



Atividade Antioxidante do Extrato Seco de Cacau Orgânico (*Theobroma cacao*) - Estudo de Estabilidade e Teste de Aceitação de Cremes Acrescidos Deste Extrato

Silas Arandas Monteiro e Silva¹; Michele Fernanda Costa Valarini²; Marlus Chorilli³; Anna Venturini⁴; Gislaine Ricci Leonardi^{1,4,*}

¹ Departamento de Medicina, Programa de Pós-graduação em Medicina Translacional, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo – SP, Brasil.

² Faculdade de Farmácia, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba – SP, Brasil.

³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araraquara – SP, Brasil.

⁴ Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas – Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, Diadema - SP, Brasil.

RESUMO

Os frutos de cacau (*Theobroma cacao*) são conhecidos mundialmente pela sua riqueza em ácidos graxos e compostos fenólicos com poder antioxidante, sendo que em sua constituição é possível relatar mais de 50% em ácidos graxos de cadeia média que o torna matéria-prima passível de ser explorada pela indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Este trabalho teve como objetivo estudar o poder antioxidante do extrato seco de cacau orgânico, obter formulações cosméticas acrescidas deste extrato, promovendo os estudos de estabilidade, ensaios reológicos e a investigação de cristais-líquidos, bem como realizar o teste de aceitação das mesmas. O extrato vegetal foi avaliado quanto seu poder antioxidante pelo método de sequestro radicalar DPPH. Formulações cosméticas foram obtidas e amostras foram submetidas a ensaios físico-químicos de estabilidade (caracterização organoléptica, teste de centrífuga e determinação dos valores de pH), caracterização reológica, assim como análises em microscopia de luz polarizada. As preparações estáveis também foram avaliadas quanto a sua aceitabilidade por provadores. A partir dos resultados apresentados pôde-se constatar a atividade antioxidante do extrato seco de cacau orgânico e obter preparações cosméticas, constituídas deste ativo a 5%, com comportamento pseudoplástico associado à tixotropia e providas de cristais líquidos lamelares. Verificou-se também que a concentração de cera autoemulsionante interferiu na aceitação do produto cosmético.

Palavras-chave: Cosméticos. Teste de Aceitação. Cristais Líquidos. Cacau. Reologia.

INTRODUÇÃO

Reconhece-se o crescente interesse da busca por cosméticos delineados a partir de ingredientes providos de recursos naturais sustentáveis que possam substituir substâncias sintéticas. Atualmente, esta condição retrata a grande tendência de diversos tipos de produtos cosméticos serem acrescidos de substâncias naturais com efeito antioxidante (Iha et al., 2008).

O cacau - *Theobroma cacao* L.- é uma planta arbórea de pequeno porte, originária da América tropical. Seu cultivo é feito no sudeste asiático, África (Costa do Marfim, Nigéria, Camarões) e América do Sul (Brasil e Equador). Quanto à composição química, o cacau é constituído de triglicerídeos e ácidos graxos, compostos polifenólicos, taninos condensados e bases púricas representadas particularmente pela teobromina, cafeína, adenina e guanina. A constatação da presença de antioxidantes polifenólicos em sua constituição tem causado interesse crescente na utilização deste produto em preparações cosméticas (Simões, 2007; Costa, 2002).

O Extrato alcoólico de cacau, devidamente caracterizado com a presença de xantinas e polifenóis, aplicado em ratos submetidos à exposição ao ultravioleta (UV) pelo período de 15 semanas, demonstrou efeito benéfico em relação ao fotoenvelhecimento, constatado por análises histológicas (Mitani et al., 2007)

Estudo comparativo envolvendo 24 voluntários avaliou o efeito antienvelhecimento entre o consumo oral de derivados de xantinas isolados e do consumo da preparação aquosa do pó de cacau, revelando superioridade deste último em relação aos efeitos antienvelhecimento. Este efeito pode ser atribuído à combinação de ação dos compostos fenólicos e xantínicos do cacau que possuem ação antioxidante e promovem a supressão de eritema induzido pela radiação UV, reduzindo a rugosidade da pele (Heinrich et al., 2006).

Atualmente, com o impacto da crise ambiental, as pessoas estão se conscientizando e preferindo o consumo de produtos que minimizem os danos possíveis de serem

causados ao meio ambiente e à saúde, adequando-se à tendência de sustentabilidade (Lyrio et al., 2011; Balandrin, 1985; Isaac et al., 2008). Na condição deste cenário, os cosméticos produzidos a partir de ingredientes naturais ou orgânicos vêm ganhando cada vez mais espaço no mercado nacional e internacional. Além disso, mesmo que presentes em baixas concentrações, estas matérias-primas tornam o produto cosmético final mais atrativo devido ao apelo mercadológico que preza a mensagem subliminar de associação da busca pelo produto natural ou orgânico para obtenção do equilíbrio biológico (Ferro et al., 2006; Balandrin, 1985).

Quando consideramos o desafio de desenvolvimento de um novo produto cosmético, inúmeros ensaios são realizados para garantir a obtenção de produto com qualidade, segurança e eficácia. Neste sentido, o Guia de Estudo de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2008) recomenda a realização de ensaios físico-químicos e reológicos de preparações cosméticas.

Além do Guia de Estudo de Estabilidade de Produtos Cosméticos, diversos outros trabalhos na literatura científica reportam também alguns ensaios de estabilidade (Leonardi et al., 2002; Corrêa et al., 2005; Ferrari et al., 2007). Isaac e colaboradores (2008) apresentam em um estudo detalhado, um protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos, ou seja, produtos cosméticos produzidos com ativo(s) vegetal(ais) que exercem a ação cosmética almejada.

Além dos ensaios físico-químicos de estabilidade bastante preconizados, observamos que testes envolvendo aspectos sensoriais também representam ensaios importantes de serem considerados e executados visando avaliar a aceitabilidade do produto diante dos potenciais consumidores (Pedrosa et al., 2003; Faria & Yotsuyanagi, 2002).

