



## **Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética loções corporais**

**ANDREIA SOFIA CARVALHEIRO BRANCO**

Outubro de 2022

# Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética – loções corporais

**Instituto Superior de Engenharia do Porto**  
**Mestrado em Engenharia Química**  
**Ramo de Qualidade**

**Andreia Sofia Carvalheiro Branco**

*Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, área de especialização Qualidade*

Orientadores:

Valentina F. Domingues

Maria João Ramalhosa

Cristina Soares

outubro de 2022



## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer às minhas orientadoras, Professora Doutora Valentina Domingues, Professora Doutora Maria João Ramalhosa e Doutora Cristina Soares, por terem proporcionado a minha integração no projeto e por todo o apoio e orientação proporcionado.

Não poderia deixar também de prestar o meu agradecimento ao Grupo de Reação e Análises Químicas (GRAQ), por proporcionar meios e equipamentos essenciais ao desenvolvimento do presente estudo.

Contudo, não posso deixar passar ao lado todo o apoio emocional prestado pela família e amigos. Quero assim deixar um agradecimento especial aos meus pais por me terem dado liberdade para escolher o meu próprio caminho, e apoiarem sempre as minhas opções. Um muito obrigado a todos que de alguma forma me encaminharam à realização deste trabalho, quer tenha sido por acreditarem nas minhas capacidades, iluminar interesses por explorar ou por me incentivarem a querer deixar uma marca do meu trabalho no mundo.



## Resumo

A ocorrência de oxidação lipídica é um processo espontâneo em gorduras, e conseqüentemente em produtos com teor de gordura significativo. Cosméticos inserem-se nesta categoria, apresentando uma intrínseca relação entre a qualidade do produto e o seu valor de mercado com a capacidade de oxidação.

Os efeitos secundários da oxidação levam à deterioração e alteração das características organolépticas do produto, como mudança de odor, textura, cor, separação de distintas fases, o que leva a depreciação do produto por parte do consumidor.

Perante isto, a indústria verifica a necessidade real de controlar e avaliar a ocorrência de oxidação nos seus produtos contendo gorduras e óleos, de forma a controlar o período de prateleira adequado.

Com este trabalho pretendeu-se avaliar o envelhecimento de cosméticos, no caso particular de dez loções corporais e correlacionar a oxidação lipídica com a composição das loções selecionadas. Para além da análise qualitativa das loções corporais em estudo, estas foram ainda submetidas a análises realizadas recorrendo a diversos métodos, de forma a quantificar os produtos de oxidação primários e secundários.

Inicialmente, as amostras foram submetidas a um processo de envelhecimento acelerado (através do seu armazenamento a cerca de 45 °C) sendo que o estudo teve um total de seis meses.

Recorrendo a métodos como a quantificação dos Dienos Conjugados (DC) expresso em percentagem e o Índice de Peróxidos (IP) expresso em meqO<sub>2</sub>/Kg de amostra seca, foi possível a quantificação dos produtos primários de oxidação. Já métodos como o Índice de *p*-Anidissina (ipA) e a reação do ácido tiobarbitúrico com o malonaldeído (TBARS) expresso em concentração de malonaldeído (mg/g de amostra seca) proporcionaram a quantificação dos produtos secundários de oxidação.

Pela análise dos resultados obtidos e correlação com as avaliações organolépticas para cada mês do estudo, foi possível delinear um perfil de oxidação lipídica para cada amostra.

Conclui-se que a loção corporal com maior extensão da oxidação lipídica foi a amostra J, uma vez que esta apresenta um valor total de oxidação (TOTOX) superior, de 3,75. Por outro lado, as loções com menor oxidação lipídica no final do estudo foram as amostras B e C com valores de TOTOX de 0,130 e 0,120, respetivamente.

## **Palavras-Chave**

Oxidação em cosméticos, oxidação lipídica, Dienos Conjugados, Índice de Peróxidos, Índice de *p*-Anidissina, reação do ácido tiobarbitúrico com o malonaldeído.

## Abstract

The occurrence of lipid oxidation is a spontaneous process in fats and, consequently, in products with significant fat content. Cosmetics fall into this category, presenting an intrinsic relationship between the product's quality and its oxidation capacity and market value.

The secondary effects of oxidation lead to deterioration and alteration of the product's organoleptic characteristics, such as a change in odour, texture, colour, and separation of different phases, which leads to a product's depreciation towards the consumer. Given this, the industry sees the real need to control and assess the occurrence of oxidation in its products containing fats and oils to control the appropriate shelf life.

This work aimed to evaluate the ageing of cosmetics, in the particular case of ten body lotions and to correlate lipid oxidation with the composition of the selected lotions. In addition to the qualitative analysis of the body lotions under study, they were also subjected to analysis carried out by different methods to quantify the primary and secondary oxidation products.

Initially, the samples were subjected to an accelerated ageing process (through their storage at about 45 °C), and the study lasted six months.

