

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS ARARAQUARA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA VITAMINA C
EM PREPARAÇÕES COSMÉTICAS**

BEATRIZ WATANABE

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa

Araraquara - SP

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS ARARAQUARA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA VITAMINA C
EM PREPARAÇÕES COSMÉTICAS**

BEATRIZ WATANABE

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC - apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do grau acadêmico de Farmacêutica-Bioquímica.

Araraquara – SP

2014

SUMÁRIO

1. Introdução	
1.1 Histórico	03
1.2 Estrutura química e características	04
1.3 Pele	
1.3.1 Funções e composição	06
1.3.2 Envelhecimento cutâneo	08
1.3.3 Radicais livres	09
1.3.4 Antioxidantes	10
2. Objetivos	14
3. Metodologia	
3.1 Preparação das formulações	
3.1.1 Preparo das soluções	14
3.2 Quantificação do Ácido Ascórbico por iodimetria	15
3.2.1 Padronização da solução de iodo	16
3.2.2 Padronização do tiosulfato de sódio	17
4. Resultados e discussão	
4.1 Quantificação de Ácido Ascórbico pelo método de iodimetria	18
4.2 Avaliação do teor de Ácido Ascórbico nas soluções	20
5. Conclusões	26
6. Bibliografia	27

1. Introdução

1.1 Histórico

Desde o início do século XV, quando ocorriam as grandes e longas viagens marítimas, o escorbuto tornou-se uma epidemia entre os tripulantes, e, no final da idade média, atingiu milhares de pessoas no norte e centro da Europa (SEIB et al., 1982; CARPENTER, 1986; HALLIWELL, 2001). Essa doença é causada devido a deficiência de ácido ascórbico (AA), também conhecido como vitamina C, sendo caracterizado por fadiga, tonteados, anorexia, manifestações hemorrágicas, edemas nas articulações, alterações cutâneas e infecções, podendo ocasionar morte (CRANDON, 1940).

Em 1747, James Lind, médico da Marinha Britânica, realizou um estudo controlado correlacionando a mortalidade e morbidade dos marinheiros ingleses com a deficiência de vitamina C (LIND, 1953). Ele comprovou que a ingestão diária de duas laranjas e um limão melhorou o escorbuto após uma semana. Sendo assim, a partir de 1795 tornou-se obrigatório a ingestão diária de frutas cítricas.

Pela primeira vez, em 1911, Casimir Funk utilizou o termo vitamina para referir-se a substâncias alimentares imprescindíveis à saúde.

As vitaminas são substâncias orgânicas de pequena massa molecular sem nenhum valor energético próprio, cuja ação é dependente de pequenas doses. Promovem o crescimento, a manutenção da vida e a capacidade de reprodução dos homens e animais (GUILLAND et al., 1995).

Em 1919, a função de prevenção do escorbuto foi chamado de fator “C” por Drummond, já que outras vitaminas foram anteriormente denominadas de A e B (SHARMAN, 1974).

Somente em 1928, o médico-cientista húngaro Albert Szentgyorhyi isolou o fator antiescorbuto em diversos alimentos e denominou-o vitamina C (SZENTGYORGY, 1928).

Em 1937, Szentgyorhyi recebeu o Prêmio Nobel pelo seu trabalho com a vitamina C (CARPENTER, 1986). 61 anos mais tarde, na universidade de Duke, Sheldon R. Pinnell demonstrou os benefícios da utilização tópica do ácido ascórbico (PINNELL, 1998).

Em 2001, foi estabelecido um parecer técnico sobre a utilização da vitamina C em produtos cosméticos (CATEC, 2010).

1.2 Estrutura química e características

O ácido ascórbico (Figura 1) possui fórmula $C_6H_8O_6$, peso molecular de $176,13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, densidade de $1,65 \text{ g}/\text{cm}^3$ e faixa de fusão entre $190\text{-}192^\circ\text{C}$. Essa estrutura apresenta dois centros quirais, determinando quatro estereoisômeros, sendo que apenas o ácido L-ascórbico possui atividade óptica (MACHLIN, 1991).

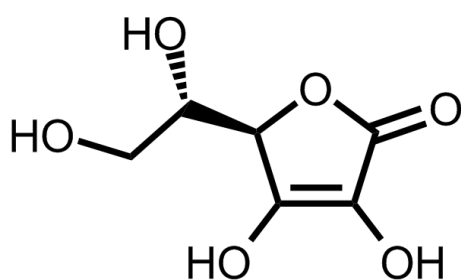


Figura 1. Fórmula estrutural do ácido ascórbico

A vitamina C apresenta-se sob a forma de pó ou cristais brancos ou amarelos inodoros, com sabor ácido. É insolúvel na maioria dos solventes orgânicos e solúvel em água na proporção 1g em 3mL. A exposição ao ar, ao calor e a meios alcalinos, especialmente o contato com íons ferro e cobre ou enzimas oxidativas, aceleram sua oxidação (HANDBOOK, 2006; GUILLAND et al., 1995; KOSSEVA et al., 1991; KING et al., 1975). A máxima estabilidade do AA ocorre em pH entre 3,0 e 6,0.

O AA é o antioxidante mais abundante presente na pele (KELLER e FENSKE, 1998; MAIA et al., 2001; PINNELL et al., 2001; WEBER et al., 2009). Devido a sua capacidade antioxidante, ele pode proteger células e tecidos contra os danos oxidativos provocados pelos radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), que são os responsáveis pelos danos foto oxidativos em ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos (GALLARATE et al., 1999).

Em pH fisiológico, devido ao seu pKa 4,25, a vitamina C torna-se um mono ânion, que pode doar um elétron e formar o radical ascorbil, e desta forma com um elétron desemparelhado, pode ser facilmente oxidado e formar o ácido deidroascórbico (Figura 2) (WEBER et al., 2009). A enzima responsável por catalisar essa reação de oxidação que origina o DHA a partir do AA é a redutase (PIRES, 2008).

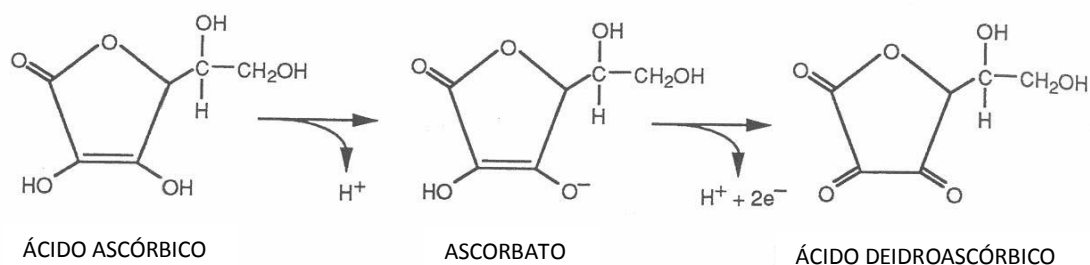


Figura 2. Ácido ascórbico e sua oxidação para ascorbato e ácido deidroascórbico

A vitamina C é de extrema importância para o funcionamento celular, principalmente no tecido conjuntivo durante a formação de colágeno (FENSKE e LOBER, 1986; YAAR e GILCHREST, 1990). O AA está envolvido na formação da hidroxiprolina e hidroxilisina (COUNSELL et al., 1981) e, além disso, é co-fator enzimático e participa de reações de oxido-redução. Dessa forma, ele aumenta a absorção de ferro e a inativação de radicais livres (PADH, 1991).

