

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE UMA FORMULAÇÃO COSMÉTICA

STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A COSMETIC FORMULATION

APARECIDA ERICA **BIGHETTI** - Centro Universitário Padre Anchieta (UniAnchieta).

PATRÍCIA GISELA **SAMPAIO** - Centro Universitário Padre Anchieta (UniAnchieta).

CINTIA PRADO DE **GUSMÃO** - Centro Universitário Padre Anchieta (UniAnchieta).

Rua Bom Jesus de Pirapora, 100/140. Jundiaí-SP, CEP 13.207-270. E-mail: erica.ribas@anchieta.br

RESUMO

Antioxidantes são substâncias capazes de diminuir a oxidação induzida pelos radicais livres, minimizando o envelhecimento da pele. Há uma tendência da indústria cosmética em desenvolver formulações com ativos que retardam o envelhecimento cutâneo. O objetivo do trabalho foi a determinação da presença de antioxidantes em um produto cosmético e a averiguação de suas atividades antioxidantes. Para a determinação da presença dos antioxidantes utilizou-se o teste do poder redutor, que se baseia na capacidade do antioxidante de reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} . Para a verificação da atividade antioxidante, utilizou-se o teste de redução do DPPH que, por medidas espectrofotométricas em 517 nm, calculou-se a atividade antioxidante em porcentagem (AA%) no início e após 30 minutos de incubação. Com os valores de AA %, após 30 minutos, calculou-se o IC_{50} para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir 50 % do DPPH. No teste do poder redutor, observou-se a mudança de coloração das soluções de amarela, característico do Fe^{3+} , para a cor verde, do Fe^{2+} . No teste do DPPH observou-se a descoloração da solução de DPPH, detectada em 517 nm e apresentada na forma de AA %. Os valores de IC_{50} foram 0,51 $\mu\text{g/mL}$ para o padrão e 1,02 $\mu\text{g/mL}$ para a amostra. Concluiu-se, pelos testes realizados, a indicação da presença de antioxidantes na amostra e a comprovação de sua atividade antioxidante no produto acabado, sendo que quanto maior a concentração do antioxidante, maior sua atividade antioxidante. Os valores de IC_{50} justificam a utilização do produto na prevenção do envelhecimento cutâneo.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante. Poder redutor. DPPH. IC_{50} .

ABSTRACT

Antioxidants are substances capable of reducing free radical induced oxidation, reducing skin aging. There is a tendency of the cosmetic industry to develop formulations with active slowing skin aging. The objective was to determine the presence of antioxidants in a cosmetic product and the investigation of their antioxidant activity. For the determination of the presence of the antioxidant

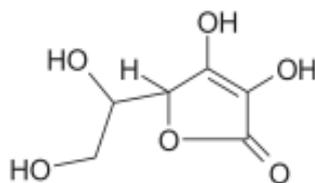
used the test reducing power, which is based on the antioxidant capability of reducing Fe^{3+} to Fe^{2+} . To measure the antioxidant activity, we used the DPPH reduction test, by spectrophotometric measurements at 517 nm, calculated the antioxidant activity in percentage (% AA) at baseline and after 30 minutes of incubation. With the values AA%, after 30 minutes, it was calculated the IC_{50} for obtaining the sample concentration capable of reducing the 50 % DPPH. In the test of reducing power, we observed the change of color from yellow solutions characteristic of Fe^{3+} to green, Fe^{2+} . In the DPPH test there was discoloration of the DPPH solution, detected at 517 nm and presented as % AA. IC_{50} values were 0,51 mg/mL for standard and 1,02 g/mL for the sample. It was concluded by the tests, indicating the presence of antioxidants in the sample and the evidence of its antioxidant activity in the finished product, and the higher the concentration of the antioxidant, the higher its antioxidant activity. IC_{50} values justify the use of the product in the prevention of skin aging.

KEYWORDS: Antioxidant. Reducing power. DPPH. IC_{50} .

INTRODUÇÃO

O desequilíbrio do mecanismo de defesa antioxidante do organismo humano tem sido apontando como o principal responsável pelo processo de envelhecimento. Antioxidantes são substâncias capazes de diminuir ou bloquear as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres. Essa defesa antioxidante é constantemente requerida pela pele, devido sua extensa área e função protetora do organismo ao meio, ficando muito exposta ao ataque radicalizar. Dessa maneira, há estudos permanentes na tentativa de prevenir ou atenuar o envelhecimento cutâneo por meio de substâncias antioxidantes oferecidas em produtos cosméticos aos consumidores (ARBOS, 2018).