Using methods such as the quantification of Conjugated Dienes (DC) expressed in percentage and the Peroxide Index (PI) method expressed in meqO<sub>2</sub>/Kg of dry sample, it was possible to quantify the primary oxidation products. On the other hand, methods such as the p-Anidisine Index (ipA) and the reaction of thiobarbituric acid with malonaldehyde (TBARS) expressed as malonaldehyde concentration (mg/g of dry sample) provided the quantification of secondary oxidation products.

By analyzing the results obtained and their correlation with the organoleptic evaluations for each month of the study, it was possible to delineate a lipid oxidation profile for each sample.

It is concluded that the body lotion with the greatest extent of lipid oxidation was sample J since it has a higher total oxidation value (TOTOX) of 3.75. On the other hand, the lotions with the lowest extent of lipid oxidation at the end of the study were samples B and C, with TOTOX values of 0.130 and 0.120, respectively.

## **Keywords**

Oxidation in cosmetics, lipid oxidation, Conjugated Dienes, Peroxide Index, p-Anidisine Index, reaction of thiobarbituric acid with malonaldehyde.

# Índice

Abreviaturas.....	1
1. Introdução.....	3
1.1 Enquadramento e Objetivos.....	3
1.2 Cosméticos – Uma visão geral.....	4
1.2.1 A Indústria Cosmética .....	4
1.2.2 Composição de Loções .....	5
1.2.2.1 Veículo (Base).....	6
Ingredientes Humectantes .....	7
Ingredientes Emolientes .....	8
Ingredientes à base de Silicone .....	10
1.2.2.2 Aditivos (bio)ativos.....	10
Vitaminas .....	10
Antioxidantes .....	11
Ácidos e Aminoácidos .....	11
1.2.2.3 Auxiliares e Estabilizantes físico-químicos .....	12
Ingredientes emulsificantes .....	13
Modificadores de textura.....	13
Preservantes/Conservantes .....	13
1.2.2.4 Aditivos organoléticos.....	14
Óleos essenciais e fragrâncias .....	15
Regulamentação dos óleos essenciais e fragrâncias .....	15
1.2.3 Vida útil de um cosmético .....	16
1.2.3.1 Envelhecimento acelerado.....	17
1.3 Oxidação Lipídica.....	18
1.3.1 Mecanismos de oxidação lipídica.....	18
1.3.2 Determinação da estabilidade da matéria gorda .....	20
1.4 Avaliação e quantificação da oxidação lipídica.....	21
1.4.1 Aspectos organoléticos avaliados.....	22
1.4.2 Avaliação das Propriedades Organoléticas.....	22
1.4.3 Métodos de avaliação .....	22
1.4.4 Extração Lipídica.....	23
1.4.4.1 Método de Soxhlet .....	23

1.4.4.2	Método Folch .....	23
1.4.5	Análise dos produtos primários de oxidação.....	24
1.4.5.1	Método do Índice de Peróxidos (IP) .....	24
1.4.5.2	Método dos Dienos Conjugados (DC) .....	24
1.4.6	Análise dos produtos secundários de oxidação .....	25
1.4.6.1	Método da reação do ácido tiobarbitúrico com o malonaldeído (TBARS) 25	
1.4.6.2	Método do Índice de <i>p</i> -anisidina (ipA) .....	26
1.4.6.3	Método para avaliação total da oxidação (TOTOX).....	27
1.4.6.4	Método do índice de ranço ou teste de Kreis .....	27
1.4.6.5	Determinação dos compostos voláteis .....	27
1.4.6.6	Comparação entre métodos analíticos.....	28
2.	Componente Experimental.....	29
2.1	Identificação e Amostragem .....	29
2.2	Envelhecimento Acelerado .....	29
2.2.1	Material e Equipamento.....	30
2.3	Análise Sensorial .....	30
2.4	Determinação do teor de humidade .....	31
2.5	Extração dos componentes resultantes da oxidação lipídica .....	32
2.5.1	Material e Equipamento.....	32
2.5.2	Reagentes e Solventes .....	32
2.6	Ensaio para determinação da oxidação lipídica .....	32
2.6.1	Determinação dos Dienos Conjugados (DC).....	33
2.6.2	Determinação do índice de peróxidos (IP) .....	34
2.6.2.1	Material e Equipamento .....	34
2.6.2.2	Reagentes e Solventes .....	34
2.6.2.3	Procedimento Experimental .....	35
2.6.3	Método das espécies reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS).....	36
2.6.3.1	Material e Equipamento .....	36
2.6.3.2	Reagentes e Solventes .....	36
2.6.3.3	Procedimento Experimental .....	37
2.6.4	Determinação do Índice de <i>p</i> -anisidina (ipA).....	39
2.6.4.1	Material e Equipamento .....	39
2.6.4.2	Reagentes e Solventes .....	39