Assim, este trabalho visou promover a avaliação da atividade antioxidante do cacau orgânico, desenvolver preparações cosméticas constituídas deste ativo, caracterizar sua estabilidade, bem como a presença de anisotropia e efetuar a avaliação de aceitação das preparações estáveis obtidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes e Matérias Primas

Ensaio de Pré-Formulação: Avaliação da Atividade Antioxidante do Extrato Seco de Cacau Orgânico pelo Método de Sequestro do Radical DPPH

Este ensaio foi realizado pela adição de 500 µL da solução alcoólica recém-extraída do cacau (100µg/mL) com 3,0 mL de etanol 99% (v/v) e 300 µL do radical DPPH em solução de etanol 0,5mM. A mistura foi incubada por 45 minutos, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Transcorrido o tempo de reação, a mistura foi lida colorimetricamente no comprimento de onda (λ) igual a 517nm determinando-se a (AA). Como padrão comparativo foi empregado um antioxidante trivialmente utilizado em preparações cosméticas e farmacêuticas, o Butilhidroxitolueno (BHT) (Isaac et al., 2008; Rufino et al., 2007).

Matérias-Primas e Obtenção das Preparações Cosméticas

Para a obtenção das preparações cosméticas foram empregados como matérias-primas: extrato seco de cacau orgânico (Via Farma, São Paulo/SP, Brasil); Propilenoglicol (Galena, Campinas/SP, Brasil); Óleo de Castanha de *Macadamia ternifolia* (MAPRIC, São Paulo/SP, Brasil); Cera autoemulsionante constituída de álcool cetosteárilico e ésteres de sorbitano etoxilado (Polawax®) (MAPRIC, São Paulo/SP, Brasil); Copolímero acrilóildimetil-taurato amônio (Aristoflex® AVC) (Galena, São Paulo/SP, Brasil); Butilhidroxitolueno (BHT)(MAPRIC, São Paulo); Fenoxietanol/Parabenos (Phenonip®) (Galena, Campinas/SP, Brasil) e água destilada. As quatro preparações cosméticas desenvolvidas estão apresentadas na Tabela 1.

Amostras (n=3) das formulações obtidas foram acondicionadas em: Temperatura ambiente (25±2°C); estufa (37±2°C) e geladeira (5±2°C). Todas foram analisadas quanto aos perfis de estabilidade, comportamento reológico e presença de cristais-líquidos. Somente as preparações estáveis foram submetidas aos testes de aceitação.

Tabela 1 – Fórmulas cosméticas desenvolvidas contendo Cacau Orgânico.

Componentes (INCI Nomenclature)	Quantidade (% p/p)			
	F1	F2	F3	F4
Extrato de <i>Theobroma cacao</i> (Cocoa)	5,00	5,00	5,00	5,00
Álcool cetosteárilico e ésteres de sorbitano etoxilado (Polawax®)	9,00	10,00	11,00	12,00
Propilenoglicol	5,00	5,00	5,00	5,00
Fenoxietanol and Parabenos (Phenonip®)	0,50	0,50	0,50	0,50
Butilhidroxitolueno - BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Óleo de Castanha de <i>Macadamia ternifolia</i>	3,00	3,00	3,00	3,00
Copolímero acrilóildimetil-taurato de amônio (Aristoflex® AVC)	0,45	0,45	0,45	0,45
Água Destilada q.s.p	100,00	100,00	100,00	100,00

Ensaio de Estabilidade

Caracterização Organoléptica

Quanto ao aspecto visual, cor e odor as preparações foram classificadas segundo os seguintes critérios:

- **Normal, sem alteração visível:** aspecto homogêneo, com a superfície lisa e sem grumos aparentes; com brilho intenso, coloração marrom, e odor característico;
- **Modificada:** aspecto heterogêneo, presença de grumos, nítida separação de fases; opacidade, com ausência de brilho, coloração e odor com variação em relação ao tempo inicial de análise (Spellmeier & Heberlé, 2007).

Os tempos considerados para a análise de caracterização organoléptica e para os demais parâmetros de estabilidade foram: tempo zero (T0), após vinte e quatro horas (T24h), sete dias (T7), quinze dias (T15), trinta dias (T30), quarenta e cinco dias (T45), sessenta dias (T60) e noventa dias (T90) após o preparo das formulações (ANVISA, 2008).

Teste de Centrífuga

Cinco gramas das formulações foram submetidas à centrifugação a 3000 rpm, em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 30 minutos, utilizando centrífuga Excelsa® II – mod. 206 BL (FANEM) (Isaac et al., 2008; ANVISA, 2008).

Determinação do valor de pH por Potenciometria

Os valores médios de pH (n=3) foram obtidos por potenciometria direta. Assim, as emulsões foram analisadas quanto ao valor pH utilizando o equipamento peagômetro digital PG 2000 (GEHAKA). Para a análise, uma amostra referente a dois gramas da formulação foi diluída em oito gramas de água recém-destilada (ANVISA, 2008).

Estudo Reológico

O comportamento reológico das amostras foi determinado com auxílio de um reômetro tipo Cone & Placa (DVII + VISCOMETER – Brookfield), acoplado ao spindle C52, operando o *software* Wingather V2.5. As análises reológicas foram executadas em triplicatas e em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (Zanatta et al., 2010; Prestes et al., 2009).

Investigação de cristais-líquidos

Amostras das preparações foram dispostas em lâminas de vidro, cobertas com lamínulas e analisadas em microscopia de luz polarizada (microscópio de luz polarizada – type 102 – Motic). Este ensaio foi realizado nos tempos de análises T0, T24horas, T7, T15, T30, T45, T60 e T90 dias para as preparações que se mantiveram estáveis (Zanatta et al., 2010; Prestes et al., 2010).

Aceitação e Preferência das Formulações Cosméticas

Os testes sensoriais afetivos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Metodista de Piracicaba-UNIMEP sob o protocolo: 24/10. As preparações cosméticas foram testadas por 80 consumidores regulares de produtos cosméticos de ambos os sexos, com faixa etária entre 18 - 57 anos, selecionados por meio de questionário, com o objetivo de obter informações a respeito da frequência de uso de produtos cosméticos, disponibilidade de tempo e do interesse em participar do teste. Os consumidores foram recrutados entre estudantes e funcionários da Universidade Metodista de Piracicaba-UNIMEP sem experiência prévia em avaliação sensorial. Para a avaliação do teste de aceitação, foi produzido lote único das formulações avaliadas. Foi viabilizado sistematicamente um período único para realização dos ensaios, visando reduzir variações passíveis de serem constatadas nos produtos por variação de lote de produção.