Dentre as várias substâncias antioxidantes usadas em produtos cosméticos, pode-se citar o ácido ascórbico (ou vitamina C), que é um antioxidante hidrossolúvel, potente agente redutor e atua em reações de hidroxilação, ou seja, diminuição da concentração de radicais livres hidroxila. Também é capaz de reagir com os radicais peróxidos e regenerar a vitamina E da membrana oxidada, o tocoferoxil em tocoferol, oxidando-se e formando a molécula de diidroascorbato (ARBOS, 2018). A presença de vitamina C, quando possível, pode ser avaliada por titulação iodométrica (BACCAN et al., 2001; COUTO e CANNIATTI-BRAZACA, 2010; GETTENS e FRASSON, 2007), e em casos de matrizes mais complexas, por cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, HPLC) (LANGE, HEBERLÉ e MILÃO, 2009). Na amostra cosmética analisada, a principal substância com atividade antioxidante é a vitamina C, cuja fórmula estrutural é representada na Figura 1.



ácido ascórbico

Figura 1 - Estrutura química da vitamina C (1).

A investigação da capacidade antioxidante das substâncias ativas em matrizes cosméticas pode ser realizada a partir de vários métodos analíticos e entre os ensaios mais citados na literatura pesquisada estão: o de quimioluminescência (ARBOS, 2010; MENDHAM et al., 2002), método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (MENDHAM et al., 2002; NEGRI, POSSAMAI e NAKASHIMA, 2009), o ensaio de redução do β -caroteno (MENDHAM, 2002), o ensaio Folin-Ciocalteu (FCR) (OLIVEIRA e SAWAYA, 2008), o ensaio TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (ARBOS, 2010; MENDHAM et al., 2002; NEGRI, POSSAMAI e NAKASHIMA, 2009), o teste de redução do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (ARBOS, 2010; GETTENS e FRASSON, 2007; MENDHAM et al., 2002; NEGRI, POSSAMAI e NAKASHIMA, 2009; OLIVEIRA e SAWAYA, 2008; OLIVEIRA et al., 2011; RIBEIRO, 2006; ROESLER et al., 2007) e o teste do poder redutor (PR) (LANGE, HEBERLÉ e MILÃO, 2009; OLIVEIRA e SAWAYA, 2008).

O teste de redução do radical DPPH (ARBOS, 2010; GETTENS e FRASSON, 2007; MENDHAM et al., 2002; NEGRI, POSSAMAI e NAKASHIMA, 2009; OLIVEIRA e SAWAYA, 2008; OLIVEIRA et al., 2011; RIBEIRO, 2006; ROESLER et al., 2007) é um dos ensaios mais citados em literatura para avaliar a capacidade antioxidante das substâncias ativas em cosméticos. Baseia-se na capacidade que o radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) tem em sequestrar radicais livres. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H^+ sendo então reduzido. Pode ser facilmente detectado por espectrofotometria devido a sua intensa absorção na região visível. O ensaio é iniciado pela adição do DPPH na amostra em solução. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação, é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Após a medição espectrofotométrica no comprimento de onda de 517 nm, a amostra é mantida ao abrigo de luz e após 30 minutos realiza-se uma nova leitura espectrofotométrica para determinação do valor da concentração inibitória (IC_{50}), que é a concentração necessária do antioxidante para reduzir em 50 % a concentração inicial do radical DPPH, sendo que quanto menor o IC_{50} , maior a atividade antioxidante do material ou em poder antiradical, que é a relação inversa de IC_{50} ($1/IC_{50}$) (RUFINO et al., 2007; SCOTTI et al., 2007).

Uma importante característica da atividade antioxidante de uma substância está altamente relacionada à capacidade de doação de elétrons, podendo então ser reportada a ideia da redução do ferro III a ferro II provocada por estes compostos em incubação (ARBOS, 2010). Algumas substâncias redutoras são agentes de reações de radical livre em cadeia. No teste do poder redutor (PR), os redutores presentes nas amostras testadas reduzem o ferricianeto a ferrocianeto. A redução do ferricianeto pode ser avaliada monitorando-se, espectrofotometricamente, em 700 nm (LANGE, HEBERLÉ e MILÃO, 2009; OLIVEIRA e SAWAYA, 2008) ou, apenas sob o ponto de vista qualitativo, por monitoramento visual devido a nítida alteração de coloração da solução da amostra, de amarelo (ferricianeto) para verde (ferrocianeto).

Nesse contexto, tornou-se crescente a busca e a validação de metodologias para a avaliação da atividade antioxidante em matrizes como as formulações cosméticas. Além disso, nota-se a crescente preocupação das empresas cosméticas em comprovar aos seus consumidores, do ponto de vista

rigorosamente científica, por meio de pesquisas e artigos, a eficácia de seus produtos.

Esse trabalho teve como objetivos a determinação e comprovação da presença de substâncias ativas com capacidade antioxidante em uma amostra de produto cosmético, assim como a averiguação de suas atividades antioxidantes, utilizando-se um método qualitativo a partir do teste do Poder Redutor (PR) e um método quantitativo baseando-se no teste de redução do radical DPPH. Além disso, objetivou-se a utilização do teste de redução do radical DPPH para a averiguação de suas atividades antioxidantes, expressas em IC₅₀.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Amostra de um produto cosmético acabado, comercializado na forma de um fluido hidratante facial contendo Vitamina C (Lote 26.029 F. 08/10 V. 08/13).

