6,65 ± 0,375	6,46 ± 0,825	
30	6,58 ± 0,162	6,49 ± 0,132	6,57 ± 0,190	6,58 ± 0,123
60	6,56 ± 0,147	6,61 ± 0,060	6,58 ± 0,096	
90	6,57 ± 0,508	6,51 ± 0,027	6,52 ± 0,160	

Tabela 7. Valores de pH das emulsões propostas em condições de estresse.

Fonte: Autora.

A partir do 15º dia de análise foi possível observar que todas as condições de estresse apresentaram uma diminuição de aproximadamente 0,4 em relação ao dia 1; porém, depois foi estabilizado não apresentando diferença estatística.

5.7.5. DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE

A viscosidade foi determinada para cada amostra, em triplicata (Figura 28), utilizando um viscosímetro Brookfield RV-DVIII, com o dispositivo de pequenas amostras e *spindle* 27.

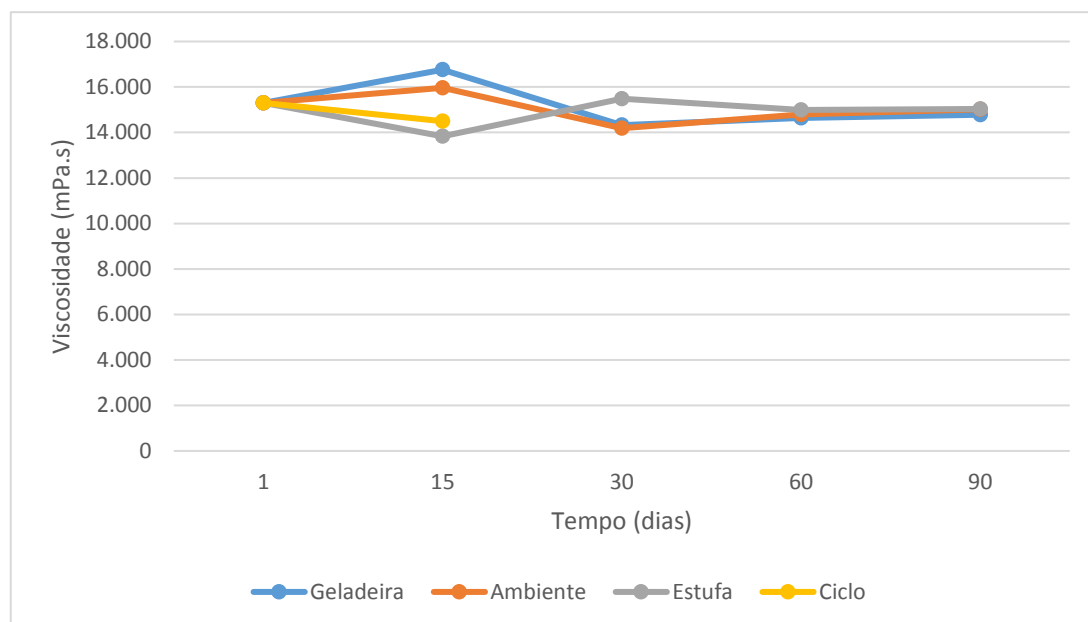


Figura 27. Gráfico dos valores de viscosidade da emulsão com o extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya nas condições de 5° C, 25° C, 40° C e 3 ciclos de congelamento/descongelamento durante 90 dias de análise.

Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 8 mostra a média dos valores de viscosidade obtidos nos resultados de medidas.

Dia de análise	Geladeira a 5° C	Ambiente a 25° C	Estufa a 45° C	Ciclo
1	15.300 ± 0,778	15.300 ± 0,778	15.300 ± 0,778	15.300 ± 0,778
15	16.760 ± 0,834	15.966 ± 1,276	13.833 ± 0,590	
30	14.325 ± 0,685	14.189 ± 0,707	15.486 ± 0,650	14.498 ± 0,423
60	14.640 ± 0,266	14.799 ± 0,301	14.991 ± 0,183	
90	14.780 ± 0,302	15.027 ± 0,298	15.033 ± 0,288	

Tabela 8. Viscosidade das emulsões propostas em condições de estresse.
Fonte: Autora.