Os consumidores aplicaram uma quantidade pré-determinada (200mg) de cada formulação no antebraço, realizando o número de fricções necessárias para promover a absorção do produto. Durante a aplicação, os consumidores avaliaram a espalhabilidade, aparência e perfume das formulações, e cinco minutos após a aplicação avaliaram a sensação global, utilizando uma escala hedônica de cinco pontos (1=detestei; 2=não gostei; 3=indiferente; 4=gostei

e 5=adorei). Finalizado o teste hedônico, os consumidores receberam uma segunda ficha, na qual foram solicitados a ordenar as quatro amostras de forma decrescente de preferência (teste ordenação-preferência) (Meilgaard et al., 1999).

As amostras foram codificadas com algarismos de três dígitos apresentadas aos consumidores em delineamento de blocos completos balanceados de forma monádica e aleatória. Os resultados do teste hedônico foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste HSD Tukey com intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0.05$) utilizando-se o software Statistica 5.1TM (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os dados de ordenação-preferência foram avaliados pelo Teste de Friedman, usando-se a tabela de Newell e Mac Farlane que define o valor das diferenças críticas entre os totais de ordenação ao nível de 5% (Newell & Mac Farlane, 1987). Os testes sensoriais foram realizados de acordo com as metodologias propostas por Meilgaard et al., 1999.

RESULTADOS

No ensaio DPPH o extrato seco de cacau demonstrou capacidade em sequestrar aproximadamente 77,00% dos radicais livres quando empregado na concentração de 100µg/mL. Para critério de comparação, o cacau demonstrou Atividade Antioxidante (AA) superior ao BHT (AA = 70,03%), reforçando evidências da viabilidade de sua aplicação em preparações de uso tópico (Figura 1).

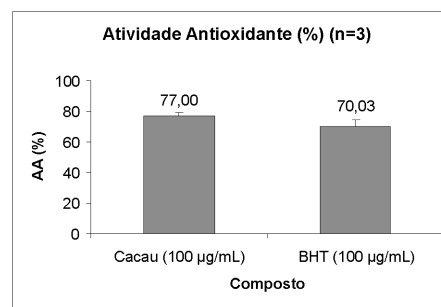


Figura 1 - Atividade Antioxidante (AA) comparativo de soluções de cacau orgânico e butilhidroxitolueno (BHT), pelo método DPPH.

Com exceção da F1 contendo 9,0% de cera autoemulsionante, as demais formulações desenvolvidas mantiveram-se estáveis frente ao ensaio de estabilidade.

As formulações F2, F3 e F4 se caracterizaram organolepticamente com aspecto normal e odor característico até T90 para as amostras expostas em diferentes condições de armazenamento. Os valores médios de pH (n=3), obtidos por potenciometria direta, não demonstraram oscilações expressivas ao longo do tempo, mantendo-se na faixa de 6,08 – 7,40.

A média dos valores do índice de fluxo (n=3) ao longo do tempo e para as diferentes temperaturas de armazenamento expressam valores menores que um ($\eta < 1$) (Figura 2).

Os reogramas apresentados na Figura 3 identificam comportamento reológico de caráter tixotrópico.

Foi possível identificar nas figuras 4, 5 e 6 a presença de cristais líquidos de organização lamelar em todos os tempos de análises, nas diferentes temperaturas consideradas.

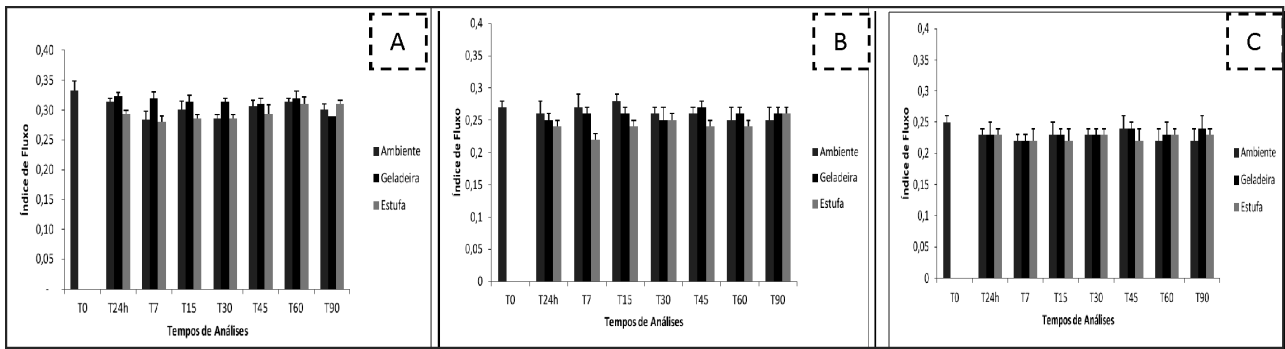


Figura 2 – Valores médios e desvio padrão do parâmetro reológico índice de fluxo, sendo: A) Formulação 2 (F2); B) Formulação 3 (F3); C) Formulação 4 (F4)