A hidroxiprolina e hidroxilisina são constituintes do colágeno, a principal proteína do tecido conectivo fibroso em animais, essencial para a manutenção da pele (DAVIES et al., 1991). Já que não existe nenhum códon que codifica essas substâncias, no momento em que o colágeno é sintetizado, a prolina e lisina são hidroxiladas após a tradução, ambas necessitando de vitamina C para a reação de hidroxilação. Portanto, a deficiência de ácido ascórbico por longos períodos pode levar a uma errônea formação das fibras de colágeno. Acarretando, assim, lesões na pele e fragilidade em outros tecidos (CAMPBELL, 2000).

Estudos mostraram que a vitamina C aplicada topicamente é capaz de atenuar a resposta inflamatória da pele exposta à luz solar (DARR et al., 1992) e também pode ser utilizada como clareador cutâneo inibindo a tirosinase (AZULAY et al., 2003; HUMBERT, 2001) e antioxidante na pele (BUCHLI, 2002), fatores que auxiliam no retardo do envelhecimento cutâneo.

1.3 Pele

1.3.1 Funções e composição

A pele é o maior órgão e o principal tecido protetor do corpo humano, agindo como uma fronteira ativa entre o organismo e o ambiente. Corresponde a cerca de 5,5% da massa corpórea e é responsável pelo controle de perda de fluidos,

amortecimento de golpes mecânicos, regulação de perda de calor e transmissão de estímulos, além de evitar a penetração de substâncias nocivas e radiação.

É composta por três camadas: epiderme, derme e hipoderme (WELLS et al, 2004; GOLDSMITH, 1990; LEONARDI, 2004).

A epiderme é formada por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado que é sustentada e nutrida por uma camada de tecido conjuntivo, denso e fibroelástico, a derme (JUNIOR, 2006). Uma de suas funções mais importantes é o revestimento cutâneo, em sua totalidade. É composta por quatro tipos celulares: os queratinócitos, os melanócitos, as células de Langerhans e as células de Merckel (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Os queratinócitos são as células em maior abundância na epiderme (HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999). A principal função da epiderme é produzir o extrato córneo (MADISON, 2003), uma camada fina que minimiza a perda de água, preservando a hidratação da pele e protegendo contra a penetração de substâncias do ambiente (BLANK, 1969; ELIAS & FRIEND, 1975).

Os melanócitos apresentam organelas, os melanossomos, que iniciam a síntese da melanina, responsável pela pigmentação da pele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

As células de Langerhans são similares aos melanócitos, porém sem pigmento, e se deslocam entre a derme e a epiderme. Apresentam função protetora, fagocitando partículas estranhas; regulam as mitoses; estimulam a produção de alguns linfócitos e atuam na maturação e queratinização de células da epiderme (WILKINSON & MOORE, 1990; HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999).

Já as células de Merckel são as responsáveis por manterem contato com fibras nervosas não-mielinizadas, formando um corpúsculo que age na inervação da

pele, conhecido como disco de Merckel (HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999).

A derme é constituída por fibras colágenas e elásticas imersas em um gel mucopolissacarídico, sendo o fibroblasto o principal elemento celular. É um tecido de sustentação e nutrição da epiderme e seus anexos (PRUNIERAS, 1994).

A hipoderme é um tecido conjuntivo frouxo que une a derme aos órgãos profundos. Porém, ele não é considerado um constituinte da pele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008). Apresenta as funções de reserva de gordura e lipólise, atuando como fonte energética, além de agir na termogênese e como protetor mecânico (HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999).

1.3.2 Envelhecimento cutâneo

O envelhecimento da pele é um processo resultante do desgaste celular em que há a diminuição da renovação celular e da capacidade de realizar funções normais (YAAR e GILCHREST, 2001). Em 1981, Harman criou a definição de envelhecimento como perda de funcionalidade e perda da capacidade de se adaptar ao estresse.

Fatores intrínsecos e extrínsecos são responsáveis pelo envelhecimento. Quando ocorre de forma intrínseca, o fenômeno é devido à formação de espécies reativas de oxigênio resultantes do metabolismo celular, considerado um fator genético. Dentre os fatores extrínsecos, existem os fatores ambientais tais como o fumo, o álcool, a má nutrição e o excesso de exposição ao sol (DRAELOS, 1999; BERRA et al., 2006; MCCULLOUGH & KELLY, 2006).

A radiação ultravioleta emitida pelo sol é uma das principais fontes de formação de radicais livres no organismo, sendo o dano agravado proporcionalmente ao tempo de exposição (THIELE et al.,1997; FUCHS et al.,1998; FISHER et al., 2002; MIYAMURA et al., 2007). No processo de envelhecimento ocorre espessamento da epiderme, aumento das rugas, perda da firmeza e da elasticidade da pele, prejudicando sua permeabilidade e funcionamento. A peroxidação causa a destruição dos lipídeos da pele, tornando-a seca e áspera (MAGALHÃES, 2000; SCOTTI e VELASCO, 2003).

Ao longo do tempo surgem rugas finas, sinais de flacidez, possíveis pigmentações além de aumento no aparecimento de neoplasmas benigno. No período pós menopausa, a deficiência de estrógeno influencia na síntese de colágeno na pele e na massa óssea, ocorrendo rápida diminuição em seu nível (YAAR e GILCHREST, 2001).

1.3.3 Radicais livres

Os radicais livres são espécies reativas de oxigênio (EROs), que possuem um ou mais elétrons não pareados, o que lhes confere grande instabilidade energética e cinética (MAGALHÃES, 2000; GIACOMINI, 2007). Podem ser formados dentro do próprio organismo através da respiração, ou então pela ação de raios UV vindos do sol, cigarro, má alimentação, poluição, entre outros (BIANCHI e ANTUNES, 1999; SCOTTI e VELASCO, 2003; GIACOMINI, 2007). Dentre as EROs temos o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroxila (OH^{\cdot}) e o oxigênio singlete (1O_2) (GIACOMONI, 2007).

As células desenvolveram mecanismos antioxidantes contra a toxicidade promovida pelo oxigênio. Esses agentes consistem em: proteínas que protegem contra danos oxidativos através de mecanismos não enzimáticos, enzimas que removem radicais e espécies reativas, proteínas que reduzem a disponibilidade de pró-oxidantes, além de moléculas de baixo peso molecular que captam as EROs através de auto-oxidação como, por exemplo, vitaminas como α -tocoferol, ácido ascórbico e β -caroteno (CADENAS, 1989; BERRA et al., 2006).