2.6.4.3	Procedimento experimental.....	39
2.6.5	Determinação do valor total de oxidação (TOTOX).....	40
2.6.6	Análise estatística .....	41
3.	Resultados e Discussão .....	43
3.1	Avaliação da evolução das propriedades organolépticas ao longo do tempo de envelhecimento .....	43
3.2	Avaliação da perda de massa e teor de humidade.....	44
3.2.1	Resultados da perda de massa .....	44
3.2.1	Resultados do teor de humidade.....	46
3.3	Avaliação da extração lipídica.....	49
3.4	Dienos conjugados em loções.....	49
3.5	Índice de peróxidos em loções.....	52
3.6	Resultados da determinação do ipA.....	54
3.7	Resultados da determinação do TBARS.....	56
3.8	Correlação entre a presença de extratos naturais e o valor de TOTOX.....	58
3.9	Comparação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos.....	62
3.10	Avaliação dos resultados por amostra de loção corporal.....	63
3.10.1	Loção A .....	63
3.10.2	Loção B .....	64
3.10.3	Loção C .....	65
3.10.4	Loção D .....	67
3.10.5	Loção E.....	68
3.10.6	Loção F.....	69
3.10.7	Loção G .....	70
3.10.8	Loção H .....	71
3.10.9	Loção I.....	72
3.10.10	Loção J.....	73
4.	Conclusões .....	77
5.	Sugestões para Trabalho Futuro .....	79
	Referências .....	81
Anexo A.	Categorização dos ingredientes .....	85
A.1	Emulsões em Estudo .....	85
A.2	Amostragem e Preparação .....	93
Anexo B.	Análise Sensorial Após Período de Oxidação .....	95

B.1 Análise Sensorial das Propriedades Organolépticas das Loções em Análise .....	100
Anexo C. Determinação do IP .....	107
C.1 Preparação das soluções .....	107
C.2 Preparação das soluções padrão e curva de calibração .....	108
Anexo D. Determinação do TBARS .....	109
D.1 Preparação das soluções.....	109
D.2 Curva de calibração para o ensaio de TBARS .....	110
Anexo E. Determinação do ipA.....	113
E.1 Procedimento para a descoloração dos cristais de <i>p</i> -anidissina.....	113
Anexo F. Resultados Experimentais para cada ensaio .....	115
Anexo G. Resultados da Análise Estatística .....	119

## Índice Figuras

Figura 1.1- Categorias de ingredientes base da composição de uma loção cosmética, adaptado de (Isenmann, 2019).....	6
Figura 1.2- Composição geral da gordura animal e vegetal (Isenmann, 2019).....	8
Figura 1.3- Estrutura química e nomes triviais de alguns dos ácidos gordos mais encontrados em gorduras animais e vegetais (Isenmann, 2019). ....	9
Figura 1.4- Representação esquemática do processo de oxidação lipídica, adaptado de (F. Silva et al., 1999).....	21
Figura 1.5- Reação de oxidação dos ácidos gordos polinsaturados levando à formação de hidroperóxidos, adaptado de (Silva et al., 1999). ....	25
Figura 1.6- Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, obtendo-se um composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532 nm (Oxford Biomedical Research, 2013).....	26
Figura 2.1- Procedimento para a preparação das amostras, soluções padrão e branco para a determinação da concentração de MDA.....	38
Figura 3.1- Perda de massa total após 6 meses de envelhecimento. ....	44
Figura 3.2- Percentagem de perda de massa ao fim de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 meses.....	45
Figura 3.3- Evolução do teor de humidade para as amostras em estudo durante seis meses de oxidação acelerada.....	46
Figura 3.4- Presença de ingredientes com efeito hidratante, fragrâncias e parafinas na formulação de cada loção corporal em estudo.....	48
Figura 3.5- Evolução do IP ao longo de seis meses para cada amostra em estudo. ....	52
Figura 3.6- Evolução da formação de aldeídos para cada amostra ao longo dos seis meses. ....	55
Figura 3.7- Evolução da concentração de MDA para cada amostra ao longo dos seis meses (ensaio de TBARS).....	56
Figura 3.8- Resultados da evolução de TOTOX. ....	59
Figura 3.9- Valor TOTOX para cada creme em estudo, em relação à presença de extratos naturais na composição de cada amostra. ....	60
Figura 3.10- Percentagem do número de ingredientes com propriedades preservantes versus potenciais oxidantes presentes em cada amostra.....	61

