



**CAMILA LUIZ SENA**

**RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DA UVA CV. BORDÔ:  
ANÁLISE QUÍMICA E EFEITO FOTOPROTETOR**

**LAVRAS – MG**

**2019**

**CAMILA LUIZ SENA**

**RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DA UVA CV. BORDÔ:**

**ANÁLISE QUÍMICA E EFEITO FOTOPROTETOR**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Química, para a obtenção do título de Licenciado.

Prof. Dra. Juliana Mesquita Freire

Orientadora

Ma. Tatiane Silva de Abreu

Coorientadora

**LAVRAS – MG**

**2019**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente não poderia deixar de agradecer a Deus, pela vida e por guiar os meus passos.

Aos meus pais Fátima e Carlos, meus maiores incentivadores, por sempre acreditarem no meu potencial, por não medirem esforços para que esse sonho pudesse ser realizado. Essa conquista é de vocês!

À minha irmã Letícia por ser minha família em Lavras durante 4 anos. Sinto sua falta.

Ao meu namorado Paulo Henrique por todo o companheirismo, carinho e por sempre estar disposto a me ajudar.

À Professora Juliana Mesquita Freire, por toda orientação, confiança e paciência para a elaboração deste trabalho. Sou extremamente grata pela oportunidade que você me deu!!

À Doutoranda Tatiane Silva de Abreu por sua co-orientação e auxílio.

Ao Professor Sergio Scherrer Thomasi por aceitar o convite para ser membro da banca. Suas contribuições serão essenciais.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química, pela oportunidade de estudos, pela infraestrutura e pela bolsa de estudos durante a graduação.

A técnica do Laboratório Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ), Lidiany Mendonça Zacaroni, pela disponibilidade e ajuda nas análises cromatográficas.

A todos do laboratório de Bioquímica que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial a Tamara, por todo o aprendizado.

À Bruna, por ser minha parceira durante a minha iniciação científica e por compartilhar comigo todas as “cacas” no laboratório.

A todos os meus amigos durante a graduação. Ao Gurupi pelas risadas nas aulas de físico-química. Ao ap301, Thamires e Fabiane pela convivência e amizade. A Isa, minha amiga/irmã de faculdade, de festas, de almoços e da vida <3

Enfim, a todos que sempre torceram por mim!!

MUITO OBRIGADA!

## RESUMO

A exposição à radiação UV pode causar danos extremamente nocivos à pele humana como queimaduras, fotoenvelhecimento, e o câncer de pele. Alguns estudos relatam que os filtros solares orgânicos, como a benzofenona, ocasiona maior incidência de fotodermatites e são absorvidas sistemicamente. Desta forma, tem-se buscado novas alternativas para o desenvolvimento de produtos com proteção solar a base de extratos vegetais. Durante processamento da uva é gerado uma grande quantidade de resíduos ricos em compostos bioativos. Uma boa alternativa para seu aproveitamento é a transformação em farinha, que pode ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos cosméticos. Os compostos fenólicos presentes na uva são substâncias responsáveis pela absorção na região do UV, devido as suas estruturas químicas, associado à capacidade antioxidante. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar os compostos fenólicos, determinar o fator de proteção solar (FPS) *in vitro* dos extratos aquoso e etanólico do resíduo do processamento da uva Bordô (*Vitis labrusca*) e incorpora-los em uma formulação cosmética. O teor de compostos fenólicos totais foi feito pelo método de Folin-Denis. Os compostos fenólicos também foram caracterizados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O conteúdo de antocianinas monoméricas foi determinado pelo método do pH diferencial. O teor de flavonoides foi determinado por Dowd adaptado. A atividade antioxidante foi avaliada pela captura do DPPH. A atividade fotoprotetora foi realizada pelo método de Mansur. O extrato etanólico apresentou maior teor de compostos fenólicos, antocianinas e percentual de atividade antioxidante. Através CLAE foi possível identificar a presença majoritária de quercetina em ambos os extratos, na concentração de 564,49 mg e 86,36 mg/100 g, para o extrato etanólico e aquoso respectivamente. Em relação ao FPS, o extrato etanólico obteve um melhor resultado com um valor de  $15,36 \pm 0,34$  e o extrato aquoso com  $9,63 \pm 0,04$ , ambos na concentração de 4 mg/ml, apresentando valor superior ao mínimo exigido de 6. Em seguida, foi avaliado quanto às propriedades organolépticas, físico-químicas e de estabilidade de acordo com a ANVISA e potencial fotoprotetor dos extratos incorporados a 2% em uma formulação cosmética. Além disso, foi preparado uma formulação contendo um filtro solar orgânico, a Benzofenona-3 (BZ3) a 2%, como controle positivo. Uma terceira formulação foi preparada com BZ3 e com os extratos, ambas à 2% para avaliar se o extrato potencializaria a atividade fotoprotetora do controle positivo. Os resultados de FPS das formulações contendo BZ3 teve um valor de  $32,66 \pm 0,06$  e com a adição dos extratos, houve um aumento de FPS de  $34,87 \pm 0,22$  para o extrato etanólico e  $34,68 \pm 0,39$  para o extrato aquoso. Deste modo, os extratos da farinha do processamento da uva Bordô apresentam potencial coadjuvante em uma formulação cosmética de filtro solar.

**Palavras-chave:** Uva Bordô. Resíduos agroindustriais. Compostos fenólicos. Fator de proteção solar (FPS).

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	7
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	7
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	7
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	8
<b>3.1 A radiação Ultravioleta (UV) e seus efeitos na pele</b> .....	8
<b>3.2 Filtros solares</b> .....	11
<b>3.3 Fator de proteção solar (FPS)</b> .....	13
<b>3.4 Resíduos agroindustriais e sua aplicação na cosmetologia</b> .....	14
<b>3.5 Compostos fenólicos</b> .....	14
<b>3.6 Uva</b> .....	17
<b>3.7 Compostos fenólicos da uva e atividade fotoprotetora</b> .....	18
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	20
<b>4.1. Preparação da farinha do resíduo do processamento de uva</b> .....	20
<b>4.2 Preparação dos extratos</b> .....	20
<b>4.3 Determinação de compostos fenólicos pelo método de Folin-Denis</b> .....	20
<b>4.4 Composição fenólica dos extratos determinada por CLAE</b> .....	21
<b>4.5 Determinação da Atividade Antioxidante pela captura do radical DPPH</b> .....	21
<b>4.6 Determinação de Antocianinas Monoméricas pelo método do pH diferencial</b> .....	22
<b>4.7 Determinação do teor de Flavonoides totais</b> .....	23
<b>4.8 Espectro de absorção UV-visível</b> .....	23
<b>4.9 Determinação do fator de proteção solar (FPS)</b> .....	23
<b>4.10 Desenvolvimento das formulações cosméticas</b> .....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	38
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta, emitido pela luz do sol, compreende os comprimentos de ondas na faixa do ultravioleta (UV) entre 100-400 nm e é subdividida de acordo com os efeitos à saúde humana e ao meio ambiente em: UVC (100-290 nm), UVB (290-320 nm) e UVA (320-400 nm). A exposição excessiva à radiação UV causa danos como queimaduras, eritemas, edemas, doenças oftalmológicas, o fotoenvelhecimento, e sendo implicados, atualmente, como um dos fatores causadores do câncer de pele (CATELAN et. al., 2019).

Para minimizar os efeitos causados pela radiação UV é necessário o uso de filtros solares, que são substâncias capazes de absorver, refletir ou refratar a radiação. Os filtros solares podem ser divididos em dois tipos: os filtros inorgânicos (ou físicos), e os orgânicos (ou químicos). Os filtros orgânicos se caracterizam por estruturas orgânicas aromáticas capazes de absorver quimicamente a radiação UV.

Em relação a eficácia de filtros solares, como a benzofenona, a fotoestabilidade é um dos principais fatores. Devido a radiação UV, muitas moléculas de filtro solar perdem sua eficácia devido as reações fotoquímicas que ocorrem durante a exposição, e em alguns casos, os subprodutos e moléculas intermediárias são espécies reativas de oxigênio ou foram outras moléculas, podendo causar sensibilidade e danificação na pele (BERKEY et. al., 2019). Com isso, tem-se buscado novas alternativas para o desenvolvimento de produtos com proteção solar a base de componentes vegetais isolados, normalmente extratos vegetais, atuando sob os danos causados pela radiação UV.

O Brasil é um grande produtor de uvas, e estas são destinadas para comercialização *in natura* e industrialização para obtenção de sucos, geleias e vinhos. Entretanto, durante seu processamento é gerado uma grande quantidade de resíduos (bagaço e semente), que pode representar até 20% do peso das uvas. Esses resíduos são ricos em compostos bioativos como compostos fenólicos, vitamina C, antocianinas, fibras alimentares, entre outros (MELO, 2016).

Uma boa alternativa para seu aproveitamento é a transformação em farinha podendo ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos cosméticos. Os compostos fenólicos presentes na uva, como os flavonoides e antocianinas, são substâncias responsáveis pela absorção na região do UV, devido as suas estruturas químicas semelhantes à dos filtros solares, associado à capacidade antioxidante.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar o teor de compostos fenólicos dos extratos do resíduo do processamento da uva Bordô, determinar o fator de proteção solar *in vitro* por meio de método espectrofotométrico, e desenvolver uma formulação cosmética contendo esses extratos e um filtro solar orgânico.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral determinar o fator de proteção solar *in vitro* dos extratos do resíduo do processamento da uva Bordô *Vitis labrusca* incorporado em uma formulação cosmética.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Obter a farinha do resíduo do processamento da uva Bordô
- Obter os extratos etanólico e aquoso da farinha da uva Bordô
- Determinar o teor de compostos fenólicos dos extratos pelo método Folin-Denis
- Determinar o teor de compostos fenólicos dos extratos por CLAE (Cromatografia líquida de alta eficiência)
- Analisar a atividade antioxidante total dos extratos pela captura dos radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
- Determinar o teor de Antocianinas monoméricas dos extratos pelo método do pH diferencial
- Determinar o teor de Flavonoides totais dos extratos
- Determinar os picos de absorção dos extratos em UVA e UVA
- Avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro* dos extratos
- Incorporar os extratos em uma formulação cosmética utilizando uma base aniônica Lanette N<sup>®</sup>
- Determinar o fator de proteção solar (FPS) nas formulações cosméticas
- Realizar testes de estabilidade preliminar nas formulações (propriedades organolépticas, pH, centrifugação)

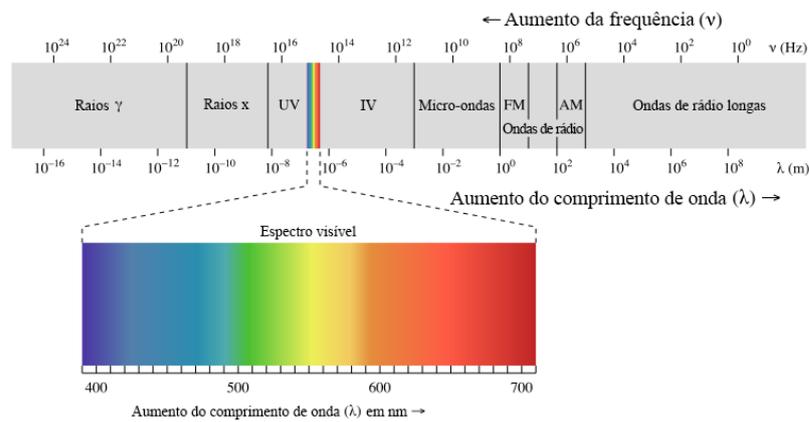
### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 A radiação Ultravioleta (UV) e seus efeitos na pele

A luz solar é uma fonte de energia natural, sendo necessária para diversos processos biológicos no ser humano, plantas e animais, emitindo energia em praticamente todos os comprimentos de onda ( $\lambda$ ) do espectro eletromagnético, podendo causar danos extremamente nocivos à pele humana devido ao tempo e frequência de exposição, período do dia, condições climáticas, estação do ano e localização geográfica (TEIXEIRA, 2016). Os principais danos causados por essa exposição são queimaduras, eritemas, edemas, doenças oftalmológicas, o fotoenvelhecimento, e sendo implicados, atualmente, como um fator causador do câncer de pele (CATELAN, 2019).

A energia emitida pelas radiações solares pode ser dividida em duas regiões com base na capacidade de ionização atômica: radiação ionizante e radiação não ionizante. A radiação ionizante está dividida entre os raios X e os raios gama, e estes são altamente prejudiciais ao ser humano, porém não atravessam na atmosfera terrestre. Já a radiação não ionizante é composta pela radiação UV (100-400 nm), visível (400-800 nm) e infravermelho (acima de 800 nm), que chegam na terra através da radiação solar, como apresenta a Figura 1 (BERNARD, 2019; LOPES et al., 2012).

