



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

***OPUNTIA FICUS-INDICA* (L.) MILL.: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANO,
FOTOPROTETOR E INIBIDOR DA TIROSINASE**

Cinthy Maria Pereira de Souza

Recife/2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

***OPUNTIA FICUS-INDICA* (L.) MILL.: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E
AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANO,
FOTOPROTETOR E INIBIDOR DA TIROSINASE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas na linha de pesquisa: Produção e Controle de Medicamentos.

Mestranda: CINTHYA MARIA PEREIRA DE SOUZA

Orientador: Dr. DAVI PEREIRA SANTANA

Co-Orientador: Dr. JOSÉ ALEXSANDRO DA SILVA

Recife/2012

Catalogação na fonte

S719o Souza, Cinthya Maria Pereira de.

Opuntia fícus-indica (L) Mill.: caracterização físico-química e avaliação do efeito antioxidante, antibacteriano, fotoprotetor e inibidor da tirosinase / Cinthya Maria Pereira de Souza. – Recife: O autor, 2012.

105 folhas : il. ; 30 cm.

Orientador: Davi Pereira Santana.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.

Inclui bibliografia e anexos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Recife, 29 de fevereiro de 2011.

Defesa de Dissertação de Mestrado defendida e _____, por unanimidade, em 29 de fevereiro de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE ORIENTADOR E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Unversidade Federal de Pernambuco- UFPE)

Assinatura: _____

EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Fábio Santos de Souza

(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Unversidade Federal de Pernambuco- UFPE)

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Profª. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

(Deptº de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba- UEPB)

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Nereide Stella Santos Magalhães

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

**Dedico este trabalho aos amores da minha vida, em especial, meu
esposo Márcio e meus pais Joel e Irene.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao meu Deus pela proteção constante, força e sabedoria durante esta árdua caminhada de pós-graduação;

Agradeço do fundo do meu coração aos meus queridos pais que sempre estiveram lutando e torcendo por mim. Agradeço à minha mãe Irene pelas orações, pela dedicação e amor incondicional, ao meu pai Joel pela força e estímulo nos momentos difíceis. “Amo vocês”;

Agradeço de modo muito especial ao meu esposo Márcio, meu tesouro precioso, pelo incentivo, pelo companheirismo, pela paciência, compreensão e principalmente por todo amor e carinho para comigo. “Te amo, minha vida!”;

*“Nossos olhos tiveram a mesma culpa, os seus porque me olharam
os meus porque te quiseram”.*

Agradeço ao meu irmão Joel Júnior por todo incentivo e confiança no meu potencial;

Agradeço aos meus familiares, bem como ao meu sogro José Pinto e minha sogra Raminha por todo apoio e confiança depositados em mim;

Agradeço ao meu orientador Dr. Davi Pereira Santana por ter me aceitado como orientanda mesmo sem me conhecer e pela oportunidade de poder realizar este trabalho de mestrado;

Agradeço ao meu co-orientador Dr. José Alexsandro da Silva por ter acreditado na minha capacidade, pelos ensinamentos e por ter aberto os caminhos da pós-graduação para mim;

Agradeço a Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros pela amizade, incentivo, pelas orientações de vida, pela transmissão dos conhecimentos e pela iniciação da minha carreira acadêmica através da oportunidade do PIBIC;

Agradeço ao Dr. Fábio Santos de Souza por ter aceitado prontamente o convite para participar da banca avaliadora deste trabalho e por ter disponibilizado a utilização de alguns equipamentos;

Agradeço aos professores do programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE por todo aprendizado transmitido como muita competência. Em especial agradeço à

Haroudo Xavier, Pedro Rolim e Beate Saegesser pelo suporte no desenvolvimento do meu projeto, pela acessibilidade e pelo acolhimento caloroso;

Agradeço aos laboratórios: LDCPF, LABDEM, CERTBIO, LTM e LTF pelas análises fornecidas;

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro para realização deste trabalho;

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco PPGCF/UFPE pela possibilidade de realização deste mestrado;

Aos alunos de iniciação científica da UEPB que contribuíram na execução deste trabalho:

Amanda, Alexsandra, Bruno, Diego e Fernanda;

Agradeço aos amigos do mestrado e doutorado da UFPE pelo companheirismo, pela amizade e pela partilha em todos os momentos, em especial à Aline, Renata, Dani, Januária, Lourenço, Tony, Lúcia Francelino, Lúcia Roberta, Paulo, Karine, Valéria, Daniele, Valérium e Márcia;

Agradeço aos grandes amigos do LABDEM e CERTBIO: Felipe, Deyse, Cleildo e Lidiane por toda força, disponibilidade, prontidão e pela sincera amizade;

Agradeço aos amigos Fábio Rodrigo e Giovani pela convivência e pelas experiências compartilhadas na carreira de pós-graduação;

Agradeço aos doutores Emídio Vasconcelos e Valdir Veiga pelas análises realizadas;

Agradeço aos colegas professores e aos técnicos da UEPB pelo apoio e compreensão, em especial a minha querida amiga Ana Flávia pelos conselhos, criatividade e pela motivação;

Agradeço enfim, a todos os amigos farmacêuticos ou não, pelo incentivo, pela troca de idéias e experiência de vida.

***“Tudo é do Pai, toda honra e toda glória
É Dele a Vitória alcançada em minha vida.”***
(Pe. Fábio de Melo)

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1- Ilustração da palma forrageira.....	22
Figura 2- Ilustração das flores e frutos da palma forrageira.....	23
Figura 3- Formação de partícula por secagem por aspersão.....	28
Figura 4- Estrutura química dos triglicerídeos.....	29
Figura 5- Esquema representativo de um analisador térmico atual.....	31
Figura 6- Esquema de correlação das bandas espectrais com grupos químicos característicos.....	32
Figura 7- Esquema representativo da cromatografia gasosa.....	34
Figura 8- Estrutura básica dos flavonóides.....	36
Figura 9- Espectro da radiação solar não-ionizante.....	37
Figura 10- Ligações dos átomos de cobre no sítio ativo da enzima tirosinase.....	40
Figura 11- Biossíntese de melanina.....	41
Figura 12- Ilustração do teste de difusão em ágar.....	44
Figura 13- Ilustração do método da microdiluição.....	44
Quadro 1- Ponderação empregada no cálculo do fator de proteção solar por espectrofotometria.....	40

ARTIGO 1

Figure1- Chromatogram of the oil from the seeds of <i>Opuntia ficus-indica</i>	55
Figure2- DSC of the oil from the seeds of <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.....	56
Figure 3- TG of oil from the seeds of <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.....	57
Figure 4- IR spectrum of the oil of <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.....	58

Figure 5- Ultraviolet absorption spectrum of the oil from the seeds of <i>Opuntia-ficus indica</i> (L.) Mill.....	59
--	----

ARTIGO 2

Figura 1- Microscopia óptica do extrato nebulizado de <i>Opuntia fícus-indica</i>	72
Figura 2- Curva de calibração do padrão ácido gálico.....	73
Figura 3- Curva de DSC do extrato nebulizado de <i>Opuntia fícus-indica</i>	74
Figura 4- Termogravimetria do extrato nebulizado de <i>Opuntia fícus-indica</i>	75
Figura 5- Espectro de IV do extrato nebulizado de <i>Opuntia fícus-indica</i>	76

ARTIGO 3

Figura 1- Ação da enzima tirosinase sobre a L-Dopa.....	89
---	----

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1- Usos e aplicações potenciais da palma forrageira.....	24
---	----

ARTIGO 1

Table 1- Composition of formulations for SPF evaluation.....	54
--	----

Table 2- Chemical composition of esterified oil from the seeds of <i>Opuntia fícus-indica</i>	55
---	----

Table 3- Results of the SPF of the formulations studied.....	60
--	----

ARTIGO 2

Tabela 1- Testes farmacopéicos aplicados ao extrato nebulizado de <i>Opuntia fícus-indica</i> (L.) Mill.....	71
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA- Atividade Antioxidante

ABS- Absorbância

ACAM- Manoel de Arruda Câmara

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC- *American Type Culture Collection*

ATP- Adenosina Trifosfato

ATR- Reflectância Total Atenuada

CCD- Cromatografia em Camada Delgada

CG- Cromatografia Gasosa

COLIPA- *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association*

DMSO- Dimetilsulfóxido

DOPA- Dihidroxifenilalanina

DPPH- Difenil-picrilhidrazila

DSC- Calorimetria Exploratória Diferencial

DTA- Análise Térmica Diferencial

EAG- Equivalente de Ácido Gálico

EM- Espectro de Massas

EROS- Espécies Reativas do Oxigênio

FDA- *Food and Drug Administration*

FPA- Fator de Proteção UVA

FPS- Fator de Proteção Solar

JCIA- Associação das Indústrias Cosméticas do Japão

NCCLS- *National Committe for Clinical Laboratory Standards*

RDC- Resolução da Diretoria Colegiada

TG- Termogravimetria

UV- Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

°C – graus Celsius

μl – microlitros

μg – microgramas

nm – nanômetro

mg – miligramas

mL – mililitros

λ – Comprimento de onda

± - Mais ou menos

v – volume

p - peso

RESUMO

Opuntia ficus-indica (L.) Mill. é uma cactácea amplamente cultivada nas zonas áridas e semi-áridas do mundo, devido ao seu enorme potencial produtivo e suas múltiplas utilidades na área alimentícia, farmacêutica, agrícola, cosmética e outras. Assim, este trabalho objetivou caracterizar físico-quimicamente o óleo e o extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e avaliar as potencialidades deste vegetal, visando sua utilização no desenvolvimento de um novo fitocosmético. A caracterização foi realizada por análise térmica, espectroscopia na região do infravermelho, cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas, espectroscopia na região do ultravioleta e por testes farmacopéicos. Na avaliação das potencialidades verificou-se a atividade antioxidante, antimicrobiana, fotoprotetora e inibidora da enzima tirosinase. As análises farmacopéicas, espectroscópicas e térmicas do óleo e do extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica* permitiram caracterizá-los físico-quimicamente e verificar a estabilidade térmica dos mesmos. Através do CG-EM foi detectado que o óleo é rico em ácidos graxos saturados e insaturados, principalmente em ácido linoléico (~65%). Quanto à avaliação das potencialidades dos produtos derivados de *Opuntia ficus-indica* foi detectado que, nas condições do estudo, os mesmos não apresentaram atividade antioxidante e nem antimicrobiana. Com relação à inibição da enzima tirosinase, apenas o extrato nebulizado demonstrou atividade inibitória. Quanto à avaliação do potencial fotoprotetor do óleo, foi observado que o mesmo não apresentou FPS significativo e nem potencializou o FPS de formulações cosméticas contendo filtros solares orgânicos. Apesar disto, a utilização dos produtos de *Opuntia ficus-indica* em fitocosméticos pode ser justificada pelas suas propriedades eudérmicas.

Palavras-chaves: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Caracterização físico-química, Antioxidante, Antibacteriana, Inibição da tirosinase, Fotoproteção.

ABSTRACT

Opuntia ficus-indica (L.) Mill. is a cactus widely grown in arid and semi-arid regions of the world due to its enormous productive potential and their multiple uses in the food, pharmaceutical, agricultural, cosmetics and others. Thus, this study aimed to characterize the physico-chemical the oil and the nebulized extract of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and evaluate the potential of this plant, aiming its use in developing a new phytocosmetic. The characterization was performed by thermal analysis, infrared spectroscopy, gas chromatography mass spectrum, ultraviolet spectroscopy and by pharmacopoeial tests. In evaluation of the potential was verified the activity antioxidant, antimicrobial, photoprotector and inhibiting tyrosinase. The pharmacopoeial, spectroscopic and thermal analysis of the derived products from *Opuntia ficus-indica* allowed to characterize them physico-chemically and check the thermal stability of the products. By GC-MS was detected that the oil is rich in saturated and unsaturated fatty acids, mainly linoleic acid (~ 65%). The evaluation of the potential products of *Opuntia ficus-indica* was detected, under the conditions of the study, that products showed no antioxidant activity and even antimicrobial. With respect to inhibition of the tyrosinase enzyme, only the nebulized extract showed inhibitory activity. About the assessment of the photoprotection potential of the oil was observed that it showed no significant FPS and not potentiate the FPS of cosmetic formulations containing organic sunscreen. Nevertheless, the use of products from *Opuntia ficus-indica* in phytocosmetic can be justified by their humectants properties.

Key-words: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Physico-chemical characterization, Antioxidant, Antibacterial, Inhibition of tyrosinase, Photoprotection.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1	<i>OPUNTIA FÍCUS-INDICA</i> (L.) MILL.....	22
2.2	UTILIZAÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS.....	26
2.2.1	Extratos Secos.....	27
2.2.1.1	<i>Spray-drying</i>	27
2.2.2	Óleos Vegetais.....	29
2.3	MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS.....	30
2.3.1	Análise térmica.....	30
2.3.1.1	Termogravimetria.....	31
2.3.1.2	Calorimetria exploratória diferencial.....	32
2.3.2	Infravermelho.....	32
2.3.3	Cromatografia Gasosa.....	33
2.4	ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS.....	34
2.4.1	Antioxidantes.....	34
2.4.1.1	Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antioxidante.....	36
2.4.2	Fotoproteção.....	37
2.4.2.1	Avaliação do fator de proteção solar.....	39
2.4.3	Inibição da Tirosinase.....	40
2.4.4	Antimicrobianos.....	42

2.4.4.1	Avaliação da atividade antimicrobiana.....	43
3	OBJETIVOS.....	45
3.1	OBJETIVO GERAL.....	46
3.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	46
4	ARTIGO I: Physico-chemical characterization and in vitro evaluation of the photoprotective activity of the oil from the seeds of <i>Opuntia ficus- indica</i> (L.) Mill.....	48
5	ARTIGO II: Caracterização físico-química do extrato nebulizado dos cladódios de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.....	63
6	ARTIGO III: <i>Opuntia ficus- indica</i> (L.) Mill.: avaliação da atividade antioxidante, antimicrobina e inibidora da enzima tirosinase.....	82
7	CONCLUSÃO.....	94
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

ANEXOS

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., conhecida popularmente no Brasil como palma forrageira, é uma cactácea originária das regiões áridas Mexicanas que está disseminada na América do Sul e Central, Austrália, África do Sul e em toda a Região Mediterrânea (Leo et al., 2010).

Membros da família cactácea são biologicamente adaptados para resistir à intensa luz solar, às secas e às extremas variações de temperaturas entre o dia e a noite. *Opuntia ficus-indica* tem sido utilizada como ração animal no Nordeste do Brasil (Barbera et al., 2001; Russel, 2007). Em diversos países, seus frutos têm sido empregados na alimentação humana, por apresentarem sabor fortemente adocicado, serem suculentos e ricos em compostos nutricionais, como o ácido ascórbico, polifenóis, aminoácidos, sais minerais, vitaminas e outros (Leo, 2010; Ozcan, 2011).

Na área medicinal, pesquisas atuais com esta espécie revelam sua ação antiviral, anticâncer, antiinflamatória, hipoglicemiante, antioxidante e diurética (Butera et al., 2002; Arauza, 2009; Galati et al, 2003; Enouri, 2006; Zou et al, 2005; Santoscoy, 2009). Na área de nutrição, estudos indicam que suas sementes são uma preciosa fonte de fibras naturais e dada a elevada concentração de ácidos graxos essenciais, esteróis, carotenos e vitaminas lipossolúveis, o óleo de suas sementes pode ser usado como um agente nutracêutico (Ramadan e Mörsel, 2003; El Kossori 1998; Ozcan e Al Juhaimi, 2011)

Na área cosmética, é sabido que os cladódios da palma quando esmagados são conhecidos por serem empregados na fabricação de xampu para prevenção da queda de cabelo e sua seiva e óleo das sementes são usados para evitar queimaduras solares. Todavia, a literatura não apresenta pesquisas que possam ratificar e comprovar esses usos com esta finalidade (SÁENZ-HERNÁNDEZ, 2001; HAMOU, 2008)

Nota-se, portanto, que as principais pesquisas com a *Opuntia ficus-indica* têm sido desenvolvidas na busca de novos medicamentos e alimentos funcionais. Há, porém, uma necessidade de estudos que caracterizem físico-quimicamente o óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* (Enouri et al., 2005) e demonstrem possíveis atividades e empregabilidades desta matéria-prima na área de desenvolvimento de novos cosméticos, a exemplo do estudo realizado por Schmid et al., 2005, que elaborou um produto com ação hidratante, suavizante e de proteção contra radiação UVA.

Considerando que de acordo com a literatura, *Opuntia ficus-indica* é rica em flavonóides e que estes metabólitos secundários estão envolvidos em diversas funções como: a proteção contra a incidência de raios ultravioleta, proteção contra microrganismos patogênicos, ação antioxidante e inibição enzimática (Machado et al., 2008); este trabalho objetivou caracterizar físico-quimicamente o óleo e o extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e avaliar as potencialidades deste vegetal visando sua utilização no desenvolvimento de um novo fitocosmético.

Assim, estudos que se propõem a pesquisar e comprovar, cientificamente, aplicabilidades da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cultivada no nordeste, as quais venham justificar o desenvolvimento de novos cosméticos promoverá, certamente, uma valorização e crescimento do mercado de fitocosméticos, e por conseqüência um maior valor agregado a planta, contribuindo, dessa forma, para o desenvolvimento sustentável dos produtores rurais e inclusão social de pessoas de uma das regiões mais desprotegidas do Brasil que é a região do semiárido nordestino.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

A *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., conhecida popularmente como palma forrageira (Figura 1), é uma planta originária das regiões áridas do continente americano, mais especificamente, do México. Contudo, atualmente esse vegetal está disseminado na América do Sul e Central, Austrália, África do Sul e em toda a Região Mediterrânea (LEO *et. al.*, 2010).

Figura 1 - Ilustração da palma forrageira.



Fonte: <http://www.sertaoemfoco.net/portal/>

A palma forrageira pertence à divisão Embryophyta, subdivisão Angiosperma, classe Dicotyledoneae, subclasse Archiclamidae, ordem Opuntiales, família Cactaceae e ao gênero *Opuntia* (OLIVEIRA, 2008).

A espécie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., em termos mundiais, recebe diferentes designações. Na Espanha é conhecida como “chumbo”, e seus frutos, “higos de las Indias”. Os árabes os chamam de “figos-dos-cristãos”. No México é conhecida como “nopal” e seus frutos como “tunas”. No Brasil, são denominados como “frutos de palma” ou “figos-da-Índia” (SEBRAE, 2010).

Segundo Scheinvar (2001) a palma forrageira possui como características o seu porte arborecente com 3-5 m de altura, coroa larga, glabra, 60-150 cm de largura do caule, raquetes obovaladas (Figura 1) com 30 a 60 cm de comprimento, 20 a 40 cm de largura e 19 a 28 cm de espessura. Possuidora de uma cor verde escura, esta é coberta de uma camada de cera, cuja espessura atinge 10 a 50 μm . As flores (Figura 2A) possuem (60)7-9(-10) cm de

comprimento, tem cor laranja ou amarela, o pericarpo é 2-2,5 vezes mais comprido do que o perianto. O fruto (Figura 2B) possui sabor doce, é succulento, comestível, apresentando 5 a 10 cm de comprimento e 4 a 8 cm de largura, coloração variável, indo desde a amarela, laranja e vermelha com muita polpa e casca fina. As sementes são obovoladas e discóides com 3 a 4 mm de diâmetro.

Figura 2 - Ilustrações das flores e frutos da palma forrageira.



Fonte: <http://www.cepolina.com>

A palma é amplamente cultivada nas zonas áridas e semiáridas do mundo devido a sua excepcional adaptação às condições edafoclimáticas dessas regiões. Há muitos anos tem sido utilizada como forragem por pequenos produtores no Nordeste do Brasil, especialmente Paraíba, Pernambuco e Alagoas, sendo principalmente utilizado nos anos de seca, quando em muitas ocasiões seus cladódios são a única fonte de água e nutrientes para os animais (SOUSA et al., 2009; BARBERA, 1995). Além disso, a mesma é usada, também, como alternativa eficaz para combater a fome e a desnutrição no semiárido nordestino, pois é rica em vitaminas A, C, E (RAMADAN; MORSEL, 2003) e minerais como cálcio, magnésio, sódio, potássio além de 17 tipos de aminoácidos (FALCÃO; OLIVEIRA, 2010).

Na medicina popular, o fruto da palma é considerado antidiarréico, antidisentérico, peitoral, antiasmático, diurético, cardiotônico, antiinflamatório da bexiga e da uretra, aliviando o ardor causado pela cistite e uretrite (CHACCHIO et al., 2006).

Devido ao seu enorme potencial produtivo e suas múltiplas utilidades, a palma forrageira vem sendo empregada na alimentação humana, na produção de medicamentos,

cosméticos, conservação e recuperação de solos, cercas vivas, paisagismo, dentre outros usos nobres (Tabela 1) (BARBERA, 1995).

Tabela 1- Usos e aplicações potenciais da palma forrageira

Uso/ Aplicações	Partes da planta
Alimento animal	Cladódios, frutos e sementes: forragem em pastejo ou cocho. Frutos: frescos ou processados (passa, sucos, polpa, vinho, licor, compota, melaço, geléia, purês, adoçante líquido, etc.).
Alimento humano	Cladódios: jovens frescos (verdura), processados em salmoura ou em vinagre, pré-cozidos congelados, geléia, doces; Sementes: óleo comestível.
Agrícola	Planta: proteção e conservação dos solos, cercas-vivas, quebra-ventos, matéria orgânica. Raízes: diurese.
Medicinal	Cladódios: diarreia, diabetes, colesterol, antiinflamatório. Fibras e mucilagem: obesidade. Flores: diurese e desintéria. Cladódios: etanol, biogás e lenha.
Energia	Frutos: etanol, biogás.
Cosmética	Cladódios: xampu, sabonetes, creme umectante, adstringente, loções, fotoprotetores. Planta: ornamental.
Outros	Cladódios: adesivos, colas, pectinas, fibras, papel, antitranspirante, corante, mucilagem. Frutos: corantes.

Fonte: modificado de Barbera (1995).