A ineficiência do sistema de defesa antioxidante contra a ação dos radicais livres é um dos principais causadores do envelhecimento e, além disso, com o passar do tempo, há aumento da concentração de radicais livres que deveriam ser neutralizados (GIACOMINI, 2007). Para minimizar ou prevenir os efeitos dos radicais livres, é recomendável o consumo mínimo de doses diárias de antioxidantes (LIU, 2003).

1.3.4 Antioxidantes

Atualmente, muitas são as estratégias adotadas para manter a pele saudável e jovem (MENON et al., 2009). A fim de atenuar os efeitos do envelhecimento tem-se sugerido o uso de compostos antioxidantes que atuam na defesa contra os radicais livres e podem ser encontrados na dieta ou até mesmo de forma sintética (DOROSHOW, 1983; HALLIWELL et al., 1995; WEIJL et al., 1997). De acordo com a ABIHPEC, 2011, há uma tendência de valorização desse tipo de produto, principalmente pelo público a partir dos 30 anos. Dentre os produtos para prevenção do envelhecimento destacam-se aqueles que possuem ativos antioxidantes em sua formulação.

Ácido ferúlico (Figura 3) é o nome comum dado para ácido 2-propenóico-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil). Plantas também produzem o ácido isoferúlico. O ácido ferúlico (AF) isolado a partir de plantas normalmente se apresenta como isômero trans. O seu peso molecular é 194 e o ponto de fusão, 174 °C (GRAF, 1992).

A maior parte do potencial antioxidante do ácido ferúlico vem da sua capacidade de neutralizar radicais livres, através da doação de átomos de hidrogênio a essas moléculas e de quelar metais catalíticos, complexando íons metálicos (principalmente cobre e ferro) que catalisam a oxidação lipídica (GRAF, 1992).

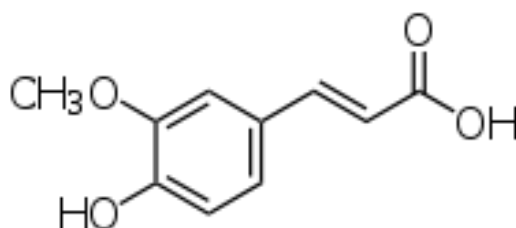


Figura 3. Fórmula estrutural do ácido ferúlico

Os sulfitos são substâncias químicas amplamente utilizadas na indústria farmacêutica para reduzir ou evitar a oxidação (CHESSEX et al., 1994). O bissulfito de sódio (BS), de fórmula molecular NaHSO₃, é comercializado seco e composto predominantemente por metabissulfito de sódio, Na₂S₂O₅, que é o derivado desidratado de duas moléculas de bissulfito.

O metabissulfito de sódio (Figura 4) está entre os antioxidantes mais utilizados para sistemas aquosos na indústria farmacêutica. Antioxidantes hidrossolúveis exercem sua ação por se oxidarem antes do fármaco, assim, os sais

de ácido sulfuroso tem a capacidade de perder um radical hidrogênio ou um elétron (LACHMAN, 2001).

A eficácia desse antioxidante vai depender da concentração usada, quer seja usado individualmente ou em combinação com outros fatores: pH da solução, integridade e reatividade da embalagem (LACHMAN, 2001).

Embora o metabissulfito de sódio tenha sido e continue a ser considerado como um antioxidante eficaz, dados recentes indicam que sua atividade antioxidante é inibida por compostos que podem inclusive sofrer degradação (LACHMAN, 2001).

A eficácia do metabissulfito de sódio como antioxidante nas formulações de medicamentos depende da facilidade com que esse composto se oxida em relação ao fármaco que vai proteger (LACHMAN, 2001).

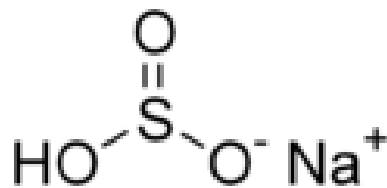
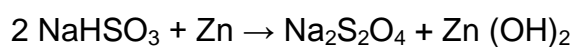


Figura 4. Fórmula estrutural do metabissulfito de sódio

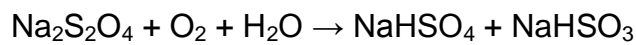
Ditionito de sódio (Figura 5), também conhecido como hidrossulfito de sódio, é um pó branco cristalino com um fraco odor sulfuroso. É um sal sódico de ácido disulfúrico. Embora seja estável na maioria das condições, ele pode se decompor em água quente e em soluções ácidas. Ele pode ser obtido a partir de bissulfito de sódio pela seguinte reação :



A solução aquosa de ditionito de sódio (DS) é ácida e se decompõe para tiosulfato de sódio e bissulfito de sódio. A taxa de reação aumenta com o aumento da temperatura. Além disso, a taxa é maior sob forte acidez.



Na presença de oxigênio se decompõe em bissulfato de sódio e bissulfito de sódio.



Por ser um agente redutor, ele se oxida com facilidade e pode ser utilizado como antioxidante em preparações de uso tópico. Ditionito de sódio também pode ser usado para o tratamento de água e em processos industriais, como um agente de sulfonação ou uma fonte de ions de sódio. Além da indústria têxtil, este composto é usado em indústrias envolvidas com o couro, os alimentos, os polímeros, a fotografia, e muitos outros. A sua utilização é largamente atribuída à sua baixa toxicidade e, conseqüentemente, a sua vasta gama de aplicações (HOUSECROFT & SHARPE, 2008).

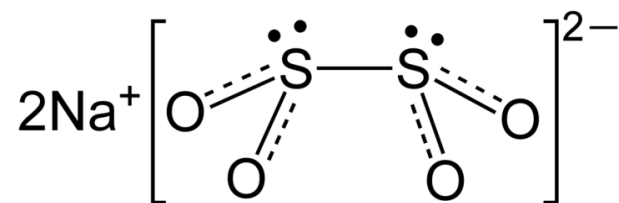


Figura 5. Fórmula estrutural do ditionito de sódio

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade do ácido ascórbico em associação com outros antioxidantes, de forma a obter um sistema que mantenha a vitamina C em sua forma ativa ao longo do tempo.

3. Metodologia

3.1 Preparação das formulações

3.1.1 Preparação das soluções

Foram preparadas quatro soluções de ácido ascórbico (AA) a 0,01 g/mL. Na primeira, utilizou-se apenas ácido ascórbico. Nas outras três, em cada uma adicionou-se um tipo de antioxidante diferente: ácido ferúlico, bissulfito de sódio e ditionito de sódio (Tabela 1). Foi utilizado como sistema solvente a água.

As quatro soluções foram armazenadas em frascos de vidro ao abrigo da luz e do calor e foram quantificadas em relação ao teor de AA ao longo do tempo.

Tabela 1. Composição percentual das soluções

	1	2	3	4
Ácido Ascórbico	1,00%	1,00%	1,00%	1,00%
Ácido Ferúlico	-	0,10%	-	-
Bissulfito de Sódio	-	-	0,10%	-
Ditionito de Sódio	-	-	-	0,10%
Água	qsp 100,00%	qsp 100,00%	qsp 100,00%	qsp 100,00%

Em todos os frascos foi adicionado 5% de DMSO, visto ter sido necessário sua inclusão para solubilizar o ácido ferúlico.