Figura 2.1 – Espectro eletromagnético



Fonte: Imagem livre da internet.

A radiação ultravioleta (UV), de acordo com o seu comprimento de onda ( $\lambda$ ), compreende entre 100 e 400 nm do espectro eletromagnético. E é subdividida de acordo com os efeitos à saúde humana e ao meio ambiente em: UVC (100-290 nm), UVB (290-320 nm) e UVA (320-400 nm) (BERNARD et. al., 2019).

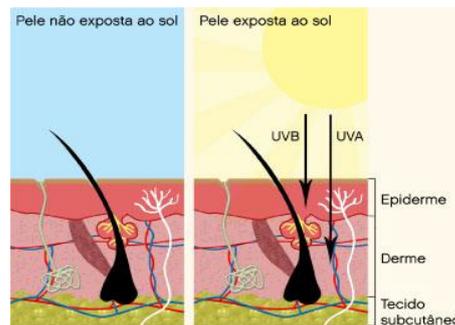
A região na faixa UVC, possui menor comprimento de onda e conseqüentemente maior energia, assim, teria maior potencial de causar danos à pele, porém, não atinge a superfície da

terrestre devido à forte absorção na atmosfera pelo ozônio e oxigênio molecular (PELCLOVA, et. al, 2019).

A radiação UVB, apresenta maior energia dos três tipos e corresponde cerca de 5% da radiação UV que atravessa a camada de ozônio. Apesar de ter menor capacidade de penetração na pele (Figura 2.2), comparado aos raios UVA, os raios UVB são os maiores responsáveis pelos danos imediatos da radiação solar. As reações fotoquímicas afetam diretamente a camada epidérmica da pele, causando eritema, bronzeamento direto e até queimaduras. Os raios UVB propicia danos diretos ao DNA, participando várias etapas da malignização carcinogênica, e no espessamento do estrato córneo. Por outro lado, a radiação UVB desempenha um papel importante na síntese de vitamina D no corpo humano (PELCLOVA et. al., 2019).

Os outros 95% da radiação UV que atinge o solo é representada pela faixa UVA e é subdividida entre UVA-1 (340-400 nm) e UVA-2 (320-340 nm), esses raios são cerca de 600-100 vezes menos eritematógenos que os UVB (Figura 2.2).

Figura 2.2 – Penetração da radiação UV na pele.



Fonte: Imagem livre da internet.

Os raios UVB penetram mais profundamente na derme e são absorvidos pelos cromóforos celulares como ácido urucânico, riboflavonas (vitamina B2), melanina, bilirrubina, heme, porfirina e pterina. A absorção de fótons desencadeia uma série de reações fotoquímicas, essas moléculas fotossensibilizadoras se convertem em um estado excitado, reagem com o DNA e o oxigênio molecular, resultado na modificação do DNA e na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), respectivamente. As EROs formadas, tais como o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila, possuem afinidade com os ácidos graxos da membrana celular, afetando na elasticidade natural por quebra das fibras elásticas da pele, modificando o colágeno, provocando o envelhecimento precoce da pele e aumento das células inflamatórias (MADAN e NANDA, 2018).

Cada tipo de pele possui uma correlação direta com os fatores externos a serem relacionados à incidência de radiação UV e com o câncer de pele. Existe uma escala de

Fitzpatrick que classifica os diversos tipos de pele, baseada na cor da pele e na reação de exposição solar. A pele pode ser agrupada em seis tipos cutâneos diferentes, como por exemplo, o tipo I, pele extremamente clara, e quando se queima nunca se bronzeia, enquanto o tipo VI, corresponde à pele negra, e quando expostos ao sol, nunca se queima e sempre se bronzeia. (TAYLOR et. al., 2018).

A molécula de DNA é capaz de absorver a radiação UV e sofre alterações em sua estrutura, desde a formação de dímeros de pirimidina ciclobutano até o rompimento da dupla hélice, causando o bloqueio da replicação e transcrição. Esses danos ocorrem diariamente, porém, nosso organismo possui um mecanismo eficiente que é capaz de realizar esses reparos. Mas com a exposição excessiva e com uma ação acumulativa da radiação UV, diminui a eficiência do nosso sistema de reparação, ocasionando a um processo de divisão celular com o material genético alterado (SGARBI et. al., 2007). Estudos sugerem que a radiação UV pode induzir mutações no gene supressor tumor p53, que é o ponto de partida para iniciação do câncer de pele (RIGEL, 2008).

Em 1894 foi descrito a primeira associação entre o desenvolvimento de câncer de pele e a luz solar (GAMAGE et. al., 1988). Desde então, há diversos estudos no sentido de correlacionar a incidência do câncer de pele com uma exposição cumulativa à radiação solar (SILVA et. al., 2015).

O câncer de pele é dividido como melanoma e não melanoma. O tipo não melanoma é o de maior ocorrência, e quando diagnosticado a tempo, possui alto índice de cura. É classificado de acordo com a camada da pele onde se desenvolve, sendo o carcinoma basocelular e o carcinoma espinocelular, e estão frequentemente associados a queimaduras solares dolorosas devido a exposição à radiação UV (SILVA et. al., 2015). O câncer de pele do tipo melanoma, de menos frequência, mas com alto índice de morte. Ocorre nos melanócitos celular, onde há a produção natural da melanina, substância natural da pele contra raios UV, e provoca a formação de tumores malignos. (NASCIMENTO et. al., 2013; PELCLOVA et. al., 2019).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que ocorram entre 2 a 3 milhões de novos casos de câncer de pele no mundo a cada ano. No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) publicou que cerca de 30% dos tumores malignos apontados, corresponde ao câncer de pele. Em 2013, foram registradas 3.316 mortes por câncer de pele, segundo dados do Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) e, para 2018, estimou-se o surgimento de 171.840 novos casos (CAMPOS et. al., 2019).

O INCA e a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) destaca que para prevenir o câncer de pele é necessário o uso diário de filtros solares com proteção da radiação UV em

amplo espectro UVA e UVB, significa que deve converter a energia desta, em outra forma de energia sem ser prejudicial à pele (CAMPOS et. al., 2019).

### 3.2 Filtros solares

A definição de protetor solar, de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC nº 30 de 2012), é “qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UVA e UVB absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação” (BRASIL, 2012).

Os filtros solares que constituem os ingredientes ativos dos fotoprotetores, são substâncias classificadas como filtros físicos e filtros químicos, ou comumente denominados inorgânicos e orgânicos respectivamente, em função da sua respectiva natureza química e proteção da radiação. Em geral, os inorgânicos através da reflexão dos raios UV e os orgânicos agem via absorção (CATELAN et. al., 2019).

Os filtros solares inorgânicos agem com um bloqueio estritamente físico, refletindo ou dispersando, não permitindo a passagem da radiação. Esses filtros são constituídos de pigmentos inorgânicos, que ao serem incorporados em uma formulação, permanecem suspensas. Os mais utilizados pela indústria cosmética são o óxido de zinco (ZnO) e o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), são semicondutores e possuem transições entre bandas de valência e condução do sólido, por isso são considerados eficientes (TEIXEIRA, 2016).

Os filtros inorgânicos possuem coloração opaca esbranquiçada, e com isso, não há uma boa espalhabilidade do produto, causando desconforto de quem faz o uso. Uma boa alternativa seria diminuir o tamanho das partículas, melhorando a estética e aceitação por parte do consumidor, porém não é o suficiente, já que essas partículas menores tendem a agregar na formulação, sendo necessário o recobrimento dessas partículas com sílica (ANDRADE, 2015).

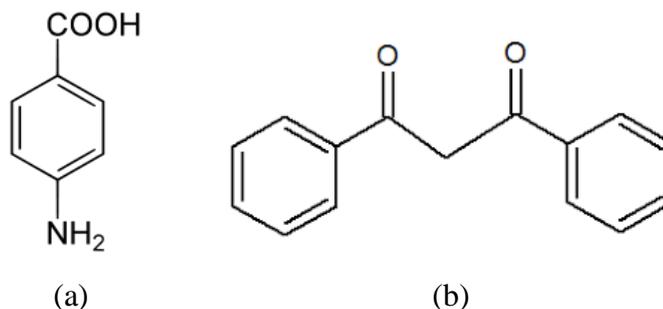
O TiO<sub>2</sub> é capaz de absorver somente o UVB, por outro lado, o ZnO tem capacidade de absorção em amplo espectro UV (ANDRANDE, 2015). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na RDC nº 69 de 2016, a concentração máxima permitida destes fotoprotetores inorgânicos é de 25%.

Os filtros solares orgânicos são formados por moléculas capazes de absorver quimicamente a radiação UV, transformando-a em radiações com energias menores e inofensivas à pele, sendo caracterizados como cromóforos. São compostos aromáticos, substituídas em orto ou para, ou conjugadas com grupo carbonila e/ou hidroxila, aceptores de elétrons, e possuem grupo doador, como uma amina ou grupo metoxila (LOPES, 2014).

Os filtros orgânicos são classificados pela sua absorção na região UV. Os compostos

cinamatos e salicilatos, derivados do ácido para-aminobenzóico (Figura 2.3a) agem contra raios UVB e as benzofenonas e as avobenzonas, derivados de dibenzoilmetano (Figura 2.3b) protegem em amplo espectro (DA SILVA E LOPES., 2018).

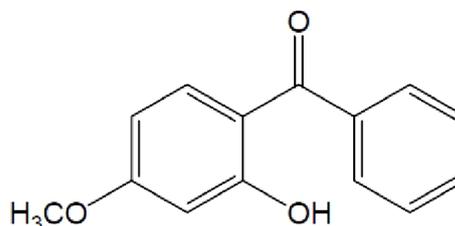
Figura 2.3 – Estrutura química (a) ácido para-aminobenzóico (PABA) e (b) dibenzoilmetano



Fonte: Imagem livre da internet.

As benzofenonas são consideradas como um filtro de amplo espectro, pois absorvem tanto em UVA (320 a 360 nm) como UVB (290 a 320 nm) e uma pequena faixa UVC (250 a 290 nm). É bastante utilizada em formulações fotoprotetoras, sendo a mais usual a benzofenona-3 (BZ3), também conhecida como oxibenzona ou Eusolex 4360®, são cetonas aromáticas e insolúveis em água. Também podem ser utilizadas em outras formulações cosméticas para proteção contra descoloração sofrida pela exposição à luz solar e ainda como aditivos alimentares e/ou componentes de embalagens. Apresentam uma excelente estabilidade, possui massa molar de 228,2 g/mol, temperatura de fusão entre 62 e 64°C. Sua estrutura está representada na Figura 2.4 (COSTA, 2015).

Figura 2.4 – Estrutura química da Benzofenona-3 ou 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona



Fonte: Costa (2015).

A concentração máxima de BZ3 permitida pela ANVISA é no máximo 10%. Estudos relatam que alguns filtros solares quando aplicados topicamente penetram na barreira epidérmica, como a BZ3. Foi relatado que após voluntários que aplicaram protetores que continham esse filtro, por um período de 5 dias e duas vezes a cada dia, foi detectado 1% a 2%

de concentração de BZ3 na urina. Alguns autores indicam que este filtro não deve ser utilizado em grandes áreas da pele, por um período prolongado e repetido de tempo (COSTA, 2015; GONZALEZ et. al., 2006).

Lopes et. al. (2012) relatou que filtros orgânicos podem causar diversos efeitos adversos como a permeabilidade cutânea causando irritações na pele, reações alérgicas e fotoalergias. No entanto, há diversas pesquisas que buscam novas alternativas na área de filtros solares com adição de produtos naturais isolados, devido a presença de substâncias fenólicas que atuam com proteção e estabilidade mais ampla em todo espectro UV e com reações adversas menores ou inexistentes (ANDRADE, 2015).

### 3.3 Fator de proteção solar (FPS)

O fator de proteção solar destinado para as radiações UVB é uma forma de avaliar a eficácia dos protetores solares, correlacionando com o tempo de exposição ao sol, capacidade de proteção da pele contra edemas e eritemas, redução do risco de queimaduras e carcinoma de células da camada basal (ANDRADE, 2015).