Não houve diferença significativa nos resultados de viscosidade do estudo de estabilidade da emulsão com extrato de pitaya.

5.8. DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

O espectrofotômetro com esfera de integração mede a absorção óptica do fotoprotetor, e, a partir dos valores obtidos nos comprimentos de onda da faixa do UV-B, foi calculado, matematicamente, pelo próprio equipamento, o FPS do produto (KHURY, 2011). O software (winSPF) acoplado ao equipamento detecta a absorbância transmitida e calcula os valores de FPS (MOYAL et al., 2007).

O software utilizado, WINSPF, utiliza a equação 4 para calcular o valor de FPS após 12 medidas no Optometrics - SPF Analyzer, como mostrado na Figura 29 (GAIKWAD, 2011):



Figura 28. Equipamento Optometrics SPF 290S e seu respectivo software.

Fonte: Optometrics, 2014.

Os valores de FPS encontrados segundo análises obtidas a partir do equipamento Optometrics estão na Tabela 9.

Amostra	FPS	Desvio Padrão
Emulsão base	1,8	0,04
Emulsão base com 0,1% de extrato de cladódio	1,18	0,02
Emulsão base com 5% de extrato de cladódio	2,62	0,62

Tabela 9. Fator de proteção das amostras.

Fonte: Autora

Os resultados foram incipientes, portanto é necessária a repetição da análise com uma concentração de extrato maior que a utilizada.

É importante esclarecer que o FPS não indica verdadeiramente a porcentagem de radiação UV que é absorvida ou refletida pelos filtros solares, ou seja, um filtro com FPS 40 não protege a pele duas vezes mais do que um com FPS 20.

Sendo assim, um fotoprotetor com FPS 20 absorve 96,7% da radiação que incide sobre a pele, enquanto um com FPS 40 absorve 97,5%; ou seja, produtos com elevados valores de FPSs podem dar ao consumidor uma falsa ideia de maior proteção; portanto, os valores experimentais de FPS quase nunca são os valores reais obtidos pelo consumidor (MILESI, 2002; LEONE, 2018).

5.8.1 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE SINÉRGICA DO EXTRATO NA DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

Os valores de FPS encontrados segundo análises obtidas a partir do equipamento Optometrics[®] estão na Tabela 10.

Amostra	FPS	Desvio Padrão
Emulsão base	1,8	0,04
Emulsão base + filtros (Tinosorb S 0,5%, Univel A Plus 1% e Metoxicinamato de octila 4,5%);	77,15	10,46
Emulsão base + extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de pitaya 5% + filtros (Tinosorb S 0,5%, Univel A Plus 1% e Metoxicinamato de octila 4,5%).	77,41	9,34

Tabela 10. Fator de proteção de amostras para avaliação de sinergismo.

Fonte: Autora

Estudos realizados por integrantes do nosso grupo de pesquisa, no *LaCos* - Laboratório de Cosmetologia da FCF – UNESP, utilizando óleo de café verde incorporado em emulsões, demonstraram que, apesar de o óleo de café verde apresentar FPS incipiente com variação entre 0,97 e 1,6, quando em associação com os filtros sintéticos Benzophenone-3, Ethylhexyl salicylate, Bis-Ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine e Ethylhexyl triazone, o óleo de café verde proporcionou um aumento médio de 46,04% no fator de proteção solar das emulsões (LEONE, 2017).

Já no presente trabalho, não foi possível identificar sinergismo em associação com os filtros sintéticos testados.

6. CONCLUSÕES

Os extratos da casca e do cladódio analisados apresentam potencial atividade antioxidante, sendo que o maior custo benefício é obtido com o cladódio, um subproduto da fruta, o que evita o desperdício da polpa.