3.2 Quantificação de AA por iodimetria

O método de quantificação escolhido foi a iodimetria, método que utiliza o iodo como agente titulante e é de baixo custo e fácil reprodutibilidade. Este é um método de quantificação farmacopeico, não havendo necessidade de validação. Foram utilizadas vidrarias calibradas e o mesmo operador realizou todas as medidas a fim de minimizar interferência dos equipamentos e erro operacional durante o processo.

Este método de quantificação do AA, estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010), estabelece a adição de 2 mL da solução de AA em 100 mL de água isenta de dióxido de carbono acrescida de 25 mL de ácido sulfúrico 10% (p/v) (Figura 6). Após a realização deste procedimento, a solução foi imediatamente titulada com iodo 0,05 M e próximo ao ponto de viragem, 1mL de amido foi acrescentado. Cada mL de iodo 0,05 M equivale a 8,806 mg de $C_6H_8O_6$.

As determinações do teor de AA foram realizadas ao longo de 90 dias e todas as medidas foram realizadas em sextuplicata. Foram determinadas a média e o desvio padrão, além de análise de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), quando adequado. A análise estatística e plotagem dos gráficos foram realizadas utilizando o software Origin 7.

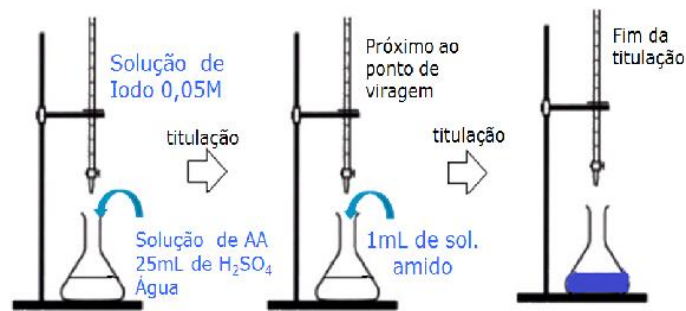


Figura 6. Esquema demonstrando o procedimento para quantificação do AA por iodimetria (MAGNANI et al., 2011).

Para preparar a solução de iodo, 13 g de iodo foram solubilizados em 100 mL de solução de iodeto de potássio (KI) a 20% e o volume completado para 1 litro com água.

3.2.1 Padronização da solução de iodo

Em um erlenmeyer foram adicionados 5 mL de solução de iodo, 5 mL de solução KI 4%, 1 mL ácido acético glacial e 1 mL de amido. A titulação foi realizada com solução de tiosulfato de sódio (3,11585 g/100 mL de água) (Figura 7).

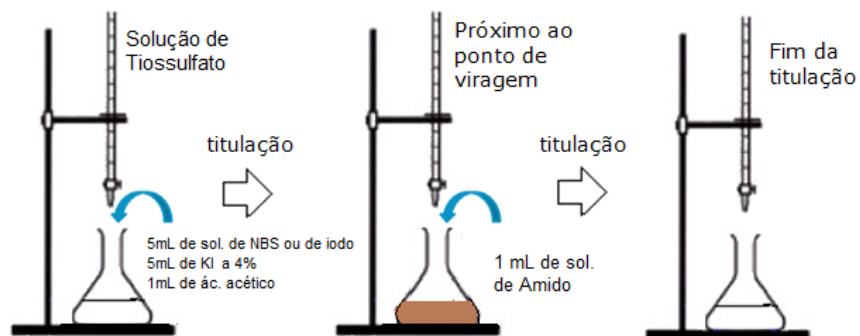


Figura 7. Esquema do procedimento realizado para a padronização da solução de iodo (MAGNANI et al., 2011).

3.2.2 Padronização do tiosulfato de sódio

Em outro erlenmeyer foram adicionados 5 mL de KI 20%, 5 mL de HCl 6N, 5 mL de solução de KBrO_3 ($2,79 \cdot 10^{-3} \text{g/mL}$), utilizado como padrão primário e 1 mL de amido, quando a titulação estava próximo ao ponto de viragem, utilizando o tiosulfato de sódio como agente titulante (Figura 8).

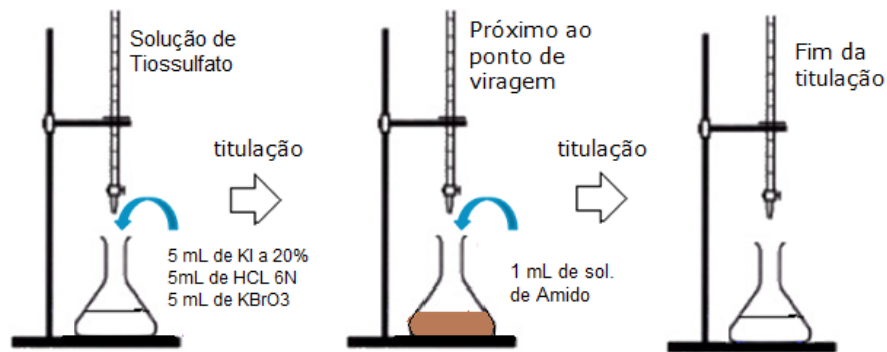
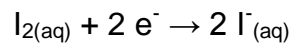


Figura 8. Esquema da padronização da solução de tiosulfato de sódio (MAGNANI et al., 2011).

4. Resultados e Discussão

4.1. Quantificação de AA pelo método de iodimetria

O método da iodimetria baseia-se na conversão de iodo molecular em íon iodeto, de acordo com a semi-reação:



O iodo molecular é um agente oxidante de poder moderado, de tal modo que oxida o AA somente até ácido deidroascórbico (Figura 9).

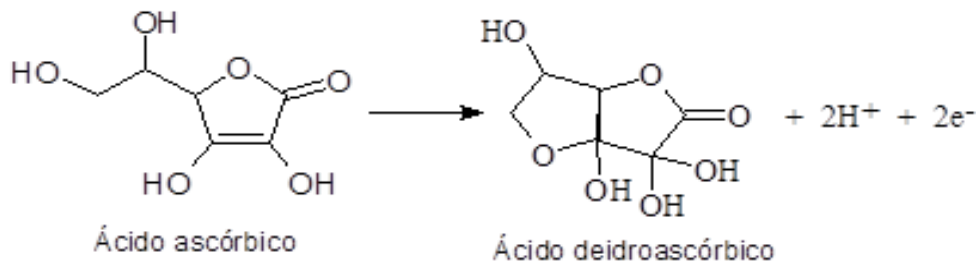


Figura 9. Reação de oxidação do ácido ascórbico à ácido deidroascórbico.

Durante o processo de titulação, à solução de AA foi adicionada solução de amido, que é o indicador, e quantidade de iodo suficiente para reagir completamente com o AA presente na solução.