A Food and Drug Administration (FDA), propôs em 1978 que o FPS é um sistema de classificação numérica que indica o grau de proteção oferecido pelos produtos de proteção solar. Essa relação matemática (Equação 2.1) relaciona a Dose Eritematosa Mínima (DEM), que é a dose mínima de energia capaz de produzir uma vermelhidão perceptível na pele, em uma pele protegida com filtro solar na concentração de 2 mg/cm<sup>2</sup> e não protegida, a partir de uma incidência de radiação solar pré-definida.

$$FPS = \frac{DEM \text{ na pele protegida}}{DEM \text{ na pele não protegida}} \quad (2.1)$$

Essa equação pelo tempo de exposição é avaliada pelo *in vivo* do FPS, utilizando-se 25 indivíduos sadios e o fotoprotetor utilizado como padrão é uma formulação de 8% de salicilato de homomentila, que confere um FPS de 4,47. O produto é aplicado nas costas do indivíduo, e é feito a simulação da radiação com uma lâmpada UV de 300W durante vinte minutos. Observa-se o tempo de formação do primeiro eritema e assim é possível obter o FPS. Contudo, há controvérsias em relação a esse método, pois as condições experimentais não traduzem necessariamente o que acontece na realidade. Os testes *in vivo* apresentam diversas dificuldades como: planejamento, tempo longo de análise e voluntários (COSTA, 2015).

Contudo, os métodos de determinação do FPS *in vitro* vem sendo largamente utilizados pois apresentam uma boa correlação com as metodologias *in vivo*, possuem baixo custo, reprodutibilidade, rapidez do método, sendo bastante utilizada para avaliar o FPS de

formulações em desenvolvimento (CATELAN et. al., 2019).

O FPS *in vitro* é baseado por meio de espectrofotometria na região UV, através de soluções diluídas que contêm compostos com atividade fotoprotetora. Esse método, também conhecido como método de Mansur, não pode ser empregado em filtros solares físicos em função da insolubilidade deste com o etanol (solvente utilizado). Essa técnica baseia-se na medida de absorbância da espécie de estudo absorvente, nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm (espectro da região UVB) (TEIXEIRA, 2016).

### **3.4 Resíduos agroindustriais e sua aplicação na cosmetologia**

O processamento de produtos alimentícios agrícolas produz milhões de toneladas de resíduos. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura – FAO, a produção mundial de resíduos agroindustriais alcance 1,3 bilhões de toneladas por ano, em que, 1/3 dos alimentos desperdiçados tem potencial para o consumo humano, isso representa mais de 30% de toda a produção mundial de alimentos (FAO, 2013).

Muitas vezes esses resíduos, são rejeitados no meio ambiente sem nenhum tratamento prévio, mesmo sendo biodegradável, demanda um certo tempo para decomposição, tornando-se em um poluente ambiental (STEFANI et. al., 2019), pois é caracterizada pelo pH ácido, elevado teor de polifenóis, antibacterianos e fitotóxicos (ABREU, 2018).

O aproveitamento desses resíduos agroindustriais se mostra promissor para o desenvolvimento de subprodutos, bem como agregação de valor perdido na cadeia produtiva e utilização sustentável do mesmo. Visto que, a maioria destes resíduos possuem grandes quantidades de cascas, grãos, bagaços e sementes, esses materiais são fonte de matéria orgânica e nutritiva, além de servirem como fonte de compostos antioxidantes, como os compostos fenólicos, podendo ser recuperadas e reaproveitadas na indústria agroquímica, de alimentos, farmacêutica e cosmética (MARQUES, 2016).

Atualmente a indústria cosmética vem explorando componentes de origem natural, especialmente a de plantas, para o desenvolvimento de novos produtos, representando uma alternativa de substituição de materiais sintéticos por naturais, devido a presença de compostos importantes para a função fisiológica do ser humano (ANDRADE, 2015).

### **3.5 Compostos fenólicos**

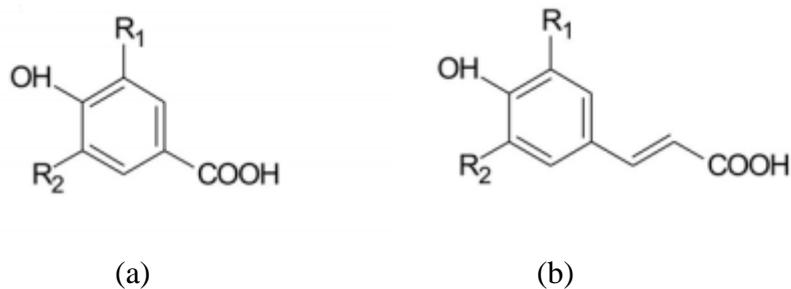
Os compostos bioativos são produzidos como metabólitos secundários de plantas, são caracterizadas como estrutura complexas, de baixo peso molecular e se encontram em baixas quantidades variando em cada tipo de planta, devido a uma série de fatores como sazonalidade, temperatura, nutrientes, disponibilidade de água e incidência de radiação UV (ANDRADE,

2015). Dentre os compostos presentes na uva estão presentes os compostos fenólicos, e são considerados uma das maiores fontes quando comparadas a outras frutas e vegetais (ABREU, 2018).

Os compostos fenólicos é um grupo fitoquímico extenso e complexo, com mais de 8.000 estruturas químicas conhecidas diferentes. Quimicamente, são definidas como substâncias que apresentam um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxila ligados, possuindo caráter polar e alta reatividade. Esses compostos derivam da via biossintética simultânea do ácido chiquímico e do acetato-malonato, formando compostos simples como os ácidos fenólicos até compostos polimerizados e com grande massa molecular como os flavonoides e os taninos (MARQUES, 2016).

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois subgrupos de acordo com o grupo precursor (Figura 2.6). Do ácido benzoico formam os ácidos *p*-hidroxibenzoicos, protocatequina, vanílico, gálico, salicílico, siríngico e gentísico. O ácido cinâmico derivam os ácidos *p*-cumárico, cafeico e ferúlico (BRAGA, 2018).

Figura 2.6 – Estrutura química dos ácidos fenólicos (a) ácidos hidroxibenzoicos e (b) ácidos hidroxicinâmicos.



Ácido *p*-hidroxibenzoico:  $R_1 = R_2 = H$

Protocatequina:  $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido vanílico:  $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Ácido siríngico:  $R_1 = R_2 = OCH_3$

Ácido gálico:  $R_1 = R_2 = OH$

Ácido *p*-cumárico:  $R_1 = R_2 = H$

Ácido cafeico:  $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido ferúlico:  $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

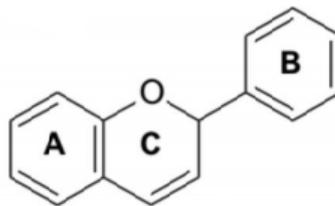
Fonte: ANGELO E JORGE (2007) e BRAGA (2018).

Os flavonoides são compostos abundantes no reino vegetal e são caracterizados por possuírem esqueleto carbônico de quinze átomos de carbono, com estrutura básica de dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de um anel heterocíclico (Figura 2.7). Os flavonoides, especialmente, atuam como antioxidantes, pois sua estrutura que permite doar elétrons para os

radicais livres e transformá-los em moléculas estáveis e inócuas (BRAGA, 2018).

Os flavonoides são subdivididos em: flavonas, flavonóis, *o*-heterosídeos, *c*-heterosídeos, antocianos, chalconas, auronas, diidroflavonoides, flavonas, antocianidinas, leucoantocianidinas, protoantocianidinas, isoflavonoides, neoflavonoides e biflavonoides (MARQUES, 2016).

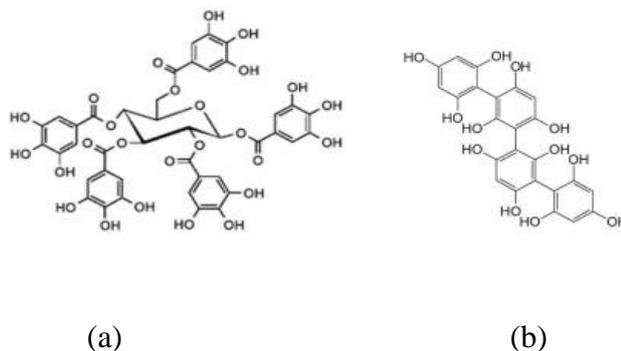
Figura 2.7 – Estrutura química dos flavonoides.



Fonte: ANGELO E JORGE (2007).

Os taninos são outra classe de compostos fenólicos e são divididos em taninos hidrolisáveis e condensados (Figura 2.8). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido gálico e elágicos glicosinolatos, formando a partir de um álcool poli hídrico. Os taninos condensados, denominados protoantocianidinas são oligômeros e polímeros formados de unidades de flavan-3-óis (catequina) e/ou flavan-3,4-diol (leucocianidina), produtos da via biossintética dos fenilpropanóides (ANGELO E JORGE, 2007; MARQUES, 2016).

Figura 2.8 – Estrutura química dos taninos (a) taninos hidrolisáveis e (b) taninos condensados.



Fonte: MARQUES (2016).

Os compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante devido à sua estrutura química e suas propriedades redutoras, acarretando um papel importante na neutralização ou sequestro de radiais livres e quelação de metais de transição. Agindo na etapa de iniciação e na

propagação do processo oxidativo, formando intermediários estáveis, devido à ressonância do anel aromático de sua estrutura (TEIXEIRA, 2016).

Segundo Flor e colaboradores (2007), estruturas que contêm anéis aromáticos com substituinte doador de elétrons podem reagir quimicamente com a radiação UV, e ao absorvê-la excitam os elétrons presentes nas instaurações, e quando retornam ao estado fundamental liberam essa energia absorvida em forma de calor. Dessa forma, há vários metabólitos secundários presentes nos vegetais como, por exemplo, os compostos fenólicos que podem desempenhar essa função.

### 3.6 Uva

A uva, fruto da videira, ou parreira é largamente cultivada pelo mundo com uma produção de aproximadamente 69 milhões de toneladas por ano (FRÖLECH, 2019). No Brasil, a viticultura está em constante expansão. Apenas em 2017, foram produzidas 1.680.020 toneladas de uvas em que 818.783 toneladas, representando 48,74% da produção total de uvas foram destinadas ao processamento, para a obtenção de vinhos, sucos e derivados. O restante de 51,26% da produção foi destinado para o consumo *in natura* (MELLO, 2018).

Ao longo dos últimos anos, houve um aumento na produção e consumo de suco de uva, devido a busca por uma alimentação saudável e equilibrada. Contudo, este segmento tem grande interesse econômico e social relevante, especialmente no sul do Brasil (GUERRA, 2016). A quantidade de suco comercializado em 2017 foi de 241,32 milhões de litros (MELLO, 2018) e grande parte desta produção é elaborado a partir de uvas americanas e seus híbridos da espécie *Vitis labrusca* (MELLO, 2016).

A uva Bordô ou Ives (*Vitis labrusca*), conforme exemplificado na Figura 2.5. Foi introduzida em 1839 no Rio Grande do Sul, e expandiu-se sob o território brasileiro, devido à fácil adaptação às condições climáticas, longevidade, apreciável tolerância a doenças fúngicas e alta produtividade, com isso, a uva Bordô tem a preferência dos viticultores em função da sua rusticidade (VEDRAMINI, 2019).

Figura 2.5 – Cacho de uva Bordô (*Vitis labrusca*).



Fonte: Imagem livre da internet.

Em relação à sua botânica, a uva Bordô apresenta cachos pequenos com formato cilíndrico-cônico alado, constituído de bagas pequenas de coloração preta e polpa muito tinta e foxada. Devido ao elevado teor de antocianinas em suas cascas, é bastante utilizada para aumentar a intensidade de cor de sucos e vinhos das uvas que possuem pouca coloração, como a Isabel e Concord (BRIGHENTI et. al., 2018). Trata-se de uma cultivar bastante utilizada na produção de vinhos e sucos, com coloração vermelho-púrpura marcante, alto teor de açúcares, aroma frutado e acidez equilibrada (VEDRAMINI, 2019).

Segundo a legislação brasileira, o suco de uva é classificado como uma bebida energética não fermentada, não alcoólica, de cor, aroma e sabor característicos. O suco de uva é rico em compostos bioativos, como os compostos fenólicos, os quais são os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos frutos (CARMONA-GÓMEZ et. al., 2018).

Existem vários processos para a obtenção do suco de uva, dentre os quais se destacam o de prensagem a frio e a quente. O método de prensagem a frio é utilizado para obter um suco que possua a coloração inicial de uma cultivar branca. A prensagem a quente é mais utilizada quando deseja-se obter um suco de coloração escura da cultivar a ser processada, como é o caso da uva Bordô. Os principais métodos por aquecimentos são extração por trocadores de calor e por panelas extratoras por arraste de vapor (FERRANTI, 2018).

A produção de vinhos e sucos gera enormes quantidades de resíduos, como o bagaço, correspondendo cerca de 20% a 30% do peso inicial da uva a ser processada. O bagaço é proveniente da prensagem das partes sólidas das uvas e pelo mosto que as embebe. É composto pelo engaço (pedúnculos dos cachos), folhelhos (cascas) e grainhas (sementes) (HERNANDES, 2014).