No Nordeste do Brasil, *Opuntia ficus-indica* tem sido utilizada, principalmente, como ração animal (BARBERA et al., 1995; RUSSEL; FELKER, 2007). Mas em diversos países, os frutos de *Opuntia ficus-indica* têm sido empregados na alimentação humana, por apresentarem sabor fortemente adocicado, serem suculentos e ricos em compostos nutricionais, como o ácido ascórbico, polifenóis, aminoácidos, sais minerais, vitaminas e outros (LEO, 2010; OZCAN, 2011).

As pesquisas atuais com esta espécie revelam sua ação antiviral, anticâncer, antiinflamatória, hipoglicemiante, antioxidante e diurética (BUTERA et al., 2002; ARAUZA, 2009; GALATI et al., 2003; ENOURI, 2005; ZOU et al., 2005; SANTOSCOY, 2009). Diversos constituintes presentes nos cladódios e frutos são os responsáveis por tais ações dos quais se podem destacar, os compostos fenólicos do tipo flavonóides, tais como: quercetina, carotenóides, além das vitaminas e aminoácidos (GALATI et al., 2003; TESORIERE et al., 2004; ENNOURI et al., 2005; ENNOURI, 2007).

Os estudos na área de nutrição indicam que suas sementes são uma preciosa fonte de fibras naturais e dada a elevada concentração de ácidos graxos essenciais, esteróis, carotenos e vitaminas lipossolúveis, o óleo de suas sementes pode ser usado como um agente nutracêutico importante (RAMADAN; MÖRSEL, 2003; EL KOSSORI, et al., 1998; OZCAN, AL JUHAIMI, 2011).

Contudo, a utilização cosmética da palma é difundida basicamente em produção caseira e artesanal, colocado no mercado uma considerável variedade de produtos, destacando-se xampus, loções adstringentes, loções para corpo e sabonetes. Entretanto, estes produtos não passaram por estudos prévios de caracterização físico-química e nem comprovação científica de eficácia a qual se proponham. É sabido que os cladódios da palma quando esmagados são conhecidos por serem empregados na fabricação de xampu para prevenção da queda de cabelo e sua seiva e óleo das sementes são usados para evitar queimaduras solares. Todavia, a literatura não apresenta pesquisas que possam ratificar e comprovar esses usos com esta finalidade (SÁENZ-HERNÁNDEZ, 2001; HAMOU, 2008).

Há, portanto, uma necessidade de estudos que demonstrem possíveis atividades e empregabilidades desta matéria-prima na área de desenvolvimento de novos cosméticos, a exemplo do estudo realizado por Schmid et al. (2005), que elaborou um cosmético a base da palma com ação hidratante, suavizante e de proteção contra radiação UVA.

2.2 Utilização de produtos vegetais em cosméticos

Desde as antigas civilizações as plantas desempenham um papel crucial para humanidade (MICHILES; BOTSARIS, 2005). O uso de produtos vegetais para fins de embelezamento tem referência de 5000 anos atrás (VALFRÉ, 1990). As primeiras farmacopéias e formulários de produtos surgiram no Egito, destacando-se entre elas o *Papiro Ebers*, que continha centenas de fórmulas e remédios populares à base de plantas para cuidados de saúde, higiene e beleza (DE POLO, 1998).

Neste sentido, o Brasil apresenta enorme biodiversidade, possuindo uma das mais ricas floras do mundo. Entretanto, a biodiversidade brasileira não é totalmente estudada e assim milhões de espécies distintas de vegetais, microrganismos ou animais podem ser pesquisados (GUERRA; NODARI, 2001).

Para a seleção de espécies vegetais a serem estudadas, várias abordagens têm sido apresentadas na literatura dentre elas, três tipos são alvo de maiores investigações: a) abordagem randômica - escolha da planta sem qualquer critério, tendo como fator determinante a disponibilidade da planta; b) abordagem quimiotaxonômica ou filogenética – seleção da espécie correlacionada com a ocorrência de uma dada classe química de substâncias em um gênero ou família; c) abordagem etnofarmacológica - seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um determinado grupo étnico. Em geral a escolha de uma determinada planta medicinal é feita através da abordagem etnofarmacológica (ELISABETSKY, 1988).

Essas investigações científicas permitem-nos descobrir que muitos vegetais possuem não só um valor nutritivo considerável, mas também um efeito medicinal e cosmético significativo (ILHA, 2008).

Assim, a fitocosmética pode ser definida como o segmento da ciência cosmetológica que se dedica ao estudo e à aplicação dos princípios ativos extraídos dos vegetais, em proveito da higiene, da estética, da correção e da manutenção de um estado normal e sadio da pele (VALFRÉ, 1990).

A obtenção de matérias-primas de origem vegetal e a aplicação destas em produtos cosméticos, tem tido um grande crescimento, em função do sucesso destas formulações junto ao mercado consumidor que busca cada vez mais produtos que aproveitem os benefícios que a natureza proporciona. Aliado a este fator, os consumidores também estão buscando o envolvimento das indústrias em projetos de conservação e uso sustentável da biodiversidade,

que recentemente passou a fazer parte das estratégias do “marketing verde” (DAL’BELO, 2008).

Para exemplificar a aplicação de vegetais em produtos cosméticos, podemos citar os extratos de camomila e calêndula, que são utilizados devido as suas propriedades antiinflamatórias e antialérgicas; e os extratos de babosa, aveia e malva que têm sido utilizados com finalidade hidratante. Os óleos de origem vegetal também têm sido incorporados em cosméticos com a finalidade de conferir emoliência à pele, a exemplo do óleo de macadâmia, germe de trigo e o de semente de uva (ABURJAI; NATSHIEH, 2003).

2.2.1 Extratos secos

Extratos vegetais secos têm sido utilizados como produtos finais e intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas (VASCONCELOS et al., 2005). Por serem preparações potentes, em geral duas a seis vezes mais potentes que os extratos que lhe deram origem. Contêm essencialmente os princípios ativos da droga e uma grande porção de componentes inertes e estruturais da droga. Sua função é proporcionar em pequenas quantidades e numa forma física estável e conveniente, a ação medicinal e as características da planta (ANSEL; POPOVICH; ALLEN JR., 2000).

No desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos, a técnica de secagem por aspersão (“*Spray drying*”) tem sido bastante empregada com intuito de se obter produtos intermediários com maior concentração de constituintes químicos e com melhores características tecnológicas (SILVA JÚNIOR, 2006).

2.2.1.1 Secagem por aspersão (*spray-drying*)

O *spray drying* é um equipamento que admite a alimentação somente em estado fluido (solução, suspensão ou pasta) e a converte em uma forma particulada seca pela aspersão do fluido em um agente de secagem aquecido (usualmente o ar) (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

O processo de secagem por aspersão consiste de três etapas fundamentais. Na primeira fase, o fluido é disperso como gotículas, produzindo uma grande área superficial. Na segunda, ocorre contato destas com uma corrente de ar aquecido, havendo transferência de calor. Na terceira etapa acontece a evaporação do solvente e a formação da partícula sólida (Figura 3). O produto de secagem é transportado por uma corrente de ar sendo posteriormente coletado.

As partículas solidificadas geralmente apresentam o mesmo tamanho e forma da gotícula que as originou (RANKEL et al., 2001; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Figura 3- Formação de partícula por secagem por aspersão

Aspersão do produto



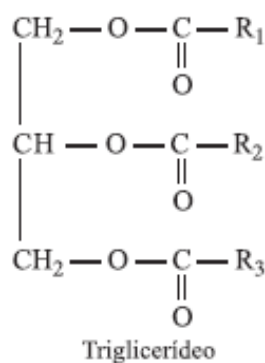
Fonte: OLIVEIRA; PETROVICK, 2010.

A otimização dos parâmetros de secagem como temperaturas de entrada e de saída e velocidade de fluxo de alimentação, concentração e tipo de adjuvante tecnológico, assim como os teores de resíduo seco do extrato fluído a nebulizar são fatores indispensáveis para obtenção de extratos secos com melhores características físico-químicas e aumento do rendimento da operação (VASCONCELOS et al., 2005)

2.2.2 Óleos vegetais

Um dos mais importantes derivados de plantas continua sendo os óleos vegetais. Os óleos são predominantemente triésteres de ácidos graxos e glicerol, chamados triacilgliceróis (Figura 4). Os triacilgliceróis são insolúveis em água e à temperatura ambiente variam em consistência de líquido a sólido. Em uso comum, quando eles são na maioria sólidos, são chamados de gorduras, e quando líquidos são chamados de óleos. Além de triacilglicerídeos, os óleos contém vários componentes menores como: mono e di-glicerídeos (importantes como emulsificadores); ácidos graxos livres; tocoferol (importante antioxidante); esteróis e vitaminas. (REDA; CARNEIRO, 2007).

Figura 4- Estrutura química dos triglicerídeos.



Fonte: <http://klickeducacao.com.br>

A maior parte dos óleos vegetais apresenta ácidos graxos com certo número de carbonos variando de 4 a 24. Estes ácidos graxos podem ser insaturados e saturados. O ácido saturado mais importante é o ácido esteárico (C18:0) e os insaturados mais importantes são: ácido oléico (C18:1 *cis*9), ácido linoléico (C18:2 *cis*6, *cis*9), ácido linolênico (C18:3 *cis*9, *cis*12, *cis*15). Contudo, a maioria dos óleos vegetais contém uma grande quantidade de ácidos graxos mono ou poliinsaturados, os quais expressam menor ponto de fusão e por isso, os óleos são líquidos à temperatura ambiente (FARIA et al., 2002).

Epidemiologicamente, os ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (ácido linolênico) mostram efeito benéfico na prevenção de vários tipos de câncer. Os ômega-6 (linoléico) exercem importante papel fisiológico como potentes mediadores da inflamação e efeito benéfico sobre o sistema imune (LUZIA; BERTANHA; JORGE, 2010).

As proporções dos diferentes ácidos graxos saturados e insaturados nos óleos e gorduras vegetais variam de acordo com as plantas das quais foram obtidos, sendo que

também dentro de uma espécie existem variações determinadas pelas condições climáticas e tipo do solo em que são cultivados. (FARIA et al., 2002)

Os óleos vegetais vêm sendo estudados intensamente há alguns anos. No entanto, o conhecimento destas substâncias apresenta certas dificuldades pelo fato destes óleos terem uma composição química muito complexa, haja vista que cada componente deve influenciar as propriedades físicas do óleo. As principais técnicas utilizadas para caracterizar e quantificar os analitos presentes nas amostras de óleos vegetais são cromatografia gasosa e líquida e técnicas espectroscópicas como: ultravioleta (UV-VIS), ressonância magnética nuclear (RNM), infravermelho e espectrometria de massas (FREITAS, 2007).

2.3 Métodos analíticos utilizados na caracterização de produtos vegetais

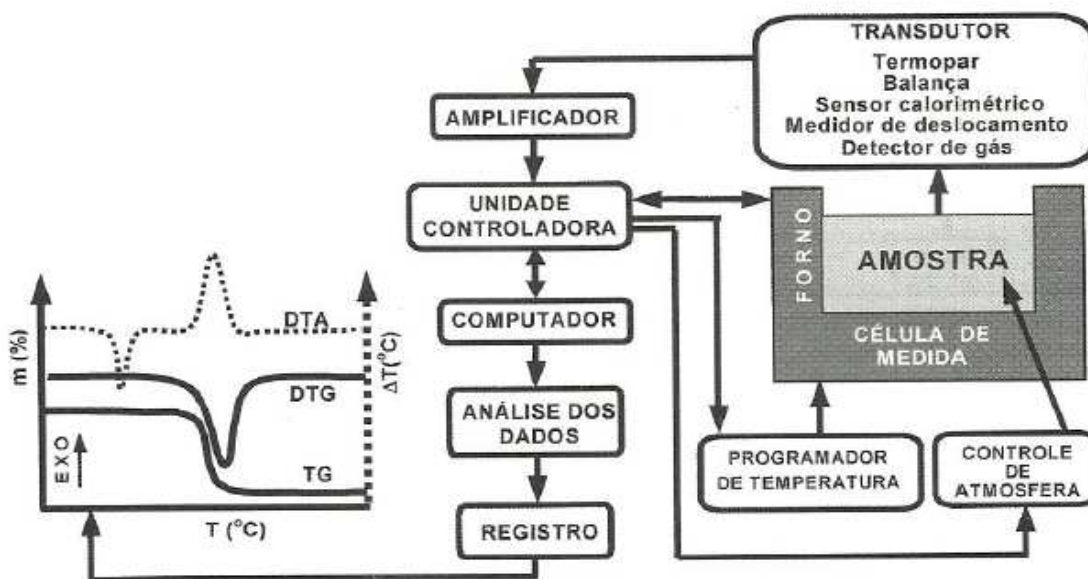
Inúmeras são as técnicas utilizadas na caracterização dos materiais vegetais. Dentre as técnicas analíticas mais utilizadas pode-se citar: análise térmica, espectroscopia de absorção no infravermelho e cromatografia gasosa.

2.3.1 Análise térmica

O termo análise térmica abrange um grupo de técnicas, a partir das quais uma propriedade física de uma substância e ou seus produtos de reação é medida em função do tempo ou da temperatura enquanto essa substância é submetida a uma programação controlada de temperatura e sob atmosfera especificada (MATOS; MERCURI; MATOS, 2009).

Em um sistema de termoanálise, a amostra é colocada em um ambiente no qual é possível observar, direta ou indiretamente, uma modificação em função da temperatura e do tempo. As mudanças ocorridas na amostra são monitoradas por um transdutor apropriado, que produz um sinal elétrico análogo à mudança física ou química. Este sinal é amplificado de modo eletrônico e aplicado ao dispositivo de leitura em um registrador (Figura 5) (PICOLLI et al., 2006).

Figura 5- Esquema representativo de uma analisador térmico atual.



Fonte: MATOS; MERCURI; MATOS, 2009.

Entre as técnicas largamente empregadas podem ser citadas: a termogravimetria (TG) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC).

2.3.1.1 Termogravimetria (TG)

A TG é utilizada para medir a variação de massa em função da temperatura em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011).

Esta técnica permite determinar a temperatura em que os materiais começam a se decompor (estabilidade térmica) e também, acompanhar o andamento das reações de desidratação, oxidação, combustão, decomposição, entre outras aplicações (MATOS; MERCURI; MATOS, 2009)

É uma técnica muito utilizada na caracterização do perfil de degradação de polímeros e de outros tantos materiais. A exposição à temperatura elevada pode, algumas vezes, alterar a estrutura química e, por consequência, as propriedades físicas dos materiais. Em uma curva de TG observa-se a inflexão devido ao processo de degradação térmica do material, o qual depende da natureza química, ou seja, da estrutura e da extensão das forças de interação. Na curva de DTG tem-se o comportamento mais detalhado do processo de degradação (PICOLLI et al., 2006).

2.3.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

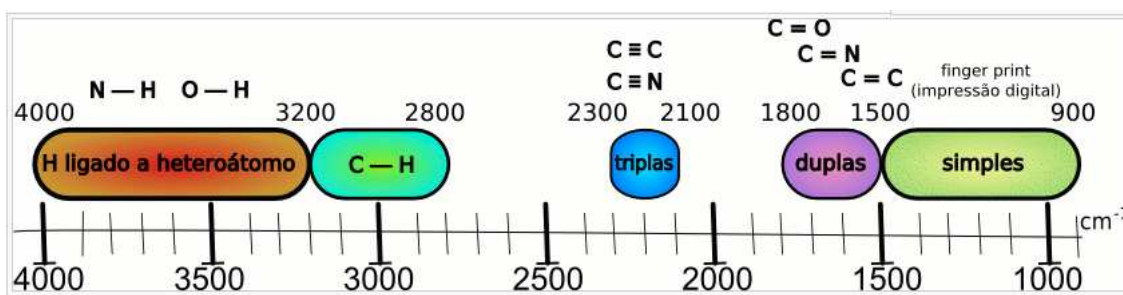
A DSC é utilizada para medir a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011).

A DSC pode proporcionar informações sobre caracterização e medidas tais como: transição vítrea, temperatura e tempo de cristalização, ponto de fusão, calor específico, oxidação, pureza, estabilidade térmica, ponto de ebulição e cinética de reação. Em uma curva de DSC observa-se uma inflexão na região da temperatura de transição vítrea (T_g) devido ao aumento no calor específico à medida que a movimentação dos segmentos aumenta, que por sua vez é devido a mudanças causadas por vários fatores, sendo um dos mais importantes as mudanças da mobilidade molecular em função das mudanças de interação. Um pico endotérmico denota a temperatura de fusão (T_m) da região cristalina, a qual é uma função expressa do tipo de ordenação da amostra (PICCOLI, 2006).

2.3.2 Infravermelho (IV)

O objetivo da espectroscopia de absorção no infravermelho (IV) é a determinação dos grupos funcionais de um dado material. Cada grupo absorve em frequência característica de radiação na região do IV (Figura 6). Assim, um gráfico de intensidade de radiação versus frequência, o espectrograma de IV, permite caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou de um material desconhecido (PICCOLI, 2006).

Figura 6- Esquema de correlação das bandas espectrais com grupos químicos característicos.



Fonte: [http:// pt.wikipedia.org](http://pt.wikipedia.org)

Além disso, no IV médio ($4.000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) podemos encontrar a região de Impressão Digital entre $1300\text{ e }900\text{ cm}^{-1}$. Essa região é específica para cada composto químico, o que faz

com que seja possível identificar um composto problema comparando-o com bibliotecas espectrais contendo espectros conhecidos (SILVERSTAIN; WEBSTER, 2000).

Por isso, a espectroscopia no infravermelho é largamente usada tanto na indústria quanto na pesquisa científica, pois se trata de uma técnica rápida e confiável para medidas, controle da qualidade e análises dinâmicas. Embora o espectro no IV seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos originam bandas mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença dessas bandas características de grupos funcionais que permite a obtenção de informações úteis para a identificação de estruturas, através de simples exame do espectro e consulta a tabelas. Os espectros de IV, em conjunto com outros dados espectrais, são úteis para a determinação das estruturas de moléculas (PICCOLI, 2006).

Espectros de transmitância podem ser adquiridos com refletância total atenuada (ATR). ATR é uma medida de transmitância feita de uma amostra colocada sobre a superfície de um cristal com alto índice de refração, por dentro do qual passa um feixe de infravermelho num ângulo tal que o feixe sofra múltiplas reflexões pelo interior do cristal. Quando o feixe encontra uma superfície absorvedora sobre o cristal, como uma folha, por exemplo, penetra a superfície com uma onda evanescente, gerando assim um espectro de transmitância. Em um espectro de transmitância as absorções de grupos funcionais, ou seja, as vibrações fundamentais de moléculas aparecem como mínimos no espectro, e são causadas principalmente pela composição química da amostra (SPRAGG, 2000).

2.3.3 Cromatografia gasosa (CG)

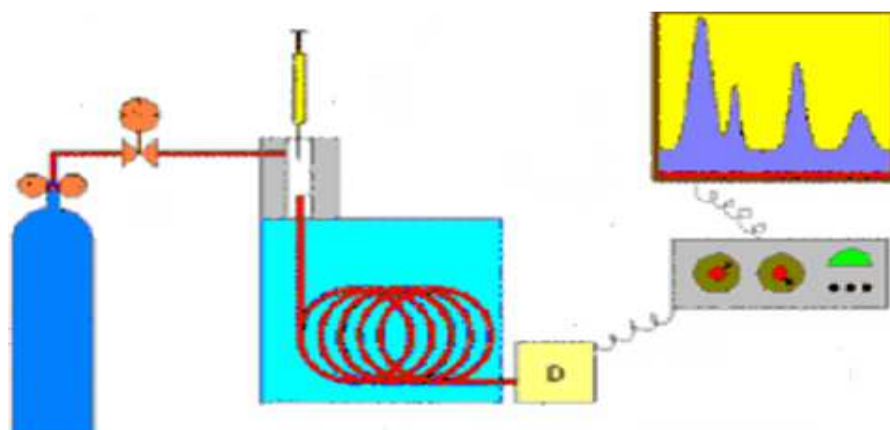
Para quantificar ou identificar substâncias de qualquer natureza é necessário, na maioria dos casos, separar o composto de interesse dos demais elementos da amostra. Dentre as principais técnicas de separação, destaca-se a cromatografia (GIL, 2007).

A Cromatografia Gasosa (CG) é uma técnica para separação e análise de misturas de substâncias voláteis. A amostra é vaporizada e introduzida em um fluxo de um gás adequado denominado de fase móvel (FM) ou gás de arraste – específico para cada detector (He, N₂ ou H₂). Este fluxo de gás com a amostra vaporizada passa por um tubo contendo a fase estacionária FE (coluna cromatográfica), onde ocorre a separação da mistura. A FE pode ser um sólido adsorvente (Cromatografia Gás-Sólido) ou, mais comumente, um filme de um líquido pouco volátil, suportado sobre um sólido inerte (Cromatografia Gás-Líquido com

Coluna Empacotada ou Recheada) ou sobre a própria parede do tubo (Cromatografia Gasosa de Alta Resolução).

As substâncias separadas saem da coluna dissolvidas no gás de arraste e passam por um detector; dispositivo que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluído. O registro deste sinal em função do tempo é o cromatograma, sendo que as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, o que possibilita a análise quantitativa (Figura 7) (ATKINS, 2001).

Figura 7- Esquema representativo da Cromatografia Gasosa.



Fonte: www.cpatc.embrapa.br/eventos/.../cromatografiagasosa.pdf

Em um sistema cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (GC-MS) as amostras provenientes do cromatógrafo a gás, no estado gasoso, são bombardeadas por elétrons e são quebradas gerando íons positivos, negativos e radicais e a partir da diferença entre massa/carga dos íons gerados irá separá-los (EWING, 2002).

2.4 Ensaios Pré-clínicos

2.4.1 Antioxidantes

Oxidação é a transferência de elétrons de um átomo a outro e apresenta uma parte essencial do metabolismo aeróbio, sendo o oxigênio o último aceptor de elétrons num sistema de fluxo de elétrons que produz energia na forma de adenosina tri-fosfato (ATP). Entretanto, quando ocorre transferência de elétrons desemparelhados ou de um único elétron, ocorre geração de radicais livres. Exemplos de espécies reativas de oxigênio (EROs), incluem superóxidos ($O_2^{\bullet}$), peróxil ($ROO^{\bullet}$), alcóxil ($RO^{\bullet}$), hidroxil ($HO^{\bullet}$) e óxido nítrico ($NO^{\bullet}$) (PIETTA, 2000).