Teste do Poder Redutor – análise qualitativa

Pipetou-se 1,00 mL da amostra cosmética e transferiu-se a um tubo de ensaio. Adicionou-se 1,00 mL de solução tampão fosfato pH 6,8 (Lafan Química Fina Ltda) e 1,50 mL de solução aquosa de ferricianeto de potássio 1% (Lafan Química Fina Ltda). Após 30 minutos de incubação a 50 °C em estufa, Sppencer Scientific Modelo SP2415-23, acrescentou-se 1,50 mL de ácido tricloroacético 10% (Lafan Química fina Ltda). Centrifugou-se em 3000 rpm por 10 minutos, utilizando-se centrífuga Quimis Modelo Q-222T208. Em seguida, retirou-se 2,00 mL do sobrenadante e adicionou-se 2,00 mL de água destilada e 0,50 mL de solução de cloreto férrico 0,1% (Lafan Química Fina Ltda).

Fez-se uma solução, que foi chamada de solução controle, contendo todos os reagentes citados na metodologia, mantendo-se todas as quantidades mencionadas e procedimento usado para a solução da amostra, diferindo-se apenas pela ausência da amostra contendo a substância antioxidante.

Avaliou-se o efeito redutor da amostra de cosmético com medidas visuais de mudança de coloração da solução. As alterações visuais foram de soluções amarelas para soluções verdes.

Em seguida, foram realizadas medidas espectrofotométricas, em espectrofotômetro Biospectro Modelo SP-220, relacionando-se valores de absorbância (A) no comprimento de onda de absorção máxima (λ_{\max}) de soluções contendo o ferro já reduzido, ou seja, ferro II. Assim, as soluções foram monitoradas em λ_{\max} de 700 nm. Foram obtidos espectros no UV-Vis de soluções usando os respectivos reagentes como branco.

O procedimento foi realizado em quintuplicata.

Teste de redução do radical DPPH - análise quantitativa

Foi preparada uma solução etanólica de DPPH (2,2-difenil,1-picrihidrazila), Sigma Aldrich, dissolvendo-se 0,0024 g de DPPH em um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com etanol PA (Lafan Química Fina Ltda.). Após a homogeneização, a solução foi transferida para um frasco âmbar, sob o abrigo de luz. Essa solução foi preparada sempre que houve uma nova análise e mantida no escuro até o momento das determinações.

Na tentativa de obtenção de soluções totalmente homogeneizadas e concentradas investigaram-se também procedimentos de solubilização do

fluido hidratante facial em etanol obtendo-se, para um balão volumétrico de 5 mL, como volume máximo 50 µL da amostra capaz de se solubilizar completamente em etanol. Na sequência, novas diluições foram realizadas, sendo retiradas alíquotas de 45 µL, 40 µL, 30 µL, 20 µL e 10 µL completando os balões volumétricos de 5 mL com etanol.

A partir dessas soluções etanólicas da amostra cosmética, pipetou-se 3 mL das mesmas, juntamente com 1 mL da solução de DPPH preparada anteriormente. Essa nova solução, então, foi transferida a uma cubeta de vidro de 1,0 cm de caminho óptico.

Foram obtidos os espectros de absorvância das diferentes soluções no λ_{\max} de 517 nm. A periodicidade das medidas espectrofotométricas foi no tempo inicial e após 30 minutos para realizar o cálculo do IC₅₀. Nos intervalos das medições, as soluções eram mantidas a temperatura ambiente e sob o abrigo de luz. Para a obtenção dos espectros no visível, usaram-se as respectivas diluições como branco, sem adição do DPPH.

Preparou-se uma solução etanólica com o padrão de ácido gálico com pureza $\geq 98\%$ (Neon Comercial Ltda) nas mesmas concentrações de estudo do antioxidante presente nas amostras cosméticas, para efeito de comparação. Em seguida, seguiu-se o mesmo procedimento feito com a amostra, adicionando-se 3 mL da solução de ácido gálico em 1 mL de DPPH e realizaram-se as medidas espectrofotométricas monitoradas no λ_{\max} de 517 nm. Foram obtidos espectros no visível de soluções usando a respectiva solução como branco, sem adição do DPPH.

Para efeito de cálculo, tanto para a amostra quanto para o padrão ácido gálico, foi usado como controle a solução etanólica de DPPH.

A capacidade de sequestrar radical livre será expressa como percentual de redução do radical DPPH, ou seja, em função de sua atividade antioxidante em porcentagem (AA %) e calculado conforme a *Equação 1* a seguir:

$$AA \% = ((A_{DPPH} - A_{amostra}) / A_{DPPH}) \times 100 \quad \text{Equação 1,}$$

onde A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH e $A_{amostra}$ é a absorvância da amostra em solução. A $A_{amostra}$ é calculada com base na diferença de absorvância da solução da amostra em teste com seu branco (obtida automaticamente pelo equipamento).

