



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE VITIS VINIFERA E VITIS LABRUSCA, E DESENVOLVIMENTO DE COSMÉTICO PREVENTIVO DO ENVELHECIMENTO¹

Juliana Pasquali², Caroline Prigol³, Cindy Giacomelli Rigo⁴, Juliana Roman⁵

¹ Trabalho de conclusão de curso.

² Aluna do curso de Farmácia, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Campus de Erechim.

³ Formada no curso de farmácia pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Campus de Erechim.

⁴ Bolsista CNPQ, Aluna do Curso de Farmácia, da URI Erechim.

⁵ Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFRGS, Professora da URI Erechim.

Resumo: O envelhecimento é um processo fisiológico gradativo, onde a busca pelo rejuvenescimento e longevidade é constante. Deste modo, procura-se novos produtos com substâncias antioxidantes, que ajam contra radicais livres, minimizando o processo de envelhecimento cutâneo. A uva possui grande representatividade econômica regional, sendo uma das maiores fontes de compostos fenólicos, principalmente de flavonoides. **Objetivo:** avaliar o potencial antioxidante da espécie *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* e aplicar em um produto cosmético com ação preventiva do envelhecimento. **Resultados:** A espécie *V. vinífera* obteve o maior conteúdo de compostos fenólicos e a espécie *V. labrusca* obteve maior teor de flavonoides e atividade antioxidante. O estudo de estabilidade referente ao pH, características organolépticas, centrífuga e ciclo gelo-degelo, não obteve alterações. A espécie *Vitis labrusca* não apresentou potencial fotoprotetor. **Conclusão:** Foi possível desenvolver um cosmético preventivo do envelhecimento, principalmente devido a atividade antioxidante comprovada in vitro.

INTRODUÇÃO

As uvas, são frutos que são utilizados frequentemente para produzir suco, doce, vinho, passas, vinagres e também consumida ao natural. Ainda, em busca de um estilo de vida saudável, muitas indústrias de variadas áreas vêm utilizando extratos vegetais que apresentam características funcionais (OLIVEIRA, 2010). Desse modo, as uvas, que apresentam em sua composição flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, são utilizadas pelo fato de poder impedir os danos oxidativos nos tecidos e inibindo a produção de radicais livres (SOARES et. al., 2008). Dentre as uvas, as mais cultivadas estão as da espécie *Vitis vinífera*, *Vitis labrusca*, *Vitis rupestris*, *Vitis riparia* e *Vitis rotundifolia* (RIBEIRO, 2016). A composição química da uva é determinada pelo potencial genético, estágio de maturação, manejo e pelo clima. As espécies de uvas, são diferentes entre si em relação a compostos bioativos. As uvas de coloração mais escura possuem elevado índice de atividade antioxidante. Os compostos fenólicos estão presentes principalmente nas sementes e cascas das bagas. A semente possui fibra, óleo, proteína, compostos fenólicos



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

complexos (taninos), açúcares e sais minerais. A casca da uva contém antocianidinas e antocianinas, que são corantes naturais com propriedades antioxidantes (SOUZA, 2015). As uvas da espécie *Vitis vinifera*, possuem flavonoides do tipo taninos condensados, que são compostos pela catequina, epicatequina, galocatequina e procianidinas encontradas em maior quantidade nas sementes, na casca e no engaço da uva, estão associados às características organolépticas de adstringência, cor, estrutura e amargor. Esses flavonoides são compostos por pigmentos amarelos encontrados principalmente na casca, ligados aos açúcares e ao ácido glucorônico, enquanto a quercetina encontra-se nas uvas da espécie *Vitis labrusca* e o kaempferol nas *Vitis vinífera*. Entre os não flavonóides, destacam-se dois grupos, o primeiro representado pelo resveratrol. O segundo é composto por inúmeros ácidos fenólicos designados de: ácido gálico, ácido elágico, derivados dos ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico. Tanto em *Vitis vinifera* como em *Vitis labrusca*, os estilbenos, estão presentes em maior quantidade nas cascas não sendo encontrados nas sementes. O resveratrol é um estilbeno presente principalmente em vinhos tintos. O resveratrol apresenta propriedades antioxidante, antiaterogênica (SOUZA, 2015). Muitos hábitos diários de vida que são considerados errados (consumo de álcool, tabagismo, dieta inadequada, exercício físico realizado de forma extrema) pode levar à potencialização da formação de radicais livres (VASCONCELOS et al., 2014).