Contudo, houve um aumento de mais de 200% de pesquisas envolvendo o resíduo proveniente do processamento da uva (MONTIBELLER, 2017). O uso destes resíduos agrega valor na cadeia de produção da indústria vinícola, uma vez que, são ricos em compostos bioativos, como os ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas, os quais não foram extraídos, possuindo atividade antioxidante, antimicrobiana, antiviral e anti-inflamatória, podendo ser aplicados nas indústrias farmacêuticas, alimentares e cosméticas (STEFANI et. al., 2019).

### **3.7 Compostos fenólicos da uva e atividade fotoprotetora**

Os compostos fenólicos encontrados na uva são classificados entre flavonoides e não flavonoides. Os flavonoides são encontrados as antocianinas, os flavonóis catequina, epicatequina e epigallocatequina, os flavonóis caempferol, quercetina e miricetina. E dos não flavonoides são os ácidos fenólicos, derivados dos ácidos cinâmicos e benzoicos e uma gama

de variedade de taninos. Além desses compostos, pode-se encontrar também um polifenol pertencente a classe dos estilbenos, o resveratrol (MONTIBELLER, 2017).

Os subprodutos da produção de vinho e suco são uma fonte promissora de compostos fenólicos, que vem despertando interesse ao longo dos últimos anos devido aos seus benefícios a saúde humana e a suas propriedades antioxidantes, além do baixo custo. As sementes e as cascas de uva são ricas em flavonoides catequina, epicatequina, procianidinas e antocianinas, ácidos fenólicos e resveratrol. As antocianinas são pigmentos responsáveis pela coloração da uva tinta e estão presentes em alta concentração na casca dando coloração de azul, violeta e vermelho (ABREU, 2018).

A cosmetologia, tem estudado bastante o uso de substâncias de origem vegetal como potenciais precursores para a proteção solar, visto que há uma analogia entre a estrutura dos filtros solares sintéticos e os naturais. Os compostos fenólicos possuem a capacidade de absorção da radiação UV pelos cromóforos da molécula, associada à sua atividade antioxidante (NUNES et. al., 2018).

Cefali et. al. (2019) pesquisaram incorporações de extratos de framboesa e amora em uma formulação de filtro solar e correlacionaram a presença dos flavonoides como agente fotoquimioprotetor. Costa et. al. (2016) estudaram o potencial fotoprotetor do extrato etanólico *Marctia Taxifolia* devido ao alto teor de flavonoides presente na planta. Da Silva et. al. (2019) estudaram folhas da oliveira que contêm elevado teor de compostos fenólicos e seu potencial fotoprotetor. Estes estudos demonstrado boas alternativas com relação ao uso de compostos fenólicos como agente fotoprotetor, devido a sua atividade antioxidante e/ou anti-inflamatória (NUNES et. al., 2018).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Preparação da farinha do resíduo do processamento de uva

O resíduo do processamento da uva Bordô (*Vitis labrusca*) foi cedido em março de 2017, pelo Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras – UFLA e é proveniente do processamento do suco de uva.

O resíduo foi congelado à -18°C, liofilizado (Liofilizador Labconco Freezone® 4.5) e homogeneizado em moinho de facas (TE 631 Tecnal®) para a obtenção da farinha. Após triturar, a farinha foi passada em peneira de 40 mesh (0,425 mm), sendo classificado como granulometria fina, e a maioria das partículas como sementes e engaços foram retidas. Em seguida, a farinha do resíduo do processamento de uva foi armazenada em frasco fechado, protegida da luz, em geladeira a 4°C.

### 4.2 Preparação dos extratos

Para a obtenção do extrato etanólico de uva, utilizou-se 1 g do resíduo do processamento com 50 mL de etanol 50% (1:50), sob refluxo, em chapa aquecedora a 80°C, por 15 minutos de fervura, em três repetições. Após, o extrato foi filtrado em papel filtro e recolhido. O resíduo da extração foi retornado ao processo de extração por mais duas vezes. Os filtrados reunidos foram evaporados na chapa aquecedora até 25 mL, ficando livres de etanol, obtendo-se o extrato etanólico 50%. Após esfriar, este filtrado foi congelado à -24°C.

Para a obtenção do extrato aquoso de uva, 1 g do resíduo foi solubilizado com 25 mL de água ultrapura obtida de um sistema Milli-Q, por período de agitação de 1 hora, à temperatura ambiente. O extrato aquoso foi obtido na proporção 1:25 (m/v) semelhante ao extrato etanólico, sendo em seguida filtrado e congelado à -24 °C.

Figura 4.2 – Extrato aquoso e extrato etanólico (da esquerda para direita).



Fonte: Do autor (2019).

### 4.3 Determinação de compostos fenólicos pelo método de Folin-Denis

Para a determinação do teor de compostos fenólicos foi utilizado o reagente Folin-Denis e ácido tânico como padrão (AOAC, 2012). A curva de calibração foi preparada a partir de uma

solução padrão de ácido tânico (100 mg/1000 mL), adicionando-se alíquotas de 40; 80; 120; 160; 200 µL em tubos de ensaio. Foram adicionados água Milli-Q em quantidade decrescente 1,66; 1,62; 1,58; 1,54; 1,50 mL, respectivamente, 100 µL da solução de Folin-Denis, 200 µL de carbonato de sódio saturado (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Totalizando 2 mL por tudo. Após 30 minutos de reação, foi realizado a leitura no espectrofotômetro à 760 nm contra um branco preparado com água destilada, Folin-Denis e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nas mesmas proporções.

Para a quantificação de fenóis na amostra, foram transferidos 10 µL dos extratos brutos para um tubo de ensaio, 1,69 mL de água Milli-Q, 100 µL do reagente Folin-Denis, 200 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, formando uma mistura de cor azul. Após 30 minutos foi realizado a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 760 nm.

A equação resultante da curva de calibração ( $y = 42,429x + 0,0291$ ,  $R^2 = 0,995$ ) foi usada para calcular o teor de fenóis, e expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por 100 g de farinha do resíduo de uva (mg TAE/100g).

#### **4.4 Composição fenólica dos extratos determinada por CLAE**

A análise cromatográfica foi realizada utilizando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência CLAE Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão LC-20AT, um detector UV-visível modelo SPD-M20A, forno CTO-20AC, uma interface CBM-20A e um injetor automático com amostrador SIL-20A. As separações foram realizadas utilizando-se uma coluna Shim-pack VP-ODS-C18 (250 mm x 4,6 mm) conectada a uma pré-coluna Shim-pack Column Holder (10 mm x 4,6 mm).

Os extratos foram diluídos em metanol 50% na proporção 1:5 (v/v), e os padrões fenólicos foram filtrados em membrana de 0,45 µm (Millipore®) e injetados no cromatógrafo.

Os compostos fenólicos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões. Os padrões utilizados foram: ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido *m*-cumárico, ácido *o*-cumárico, resveratrol e trans-cinâmico. A quantificação foi realizada através da construção de curvas analíticas obtidas por regressão linear, considerando o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,99 (MARQUES et. al., 2016).

#### **4.5 Determinação da Atividade Antioxidante pela captura do radical DPPH**

A atividade antioxidante foi determinada medindo a capacidade de um composto de remover os radicais livres do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) segundo o método descrito por RUFINO et. al., 2007, com modificações.

As amostras foram diluídas em etanol até as concentrações de 0,2; 0,1; 0,0667 % (v/v).

Foi transferido 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH 0,06 mM e foram homogeneizados em agitador de tubos. Utilizou-se 0,1 mL de etanol com 3,9 mL do radical DPPH. Utilizou-se álcool etílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Após 30 minutos a absorbância foi medida a 515 nm e convertida em porcentagem de atividade antioxidante (AA) pela fórmula apresentada a seguir:

$$AA\% = \frac{(Abs\ controle - Abs\ amostra)}{Abs\ controle} \times 100 \quad (3.1)$$

Através do percentual da atividade antioxidante, pode-se calcular o valor de EC<sub>50</sub>, definido como a concentração de amostra necessária para obter 50% da máxima AA estimada. Para a obtenção desses valores foi calculado por regressão linear no qual, no eixo das abcissas foram plotadas as concentrações dos extratos e no eixo das ordenadas foi plotado o percentual médio de atividade antioxidante dos ensaios feito em triplicata. Os resultados de EC<sub>50</sub> foram expressos em µg/mL.

#### 4.6 Determinação de Antocianinas Monoméricas pelo método do pH diferencial

A determinação de conteúdo total de antocianinas foi realizada seguindo-se o método do pH diferencial, segundo Giusti e Wrolstad (2001). Os pigmentos das antocianinas mudam de cor em pH 1,0 e 4,5, sendo a forma de oxônio colorido (pH 1,0) e o hemiacetal descolorido (pH 4,5). As mudanças de colorações podem ser quantificadas através das diferenças de absorbância no espectrofotômetro.

Foi preparado tampão cloreto de potássio (KCl) a 0,025 M e corrigiu-se o pH para 1,0 com ácido clorídrico (HCl). E tampão acetato de sódio (CH<sub>3</sub>COONa) a 0,4 M corrigindo para pH 4,5 com HCl. Primeiramente, as amostras foram diluídas com o tampão pH 1,0 para determinar o fator de diluição apropriado, até que a absorbância em 520 nm seja entre 0,2 e 1,4.

O fator de diluição determinado de 5 (1 parte de amostra para 4 partes de tampão), foi utilizado para preparar as diluições para cada amostra, uma com pH 1,0 e outra com o tampão 4,5. Realizou-se a leitura das amostras dos dois tampões nos comprimentos de onda 520 e 700 nm em espectrofotômetro. O branco foi zerado com água destilada. A absorbância final foi calculada por meio da fórmula abaixo:

$$A = (A_{520nm} - A_{720nm})_{pH1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4,5} \quad (3.2)$$

A concentração de antocianinas totais (AT) foi calcula através da fórmula abaixo e expressas como cianidina-3-glicosídeo em mg/L.

$$AT \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{A * MM * DF * 10^3}{\epsilon * 1} \quad (3.3)$$

Onde:

A = Absorbância final

MM (massa molar) = 449,2 g/mol para cianidina-3-glicosídeo

DF = fator de diluição estabelecido igual a 5

l = caminho óptico da cubeta

$\epsilon$  = 26900, coeficiente molar para cianidina-3-glicosídeo

$10^3$  = conversão de g para mg

#### **4.7 Determinação do teor de Flavonoides totais**

De acordo com Woisky e Salatino (1998) a análise de flavonoides por calorimetria baseia-se na formação de quelatos entre o metal alumínio e os flavonoides, principalmente os flavonóis (3-hidroxi-flavonas) como a quercetina. Essa reação faz com que ocorra uma alteração da coloração.

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método de Dowd adaptado por Arvouet-Grand et al. (1994). A curva de calibração foi preparada a partir de uma solução padrão de 0,10 mg/ml de quercetina em etanol e foi realizado diluições de 0,03 a 0,005 mg/ml. Foi retirado alíquotas de cada concentração em tubos de ensaio e adicionado tricloreto de alumínio a 2% ( $\text{AlCl}_3$ ) e lido em 415 nm. O branco foi realizado com álcool etílico.

Uma alíquota de 1 mL de tricloreto de alumínio a 2% ( $\text{AlCl}_3$ ) em etanol foi adicionado com o mesmo volume dos extratos. Após 10 minutos de reação, foi feito as leituras de absorção a 415 nm contra um branco consistindo 1 mL de extrato com 1 mL de etanol.

As concentrações de flavonoides foram calculadas de acordo com a curva de calibração de quercetina ( $y = 38,174x + 0,0118$ ,  $R^2 = 0,9978$ ). Os resultados foram expressos em grama de quercetina por 100g de farinha do resíduo de uva.

#### **4.8 Espectro de absorção UV-visível**

A varredura do espectro de absorção UV-visível foi realizada nos extratos aquoso e etanólico em espectrofotômetro Varian Cary 50, entre os comprimentos de onda de 200 a 400 nm para observar os picos de absorção UVA e UVB.

#### **4.9 Determinação do fator de proteção solar (FPS)**

O FPS foi determinado *in vitro* pelo método espectrofotométrico de acordo com Mansur (1986). Os extratos foram diluídos em álcool etílico PA, obtendo-se soluções com concentrações de 0,2; 0,4; 0,8; 1,0; 2,0; 4,0 mg.mL<sup>-1</sup>. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS, na faixa de 290 a 320 nm com intervalos de 5 nm.