O cálculo de AA % foi realizado para o tempo inicial e para após 30 minutos de incubação. Com os valores obtidos construiu-se um gráfico de AA % versus concentração em µg/mL, e, em seguida, determinou-se, por meio de uma regressão linear, a equação da reta correspondente aos dados obtidos experimentalmente. Para o cálculo do IC₅₀ utilizou-se a equação da reta, substituindo-se o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH.

Todos os procedimentos foram realizados em triplicatas para as diferentes diluições do produto cosmético e do padrão ácido gálico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste do Poder Redutor – análise qualitativa

O antioxidante presente na amostra cosmética tem a capacidade de

reduzir o ferro III (na forma de ferricianeto) a ferro II (na forma de ferrocianeto). Essa propriedade da substância antioxidante foi investigada como forma de confirmar sua presença no produto analisado.

Em todas as replicatas realizadas notou-se uma mudança da coloração da solução de amarelo para verde, com isso apresenta uma alta clareza na descoberta da presença de antioxidante no produto.

A Figura 2 a seguir mostra os tubos de ensaio com a solução controle e o cosmético utilizados para o teste do poder redutor.

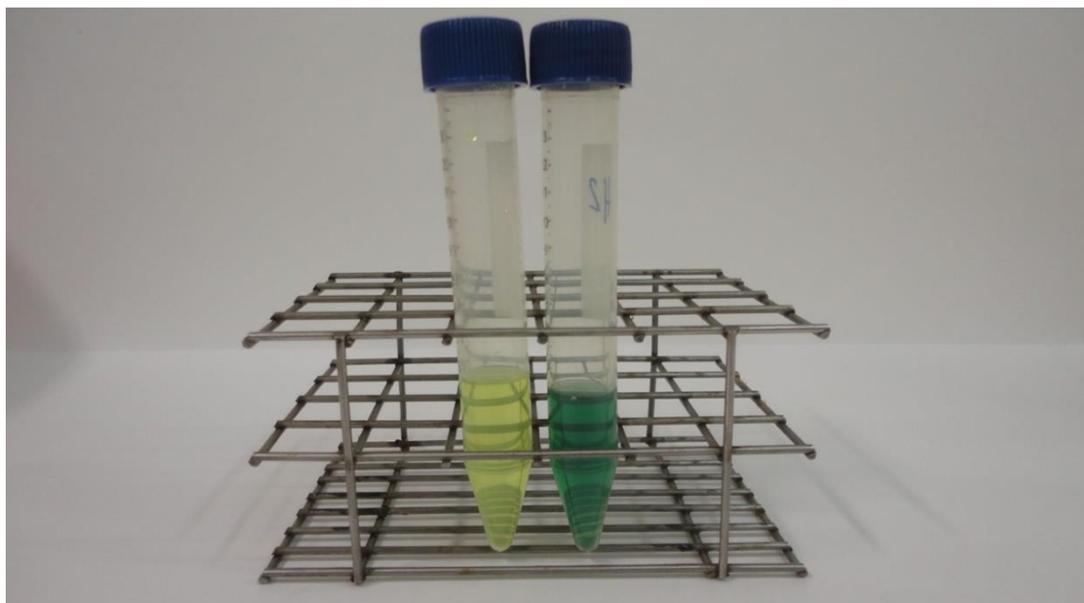


Figura 2 - Foto do teste do poder redutor para o produto cosmético.

O tubo de ensaio contendo a solução amarela (à esquerda) é a solução controle e o tubo de ensaio contendo a solução verde (à direita) é a solução da amostra após a redução do ferro.

O tubo de ensaio à esquerda da estante na Figura 2, mostra a solução controle nitidamente de cor amarela, característica do ferricianeto (ferro III). Como não foi adicionada uma alíquota de antioxidante, a solução se manteve amarelada ao longo do procedimento. Já o tubo à direita na Figura 2 mostra a cor verde intensa característica da redução do ferro, na forma de ferrocianeto (ferro II), comprovando, assim, a presença do antioxidante no produto analisado.

O espectro da Figura 3 representa a absorbância do ferro III em torno de 423 nm. Na sequência, é apresentado na Figura 4 o espectro de uma das replicatas da amostra, mostrando a absorbância em 700 nm, característico da presença de ferro II.