Os EROs causam danos ao DNA e podem oxidar lipídios e proteínas. Assim estes radicais livres são responsáveis pelo envelhecimento, e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (SOUSA et al., 2007).

Os antioxidantes são substâncias que têm por característica diminuir ou bloquear as reações de oxidação induzidas por estes radicais livres. Desta forma, é preocupação constante da Cosmetologia prevenir e atenuar o envelhecimento cutâneo por meio da busca e do estudo de substâncias antioxidantes eficazes, que são oferecidas em produtos cosméticos aos consumidores, voltando-se cada vez mais aos vegetais; detentores de uma grande infinidade de substâncias antioxidantes naturais (MAGALHÃES, 2000).

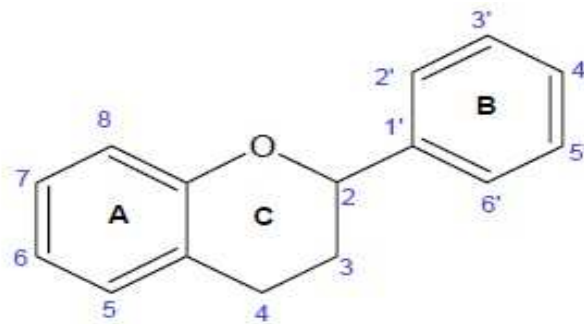
Dentre as substâncias ativas com atividade antioxidante em pregadas em produtos cosméticos, pode-se destacar as vitaminas, principalmente C e E, os flavonóides isolados e os extratos vegetais que contém alta concentração de polifenóis (DAL'BELO, 2008).

Os compostos fenólicos têm recebido atenção nos últimos anos por sua ação antioxidante, inibindo a peroxidação lipídica e a lipoxigenase *in vitro*. Estes compostos desempenham um papel importante, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOUSA et al., 2007).

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a um radical lipídico, e algumas vezes como quelantes de metais. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentado por estas substâncias (LUZIA; BERTANHA; JORGE, 2010).

A eficiência do antioxidante fenólico é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático. A estrutura básica dos flavonóides consiste de um núcleo contendo 15 carbonos arranjados em 3 anéis (C6-C3-C6) denominados A, B, C (Figura 8). A atividade antioxidante de um flavonóide depende de sua estrutura e de seus substituintes nos anéis B e C (LUZIA; BERTANHA; JORGE, 2010; DAL'BELO, 2008).

Figura 8- Estrutura básica dos flavonóides.



Fonte: [http:// infoescola.com](http://infoescola.com)

Além da ampla utilização de flavonóides em suplementos alimentares, estes compostos têm sido empregados em produtos cosméticos, apresentando destaque, as isoflavonas da soja e as catequinas do chá verde (DAL'BELO, 2008).

2.4.1.1 Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; um dos mais usados consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura que absorve a 515 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional (SOUSA, et al., 2007).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE50), também chamada de concentração inibitória (CI50). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE50 e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA, et al., 2007).

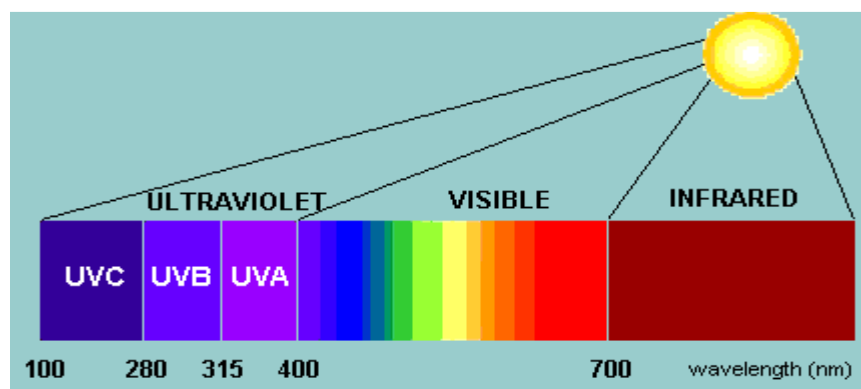
2.4.2 Fotoproteção

Os perigos a saúde relacionados com a radiação ultravioleta (ex.: fotoenvelhecimento, câncer de pele) podem ser minimizados por uma proteção adequada através de produtos cosméticos fotoprotetores, encontrados no mercado com diversos Fatores de Proteção Solar (FPS) e diferentes amplitudes de absorção na região do ultravioleta (UVA e UVB) (FLOR et al, 2006).

O filtro solar é uma substância que tem a capacidade de refletir e/ou absorver as radiações ultravioletas que atingem a pele, podendo ser orgânicos e inorgânicos. Os filtros orgânicos absorvem a radiação ultravioleta (alta energia) e a transformam em radiações com energias menores e inofensivas ao ser humano. Os filtros inorgânicos atuam como barreira mecânica, promovendo o espalhamento da luz UV, impedindo assim a penetração da radiação na pele. (VIOLANTE et.al., 2008; FLOR et al., 2006).

Para ter uma proteção completa geralmente usa-se uma combinação entre os filtros, pois os mesmos absorvem apenas parte da região do ultravioleta: UVA (320 a 400 nm) ou UVB (290 a 320 nm) (Figura 9). Por outro lado, a combinação de diferentes tipos de filtros pode causar alto grau de irritabilidade quando aplicada à pele (FLOR et al., 2006).

Figura 9- Espectro da radiação solar não-ionizante.



Fonte: [http:// homesolariums.com](http://homesolariums.com)

A possibilidade de reações fotoalérgicas e fototóxicas devido ao potencial fotossensibilizante dos filtros químicos sintéticos e as limitações das suas concentrações de uso pelos órgãos regulatórios colocam as matérias-primas naturais que apresentam atividade fotoprotetora ou capazes de potencializar o fator de proteção solar (FPS) destes filtros como um alvo interessante para as pesquisas atuais (MORAES et al., 2007).

Assim, estudiosos da área buscam encontrar no reino vegetal substâncias que possam agir como filtros solares naturais, absorvendo as radiações de comprimento de onda da região ultravioleta, especialmente as compreendidas entre UVB, conhecidas como eritematógenas, além das outras do espectro UVA, que hoje também são alvo de estudo como danosas à pele (BILLHIMER, 1987; FREITAS, 1990).

De acordo com a literatura (MARKHAN et al., 1998), o teor de flavonóides produzidos por uma planta é considerado fator importante de proteção para as plantas contra a radiação ultravioleta. Os extratos de plantas que contem flavonóides são capazes de absorver a luz ultravioleta, o que mostra a possibilidade de uso desses extratos como filtros solares em preparações fotoprotetoras de uso tópico (SOUZA et al., 2005; NASCIMENTO, 2009). O espectro de absorção ultravioleta de um flavonóide mostra, em geral, dois picos máximos de absorção, um entre 240-280 nm e outro a 300-550 nm. (SOUZA et al., 2005).

Segundo Flor et. al. (2009) espécies que possuem constituintes que tenham a capacidade de absorção da luz ultravioleta, associada à possível atividade antioxidante, podem ter atividade fotoprotetora. Por sua vez, Gaspar (2007) assegura que entre os antioxidantes freqüentemente utilizados para tratar e prevenir o fotoenvelhecimento e outras doenças provocadas pela radiação UV estão às vitaminas A, C e E.

Baseando-se nesses dados, uma diversidade de extratos de plantas tem sido incorporados em formulações cosméticas, como filtros solares, devido ao seu potencial fotoprotetor. Estudos mostram a aplicação dos óleos de Côco, amendoim, algodão e gergilim (RANGEL; CORRÊA, 2002). Além dos extratos: *Achillea millefolium*, *Hamamelis virginiana*, *Matricaria chamomilla*, *Mentha piperita* e *Salvia officinalis*. (SOUZA et al., 2005) Para tanto, existe a necessidade de que os mesmos apresentem em sua estrutura moléculas que se assemelhem aos filtros químicos sintéticos (VIOLANTE, et al., 2008).

Apesar destes resultados positivos, a utilização de filtros solares naturais é ainda discutível, além das variações no conteúdo de um mesmo extrato em função do modo de extração, tipo de solução extrativa e fonte, a ausência de informações inerentes à sua estabilidade frente à radiação UV são fatores que limitam seu uso como filtros solares (RANGEL; CORRÊA, 2002). Além disso, a absorção máxima destes produtos não é muito bem definida porque são misturas de diferentes moléculas mais ou menos ativas (VIOLANTE, et al., 2008).

Porém, os extratos e óleos de plantas podem ser utilizados como potencializadores do fator de proteção solar – FPS (VIOLANTE, et al., 2008) ou como coadjuvantes em formulações fotoprotetoras, associados aos filtros sintéticos, pois independentemente de seus

efeitos filtrantes tais produtos apresentam enormes vantagens eudérmicas (RANGEL; CORRÊA, 2002). Ademais a utilização de produtos naturais em formulações cosméticas pode atrair a atenção do consumidor, através do apelo ao marketing natural.

2.4.2.1 Avaliação do fator de proteção solar (FPS)

No Brasil, para determinação do FPS (UVB), a ANVISA determina através da RDC 237/2002 que sejam empregados os métodos *in vivo* preconizados pelo FDA (*Food and Drug Administration Agency*) e pela COLIPA (*European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association*). Para a quantificação do FPA (Fator de Proteção UVA) não se tem nenhuma recomendação estabelecida, mas já existem alguns métodos utilizados internacionalmente recomendados pela JCIA (Associação das Indústrias Cosméticas do Japão) e pela COLIPA, que estão em fase implantação no Brasil (VELASCO, 2011).

Dentre as metodologias *in vitro* utilizadas, podemos citar a análise por Transmitância Difusa e a Análise Espectrofotométrica de soluções diluídas, mais conhecida como Método de Mansur. Esta última é a mais difundida, por ser eficaz, rápida e por permitir uma boa correlação com os resultados *in vivo* (SANTOS et al., 1999; ROSA et al., 2008, FERRARI et al., 2007)

No método de Mansur *et al.* (1986) a determinação do FPS *in vitro* de filtros químicos pode ser realizada por meio da leitura espectrofotométrica de suas soluções diluídas na concentração de 0,2 µL/mL, e posterior tratamento matemático por meio da determinação da absorbância (Equação 1). Para essa técnica, são utilizados os solventes (e brancos de leitura) metanol, isopropanol ou etanol. As leituras espectrofotométricas são realizadas entre os comprimentos de onda de 290 a 320nm com intervalos de 5nm. O cálculo do FPS é obtido pela Equação 1, conforme Mansur et al. (1986) e Sayre et al. (1979) e os demais dados envolvidos no cálculo estão expostos no Quadro 1.

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

Equação (1)

Onde:

FC = fator de correção (=10); $EE(\lambda)$ = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda λ ; $I(\lambda)$ = intensidade do sol no comprimento de onda λ ; $Abs(\lambda)$ = absorbância da solução no comprimento de onda λ .

Quadro 1- Ponderação empregada no cálculo do fator de proteção solar por espectrofotometria, com um FC=10.

λ (nm)	EE (λ) x I (λ) valores relativos
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
1,0000	

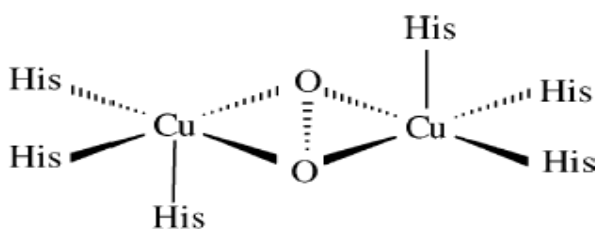
Fonte: SAYRE et al., 1979

2.4.3 Inibição da tirosinase

A enzima tirosinase também é conhecida como polifenoloxidase, monofenol oxidase, catecol oxidase ou o-difenol oxigênio redutase. (MAYER, 2006; FARIA *et al.*, 2007). As distintas designações são fornecidas devido ao tipo de substrato catalisado e/ou devido à atividade da enzima (cresolase, catecolase, difenolase e fenolase) (RICHARD-FORGET; GAUILLARD, 1997).

Essa enzima contém cobre como grupo prostético (Figura 9) e a diferença da maioria das enzimas é que, pode catalizar dois tipos de reações diferentes. Estas reações incluem a hidroxilação de monofenóis para produzir o-difenóis (atividade creolase) e a remoção de hidrogênios dos o-difenóis para produzir quinonas (atividade catecolase). (POLESEL; SINHORINI; PERONE, 2010).

Figura 10- Ligações dos átomos de cobre no sítio ativo da enzima tirosinase.

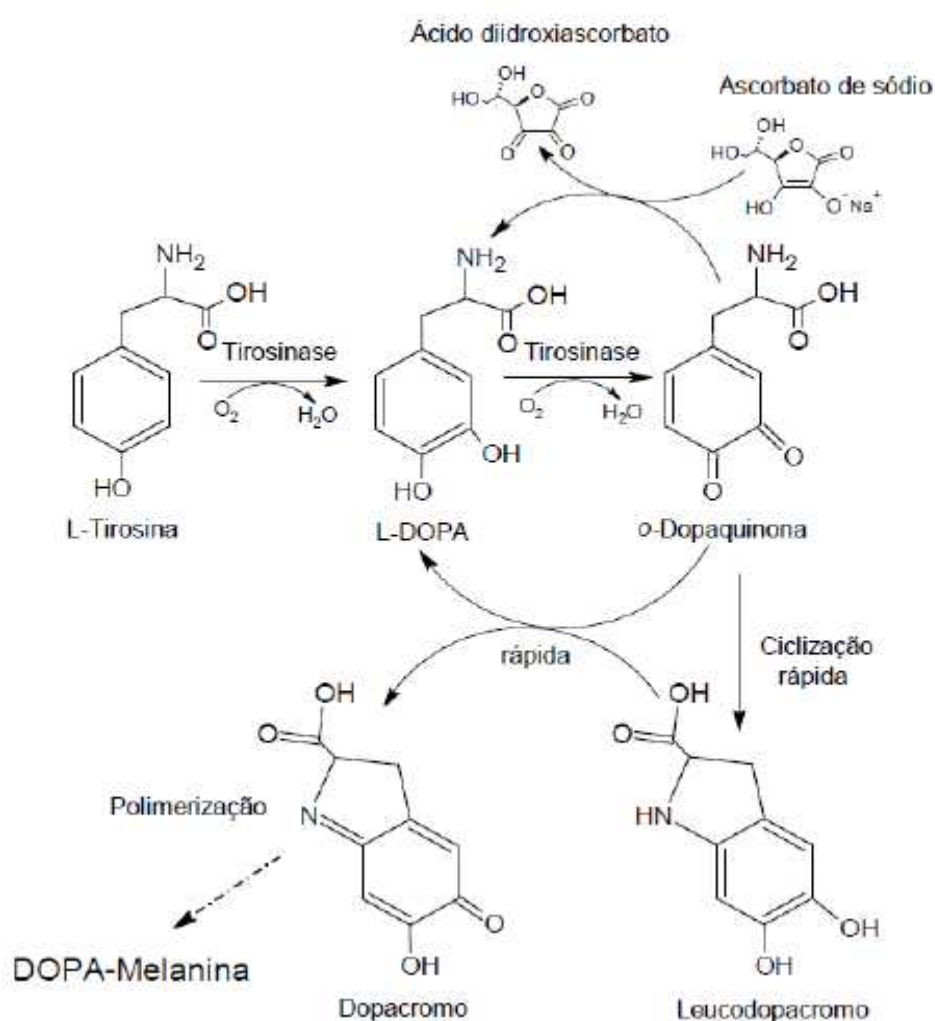


Fonte: Souza, 2011.

A tirosinase é amplamente distribuída na natureza, estando presente em plantas, animais e microrganismos, e possui um papel fundamental na biossíntese de melanina e em outros processos fisiológicos (FARIA et al., 2007).

Na síntese de melanina, a qual ocorre nos melanócitos, a tirosinase converte L-tirosina (monofenol) em L-Dopa (*o*-difenol). Em seguida, a L-Dopa é oxidada a *o*-dopaquinona (*o*-quinona), a qual é espontaneamente ciclizada na forma de leucopacromo que é rapidamente convertido em dapacromo, o qual é polimerizado formando melanina (Figura 11) (FALGUERA; IBARZ, 2010).

Figura 11- Biossíntese de melanina.



Fonte: Souza, 2011.

Nos mamíferos, a melanina, tem o papel de determinar a cor da pele e dos cabelos, além de remover espécies reativas oxigenadas da pele protegendo-a contra os raios UVA e UVB (AMORIM, 2007).

A tirosinase constitui um vasto campo para pesquisa devido à importância dessa enzima nas indústrias farmacêuticas e de alimentos, além das suas aplicações biotecnológicas e ambientais, pois são utilizadas tanto para descoloração quanto para remoção de fenóis presentes em efluentes. Para indústria farmacêutica, os inibidores de tirosinase são importantes para o tratamento de algumas patologias dermatológicas associadas à hiperpigmentação causadas pela produção anormal de melanina (SOUZA, 2011).

O aumento da atividade da tirosinase e por consequência o aumento do número de melanócitos promove o aparecimento de hiperpigmentações (manchas mais escuras). A excessiva pigmentação na superfície da pele pode apresentar-se na forma de melasma, aparecimento de manchas causadas pela idade e também pela intensa exposição ao sol, raios UVA e UVB (CONCHOROSKI; CORRÊA, 2005). Por isso, inibidores de tirosinase têm sido empregados na indústria cosmética para o clareamento da pele e despigmentação após queimaduras solares.

Em função dos efeitos indesejáveis causados ou associados à ação da tirosinase, a busca por compostos que sejam inibidores dessa enzima tem sido de interesse crescente na área de pesquisa e da indústria farmacêutica, que têm interesse em agentes eficazes nos distúrbios de pigmentação.

Uma variedade de agentes inibidores de fontes naturais que inibem as atividades monofenolase e difenolase da enzima tirosinase já foi identificada. Alguns flavonóides com potente atividade de inibição sobre a tirosinase tais como, quercetina e kaempferol, podem ser isolados de várias plantas. O kaempferol e a quercetina inibem de forma competitiva a atividade da tirosinase pela capacidade de quelar o cobre presente no sítio ativo da enzima levando a inativação da tirosinase (SOUZA, 2011).

2.4.4 Antimicrobianos

Nos últimos séculos, a resistência microbiana frente aos antibacterianos vem tornando-se um sério risco à saúde coletiva, dificultando e impondo diversas barreiras ao controle de microrganismos patogênicos de interesse médico-sanitário (DANTAS et al., 2010).

Bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* despontam-se como contaminantes comuns na indústria de cosméticos e instalações hospitalares. Tais microrganismos apresentam cepas resistentes aos antimicrobianos usuais, tornando a sua ocorrência uma ameaça potencial à saúde (DANTAS et al., 2010).

O uso de plantas pode representar uma alternativa de substituição aos anti-sépticos e desinfetantes sintéticos convencionais, visando evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana a estes compostos, uma vez que metabólitos vegetais atuam por mecanismos variados (BARBOUR et al., 2004; MONTHANA; LINDEQUIST, 2005).

Ademais, é crescente a preocupação dos consumidores em fazer uso de produtos menos agressivos de origem natural ou o mais próximo possível desta origem. Esta é a realidade à qual está submetida, também, a indústria cosmética, que busca desenvolver formulações com produtos naturais visando, por exemplo, a conservação do produto final (PACKER; LUZ, 2007).

Um dos melhores exemplos são produtos que contenham em seus constituintes, flavonóides. Muitos deles apresentam atividade biológica como, por exemplo, podem-se citar as atividades antioxidantes, antiinflamatória e antibacteriana que têm um grande potencial de exploração na área cosmética (PERRUCHON, 2002). Produtos cosméticos contendo 1% de flavonóides em peso já apresentam atividade microbicide e, além disso, são hidrossolúveis e não causam irritação cutânea o que facilita sua aplicação cosmética (ROCHA, 1994).

2.4.4.1 Avaliação da atividade antimicrobiana

Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais. Os mais conhecidos incluem método de difusão em ágar e método de diluição (macrodiluição e microdiluição).

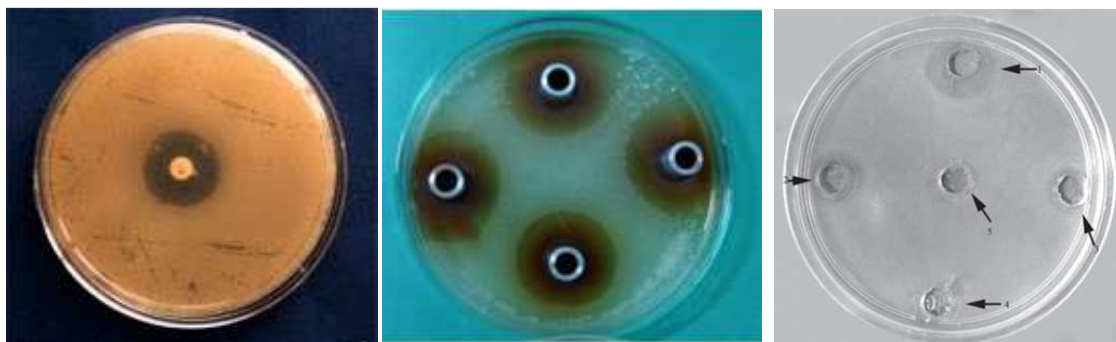
O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada. As técnicas de aplicação da substância antimicrobiana no método de difusão são por meio de disco, cilindros de aço inoxidável ou vidro e perfuração em ágar (PINTO et al., 2003).

O teste de difusão em disco é aceito pelo FDA e estabelecido como padrão pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (BARRY; THORNSBERRY, 1991). Este teste consiste na aplicação de 10 µL da solução de agente antimicrobiano em discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro, nas diferentes concentrações a serem testadas variando de 31,25 a 500µg/mL (Figura 12A).

O teste de difusão com cilindros é recomendado pela Farmacopéia Brasileira 4ªed. (1998) para avaliação da atividade antimicrobiana. A técnica envolve a aplicação cilindros de

aço inoxidável no meio de cultura solidificado já inoculado com os microorganismos e a adição da solução em estudo nos cilindros (Figura 12B) (OSTROSKY et al., 2008).

Figura 12- Ilustração do teste de difusão em Agar. A= discos; B= cilindros; C= poços.