O AA provoca a redução do iodo a iodeto que em solução aquosa é incolor. O iodo reduzido não pode reagir com a molécula de amido, mas quando ocorre o consumo total das moléculas de AA, as moléculas de iodo em presença de iodeto reagem com as macromoléculas de amido formando complexos de adsorção com os íons triiodeto, conferindo coloração azul intensa à mistura de reação. Isto ocorre porque o amido é uma substância formada por dois constituintes chamados de:

amilose, solúvel em água, e amilopectina, insolúvel em água. A amilose é uma parte do amido que dá a cor azul intensa quando reage com as moléculas de iodo, formando o complexo de amido-iodo.

Para determinação da massa de AA presente nas soluções, foram realizados os seguintes cálculos que são válidos para o método analítico utilizado:

Normalidade (N) do $\text{KBrO}_3 = (\text{massa pesada de } \text{KBrO}_3 / \text{PM} / 6) / \text{volume em litros da solução preparada.}$

N do tiosulfato de sódio que reagiu com o KBrO_3 :

$(\text{volume } \text{KBrO}_3 \times \text{N encontrada}) / \text{Volume gasto}$

N do IODO que reagiu com o tiosulfato de sódio:

$\text{N IODO} = (\text{Ntiosulfato} \times \text{Vtio}) / \text{V IODO}$

$\text{Massa de AA (mAA)} = \text{V IODO} \times \text{N IODO} \times 88,06$

Para encontrar a porcentagem de AA presente em solução, realiza-se o cálculo:

100 mL de solução --- 1 grama de AA

2 mL de solução --- X

$X = 0,02\text{g de AA (massa inicial)}$

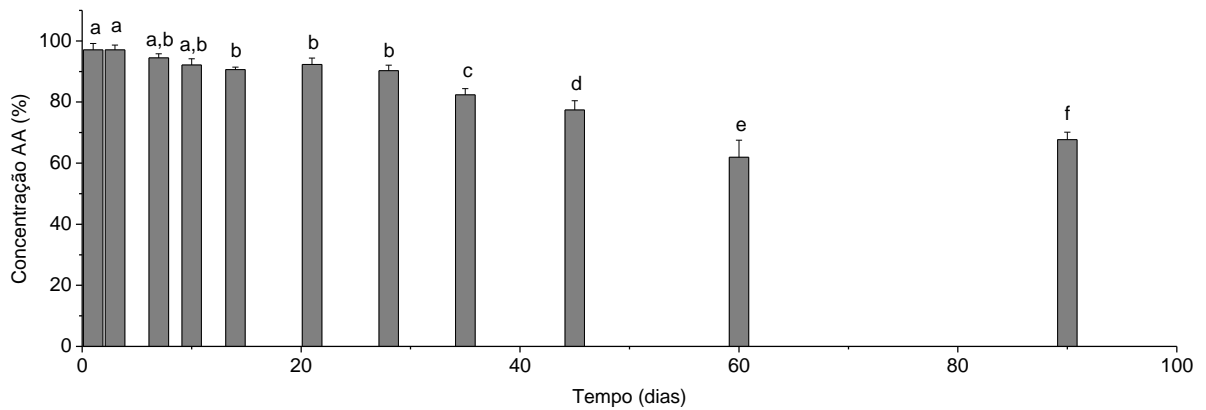
0,02g --- 100%

mAA --- X

4.2 Avaliação do teor de AA nas soluções

O teor de AA nas soluções foi avaliado durante 90 dias.

Através das figuras de 10 a 18 é possível verificar queda de concentração de ácido ascórbico em solução ao longo dos 90 dias. Logo após o preparo das soluções, no dia 0, foi considerada a concentração máxima de AA, portanto 100%.



a,b,c,d,e,f Letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$)

Figura 10. Gráfico comparativo da quantidade de ácido ascórbico ao longo do tempo (1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 45, 60 e 90 dias), empregando-se a iodimetria como método analítico.

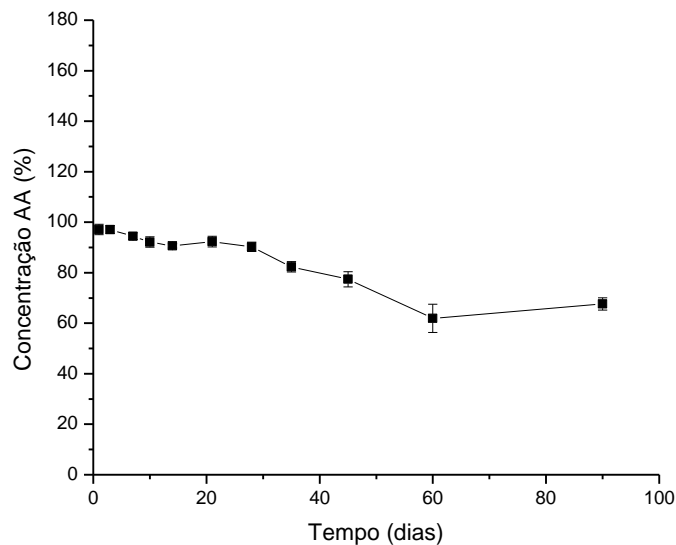
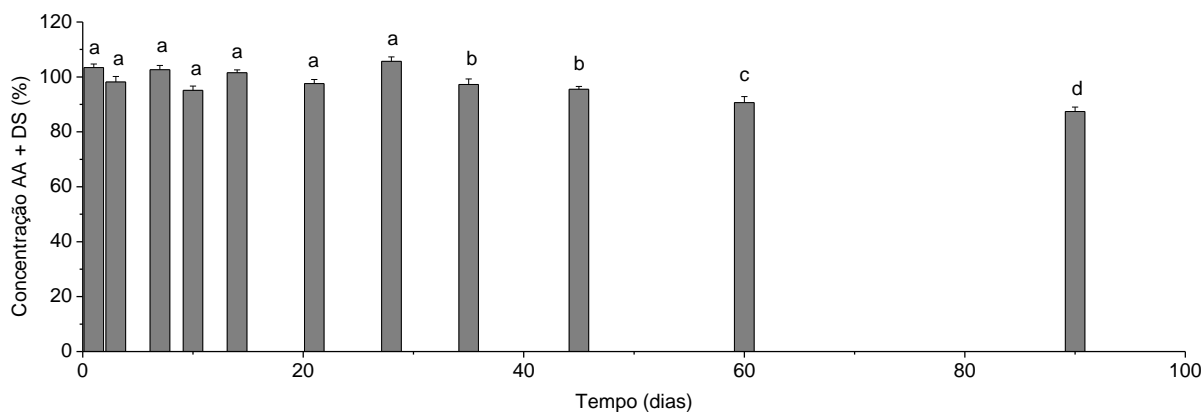


Figura 11. Quantificação de ácido ascórbico por iodimetria.