Álcool etílico foi utilizado como branco. Os valores de absorvâncias obtidos foram substituídos na equação matemática (Equação 3.4) que relaciona o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação (EE x I) descritos na Tabela 4.1. (MANSUR et. al., 1986) e obtido o FPS.

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (3.4)$$

Onde:

FPS é o Fator de Proteção Solar

FC é o fator de correção (10), referente a um FPS = 4

EE( $\lambda$ ) é o efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ )

I( $\lambda$ ) é a intensidade da luz solar no comprimento de onda ( $\lambda$ )

Abs( $\lambda$ ) é a leitura espectrofotométrica da absorvância da solução no comprimento de onda relacionado.

Tabela 4.1 – Relação entre intensidade da radiação e o efeito eritematogênico em cada comprimento de onda.

$\lambda$ (nm)	EE( $\lambda$ ). I( $\lambda$ )
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0834
320	0,018

Fonte: MANSUR (1986)

#### 4.10 Desenvolvimento das formulações cosméticas

A base farmacêutica, emulsão O/A, utilizada para as formulações cosméticas é uma emulsão base aniônica (creme aniônico) Lanette N<sup>®</sup> obtida na Bioderme Farmácia de Manipulação em Lavras – MG. No mesmo local, também foi adquirido o filtro solar orgânico Benzofenona-3 (BZ3).

O extrato etanólico da farinha de uva foi liofilizado, obtendo-se, o extrato em pó. Foi incorporado o extrato etanólico e aquoso à 2% (p/p) em uma emulsão base aniônica Lanette. O controle positivo BZ3, também foi incorporado a 2%. Além disso, uma terceira formulação foi preparada com BZ3 e com os extratos, ambas à 2% para avaliar se o extrato potencializaria a atividade fotoprotetora do controle positivo. Da mesma forma que os extratos, cada formulação

foi diluída com álcool etílico a  $4 \text{ mg.ml}^{-1}$ , lido a espectrofotômetro e calculados o FPS a partir da equação de MANSUR (1986).

Foram realizados testes organolépticos e de estabilidade preliminar de acordo com a ANVISA.

- Aspectos: verificou-se a presença de alterações como: separação de fases, precipitação e aglomeração de partículas. As amostras foram classificadas como: normal, levemente separada, separada, precipitada ou turva.

- Cor: foi comparada visualmente de acordo com a cor da base aniônica Lanette, para verificar se houve alterações. As amostras foram classificadas como: normal, levemente modificada, modificada, intensamente modificada.

- Odor: foi comparado o odor de cada formulação em relação ao padrão. As amostras foram classificadas como: normal, levemente modificada, modificada, intensamente modificada

- pH: foi determinado a partir de uma dispersão aquosa a 10% (p/p).

- Avaliação da estabilidade: foi realizada observando o estudo preliminar de centrifuga. 1 grama de cada formulação foi adicionado a um microtubo tipo eppendorf e colocados em uma centrífuga a 3000 rpm durante 30 min e observado se houve separação de fases.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 5.1, encontram-se os resultados de compostos fenólicos, antocianinas e flavonoides para os extratos aquoso e extrato etanólico da farinha do resíduo do processamento da uva Bordô.

Tabela 5.1 – Teor compostos fenólicos, antocianinas monoméricas e flavonoides totais.

Análises	Extrato aquoso (EAU)	Extrato etanólico (EEU)
<b>Compostos fenólicos</b> (mg EAT 100g <sup>-1</sup> )	1189,73 ± 87,37	3190,68 ± 112,56
<b>Antocianinas</b> (mg ECG 100g <sup>-1</sup> )	75,09 ± 2,07	90,92 ± 1,44
<b>Flavonoides</b> (mg EQT 100g <sup>-1</sup> )	20,02 ± 0,33	16,19 ± 0,07

Compostos fenólicos expressos como miligramas equivalentes de ácido tânico por 100g de farinha de uva (mg EAT 100g<sup>-1</sup>). Antocianinas totais equivalentes em cianidina-3-glicosídeo por 100g de farinha (mg ECG 100g<sup>-1</sup>). Flavonoides totais expressos em equivalente de quercetina (mg EQT 100g<sup>-1</sup>). Os resultados correspondem às médias de triplicatas e os desvios padrões calculados.

O teor de compostos fenólicos encontrado no EEU foi de 3190,68 ± 112,56 mg de ácido tânico/100g de farinha, resultado elevado quando comparado com o EAU que obteve 1189,73 ± 87,37, indicando que o processo de extração etanólico foi eficiente. Kadouh et. al. (2016) avaliaram o teor de compostos fenólicos de extratos em acetona de seis tipos de variedades de uvas e encontram valores entre 969 a 16906 mg de ácido gálico/100g de peso seco.

Os frutos ricos em antocianinas são intensamente coloridos, do vermelho (condição ácida) até azul ou amarelo (condição básica) e possui uma correlação positiva entre a intensidade da cor e conteúdo antociânico (ABREU, 2018).

Os extratos aquoso e etanólico apresentaram valores de antocianinas monoméricas de 75,09 ± 2,07 e 90,92 ± 1,44 mg de cianidina-3-glicosídeo/100g de farinha de uva respectivamente. Bennemann et. al. (2018) estudaram farinhas de bagaço de uva de diferentes cultivares de uva Merlot, Cabernet Sauvignon, Sangiovese e Sauvignon Blanc e identificaram conteúdos de antocianinas variando entre 15,78 e 114,67 mg equivalentes a malvidina-3-glicosídeo/100g. Matos (2017) avaliou o teor de antocianinas monoméricas do extrato de bagaço de uva hidroetanólico e do mesmo extrato microencapsulado da cultivar *Alicante Bouschet* e encontrou a concentração de 118,8 e 60,22 mg de malvidina-3,5-diglicosídeo/100g de peso seco respectivamente. Casagrande (2014) estudou o extrato em acetona 80% de uva Bordô de coprodutos do processamento de vinho e de sucos e encontrou resultados de

antocianinas 78 e 64 mg/100g expressos em cianidina-3-glicosídeo respectivamente. Os resultados dos autores citados corroboram ao quantificados por este estudo.

O conteúdo de flavonoides totais encontrados nos extratos aquoso e etanólico foi em média  $20,02 \pm 0,33$  e  $16,19 \pm 0,07$  mg de quercetina/100g de farinha de uva, respectivamente. Paiva (2018) avaliou o conteúdo de flavonoides de diversas cultivares de uva, e para a cultivar Bordô obteve a média de  $22,24 \pm 3,0$  mg de quercetina/100g de uva *in natura*. Gonçalves (2015) estudou o extrato etanólico de uva cultivar Isabel, e o teor de flavonoides encontrado foi de 0,55 mg equivalente a quercetina/100g de uva *in natura*. Os resultados se assemelham ao resultado do presente estudo.

Casagrande (2014) determinou o teor de flavonoides de  $240 \pm 0,7$  mg quercetina/100g para o bagaço do suco e  $140 \pm 0,3$  mg quercetina/100g para o bagaço do vinho. Esses valores são superiores ao encontrado em nosso estudo. Essa diferença pode estar relacionada com diversos fatores ambientais e agronômicos como clima, solo, práticas de cultivo, influências sazonais, condições de maturação, além de técnicas aplicadas durante o processamento da produção do suco e do vinho e o método de extração de compostos bioativos (HUERTA, 2018).

Na determinação do teor de flavonoides deste estudo, o extrato aquoso obteve um maior resultado em relação ao extrato etanólico. Paiva (2018) relata que os flavonoides totais quantificados por espectrofotometria podem ser interferidos pelo teor de antocianinas presente nas uvas, sendo necessário então, o uso de técnicas mais sensíveis e avançadas como a cromatografia. Frente a isso, pode-se afirmar que o teor de antocianinas presente no extrato etanólico interferiu na quantificação dos flavonoides totais.

Através dos resultados de caracterização e quantificação da CLAE indicaram a presença de um perfil diverso de compostos fenólicos, em um total de sete compostos, para os dois solventes de extração como é mostrado na Tabela 5.2 e nas Figuras 5.1 e 5.2.

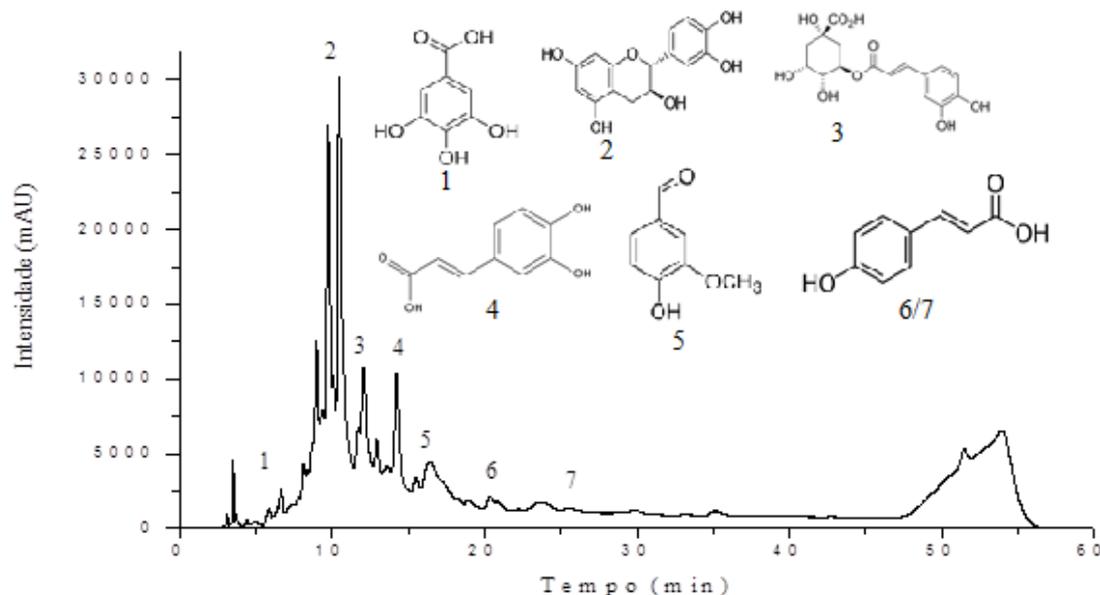
Tabela 5.2 – Teor compostos fenólicos nos extratos etanólico e aquoso da farinha da uva.

<b>Compostos fenólicos (mg 100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Extrato aquoso</b>	<b>Extrato etanólico</b>
<b>Ácido gálico</b>	nq	4,21
<b>Catequina</b>	86,36	564,49
<b>Ácido clorogênico</b>	62,80	38,40
<b>Ácido cafeico</b>	35,29	53,05
<b>Ácido vanílico</b>	42,49	nq
<b>Ácido p-cumárico</b>	nq	nq
<b>Ácido m-cumárico</b>	nq	nq
<b>Σ Compostos fenólicos</b>	<b>226,94</b>	<b>660,15</b>

nq = não quantificado (identificado, porém abaixo do limite de quantificação).

No extrato etanólico, o composto majoritário identificado foi a catequina (564,49 mg/100 g), seguido do ácido cafeico (53,05 mg/100 g), ácido clorogênico (38,40 mg/100 g) e por último o ácido gálico (4,21 mg/ 100 g). Os compostos ácidos vanílico, *p*-cumárico e *m*-cumárico foram identificados, porém não quantificados, pois ficaram acima do limite de detecção e abaixo do limite de quantificação da curva padrão desses compostos.

Figura 5.1 – Cromatograma do extrato etanólico da farinha do processamento da uva Bordô.