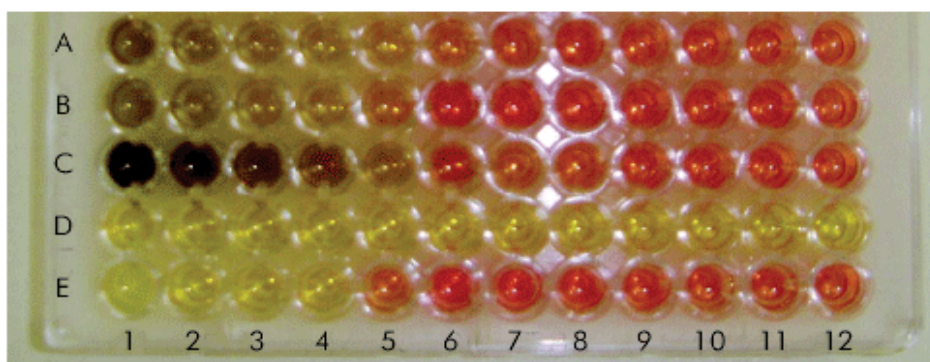


Fonte A: <http://grupo3-12a.blogspot.com>; Fonte B: Arquivo próprio; Fonte C: <http://scielo.br>

Na técnica de perfuração em ágar, a remoção do meio de cultura sólido é realizada com auxílio de cilindros de 6-8 mm de diâmetro para a formação de poços, nos quais é possível aplicação das substâncias a serem analisadas (Figura 12C) (OSTROSKY et al., 2008).

O método de diluição em caldo considera a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo desafiado no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. A avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência. O método fornece resultados quantitativos e não é influenciado pela velocidade de crescimento dos microrganismos (Figura 13) (PINTO et al., 2003).

Figura 13- Ilustração do método da microdiluição.



Fonte: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo>.

Ressaltamos, finalmente, a importância de avaliar os fatores interferentes em cada técnica, para enfim determinar o método mais adequado de acordo com o objetivo almejado.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar físico-quimicamente o óleo e o extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. e realizar ensaios pré-clínicos visando a utilização deste vegetal no desenvolvimento de um novo fitocosmético.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar, através de triagem fitoquímica, os principais constituintes químicos da *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Aplicar métodos farmacopéicos para analisar os parâmetros da qualidade dos cladódios e sementes antes dos processos extrativos;
- Obter o extrato seco dos cladódios de *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Extrair o óleo das sementes do fruto de *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Caracterizar o extrato seco e óleo por análise térmica e infravermelho;
- Verificar a composição de ácidos graxos do óleo por cromatografia gasosa;
- Realizar quantificação de fenóis totais no extrato seco de *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Averiguar a atividade antioxidante do extrato seco e do óleo *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Realizar um screening microbiológico do extrato seco e do óleo das sementes da *O. ficus-indica* (L.) Mill., com a finalidade de verificar sua atividade antibacteriana entre os patógenos testados;
- Verificar a atividade de inibição da tirosinase do extrato seco e do óleo *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Empregar a espectrofotometria no ultravioleta para analisar o potencial fotoprotetor tanto do extrato nebulizado quanto do óleo das sementes de *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Determinar o Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* das emulsões com incorporação do extrato seco e do óleo de *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Averiguar a ocorrência de potencialização do FPS das formulações fotoprotetoras após incorporação do extrato seco e do óleo de *O. ficus-indica* (L.) Mill.;
- Verificar o pH e as características macroscópicas das emulsões com os produtos derivados de *O. ficus-indica* (L.) Mill..

ARTIGO I

**Physico-chemical characterization and *in vitro* evaluation of the photoprotective activity
of the oil from the seeds of *Opuntia ficus- indica* (L.) Mill**

Artigo submetido à Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Physico-chemical characterization and in vitro evaluation of the photoprotective activity of the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Cinthy Maria Pereira de Souza^{1,3}, Alessandra Conceição Apolinário^{2,3}, Cleildo Pereira de Santana³, Diego Pereira Gabriel dos Santos³; Bruno Samid Aragão Soares³; Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha⁴, Thaisa Leite Rolim⁴, Valdir Florêncio da Veiga Junior⁵, Davi Pereira Santana^{1,6}, José Alexsandro da Silva^{2,3*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

²Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

³Departamento de Farmácia/ Grupo de Pesquisa Sistemas de Liberação de Fármacos e Biofarmácia / Universidade Estadual da Paraíba - UEPB.

⁴Centro de Biotecnologia/ Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

⁵Departamento de Química/ Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

⁶Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos- NUDFAC/ Departamento de Ciências Farmacêuticas - UFPE.

***Correspondence:** J.A.Silva. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UEPB. Rua Juvêncio Arruda, s/n, 58109-790, Bodocongó - Campina Grande-PB - Brazil. Tel.: +55-83-3315-3300. Ramal: 3526. E-mail: alexuepb@pq.cnpq.br

ABSTRACT

Opuntia ficus-indica (L.) Mill is a cactus widely cultivated in northeastern Brazil due to its enormous growth potential and its multiple uses. This study aimed to characterize physico-chemically the oil from the seed of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., verify the fatty acid composition of this oil and its *in vitro* photoprotective potential in the region of UVB radiation. The physico-chemical characterization was performed by thermal analysis (TA), infrared spectrometry (IR) and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). The photoprotective potential was determined by UV spectrophotometry. It was observed that oil of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. is rich in saturated and unsaturated fatty acids, primarily in linoleic acid (~65%), which can confer protection against UVB radiation. However, the results of evaluation of SPF *in vitro* indicated that in the conditions of the study the oil from the seeds of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. does not have photoprotection activity.

KEYWORDS: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.; Caracterização físico-química; Composição de ácidos graxos; Fotoproteção.

RESUMO

Opuntia ficus-indica (L.) Mill é uma cactácea amplamente cultivada no nordeste brasileiro devido ao seu enorme potencial produtivo e suas múltiplas utilidades. Este estudo teve como objetivo caracterizar físico-quimicamente o óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica*(L.)Mill., verificar a composição de ácidos graxos deste óleo e seu potencial de fotoproteção *in vitro* na região da radiação UVB. A caracterização físico-química foi realizada por análise térmica, espectrometria de infravermelho (IR) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). O potencial fotoprotetor foi determinado por espectrofotometria na região do ultravioleta (UV). Foi então observado que o óleo de *Opuntia ficus-indica* (L.)Mill. é rico em ácidos graxos saturados e insaturados, principalmente em ácido linoléico (~65%), o qual pode conferir proteção contra radiação UVB. Contudo, os resultados da avaliação do FPS *in vitro* indicaram que, nas condições do estudo, o óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. não possui atividade fotoprotetora.

UNITERMOS: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.; Caracterização físico-química, Composição de ácidos graxos; Fotoproteção;

INTRODUCTION

Opuntia ficus-indica (L.) Mill. is a cactus native to Mexico's arid regions and is widespread through South America, Australia, South Africa and throughout the Mediterranean region (Leo et al., 2010).

Members of the cactus family are biologically adapted to resist intense sun light, drought and extreme temperature variations between day and night. *Opuntia ficus-indica* has been used as animal feed in the Northeast of Brazil (Barbera et al., 2001). In many countries, the fruits of *Opuntia ficus-indica* has been used in human food, because they have strong sweet flavor, are juicy and rich in nutritional compounds, such as the ascorbic acid, polyphenols, amino acids, minerals, vitamins and others (Leo et al, 2010; Ozcan e Al Juhaimi, 2011).

Current research with this species reveal its antiviral action, anticancer, anti-inflammatory, hypoglycemic, antioxidant and diuretic (Arauz, 2009; Galati et al, 2003; Zou et al, 2005; Santoscoy et al, 2009). Furthermore, studies on nutrition indicate that their seeds are rich source of natural fibers, and given the high concentration of essential fatty acids, sterols, carotenoids and fat soluble vitamins, the oil seeds can be used as a nutraceutical agent (Ramadan, Mörsel, 2003; Ozcan, Al Juhaimi, 2011)

Note, therefore, that current researches with *Opuntia ficus-indica* have been performed in the search for new drugs and functional foods. There is, however, a need for studies that characterize physico-chemically the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* (Enouri et al., 2005) and demonstrate potential activities and employability of this raw material in the area of new cosmetic development, such as the study performed by Schmid et al. (2005) which created a product with moisturizing, soothing and protective from UVA radiation.

Considering that species such as *Opuntia ficus-indica*, which have phenolic constituents, which are capable of absorbing ultraviolet light, associated with the possible antioxidant activity can express photoprotective activity (Flor, Davolos, Correa, 2007). For this reason, the paper aimed to characterize physico-chemically the oil from the seed of *Opuntia ficus-indica* cultivated in the Northeast of Brazil, verify the fatty acid composition of this oil and its *in vitro* photoprotective potential in the region of UVB radiation, aiming its employability in cosmetics.

MATERIAL AND METHODS

Extraction of vegetable oil

Ripe fruits of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. were collected in Juazeirinho - PB (Brazil) and identified by I.C. Dantas. The voucher specimen is stored at the plant Manoel de Arruda Camara Herbarium (ACAM) of the State University of Paraíba, under registration number 907. The seeds were dried in a forced air circulation at 40°C and subsequently crushed in a knife mill Wiley®. The oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* was extracted with hexane in a soxhlet apparatus for nine hours. The organic phase was removed using a rotary evaporator under reduced pressure.

Physico-chemical characterization

Analysis of fatty acids

The fatty acid composition present in the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* was determined by Gas Chromatography (GC) after the esterification process, according to the methodology of Maia (1992). Qualitative analysis of the substances was carried out in gas chromatograph couple to a mass spectrometer (GC-MS, Shimadzu, QP-5000), equipped with a fused silica capillary column OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm Ohio Valley Specialty Chemical, Inc.), operating by electrons impact (70eV). The analysis condition were: injector: 240 °C; detector: 230 °C; carrier gas: He; flow rate: 1,0 mL.min⁻¹, dilution: 1 µL fixed oil/1,0 mL ethyl acetate, volume injection: 1 µL, Split: 1/20. The oven temperature program was: 110°C (1'), 110-170°C, 10°C/min.; 170°C (2'); 170-173°C, 1,5°C/min.; 173-180°C, 1,0°C/min.; 180°C (7'); 180-230°C, 6°C/min.; 230°C (20'). Quantitative analysis was conducted in gas chromatography with flame ionization detector (GC-DIC), using the same condition as above. The identification of substances was performed by comparing their mass spectra with database system GC-MS (Nist. 62 lib.) and retention index (Adams, 2007) and comparison with commercial standards of methyl esters fatty acids.

Thermal Analysis (TA)

The thermal stability was determined through the differential scanning calorimetry (DSC) using a DSC Q20 of the TA Instruments®. The heating rate was 10 °C.min⁻¹, under nitrogen atmosphere of 50 mL.min⁻¹. A sample of 2 mg was weighed and subjected to a

temperature range from 25 to 500 °C. For realization of thermogravimetry (TG) used an SDT Q600 of the TA instruments[®] brand, with a heating rate of 10 °C.min⁻¹ under nitrogen atmosphere (50 mL.min⁻¹). Were weighed 8.5 mg in alumina crucibles and subjected to a temperature range from 25 to 900 °C. For the analysis of DSC and TG curves we used the TA Universal Analysis software.

Infrared absorption spectroscopy (IR)

The spectrum of absorption in the mid-infrared region was obtained using the equipment PerkinElmer[®] (Spectrum 400) with attenuated total reflectance device with crystal of selenium (ATR). The analysis was performed with 16 scans and resolution 4 cm⁻¹ in the region between 4000 and 650 cm⁻¹.

Evaluation of the potential photoprotective

Absorption in the infrared region

To determine the peak wavelength (λ_{max}) and maximum absorbance (A_{max}) the oil was diluted in hexane PA with a concentration of 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. The scan was performed between wavelengths of 200 a 400nm in a Shimadzu[®] spectrophotometer with quartz cells of 1 cm of optical path, to verify the absorption in all regions of the ultraviolet spectrum (UVA, UVB e UVC). The hexane PA was used as white and the experiment was performed in triplicate.

Sun protection factor evaluation

It was verified the Sun Protection Factor (SPF) of oil of *Opuntia ficus-indica* as was also verified the occurrence of potentiation of sunscreen SPF of a formulation with the addition of this oil. As a vehicle for incorporating the derivative of *Opuntia ficus-indica* was used self-emulsifying base, Aristoflex AVL[®] (Clariant Brazil), which is a mixture of emulsifiers, emollients and thickening polymer. The emulsion was prepared by the method of reverse phase cold and used as adjuvants the preservative methylparaben and the surfactant polysorbate 80. Was used as sunscreen octyl methoxycinnamate (Table I).

TABLE I - Composition of formulations for SPF evaluation.

COMPOSITION	F1 (%)*	F2 (%)*	F3 (%)*	F4 (%)*
Aristoflex AVL [®]	5.0	5.0	5.0	5.0
Methylparaben	0.15	0.15	0.15	0.15
Polysorbate 80	2.0	2.0	2.0	2.0
Oil of <i>O. ficus-indica</i>	-	-	10.0	10.0
Octyl methoxycinnamate	-	7.5	-	7.5
Water	qsp	qsp	qsp	qsp

*Percent by weight (w/w)

The evaluation of the SPF of the emulsions was performed according to spectrophotometric method proposed by Mansur *et al.* (1986). For this, the emulsions were diluted in ethanol PA in concentration of 0,2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and spectrophotometric readings were performed in a spectrophotometer UV/VIS (Schimadzu 1240) in a quartz cuvette 1.0 cm pathlength, in the range of 290-320 nm at intervals of 5 nm. The absorbance values obtained were added in equation (Mansur *et al.*, 1986) and was then obtained spectrophotometric the SPF in vitro. The experiment was performed in triplicate. The results of the SPF were expressed by the arithmetic mean of three determinations.

RESULTS AND DISCUSSION

Composition of fatty acids

The chromatogram of the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* and the composition of saturated and unsaturated fatty acids present in this oil can be viewed, respectively, in Figure 1 and Table II.

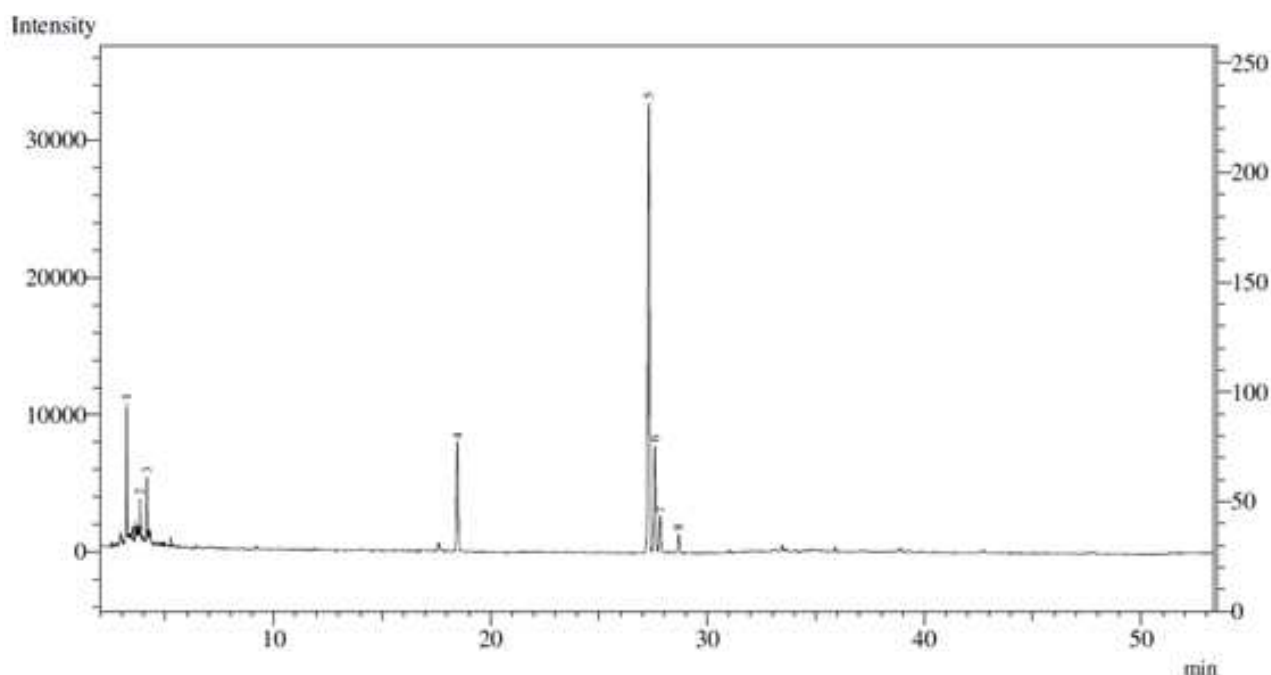


FIGURE 1: Chromatogram of the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica*.

TABLE II- Chemical composition of esterified oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica*.

Peaks	Substance	Saturation	Retention Time*	Relative %
1	n-undecane	-	3.2	5.52
2	n-dodecane	-	3.8	1.95
3	n-tridecane	-	4.1	2.60
4	Palmitic acid	C16:0	18.4	4.84
5	Linoleic acid	C18:2 (9,12)	27.3	64.78
6	Oleic acid	C18:1 (9)	27.5	14.83
7	us ^a	-	27.8	4.95
8	Stearic acid	C18:0	28.6	0.52

^a Unidentifiable substances. *Retention time of the substances (minute) and comparison of mass spectra with the commercial standard.

It was observed that the oil in this study has predominantly unsaturated fatty acids 79.61%. This result is in agreement with those of Ramadan and Mörsel (2003), who previously reported the major saturated and unsaturated fatty acids present in the oil of *Opuntia ficus-indica* cultivated in Germany. The pattern of lipids in the cactus is comparable to that of sunflower oil and grape seed (Tan, Che Man, 2000). Recently, Enouri et al. (2005)

reported levels of linoleic acid and palmitic superior to the present study (74.00% vs. 64.78%) and (7.20% vs. 4.84%), respectively. However, with respect to oleic acid, the concentration detected by this study was lower (12.80% vs. 14.83%).

Thermal Behavior

In the DSC curve (Figure 2) of the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* were observed two events, being an exothermic with peak at 159.56 °C and another endothermic with peak at 432.57 °C.

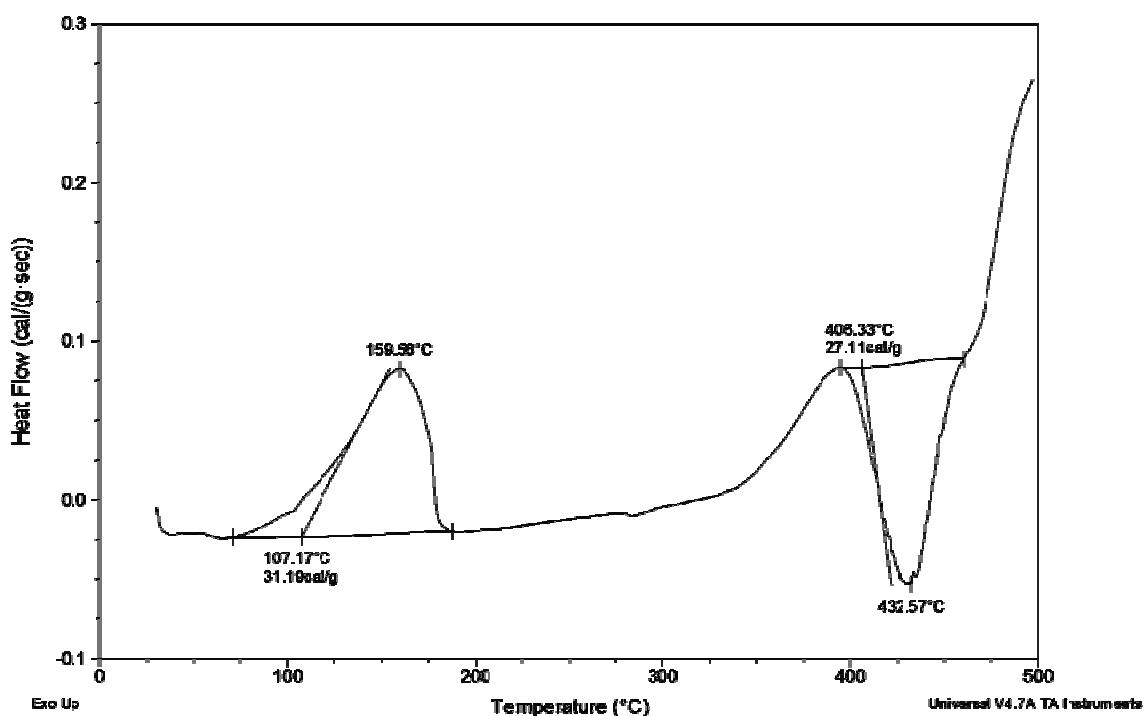


FIGURE 2- DSC curve of the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica*.

The first event may be associated with a crystallization peak favored by the power supply to the sample in sufficient quantity to promote a structural reorganization of the oil molecules (Herrera, 2005). According to Prado et al. (2007) the main factors that influence on the crystallization temperature of lipids are the size of their molecules and the presence of double bonds in carbon chains.

Considering the palm oil is rich in saturated and unsaturated fatty acids, the endothermic event can match the thermal decomposition of these compounds, because according to Reda and Carneiro (2007) at temperatures above 200 °C occurs maximum

decomposition of the oils. Faria et al. (2002) analyzed the thermal stability of some seed oils typical of the cerrado and observed similar results to the present study about the final temperature of decomposition of oil guariroba (433 °C), babassu (440 °C), murici (477 °C), araticum (478 °C) and buriti (483 °C).

According to Kasprzycha-Guttman and Cozeniak (2010) the thermal decomposition of saturated fatty acids requires more energy than the unsaturated acids. Then, as shown in the results of this study that the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* contains mainly unsaturated fatty acids (~80%) we can try to justify the enthalpy (ΔH) required for decomposition of this oil was relatively low (27.11 cal/g). The ΔH required for transition from decomposition of palm oil was higher than that of soybean oil (19.00 cal/g), corn (11.60 cal/g), sunflower (21.61 cal/g) and less than the canola oil (35.30 cal/g), rice (51.13 cal/g) and olive (46.37 cal/g), which has significant levels of antioxidants (Santos et al., 2002).