Figura 3.11- Comparação dos resultados dos ensaios de DC, IP, ipA e TBARS para as amostras em estudo quando abertas (mês 0) e após submetidas a um processo de envelhecimento acelerado durante 6 meses (mês 6).....	62
Figura 3.12- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra A.....	63
Figura 3.13- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra B.....	65
Figura 3.14- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra C.....	66
Figura 3.15- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra D.....	67
Figura 3.16- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra E.....	68
Figura 3.17- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra F.....	70
Figura 3.18- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra G.....	71
Figura 3.19- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra H.....	72
Figura 3.20- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra I.....	73
Figura 3.21- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra J.....	74
Figura B.1- Resumo das propriedades organoléticas no tempo 0 (análise realizada aquando da abertura da embalagem de cada amostra). .....	100
Figura B.2- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra A, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	101
Figura B.3- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra B, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	101
Figura B.4- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra C, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	102
Figura B.5- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra D, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	102
Figura B.6- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra E, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	103
Figura B.7- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra F, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	103
Figura B.8- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra G, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	104
Figura B.9- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra H, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	104
Figura B.10- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra I, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.....	105

Figura B.11- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra J, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada. ....	105
Figura C.1- Curva de calibração para o ensaio de IP. ....	108
Figura D.1- Curva de calibração para o ensaio de TBARS.....	111



## Índice Tabelas

Tabela 1.1- Propriedade e origem de alguns dos emolientes mais utilizados pela indústria cosmética (Bom et al., 2019). .....	9
Tabela 1.2- Comparação entre métodos analíticos de avaliação da oxidação lipídica (F. Silva et al., 1999). .....	28
Tabela 2.1- Descrição do procedimento experimental para a determinação do IP. ....	35
Tabela A.1- Estudo da avaliação dos ingredientes que podem ter impacto no envelhecimento das loções corporais. ....	85
Tabela A.2- Registo da massa inicial pesada, em gramas, para cada amostra de loção corporal, assim como massa pesada após tempo de envelhecimento respetivo, em gramas, e registo da massa perdida durante o envelhecimento, em gramas. ....	93
Tabela B.1- Tabela Comparativa das Propriedades Organoléticas no Tempo Zero. ....	95
Tabela B.2- Tabela com evolução das propriedades organoléticas ao longo do tempo. ....	96
Tabela C.1- Massas pesadas para a preparação das soluções para o método do IP. ....	107
Tabela C.2- Concentração das soluções padrão preparadas para o ensaio de IP. ....	108
Tabela D.1- Massas pesadas para a preparação das soluções para o ensaio de TBARS. ....	110
Tabela D.2- Concentração das soluções padrão preparadas para o ensaio de TBARS. ....	110
Tabela E.1- Massas pesadas para o método de descoloração da p-anidisina e consequente preparação da solução. ....	113
Tabela F.1- Resultados experimentais da perda de massa, em percentagem. ....	115
Tabela F.2- Resultados da evolução do teor de humidade para cada amostra ao longo dos seis meses de processo de oxidação, em percentagem. ....	116
Tabela F.3- Resultados experimentais do teste de IP (n=3), em meqO <sub>2</sub> /Kg de amostra seca, durante os 6 meses. ....	116
Tabela F.4- Resultados experimentais do teste de TBARS, expressos em concentração de MDA (mg/g amostra seca) (n=3). ....	117
Tabela F.5- Resultados experimentais do teste de ipA (n=3) para as amostras em estudo. ....	117
Tabela F.6- Resultados médios de TOTOX para cada amostra. ....	118
Tabela G 1- Dados relativos à correlação estatística para a amostra A, (n=21). ....	119
Tabela G.2- Dados relativos à correlação estatística para a amostra B, (n=21). ....	119

Tabela G.3- Dados relativos à correlação estatística para a amostra C, (n=21).....	120
Tabela G.4- Dados relativos à correlação estatística para a amostra D, (n=21).....	120
Tabela G.5- Dados relativos à correlação estatística para a amostra E, (n=21). ....	121
Tabela G.6- Dados relativos à correlação estatística para a amostra F, (n=21). ....	121
Tabela G.7- Dados relativos à correlação estatística para a amostra G, (n=21).....	122
Tabela G.8- Dados relativos à correlação estatística para a amostra H, (n=21).....	122
Tabela G.9- Dados relativos à correlação estatística para a amostra I, (n=21). ....	123

## Abreviaturas

A/O Água/Óleo

A/O/A Água/óleo/água

ADE Análise Descritiva do Espectro

ADQ Análise Descritiva Quantitativa

DC Dienos Conjugados

FDA Administração de Alimentos e Medicamentos (do inglês, Food and Drug Administration)

GRAQ Grupo de Reação e Análises Químicas

IFRA Associação Internacional de Fragrâncias

IP Índice de peróxidos

MDA Malonaldeído

O/A Óleo/Água

O/A/O Óleo/Água/Óleo

TBA Ácido 2-tiobarbitúrico

TBARS Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA Ácido tricloroacético

INCI Nomenclatura internacional para ingredientes cosméticos (do inglês, International Nomenclature of Cosmetic Ingredients)



# 1. Introdução

## 1.1 Enquadramento e Objetivos

A presente dissertação realizada no âmbito da cadeira de Dissertação/Estágio, enquadra-se no programa para obtenção de grau de mestre em Engenharia Química, no ramo de Qualidade do Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP).