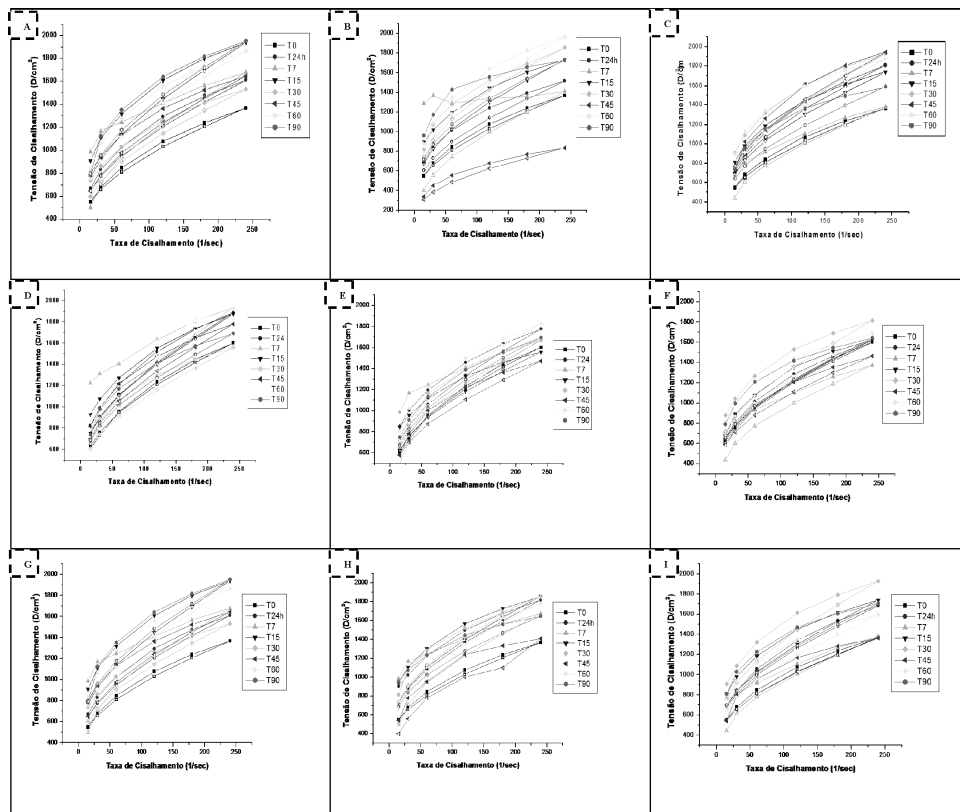


Figura 3. Reogramas das formulações indicando comportamento tixotrópico, sendo: A) F2 – Temperatura Ambiente; B) F2 – Estufa; C) F2 – Geladeira; D) F3 – Temperatura Ambiente; E) F3 – Estufa; F) F3 – Geladeira; G) F4 – Temperatura Ambiente; H) F4 – Estufa; I) F4 – Geladeira. Símbolos preenchidos indicam as curvas ascendentes das amostras.

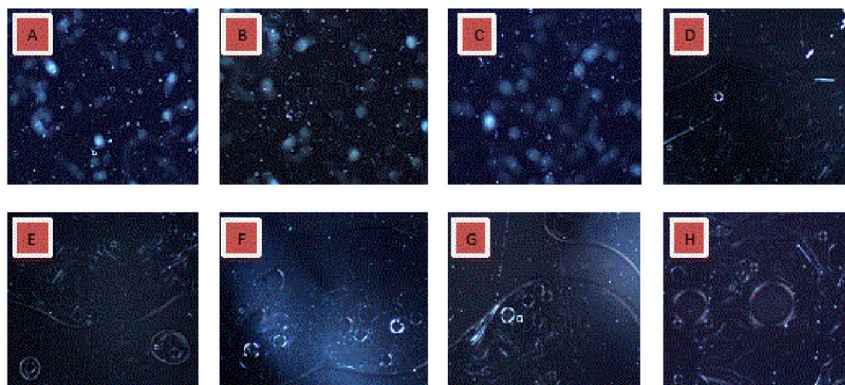


Figura 4 - Fotomicrografias da preparação cosmética F2, demonstrando Cristais-Líquidos com estrutura lamelar em todos os tempos de análises, sendo: A) T0; B) T24h; C) T7; D) T15; E) T30; F) T45; G) T60; e H) T90 (Aumento 400x)

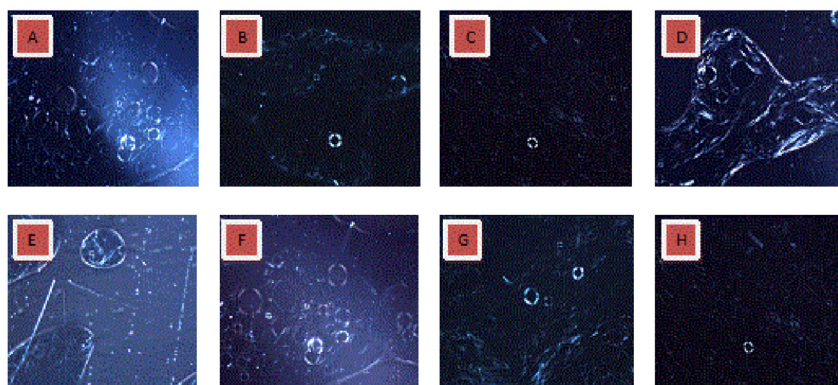


Figura 5 - Fotomicrografias da preparação cosmética F3, demonstrando Cristais-Líquidos com estrutura lamelar em todos os tempos de análises, sendo: A) T0; B) T24h; C) T7; D) T15; E) T30; F) T45; G) T60; e H) T90 (Aumento 400x)

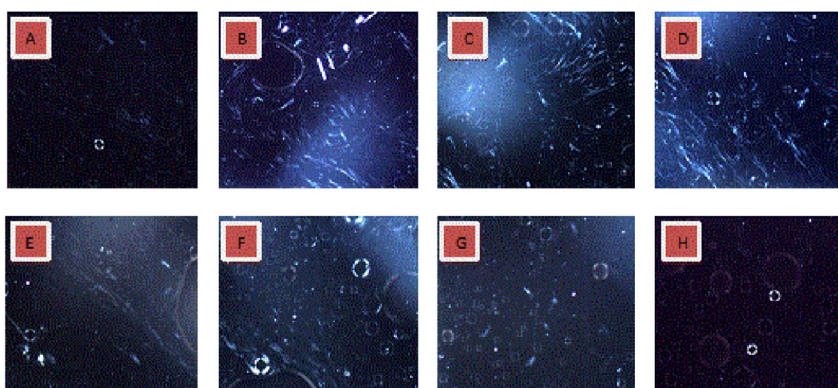


Figura 6 - Fotomicrografias da preparação cosmética F4, demonstrando Cristais-Líquidos com estrutura lamelar em todos os tempos de análises, sendo: A) T0; B) T24h; C) T7; D) T15; E) T30; F) T45; G) T60; e H) T90 (Aumento 400x)

Na Tabela 2, observa-se que F2, F3 e F4 apresentaram valores hedônicos entre ‘gostei’ e ‘adorei’ para espalhabilidade e ‘gostei’ para aparência, perfume e sensação global após cinco minutos da aplicação.

Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão referente ao teste de aceitação (n=80).

Formulações	Espalhabilidade	Aspecto Visual	Odor	Sensação 5 minutos após aplicação
F2	4,07 ± 0,67	A 3,86 ± 0,81	A 3,69 ± 1,04	A 3,94 ± 0,80
F3	3,95 ± 0,94	A 3,76 ± 0,85	A 3,70 ± 0,95	A 3,75 ± 0,89
F4	4,18 ± 0,76	A 4,03 ± 0,81	A 3,92 ± 0,94	A 3,92 ± 0,78

Letras diferentes entre as colunas indicam médias estatisticamente diferentes ($P < 0,05$).

As médias de aceitação de cada atributo de qualidade, para cada formulação, foram colocadas num gráfico de radar para melhor visualização (Figura 7).

No teste de ordenação-preferência, foram obtidos os seguintes totais de ordenação (as letras referem-se ao teste estatístico a 5% de significância): F2 (183a), F3 (157ab), F4 (140b). Observa-se que as formulações F3 e F4 que continham 11% e 12% de cera autoemulsionante

respectivamente, apresentaram preferência semelhante e foram as mais selecionadas pelos consumidores. A formulação F4 que continha a maior concentração de cera autoemulsionante diferiu estatisticamente da formulação F2 ($P < 0,05$) que continha menor concentração (10%), indicando que o teor de cera autoemulsionante na formulação teve impacto sobre a aceitação do produto como sugerido por Lukic et al., 2012.

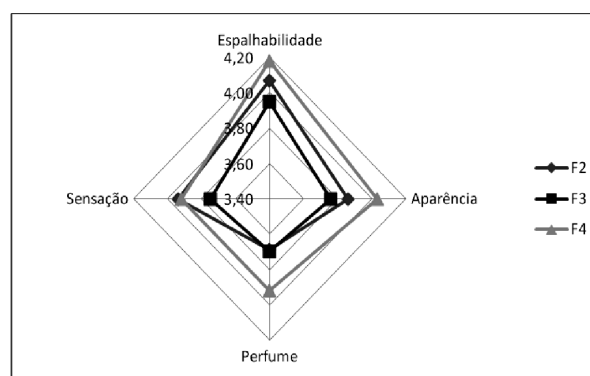


Figura 7 – Valores hedônicos médios dos atributos analisados atribuídos às diferentes formulações contendo 5% de cacau orgânico (1=detestei; 2=não gostei; 3=indiferente; 4=gostei e 5=adorei).

DISCUSSÃO

Um produto orgânico, desde o cultivo de matérias-primas, até o final do processo produtivo, garante a utilização de recursos de maneira sustentável com consciência e respeito social, econômico e ambiental. A diferença conceitual entre cosméticos orgânicos e naturais está fundamentada na concentração de matérias-primas empregadas na formulação cosmética devidamente certificada como orgânica por agências responsáveis em nível nacional, tal como o Instituto de Biodinâmica (IBD) e Ecocert (Higuchi & Dias, 2012).

Lyrio (2011) e Bispo (2008) apresentaram uma perspectiva de concepção de cosmético orgânico definida pelo IBD para certificação. Segundo esta concepção um cosmético orgânico é aquele constituído de 95% de matérias-primas certificadas como orgânicas, desconsiderando a água e o sal. Para esta mesma agência certificadora um cosmético natural é aquele que apresenta 95% de suas matérias-primas naturais, necessitando apenas que o 5% restante da formulação seja composta por matéria-prima certificada como orgânica.

Quando se trata do desenvolvimento de produtos cosméticos devemos considerar as barreiras físicas e químicas inerentes à pele que devem ser ultrapassadas para garantir a eficácia do produto. Além disso, é importante que se tenha posse de dados sobre as características físico-químicas e propriedades biofarmacêuticas das substâncias ou compostos ativos empregados na preparação cosmética (Ansel et al., 1999).

Wollgast & Anklam (2000) detalham a riqueza da constituição química do cacau. Suas sementes, parte da espécie vegetal da qual se obtém o extrato seco, apresentam quantidades expressivas de compostos polifenólicos, além dos compostos xantínicos amplamente reconhecidos, como a cafeína e teobromina. Os compostos fenólicos envolvem substâncias químicas pertencentes aos amplos grupos compreendidos como flavonoides, benzoquininas, ácidos fenólicos, cumarinas, xantonas, fenóis simples. Estes compostos apresentam inúmeras atividades biológicas amplamente comprovadas, destacando-se, a ação anti-inflamatória, imunomoduladora, antimicrobiana e antioxidante. Esta última ação faz com que a aplicação cosmética deste ativo vegetal seja explorada no ramo cosmético com elaboração de produtos destinados ao combate do envelhecimento cutâneo, acelerado pelo desequilíbrio do sistema redox cutâneo (Farion, 2008; Hirata et al., 2004).

Considerando o ensaio de pré-formulação, o método referente ao sequestro radicalar do DPPH se caracteriza por ser o mais popular para análise de antioxidantes, preponderantemente por ser um teste rápido e de alta sensibilidade (Moon & Shibamoto, 2009). Diante deste ensaio preliminar de avaliação da atividade antioxidante do extrato seco cacau orgânico, foi possível constatar através da Figura 1, que o mesmo demonstrou poder antioxidante mediante sua capacidade em sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilidrazil. Ainda foi possível reconhecer que os compostos fenólicos e outros compostos antioxidantes que configuram na constituição do cacau garantiram a atividade antioxidante levemente superior ao BHT, que representa

um dos compostos antioxidantes sintéticos amplamente explorados no ramo farmacêutico.