The thermal decomposition of oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* (Figure 3) occurs in two main steps. The first stage begins at 219.39 °C and has a weight loss of 17.74%. The second phase begins at 336.25 °C and has a mass loss of 76.15%.

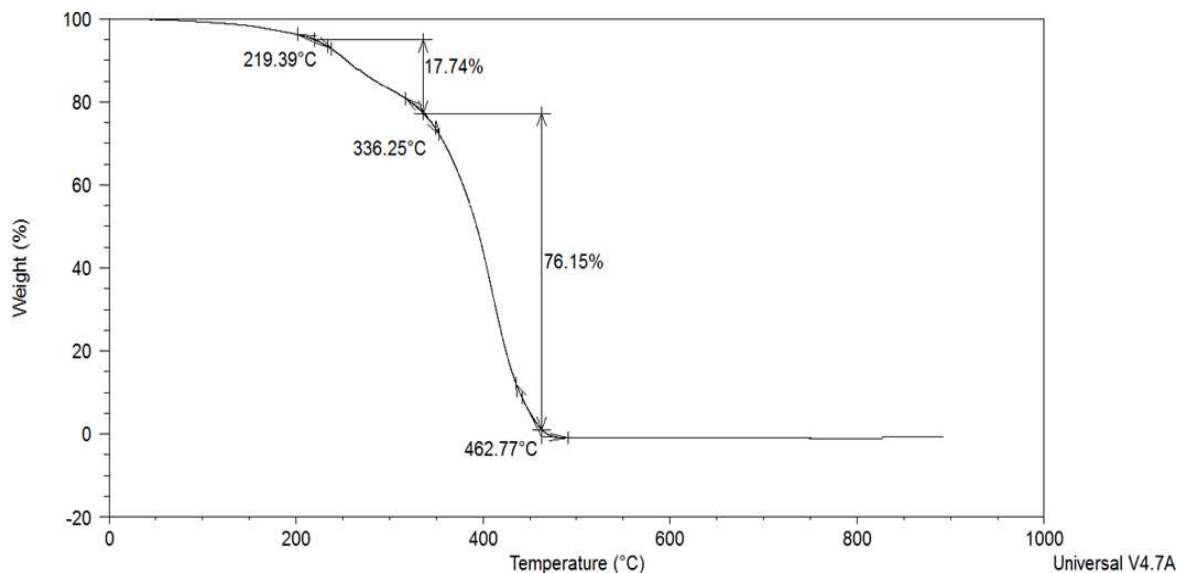


FIGURE 3 - TG curve of oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica*.

The first step is probably the decomposition of compounds with chains from 8 to 16 carbon atoms and the second step probably the decomposition of other saturated fatty acids and higher unsaturated carbon chains such as stearic acid (C18:0), oleic (C18:1) and linoleic

(C18:2) (Santos, 2008). It is observed that there was no formation of residue, which may correspond to the complete decomposition and carbonization of the sample. Similar results were found in the thermal stability study by Santos (2008) with babassu oil, which also breaks down into two stages and has thermal stability up to 209.30 °C.

Comparing the DSC with TG curve it was observed that the first event registered in the DSC (159.56 °C) was not accompanied by significant mass loss. Therefore, it was just a physical change, fact that contributes to the proposition of an event of crystallization.

Infrared Absorption Spectroscopy

The analysis of the IR spectrum of the oil of *Opuntia ficus-indica* (Figure 4) shows the presence of intense bands around 2900 cm^{-1} , which are characteristic of methyl groups (-CH₃); methylene (-CH₂) and methyl (-CH), similar to the spectral bands of sesame and buriti oils (Barros et al., 2011; Albuquerque et al., 2003).

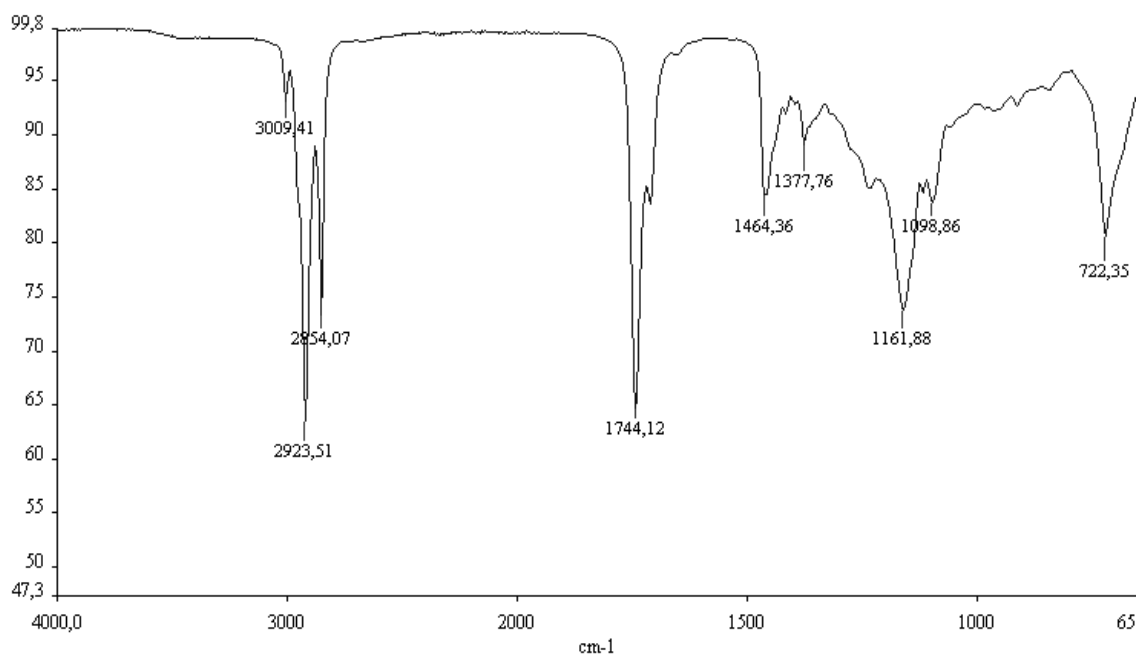


FIGURE 4- IR spectrum of the oil of *Opuntia ficus-indica*.

The greater intensity of these bands may be related to the accumulation of signal generated by the large amount of lead type C-H. The band of low intensity at 3009 cm^{-1} refers to the asymmetric stretch of C-H bond sp^2 carbon (Silverstain, Webster, 2000).

It also marks the existence of a band at 1744 cm^{-1} characteristic of the carbonyl group ($\text{C}=\text{O}$) of esters, often in long-chain fatty acids are also found in oils such as cotton and buriti (Salgado et al., 2007; Albuquerque et al., 2003). The bands at 1464 and 1377 cm^{-1} may be related, respectively, the angular deformation of the asymmetric and symmetric methylene group ($-\text{CH}_2$). And the band in the range of 1161 cm^{-1} is characteristic of stretching $\text{C}-\text{O}$ (Silverstain, Webster, 2000). The band observed around 722 cm^{-1} can be related to the synchronous vibration of the sequence of aliphatic chains of fatty acids (Silverstain, Webster, 2000; Albuquerque et al., 2003).

Therefore the bands observed in this IR spectrum are characteristic of the fatty acids detected in the GC-MS of the oil of *Opuntia ficus-indica*.

Evaluation of $\lambda_{\text{máx}}$ absorption in the ultraviolet region

Polyunsaturated fatty acids present in the plant can absorb ultraviolet light. It shows the possibility to use these oils as sunscreens in photoprotection preparations (UVA/UVB) (Flor et al., 2007). Although it contains essential fatty acids in significant concentrations, the *Opuntia ficus-indica* did not present, in this study, peak absorption in the ultraviolet region of cosmetics interest ($290\text{-}400\text{nm}$), showing only one absorption peak at 219.5 nm (UVC) (Figure 5). However, the low absorption in the UVB ($290\text{-}320\text{nm}$) may be sufficient to produce a significant SPF.

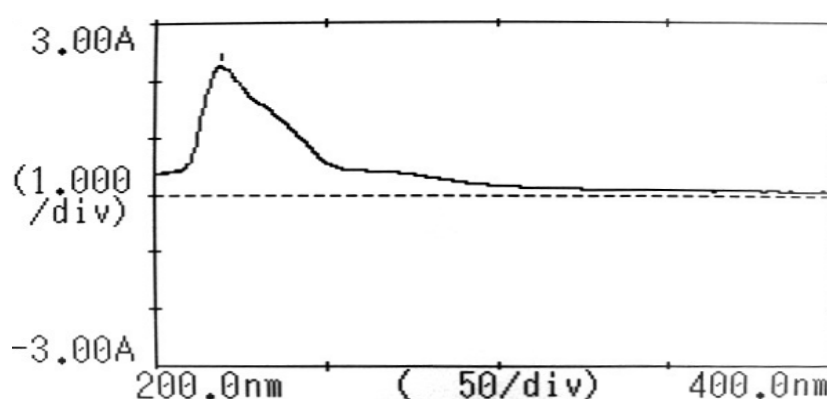


Figure 5- Ultraviolet absorption spectrum of the oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica*.

Sun Protection Factor

The positive control (formulation F2) carried by incorporating 7.5% (w/w) of octyl methoxycinnamate (synthetic sunscreen) showed SPF in vitro equal to 12.53 (Table III), which is in agreement with results the literature (Violante, 2009).

TABLE III - Results of the SPF of the formulations studied

Formulations	SPF
F1	0.18 ± 0.01
F2	12.53 ± 0.03
F3	0.23 ± 0.01
F4	12.72 ± 0.06

Legend: F1 = base; F2 = base + 7.5% sunscreen, F3 = base + 10% oil, F4 = base + 10% oil + 7.5% sunscreen.

However, the formulation with oil from the seeds of *Opuntia ficus-indica* incorporated at a concentration of 10% (w/w) showed no significant SPF (F3) and was not capable of increasing the SPF of the formulation with synthetic filter (F4) (Table III). Since, according to brazilian health resolution (RDC 237/2002 of ANVISA) sunscreen products suitable for use in cosmetics must prove an $SPF \geq 2$.

These results can be explained by the comments made by different researchers that showed that the effectiveness of sunscreen depends on the ability of absorbing radiant energy allocated to the chromophore groups, which is proportional to its concentration, range of absorption, and wavelength which occurs maximum absorbance (Violante, 2009)

CONCLUSION

The IR and TA of the oil from the seeds *Opuntia ficus-indica* allowed to characterize it physico-chemically and check their thermal stability, in order to obtain parameters for quality control during oil processing and storage. Through the GC it was detected that the oil of *Opuntia ficus-indica* is rich in saturated and unsaturated fatty acids, especially linoleic acid (~65%), which can be used in the replacement of the fatty acid lipid barrier of the skin while maintaining hydration of the skin as well as conferring UVB protection. However, the results of evaluation of SPF in vitro indicated that in the conditions of the study the oil from the seeds of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. does not have photoprotection activity. However, can

not discard the possibility to use the oil of *Opuntia ficus indica* in phytocosmetic in order to optimize formulations (enhance pH , improve stability) and acting as an agent hydration, due to the presence of important fatty acids in the composition this oil.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES/ Brazil) for the financial support. The authors also are grateful to Graduate Program in Pharmaceutical Sciences of UFPE and UEPB, and the LDCPF and LABDEM laboratories for the support in this study.

REFERENCES

- ADAMS, R.P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. USA: Allured Publishing Corporation, 2007.
- ALBUQUERQUE, M.S.; GUEDES I, ALCANTARA JÚNIOR, P.; MOREIRA, S.G.C. Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa* L). *Vib. Spectrosc.* v.33,p.127-131, 2003.
- ARAUZA, J.C.G. Efectos biofuncionales Del Nopal y la Tuna. *Hortic. Rev.*v.71,p.1-9, 2009.
- BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. *Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/ PB. 2001. 132p.
- BARROS, A.J.M.; DANTAS, M.B.; MORAIS, R.S.; FIRMINO, P.T.; SILVA, A.C.; SOUZA, A.G.; STRAGEVITCH, L. Estudo térmico, espectroscópico e caracterização físico-química de óleo e biodiesel etílico de gergelim. *2th RBTB Congress*. Brasília, Brazil, 2007.
- BRAZIL. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 237. Diário Oficial da União, Brasília, 26 agost, 2002.
- ENNOURI, M.; EVELYNE, B.; LAURENCE, M.; HAMADI, A. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chem.* v.93, p. 431-437, 2005.
- FARIA, E.A.; LELES, M.I.G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. *Eclet. Quím.* [online] v.27, 2002.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. Protetores Solares. *Quím. Nova*, v.30, p.153-158, 2007.

GALATI, E.M.; MONDELLO, M.R.; GIUFFRIDA, D.; DUGO, G.; MICELI, N.; PERGOLIZZI, S.; TAVIANO, M.F. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* v.51, p.4903-4908, 2003.

HERRERA, M.L. *Cristalização de triglicérideos em azeites vegetais hidrogenados*. Buenos Aires: ASAGA; 2005.

KASPRZYCHA-GUTTMAN, T.; COZENIAK, D. Specific heat of some pharmaceutical oils and fats measured by differential scanning calorimetry at 70 - 140°C. *Thermochim. Acta.* v.191, p.41-45, 1991.

LEO, M.; ABREU, M.B.; PAWLOWSKA, A.M.; CIONI, P.L.; BRACA, A. Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC-PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochem. Lett.*, v.3, p.48-52, 2010.

MAIA, E.L. *Optimization methodology for characterization of lipid constituents and determination of fatty acid composition and amino acids in freshwater fish*. Campinas, 242p. PhD Thesis – State University of Campinas. 1992.

MANSUR, J.S.; BREDER, M.N.R.; MANSUR, M.C.; AZULAY, R.D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras.Dermatol.*, v.61, p.121-124, 1986.

ÖZCAN, M.M.; AL JUHAIMI, F.Y. Nutritive value and chemical composition of prickly pear seeds (*Opuntia ficus indica* L.) growing in Turkey. *Int. J. Food Sci. Nutr.* v.5, p.533-536, 2011.

PRADO, E.A.; ZOCH, A.N.; ZAN, R.A.; MORÁS, A.; SITTA, S.A.P.; BETTO, T.L.; SCHWADE, V.D. Caracterização de biodiesel proveniente de diferentes matérias-primas. 4º CBPOOG Congress. Minas Gerais: Brazil, 2007.

RAMADAN, M.F.; MÖRSEL, J.T. Oilcactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chem.*, v.82, p.339-345, 2003.

REDA, S.Y.; CARNEIRO, P.I.B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. *Revista Analytica.* v.27, p.60-67, 2007.

SALGADO, A.P.S.P.; SCHMIDT, P.A.; FRAGA, A.C.; CASTRO, D.P.; SILVA, V.F.; VILELA, F.J.; AGUIAR, P.M.; NETO, P.C. Rendimento de óleos fixos de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum*) e sua caracterização química. 4th CBA Congress. Uberlândia, Brazil, 2007.

SANTOS, J.C.O.; SOUZA, A.G.; PRASAD, S.; SANTOS, I.M.G.; SANTOS, I.V. Thermal stability and kinetic parameters of thermal decomposition of commercial edible oils by thermogravimetry. *J. Food Sci.*, v.67, p.1363-1369, 2002.

SANTOS, J.R.J. *Biodiesel de babaçu: avaliação térmica, oxidativa e misturas binárias*. João Pessoa, 117p. PhD Thesis. Federal University of Paraíba, 2008.

SANTOSCOY, C.R.A.; GUTIERREZ, J.A.; SERNA, S.O. Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum. Nutr.*, v.64, p.146-152, 2009

SCHMID, D., SUTER, F.; ZÜLLI, F. An Opuntia Cactus Extract to Treat Sensitive and Dry Skin. *Söfw-Journal.*, v.131, p.14 – 18, 2005.

SILVERSTAIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

SOUZA, T.M.; SANTOS, L.E.; MOREIRA, R.R.D.; RANGEL, V.L.B.I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). *Braz. J. Pharmacogn.*, v.15, p.36-38, 2005.

TAN, C.P.; CHE MAN, Y.B. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: comparison of thermal properties and chemical composition. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.77, p.143–155, 2000.

VIOLANTE, I.M.P.; SOUZA, I.M.; VENTURINI, C.L.R.; SILVA, A.F.; SANTOS R.A.N.; FERRARI, M. Estudo preliminar da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Braz. J. Pharmacogn.*, v.89, p.175-179, 2008.

ZOU, D.M.; BREWER, M.; GARCIA, F.; FEUGANG, J.M.; WANG, J.; ZANG, R.; LIU, H.; ZOU, C. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *J. Nutr.* v.4, p.25-36, 2005.

ARTIGO II

Caracterização físico química do extrato nebulizado dos cladódios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

**Caracterização físico-química do extrato nebulizado dos cladódios de
Opuntia ficus-indica (L.) Mill.**

Cinthya M. P. de Souza^{1,2}, Alexsandra C. Apolinário^{2,3}, Bruno S. Aragão Soares², Diego P. G.dos Santos²; Davi P. Santana¹, José A. da Silva^{2,3*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, Recife, PE.

²Departamento de Farmácia/ Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos/ Universidade Estadual da Paraíba/UEPB, Campina Grande, PB.

³Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Universidade Estadual da Paraíba/UEPB, Campina Grande, PB.

***Autor para Correspondência**

José Alexsandro da Silva

Rua Juvêncio Arruda, s/n – Campus I, Bodocongó CEP: 58109-790 – Campina Grande / PB, Brasil.

Telefone: (83) 3315-3300. Ramal: 3526

Email: alexuepb@pq.cnpq.br

RESUMO

Diante das múltiplas potencialidades da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. relatadas na literatura e da ampla empregabilidade dos extratos secos na produção de fitoterápicos e fitocosméticos, este estudo objetivou caracterizar físico-quimicamente o extrato nebulizado dos cladódios da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., verificar sua composição fitoquímica e quantificar os fenóis totais (FT). As análises físico-químicas foram realizadas por testes farmacopéicos, tais como determinação da perda por dessecação e granulometria. O comportamento térmico foi determinado por termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial; a caracterização química foi realizada por espectroscopia na região do infravermelho; a caracterização fitoquímica por cromatografia em camada delgada e a quantificação de fenóis por espectroscopia na região do visível. Os testes farmacopéicos demonstraram que o extrato apresentou-se como um pó moderadamente grosso, com baixo teor de umidade ($5,05 \pm 0,06\%$) e pH ácido ($4,54 \pm 0,05$). Já as análises térmicas revelaram que o extrato apresentou dois eventos principais, os quais foram relacionados com a perda de umidade residual e a decomposição térmica dos diferentes constituintes do extrato. Quanto à análise fitoquímica foi constatado que a *O. ficus-indica* (L.) Mill possui flavonóides e terpenos. E com relação à determinação de FT foi verificado que a amostra contém $42,36 \pm 1,38$ mg de EAG/g. Portanto, os ensaios realizados neste estudo permitiram caracterizar físico-quimicamente o extrato nebulizado de *O. ficus-indica* (L.) Mill e os resultados de FT sugeriram a realização de novos estudos para avaliar as potencialidades do extrato relacionadas com a presença de compostos fenólicos.

Palavras-chaves: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, Análise Térmica, Espectroscopia de Infravermelho, Análise fitoquímica, Fenóis Totais.

1 INTRODUÇÃO

A palma forrageira, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., é uma cactácea nativa do México, porém, disseminada em diversos países nas regiões áridas e semi-áridas, em que a produção de plantas alimentares mais suculentas é severamente limitada (Leo, et al. 2010).

Seus frutos são ricos em ácido ascórbico e polifenóis e têm mostrado atividade antiulcerogênica, antioxidante, anticâncer, hepatoprotetora e antiproliferativa (Galati et al., 2003; Tensoriere et al., 2004; Zou et al., 2005; Galati et al., 2005; Sreekanth et al., 2007). Os cladódios tem sido investigados como possibilidade no tratamento da gastrite, hiperglicemia, arterosclerose, diabetes e hipertrofia prostática (Enouri, et al. 2007).

Com relação a utilização cosmética da *O. ficus-indica* (L.) Mill. é sabido que seus cladódios quando esmagados são conhecidos por serem empregados na fabricação de xampu para prevenção da queda de cabelo e sua seiva e óleo das sementes são usados para evitar queimaduras solares (Sáenz-Hernández, 2001; Hamou, 2008), uma vez que este vegetal é rico em fontes minerais, vitaminas (A, C e E), pectinas e compostos fenólicos, especialmente flavonóides (Ramadan & Morsel, 2003; Falcão & Oliveira, 2010). Schmid et al. (2005), verificou que a *Opuntia ficus-indica* possui ação hidratante, suavizante, antiinflamatória e de proteção contra os danos da radiação UVA.

Diante de múltiplas utilidades desta planta, os extratos vegetais secos podem ser utilizados como produtos finais e intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas, uma vez que são preparações potentes, em geral duas a seis vezes mais potentes que os extratos fluidos que lhes deram origem (Vasconcelos et al., 2005). Esses extratos contêm essencialmente os princípios ativos da droga vegetal e uma grande porção de componentes inertes e estruturais da droga. Sua função é proporcionar em pequenas quantidades e numa forma física estável e conveniente, a ação medicinal e as características da planta (Ansel, Popovich, Allen Jr., 2000).

No desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos e fitocosméticos a técnica de secagem por aspersão (“*Spray drying*”) tem sido bastante empregada com intuito de se obter produtos intermediários com maior concentração de constituintes químicos e com melhores características tecnológicas (Silva Júnior, 2006).

Contudo, para garantir a qualidade no desenvolvimento de um produto é necessário o monitoramento da constituição química e das propriedades físico-químicas do extrato para que se possa garantir a ação farmacológica, durante todo o processamento.

Diante do exposto, este trabalho tem o objetivo de caracterizar o extrato nebulizado dos cladódios da *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill., por metodologias farmacopéicas, análise térmica e espectroscopia na região do infravermelho, além de verificar a composição fitoquímica e quantificar os fenóis totais.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Cladódios de *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill.

Os cladódios de *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill. foram coletados em março de 2011, no município de Juazeirinho-PB (Brasil), o qual é caracterizado como tendo clima semi-árido. O material vegetal foi identificado por botânico e a exsicata da planta encontra-se depositada no Herbário Manoel de Arruda Câmara (ACAM), sob o registro de número 907. Após a coleta, os cladódios foram higienizados, retirados os espinhos e cortados em pequenos cubos. Em seguida foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 40°C, até peso constante, sendo posteriormente triturados em moinho de facas (Whiley®).