Até o dia 10, a solução composta apenas de AA, sem qualquer antioxidante, apresentou concentração estatisticamente semelhante de AA em relação ao dia 0. A partir do dia 14 houve redução no teor de ativo ao longo do tempo, sendo que a maior redução foi observada no dia 60, comprovando que quanto maior o tempo de armazenamento, maior a perda de ativo. Após 90 dias de medição, constatou-se a queda de concentração de AA para 66,70% da concentração inicial, ou seja, degradação de 33,30% do ativo.



a,b,c,d Letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$)

Figura 12. Gráfico comparativo da quantidade de ácido ascórbico em solução com ditionito sódico ao longo do tempo (1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 45, 60 e 90 dias), empregando-se a iodimetria como método analítico.

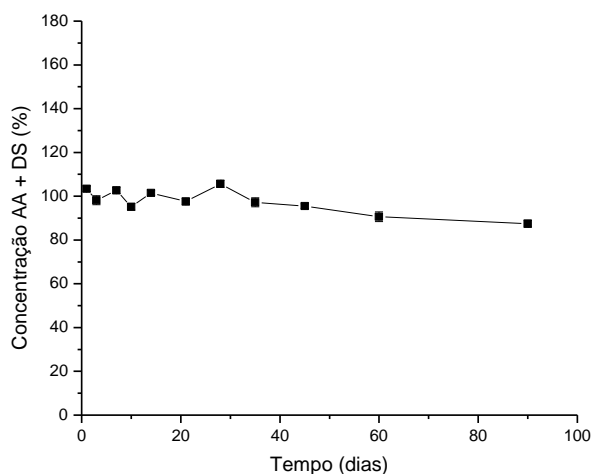
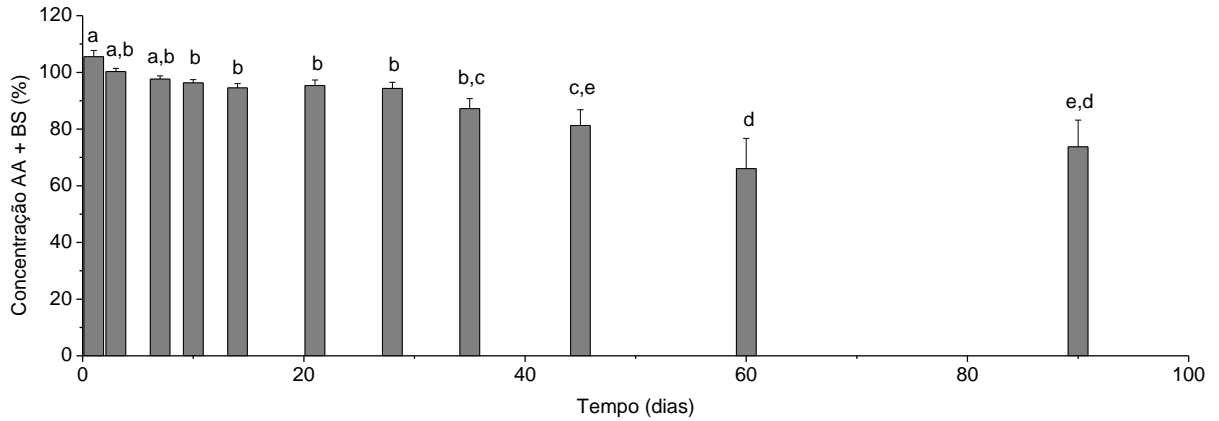


Figura 13. Quantificação de ácido ascórbico em solução com ditionito sódico por método iodimétrico.

As figuras 12 e 13 representam os valores de concentração de AA presentes em solução com ditionito sódico em relação ao tempo. Através de sua análise pelo método de iodimetria, foi possível verificar que a concentração de AA manteve-se inalterada até o dia 35, apresentando oscilações significativamente irrelevantes de acordo com o teste estatístico ANOVA. Transcorridos 90 dias, na última quantificação, observou-se que a concentração de ativo diminuiu para 87,40% da quantidade inicial.



a,b,c,d,e Letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$)

Figura 14. Gráfico comparativo da quantidade de ácido ascórbico em solução com bissulfito sódico ao longo do tempo (1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 45, 60 e 90 dias), empregando-se a Iodimetria como método analítico.

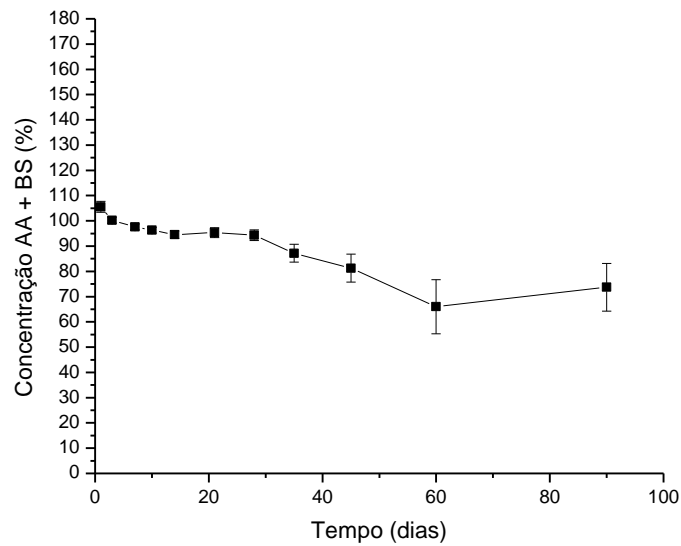
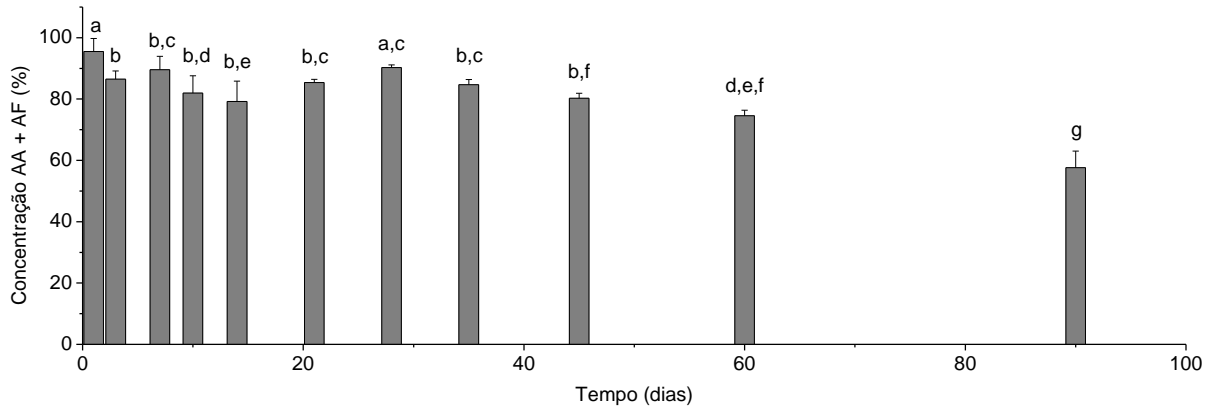


Figura 15. Quantificação de ácido ascórbico em solução com bissulfito sódico por método iodimétrico.