Emulsões representam veículos cosméticos amplamente empregados, pois permitem a incorporação de uma grande diversidade de ativos, tanto hidrossolúveis como lipossolúveis, além de apresentarem de maneira geral, uma boa aceitação quando suas características sensoriais são consideradas durante o delineamento da formulação (Otto et al., 2009).

Instabilidade física foi observada para preparação F1 constituída de 9,00 % da cera autoemulsionante. O acréscimo de agentes doadores de viscosidade para fase interna, sobretudo algumas classes de agentes poliméricos, podem resultar em um sistema fisicamente estável, embora se reconheça a maior probabilidade de se constatar efeitos sensoriais indesejáveis, tal como a formação de *rollings* pós-aplicação do produto. Além disso, é importante salientar, tal como nos reporta Ribeiro et al. (2004), que quando em uma preparação há um polímero hidrossolúvel juntamente com compostos surfactantes, estes podem interagir entre si e também com compostos ativos, alterando as características reológicas e sensoriais.

A partir dos parâmetros reológicos das formulações do objeto de estudo, foi possível verificar o comportamento de fluxo e a viscosidade das preparações diante de condições de estresse, ao longo de um determinado período de tempo. Reologicamente, valores médios do índice de fluxo menores que um ($n < 1$) expressam formulações com um comportamento reológico pseudoplástico. O comportamento pseudoplástico é considerado adequado às formulações de uso tópico, pois após o cisalhamento (aplicação de uma força de espalhabilidade), a resistência inicial existente para o cosmético fluir, diminui refletindo em maior facilidade de aplicação e melhor espalhabilidade, e com a redução da intensidade desta força de cisalhamento, a resistência ao fluxo volta a crescer progressivamente (Moraes et al., 2006). O comportamento pseudoplástico apresentado pelas formulações propostas caracteriza positivamente o sistema, uma vez que a atividade antioxidante dos compostos polifenólicos do cacau pode ser otimizada com a espalhabilidade da formulação sobre a pele, de tal maneira a formar uma camada sobre o estrato córneo. Assim como também reporta Di Mambo & Fonseca (2005), em seu estudo com formulações tópicas constituídas de diversos extratos com compostos antioxidantes.

A partir dos reogramas (Figura 3), são identificadas áreas entre as curvas ascendentes e descendentes da relação de tensão e taxa de cisalhamento, o que caracteriza um comportamento tixotrópico de uma preparação, que tem variação de sua viscosidade quando submetido a uma tensão de cisalhamento, seguido do retorno gradativo de viscosidade com ausência da tensão que produziu sua alteração. Assim, estas formulações mediante a aplicação de uma força de aplicação constante tornam-se mais fluidas, espalhando-se facilmente na região onde são aplicadas e recuperam, ao longo do tempo, valores de viscosidade no momento em que se encerra a aplicação desta pressão, impedindo que o produto escorra após o procedimento de aplicação do produto cosmético sobre a superfície do corpo.

Assim como descreve Santos et al., (2005), o fluxo da formulação na pele está relacionado com a redução da interação molecular do filme formado pela emulsão na

pele. Sendo que após a aplicação da tensão que garante a espalhabilidade, há restabelecimento da interação molecular semelhante às características iniciais previa a tensão aplicada, o que evitaria a extrema fluidez que produziria o escoamento indesejado da formulação sobre a pele. Este comportamento reológico também contribui no processo de envase industrial, quando o produto deve percorrer as tubulações industriais com uma menor viscosidade, recuperando os valores deste parâmetro somente após estar na embalagem final de envase.

Constata-se pelas Figuras 2 e 3 que não houve alteração no comportamento reológico das preparações ao longo do tempo, nas diferentes formas de acondicionamento. Mesmo o tensoativo sendo considerado um dos principais responsáveis pela alteração de comportamento reológico de preparações, o aumento da concentração do mesmo nas formulações não propiciou a variação do comportamento reológico. Em concordância com os resultados de Morais e colaboradores (2008) e Santos et al., 2011, observa-se que o aumento da concentração de tensoativos resulta no aumento da viscosidade de sistemas emulsionados, sem ocorrer, obrigatoriamente, variações no comportamento reológico das preparações.

Assim como relatam Engels & Rybinski (1998), Formariz e colaboradores (2005), a presença de estruturas líquido cristalinas em uma formulação, pode contribuir sobre muitos aspectos. Dentre os principais destacam-se a melhora da estabilidade físico-química do sistema, o aspecto visual; a proteção à foto e termodegradação quando substâncias ativas são efetivamente incorporadas em matrizes de cristais líquidos; o aumento da capacidade de retenção de água no estrato córneo proporcionando aumento na hidratação cutânea (Morais et al., 2006; Santos et al., 2005). Estudos ainda relatam que sistemas líquido-cristalinos com estruturas lamelares demonstram favorecer a estabilidade do sistema emulsionado, uma vez que a formação de cristais líquidos na interface das fases, aquosa e oleosa, dificulta o processo de coalescência entre as partículas dispersas no meio dispersante.

Descreve-se ainda que a estabilidade conferida ao sistema pela formação de cristais líquidos do tipo lamelar pode aumentar a estabilidade do sistema de um período de 5 dias para tempos superiores a 30 dias, desde que seja empregado surfactantes e co-surfactantes adequados e em concentrações adequadas (Engels & Rybinski, 1998; Formariz et al., 2005). Klein (2002), Santos e colaboradores (2005) também descrevem aumento da estabilidade de sistemas emulsionados decorrente a existência da fase líquido-cristalina através do aumento da viscosidade dos mesmos. É válido destacar que o aumento da viscosidade de uma formulação após o preparo pode ser decorrente da organização microestrutural de um sistema emulsionado e do estabelecimento de fases líquido-cristalinas (Morais et al., 2008; Santos et al., 2009; Santos et al., 2011).