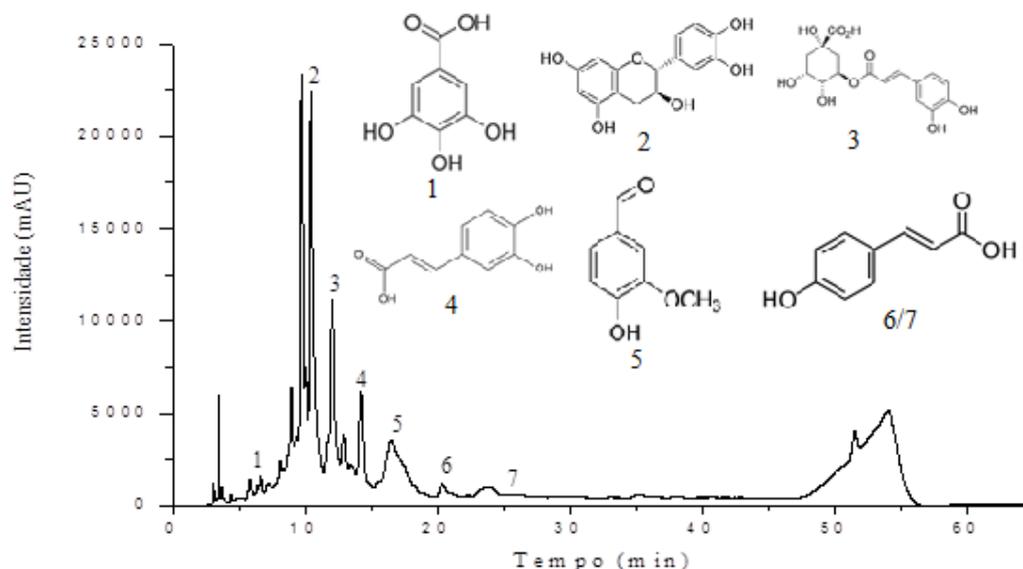


Legenda: Identificação dos picos: 1. Ácido gálico (tempo = 6,626 min); 2. Catequina (tempo = 10,446); 3. Ácido clorogênico (tempo = 12,057 min); 4. Ácido cafeico (tempo = 14,219 min); 5. Ácido vanílico (tempo = 16,469 min); 6. Ácido *p*-cumárico (tempo = 20,357 min); 7. Ácido *m*-cumárico (tempo = 25,535 min).

Fonte: Do autor (2019).

No extrato aquoso foi identificada a presença majoritária de catequina (86,36 mg 100 g), seguido do ácido clorogênico (62,80 mg/ 100 g), ácido vanílico (42,49 mg/ 100 g) e do ácido cafeico (35,29 mg 100 g). Os ácidos gálicos *p*-cumárico e *m*-cumárico não foram quantificados.

Figura 5.2 – Cromatograma do extrato aquoso da farinha do processamento da uva Bordô.



Legenda: Identificação dos picos: 1. Ácido gálico (tempo = 6,623 min); 2. Catequina (tempo = 10,434); 3. Ácido clorogênico (tempo = 12,032 min); 4. Ácido cafeico (tempo = 14,208 min); 5. Ácido vanílico (tempo = 16,477 min); 6. Ácido p-cumárico (tempo = 20,333 min); 7. Ácido m-cumárico (tempo = 25,540 min).

Fonte: Do autor (2019).

Chedea et. al. (2018) verificaram os compostos fenólicos pôr CLAE do extrato aquoso do resíduo de uva vermelhas e identificaram como composto majoritário a epigallocatequina-3-galato seguido de epicatequina, ácido gálico, 3-procianidina, ácido gálico-glicosídeo e malvidina.

Tang et. al. (2018) analisou resíduo de uvas (cascas e sementes) de trinta variedades e foram identificados e quantificados os compostos fenólicos, incluindo ácido gálico, cianidina-3-glicosídeo, epicatequina, catequina, ácido ferúlico, rutina e resveratrol.

Jesus et. al. (2019) estudaram a composição de compostos fenólicos do resíduo de poda da vidreira (caules, cascas, sementes, brotos e folhas) da cv *V. vinífera Loureiro*, utilizando extratos etanólico variando temperatura e a porcentagem do solvente em micro-ondas. O extrato foi analisado por CLAE e foram detectados quinze compostos fenólicos de diferentes classes: catequina, narigenina, apigenina, quercetina, rutina, ácido rosmarínico, ácido cinâmico, ácido cinâmico, ácido siríngico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido *o*-cumárico, ácido elágico e resveratrol. Dentre os compostos quantificados, as mais abundantes foram a apigenina (9,4-194 mg/100 g vidreira) e a catequina (16-27,1 mg/100 g de vidreira), sua concentração variou de acordo com as condições de extração.

O perfil cromatográfico apresentada pelos extratos aquoso e etanólico da farinha do

processamento da uva Bordô é condizente com os estudos realizados pelos autores citados acima, que relatam a presença dos ácidos fenólicos e dos flavonoides, em especial, a catequina, composto majoritário encontrado no presente estudo.

De acordo com Ferri et. al (2017), para a recuperação de compostos fenólicos presentes do bagaço de uva deve ser utilizados solventes como etanol, metanol e água. Todavia, Tonetti et. al. (2016) destaca que a extração aquosa resulta em extratos com alta impureza como ácidos orgânicos, açúcares e proteínas solúveis, acarretando interferências na quantificação dos compostos fenólicos. O teor de compostos fenólicos do extrato etanólico foi superior em relação ao extrato aquoso (Tabela 5.1 e 5.2), indicando que o método de extração etanólico foi eficaz para a determinação desses compostos.

Os compostos fenólicos da uva estão correlacionados com a sua atividade antioxidante, isto é, quanto mais elevado a concentração destes compostos maior o poder antioxidante (MUHLACK et. al.,2018). Os resultados para a atividade antioxidante *in vitro*, dos extratos aquoso e etanólico estão apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Percentual de Atividade Antioxidante (AA%) pelo método DPPH em função da concentração dos extratos.

Concentração % (v/v)	AA (%)	
	Extrato etanólico	Extrato aquoso
<b>0,2</b>	89 ± 0,36	35,16 ± 5,65
<b>0,1</b>	68,67 ± 1,40	20,81 ± 4,59
<b>0,067</b>	53,92 ± 2,59	14,63 ± 1,90

Os resultados correspondem às médias de triplicatas e os desvios padrões calculados.

De acordo com o percentual de atividade antioxidante verificou-se que o extrato etanólico apresenta maiores resultados, comprovando a relação de teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante (MUHLACK et. al.,2018). Lins e Sartori (2014) determinou a atividade antioxidante de nove tipos de vinhos à 0,1% (v/v) e os resultados variaram entre 6,43 a 81,16%. Os resultados encontrados estão próximos aos dados da literatura.

O valor de EC<sub>50</sub> indica a concentração do extrato necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH. Esse valor foi obtido através da regressão linear da atividade antioxidante versus concentração dos extratos. O extrato etanólico obteve um EC<sub>50</sub> de 1622,24 µg/mL e o extrato aquoso 11874,25 µg/mL. Quanto menor o EC<sub>50</sub>, maior o potencial antioxidante do extrato.

Postinger et. al. (2016) determinou o EC<sub>50</sub> de farinha de bagaço de uva Bordô e obteve

resultado de  $680 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Tonetti et. al. (2016) encontrou  $\text{EC}_{50}$  de extrato etanol 30% de resíduo de uvas Bordô e Isabel de  $876 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Através dos resultados de  $\text{EC}_{50}$  dos autores citados acima, pode-se concluir que possuem maior potencial antioxidante em relação aos extratos neste estudo. Isso pode estar relacionado à fatores ambientais e agrônômicos do cultivo da uva e ao método de extração dos compostos bioativos (HUERTA, 2018).

Cefali et. al. (2019) determinaram a atividade antioxidante dos extratos de amora e framboesa, frutas ricas em antocianinas, pelo método de captura do radical DPPH. A amora apresentou 74,01% de inibição em torno de 0,11 % (v/v), enquanto o extrato de framboesa obteve 82,33% de inibição com de concentração 0,14% (v/v). A quercetina foi utilizada como controle positivo e cerca de 1,0 a  $1,75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  apresentaram percentual de inibição em torno de 50%. Embora, esse valor de concentração seja relativamente menor em relação os extratos de amora e framboesa, e dos extratos de uva Bordô deste estudo, os autores afirmam que a atividade antioxidante pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos, especialmente os flavonoides.

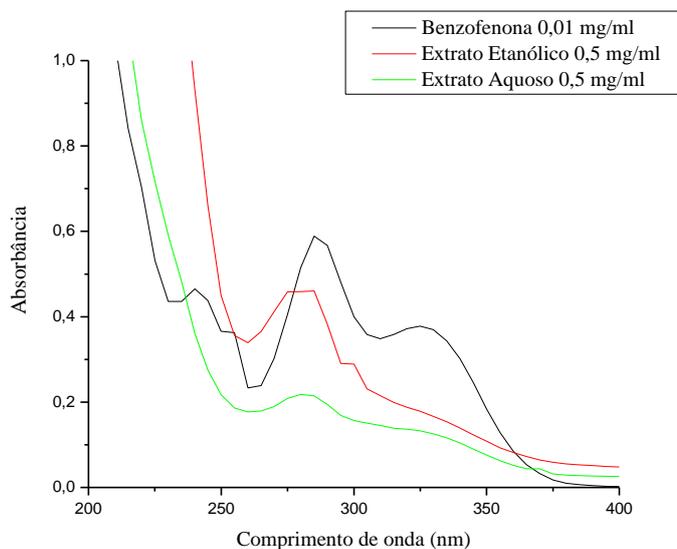
As antocianinas, pertencente ao grupo dos flavonoides, destacam-se por desempenhar diversas funções à proteção à luz, mecanismo de defesa e propriedades antioxidantes e prevenção de várias doenças. Seus compostos são oxidados na presença de radicais livres, gerando um radical menos reativo e mais estável, tornando-o inativo devido ao alto poder de reatividade do grupo hidroxila das antocianinas (RUSCINC, 2018).

A alta atividade antioxidante dos flavonoides está relacionada à sua capacidade de prevenir os processos de formação de radicais livres nas células por três mecanismos: (i) ação de sequestro de  $\text{O}_2$ , (ii) reação com radicais peroxila, inibição da peroxidação lipídica e (iii) ação quelante do ferro, diminuindo a formação do radical hidroxila (CEFALI et. al., 2019).

Devido à propriedade antioxidante dos flavonoides, essas moléculas denominadas cromóforos, são capazes de absorver a radiação UV. Frente essa informação, o uso de extratos e óleos vegetais que apresentam atividade fotoprotetora ou capacidade de potencializar o FPS de filtros solares são alvo de interesses para pesquisas. Esses compostos fenólicos absorvem a radiação UVA/UVB por apresentar em sua composição moléculas com estruturas semelhantes às dos filtros orgânicos (CATELAN et. al., 2019; NUNES et. al., 2018).

A Figura 5.3 apresenta os espectros de UV-Vis dos extratos aquoso ( $0,5 \text{ mg/ml}$ ) e etanólico ( $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e da benzofenona-3 ( $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). A concentração da BZ3 foi menor em relação aos extratos, pois sua composição é apenas do princípio ativo puro do filtro solar orgânico.

Figura 5.3 – Espectro de absorção da benzofenona, extrato etanólico e extrato aquoso



Fonte: Do autor (2019).

A BZ3, filtro orgânico de ampla absorção em UVB e UVA, apresenta o máximo de absorção em comprimento de onda em 290 nm e em 320 nm respectivamente (COSTA, 2015) o mesmo foi observado neste estudo. Os extratos aquoso e etanólico apresentaram um máximo de absorção em comprimento de onda de 280 nm (região UVB), e apenas o extrato etanólico exibiu um segundo pico de absorção em 300 nm (região UVA).

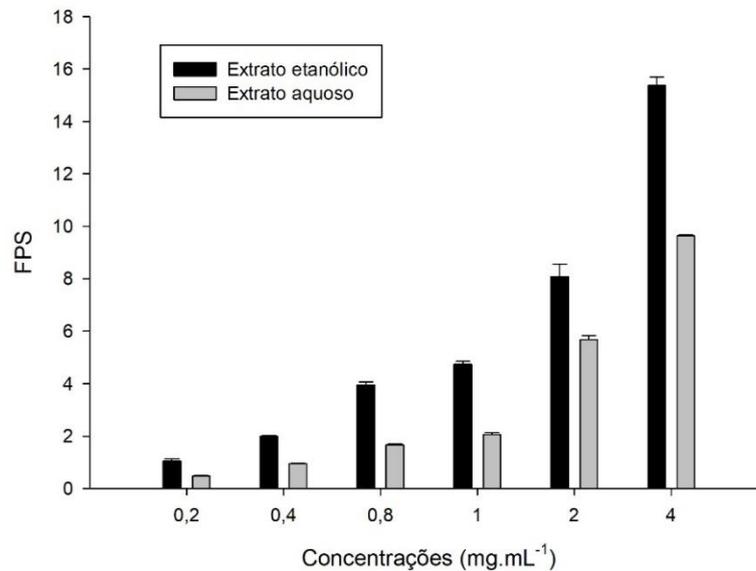
Chedea et. al. (2018) também verificam que o extrato aquoso de uva vermelhas teve absorção máxima em 280 nm. Costa et. al. (2016) afirmam que plantas ricas em flavonoides são eficazes na absorção de luz ultravioleta e apresentam 2 picos de absorção máxima, a primeira entre 240-280 nm e outra em 300-350 nm.