Outros fatores, são as fontes exógenas, como a exposição à radiação UV que produz radicais livres, o que leva ao fotoenvelhecimento (FERREIRA; BRANDÃO, 2008). Por outro lado, além do sistema endógeno, o consumo de alimentos e produtos com antioxidantes tem a capacidade de reduzir as lesões causadas pelos radicais livres que causam o envelhecimento da célula, dos tecidos e do organismo (VEDANA, 2008). A primeira linha de defesa contra a exposição ao sol é a fotoproteção. O uso de protetor solar, roupas e acessórios minimizam a exposição ao sol (BALOGH, 2011). Ainda, como importante proteção aos raios UV, destacam-se os flavonoides, que vem sendo uma opção em produtos cosméticos com finalidade de antienvelhecimento e de fotoproteção, pela incorporação de extratos vegetais que possuam esta substância, como é o caso da uva (PINTO et. al., 2013). A preocupação com o envelhecimento para a sociedade são consideráveis, especialmente no que diz respeito à saúde, de um modo geral. O maior enigma da vida é o envelhecimento, pois é difícil compreendê-lo ou até explica-lo totalmente. Porém a grande maioria da população, homens e mulheres, querem retardar o envelhecimento ou até evita-lo. Deste modo aumenta cada vez mais a procura pelo uso de novos produtos, com princípios ativos naturais, principalmente, com destaque as substâncias antioxidantes, que tenham eficácia na minimização do processo de envelhecimento cutâneo (CAYE et. al., 2008). Considerando o uso de produtos naturais, a escolha na utilização da uva se dá por ser um produto com grande representatividade econômica regional, sendo uma das maiores fontes de compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, pigmentos naturais presentes nos vegetais, fundamental na proteção contra agentes oxidantes (SOUZA; FERREIRA, 2010). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antioxidante da espécie *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* e aplicar em um produto cosmético a ser utilizado na prevenção do envelhecimento.

METODOLOGIA

Coleta e preparação das amostras



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

As uvas utilizadas na realização deste estudo são da espécie *Vitis vinifera* (Cabernet Sauvignon) que foi adquirida do fornecedor Mosele, na cidade de Barão de Cotegipe-RS, e a uva da espécie *Vitis labrusca* (Isabel) que foi fornecida pela Vinícola Cantina Slongo, na cidade de Erechim-RS. Ambas as coletas foram realizadas no mês de fevereiro de 2018 e armazenadas sobre refrigeração até o início dos estudos. As uvas das duas espécies foram limpas para remoção das sujidades e resíduos proveniente da coleta. Para esse processo, a amostra foi lavada com água corrente para a retirada do excesso de sujeira, posteriormente com água deionizada. O excesso de água retido nas uvas foi retirado com papel toalha e posteriormente deixou-se exposto a temperatura ambiente para a secagem. Após essa etapa foi realizado o processo de separação da casca do restante do grão manualmente. Em seguida, as cascas foram espalhadas em uma bandeja, de maneira espaçada e submetidas a secagem em estufa, com renovação e circulação de ar, com temperatura inicial de 80°C por 15 minutos e em um segundo momento com temperatura entre 40 - 50°C até peso constante. Após as cascas das uvas atingirem peso constante, foram trituradas em moinho de facas e acondicionadas em embalagem hermeticamente fechadas.

Preparação do extrato

Os extratos foram preparados a partir das cascas secas e moídas na proporção 1:10 (m/v) com solução hidroetanólica 90% (v/v), pelo processo de maceração, com renovação do líquido extrator. Para extração, foram pesadas 50g da casca de ambas as espécies de uva e deixadas em contato com 450 mL da solução hidroetanólica em recipientes âmbar, separadamente. Os mesmos foram deixados em temperatura ambiente, com agitação ocasional. A filtração foi realizada diariamente, com papel filtro para evitar perda de amostra, sempre renovando o líquido extrator. Após esgotamento do material, os filtrados obtidos foram concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotatório, à temperatura de 45°C. Após a eliminação do solvente, em placas de petri, foi colocada uma fina camada dos extratos, foram congelados a -80°C e liofilizados até remoção da água residual. Os extratos liofilizados foram armazenados em frascos âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração.

Determinação de compostos fenólicos totais

Para determinação dos compostos fenólicos totais foi utilizada a metodologia adaptada descrita por Swain e Hills (1959). Foi utilizado como padrão o ácido gálico, preparado nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL em metanol, para construir a curva de calibração. Em tubos de ensaio foi adicionado 500 µL de cada concentração de ácido gálico, 2mL de água destilada e 2,5mL do reagente Folin Ciocalteu. A solução foi homogeneizada e, após 3 minutos, foi adicionado 5mL de solução saturada de carbonato de sódio 15% e deixado de repouso em ambiente escuro durante 2 horas. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro QUIMIS modelo 752UV-VIS a 765 nm. Os resultados foram expressos graficamente para obtenção da equação da reta. As amostras foram avaliadas através da mesma metodologia a partir de uma diluição do extrato liofilizado a 10 mg/mL em metanol, de cada espécie de uva. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) a cada grama de amostra. O ensaio foi realizado em triplicata.

Determinação do teor de flavonoides



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

O teor de flavonoides totais foi determinado em espectrofotômetro QUIMIS modelo 752UV-VIS a 510 nm. Foi utilizado como padrão a quercetina nas concentrações 50, 100, 200, 300 e 500 µg/mL em metanol. Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL de cada concentração de quercetina, 2,5 mL de água destilada, 150 µL de nitrito de sódio 5%, deixado em repouso por 6 minutos e adicionado 300 µL de cloreto de alumínio hexahidratado 10%. Em seguida, as amostras permaneceram em repouso por 5 minutos e finalmente foi adicionado hidróxido de sódio 1 M. Após uma hora em repouso em ambiente escuro foram realizadas as leituras. Os resultados foram expressos graficamente para a obtenção da equação da reta. As amostras foram avaliadas através da mesma metodologia a partir de uma diluição do extrato liofilizado a 10 mg/mL em metanol de cada espécie de uva. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de quercetina a cada grama de amostra (mg Eq/g) (MEYERS et al., 2003). O ensaio foi realizado em triplicata.

Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante dos extratos foi realizada através da avaliação da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), pela ação das substâncias antioxidantes presentes no extrato (BALOGH, 2011). O percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos de porcentagem da atividade antioxidante (AA%). As médias dos percentuais da atividade sequestradora de radical livre (AA%) das amostras versus a concentração, foram tratadas por análise de regressão linear para a determinação da atividade antioxidante efetiva a 50%

Desenvolvimento do produto cosmético contendo o extrato da uva da espécie que apresentou maior atividade antioxidante. Foi realizada a manipulação de 400g das duas bases galênicas, sendo elas, creme lanette (emulsão aniônica) e creme polawax (emulsão não-iônica). A constituição quali-quantitativa das formulações está descrita na tabela 1.



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

Tabela 1 – Composição das emulsões aniônica e não-iônica

Emulsão aniônica		Emulsão não iônica	
Componentes	Quantidade (g)	Componentes	Quantidade (g)
EDTA-dissódico	0,4	EDTA-dissódico	0,4
Água purificada	322,4	Metilparabeno	0,4
Lanette N	60,0	Glicerina	12,0
Propilparabeno	0,6	Água purificada	330,8
Metilparabeno	0,4	Polawax	48,0
Óleo de silicone	8,0	Propilparabeno	0,2
Butil-hidroxitolueno	0,2	Butil-hidroxitolueno	0,2
Estearato de octila	8,0	Vaselina líquida	8,0

Fonte: BRASIL (2012)

Na preparação das emulsões, os componentes aquosos e oleosos foram aquecidos separadamente até atingir temperaturas de 80°C e 75°C respectivamente. Sob uma lenta agitação, verteu-se a fase aquosa sobre fase oleosa, mantendo esta agitação até o resfriamento. O pH foi ajustado, para 5,5-6,5 (BRASIL, 2012). O extrato da uva da espécie que apresentou maior atividade antioxidante foi incorporado nas duas bases em duas concentrações diferentes, sendo elas 5 e 10%, resultando em quatro amostras diferentes para ponderação. Cada amostra foi acondicionada em potes de 60g.

Avaliação da estabilidade

O produto desenvolvido foi submetido a testes de estabilidade, como preconiza a ANVISA, por meio do Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004). Foi avaliado a estabilidade quanto ao pH, características organoléticas (aspecto, cor, odor e sabor, quando aplicável), separação de fases por centrifugação e ciclo gelodegelo. Para tanto, foram preparadas duas séries de recipientes contendo as duas concentrações nas duas bases e o branco. Uma das séries foi submetida ao ciclo gelo e degelo e a outra mantida em temperatura ambiente, ao abrigo de luz. O ciclo gelo-degelo foi realizado durante 12 dias, e as condições de armazenamento foram ciclos de 24 horas 40°C ± 2°C e ciclos de 24 horas 4°C ± 2°C. A amostra foi avaliada em tempo zero, após 6 e 12 dias através do teste de centrifugação, pH e características organolépticas. A série de amostras mantidas a temperatura ambiente, ao abrigo da luz foram submetidas às mesmas avaliações, verificando as possíveis mudanças (BRASIL, 2004). As características organolépticas determinam os parâmetros de aceitação do produto pelo consumidor. Foi avaliado: aspecto, cor e odor (Brasil, 2004). Foram observadas visualmente as características da amostra, verificando se ocorreram modificações macroscópicas em relação ao padrão estabelecido. A amostra foi



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

classificada segundo os seguintes critérios: normal, sem alteração; levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo; separado, precipitado ou turvo (Brasil, 2004). Vários são os métodos utilizados para a verificação de cor; os mais usuais são os métodos visual e espectrofotométrico. Foi utilizado o método visual onde comparouse a cor da amostra com a do padrão estabelecido, em um frasco de mesma especificação. A amostra do produto foi classificada segundo os seguintes critérios: normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada (Brasil, 2004). O odor da amostra e do padrão estabelecido foi comparado diretamente através do olfato. A amostra foi classificada segundo os seguintes critérios: normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada (Brasil, 2004). A medida do pH foi realizada através do método potenciométrico, utilizando pHmetro calibrado. Foram preparadas soluções a 10% (m/v), utilizando água destilada como solvente. A leitura do pH de cada amostra foi feita em triplicata e expressa em média e desvio padrão. A centrifugação foi realizada a uma velocidade de 3000 rpm (rotações por minuto), por 30 minutos em tubos de centrífuga graduados. Foi observado visualmente qualquer instabilidade física, como separação das fases ou precipitação (BRASIL, 2004; ALVES, 2015).