O presente estudo foi possível tirando partido das instalações e equipamentos proporcionados pelo Grupo de Reação e Análises Químicas (GRAQ), situado no ISEP.

Como objetivos principais apresenta-se a avaliação do envelhecimento em cosméticos, no caso particular de loções corporais e a correlação da oxidação lipídica com a composição das loções selecionadas.

Deste modo, o estudo é constituído por diferentes etapas, iniciando-se pela submissão das loções corporais a um envelhecimento acelerado, seguido de avaliação qualitativa e quantitativa da oxidação lipídica ao longo do tempo, e culminando na realização de correlações entre a oxidação apresentada pelas loções e a sua composição química.

Para a avaliação qualitativa dos fenómenos de oxidação lipídica, recorreu-se a análise organolética, a partir da observação da evolução de características sensoriais das loções em estudo, como alteração do aspeto, textura, cor e odor. Sendo que, as propriedades organoléticas são fatores que impactam diretamente a experiência do consumidor.

Foram explorados métodos conhecidos e validados pela indústria alimentar na quantificação da oxidação lipídica. Recorrendo à extração dos produtos resultantes da oxidação lipídica por solventes orgânicos e consequente determinação usando métodos de referência como a reação do ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) com o malonaldeído (MDA) e índice de peróxidos (IP).

Sendo que a indústria cosmética não apresenta métodos standard para a determinação e quantificação do fenómeno de oxidação descrito, este trabalho pode ainda ajudar na determinação do tempo de prateleira mais adequada pelos transformadores industriais.

## 1.2 Cosméticos – Uma visão geral

Segundo a atual regulamentação europeia, cosméticos são definidos como “qualquer substância ou mistura destinada a ser colocada em contato com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistema capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos) ou com os dentes e as mucosas da cavidade oral com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-las, perfumá-las, mudar sua aparência, protegê-las, mantê-las em bom estado ou corrigir odores corporais” (Bom et al., 2019).

Cosméticos englobam uma imensa variedade de produtos, com diferentes funções e particularidades na sua formulação, sendo amplamente aplicados de forma tópica na pele humana. Ainda que a pele apresente a sua própria camada natural protetora, alguns ingredientes podem penetrar na mesma.

### **Tipo de aplicação de produtos cosméticos**

- Produto que se aclara (“*rinse-off*”): Produto cosmético destinado a ser eliminado após a sua aplicação na pele, cabelo ou mucosas;
- Produto que não se aclara, ou de permanência (“*leave-on*”): Produto cosmético destinado a permanecer em contacto prolongado com a pele, cabelo ou mucosas;
- Produto aplicado em mucosas: Produto cosmético destinado a aplicar-se em mucosas bucais, boca dos olhos e órgãos genitais;
- Produto para olhos: Produto cosmético destinado a aplicar-se perto dos olhos;
- Produto labial: Produto cosmético destinado a aplicar-se nos lábios (Bom et al., 2019).

### 1.2.1 A Indústria Cosmética

A indústria cosmética está em constante crescimento e mudança, muito pela exigência do consumidor final que anseia por novos desenvolvimentos de formulações mais eficazes na prevenção de marcas de envelhecimento da pele, mas também por novas tendências de mercado. Todos estes fatores levam a que a indústria se tenha de reinventar constantemente, de forma a fornecer soluções mais sustentáveis, amigas do ambiente e conscientes, assim como mais eficazes e elevada variedade de oferta.

Expectativas do mercado quanto à evolução e avanços científicos e tecnológicos levam à implementação do uso de novos ingredientes e técnicas na formulação de produtos cosméticos, assim como a utilização de ingredientes bioativos naturais (Yorgancioglu & Bayramoglu, 2013).

## 1.2.2 Composição de Loções

Cosméticos de aplicação cutânea são geralmente formulados tendo em conta quatro partes funcionais (Isenmann, 2019).

1. O veículo ou base, sendo este a base da mistura tal como o nome indica. A escolha do veículo adequado tem impacto na qualidade global do produto, sendo que é fundamental que a escolha dos ingredientes aditivos seja compatível com a base. A maioria dos produtos comercializados atualmente baseiam-se na formulação óleo em água (O/A).
2. Aditivos (bio)ativos, englobam ingredientes tais como vitaminas e protetores solares. No entanto, a glicerina pode também ser incluída neste grupo funcional, uma vez que tem efeito hidratante e pode ser altamente higroscópica. Os aditivos, contrariamente ao veículo, são encontrados em quantidades pequenas na formulação das misturas, sendo usualmente estes os últimos ingredientes listados no rótulo do produto. Uma vez que segundo a INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*), os ingredientes devem ser listados conforme a quantidade da sua percentagem em peso.
3. Agentes auxiliares tem como principal função a conservação (química e biológica) e estabilização (física) da mistura. Neste grupo incluem-se os antioxidantes, conservantes e modificadores de textura, tais como os espessantes.
4. Aditivos organoléticos, sendo estes os modificadores de aspeto e odor, tais como corantes, pigmentos, perfumes e fragâncias. Segundo o INCI, os corantes e pigmentos devem ser referidos na embalagem com uma sigla de cinco dígitos de

acordo com o Colour Index. Por sua vez os perfumes não precisam de ser discriminados no rótulo. Com a exceção de ingredientes perfumados e documentados como possíveis alergênicos, tais como o linalol que deve ser detalhado no rótulo.