Os resultados encontrados no espectro de UV-Vis são um indicativo para a utilização dos extratos aquoso e etanólico da farinha do processamento da uva Bordô em produtos fotoprotetores, uma vez que, possuem a capacidade de sequestrar/inativar os EROs e foram encontrados picos de absorção na faixa UVB, região que afeta diretamente a camada epidérmica da pele, proporciona danos diretos ao DNA e a malignização carcinogênica (CAMPOS et. al., 2019).

Conforme a legislação Brasileira RDC 30 de 1º de junho de 2012 (ANVISA, 2012) apenas FPS superior ou igual a 6 é adequado para o uso em uma formulação cosmética, tendo pelo menos uma proteção na faixa do UVB. Esse valor pode ser obtido através do método *in vitro* utilizado no presente estudo.

Os extratos foram avaliados em diferentes concentrações em relação ao fator de proteção solar. Os resultados das determinações dos valores de FPS *in vitro* estão apresentadas na Figura 5.4.

Figura 5.4 – Fator de proteção solar em diferentes concentrações dos extratos etanólico e aquoso.



Fonte: Do autor (2019).

De acordo com a Figura 5.4 observa-se que os valores de FPS dos extratos foram dependentes da concentração. O extrato aquoso apresentou FPS superior ao exigido pela ANVISA na concentração de 4 mg.mL<sup>-1</sup> igual a  $9,63 \pm 0,04$ . Já o extrato etanólico nas concentrações de 2 e 4 mg.mL<sup>-1</sup> tiveram FPS satisfatório de  $8,08 \pm 0,48$  e  $15,36 \pm 0,34$ , simultaneamente. O extrato etanólico obteve melhores resultados frente ao extrato aquoso, devido ao maior teor de compostos fenólicos conforme apresentado nas Tabelas 5.1 e 5.2.

Estudos utilizando o extrato etanólico de *M. taxifolia* (planta rica em flavonoides) com diferentes concentrações de (250 e 125  $\mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}$ ) tiveram um valor de FPS de 15,52 e 8,35 respectivamente (COSTA et. al., 2016). Cefali et. al. (2017) determinou nos extratos o FPS *in vitro* de 54,57 para amora e 37,32 para a framboesa. Almeida et. al. (2019) estudaram o extrato de própolis, devido ao alto teor de isoflavonoides presente, e FPS encontrado à 1 mg/ml foi de  $12,30 \pm 3,70$ . O FPS determinado nos extratos da farinha do processamento da uva Bordo foram satisfatórios de acordo com os dados encontrados na literatura.

De acordo com a ANVISA, as concentrações de filtros solares utilizados no desenvolvimento de filtros solares podem variar entre 2 a 7,5%, dessa forma os extratos e a

BZ3 foram incorporados na formulação cosmética nas concentrações de 2%. A figura 5.5 apresenta os aspectos gerais das formulações cosméticas.

Figura 5.5 – Aspectos gerais das diferentes formulações.



Legenda (esquerda para direita): Creme; Creme + Benzofena-3 (2%); Creme + Farinha (2%); Creme + Extrato (2%); Creme + Farinha (2%) + Benzofena-3 (2%); Creme + Extrato (2%) + Benzofena-3 (2%)  
Fonte: Do autor (2019).

Extrato vegetal, como qualquer outro princípio ativo, ao ser incorporado em uma formulação cosmética pode alterar ou não a forma farmacêutica e o comportamento físico-químico, por isso, são importante analisar alguns parâmetros intrínsecos às formulações elaboradas (COSTA, 2015). Na tabela 5.6 é apresentado as especificações iniciais das formulações.

Tabela 5.4 – Especificações iniciais das formulações de acordo com a ANVISA.

Parâmetros	Creme	Creme+BZ3	Creme+E	Creme+F	Creme+E+BZ3	Creme+F+BZ3
Aspectos	N	N	N	N	N	N
Cor	N	LM	LM	LM	LM	LM
Odor	N	LM	N	N	LM	LM
pH	4,14±0,04	4,68±0,06	3,85±0,01	3,77±0,01	3,81±0,01	3,74±0,01

Legenda: N = normal; LM = levemente modificado.

As formulações foram analisadas primeiramente enquanto as suas características organolépticas para avaliar se as mesmas estavam de acordo com pretensões esperadas ao desenvolver um produto cosmético, como homogeneidade do sistema, emulsão brilhante, aspecto agradável ao toque, cor e odor (BRASIL, 2004).

Todas as formulações apresentaram aspecto normal sem aglomeração de partículas (homogêneo). A formulação contendo apenas BZ3 apresentou uma cor levemente amarelada, brilhante e com um odor característico do filtro solar. As formulações contendo adições dos extratos foi observada uma mudança de coloração rosa claro e odor normal. Já as formulações dos extratos com a adição da BZ3, diminuíram a tonalidade da cor rosa e adquiriram o odor característico composto.

De acordo com Schalka et. al. (2012), indicam que filtros solares coloridos possuem uma melhor aceitabilidade por parte do consumidor, principalmente do sexo feminino e melhor absorção em relação aos de cor branca como os filtros solares físicos.

Além das propriedades organolépticas foram avaliados o parâmetro físico-químico pH, este é uma medida fundamental em formulações cosméticas. A pele humana apresenta um pH ácido entre 4,5 e 5,5, sendo responsável por proteger a pele contra fungos, bactérias e contra infecções, alergias, irritações e coceiras, logo, produtos dermatológicos devem apresentar um valor de pH mais próximo ao da pele, evitando assim, alterações em seu mecanismo de defesa (EGERT et. al., 2017).

O pH das formulações foi medido após a preparação da mesma. A formulação apenas com a BZ3 teve um pH de  $4,68 \pm 0,06$ , valor próximo ao da pele. Já as formulações com a adição dos extratos possuíram um pH ácido entre  $3,74 \pm 0,01$  e  $3,85 \pm 0,01$ . Essa característica é atribuída à acidez dos compostos fenólicos dos extratos estudados devido à suas estruturas de ressonância (CATELAN et. al., 2019).

Costa et. al. (2016) afirma que o pH desejável para filtro solar é entre 6 e 7. Entretanto, para que essas formulações apresentassem um pH ideal seria necessário a adição de um agente modificador de pH, como a trietilonamina.

Outro aspecto avaliado foi o teste de estabilidade preliminar das frente a centrifugação (Figura 5.6), no qual promove um estresse na amostra com o aumento de força gravitacional, a mobilidade das partículas e antecipando sinais de instabilidade como precipitações, separação de fases e formação de sedimentos. Este teste é recomendado pela ANVISA, pois prevê a necessidade de reformulação caso as amostras sejam instáveis (BRASIL, 2004; COSTA, 2015).

Figura 5.6 – Teste de estabilidade preliminar de centrifuga.



Legenda: da esquerda para a direita: creme; creme+BZ3; creme+F; creme+E; creme+F+BZ3; creme+E+BZ3.

Fonte: Do autor (2019).

O teste de centrifugação demonstrou que as formulações apresentaram aspecto normal, sem nenhum tipo de alteração no produto como separação de fases, coalescência ou aparecimento de precipitado. Vale ressaltar que esse tipo de teste fornece um direcionamento para o estudo de formulações cosméticas, e não é utilizado para determinar vida útil do produto desenvolvido (BRASIL, 2004).

Em seguida foi investigado o potencial fotoprotetor das formulações pelo método de Mansur. Os resultados estão expressos na Tabela 5.5 abaixo.

Tabela 5.5 – Fator de proteção solar das formulações à 4 mg.mL<sup>-1</sup>.

Formulações	FPS
<b>Creme</b>	n
<b>Creme + Benzofenona 3 (2%)</b>	32,66 ± 0,06
<b>Creme + Extrato (2%)</b>	4,16 ± 0,16
<b>Creme + Farinha (2%)</b>	4,12 ± 0,18
<b>Creme + Extrato (2%) + BZ3 (2%)</b>	34,87 ± 0,22
<b>Creme + Farinha (2%) + BZ3 (2%)</b>	34,68 ± 0,39

n = não possui fator de proteção solar. Os resultados correspondem às médias de triplicatas e os desvios padrões calculados.

O creme Lanette N<sup>®</sup> não apresentou FPS, como era de se esperar. Essa base é bastante indicada para este tipo de formulação pois apresenta baixa oleosidade e boa resistência, além de serem compatíveis com diversas substâncias, como os extratos vegetais. O padrão

benzofenona-3 a 2% obteve um FPS  $32,66 \pm 0,06$ . Costa et. al. (2016) afirma que até 5% de BZ3 possui um fator de proteção solar fixo entre 30-50. Valor esse, próximo ao determinado neste estudo.

As formulações que continham apenas a adição dos extratos apresentou um FPS abaixo do recomendado pela RDC 30 de 1º de junho de 2012. No entanto, quando os extratos de uva foram associados ao filtro orgânico, promoveram um aumento de aproximadamente 5% no FPS em relação a formulação que contém apenas a BZ3, ambas apresentaram um FPS em torno de 34.

Mansur et. al. (2016) desenvolveu uma emulsão contendo os filtros solares orgânicos à 5% de benzofenona-3, octilmetoxinamato e octocrileno, com extratos à 1% de *Bauhinia microstachya var. massambabensis*, popularmente conhecida como escada de macaco. A formulação contendo apenas os filtros solares apresentou um FPS  $13,48 \pm 1,99$ , enquanto com a adição dos extratos em etanol e em acetona apresentaram um FPS de  $18,98 \pm 3,30$  e  $17,90 \pm 3,35$ , respectivamente.

Catelan et. al. (2019) analisaram o FPS de emulsões contendo octilmetoxinamato à 8% e com extratos etanólico de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) e de guavira (*Campomanesia adamantium*) na mesma concentração do filtro solar. O padrão apresentou FPS de  $17,58 \pm 0,09$ , enquanto as formulações que continha apenas os extratos tiveram um valor de  $6,52 \pm 0,08$  para guabiroba e de  $6,39 \pm 0,06$  para a guavira. Com a adição dos extratos de guabiroba e guavira com o octilmetoxinamato, houve um aumento de FPS de  $19,55 \pm 0,13$  e  $19,01 \pm 0,15$ , respectivamente.

Martincigh e Ollengo (2016) testaram a capacidade de fotoestabilização do extrato da semente de uva incorporado em três filtros solares: 2-etilhexil-p-metoxicinamato, benzofenona-3 e terc-butilmetoxidibenzoilmetano. As amostras foram expostas à radiação solar simulada, foi observado um aumento da capacidade de absorção UV, e todos os filtros solares apresentaram uma melhor fotoestabilidade melhorada com a adição do extrato

De acordo com os dados encontrados na literatura, extratos vegetais podem aumentar o FPS de formulações cosméticas contendo filtros solares orgânicos, como ocorreu com os extratos de uva. Os valores de FPS encontrados no referido estudo foram maiores que os encontrados pelos autores. Além disso esse resultado pode ser promissor, visto que filtros solares derivados de produtos naturais podem ser utilizados como coadjuvantes aos filtros químicos (CATELAN et. al., 2019).

## **6 CONCLUSÃO**

Este estudo demonstrou que é viável o reaproveitamento de resíduo do processamento de uva Bordô, visto que, possui compostos bioativos como os compostos fenólicos, que possuem a capacidade de absorção da radiação UV associados à sua atividade antioxidante. Os extratos da farinha da uva mostrou ser um promissor ativo coadjuvante e com a adição do filtro solar orgânico, aumentaram o fator de proteção solar da formulação final. Contudo, é necessário a realização de mais testes, como toxicológicos e microbiológicos das formulações, bem como testes de fotoestabilidade, pois, é fundamental que o desenvolvimento de um produto cosmético atenda os quesitos básicos de segurança e eficácia.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABREU, Joel Pimentel de. **Efeitos da adição de farinha de casca de uva orgânica (*Vitis labrusca*) sobre as características físicas, químicas e sensoriais no desenvolvimento de biscoito tipo cookie com alegação funcional**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Editora Anvisa, 2005.
- ALBUQUERQUE, Ananda Karoline Camelo de. **Síntese de Nanoestruturas de ZnO e TiO<sub>2</sub> Via Método Sol-Gel Proteico e Reação de Combustão para Aplicação em Fotoproteção**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.
- ANDRADE, Bruno de Almeida. **Atividade fotoprotetora in vitro de espécies medicinais da caatinga pernambucana e incorporação em gel dermatológico**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY). **Official methods of analysis**. 19.ed. Gaithersburg, 3000p, 2012.
- ARVOUET, G. A. et al. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **Journal de Pharmacie de Belgique**, v. 49, p. 462-468, 1994.
- BENNEMANN, Gabriela Datsch et al. Compostos bioativos e atividade antirradicalar em farinhas de bagaço de uvas de diferentes cultivares desidratadas em liofilizador e em estufa. **Braz. J. Food Technol**, v. 21, p. e2017205, 2018.
- BERNARD, Jamie J.; GALLO, Richard L.; KRUTMANN, Jean. Photoimmunology: how ultraviolet radiation affects the immune system. **Nature Reviews Immunology**, p. 1, 2019.
- BERKEY, Christopher et al. Role of sunscreen formulation and photostability to protect the biomechanical barrier function of skin. **Biochemistry and biophysics reports**, v. 19, p. 100657, 2019.
- BRAGA, M. A. **Potencial nutracêutico de extratos obtidos de folhas de *Achyrocline satureioides*, *Echinodorus macrophyllus* e *Lippia sidoides*: parâmetros farmacológicos e toxicológicos**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.
- BRASIL. Resolução RDC nº 30, de 1 de julho de 2012. Disponível em: <[http://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2012/rdc0030\\_01\\_06\\_2012.pdf](http://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2012/rdc0030_01_06_2012.pdf)> Acessado em: 16 de Julho de 2019.
- BRASIL. Resolução RDC nº 69, de 23 de março de 2016. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2863150/RDC\\_69\\_2016\\_COMP.pdf/5689ac91-e621-45b7-a122-b3163e4b3cc3](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2863150/RDC_69_2016_COMP.pdf/5689ac91-e621-45b7-a122-b3163e4b3cc3)> Acessado em: 22 de maio de 2019.
- BRIGHENTI, Alberto Fontanella et al. Qualification of 'Bordô' grape clones in Vale do Rio do Peixe, in the state of Santa Catarina, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 7, p. 800-808, 2018.
- BOURSCHEIDT, Vanessa Freitas. **Investigação do potencial antioxidante de resíduo vitivinícola**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.