Determinação do fator de proteção in vitro Determinação do fator de proteção in vitro, foi realizado através da metodologia desenvolvida por Mansur, 1986. A justificativa para escolha do método se dá por se tratar de uma técnica que tem boa similitude com ensaios in vivo, ainda ser rápido e eficaz (COELHO, 2005).

RESULTADOS

O extrato hidroetanólico da uva Isabel da espécie *Vitis labrusca* apresentou coloração mais intensa do que apresentado pela uva Carbernet Sauvignon da espécie *Vitis vinífera*.

Os extratos secos liofilizados apresentaram coloração marrom escuro, com aspecto pegajoso devido ao açúcar presente na uva, possuindo odor característico da uva. Apresentaram também a característica de higroscopia e boa solubilidade em água e em etanol. O rendimento foi de aproximadamente 16% de extrato seco para cada uva. O cálculo do teor de polifenóis totais das amostras dos extratos foi realizado a partir da curva padrão que foi construída utilizando os valores de absorbância das diferentes concentrações de ácido gálico SQR (Substância Química de Referência), onde foi obtida a equação da reta $y = 0,0025x - 0,0177$ e coeficiente de correlação linear (R^2) igual a 0,9911. A partir da equação da reta obtida foi possível calcular o teor de fenóis totais dos extratos das duas espécies de uvas, conforme exposto na Tabela 2.



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

Tabela 2 - Resultados do teor de fenóis totais

Replicata	Cabernet Sauvignon (mgEAG/g)	Isabel (mgEAG/g)
T1	27,736	29,336
T2	27,656	23,976
T3	25,496	23,256
T médio	26,963 ± 1,03	25,523 ± 2,71

T1, T2 e T3: teor de fenóis totais em triplicadas. T médio: média dos teores de fenóis totais ± desvio padrão

O cálculo do teor de flavonoides das amostras dos extratos foi realizado com o auxílio da curva de calibração utilizando quercetina como padrão de referência que foi construída através da correlação entre os valores de absorbância obtidos e suas diferentes concentrações, onde foi obtida a equação $y = 0,0004x + 0,027$ e coeficiente de correlação linear (R^2) igual a 0,9902. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados do teor de flavonoides, em triplicata.

Replicata	Cabernet Sauvignon (mgEq/g)	Isabel (mgEq/g)
T1	15,500	46,000
T2	23,750	56,500
T3	14,500	42,500
T médio	17,917 ± 4,14	48,333 ± 5,94

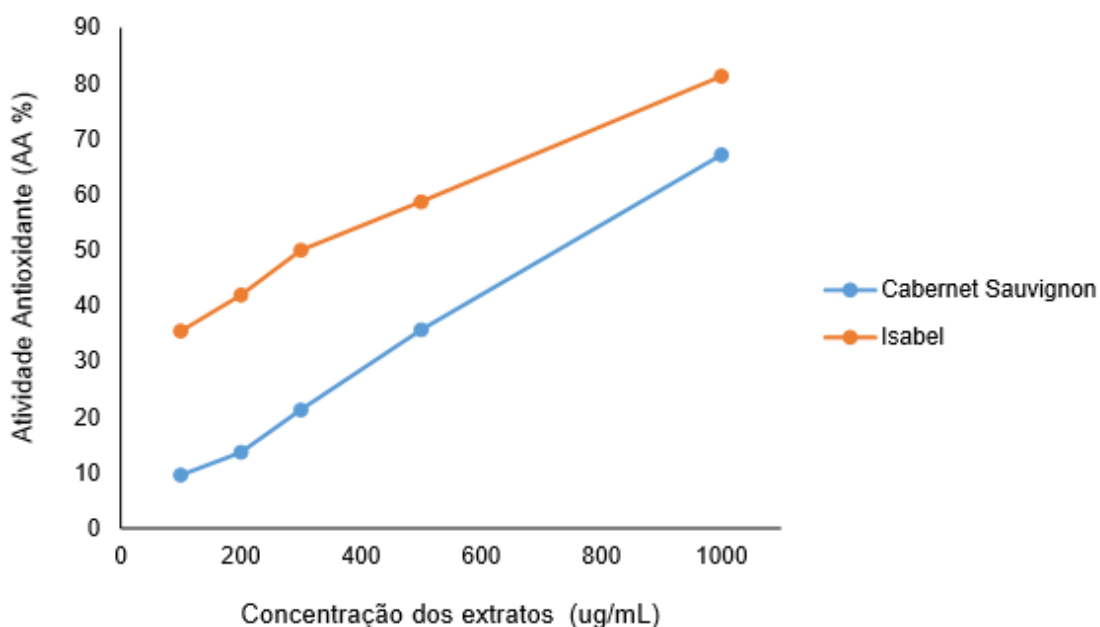
T1, T2 e T3: teor de flavonoides em triplicadas. T médio: média dos teores de flavonoides ± desvio padrão

A atividade antioxidante das duas espécies de uvas estão mostrados na Figura 1.



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

Figura 1 - Atividade antioxidante (AA%) em presença de DPPH dos diferentes extratos de *Vitis vinífera* (Cabernet Sauvignon) e *Vitis labrusca* (Isabel), em diferentes concentrações.