Analisando-se as figuras 14 e 15, pode-se observar que a concentração de ácido ascórbico manteve-se estável do dia 3 até o dia 35, apresentando oscilações não significativas de acordo com o teste de variância ANOVA. A partir do dia 45 do

experimento, houve redução progressiva do teor de ativo. No último dia de quantificação, notou-se que a concentração de AA era 73,70% da medida inicial.



a,b,c,d,e,f,g Letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$)

Figura 16. Gráfico comparativo da quantidade de ácido ascórbico em solução com ácido ferúlico ao longo do tempo (1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 45, 60 e 90 dias), empregando-se a iodimetria como método analítico.

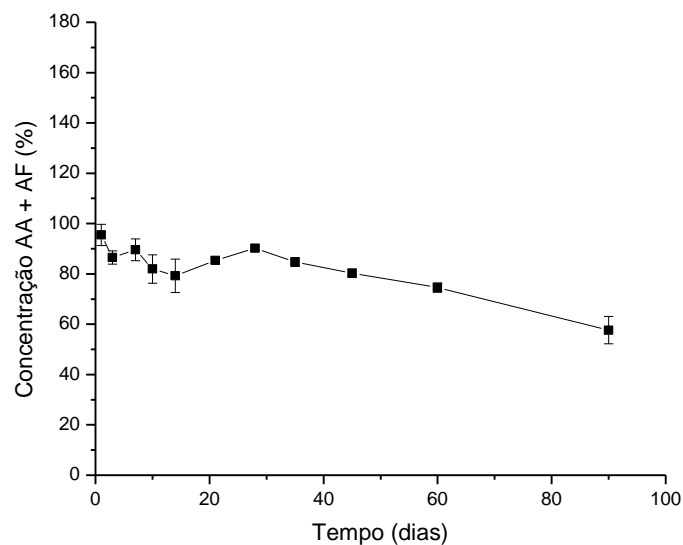


Figura 17. Quantificação de ácido ascórbico em solução com ácido ferúlico por método iodimétrico.

A solução de ácido ascórbico e ácido ferúlico apresentou valores estatisticamente semelhantes em relação ao teor de AA até o dia 45. A partir do dia 60, queda crescente na quantidade de ativo até que no dia 90 de armazenamento, a quantificação por iodimetria apresentou a maior perda de ativo em relação aos demais sistemas, 42,4%.

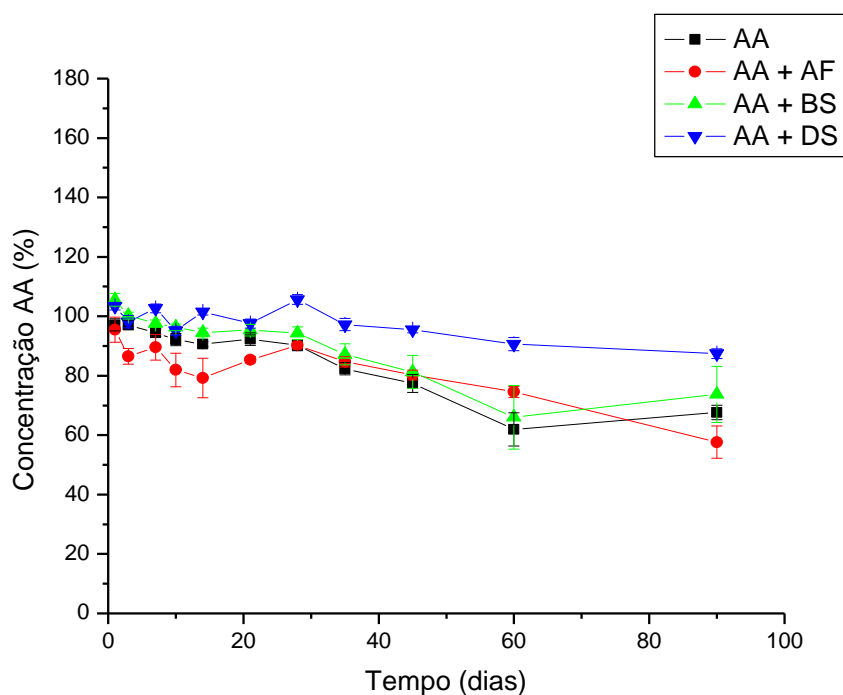


Figura 18. Gráfico comparativo da concentração de ácido ascórbico em porcentagem nas soluções ao longo do tempo (1, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 45, 60 e 90 dias).

Analisando o gráfico da figura 18, podemos observar a redução no teor de AA com o passar do tempo, sendo que as maiores perdas ocorreram após o dia 35. O DS protegeu o AA da oxidação, uma vez que o teor apresentou-se mais alto ao final dos 90 dias que a solução de AA puro. Sendo assim, quanto maior o tempo de armazenamento, maior a perda de ativo.

5. Conclusões

Entre as 4 formulações, podemos concluir que a que mais preservou o ácido ascórbico, avaliando-se pelo método iodimétrico, foi a que continha o ditonito sódico. Após 90 dias de armazenamento, a solução apresentou 87,40% de ativo, em comparação a 67,70% de ácido ascórbico na solução sem qualquer antioxidante.

Este fato mostra que a associação de substâncias ao ácido ascórbico pode diminuir a taxa de degradação desse ativo. Desta maneira, sugere-se que a utilização de AA em formulações cosméticas com finalidade de prevenção do envelhecimento cutâneo seja realizada concomitantemente a outra substância antioxidante capaz de proteger o AA e, assim manter seu teor por mais tempo na formulação garantindo um maior prazo de validade para o produto.

6. Bibliografia

AZULAY, M.M.; LACERDA, C.A.M.; PEREZ, M.A.; FILGUEIRA, A.L.; CUZZI, T. Vitamina C. **An. Bras. Dermatol.**, v. 78, n.3, p. 265-274, 2003.

BERRA, C.M.; MENCK, C.F.M.; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Quim. Nova**, v. 29, n.6, p. 1340-1344, 2006.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Free radicals and the main dietary antioxidants. **Rev. Nutr.**, v.12, n.2, p. 123-130, 1999.

BLANK, I.H. Transport across the stratum corneum. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, suppl. 3, p. 23-29, 1969.

BUCHLI, L.; Radicais livres e antioxidantes. *Cosmet.Toiletries*, Ed. Port.;São Paulo, v.14, n.2; p. 54-57; 2002.

CADENAS, E. Biochemistry of oxygen toxicity. **Annu. Rev. Biochem.**, v.58, p. 79-110, 1989.

CAMPBELL, K.M. **Bioquímica**. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000. 751p.

CARPENTER, K.J. The history of scurvy and vitamin C; Cambridge: Cambridge University Press. p.423; 1986.

CATEC. Câmara Técnica de Cosméticos. Utilização de alfa-hidóxiácidos em produtos cosméticos. Parecer técnico nº3, de 29 de Junho de 2001 (atualizado em 28/06/2004).

COUNSELL, J.N.; HORNING, D.H. **Vitamin C**. London:Appl. Sci., 1981. 383p.