CAMPOS, Wesley Randson de Alcantara et al. MECHANOCHEMICAL SYNTHESIS OF SYMMETRIC ACYCLIC AZINES AND DETERMINATION OF THE UVB SOLAR PROTECTION FACTOR in vitro. **Química Nova**, v. 42, n. 3, p. 305-312, 2019.

CARMONA-GÓMEZ, L. A. et al. SEPARATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS BY ULTRAFILTRATION OF BORDO GRAPE (*Vitis labrusca* var. Bordo) SKIN EXTRACT. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 17, n. 1, p. 203-213, 2018.

CASAGRANDE, Maira. **Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de suco de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango**. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

CATELAN, Taline Baganha Stefanello et al. Evaluation of the in vitro photoprotective potential of ethanolic extracts of four species of the genus *Campomanesia*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2019.

CEFALI, Letícia Caramori et al. In vitro antioxidant activity and solar protection factor of blackberry and raspberry extracts in topical formulation. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 18, n. 2, p. 539-544, 2019.

CHEDEA, Veronica et al. Intestinal absorption and antioxidant activity of grape pomace polyphenols. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. 588, 2018.

COSTA, Sônia Carine Cova. **Avaliação da atividade fotoprotetora in vitro de extratos etanólicos de três espécies de *Marcetia* e suas formulações**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

COSTA, Sônia CC et al. In vitro photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 413-418, 2016.

DA SILVA, Beatriz Pereira; LOPES, Luciana Lemos Baêta Tanos. Avaliação do potencial fotoprotetor do extrato vegetal de romã (*punica granatum* L.) em uma formulação cosmética. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 6, n. 3, 2018.

DA SILVA, Anne CP et al. Photoprotection assessment of olive (*Olea europaea* L.) leaves extract standardized to oleuropein: In vitro and in silico approach for improved sunscreens. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2019.

DO NASCIMENTO, Luciano F.; DOS SANTOS, Elisabete P.; DE AGUIAR, Alcino P. Fotoprotetores orgânicos: pesquisa, inovação e a importância da síntese orgânica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 2, p. 190-223, 2013.

EGERT, Markus; SIMMERING, Rainer; RIEDEL, Christian U. The association of the skin microbiota with health, immunity, and disease. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 102, n. 1, p. 62-69, 2017.

FERRANTI, Tiago Henrique. **Caracterização de compostos fenólicos de sucos de *vitis labrusca* variedade bordo sob diferentes sistemas de manejo agrícola**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade de Caixias do Sul, Caixias do Sul, 2018.

FERRI, Maura et al. White grape pomace extracts, obtained by a sequential enzymatic plus ethanol-based extraction, exert antioxidant, anti-tyrosinase and anti-inflammatory activities. **New biotechnology**, v. 39, p. 51-58, 2017.

FLOR, Juliana; DAVOLOS, Marian Rosaly; CORREA, Marcos Antonio. Protetores solares. **Química nova**, p. 153-158, 2007.

FRÖLECH, Dianini Brum et al. Chemical and sensory analysis of juices and cuts of ‘Bordô’ and ‘Niágara Rosada’ grapes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 1, 2019.

GAMAGE, D.A.; FAWZY, A.A.; FRASON, R.C. Preferential hydrolysis of peroxidized phospholipid by liposomal phospholipase. **Biochim Biophys Acta**, v. 958, p. 116-124, 1998.

GUERRA, C. C. Sistema para elaboração de suco de uva integral em pequenos volumes: suquificador integral. **Embrapa Uva e Vinho-Documentos (INFOTECA-E)**, 2016.

GIUSTI, M. Mónica; WROLSTAD, Ronald E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, n. 1, p. F1. 2.1-F1. 2.13, 2001.

GONÇALVES, Heloisa Morais. **Resíduo de uva Isabel (Vitis labrusca)–encapsulação, avaliação e aplicação do corante em frozen yogurt**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

GONZALEZ, H. et al. Percutaneous absorption of the sunscreen benzophenone-3 after repeated whole-body applications, with and without ultraviolet irradiation. **British Journal of Dermatology**, v. 154, n. 2, p. 337-340, 2006.

HERNANDES, Josiane Vieira. **Elaboração de farinha de uva a partir de subproduto da indústria vitivinícola: qualidade nutricional e de compostos bioativos**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Pampa, Bagé, 2014.

HUERTA, Marina Da Mota et al. **Bagaço de uva: aproveitamento, avaliação e aplicação em pré-mistura para bolo**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Tipos de Câncer. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele\\_melanoma](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma) > Acessada em 10 de maio 2019.

JESUS, Meirielly S. et al. Bioactive compounds recovery optimization from vine pruning residues using conventional heating and microwave-assisted extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 99-110, 2019.

KADOUH, Hoda C. et al.  $\alpha$ -Glucosidase inhibiting activity and bioactive compounds of six red wine grape pomace extracts. **Journal of functional foods**, v. 26, p. 577-584, 2016.

LINS, Aline Regina; SARTORI, Giliani Veloso. Qualidade fenólica e atividade antioxidante de vinhos tintos produzidos no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 1, p. 69-76, 2014.

LOPES, F.M.; CRUZ, R.O.; BATISTA, K.A. Radiação ultravioleta e ativos utilizados na formulação de protetores solares. **Ensaio e Ciências: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, vol.16, n.4, p 183-199, 2012.

LOPES, P.P. **Proteção solar: o papel da vitamina D**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de São Paulo, Lorena, p.18-25, 2014.

MADAN, Kumud; NANDA, Sanju. In-vitro evaluation of antioxidant, anti-elastase, anti-collagenase, anti-hyaluronidase activities of safranal and determination of its sun protection factor in skin photoaging. **Bioorganic chemistry**, v. 77, p. 159-167, 2018.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; **Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria**. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, v. 3 (61), p. 121-124, 1986

MANSUR, Maria Cristina PP Reis et al. In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 251-258, 2016.

MARTINCIGH, Bice S.; OLLENGO, Moses A. The photostabilizing effect of grape seed extract on three common sunscreen absorbers. **Photochemistry and photobiology**, v. 92, n. 6, p. 870-884, 2016.

MARQUES, Tamara Resende. **Extrato de bagaço de acerola: Inibição de enzimas digestivas, ação antioxidante e inseticida**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

MARQUES, Tamara R. et al. Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 191-196, 2016.

MASKE, Pratik P. et al. In vitro determination of sun protection factor and chemical stability of *Rosa kordesii* extract gel. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 6, p. 520-524, 2013.

MATTOS, Gabriela Nunes Mattos. **Obtenção de salsicha de tilápia usando antioxidante natural a base de resíduos do processamento de uva**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

MELLO, L. M. R. Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2015. **Embrapa Uva e Vinho-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2016.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: panorama em 2017. **Embrapa Uva e Vinho-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2018.

MONTIBELLER, Maria Jara. Extração enzimática em cascas de uva: processo sustentável para obtenção de corante antociânico. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

MUHLACK, Richard A.; POTUMARTHI, Ravichandra; JEFFERY, David W. Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. **Waste Management**, v. 72, p. 99-118, 2018.

NASCIMENTO, C.S.; NUNES, L.C.C; LIMA, A.A.N; JÚNIOR, S.G.; NETO, P.J.R. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde vermelha. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 90, n. 4, p. 334-339, 2009

NUNES, Alesandra Ricardo et al. Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 189, p. 119-123, 2018.

NASCIMENTO, L.F.; SANTOS, E.P.; AGUIAR, A.P. Fotoprotetores orgânicos: pesquisa, inovação e a importância da síntese orgânica. **Revista Virtual Química**, v.6, p.190-223,2014.

OLIVEIRA, E.M. **Estudo dos efeitos da radiação ultravioleta-b na organização celular durante o desenvolvimento inicial de nemalio helminthoides (velley in with.) batters (nemaliaes, rhodophyta): aspectos morfológicos e ultraestruturais.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

PAIVA, Ana Paula Maia. **Fenologia, produção e qualidade de uvas para processamento.** 2018. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista Julio Mesquita Filho, Botucatu, 2018.

RIBEIRO, Renata Pietsch et al. Avaliação do fator de proteção solar (FPS) in vitro de produtos comerciais e em fase de desenvolvimento. **Pharm Bras**, v. 16, p. 86-88, 2004.

RIGEL, D.S. Cutaneous ultraviolet exposure and its relationship to the development of skin cancer. **Journal of American Academy of Dermatology**. v. 58, n. 5, s. 2, p. S129-S132. 2008.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

RUSCINC, Nadia. **Fotoprotetores bioativos contendo extrato de mirtilo (Vaccinium myrtillus L.): caracterização físico-química e funcional.** 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. Campanha nacional de prevenção ao câncer de pele. Disponível em: <<http://www.sbd.org.br/campanha/cancer/default.aspx>>. Acesso em: 17 junho 2019.

TANG, Guo-Yi et al. Potential of Grape Wastes as a Natural Source of Bioactive Compounds. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2598, 2018.

TAYLOR, Susan C. et al. Efficacy, Safety, and Tolerability of Topical Dapsone Gel, 7.5% for Treatment of Acne Vulgaris by Fitzpatrick Skin Phototype. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 17, n. 2, p. 160-167, 2018.

TEIXEIRA, MAURÍCIO SOLIGO MAGGESSI. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DE FORMULAÇÃO COSMÉTICA CONTENDO A ASSOCIAÇÃO ENTRE FRAÇÃO EM CLOROFÓRMIO DE *Garcinia cambogia* Desr.(Clusiaceae) E FILTRO SINTÉTICO DE AMPLO ESPECTRO.** 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2016.

TONETTI, C. R.; SUZUKI, R. M.; TONIN, L. T. D. Efeito antioxidante do extrato do resíduo da produção do vinho na estabilidade oxidativa do óleo de soja. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n.2, p. 1-15, 2016.

SCHALKA, S.; ADDOR, F.A.S.; AGELUNE, C.M.; PEREIRA, V.M.C. Proteção oferecida por fotoprotetores contra luz visível - uma proposta de avaliação. **Surgical ; Cosmetic Dermatology**. v. 4, n. 1, p. 45-52, 2012.

SILVA, André L. Araújo et al. A importância do uso de protetores solares na prevenção do fotoenvelhecimento e câncer de pele. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 7, 2015.

SGARBI, F.C.; CARMO, E.D.; ROSA, L.E.B. Radiação Ultravioleta e Carcinogênese. **Revista de Ciências Médicas**. v. 16, n. 4-6, p. 245-250, 2007.

STEFANI, Ricardo et al. **Desenvolvimento e caracterização de micropartículas com extrato da casca de uva (vitis vinífera L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Mato Grosso, Araguaia, 2019.

VENDRAMINI, Pedro de Freitas. Ação da *Brettanomyces claussenii* nas características químicas e sensoriais de vinho de uva Bordô. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista Julio Mesquita Filho, Botucatu, 2019.

WOISKY, Ricardo G.; SALATINO, Antonio; Analysis of própolis: some parameters and producedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**. v.37, p.99-105, 1998.