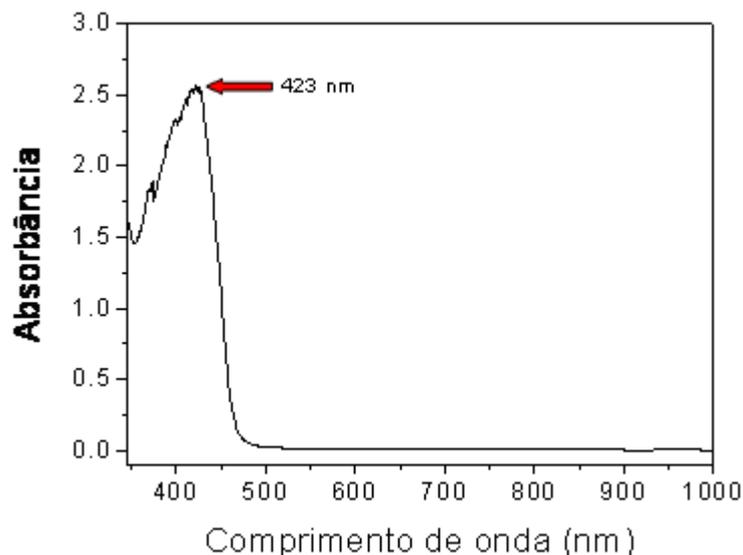


Figura 3 - Espectro da solução controle com absorbância característica do ferro III, de cor amarela, com $\lambda_{\max} = 423$ nm.

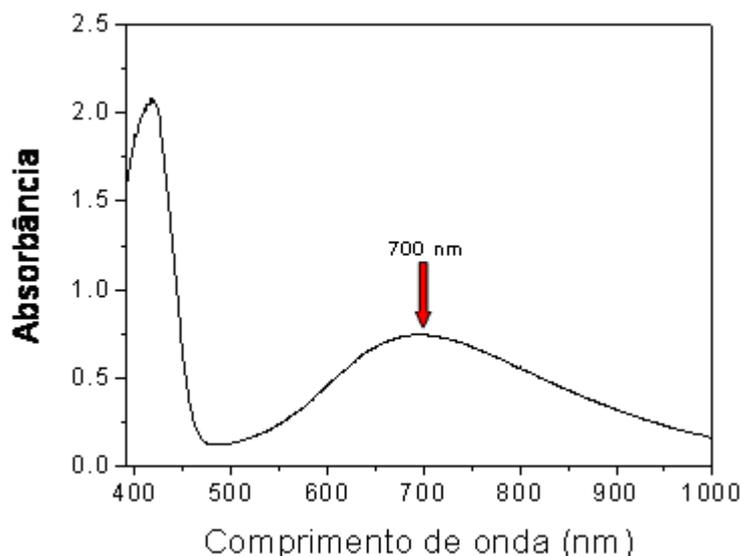


Figura 4 - Espectro da solução da amostra do produto Fluido facial contendo vitamina C com absorbância característica do ferro II, de cor verde, com $\lambda_{\max} = 700$ nm.

A partir das medidas espectrofotométricas do teste do poder redutor da substância antioxidante foi possível comprovar sua presença no produto estudado.

Teste de redução do radical DPPH - análise quantitativa

Para a determinação da atividade antioxidante utilizou-se o teste de redução do radical DPPH ou método do Radical Livre Estável – DPPH, o qual se baseia na redução do radical DPPH, cuja fórmula estrutural encontra-se na Figura 5, em solução etanólica na presença de antioxidante doadores de oxigênio.

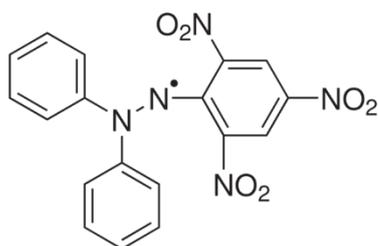


Figura 5 - Fórmula estrutural do radical DPPH (2,2-difenil,1-picrihidrazila). **Fonte:** Sigma (2013).

O mecanismo da reação entre o DPPH e o antioxidante dependerá da conformação estrutural da molécula antioxidante. Sendo assim, o radical DPPH captura hidrogênios mudando gradualmente sua coloração de violeta para amarelo, passando para sua forma estável DPPH-H, conforme reação equacionada na Figura 6, o que pode ser quantificado espectrofotometricamente devido ao pico de absorção máxima em torno de 517 nm (RUFINO et al., 2011).

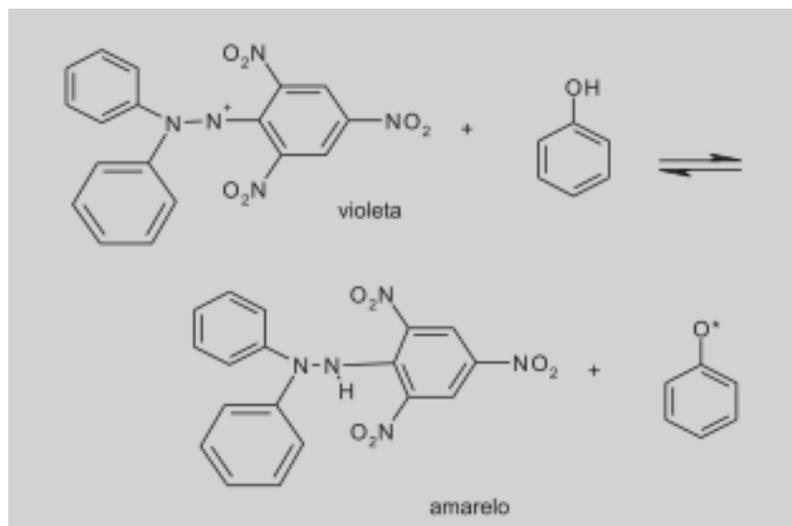


Figura 6 - Equação da reação do DPPH com um agente antioxidante. **Fonte:** Arbos (2010).