O extrato hidroalcoólico liofilizado de cladódio de *Hylocereus undatus* demonstrou potencial atividade antioxidante, podendo assim ser utilizado como ativo em cosméticos antienvhecimento.

A emulsão desenvolvida no presente trabalho apresenta potencial cosmético multifuncional, já que promove efeito antioxidante e, quando são incorporados filtros solares, proporcionam fotoproteção.

8. REFERÊNCIAS

ABIHPEC. **Panorama do Setor de HPPC 2018**. São Paulo, 2016. Disponível em: <<https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-2018/>>. Acesso em: 28 out. 2018;

ABIHPEC. **Aumenta procura por produtos para pele**. São Paulo, 2014. Disponível em: <<https://www.abihpec.org.br/2014/05/abihpec-aumenta-procura-por-produtos-para-pele/>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Cosméticos**. 2015. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867685/RDC_07_2015_.pdf/>. Acesso em: 30 nov. 2018.

ANVISA, Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2004. v. 1.

ARAUJO, T S de; SOUZA, S O de. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 4, n. 11, p.1-7, ago. 2008.

BAGATIN, Ediléia. Envelhecimento cutâneo e o papel dos cosmecêuticos. **Boletim Dermatológico**, UNIFESP. São Paulo, v. 17, n. 5, p.1-4, mar. 2008.

BRASIL, 2005. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 211, de 14 de julho de 2005. Estabelece a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, conforme Anexo I e II desta Resolução e dá outras definições. **Diário Oficial da União**. Brasília, 14 julho 2005. Disponível em: http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/U_RDC-ANVISA-211_140705.pdf. Acesso em: 30 nov. 2018.

CHEMYUNION [Internet]. 2018. Disponível em: <http://chemyunion.com/cuidados-para-pele/emulfeel-sgp-2>. Acesso em: 10 dez. 2018.

CHIARI, B.G. **Desenvolvimento, avaliação da eficácia e segurança de fitocosmético contendo extrato de *Psidium guajava* L.** 2011. 151 p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Unesp. Araraquara/SP, 2011.

CHIARI, B.G. et al. Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p.389-393, jan. 2014;

CORRÊA, Marcos Antonio. **Cosmetologia: Ciência e Técnica**. São Paulo: Medfarma, 2012.

EXTRATOS vegetais. **Food Ingredients Brasil**, n. 11, p. 16-20, 2010. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/120.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2018.

FARMACOPEIA Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. Pt 2. p. 146.

FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

GAIKWAD, M.; KALE, S. Formulation and *in vitro* evaluation for sun protection factor of *Moringaoleifera* lam (family-moringaceae) oil sunscreen cream. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.3, n.4, p.371-375, 2011;

GÁLVEZ, M.V. Antioxidantes en fotoprotección, ¿realmente funcionan? **Actas Dermo-sifiliográficas**, Málaga, v. 101, n. 3, p.197-200, abr. 2010;

GUARATINI, Thais et al. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.717-721, mar. 2009;

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Tipos de câncer de pele**. Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma >. Acesso em: 17 jul. 2016.

ISAAC, Vera Lucia Borges et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 29, n.1, p. 85-100, 2008.

JUNQUEIRA, Keize P et al. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Floricultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p.819-824, set. 2010;

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José. **Histologia Básica: Texto e Atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KHURY, E.; BORGES, E. Protetores Solares. **Cosmetics and Toiletries**, São Paulo, v. 48, n. 4, p.4-18, 2011;

LEONE, Beatriz Alves. **Determinação do mecanismo de interação entre filtros solares químicos e óleo de café verde**. 2018. 108 p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Unesp. Araraquara/SP, 2018;

LIMA, C.A. *et al.* Avaliação de características físico-químicas de frutos de duas espécies de pitaya. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 1, n. 3, p.377-383, jul. 2014;

LIU, R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.78, p.517S-520S, 2003;

MIGLIATO, Ketylin Fernanda et al. Verificação da atividade antibacteriana de sabonete líquido contendo extrato glicólico de *Dimorphandra mollis* Benth. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 30, n. 2, p.197-202, maio 2009.