A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração do extrato da uva Isabel da espécie *Vitis labrusca* gerou a equação $Y = 0,0497x + 32,596$ com $R^2 = 0,9893$ forneceu um EC cinquenta de 350,18 $\mu\text{g/mL}$, que é a concentração de extrato necessária para atingir 50% de atividade antioxidante. A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração do extrato da uva Cabernet Sauvignon da espécie *Vitis vinifera* gerou a equação $Y = 0,0653x + 2,0669$ com $R^2 = 0,9981$ forneceu um EC cinquenta de 734,04 $\mu\text{g/mL}$. O desenvolvimento do produto cosmético foi realizado utilizando o extrato da uva Isabel da espécie *Vitis labrusca* que apresentou maiores teores de flavonoides e maior atividade antioxidante. Duas bases em forma de emulsão foram preparadas para a incorporação do extrato, o creme polawax (não iônico) e o creme lanette (iônico). O extrato seco liofilizado foi incorporado facilmente em ambos os cremes, sem a necessidade de levigação. Os resultados preliminares do estudo de estabilidade estão mostrados na Tabela 4.



6º CONGRESSO INTERNACIONAL EM SAÚDE CISaúde

Vigilância em Saúde: Ações de Promoção,
Prevenção, Diagnóstico e Tratamento



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

Tabela 4 - Estabilidade preliminar das emulsões aniônica (lanette) e não iônica (polawax) contendo o extrato da Vitis labrusca.

Fases do ciclo	Parâmetros Organolépticos				Parâmetros Químicos	Físico-
	Amostra	Cor	Aspecto	Odor	pH	Centrifugação
Tempo zero	L5%	Branco opaco	Cremoso, <u>homogêneo</u>	Suave, <u>característico</u>	2,30	Sem separação <u>de fases</u>
	L10%	Branco <u>opaco</u>	Cremoso, <u>homogêneo</u>	Suave <u>característico</u>	1,74	Sem separação de fases
	P5%	Branco <u>brilhante</u>	Cremoso, <u>homogêneo</u>	Suave, pouco <u>característico</u>	2,20	Sem separação de fases
	P10%	Branco <u>brilhante</u>	Cremoso, <u>homogêneo</u>	Suave, pouco <u>característico</u>	1,95	Sem separação de fases
6º Dia Ciclo	L5%	LA	SA	SA	1,62	SA
	L10%	LA	SA	SA	1,66	SA
	P5%	LA	SA	SA	2,58	SA
	P10%	LA	SA	SA	2,08	SA
12º Dia ciclo	L5%	LA	SA	SA	2,58	SA
	L10%	LA	SA	SA	2,80	SA
	P5%	LA	SA	SA	2,38	SA
	P10%	LA	SA	SA	2,40	SA
12º Dia Fora do ciclo	L5%	SA	SA	SA	3,18	SA
	L10%	SA	SA	SA	3,27	SA
	P5%	SA	SA	SA	2,66	SA
	P10%	SA	SA	SA	2,74	SA

L5%: Creme lanette com 5% de extrato; L10%: Creme lanette com 10% de extrato

P5%: Creme polawax com 5% de extrato; P10%: Creme polawax com 10% de extrato

SA: Sem alteração

LA: Levemente alterado

Os resultados da determinação do Fator de Proteção Solar, apresentaram valores abaixo de 1, para todas as amostras testadas.

DISCUSSÃO

Os compostos fenólicos presentes nas uvas são responsáveis pela cor, adstringência e estrutura, sendo um dos principais responsáveis pela atividade antioxidante destas. Segundo Vedana (2008), o conteúdo de compostos fenólicos que prevalece nos produtos elaborados com uva pode ser dependente de vários fatores como a maturação, a espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento. Conforme mostrado na Tabela 2, o extrato da uva Isabel da espécie *Vitis labrusca* apresentou teor de fenóis totais comparável a uva Cabernet Sauvignon da espécie *Vitis vinifera*, obtendo resultado de $25,523 \pm 2,71$ mg EAG/g e $26,963 \pm 1,03$ mg EAG/g de amostra, respectivamente. O resultado obtido nesse