A atividade antioxidante foi avaliada a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, para evitar o risco de degradação das moléculas analisadas (TOMEI e SALVADOR, 2007). Além disso, utilizou-se o ácido gálico como padrão de comparação para ambas as amostras, pois possui atividade antioxidante comprovada, e, portanto, é uma substância referência (ARBOS, 2010). Por esta razão, todas as soluções contendo ácido gálico foram preparadas utilizando-se a mesma porcentagem, em volume, de antioxidante em comparação às amostras estudadas.

A quantidade de DPPH consumida pelo padrão ácido gálico e pela vitamina C presente na formulação cosmética é expressa como a porcentagem de atividade antioxidante (AA %) e foi calculada de acordo com a *Equação 1*, apresentada anteriormente.

Os valores obtidos experimentalmente de AA %, no tempo inicial, para o padrão e para a amostra encontram-se nos Quadros 1 e 2, respectivamente.

Quadro 1 - Valores de Atividade Antioxidante (AA %) das soluções de diferentes concentrações contendo o padrão ácido gálico, para comparação com a amostra cosmética.

VOLUME	CONCENTRAÇÃO (%)	AA %* APÓS 30 MINUTOS
50 µL	1,0	98,2 ± 0,1
45 µL	0,9	97,9 ± 0,1
40 µL	0,8	97,9 ± 0,1
30 µL	0,6	97,7 ± 0,1
20 µL	0,4	96,3 ± 0,2
10 µL	0,2	95,7 ± 0,13

* Valores das médias das triplicatas com seus respectivos desvios padrão.

Quadro 2 - Valores de Atividade Antioxidante (AA %) das soluções de diferentes concentrações da amostra cosmética.

VOLUME	CONCENTRAÇÃO (%)	AA %* APÓS 30 MINUTOS
50 µL	1,0	58,5 ± 0,3
45 µL	0,9	56,9 ± 1,4
40 µL	0,8	56,2 ± 0,9
30 µL	0,6	49,1 ± 0,6
20 µL	0,4	48,6 ± 0,3
10 µL	0,2	44,9 ± 3,9

* Valores das médias das triplicatas com seus respectivos desvios padrão.

Em todas as diluições realizadas para as amostras, assim como para o estudo com o padrão, observou-se a descoloração da cor violeta intensa da solução etanólica de DPPH, que na presença de atividade considerável contra radicais livres, promoveu a mudança da cor da solução para amarela. Essa alteração visual foi detectada espectrofotometricamente em 517 nm e apresentada em forma de porcentagem de atividade antioxidante (AA %).

Com os valores obtidos na Tabela 2 é possível verificar que, para todas as concentrações testadas, há atividade antioxidante na formulação cosmética, devido à presença do componente ativo vitamina C.

A partir dos valores obtidos e apresentados nas Tabelas 1 e 2, foi possível a construção de gráficos que demonstrem o comportamento do padrão ácido gálico, representado na Figura 7a, e da amostra cosmética, representada na Figura 7b, em função das diferentes concentrações estudadas, em porcentagens (em volume).