Na Figura 1.1 são mencionados alguns tipos de ingredientes que fazem parte das quatro categorias base da constituição de uma loção.

Veículo (Base)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Humectante, emoliente, cera (parafina)</li></ul>
Aditivos (bio)ativos	<ul style="list-style-type: none"><li>• Vitaminas, antioxidantes, ácidos hidrocarboxílicos e aminoácidos, filtros UV, hidratantes, anti-inflamatórios e apaziguantes, entre outros</li></ul>
Agentes estabilizantes	<ul style="list-style-type: none"><li>• Emulsificante, modificador de textura, preservante/conversante, anti-microbiano</li></ul>
Aditivos organoléuticos	<ul style="list-style-type: none"><li>• Óleo essencial, fragrância, pigmento, entre outros</li></ul>

Figura 1.1- Categorias de ingredientes base da composição de uma loção cosmética, adaptado de (Isenmann, 2019).

### 1.2.2.1 Veículo (Base)

As loções corporais têm como função primária proporcionar hidratação à pele. No entanto, a eficácia destas loções depende da sua composição e complexidade de ingredientes funcionais.

Uma pele saudável necessita não apenas de humidade, mas também de gordura (Isenmann, 2019). Existem três grupos de ingredientes que contribuem para uma pele hidratada sendo estes:

1. Humectantes – substâncias higroscópicas que contribuem para a absorção percutânea de água;

2. Emolientes – Substâncias que criam uma barreira hidrofóbica, contribuindo para a diminuição da evaporação trans epidérmica;
3. Substâncias ativas – substâncias que penetram na pele podendo contribuir para a renovação celular (exemplo do  $\alpha$ -hidroxiácidos).

Loções são dispersões coloidais de um líquido em outro imiscível, estabilizado com a presença de surfactantes e/ou partículas sólidas. Este tipo de produtos são comuns em diferentes indústrias, sendo as mais expressivas a farmacêutica, cosmética e alimentar.

Na indústria cosmética, as emulsões representam um dos meios físicos mais comuns, sendo caracterizadas por um sistema bifásico altamente versátil, compostas por água (substância de base hidrofílica), óleo (substância de base oleaginosa), surfactantes (hidrofóbicos, ou substância anfifílicas) e substâncias que adicionam ou melhoram as qualidades organolépticas (como fragrâncias, alteradores ou modificadores de textura e aspetos sensoriais, assim como para proporcionar a preservação e prazo de validade do produto).

Loções podem ser classificadas como simples ou duplas. Podendo ainda as simples serem divididas em dois tipos, água em óleo (A/O) e óleo em água (O/A).

Loções duplas podem ser caracterizadas por água-em-óleo-em-água (A/O/A) ou óleo-em-água-em-óleo (O/A/O) (Kim & Lee, 2018).

Substâncias anfifílicas ou também conhecidas como surfactantes são usadas principalmente para emulsificar, solubilizar, dispersar o óleo ou a fase aquosa, aumentar a estabilidade e melhorar a adsorção. Sendo esta última a capacidade de penetração da loção no tecido cutâneo (Venkataramani et al., 2020).

### **Ingredientes Humectantes**

São substâncias higroscópicas capazes de reter água, que quando usados em formulações cosméticas auxiliam na absorção percutânea de água.

Podem ser, compostos poli-hidroxilados, tais como glicerina, *sorbitol*, *propilenoglicol*, mas também ureia. Estes aditivos higroscópicos, uma vez aplicados em cima do nosso corpo, mantêm a humidade e evitam assim o ressecamento da pele e cabelo (Isenmann, 2019).

A água contida em loções é o componente mais importante que contribui para o equilíbrio da humidade da nossa pele. No entanto, as loções contêm outros ingredientes

que auxiliam neste propósito, devido ao seu carácter higroscópico, tais como a ureia e a glicerina (Isenmann, 2019).

A ureia é uma das substâncias mais eficazes na retenção da humidade da pele. O ingrediente de origem natural mais utilizado como humectante é a aloé vera, que para além de proporcionar efeito humectante, contém ainda enzimas, vitaminas, minerais e proteínas (Isenmann, 2019).

### **Ingredientes Emolientes**

O termo “emoliente” é frequentemente usado como sinónimo de ingrediente hidratante, no entanto para além de fornecer a capacidade hidratante, este também confere propriedades organoléticas às loções. Podendo estas ser de carácter sensorial, como suavidade, elasticidade, e capacidade de propagação, como também visuais, como aparência de brilho ou grau de fosco (Bom et al., 2019).