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

estudo foi o mesmo encontrado por Abe et al. (2007), onde eles obtiveram o extrato da uva inteira das mesmas espécies utilizadas nesse estudo, no qual a uva da espécie *Vitis vinifera* apresentou maior conteúdo de ácidos fenólicos totais ao conteúdo observado no extrato da espécie *Vitis labrusca*. Porém, obtiveram valores inferiores aos encontrados nesse estudo, o que pode ser atribuído à utilização da uva inteira, e não apenas a casca, onde é encontrado diversos outros compostos que interferem na determinação dos fenóis totais, deixando a amostra mais diluída, (BRUNETTO, 2009). Um estudo realizado por Stahl (2011), que utilizou as cascas de diferentes uvas tintas apresentou valores relativamente mais elevados do que os resultados encontrados nesse estudo. Tanto os resultados obtidos no estudo realizado por Stahl (2011) como os encontrados nesse estudo, no qual ambos utilizaram somente a casca da uva, estimaram valores mais altos dos que no estudo realizados por Abe (2007) que utilizou a uva inteira. Os teores de polifenóis, nesse estudo, foram diferentes aos valores determinados na pesquisa por Vargas e colaboradores (2008), onde avaliaram amostras comerciais de suco de uva de diferentes empresas, obtiveram valores de teor na faixa de 0,31 a 0,51 mg EAG/mL, valores baixos quando comparados aos valores desse estudo. Tal resultado reafirma que se encontra maior teor de fenóis em estudos onde utilizaram apenas a casca da uva, local no qual se encontra a maior concentração de compostos com atividade. No caso do estudo de Vargas e colaboradores (2008) que utilizaram o suco para determinação, o mesmo apresenta em sua composição química elevado teor de açúcar, glicose e frutose, sendo considerado, por isso, um alimento energético (VEDANA, 2008) o que influencia para quantificar os fenóis totais. Estudos envolvendo a quantificação de fenóis totais no âmbito cosmético são importantes para garantir a eficácia das formulações desenvolvidas, onde várias atividades clínicas são atribuídas aos componentes naturais, tornando-se necessário estudos *in vitro* e *in vivo* que comprovem tais atividades. A avaliação de extratos comerciais utilizados na indústria cosmética é fundamental para assegurar a qualidade, eficácia e segurança dos produtos formulados (BALOGH, 2011). Os compostos fenólicos presentes nas uvas são, geralmente, polifenóis que podem ser classificados em flavonoides (flavonóis, flavanóis e antocianinas) no qual estão distribuídos de maneira diferente nas partes do fruto: na casca é possível encontrar todos eles. Os flavonóis (quercetina, caemferol e miricetina), embora presentes em menor quantidade e somente na casca, possuem importante papel no desenvolvimento da coloração do vinho (STAHL, 2011). Conforme observado na Tabela 3, o extrato da uva Isabel da espécie *Vitis labrusca* apresentou o maior teor de flavonoides tendo resultado de 48,333 mg Eq/g enquanto que o extrato da uva Cabernet Sauvignon da espécie *Vitis vinifera* obteve resultado de 17,917 mg Eq/g. Os resultados nesse estudo foram semelhantes aos determinados por Abe (2007) no qual a uva da espécie *Vitis labrusca* (Niagara rosada) teve maior teor de flavonoides do que a uva da espécie *Vitis vinifera* (Moscato), porém obtiveram valores inferiores aos desse estudo. Segundo Ribeiro (2016) os resultados obtidos se justificam, pois na uva, os flavonoides estão presentes, majoritariamente, nas cascas e nas sementes e, em quantidades menores na polpa. Em estudos realizados por Malacrida e Motta (2006) os sucos de uva simples apresentaram valores baixos de concentração média de um flavonoide, a antocianina, quando comparado aos valores de flavonoides totais encontrados nesse estudo. Estas concentrações foram similares às citadas por Burns e colaboradores (2000) que avaliaram a concentração de antocianinas em vinhos tintos Cabernet Sauvignon e Merlot (*Vitis vinifera*) de diversas safras e de vários países. Segundo Pereira (2008) a atividade antioxidante de uvas pretas é maior, por possuir uma maior quantidade de compostos voláteis e de compostos fenólicos.



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

Os extratos das uvas avaliadas neste estudo (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*) apresentaram atividade antioxidante que aumentou gradativamente de acordo com a elevação da concentração das amostras. Através da Figura 1, podemos observar que o extrato da uva Isabel foi o que mais apresentou potencial antioxidante, com valores superiores ao da uva Cabernet Sauvignon, corroborando os resultados obtidos na determinação de flavonoides. Estudo realizado por Abe (2007) utilizando bagaço da uva da espécie *Vitis labrusca* (Niágara rosada) e *Vitis vinifera* (Moscato) apontou maior atividade antioxidante para uva da espécie *Vitis labrusca*, resultado esse semelhante ao reportado aqui, onde as uvas da mesma espécie obtiveram atividade antioxidante superior a *Vitis vinifera*. Ainda, Abe (2007) ressalta que quanto mais intensa for a coloração da uva, maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante apresentam. O valor de EC cinquenta foi calculado a partir das equações das retas obtidas dos dois extratos, utilizando as absorbâncias. Quanto mais alto o valor de EC cinquenta, maior a concentração de produto necessária para realizar atividade antioxidante. Deste modo, valores baixos de EC cinquenta representam produtos com maior capacidade antioxidante. Sendo assim, podemos observar que o extrato da uva Isabel apresentou menor valor de EC cinquenta quando comparado com a uva Cabernet Sauvignon, resultando em uma melhor atividade antioxidante, sendo a melhor opção para ser utilizado no desenvolvimento do cosmético antienvelhecimento. As modificações de coloração presentes no decorrer do teste de estabilidade observadas nas duas formulações, são oriundas dos extremos de temperatura e sugerem a oxidação das substâncias responsáveis pela pigmentação do extrato, geralmente os flavonoides (SOUZA, FERREIRA, 2010). Esse resultado indica que deve-se melhorar a formulação, adicionando agentes antioxidantes para controlar a oxidação e degradação das substâncias ativas. O aspecto de um cosmético ou fitocosmético, em relação à homogeneidade e coloração do produto, é importante do ponto de vista comercial, uma vez que pode influenciar a compra, por parte do consumidor, que não se sente atraído pela aparência do produto (ISSAC et al, 2008). Quanto ao odor, as amostras preparadas em creme lanette apresentaram cheiro mais pronunciado e característico quando comparado com as amostras preparadas em creme polawax, nas duas concentrações, mas não foi evidenciada nenhuma alteração do odor ao longo do estudo. Em relação ao pH, os creme base lanette e polawax apresentaram pH na faixa da neutralidade e com a presença dos extratos nas diversas concentrações observou-se valores de pH pronunciadamente ácidos, mesmo em tempo zero, conforme observados na Tabela 4. Este fato ocorreu, porque o extrato seco apresentou valor baixo de pH, quando testado posteriormente, diluído apenas em água, sugerindo que as amostras testadas obtiveram pH resultante da propriedade ácida do próprio extrato. A epiderme possui valores de pH de 4 a 6,5 dependendo da região a ser aplicada (BLOCK, 2004). Valores de pH fora dos parâmetros fisiológicos pode provocar distúrbios na composição da pele podendo causar irritações, alergias, feridas ou bolhas (LEONARDI et al., 2002; MORAIS, 2006). O pH é um fator determinante na estabilidade de diversas preparações farmacêuticas. Para evitar a degradação é necessário ajustar o pH em função do perfil de estabilidade relacionado especificamente ao pH ideal para o ativo veiculado (SOUZA, FERREIRA, 2010). Os resultados obtidos neste estudo indicam que a formulação deve ser aprimorada quanto ao pH.