MILESI, S.S.; GUTERRES, S.S. Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**, v. 18, n. 2, p. 81-87, 2002.

MOYAL, D. *et al.* In vivo persistent pigment darkening method: proposal of a new standard product for UVA protection factor determination. **International Journal of Cosmetic Science**. France, v. 29, n. 6, p. 443-449. 2007.

MONTAGNER, Suelen; COSTA, Adilson. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p.263-269, jul. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962009000300008>.

NASCIMENTO, Luciano F. do *et al.* Organic Sunscreens. Research, Innovation and the Organic Synthesis Importance. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 2, p.190-223, 2014;

NURLIYANA, R *et al.* Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: a comparative study. **International Food Research Journal**. Malaysia, v. 17, p. 367-375. dez. 2010;

ORBIS RESEARCH. **Global Cosmetics Products Market**: Analysis of Growth, Trends and Forecasts (2018-2023). 2018. Disponível em: <<http://orbisresearch.com/reports/index/global-cosmetics-products-market-analysis-of-growth-trends-and-forecasts-2018-2023>>. Acesso em: 01 dez. 2018.

PERWEEN, Tamanna; MANDAL, Kk; HASAN, Ma. Dragon fruit: An exotic super future fruit of India Dragon fruit: An exotic super future fruit of India. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. New Delhi - India, v. 7, n. 2, p. 1022-1026. fev. 2018;

POLONINI, Hudson Caetano; RAPOSO, Nádia Rezende Barbosa; BRANDÃO, Marcos Antônio Fernandes. Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na prevenção do câncer de pele. **Revista de APS**, Juiz de Fora, v. 14, n. 2, p. 216-223, jun. 2011.

PÓVOA, Filho, H. Antioxidantes. In: PÓVOA, H. **Radicais Livres**: em Patologia Humana. Rio de Janeiro: Imago, 1995. p. 211-246;

ROSS, Michael H.; PAWLINA, Wojciech. **Histologia**: Em correlação com biologia celular e molecular. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008;

SALVAGNINI, Luiz Estevão *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 241-244, jun. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2008000200018>.

SOUZA, Ana P.T.B. de et al. Desenvolvimento Tecnológico de Soluções Extrativas Hidroetanólicas das Flores de *Calendula officinalis* L. Empregando Planejamento Fatorial. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 29, n. 1, p.13-21, jan. 2010

SOUZA, C.M.P. ***Opuntia ficus-indica* (L) Mill. Caracterização físico-química e avaliação do efeito antioxidante, antibacteriano, fotoprotetor e inibidor da tirosinase.** 2012. 104 p. Dissertação (Mestrado) Centro de ciências da saúde, Universidade federal de Pernambuco, Recife- PE, 2012.

SOUZA, I. D. S. **Prospecção no setor cosmético de cuidados com a pele: inovação e visão nas micro, pequenas e médias empresas.** 2015. 459f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015;

SOUZA, T M et al. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 1, p.36-38, nov. 2004;

TOFETTI, Maria Helena de Faria Castro; OLIVEIRA, Vanessa Roberta de. A importância do uso do filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. **Investigação: Revista Científica da Universidade de Franca**, Franca, v. 6, n. 1, p.59-66, abr. 2006;

WIECHERS, J. W. Aspects of multifunctionality in skin care products. In: SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P. (Ed.). **Multifunctional cosmetics**. New York: Marcel Dekker, 2003. Cap. 5, p.83-98. (Cosmetic Science and Technology Series, v.26).

WIDEL, Maria *et al.* Induction of bystander effects by UVA, UVB and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, Gliwice, Poland, v. 68, p.278-287, 2013;

WU, Li-chen *et al.* Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, Taiwan, v. 95, n. 2, p.319-327, mar. 2006.