A permeação de alguns ativos em camadas mais profundas da pele pode ser desejada para garantir suas ações específicas. Brinon e colaboradores (1998) mencionam como outra vantagem o aumento da permeação cutânea de alguns ativos incorporados em sistemas emulsionados providos de fases líquido-cristalinas lamelares.

A formação desta fase está relacionada com a adição de quantidades excedentes de surfactantes, responsável

pela formação de mesofases (Eccleston & Beattie, 1988; Vucinic-Milankovic et al., 2010). A adição de quantidades excedentes de surfactantes e/ou suas misturas poderá resultar na transição da organização estrutural destes, fazendo que haja a transição de fases cúbicas para hexagonais ou ainda lamelares (Eccleston & Beattie, 1988). Para as formulações propostas, mesmo havendo aumento da quantidade do sistema emulsionante, não se observou transição de fases dos cristais-líquidos havendo, portanto a manutenção de sua estrutura lamelar até o último tempo de análise.

A presente proposta de utilização de um sistema emulsionado com fase líquido-cristalina como veículo cosmético de um ativo com atividade antioxidante também pode contribuir sobre o ponto de vista de manutenção da atividade antioxidante do ativo, evitando a oxidação precoce dos compostos fenólicos presentes no extrato vegetal. Nesta perspectiva, Santos e colaboradores (2005), descrevem que a estrutura líquido-cristalina demonstra exercer um efeito de proteção contra o processo de oxidação para alguns ativos, tal como vitaminas.

Morais e colaboradores (2008) descrevem variações perceptíveis na quantidade de estruturas mesógenas em preparações, empregando-se diferentes surfactantes em diferentes concentrações. Para as formulações propostas, entretanto, não se identificou relação quantitativa de cristais líquidos liotrópicos entre as formulações, ou seja, a variação da concentração do sistema emulsionante não influenciou na quantidade de cristais líquidos das formulações.

Sabe-se que a avaliação sensorial é uma ferramenta extremamente importante para garantir o sucesso de venda de um produto cosmético. Hoje em dia, um profissional técnico não deve pensar só na estabilidade do produto final, pois é muito importante pensar no bem estar que a aplicação do produto oferecerá ao consumidor.

Os resultados de avaliação de aceitação das formulações sugerem que a concentração de cera autoemulsionante constituída de álcool cetosteárilio e ésteres de sorbitano etoxilado entre 10%-12% não afetou significativamente a aceitação sensorial das preparações cosméticas contendo 5% de cacau orgânico, havendo, porém, maior preferência pela preparação F2 pelos consumidores.

As características sensoriais desejadas pelo consumidor podem ser conseguidas com uma combinação adequada de emolientes líquidos e ceras na formulação do produto cosmético (Lukic et al., 2012). Estes componentes têm grande influência sobre as características sensoriais e a aceitabilidade ou percepção dos benefícios do produto cosmético pelos consumidores (Parente et al., 2010). As ceras, utilizadas como espessante e emulsionante, quando empregadas em concentrações inadequadas podem conferir pouca espalhabilidade, uma das propriedades mais importantes para se considerar quando se busca a aceitação do produto pelo consumidor (Parente et al., 2011).

A reformulação de produtos cosméticos pela adição de ingredientes orgânicos, como o cacau, pode ser considerada uma nova fronteira de crescimento para a indústria cosmética e a avaliação de aceitação uma poderosa ferramenta para assegurar o sucesso no lançamento de novos produtos em um mercado altamente competitivo.

As preparações obtidas apresentaram estabilidade físico-reológica, presença de cristais-líquidos lamelares

e aceitação sensorial. Atestou-se ainda a atividade antioxidante do extrato seco de cacau orgânico, tornando-o passível de aplicação como composto ativo para preparações tópicas.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro concedido pelo CNPq.

ABSTRACT

Antioxidant Activity of Organic Cocoa Dried Extract (Theobroma cacao), Stability Study and Acceptance Testing of Cosmetic Cream Containing This Extract

The cocoa fruit (*Theobroma cacao*) is known worldwide for its richness in fatty acids and phenolic compounds, with antioxidant power, and it is known to be composed of more than 50% medium-chain fatty acids, making it a raw material that could be exploited by the food, pharmaceutical and cosmetics industries. The aim of this study was to assess the antioxidant power of organic cocoa dried extract, to develop cosmetic formulations from this extract and to determine their stability and carry out rheological tests, liquid-crystal research and acceptance testing on them. The plant extract was assayed for its antioxidant power by the DPPH radical scavenging method. Cosmetic formulations were produced and samples were subjected to physicochemical stability tests (organoleptic assessment, centrifugal testing and determination of pH), rheological characterization and polarized light microscopy analysis. The stable preparations were also evaluated for their acceptability by consumers. From the results presented, it was possible to characterize the antioxidant activity of dried organic cocoa extract and to prepare cosmetic preparations containing 5% of this active compound. These showed pseudoplastic behavior associated with thixotropy and lamellar liquid crystals were present at all storage times and temperatures. It was also found that the higher self-emulsifying wax contents interfered with consumer acceptance of the cosmetic product.

Keywords: Cosmetics. Acceptance Test. Liquid Crystals. Cocoa. Rheology.