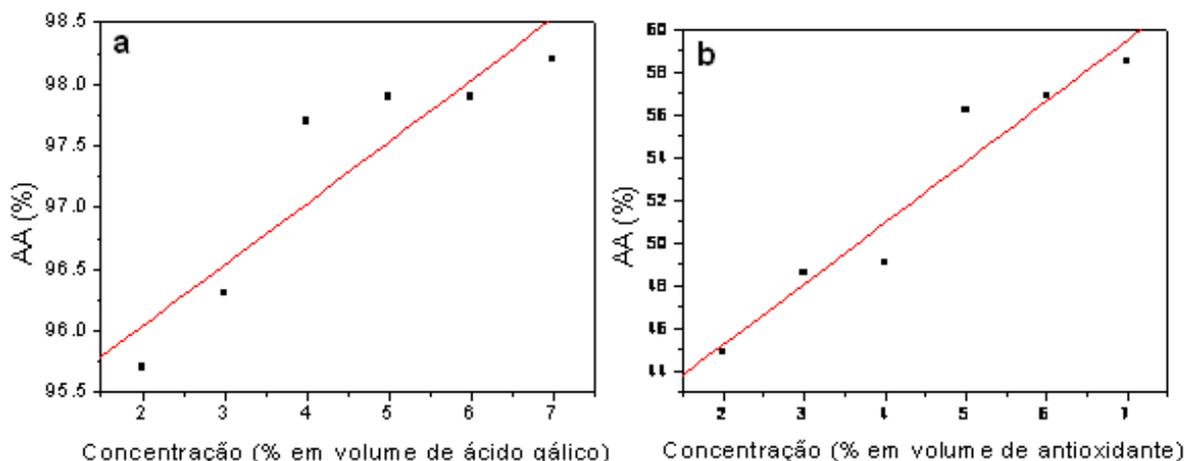


Figura 7 - a) Atividade antioxidante (AA %) do padrão ácido gálico nas diferentes concentrações expressas em % em volume de antioxidante (R = 0,91302); b) Atividade antioxidante (AA %) da amostra cosmética nas diferentes concentrações expressas em % em volume de antioxidante (R = 0,96479).

Para esse ensaio do DPPH, o ácido gálico foi utilizado como parâmetro para a comparação das atividades encontradas nas frações analisadas. Em todas as concentrações testadas, a formulação cosmética apresentou comportamento semelhante ao padrão ácido gálico, como mostra a Figura 7. Dessa forma, tem-se mais um indicativo para comprovar a atividade antioxidante do produto analisado.

Além disso, a partir da Figura 7b pode-se notar que o composto ativo apresenta uma atividade dose-dependente significativa, ou seja, as maiores concentrações apresentam uma maior atividade antioxidante. Essa relação direta em que, quanto maior a quantidade da substância ativa na amostra, maior a atividade antioxidante da mesma, pode ser comprovada matematicamente ao se fazer uma regressão linear e obter o valor do coeficiente de correlação (R), apresentado na Figura 7.

Os valores obtidos experimentalmente de AA % para o padrão e para a amostra, após 30 minutos de incubação, encontram-se nos Quadros 3 e 4, respectivamente.

Quadro 3 - Valores de AA % após 30 minutos para o cálculo de IC₅₀ das soluções de diferentes concentrações contendo o padrão ácido gálico, para comparação com a amostra cosmética.

VOLUME	CONCENTRAÇÃO (%)	AA % APÓS 30 MINUTOS
50 µL	1,0	98,23 ± 0,05
45 µL	0,9	98,11 ± 0,13
40 µL	0,8	97,94 ± 0,13
30 µL	0,6	98,00 ± 0,17
20 µL	0,4	96,46 ± 0,35
10 µL	0,2	96,43 ± 0,23

*Valores das médias das triplicatas com seus respectivos desvios padrão.

Quadro 4 - Valores de AA % após 30 minutos para o cálculo de IC₅₀ das soluções de diferentes concentrações da amostra cosmética.

VOLUME	CONCENTRAÇÃO (%)	AA % APÓS 30 MINUTOS
50 µL	1,0	47,66 ± 2,65
45 µL	0,9	46,86 ± 1,63
40 µL	0,8	46,02 ± 2,67
30 µL	0,6	45,42 ± 1,12
20 µL	0,4	43,85 ± 4,51
10 µL	0,2	34,31 ± 0,42

*Valores das médias das triplicatas com seus respectivos desvios padrão.

A partir dos valores obtidos e apresentados nas Tabelas 3 e 4, foi possível a construção de gráficos que demonstrem o comportamento do padrão ácido gálico e da amostra cosmética, representadas, respectivamente, nas Figuras 8a e 8b, em função das diferentes concentrações estudadas, em porcentagens (em volume).

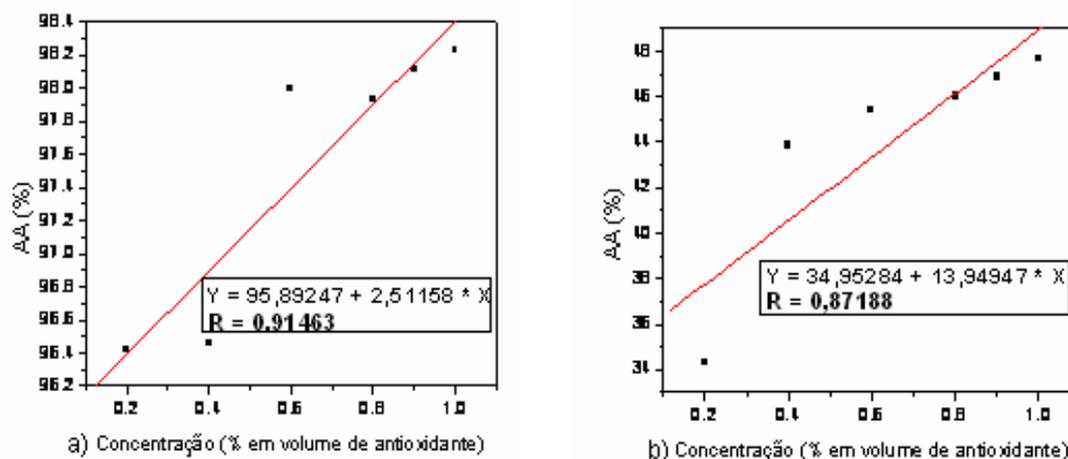


Figura 8 - a) Atividade antioxidante (AA %) do padrão ácido gálico nas diferentes concentrações expressas em % em volume de antioxidante; b) Atividade antioxidante (AA %) da amostra cosmética nas diferentes concentrações expressas em % em volume de antioxidante.