A centrifugação permite avaliar, em curto espaço de tempo, a separação de fases e as possíveis instabilidades físico-químicas da formulação, permitindo predizer se o produto irá sofrer separação em função do tempo (MORAIS, 2006). Nenhuma amostra sofreu separação de fases quando submetidas a centrifugação, ao longo do estudo, demonstrando estabilidade. As



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

amostras que permaneceram fora do ciclo gelo e degelo, em temperatura ambiente e ao abrigo de luz obtiveram os mesmo resultados quando comparado a centrifugação, aspecto e odor. Entretanto, todas as amostras se apresentaram com coloração mais clara do que as amostras que estiveram no ciclo. Em relação ao pH, as amostras avaliadas no 12º dia apresentaram-se menos ácidas quando comparada as amostras que permaneceram no ciclo gelo e degelo, sugerindo uma possível influência negativa dos extremos de temperatura no valor de pH. Os resultados preliminares de estabilidade obtidos neste estudo estão de acordo com o trabalho desenvolvido por Souza e Ferreira (2010), em que ao desenvolverem formulações cosméticas contendo extrato de sementes e bagaço da uva Isabel, não obtiveram alterações na estabilidade das mesmas nos aspectos relacionados a separação de fases e viscosidade. Porém, nos aspectos organolépticos, as amostras de géis foram as que apresentaram leves alterações no odor e na cor. Os protetores solares devem ser suficientemente eficazes contra as radiações UVB e UVA a fim de assegurarem um elevado nível de proteção. Além de apresentar um alto valor de absorção, o produto deve ainda apresentar um espectro de absorção amplo, contemplando a maior parte possível da região correspondente à radiação UV. Quanto mais elevado o FPS, mais eficaz é o filtro solar (MELO, 2015). O estudo das emulsões revelou valores de FPS extremamente baixos, demonstrando. A presença do extrato nas emulsões fez com que as mesmas se apresentassem mais diluídas, isso porque as amostras do branco obtiveram valor maior do que aquelas com a presença do extrato. Desse modo essas formulações não podem ser consideradas fotoprotetoras. Estudos realizados por Dengo (2017) onde foi avaliado a fotoproteção do extrato uva Isabel (*Vitis labrusca*) aplicado em uma formulação gel obtiveram resultados baixos tanto quanto nesse estudo.

CONCLUSÃO

Constatamos que o extrato da uva da espécie *Vitis labrusca* (Isabel) apresenta maior atividade antioxidante e maior teor de flavonóides em relação a uva da espécie *Vitis vinifera* (Cabernet Sauvignon) que apresenta resultado comparável de fenóis totais em relação a Isabel. Em relação ao desenvolvimento do produto cosmético contendo o extrato da uva da espécie *Vitis labrusca* (Isabel), ambas as bases testadas (não iônica e iônica) apresentam boa estabilidade nos dois níveis de concentração, na maior parte das variáveis testadas. A coloração alterada das amostras, quando submetidas ao ciclo gelo e degelo pode ser evitada testando-se adjuvantes com capacidade antioxidante. Os valores baixos de pH são resultantes do pH original do extrato da uva. A determinação do fator de proteção solar, mostra que o extrato da uva Isabel da espécie *Vitis labrusca* não apresenta absorção na região ultravioleta B, não podendo ser utilizado para incremento do FPS em cosméticos. Estes resultados mostram que é possível desenvolver um cosmético preventivo do envelhecimento, principalmente devido a atividade antioxidante comprovada in vitro, mas requer mais estudos de desenvolvimento farmacotécnico.