2.2 Obtenção do extrato nebulizado

A solução extrativa dos cladódios foi obtida por percolação, utilizando-se uma solução hidroalcoólica a 70%. O extrato hidroalcóolico foi submetido ao evaporador rotativo (Tecnal TE-211) com o intuito de diminuir a concentração do etanol a uma faixa segura para o processo de secagem. O extrato seco foi obtido por nebulização em torre de secagem por aspersão em aparelho Spray Dryer Lab Plant SD-05, a partir do extrato rotaevaporado. A temperatura de secagem foi de $160 \pm 1^\circ\text{C}$ e o fluxo da bomba foi de 8 mL/min. Como adjuvante de secagem foram utilizados 20% de dióxido de silício coloidal (Aerosil 200®), em relação ao teor de sólidos. O extrato seco foi coletado na base de um ciclone e acondicionado em recipientes fechados e mantidos ao abrigo da luz em dessecador provido de sílica.

2.3 Análise fitoquímica

Foi realizado um screening fitoquímico do materil vegetal da *Opuntia fícus-indica* por cromatografia em camada delgada (CCD), em placas de sílica gel (Merck®), de acordo com o método geral descrito na Farmacopéia Brasileira (2010). Os constituintes pesquisados foram: flavonóides, terpenos, alcalóides, taninos e proantocianidinas. Para tanto, foram utilizados reagentes específicos na detecção de cada metabólito secundário citado anteriormente. A presença de saponinas foi avaliada pela observação da formação de espuma persistente após agitação com água (Harbone, 1998)

2.4 Testes Farmacopéicos

O extrato nebulizado foi analisado quanto a determinação do pH, densidade, teor de cinzas totais, perda por dessecação e granulometria, segundo metodologias oficiais descritas abaixo. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Determinação da Perda por dessecação

A determinação de umidade da amostra foi realizada por gravimetria, segundo a Farmacopéia Brasileira (2010). Para tanto, foram pesados 2g do extrato e transferidos para pesa-filtro previamente dessecado. A amostra foi então seca em estufa (Fanem®) a 105°C, por 2 horas, e a operação foi repetida até peso constante.

Determinação do pH

A leitura foi realizada em pHmetro digital (HI 221 Hanna instruments), inserindo-se o eletrodo numa solução a 10% (p/v) do extrato nebulizado em água destilada, na temperatura de 25°C. Para padronização do pHmetro foram realizadas leituras dos tampões com pH 4,0 e 7,0, conforme estabelecido na Farmacopéia Brasileira (2010).

Teor de Cinzas Totais

Foram pesados 3g do extrato em cadinhos previamente tarados e em seguida as amostras (n=3) foram incineradas em mufla (Quimis®) aumentando-se, gradativamente, a temperatura, no seguinte gradiente: 30 minutos a 200 °C, 60 minutos a 400 °C e 90 minutos a 600 °C. O resultado foi expresso em porcentagem em massa de cinza na droga (% m/m) e representa a média de três determinações (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Granulometria

Para determinação da granulometria foram pesados 5g da amostra e transferidos para jogo de tamises operado por dispositivo mecânico (Bertel[®]), acionado por 15 minutos, com vibrações adequadas. O cálculo do percentual de extrato retido em cada tamis foi realizado por intermédio da Equação 1:

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = \frac{P_i}{P_t} \cdot 100$$

Equação (1)

Onde: P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas); P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas); 100 = Fator de porcentagem (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Densidade

Para determinação da densidade, uma proveta de peso e volume conhecidos foi preenchida com o extrato seco, removendo as partículas de ar. Em seguida, a proveta foi pesada obtendo a massa do extrato. O cálculo da densidade foi realizado dividindo-se o peso do pó pelo volume ocupado na proveta. Este procedimento foi realizado em triplicata (Farmacopéia Brasileira, 2010).

2.5 Microscopia óptica

As características ópticas do extrato nebulizado foram observadas através de um vídeo microscópio (marca Hirox[®] KH 7700), colocando-se uma pequena amostra do extrato em uma lâmina e observando-se diretamente ao microscópio com um aumento de 140X.

2.6 Determinação de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais (FT) presentes nas amostras da espécie estudada foi realizada por meio de espectroscopia na região do UV visível utilizando o método de Folin–Ciocalteu (Velioglu *et al*, 1998) com modificações. Foram transferidos 0,2 mL da solução metanólica do extrato (1mg/mL) para frasco âmbar e foram adicionados 1,5 mL de solução reagente Folin-Ciocalteu a 10%, agitando-se a mistura vigorosamente. Após 5 minutos, foram adicionados 1,5 mL do tampão NaHCO₃ a 6%. Depois de 90 minutos a

absorbância da mistura foi medida a 725 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o padrão ácido gálico e a partir dos dados obtidos uma curva padrão foi construída. Para a obtenção da curva analítica, uma solução padrão de $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ foi preparada pela dissolução de 10 mg de ácido gálico em 10 mL de metanol. A partir desta solução, foram feitas diluições em triplicata, de forma a obter soluções de 0,5; 0,25; 0,125; 0,062; 0,031; 0,015 mg.mL^{-1} . A linearidade foi estimada pela análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e o coeficiente de determinação foi $R^2 = 0,999$. A equação da curva é representada pela equação $y = ax + b$, onde “x” é a concentração do ácido gálico e “y” é a absorbância a 725nm. O teor de FT foi determinado por interpolação da absorbância da amostra contra a curva de calibração.

2.7 Análise térmica

2.7.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A curva DSC do extrato foi obtida através de um calorímetro da TA instruments, Q20 em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min^{-1} ; razão de aquecimento $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, até $500 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A amostra, em torno de $2 \pm 0,1 \text{ mg}$, foi colocada em célula de alumínio hermeticamente fechada, calibrada com padrões de índio ($T_{\text{fusão}} = 156,6 \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e zinco ($T_{\text{fusão}} = 419,5 \pm 0,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$) metálicos com pureza de 99,99 %. Para analisar as curvas DSC foi utilizado o software da TA Universal Analysis.

2.7.2 Análise termogravimétrica (ATG)

A curva ATG do extrato foi obtida através de termobalança modelo SDT Q600, da marca TA instruments sob fluxo de ar sintético de 20 mL min^{-1} , razão de aquecimento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, até $1200 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em cadinho de alumina. A massa de amostra foi em torno de $5 \pm 0,1 \text{ mg}$. Antes do ensaio foi verificada a calibração do equipamento empregando uma amostra padrão oxalato de cálcio monohidratado, sob as mesmas condições experimentais. Para analisar as curvas de DSC foi utilizado o software da TA Universal Analysis.

2.8 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

O espectro de absorção na região do infravermelho médio foi obtido utilizando um espectrofotômetro da marca PerkinElmer®, modelo Spectrum 400, com dispositivo de

reflectância total atenuada (ATR), com cristal de seleneto de zinco. A análise foi realizada com 16 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} na região compreendida entre 4000 a 650 cm^{-1} .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento de obtenção do extrato nebulizado da *Opuntia ficus-indica* utilizando 20% de Aerosil 200[®] foi de $41,28 \pm 2,71\%$. Este valor foi bem superior ao resultado encontrado por Silva Júnior et al. (2006) na secagem do extrato fluido de *Symphytum officinale* L. sem adição do adjuvante, o qual teve um rendimento de 20%. Portanto, observamos que uso de adjuvantes tecnológicos influencia de maneira decisiva no aumento do rendimento do processo de secagem, além de contribuir positivamente sobre a recomposição em água do produto (Soares, 2002). Segundo Vasconcelos et al. (2005), o aerosil adicionado no processo de secagem proporciona uma boa estabilidade física, mantendo o aspecto de pó fino e solto e conferindo maior rendimento ao processo.

Os resultados das características físico-químicas do extrato seco da *Opuntia ficus-indica* estão descritos na Tabela 1, na qual pode ser observado que a solução a 10% (p/v) do extrato nebulizado apresentou pH ácido ($4,54 \pm 0,05$). Porém, segundo Coskuner et al. (2000) o pH natural dos cladódios de *Opuntia ficus-indica* é entre 5,4 e 5,75. Esta diminuição do pH pode ser atribuída ao processo de nebulização, responsável por concentrar os constituintes químicos presentes no extrato e assim aumentar a acidez. Ademais a mistura com sílica, a qual possui um pH em torno de 3,7 e 4,7 pode ter reduzido o pH do extrato seco.

Tabela 1- Testes farmacopéicos aplicados ao extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica*.

Testes Farmacopéicos	Média $\pm$ DP*
pH	$4,54 \pm 0,05$
Densidade (g.mL^{-1})	$0,64 \pm 0,02$
Cinzas (%)	$35,13 \pm 0,01$
Perda por Dessecação (%)	$5,05 \pm 0,06$

*DP= Desvio Padrão

A determinação do teor de água residual presente nas drogas vegetais constitui um índice da qualidade de sua preparação e da garantia de sua conservação. O valor encontrado para o extrato nebulizado indica uma boa conservação e uma secagem eficiente da solução extrativa. A importância da determinação da perda por dessecação está ligada à estabilidade

microbiológica da matéria-prima vegetal, como expressão da sua suscetibilidade ao desenvolvimento de fungos e bactérias e à estabilidade química, representada, especialmente, pelos processos de hidrólise. (Costa et al. 2009).

A determinação de cinzas totais tem como principal objetivo verificar o teor de constituintes ou impurezas inorgânicas contidos em substâncias orgânicas (Farmacopéia Brasileira, 2010). Os resultados obtidos foram elevados porque no processo de secagem do extrato foram utilizados 20% de sílica (material inorgânico) e também, possivelmente, porque segundo a literatura, a palma forrageira é rica em minerais, especialmente o cálcio e ferro (Chiacchio, Mesquita, Santos, 2006).

A densidade do extrato nebulizado de *Opuntia fícus-indica* foi de $0,64 \pm 0,02$. Esse é um parâmetro de controle de qualidade importante sob o ponto de vista tecnológico uma vez que influencia no processo de desenvolvimento de formas farmacêuticas fitoterápicas e fitocosméticas.

Na análise granulométrica, o extrato nebulizado de *Opuntia fícus-indica* apresentou-se como pó moderadamente grosso, sendo estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (2010) como aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura de malha $710\mu\text{m}$ e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de $250\mu\text{m}$, ficando constatado assim, um maior percentual de massa retida (53,6%) no tamis com abertura de malha de $355\mu\text{m}$. O mesmo resultado foi encontrado por Costa et al. (2009) na caracterização granulométrica do extrato seco por nebulização da *Cynara scolymus* L..

A análise microscópica do extrato nebulizado (Figura 1) revela que o mesmo apresenta coloração castanha e distribuição não uniforme do tamanho das partículas, com tendência a formação de pequenos aglomerados.



Figura 1- Microscopia óptica do extrato nebulizado de *Opuntia fícus-indica*. Aumento 140x.

Quanto à análise fitoquímica foi constatado que a *Opuntia ficus-indica* possui flavonóides e terpenos. A resposta negativa para taninos não significa necessariamente sua ausência, pois estes poderiam estar em quantidades pequenas, sendo insuficiente para uma identificação positiva, ou ainda, a época em que foi colhida ter influenciado na sua produção, pela planta. Estudos mostram que os flavonóides, em especial, estão relacionados com as atividades antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e inibidora enzimática (Perruchon, 2002; Souza 2011), portanto as plantas que contêm este metabólito podem ter múltiplas empregabilidades na área farmacêutica.

Visando quantificar os compostos fenólicos presentes na amostra em estudo, foi construída a curva de calibração do padrão ácido gálico, representada pela equação: $y = 5,651x + 0,032$ (Figura 1). O resultado obtido na determinação de FT pelo método Folin-Ciocalteu, expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de extrato nebulizado foi de $42,36 \pm 1,38$ mg de EAG/g.

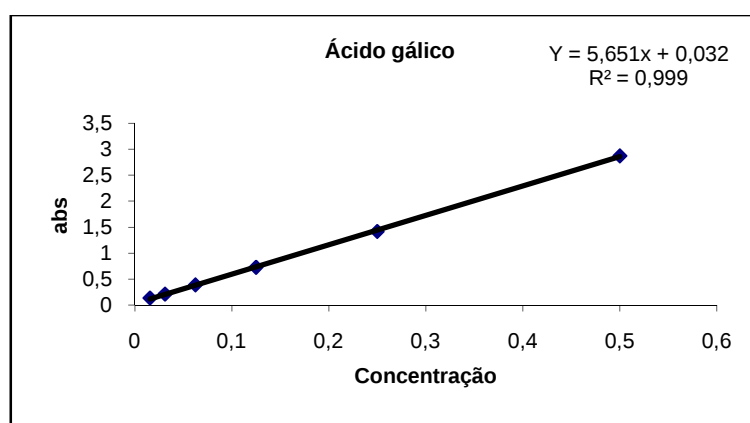


Figura 2- Curva de calibração do padrão ácido gálico.

Na determinação de FT realizada no estudo de Sousa et al. (2007) com plantas do semi-árido piauiense foram verificados resultados semelhantes ao deste estudo, para os extrato liofilizados das cascas e das folhas de *Terminalia brasiliensis* Camb. os quais apresentaram um teor de compostos fenólicos, respectivamente de $45,82 \pm 0,78$ mg e $38,53 \pm 0,63$ mg de EAG/g. De acordo com esses autores, há uma correlação positiva entre a quantificação de fenóis totais e a capacidade de atividade antioxidante. É tanto que o extrato etanólico das cascas de *T. brasiliensis* exibiu uma atividade antioxidante em torno de 90% na concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Segundo Luzia et al. (2010) a extração de compostos fenólicos de produtos naturais é fortemente influenciada pelo solvente utilizado. E nesse sentido tem-se observado que quanto

maior a polaridade do solvente de extração, maior a quantidade de compostos fenólicos extraídos.

Com relação à análise térmica, conforme Aragão et al. (2002), conhecendo o comportamento térmico do componente majoritário de uma planta é possível identificar a autenticidade de um extrato bruto. Na curva de DSC do extrato nebulizado (Figura 3), analisada pelo método da tangente, podemos identificar dois eventos principais, sendo um endotérmico e outro exotérmico, respectivamente. O primeiro evento, com pico em 93,39 °C indica provavelmente o processo de vaporização da água, ou seja, perda de umidade do extrato. Já o segundo evento (351,23°C), possivelmente, corresponde à decomposição da matéria orgânica vegetal.

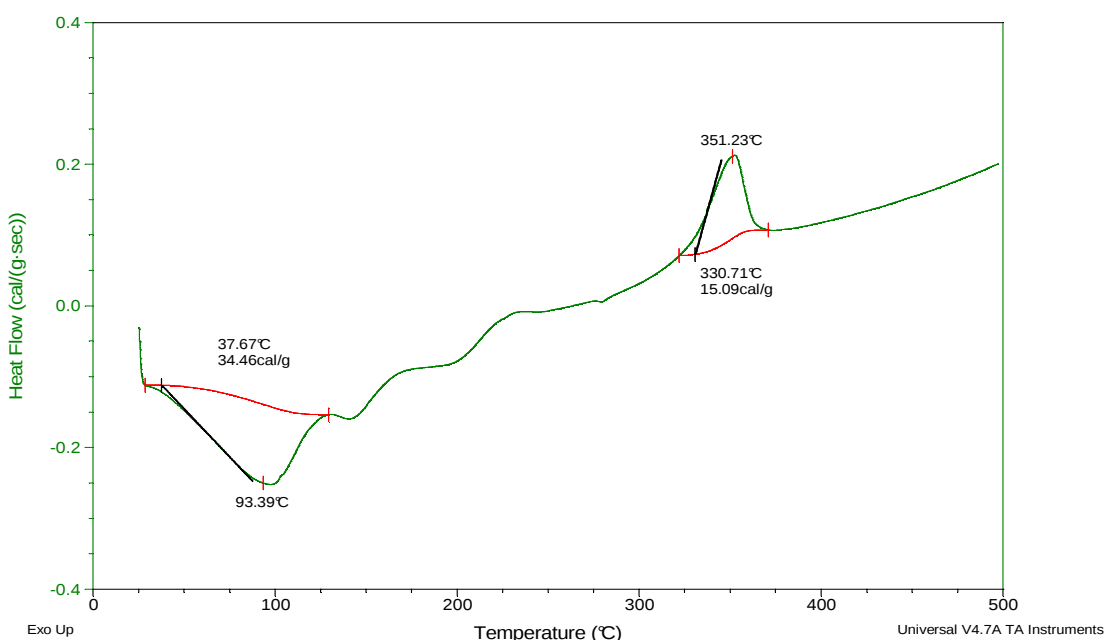


Figura 3- Curva de DSC do extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica*.

Contudo, entre esses dois eventos citados não há uma estabilização da linha de base, significando que podem estar ocorrendo eventos térmicos pouco definidos na curva de DSC durante este período (de 129,4°C a 330,7°C). Correlacionado esses eventos com a curva de TG do extrato (Figura 4) podemos sugerir que os mesmos também são referentes à decomposição térmica dos compostos presentes no extrato, uma vez que nesta faixa de temperatura ocorrem significativas perdas de massa.

A pequena quantidade de amostra utilizada, a rapidez de resultados e a limpeza da técnica fazem da termogravimetria uma poderosa ferramenta nos estudos tecnológicos para padronização de matérias-primas vegetais utilizadas em fitoterápicos e fitocosméticos (Aragão et al., 2002).

De acordo com a curva termogravimétrica do extrato nebulizado (Figura 4) visualiza-se que a perda de massa ocorreu em diversas etapas, provavelmente devido à complexidade da amostra, a qual se trata de um extrato de planta e, portanto, contém diferentes compostos químicos. Observa-se ainda, que o extrato apresentou pequena estabilidade térmica e que até 100,5°C ocorreu uma perda de massa de 4,79%, possivelmente associada à perda de água. Esse resultado foi compatível com o valor obtido no ensaio gravimétrico de perda por dessecação (5,05%), mostrando que a termogravimetria pode também fornecer uma estimativa do conteúdo de água residual presente no material após seu processamento.

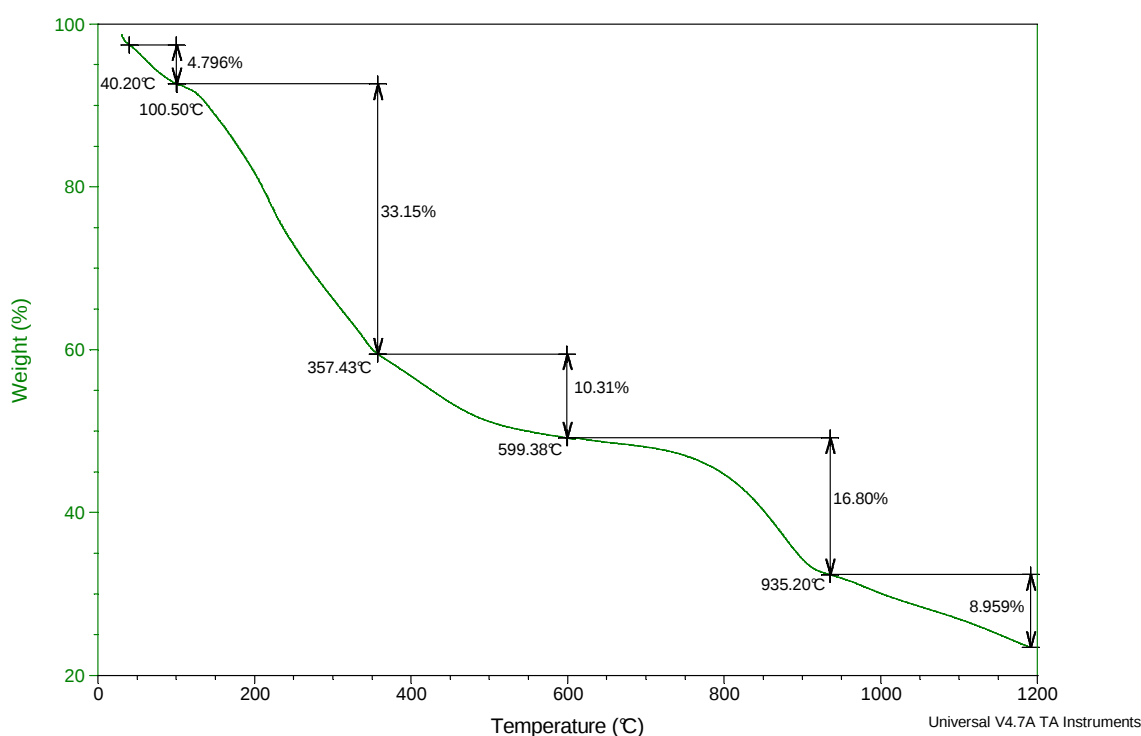


Figura 4- Termogravimetria do extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica*.

As demais etapas de perda de massa estão relacionadas com a decomposição térmica dos compostos orgânicos do extrato. Sendo a etapa com maior diminuição de massa (33,15%) entre as temperaturas de 100,5 e 357,4 °C, semelhante ao estudo de Silva Júnior et al. (2006)

com o extrato seco de *Symphytum officinale* L. O percentual de perda acumulada até a temperatura final do ensaio (1200 °C) foi de aproximadamente 74,02%, Portanto, para as condições de análise deste estudo, o resíduo mineral foi em média de 25,98%.

Medeiros et al. (2007) em seu estudo sobre o comportamento térmico das folhas secas de *Origanum mangerona* L., observou que sua amostra também admitia quatro processos de termodecomposição, até 900°C, demonstrando assim um perfil termogravimétrico semelhante ao deste estudo. Entretanto, no trabalho do referido autor a perda de massa inicial devido à umidade foi de 10,19%. Apesar das técnicas termoanalíticas serem bons instrumentos de caracterização dos materiais, estudos sobre o comportamento térmico de substâncias de origem vegetal usando técnicas térmicas são escassos na literatura (Aragão, 2002).

Segundo Luz (2005) o espectro de infravermelho por ATR mostra o quanto os compostos de superfície presentes na amostra estão absorvendo na região do infravermelho. Assim, a análise do espectro de IV do extrato nebulizado de *Opuntia fícus-indica* (Figura 5) evidencia uma banda alargada em 3210 cm^{-1} , a qual pode representar a deformação axial simétrica da hidroxila (O-H), cuja presença possivelmente está relacionada com a existência de água na amostra.