Na medida de IC₅₀, que expressa a concentração de antioxidante necessária para reduzir em 50 % a concentração inicial de DPPH, os valores foram obtidos a partir das equações da reta mostradas na Figura 8, substituindo o Y por 50. Assim, as concentrações foram 0,51 µg/mL para o ácido gálico e 1,02 µg/mL para a amostra cosmética contendo vitamina C. Ou seja, serão necessárias essas concentrações de antioxidante para a redução de 50 % do radical DPPH.

Sabendo-se que quanto menor o valor de IC₅₀, maior a atividade antioxidante. Vale ressaltar que o ácido gálico foi usado como padrão e seu

valor de IC₅₀ foi inferior ao valor encontrado no produto cosmético. Possivelmente, isso pode ser justificado em virtude do ácido gálico ser um padrão purificado e a amostra analisada ser produto acabado.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o estudo do poder redutor das substâncias antioxidantes dos produtos cosméticos indicou, qualitativamente, suas presenças ao se verificar visualmente a mudança de coloração das soluções de amarela, característico do ferro III (ferricianeto), para a cor verde, característico do ferro II (ferrocianeto).

O teste de redução do radical DPPH do produto fluído hidratante facial comprovaram, quantitativamente, a partir das porcentagens de atividade antioxidante (AA %) em diferentes concentrações, a eficiente atividade antioxidante da substância ativa no produto acabado, em comparação ao padrão utilizado ácido gálico. Além disso, o ensaio mostrou que quanto maior a concentração do antioxidante nas amostras, maior será sua atividade antioxidante, ou seja, maior foi o consumo do radical DPPH.

A amostra cosmética apresentou o valor de IC₅₀ igual a 1,02 µg/mL e o padrão de 0,51 µg/mL. Esses resultados encontrados, a partir dos valores de IC₅₀, baseados no teste de redução do radical DPPH, comprovaram uma efetiva atividade antioxidante dos ativos presentes no fluído hidratante. Dessa forma, justifica-se a utilização dessa formulação cosmética na prevenção do envelhecimento cutâneo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à empresa fabricante das amostras cosméticas por disponibilizar os produtos para serem analisados, ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica fornecida à aluna da instituição UniAnchieta e ao Programa Interno de Iniciação Científica do UniAnchieta.

REFERÊNCIAS

ARBOS, K. A. et al. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 2010; 30(2): 501-506.

BACCAN, N. et al. **Química Analítica Quantitativa Complementar**, 3. ed. São Paulo: Edgard Blucher LTDA; 2001.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 2010; 30(Supl.1): 15-19.

GETTENS, L.; FRASSON, A. P. Z. Estudo comparative da atividade antioxidante de crème aniônico e não-iônico contendo extrato seco e extrato glicólico de Ginkgo Biloba. **Revista Contexto & Saúde.** 2007; 6(12): 41-47. DOI 10.21527/2176-7114.2007.12.41-47.

LANGE, M.K.; HEBERLÉ, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Braz. J. Pharm. Sci.** 2009; 45(1): 145-151. DOI 10.1590/S1984-82502009000100018.

MENDHAM, J. et al. **Vogel – Análise Química Quantitativa**, 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa -*Maytenus ilicifolia* Mart. exReiss., secas em diferentes temperaturas. **Rev. Bras. Farmacogn.** 2009; 19(2B): 553-556. DOI 11590/S0102-695X2009000400007.

OLIVEIRA E. A.; SAWAYA, A. C. H. F. **Atividade Antioxidante da pitanga**. I Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica UNIBAN. 2008. UNIBAN Brasil.

OLIVEIRA, D. S. et al. Vitamina C, carotenóides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Sci. Health Sci.** 2011; 33(1): 89-98. DOI 10.4025/actascihealthsci.v33i1.8052.

RIBEIRO, S. M. R. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no Estado de Minas Gerais**. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2006.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 2007; 27(1): 53-60.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Comunicado Técnico online – EMBRAPA. 2007; Fortaleza. Disponível em: www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Ct_127.pdf. Acesso em: 30 maio 2011.

SCOTTI L. et al. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.** 2007; 43(2): 153-166. DOI 10.1590/S1516-93322007000200002.

SIGMA-ALDRICH. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/d9132?lang=pt®ion=B>
Acesso em: 29 jun. 2013.

TOMEI, R. R.; SALVADOR, M. J. **Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais**. XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. 2007. Universidade do Vale do Paraíba.