PALAVRAS-CHAVE: Protetores solares; Estabilidade de cosméticos; Extratos vegetais

REFERÊNCIAS

ABE et. al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *vitis labruscal*. E *vitis viniferal*. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos Brasil, Campinas: EPAMIG, 2007.



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

ALVES, A. V. F. Efeito do extrato de própolis vermelha como medida fotoprotetora contra os danos causados pela radiação UV. 2015. Dissertação (Mestre em Saúde e Ambiente) - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, Universidade Tiradentes, Aracaju, 2015.

BALOGH, T. S. Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor. 2011. 267 f. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamento) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2011.

BLOCK, L.H., Medicamento tóxico. In: Gennaro, A.R., Remington: the science and practice of pharmacy. 20 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Vol. 1. Brasília: ANVISA, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário nacional da farmacopeia brasileira. 2.ed. Brasília: ANVISA, p.224, 2012.

BRUNETTO G. et. al. Produção e composição química da uva de videiras Cabernet Sauvignon submetidas à adubação nitrogenada. Ciência rural: Santa Maria. 2009.

BURNS, J.; et.al. Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolics content of red wines. J. Agric. Food Chem., v. 48, p. 2202-230, 2000.

CAYE M. T., et. al. Utilização da Vitamina C nas alterações estéticas do envelhecimento cutâneo. Univali, Balneário Camboriú, 2008.

COELHO, L. C. S. Protetor solar: desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da eficácia e segurança. 2005. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UFPE, Recife, 2005.

DENGO B.L., FERREIRA J. R.N. Avaliação in vitro do potencial fotoprotetor do extrato do bagaço da uva isabel (vitis labrusca l). Evidência: Joaçaba v. 17, n. 1, p. 45-56, jan./jun. 2017.

FERREIRA, A. O.; BRANDÃO, M. Guia prático da farmácia magistral. v. 2, 3.ed. São Paulo: Pharmabooks, p. 273-294 2008.

ISAAC, V.L.B. et. al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de Fitocosméticos. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 29, n.1, p. 81-96, 2008

LEONARDI, GR; Gaspar, LR; Maia Campos, PMBG. Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. Journal of Cosmetic Science, v.53, n.5, p.263-268; 2002.



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MELO C.N. Desenvolvimento e validação da Metodologia para determinação do fps in Vitro de formulações fotoprotetoras Naturais. 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Faculdade em Engenharia Mecânica, UFMG, Belo Horizonte, 2015.

MEYERS, K. J.; WATKINS, C. B.; PRITTS, M. P.; LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 51, p. 6887 -6892, 2003

MORAIS, G. G. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescida de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginpide (celulite). 2006. 181 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, FCFRP-USP, Ribeirão Preto, 2006.

OLIVEIRA, D. A. Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (Vitis vinífera) e das variedades Merlot e Syrah. 2010. 211 f. Dissertação (Mestrado em alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UFSC, Florianópolis, 2010.

PEREIRA G. G. Obtenção de nanoemulsões O/A à base de óleo de semente de uva e oliva aditivadas de metoxicinamato de octila e estudo do potencial antioxidante e fotoprotetor das emulsões. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade De Ciências Farmacêuticas. UNAERP. Ribeirão Preto, 2008.

PINTO J. E. S., et. al. Estudo da atividade fotoprotetora de diferentes extratos vegetais e desenvolvimento de formulação de filtro solar. Cesumar, Maringá, 2013.

RIBEIRO, L. F. Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante in vitro e in vivo em bagaço de uvas (Vitis vinífera e Vitis labrusca). 2016. 125 f. Tese (Doutorado em alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UFPR, Curitiba, 2016.

SOARES M.; et. al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. Revista Brasileira de Fruticultura, Florianópolis, v. 30, n. 1, p. 059-064, Mar. 2008.

SOUZA E. X. N. Desenvolvimento e avaliação de sistemas lipossomais com bioativos de uva (Vitis vinífera) para medicamentos e cosméticos. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Faculdade de Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde, UFBA, Salvador, 2015.

SOUZA, V.B.; FERREIRA, J.R.N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos de bagaço da uva Isabel (Vitis Labrusca L.). Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e aplicada, Santa Catarina, v. 31, n. 3, p. 217-222, Ago. 2010.

STAHL J. M. Análise de compostos fenólicos de 10 variedades de uva. Trabalho de Conclusão de



Tipo de trabalho: TRABALHO COMPLETO (MÍNIMO 08 PÁGINAS, MÁXIMO 15 PÁGINAS)

Curso - Instituto de Biociência, UNESP, Botucatu, 2011.

VARGAS et. al. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. Centro Universitário Franciscano: UNIFRA, v.19, n.1, p. 11-15, jan./mar. 2008

VASCONCELOS T. B., et. al. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo? UNOPAR Científica Ciência Biológica e da Saúde, Ceará, 2014.

VEDANA, M. I. S. Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Tecnologia de Alimentos, UFPR, Curitiba, 2008.