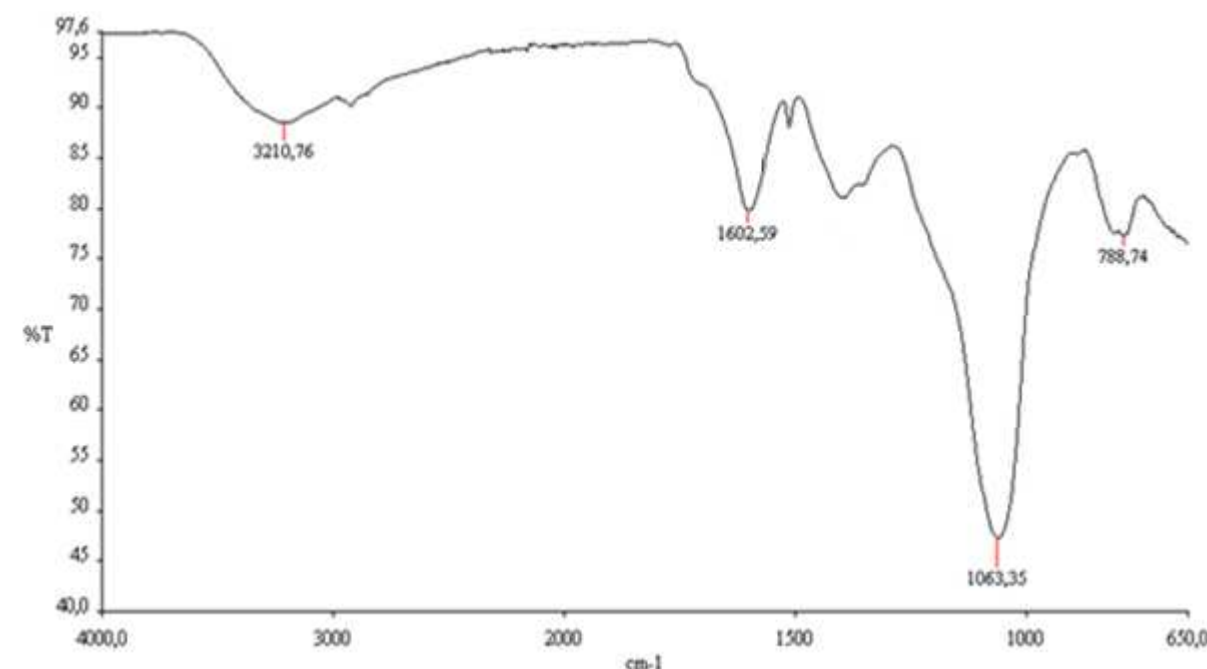


Figura 5- Espectro de IV do extrato nebulizado de *Opuntia fícus-indica*.

A absorção em 1602 cm^{-1} pode se referir à deformação angular da água (H-O-H) e a banda de fraca intensidade em 788 cm^{-1} pode ser decorrente da ligação O-H fora do plano (Silverstain & Webster, 2000). A banda de forte intensidade em 1063 cm^{-1} sugere a presença de silicatos (Si-O), uma vez que este grupamento químico absorve na região entre 900 e 1100 cm^{-1} e que o extrato nebulizado utilizou como adjuvante de secagem a sílica.

4 CONCLUSÃO

Todas as etapas cumpridas neste estudo foram importantes e podem ser recomendadas como parâmetros seguros para o controle de qualidade do extrato seco de *Opuntia fícus-indica*.

Os resultados dos testes farmacopéicos forneceram informações a respeito da integridade, condições de obtenção e armazenamento do extrato. Os dados térmicos contribuíram com informações importantes a respeito da estabilidade do extrato e eficiência de secagem, o resultado espectroscópico na região do IV e a triagem fitoquímica permitiram obter informações da composição química do extrato.

Ademais, considerando que substâncias naturais podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra os riscos de muitos processos patológicos, os resultados de FT do extrato dos cladódios de *Opuntia fícus-indica* descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos para avaliar as potencialidades do extrato relacionadas com a presença de compostos fenólicos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pelo financiamento da pesquisa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – PPGCF/ UFPE. Agradecem também ao PPGCF/UEPB e aos laboratórios LDCPF, LABDEM, LTM e CERTBIO pelo suporte neste estudo e pelas análises.

5 REFERÊNCIAS

- Agozzino P, Avellone G, Caraulo L, Ferrugia M, Flizzola F. Volatile profile of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) by SPME-GC/MS analysis. *Italian J. of Food Sci*, 2005; 17: 341–348.
- Ansel HC, Popovich VG; Allen Jr. LV. *Farmacotécnica: Formas farmacêuticas & Sistemas de liberação de fármacos*. 6ª. Ed., São Paulo: Editora Premier, 2000.
- Aragão CFS, Souza FS, Barros ACS, Veras JWE, Barbosa Filho JM, Macedo RO. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae . *Rev Bras de Farmacogn*, 2002; 12(supl.): 60-61.
- Coskuner Y, Tekin A. Monitoring of seed composition of prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) fruits during maturation period. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, 2006; 83(8): 846–849.
- Costa RS, Ozela EF, Barbosa WLR, Pereira NL, Silva Júnior JOC. Physical characterization, chemistry and physic-chemistry of *Cynara scolymus* L. (Asteraceae) dry extract by spray-drying. *Rev. Bras. Farm.*, 2009; 90(3): 169-174.
- Cornec M. Aérosil: um adjuvant efficace pour lês formes sèches, liquids et pâteuses. *STP Pharma Sci*. 1990; 6: 110-112.
- Chiacchio FPB, Mesquita AS, SANTOS JR. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. *Bahia Agric*. 2006; 7(3): 39-49.
- Ennouri M, Fetoui H, Bourret E, Zeghal N, Attia H, Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica* L.: Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresour Technol*. 2007; 97: 1382-1386.

Falcão RBM, Oliveira APS. Desenvolvimento Rural Sustentável, Um Guia Prático para as Comunidades do Semi Árido Nordeste. [Citado 2011 nov 16] Disponível em: www.proasne.net/desenvolvimentosustentavel3.html.

Farmacopéia Brasileira; 5ª ed., São Paulo: Atheneu, 2010

Harbone JB. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman & Hall, 1998.

Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N, Pergolizzi S, Taviano MF. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51:4903-4908.

Galati EM, Modello MR, Lauriano, ER, Taviano MF, Galluzzo M, Miceli M. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice protects liver from carbon tetrachloride induced injury. *Phytoteraphy Research*, 2005; 19(9):796-800.

Hamou AA. Na overview on medicinal and cosmetic of cactus in Morocco. *Cactusnet*. 2008; 11(1): 2008.

Harbone JB. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman & Hall, 1998.

Leo M, Abreu MB, Pawlowska AM, Cioni PL, Braca A. Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochem. Lett.* 2010; 3: 48–52.

Lopes WA, Fascio M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho *Quim. Nova*, 2004; 27(4) 670-673.

Luz, BR. *Propriedades espectrais das plantas no infravermelho termal: da química ao dossel*. [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, USP, 2005.

Luzia DMM, Bertanha BJ, Jorge N. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) seeds: antioxidant potential and fatty acids profile. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010; 69(2):175-80.

Medeiros MAP, Neves IPF, Catunda APM, Paiva NRF, Miranda NA, Macêdo RO, Aragão CFS. Caracterização térmica das folhas de mangerona (*Origanum mangerona* L. – labiatae) por termogravimetria. In: 47º Congresso de Química; 2007; Natal: Sociedade Brasileira de Química, 2007.

Perruchon S. Estudo das propriedades dos flavonóides para cosméticos através do relacionamento função estrutura. *Cosm. & Toil*, 2002; 14: 74-77.

Ramadan MF, Mörsel JT. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chem*. 2003; 82:339-345.

Sáenz-Hernández D. Fabricação de alimentos e obtenção de subprodutos. In: Barbera G., Inglese P, Barrios EP. *Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/PB, 2001:140-146.

Schmid D, Suter F, Züllli F. An Opuntia Cactus Extract to Treat Sensitive and Dry Skin, *Söfw-Journal*, 2005; 131:14 – 18.

Silva Júnior JOC, Vieira JLF, Barbosa WLR, Pereira NL. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. *Rev Bras Farmacogn*, 2006; 16(Supl.): 671-677.

Silverstain RM, Webster FX. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

Soares LAL. *Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de Maytenus ilicifolia Mart. Ex. Reissek - Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final.* [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2002.

Souza PM. *Atividade de inibição enzimática por espécies do bioma cerrado.* [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, UNB, 2011.

Sousa CMM et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova*, 2007; 30(2): 351-355,

Sreekanth D, Arunasree MK, Roy KR, Reddy TC, Reddy GV, Reddanna P. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. *Phytomedicine*, 2007; 14:739–746.

Tesoriere L, Butera D, Pintaudi AM, Allegra M, Livrea M. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Amer. J. of Clin. Nutr.* 2004; 80(2):391-395.

Vasconcelos EAF, Medeiros MGF, Raffin FN, Moura TFAL. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil® 200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Rev Bras Farmacogn*, 2005; 15:243-249.

Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J of Agri. and Food Chem.* 1998; 46: 4113-4117.

Zou DM, Brewer M, Garcia F, Feugang JM, Wang J, Zang R, Liu H, Zou C. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *J. Nutr.* 2005; 4: 25-36.

ARTIGO III

***Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: avaliação da atividade antioxidante, antimicrobina e inibidora da enzima tirosinase**

***Opuntia ficus- indica* (L.) Mill.: avaliação da atividade antioxidante,
antimicrobina e inibidora da enzima tirosinase**

Cinthy M. P. de Souza^{1,2}, Fernanda Almeida², Amanda Amona Queiroz Brás²; Priscilla de Azevedo Oliveira³, Emerson Silva Lima³, Valdir Florêncio da Veiga Junior³, Davi Pereira Santana^{1,4}, José Alexsandro da Silva^{2,5*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, Recife,PE.

²Departamento de Farmácia/ Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos/ Universidade Estadual da Paraíba/UEPB, Campina Grande, PB.

³Departamento de Química/ Universidade Federal do Amazonas/UFAM, Amazonas,AM.

⁴Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos- NUDFAC/ Departamento de Ciências Farmacêuticas/ UFPE, Recife, PE - Brazil

⁵Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas/ Universidade Estadual da Paraíba/UEPB, Campina Grande, PB.

***Autor para Correspondência**

José Alexsandro da Silva

Rua Juvêncio Arruda, s/n – Campus I, Bodocongó CEP: 58109-790 – Campina Grande / PB, Brasil.

Telefone: (83) 3315-3300 Ramal: 3526

Email: alexuepb@pq.cnpq.br

RESUMO

Devido ao enorme potencial produtivo e as múltiplas utilidades da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., esta cactácea vem sendo empregada na área alimentícia, farmacêutica, agrícola, cosmética e outras. Assim, este trabalho objetivou avaliar as potencialidades do óleo e do extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica* visando a utilização deste vegetal no desenvolvimento de um novo fitocosmético. Para tanto, foi avaliada a atividade antioxidante, pela técnica do sequestro do radical livre DPPH; a atividade antibacteriana, pelo método de difusão em ágar e a atividade inibidora da enzima tirosinase, através da verificação da ação difenolase. Observou-se que, tanto o extrato nebulizado, quanto o óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* não apresentaram atividade antioxidante e nem antibacteriana, dentro das condições do estudo. Com relação à inibição da enzima tirosinase, apenas o extrato nebulizado demonstrou atividade inibitória ($11,39 \pm 0,21\%$). Apesar disto, a utilização dos produtos derivados de *Opuntia ficus-indica* em fitocosméticos pode ser justificada pelas suas propriedades eudérmicas.

Palavras-Chaves: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Antioxidante, Antibacteriana, Inibição da tirosinase.

INTRODUÇÃO

O uso de produtos vegetais para fins de embelezamento tem referência de 5000 anos atrás. As primeiras farmacopéias e formulários de produtos surgiram no Egito, destacando-se entre elas o *Papiro Ebers*, que continha centenas de fórmulas e remédios populares à base de plantas para cuidados de saúde, higiene e beleza (Dal’Belo, 2008). Neste sentido, o Brasil apresenta enorme biodiversidade, possuindo uma das mais ricas floras do mundo. Entretanto, a biodiversidade brasileira não é totalmente estudada e assim milhões de espécies distintas de vegetais, microrganismos ou animais podem ser pesquisados (Guerra & Nodari, 2001).

Dentre as espécies vegetais disseminadas no Brasil, principalmente no semiárido nordestino, destaca-se a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., conhecida popularmente como palma forrageira. Pertencente à família das cactáceas, a palma é biologicamente adaptada para resistir a fontes de luz solar, secas extremas e grandes variações de temperatura (Barbera et al., 2001; Russel, 2007).

Devido ao seu enorme potencial produtivo e suas múltiplas utilidades, a palma forrageira vem sendo empregada na alimentação humana, na produção de medicamentos, cosméticos, conservação e recuperação de solos, cercas vivas, paisagismo, dentre outros usos nobres (Barbera et al., 2001).

A utilização cosmética da palma é difundida basicamente em produção caseira e artesanal, colocado no mercado uma considerável variedade de produtos. É sabido que os cladódios da palma quando esmagados são conhecidos por serem empregados na fabricação de xampu para prevenção da queda de cabelo e sua seiva e óleo das sementes são usados para evitar queimaduras solares (Sáenz-Hernández, 2001; Hamou, 2008). Apesar de saber que este vegetal é rico em fontes minerais, vitaminas (A, C e E), pectinas e compostos fenólicos, especialmente flavonóides (Ramadan & Morsel, 2003; Falcão & Oliveira, 2010) a literatura não apresenta pesquisas que possam ratificar e comprovar todos os diversos usos da palma com a finalidade cosmética (Sáenz-Hernández, 2001; Hamou, 2008).

Há, portanto, uma necessidade de estudos que demonstrem possíveis atividades e empregabilidades desta matéria-prima na área de desenvolvimento de novos cosméticos, a exemplo do estudo realizado por Schmid et al. (2005), que elaborou um produto a base da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. com ação hidratante, suavizante e de proteção contra radiação UVA.

Em vista de tais considerações, estudos que se propõem a pesquisar e comprovar, cientificamente, atividades da palma forrageira cultivada no nordeste, as quais venham justificar o desenvolvimento de novos cosméticos promoverá, certamente, uma valorização e crescimento do mercado de produtos naturais, bem como uma ratificação do uso popular.

Diante deste contexto, sabendo-se que a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. é rica em flavonóides e que estes podem apresentar diversas funções tais como: antioxidante, inibidora enzimática, antimicrobiana e fotoprotetora (Perruchon, 2002; Flôr et al., 2009), este estudo objetivou avaliar as potencialidades do óleo e do extrato nebulizado de *Opuntia ficus-indica* visando a utilização deste vegetal no desenvolvimento de um novo fitocosmético.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Cladódios (raquetes) e frutos maduros de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. foram coletados em março de 2011, no município de Juazeirinho-PB (Brasil), o qual é caracterizado como tendo clima semiárido. O material vegetal foi identificado por Ivan Coêlho Dantas e a exsicata da planta encontra-se depositada no Herbário Manoel de Arruda Câmara (ACAM), sob o registro de número 907. Após a coleta, os cladódios foram higienizados e cortados em pequenos cubos. As sementes foram separadas da polpa e lavadas com água destilada. Posteriormente, os materiais foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 40°C, até peso constante e triturados em moinho de facas da marca Wiley®.

2.2 Obtenção dos produtos da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

2.2.1 Extração do óleo fixo

O óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* foi extraído com hexano, em um aparato de soxhlet, durante 9 horas. A fase orgânica foi removida usando evaporador rotativo (Tecnal TE-211), sob pressão reduzida.

2.2.2 Obtenção do extrato seco

O extrato aquoso dos cladódios foi obtido por percolação, utilizando-se como solvente álcool etílico a 70% (v/v) em água destilada. O extrato hidroalcólico foi utilizado para obtenção do extrato nebulizado, em equipamento de spray dryer, da marca Lab Plant, modelo SD-05. A temperatura de secagem foi de 160°C. Foi utilizado o Aerosil® 200 como adjuvante farmacotécnico.

2.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do óleo e do extrato foi verificada pela capacidade seqüestrante do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH•). A análise qualitativa foi realizada por CCD (cromatoplaça de sílica gel, Merck®) usando rutina, ácido ascórbico e ácido tânico como padrões positivos de comparação. As placas foram eluídas em CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5) e após secagem, foram nebulizadas com solução a 0,4 mmol.L⁻¹ do radical DPPH em MeOH. As placas foram observadas até o aparecimento de manchas amarelas sob fundo de coloração púrpura, indicativo de possível atividade antioxidante (Souza et al., 2007; Soler-Rivas *et al.*, 2000).

2.4 Atividade inibitória da tirosinase

Foi realizada conforme ensaio enzimático realizado por Hearing (1987). Foi produzido um poço controle contendo 80 µL da enzima, 20 µL diluente (DMSO e tampão fosfato– pH 6,5) e 100 µL da DOPA (3,4-dihidroxy-L-phenylalanine). A absorbância foi monitorada nos intervalos 0, 5, 10, 15 e 20 min com incubação a 37 °C. A absorbância final deve ser ~0.800 com DMSO e ~1.000 usando tampão como diluente. A amostra do óleo foi preparada na concentração de 10 mg/mL. Em microplacas de 96 poços foram adicionados: 20 µL do inibidor [extrato, óleo, diluente (controle) ou padrão (ácido kójico)] + 80 µL da solução da enzima tirosinase. A placa ficou incubada por 5 min a 37° C. Posteriormente foi adicionado 100 µL do reagente de cor DOPA. As leituras foram feitas antes da adição da DOPA e nos demais tempos (5, 10, 15 e 20 minutos), incubando a placa a 37 °C nos intervalos. A leitura da absorbância foi feita em 492 nm. O cálculo de inibição foi realizado por intermedio da equação 1.

$$\% \text{ inibição} = 100 - [(At_{20\text{amos}} - At_{0\text{amos}}) / (At_{20\text{cont}} - At_{0\text{cont}})] * 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde: At_{20} = Absorbância após 20 min. de reação; At_0 = Absorbância no tempo zero.

2.5 Atividade antimicrobiana

O ensaio microbiológico foi realizado pelo método de difusão em ágar com cilindros em placa, segundo as recomendações da Farmacopéia Brasileira (1988). Foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Escherichia coli* (25922), *Staphylococcus aureus* (25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (27853), as quais foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). A escolha das cepas foi baseada nas análises microbiológicas que produtos cosméticos necessitam para cumprir requisitos de controle de qualidade estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Foi utilizado o meio de cultura Mueller-Hinton e inóculo microbiano com transmitância de 85%, no comprimento de onda de 625 nm (fotocolorímetro Bioespectro SP-22), a qual corresponde a uma concentração final de 10^6 UFC/mL. O inóculo foi adicionado à camada de superfície na concentração de 1:100 (v/v). Após o endurecimento do meio de superfície, foram colocados quatro cilindros de aço inoxidável, nos quais foram adicionados 100 µL da amostra. O ensaio foi realizado em triplicata. Após o período de incubação de 48hs, a leitura dos testes foi realizada medindo em milímetro o diâmetro dos halos de inibição ao redor do cilindro com o auxílio de um paquímetro digital. Como controle negativo foi utilizado o álcool a 70% e como controle positivo foi utilizado o antibiótico injetável cefalotina (1g/mL) para a bactéria *S.aureus* e sulfato de gentamicina (40mg/mL) injetável para as demais bactérias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento de obtenção do extrato nebulizado foi de 42% e o rendimento de extração do óleo a partir das sementes de *Opuntia ficus-indica* foi de 5,25%, cujo resultado foi inferior ao encontrado nos estudos de Ennouri et al. (2005), o qual foi de 10,90%. Essa diferença com relação ao rendimento do óleo pode ser atribuída à origem dos frutos, uma vez que este último estudo citado foi realizado com frutos da Tunísia, coletados no mês de agosto.

percebemos que a atividade inibitória do extrato de *Opuntia ficus-indica* não foi tão expressiva.

Na avaliação da atividade microbiológica do extrato nebulizado e do óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* não foram encontrados halos de inibição frente às cepas testadas, nas condições do estudo. Mas, com relação aos controles positivos, a gentamicina expressou halos de $28,8 \pm 0,3\text{mm}$ frente a *E. coli* e $25,8 \pm 0,2\text{mm}$ contra *P. aeruginosa*. A cefalotina apresentou halo de inibição do crescimento bacteriano da cepa *S. aureus* de $23,5 \pm 0,3\text{mm}$.

Contrapondo-se aos dizeres de Packer & Luz (2007) que afirmam que a presença de flavonóides nos vegetais está relacionada com à atividade microbiocida, embora a *Opuntia ficus-indica* apresente flavonóides, neste estudo o óleo de *Opuntia ficus-indica* não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano das cepas utilizadas.

Contudo, no estudo de Salah-Fatnassi et al. (2009) foi verificado que duas espécies de *Opuntia* exibiram forte atividade contra a maioria dos fungos e leveduras ensaiadas, dentre estes *Candida albicans*. A sensibilidade dos organismos testados variou de um extrato a outros também entre as duas espécies com inibição percentual variando de 0% a 72,72%.

4 CONCLUSÃO

A utilização de produtos naturais em formulações sempre foi bem aceita pelo consumidor, o que vem aumentando o interesse das indústrias cosméticas em acrescentar extratos vegetais na composição de seus produtos. Contudo, é extremamente importante que sejam comprovados, por meio de estudos científicos, os efeitos que têm sido atribuídos aos diferentes óleos e extratos.

Assim, apesar de a triagem fitoquímica indicar a presença de flavonóides, na avaliação das potencialidades do extrato nebulizado dos cladódios e do óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* foi detectado que, nas condições padronizadas do estudo, esses produtos derivados não apresentaram atividade antioxidante e nem antibacteriana. Com relação à inibição da enzima tirosinase, apenas o extrato nebulizado demonstrou atividade inibitória ($11,39 \pm 0,21\%$).