REFERÊNCIAS

- Agencia Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos: Uma Abordagem Sobre os Ensaio Físicos e Químicos. 2 ed. Brasília: ANVISA; 2008.
- Ansel HC et al. Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. 7th ed. São Paulo: Premier; 1999.
- Balandrin MF. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science*. 1985;228(4704):1154-60.
- Bispo M. Cosméticos verdadeiramente orgânicos. *Cosmet Toiletries*. 2008;20:50-2.
- Brinon L, et al. Influence of Liquid Crystalline Structure on Percutaneous diffusion of hydrophilic Tracer from emulsions. *J Cosmet Sci*. 1998;49:1-11.
- Corrêa NM, et al. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Rev Bras Cienc Farm*. 2005;41(1):73-8.
- Costa AF. Farmacognosia. 5^a ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2002.
- Di Mambo VM, Fonseca MJV. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. *J Pharm Biomed Anal*. 2005;37(2):287-95.
- Eccleston GM, Beattie L. Microstructural changes during the storage of systems containing cetostearyl alcohol and polyoxyethylene alkyl ether surfactants. *Drug Dev Ind Pharm*. 1988;14(15-17):2499-518.
- Engels T, Rybinski WV. Liquid Crystalline Surfactant Phases in Chemical Applications. *J Mat Chem*. 1998;8(6):1313-20.
- Faria EV, Yotsuyanagi K. Técnicas de Análise Sensorial. Campinas: Itai; 2002.
- Farion, E. Holistic Cosmetics. *J Appl Cosmetol*. 2008;26:97-103.
- Ferrari M, et al. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). *Rev Bras Farmacogn*. 2007;17(4):626-30.
- Ferro AFP, et al. Oportunidades tecnológicas e estratégias concorrentes de gestão ambiental: o uso sustentável da biodiversidade brasileira. *Gest Prod*. 2006;13:489-501.
- Formariz TP, et al. Microemulsões e Fases Líquidas Cristalinas como Sistemas de Liberação de Fármacos. *BJPS*. 2005;41(3):53-8.
- Heinrich U, et al. Longterm ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in women. *J Nutr*. 2006;136(6):1565-9.
- Higuchi CT, Dias LCV. Regulamentação de cosméticos orgânicos no Brasil: apelo sustentável a pele. *InterfacEHS Rev Saúde M Amb Sust*. 2012;7(1):82-3.
- Hirata LL, Sato, MEO, Santos, CAM. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. *Acta Farm Bonaer*. 2004;23(3):418-24.
- Iha SM, et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. *Rev Bras Farmacogn*. 2008;18(3):387-93.

- Isaac VLB, et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2008;29(1):81-96.
- Klein K. A wonderful Marriage. *Cosmet Toiletries.* 2002;117(5):30-4.
- Leonardi GR, et al. Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. *J Cosmet Sci.* 2002;53(5):263-8.
- Lukic M, et al. A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: the influence of emollient on textural, sensorial and in vivo skin performance. *Int J Cosmet Sci.* 2012;34(2):140-9.
- Lyrio ES, et al. Recursos vegetais em biocosméticos: conceito inovador de beleza, saúde e sustentabilidade. *Nat online.* 2011;9(1):47-51.
- Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. *Sensory Evaluation Techniques.* 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press: 1999.
- Mitani H, et al. Topical application of plant extracts containing xanthine derivatives can prevent UV-induced wrinkle formation in hairless mice. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2008;23(2-3):86-94.
- Moon JK, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *J Agric Food Chem.* 2009; 57(5):1655-66. DOI: 10.1021/jf803537k.
- Morais JM, et al. Physicochemical Characterization of Canola Oil/Water Nano-emulsions obtained by Determination of Required HLD Number and Emulsion Phase Inversion Methods. *J Disper Sci Technol.* 2006;27(1):109-15.
- Morais GG, et al. Attainment of O/W Emulsions Containing Liquid Crystal from Annatto Oil (*Bixa orellana*), Coffee Oil, and Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*) as Oily Phase Using HLB System and Ternary Phase Diagram. *J Disper Sci Technol.* 2008;29(2):297-306.
- Newell GJ, Mac-Farlane JD. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. *J Food Sci.* 1987;52(6):1721-5.
- Otto A, et al. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *Int J Cosmet Sci.* 2009;31(1):1-19. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2008.00467.x.
- Parente ME, Ares G, Manzoni AV. Application of two consumer profiling techniques to cosmetic emulsions. *J Sens Stud.* 2010;25(5):685-705. DOI: 10.1111/j.1745-459X.2010.00297.x.
- Parente ME, Gámbaro A, Ares G. External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-that-apply question. *J Sens Stud.* 2011;26(2):158-66. DOI: 10.1111/j.1745-459X.2011.00332.x.
- Pedrosa F, et al. Qualidade de bases cosméticas: controle microbiológico e análise sensorial. In: 17. Congresso Brasileiro de Cosmetologia; 2003; São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia; 2003.
- Prestes OS, et al. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2009;30(1):37-43.
- Prestes PS, et al. Physicochemical Characterization and Rheological Behavior Evaluation of the Liquid Crystalline Mesophases Developed with Different Silicones. *J Disper Sci Technol.* 2010;31(1):117-23.
- Ribeiro HM, Morais JA, Eccleston GM. Structure and rheology of semisolid o/w creams containing cetyl alcohol/non-ionic surfactant mixed emulsifier and different polymers. *Int J Cosmet Sci.* 2004;26(2):47-59.
- Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jimenez J, et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Comunicado Técnico, EMBRAPA. 2007;127.
- Santos ODH, et al. Development of Vegetable Oil Emulsions with Lamellar Liquid-Crystalline Structures. *J Disper Sci Technol.* 2011;32(3):433-8.
- Santos ODH, et al. Analysis of the Phase Changes During Evaporation of Emulsions with Different Oil Phases. *J Disper Sci Technol.* 2009;30:394-8. DOI: 10.1080/01932690802548593
- Santos ODH, et al. Attainment of Emulsions with Liquid Crystal from Marigold Oil Using the Required HLB Method. *J Disper Sci Technol.* 2005; 26(2):243-9.
- Simões CMO, et al. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento.* 6th ed. Porto Alegre: Editora UFSC; 2007.
- Spellmeier F, Heberlé G. Bases Emulsionadas: Comparativo de Estabilidade Acelerada. *Cosmet Toiletries.* 2007;19:68-70.
- Vucinic-Milankovic N, et al. Natural Surfactant-Based Emulsion Vehicles: A Correlation Between Colloidal Structure and In Vitro Release of Diclofenac Diethylamine. *J Disper Sci Technol.* 2010;31(8):1077-84.
- Wollgast J, Anklam E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res Int.* 2000;33(6):423-47.
- Zanatta CF, et al. Rheological behavior, zeta potential, and accelerated stability tests of Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) emulsions containing lyotropic liquid crystals. *Drug Dev Ind Pharm.* 2010;36(1):93-101.

Recebido em 09 de dezembro de 2012

Aceito para publicação em 18 de março de 2013