CRANDON, J.C.; LUND; DILL, D.; Experimental human scurvy. N Engl J Med, p.353-369; 1940.

DAVIES, M.B., AUTIN, J. P, PORTRIDGE D.A. **Vitamin C: its chemistry and biochemistry**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1991. 154p.

DARR, D.; COMBS, S.; DUNSTON, S.; MANNING, T.; PINNEL, S. Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation- introduces damage. **Br. J. Dermatol.**,v. 127, n.3, p. 247-253, 1992.

DOROSHOW, J.H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. **Cancer Research**, Baltimore, v.43, n.2, p. 460-472, 1983.

DRAELOS, Z.D. **Cosméticos em dermatologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1999.

ELIAS, P.M.; FRIEND, D.S. The permeability barrier in mammalian epidermis. **J. Cell Biol.**, v.65, p. 180-191, 1975.

FISHER, G.J.; KANG, S.; VARANI, J.; BATA-CSORGO, Z.; WAN, Y.; DATTA, S.; VOORHEES, J.J. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. **Arch. Dermatol.**, v.138, p. 1462-1470, 2002.

FUCHS, J. Potential and limitations of the natural antioxidants RRR- α -tocopherol, L-ascorbic acid and β -carotene in cutaneous photoprotection. **Free Radic. Biol. Med.**, v.25, p. 848-873, 1998.

GALARATTE, M.; CARLOTTI, M. E.; TROTTA, M.; BOVO, S. On the Stability of Ascorbic Acid in Emulsified Systems for Topical and Cosmetic Use. **Int. J. Pharm.**, v.188, p.233-241, 1999.

GIACOMINI, P.U. Understanding reactive oxygen species. **Cosmetics & Toiletries**, v.122, n. 5, p. 36-40, 2007.

GOLDSMITH, L. A. My organ is bigger than your organ. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.126, p.301-302, 1990.

GUILLAND, J.C.; LEQUEU, B. **As vitaminas do nutriente ao medicamento**. São Paulo: Santos, p.375-395, 1995.

HALLIWELL, B. Vitamin C and genomic stability. **Mutat. Res.**, v. 475, p.29-35, 2001.

HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTES. 5^o Edition. Ed. The Pharmaceutical Press. Londres, 2006. p. 744-746.

HERNANDEZ, M.; MERCIER-FRESNEL, M.M. **Manual de cosmetologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1999.

HOUSECROFT, Catherine E.; SHARPE, Alan G. **Química inorgânica**. 3. ed. E.U.A.: Pearson, 2008. Cap. 16, p. 520.

HUMBERT, P. Topical Vitamin C in the treatment of photoaged skin. Eur. **J. Dermatol.**, v.11, n.2, p.172-173, 2001.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 359-365.

KING, C.G.; BURNS, J.J. Second Conference on Vitamin C, Ann. **N. Y. Acad. Sci.** v. 258, p. 1-152, 1975.

KOSSEVA, M.; BESCHKOV, V.; POPOV, R. J. *Biotechnol.*, v. 19, n. 2-3, p.301-308, 1991.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 2. p. 1319

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia Aplicada**. Medfarma, 1 ed., p.92-93, 2004.

LIND, J.A.; treatise on the scurvy, ed. C.P. Stewart and D. Guthrie.;Edinburgh: Edinburgh University Press, 1953.

LIU, R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.78, suppl, p. 517S-20S, 2003.

MADISON, K.C. Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis. **The J. Investigative Dermatol.**, v. 121, n. 2, p. 231-241, 2003.

MAGALHÃES, J. **Cosmetologia**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2000.

MAGNANI, C. ; FERREIRA, G.A. ; CHIARI, B.G. ; ISAAC, V.L.B. ; BATISTUTI, J. P. ; SALGADO, H.R.N. ; CORREA, M. A. . Estabilidade química e comportamento reológico de emulsão contendo ácido ascórbico. *Revista Técnica do Farmacêutico*, v. 3, p. 14-19, 2011.

MAIA, A. M.; ROBLES, M. V.; DE PAOLA, V.; RIBEIRO, M. E.; CONSIGLIERI, V. O. Ação das vitaminas antioxidantes em cosméticos. **Revista Racine**, v. 65, p.52-60, 2001.

MCCULLOUGH, J.L.; KELLY, K.M. Prevention and treatment of skin aging. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1067, p. 323-331, 2006.

MENON, K.G.; DRYER, L.; KALAFSKY, R. Approaches to the Development of Cosmetic Products to Counter the Effects of Skin Aging. **Skin Aging Handbook**. p. 265-290, 2009.

MIYAMURA, Y.; COELHO, S.G.; WOLBER, R.; MILLER, S.A.; WAKAMATSU, K.; ZMUDZKA, B.Z.; ITO, S.; SMUDA, C.; PASSERON, T.; CHOI, W.; BATZER, J.; YAMAGUCHI, Y.; BEER, J.Z.; HEARING, V.J. Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. **Pigment Cell Res.**, v.20, n.1, p. 2-13. 2007.

PADH, H. Vitamin C: never insights into its biochemical functions. **Nutrition Reviews**, v.49, n.3, p.65-70, 1991.

PINNELL, S.R.; MADEY, D.L.; Topical Vitamin C in Skin Care. *Aesthetics Surgery Journal*. November/December 1998.

PRUNIERAS, M. **Manual de cosmetologia dermatológica**. 2. ed. São Paulo: Editora Andrei, 1994.

SCOTTI, L.; VELASCO, M.V.R. **Envelhecimento cutâneo à luz da Cosmetologia: estudo do envelhecimento cutâneo e da eficácia das substâncias ativas empregadas na prevenção**. São Paulo: Tecnopress, 2003. P.22-29, 45-55.

SEIB, P.N.; TOLBERT, B.M. **Ascorbic Acid**: Chemistry, metabolism and uses, 1982, 604p.

SHARMAN, I.M.; Vitamin C: Historical aspects, in Vitamin C, Recent Aspects of its Physiological and Technological Importance, GG Birch and KJ Parker, Editors. 1974; Halsted Press Book, Wiley: New York.1-15.

SZENT-GYORGY, A.; Vitamin C. J Biol Chem.; p.1387-1409; 1928

THIELE, J.J.; TRABER, M.G.; TSANG, K.G. *In vivo* exposure to ozone depletes vitamins C and E and includes lipid peroxidation in epidermal layers of murine skin. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 23, p. 385-391, 1997.

WAUGH, W.A.; KING, .CG.; Isolation and identification of vitamin C. J Biol Chem; p.325-31; 1932.

WEIJL, N.I.; CLETON, F.J.; OSANTO, S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. **Cancer Treatment Reviews**. London, v. 23, n.4, p. 209-240, 1997.

WILKINSON, J.B.; MOORE, R.J. **Cosmetología de Harry**. Madri: Ediciones Díaz Santos, 1990.

YAAR, M.; GILCHREST, B.A. Skin aging: Postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Clinics in Geriatric Medicine*. Volume 17, v4, p.617-630, 2001.