Apesar disso, não se pode descartar a possibilidade de utilização do extrato e do óleo da *Opuntia ficus-indica* em fitocosméticos com o intuito de otimizar as formulações, aperfeiçoando seu pH, melhorando sua estabilidade e atuando com um agente filmógeno. Haja vista que, o óleo de *Opuntia ficus-indica* é rico em ácidos graxos insaturados, especialmente linoléico e oléico, os quais podem ser utilizados na reposição dos ácidos graxos da barreira lipídica cutânea, mantendo a hidratação da pele.

Portanto, cabe então destacar a originalidade da pesquisa com a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., na área cosmética, dando perspectivas para novos estudos com essa espécie tão abundante e habituada ao nordeste brasileiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pelo financiamento da pesquisa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – PPGCF/ UFPE. Agradecem também ao PPGCF/UEPB e aos laboratórios LDCPF e LABDEM pelo suporte neste estudo.

5 REFERÊNCIAS

Amorim APO. *Estudo fitoquímico do caule de Talinumtriangulares (Portulacacea) e propriedades antioxidante, quelante e de inibição da enzima tirosinase*. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro- UFRJ, 2007.

Barbera, G, Inglese, P, Barrios EP. *Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/ PB, 2001.

Coskuner, Y., & Tekin, A. Monitoring of seed composition of prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) fruits during maturation period. J. of the Sci. of Food and Agric., 2003; 83(8), 846–849.

Dal’bello SE. *Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e Ginko biloba*. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, 2008.

Ennouri M, Evelyne B, Laurence M, Hamadi A. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chemistry*, 2005; 93: 431-437.

Falcão RBM, Oliveira APS. *Desenvolvimento Rural Sustentável, Um Guia Prático para as Comunidades do Semi Árido Nordeste*. [Citado 2011 nov 16] Disponível em: www.proasne.net/desenvolvimentosustentavel3.html.

Farmacopéia Brasileira; 4ª ed., São Paulo: Atheneu, 1988.

Fatnassi KBHS, Guesmi A, Abid I, Brahmi D, Aouni M, Lazhar Z. Antifungal activity of the aqueous extracts of two *Opuntia* species from Tunisia. *TJMPNP*, 2009; 1: 46-51

Flor J, Davolos MR, Correa MA, Protetores Solares, *Quím. Nova* 2007; 30: 153-158.

Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N, Pergolizzi S, Taviano MF. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51:4903-4908.

Guerra MP, Nodari RO. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Org.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre- Florianópolis: Ed Universidade, 2001

Hamou AA. Na overview on medicinal and cosmetic of cactus in Morocco. *Cactusnet*. 2008; 11(1): 2008.

Hearing VJJr. Mammalian monophenolmonooxygenase (tyrosinase): purification, properties and reactions catalyzed. *Methods Enzymol.* 1987; 142: 154-65.

Luzia DMM, Bertanha BJ, Jorge N. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) seeds: antioxidant potential and fatty acids profile. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010; 69(2): 175-80.

Mansur JS, Breder MNR, Mansur MC, Azulay RD, Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, 1986; 61: 121-124.

Nascimento JC, Lage LFO, Camargos RDC, Amaral JC, Costa LM, Sousa AN, Oliveira FQ. Antioxidant determination activity by DPPH method and assay for total flavonoids in leaves extracts of *Bauhinia variegata* L. *Rev. Bras. Farm.* 2011; 92(4): 327-332.

Packer JF, Luz MMS. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2007; 17(1): 639-644.

Perruchon S. Estudo das propriedades dos flavonóides para cosméticos através do relacionamento função estrutura. *Cosm. & Toil*, 2002; 14: 74-77.

Ramadan MF, Mörsel JT. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chem.* 2003; 82:339-345.

Russel C.E., Felker P., The Prickly Pears (*Opuntia* spp. Cactaceae): A source of human and animal food in semiarid regions. *Economic Botany*, 2007; 41: 433-445.

Sáenz-Hernández D. Fabricação de alimentos e obtenção de subprodutos. In: Barbera G., Inglese P, Barrios EP. *Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/PB, 2001:140-146.

Santos AS, Lima LB, Magalhaes CEC, Almeida MMB, Silva MG. Avaliação do potencial protéico, mineral e antioxidante de resíduos de indústrias de processamento de frutas do estado do Ceará. In: *29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*; 2006. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2006

Schmid D, Suter F, Züllli F. An Opuntia Cactus Extract to Treat Sensitive and Dry Skin, *Söfw-Journal*, 2005; 131:14 – 18.

Soler-Rivas C, Espín JC, Wishers HJ. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochem Analysis*, 2000; 11: 1-9

Sobrinho TJSP, Cardoso KCM, Gomes TLB, Ulysses P, Albuquerque UP, Amorim ELC. Análise da pluviosidade e do efeito de borda sobre os teores de flavonóides em *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud., Fabaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 2009; 19(3): 740-745.

Sousa CMM et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova*, 2007; 30(2): 351-355.

Souza PM. *Atividade de inibição enzimática por espécies do bioma cerrado*. [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília, UNB, 2011.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

As análises farmacopéicas, espectroscópicas e térmicas dos produtos derivados de *Opuntia ficus-indica* permitiram caracterizá-los físico-quimicamente, verificar sua estabilidade térmica e estabelecer critérios de controle de qualidade para o processo de obtenção e conservação destes produtos. Através do CG-EM foi detectado que o óleo é rico em ácidos graxos saturados e insaturados, principalmente em ácido linoléico (~65%).

Aspesar de a triagem fitoquímica indicar a presença de flavonóides e os resultados de fenóis totais serem consideráveis, na avaliação das potencialidades do extrato nebulizado dos cladódios e do óleo das sementes de *Opuntia ficus-indica* foi detectado que, nas condições padronizadas do estudo, esses produtos não apresentaram atividade antioxidante e nem antibacteriana. Com relação à inibição da enzima tirosinase, apenas o extrato nebulizado demonstrou atividade inibitória. Quanto à avaliação do potencial fotoprotetor do óleo, foi observado que o mesmo não demonstrou FPS significativo e nem potencializou o FPS de formulações cosméticas contendo filtros solares orgânicos.

Apesar disso, não se pode descartar a possibilidade de utilização do extrato e do óleo da *Opuntia ficus-indica* em fitocosméticos com o intuito de otimizar as formulações, aperfeiçoando seu pH, melhorando sua estabilidade e atuando com um agente filmógeno. Haja vista que, o óleo das sementes da *Opuntia ficus-indica* é rico em ácidos graxos insaturados, especialmente linoléico e oléico, os quais podem ser utilizados na reposição dos ácidos graxos da barreira lipídica cutânea, mantendo a hidratação da pele.

Portanto, cabe então destacar a originalidade da pesquisa com a *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., na área cosmética, dando perspectivas para novos estudos com essa espécie tão abundante e habituada ao nordeste brasileiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABURJAI, T.; NATSHEH, F. Plants used in cosmetics. *Phyther Res.*, v.17, p.987-1000, 2003.

AMORIM, A.P.O. *Estudo fitoquímico do caule de Talinumtriangulares (Portulacacea) e propriedades antioxidante, quelante e de inibição da enzima tirosinase*. 2007, 95p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, V.G. & ALLEN Jr., L.V. *Farmacotécnica: Formas farmacêuticas & Sistemas de liberação de fármacos*. 6ª. Ed., São Paulo, Editora Premier, 568p, 2000.

ARAUZA, J.C.G., Efectos biofuncionales del Nopal y la Tuna. *Rev. Horticultura*. v. 71, p.1-9, 2009.

ATKINS, P.; JONES, L. *Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*. Porto Alegre, 2001. Editora Bookmam.

BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Eds.). *Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/ PB, 132p., 2001.

BARBOUR, E.K. Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*, v.93, p.1-7, 2004.

BARRY, A.L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: Balows A, et al. *Manual of clinical microbiology*. 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991, p. 1117-1125.

BILLIHIMER, W.L. Human sunscreen evaluation: Protection from sunburn. *Cosm. &Toil*. Oak Park, v.102, p.83-89, 1987.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 237, de 22 de agosto de 2002*. Aprova o Regulamento Técnico sobre Protetores Solares em Cosméticos. Brasília, Diário Oficial da União, nº 163, 23 de agosto de 2002.

BUTERA, D. et al. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *J Agric Food Chem*. v.50, p.6895-6901, 2002.

CHIACCHIO, F. P. B.; MESQUITA, A. S.; SANTOS, J. R.. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. *Revista Bahia Agrícola* [on line]. Bahia, v.7, n.3, 2006.

CONCHOOSKY, D.D.; CÔRREA, G.G. Tratamento de hiperpigmentação pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. *Informa*, n.17, v.3, p.4, 2005.

DAL'BELO, SE. Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e Ginkgo biloba. 2008, 176p. Tese (doutorado de Ciências farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

DANTAS, L.I.S. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis schauer* sobre patógenos de importância na indústria de alimentos. *Holos*, v.26, v.5, 2010

DE POLO, K.F. *A short textbook of cosmetology*. ed 1, Verlag Fur Chemische Industrie, p.335-423, 1998.

ELISABETSKY, E.; MORAES, J.A.R. *The first International Congresso of Ethnobiology*; Poesy, D.A.; OVERAL, W.L.; eds; Belém: Brasil, 1988, 2, p.111.

EL KOSSORI R.L. et al. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.), *Plant Food Human Nutr.* v.52, p.263-270, 1998.

ENNOURI, M. et al. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chemistry*. v.93, p.431-437, 2005

ENNOURI, M. et al. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica* L.: Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresour Technol.* v. 97, p.1382-1386, 2007.

EWING, G.W. *Métodos Instrumentais de Análise Química*. São Paulo, 2002. Editora Edgar Blücher.

FALCÃO R. B. M.; OLIVEIRA, A. P. S. *Desenvolvimento Rural Sustentável, Um Guia Prático para as Comunidades do Semi Árido Nordeste*. Disponível em: www.proasne.net/desenvolvimentosustentavel3.html. Acesso em: 16 de janeiro de 2012.

FALGUERA, V.; IBARZ, J.P. A kinetic model describing melanin formation by means of mushroom tyrosinase. *Food Research internacional*.v. 43, p.66-69, 2010.

FARIA, E.A. et al. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. *Eclét. Quím.* v.27, 2002.

FARIA, R.O et al. The biotechnological potential of mushroom tyrosinases, *Food Technology and Biotechnology*, v. 45, p. 287-294, 2007.

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.*, v.17, n.4, p.626-630, 2007.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. Protetores Solares. *Quím. Nova*, v.30, p.153-158, 2007.

FREITAS, P.C.D. Princípios ativos de origem vegetal. *Cosm. &Toil.* São Paulo, v.2, p.24-28, 1990.

FREITAS, L.S. *Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos*. 2007, 227p. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GALATI, E.M. et al. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity, *Agric Food Chem.* v.51, p. 4903-4908, 2003

GIL, E.S. *Controle físico-químico de qualidade de medicamentos*. 2 ed. Pharmabooks, São Paulo, 2007.

GUERRA M.P.; NODARI R.O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES C.M.O., SCHENKEL E.P., GOSMANN G., MELLO J.C.P., MENTZ L.A., PETROVICK P.R. (Org.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre- Florianópolis: Ed Universidade, p.13-40, 2001.

HAMOU, A. A. Na overview on medicinal and cosmetic of cactus in Morocco. *Cactusnet*. Morocco, v. 11, n. 1, 2008.

IHA, S.M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. *Rev. bras. farmacogn.* [online] v.18, n.3, p. 387-393, 2008.

LEO, M. et al. Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC-PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses, *Phytochemistry Lett.* v.3, p. 48-52, 2010.

LUZIA, D.M.M.; BERTANHA, B.J.; JORGE, N.. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) seeds: antioxidant potential and fatty acids profile. *Rev Inst Adolfo Lutz*. v.69, n.2, p.175-80, 2010.

MAGALHÃES, J. O uso de cosméticos através dos tempos, envelhecimento cutâneo. In: *Cosmetologia: com questões de avaliação*. Rio de Janeiro: Rubio, p. 61-145, 2000.

MARKHAN, K.R. et al. An increase in the luteolin: apigenin ratio in *Marchantia polymorpha* on UV-B enhancement. *Phytochemistry*, v. 48, p.791-794, 1998.

MANSUR, J.S. et al. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, v.61, n.4, p.121-24, 1986.

MAYER, A.M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review; *Phytochemistry*. p.2318–2331, 2006.

MICHILES, E.; BOTSARIS, A.S. Medicamentos Sintéticos e Fitoterápicos: potencialidade de equivalência. *Revista Fitos*. v. 1, n.1, p.36-42, 2005.

MONTHANA, R.A.A.; LINDEQUIST, U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *J Ethnopharmacol*, v.96, p.177-181, 2005.

MORAES, L.D; OLIVEIRA, H.B; SOUSA, O.V. Teores médios de flavonóides em amostras de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. *Rev. Bras. de Biociênc.*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p.1035-1037, 2007.

NASCIMENTO, C.S. et al. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. *Rev. Bras. Farm.*, v.90, n.4, 2009.

OLIVEIRA, F.T. 2008.138 f. *Crescimento do sistema radicular da Opuntia fícus -indica (L.) Mill (palma forrageira) em função de arranjos populacionais e adubação fosfatada*. Universidade Federal de Campina Grande, Patos – PB, 2008.

OLIVEIRA, O.W.; PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. *Rev. bras. farmacogn.* [online], v.20, n.4, p.641-650, 2010.

OLIVEIRA, M.A.; YOSHIDA, M.I.; GOMES, E.C.L.. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Quim. Nova*, v. 34, n.7, p.1224-1230, 2011

OSTROSKY, E.A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmacogn.* v.18, n.2, 2008.

ÖZCAN, M.M.; AL JUHAIMI, F.Y. Nutritive value and chemical composition of prickly pear seeds (*Opuntia ficus indica* L.) growing in Turkey. *Int. J. Food Sci. Nutr.* v. 5, p. 533-536, 2011

PACKER, J.F.; LUZ, M.M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.17, n.1, 2007.

PERRUCHON, S. Estudo das propriedades dos flavonóides para cosméticos através do relacionamento função estrutura. *Cosm. & Toil.* v.14, n.74, 2002.

PICCOLI, R. et al. Características das principais técnicas analíticas aplicadas à caracterização de materiais. *Anais... Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, 17.,2006, Foz do Iguaçu.

PIETTA, P. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.*, v.63, p.1035-1042, 2000.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. *Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos*. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003, 325 p.

POLESEL, D.N.; SINHORINI, A.L.C.; PERONE, C.A.S. Caracterização cinética da enzima catecolase (*Polifenol oxidase*) em extratos brutos da polpa e da casca de berinjela (*Solanum melongena* L.). *J Health Sci Inst.*, v.28, n.2, p.175-180, 2010.

REDA, S.Y.; CARNEIRO, P.I.B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. *Revista Analytica*, n. 27, 2007.

RAMADAN, M. F.; MÖRSEL, J. T. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chemistry*. v. 82, p. 339-345, 2003.

RANKELL, A.S.; LIEBERMAN, H.Á.; SCHIFFMAN, R.F. Secagem. In: Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. V.1, Lisboa: Calouste Gulbenkian, p. 83-112. 2001.

RICHARD-FORGET, F.C.; GAUILLARD, F.A. Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase; a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.*, v. 45, p. 2472-2476, 1997.

ROCHA, P.A.F. Preservantes. *Cosm. & Toil.* v.6, p.26-33, 1994.

ROSA, M.B. et al. Estudo espectrofotométrico da atividade foto-protetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* Var. *Capitata*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (Jacq.). *Rev Eletr Farm.*, v.5, n.1, p.101-110, 2008.

RUSSEL, C.E.; FELKER, P. The Prickly Pears (*Opuntia* spp. Cactaceae): A source of human and animal food in semiarid regions. *Economic Botany*. v.41, p. 433-445, 2007.

SÁENZ-HERNÁNDEZ, D. Fabricação de alimentos e obtenção de subprodutos. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E. P. *Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/PB, 2001. p. 140-146.

SANCHEZ-FERRER A. et al. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochim Biophys Acta.*, v.1247, n.1, p.1-11, 1995.

SANTOSCOY, C.R.A.; GUTIERREZ, J.A.; SERNA, S.O. Phenolic composition, antioxidant capacity and *in vitro* cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum Nutr.* n.64, p.146-152, 2009.

SANTOS, E.P. et al. *In vitro* and *in vivo* determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate. *Int J Cosm Sci.* v.21, n.1, p.1-5, 1999.

SAYRE, R.M. et al. Sunscreen standards tested with differently filtered solar simulators. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* v.17, n.6, p.278-83, 2008.

SAYRE, R.M. et al. Performance of Six Sunscreen Formulations on Human Skin: A Comparison. *Photochem Photobiol.* v.115, p.46-49, 1979.

SCHEINVAR, L. *Taxonomia das Opuntias utilizadas*. In: Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. Traduzido por SEBRAE/PB. João Pessoa: SEBRAE/PB, 2001. p. 20-27.

SCHMID D., SUTER F., ZÜLLI F., An Opuntia Cactus Extract to Treat Sensitive and Dry Skin, *Söfw-Journal.* v.131, p.4 – 18, 2005.

SEBRAE. *Projeto do Sebrae em Sergipe capacita produtor de Palma*. Disponível em: http://www.sebrae.com.br/uf/sergipe/areas-de-atuacao/agronegocios/ovino-e-aprinocultura/integra_bia?ident_unico=120001118. Acessado em: 05 de novembro de 2011.

SILVA JÚNIOR, J.O.C et al. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. *Rev Bras Farmacogn.* v. 16, p.671-677, 2006.

SILVERSTAIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; Identificação espectrométrica de compostos orgânicos, 6ª ed. LTC, Rio de Janeiro, 2000.

SOUSA, D. M. M. et al. Comportamento de sementes de palma (*Opuntia ficus-indica* L.) submetidas à fermentação e secagem. *Revista Caatinga*. v. 22, n. 3, p. 29-34, 2009.

SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova*, v.30, n. 2, p.351-357, 2007.

SOUZA, T.M. et al. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.15, n.1, p.36-38, 2005.

SOUZA, P.M. Atividade de inibição enzimática por espécies do bioma cerrado. 2011. 90p. Dissertação de Mestrado - Universidade de Brasília, Brasília.

SPRAGG, R.A. IR spectroscopy sample preparation methods. In: LINDON, J.C. (Ed.) *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. New York: Academic Press, p. 1058-1066, 2000.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIAN, C.; GAI, M.N. Biofarmacotécnica. In: MATOS, J.R.; MERCURI, L.; BARROS, G. *Análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009, p.32-65.

TESORIERE, L. et al. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 80, n. 2, p.391-395, 2004.

VALFRÉ, H. Fitocosmética. *Cosm Toil.*, v.2, p.9-14, 1990.

VASCONCELOS, E.A.F. et al. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil® 200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), *Rev Bras Farmacogn* 15: 243-249, 2005.

VELASCO, M.V.R. et al. Eficácia fotoprotetora in vitro (Revisão). *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* v.32, n.1, p.27-34, 2011.

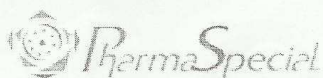
VIOLANTE, I.M.P. et al. Estudo preliminar da atividade fotoprotetora in vitro de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Rev. Bras. Farm.*, v.89, n.3, p.175-179, 2008.

VIEIRA, A.A.; VILLAR, J.D.F. Síntese, Caracterização e Modelagem Molecular de Tetracetonas como Potenciais Inibidores da Tirosinase. *Sociedade Brasileira de Química (SBQ) 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia-SP, 2008

ZOU, D.M. et al. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutr. J.* v.4, p.25-36, 2005.

ANEXO

LAUDO DE ANÁLISE DO ARISTOFLEX AVL



CERTIFICADO DE ANÁLISE

PÁG.: 8

DATA/HORA: 30/09/2011 15:10:46

Laudo 16913

Cliente: CAMPINA GRANDE PROD.FARMACÊUTICOS LTDA

Nota Fiscal: 150434

Produto: ARISTOFLEX AVL - 1 KG

Nome Químico: Caprylic/Capric Triglyceride (and) Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer (and) Trilaureth-4-Phosphate (and) Polyglyceryl-2-Sesquiisostearate

Código Produto: AVL - 1 KG

Procedência: Estrangeiro

Origem: ALEMANHA

Lote Original: BRAC200122

Fabricação: 25/04/2011

Validade: 14/04/2013

Fabricante: CLARIANT S/A

DCB:

DCI:

Lote Interno: PS-001585/F01

CAS: 73398-61-5/335383-60-3/121158-63-2/121158-61-0/121158-62-1/67938-21-0

Manuseio e Armazenamento

Derramamento ou Vazamento

Tratamento e Disposição

Armazenar em local fresco e seco, protegido do calor e umidade.

Recolher mecanicamente. Enxaguar o restante com água.

Conduzir a uma Unidade de Incineração, observando as normas das autoridades locais.

Características	Especificação	Resultado	Método
ASPECTO	LÍQUIDO VISCOSO	DE ACORDO	MA-FQ-001 (PHARMASPECIAL)
COR	BRANCO A LEVEMENTE AMARELO	DE ACORDO	MA-FQ-001 (PHARMASPECIAL)
pH (SOL. 1%)	4.0 - 7.0	6.54	BRAF0726
ÁGUA KF (%)	0.0 - 2.10	1.10	BRAF0826 (FABRICANTE)
VISCOSIDADE BROOKFIELD (TAL QUAL/RVT/20 rpm/25°C/F4) (cP)	<= 3000	500	BRAF0825 (FABRICANTE)
VISCOSIDADE BROOKFIELD (3,7% ÁGUA/RVT/20 rpm/25°C/F6) (cP)	>= 30000	42000	BRAF1133 (FABRICANTE)

Referência: USP 29 E ESPECIFICAÇÕES DO FORNECEDOR.

Resultado: APROVADO DE ACORDO COM AS ESPECIFICAÇÕES DO FABRICANTE.

ESTE LAUDO É CÓPIA FIEL DO ORIGINAL.

Rúbrica

Gisele Cristina Cunha
Farmacêutica Responsável
CRF - 20985

Pharma Face
Laudo Analítico Analisado e
Aprovado pelos Farmacêuticos:
Drª. Valéria Nascimento - CRF 4749/PB.
Dr. Igor Barros Lima - CRF 2965/PB.
Data: 14/10/11