Durante a formulação de cosméticos hidratantes, como é o caso de loções corporais, a escolha dos ingredientes emolientes está dependente de vários fatores que contribuem para o perfil sensorial do produto final, tal como a estrutura química do ingrediente, e as suas propriedades físicas.

Assim sendo, os ingredientes emolientes podem ser classificados consoante a sua estrutura química, podendo estes pertencer à família dos hidrocarbonetos, álcoois gordos, ésteres e ainda derivados de silicone (Bom et al., 2019).

Nas Figuras 1.2 e 1.3 é possível consultar a estrutura química e designação de alguns dos ácidos gordos mais comuns em gordura vegetal e animal, tais como os glicerídeos, ácido láurico e esteárico, entre outros.

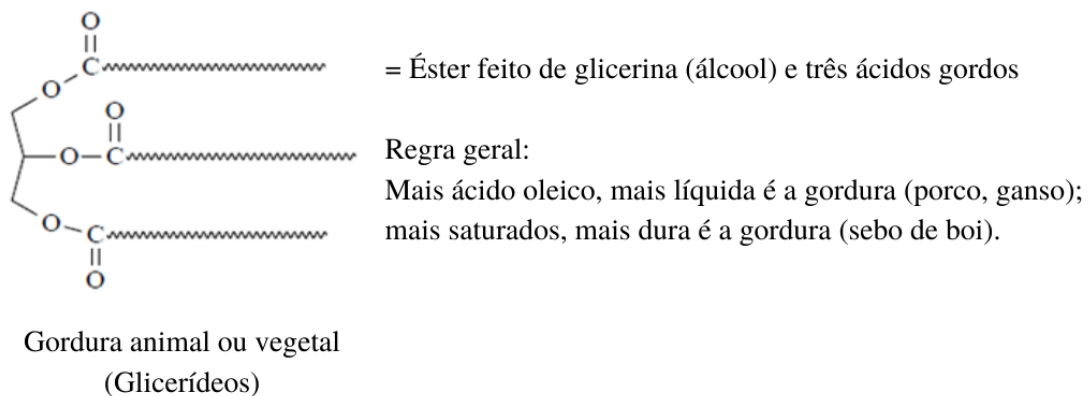


Figura 1.2- Composição geral da gordura animal e vegetal (Isenmann, 2019).

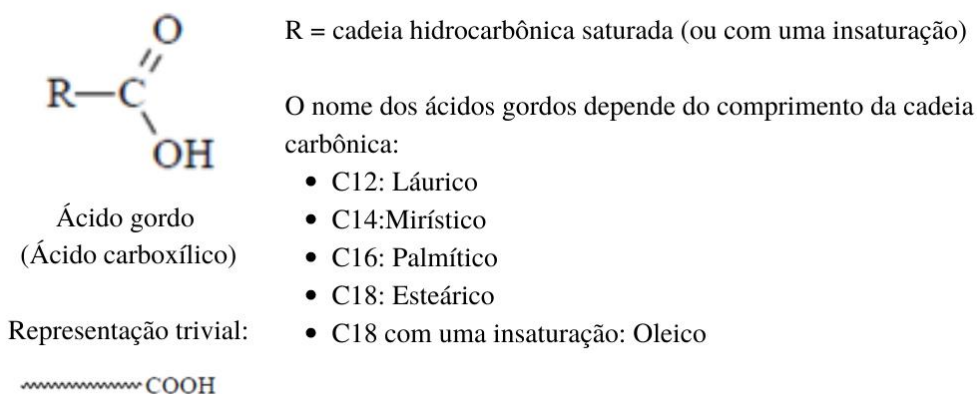


Figura 1.3- Estrutura química e nomes triviais de alguns dos ácidos gordos mais encontrados em gorduras animais e vegetais (Isenmann, 2019).

A Tabela 1.1, resume as propriedades e origem de alguns dos emolientes mais usados na indústria cosmética (Bom et al., 2019).

Tabela 1.1- Propriedade e origem de alguns dos emolientes mais utilizados pela indústria cosmética (Bom et al., 2019).

Família	Ingrediente	Propriedade	Origem
<b>Emolientes à base de esteress</b>	Miristato de isopropílico (mono éster)	Introdução de variabilidade no brilho, oleosidade, tensão superficial e nível de espalhamento. Sensação de pele seca	Sintético de origem natural (a partir de fontes vegetais e animais)
	Azeite (triglicerídeo)	Razoavelmente estável contra a oxidação. Baixo poder de irritação. Boa compatibilidade cutânea	Natural (vegetal)
	Triglicerídeo com ácido cáprico (triglicerídeo sintético)	Viscosidade e polaridade intermediárias. Alta resistência à oxidação. Espalhamento médio	Sintético de origem natural (a partir de fontes vegetais – óleo de coco ou palma)
<b>Emolientes à base de silicone</b>	<i>Dimethicone</i> (silicone linear)	Viscosidades diferentes: viscosidade baixa e média - uso em cremes para a pele; alta viscosidade - uso em produtos capilares	Sintético
	Ciclometicone (silicone cíclico)	Volatilidade. Baixos valores de brilho, resíduo e oleosidade. Deixa pouco resíduo na pele	Sintético

### **Ingredientes à base de Silicone**

A parafina é uma dispersão mineral líquida ou sólida de hidrocarbonetos saturados e purificados, obtidos de petróleo bruto.

A parafina líquida é um óleo mineral branco altamente refinado derivado do petróleo. Obtido pela reação de uma fração de óleo com ácido sulfúrico, ou por hidrogenação, ou por uma combinação de hidrogenação e tratamento ácido. Consiste em cadeias de hidrocarbonetos saturadas que variam de 15 a 50 carbonos (Isenmann, 2019).

#### **1.2.2.2 Aditivos (bio)ativos**

Os aditivos são ingredientes presentes em baixas quantidades, mas que contribuem consideravelmente para o valor acrescentado do produto. São estes os ingredientes que normalmente são anunciados nos rótulos, com denominação de “anti-envelhecimento”, “anti-manchas”, entre outros.

O efeito fisiológico de algumas destas substâncias está atualmente bem documentado, como é o caso das vitaminas A (retinol), C (ácido L-ascórbico) e E (tocoferol) e provitamina B5 (pantenol).

Mas também dos ácidos hidrocarboxílicos, nomeadamente  $\alpha$ -hidroxiácidos (AHA) e  $\beta$ -hidroxiácidos (BHA). E ainda ingredientes como filtros solares e aminoácidos que podem ser categorizados como aditivos (Isenmann, 2019).

### **Vitaminas**

Vitaminas são ingredientes usualmente adicionados a formulações cosméticas, em particular em cremes de rosto, com o objetivo de auxiliar na renovação das células da pele. As vitaminas administradas de forma atópica trazem benefícios ao retardar ou até mesmo impedir certos mecanismos degenerativos associados ao processo de envelhecimento (Isenmann, 2019).

A vitamina A (retinol) e seus derivados são instáveis em presença do oxigénio ou quando expostos à luz e a altas temperaturas, sendo que os ésteres dessa vitamina oferecem notáveis vantagens no que diz respeito à estabilidade na formulação cosmética. O palmitato

de retinol é o mais estável dos ésteres da vitamina A. Ele pode ser incorporado diretamente em emulsões e, quando um tensoativo for acrescentado, pode ser colocado em gel.

A vitamina C é também bastante instável em formulações aquosas e quando expostas ao oxigênio e à luz. Uma das soluções para evitar este efeito tem vindo a ser a microencapsulação destes ingredientes ativos de forma a prolongar a sua estabilidade e tempo de vida útil do produto (Isenmann, 2019).

### Antioxidantes

Os antioxidantes são normalmente considerados como ingredientes ativos, sendo a sua principal ação, a contribuição no combate às espécies radicais responsáveis por diversos danos à pele. No entanto, estes ingredientes podem também contribuir para a estabilidade das formulações, atrasando o processo de oxidação lipídica do produto cosmético, e consequentemente ajudando à extensão da vida útil do mesmo (S. A. M. Silva et al., 2017).

Estes ingredientes são comuns na aplicação cosmética, como na farmacêutica e alimentar, tendo como propósito essencial proteger as partes da formulação que contêm grupos funcionais sujeitos à auto-oxidação (principalmente os grupos C-H em posição alílica) (Isenmann, 2019).

Alguns exemplos de ingredientes usualmente utilizados em formulações cosméticas com efeito antioxidante são o extrato de calêndula e o tocoferol (vitamina E).

### Ácidos e Aminoácidos

Os ácidos hidrocarboxílicos para além de proporcionar hidratação são ainda valorizados em formulações cosméticas devido ao seu efeito anti-envelhecimento da pele.

O ácido glicólico ( $\alpha$ -hidroxiácidos, também conhecido por AHA) provem de fontes naturais, sendo usualmente obtido da fermentação da cana-de-açúcar. Já o ácido salicílico ( $\beta$ -hidroxiácidos, também conhecido como BHA) melhora a aparência da pele foto envelhecida e atua ainda como esfoliante químico e antimicrobiano (Isenmann, 2019).

### **1.2.2.3 Auxiliares e Estabilizantes físico-químicos**

As loções são sistemas termodinamicamente instáveis devido a altas tensões interfaciais entre duas fases imiscíveis, óleo-água. Os surfactantes são usualmente utilizados em emulsões de água em óleo (A/O) e óleo em água (O/A), com o objetivo de reduzir a tensão interfacial entre as fases e consequentemente melhorar a estabilidade da interface. Sendo este obtido quando a concentração do surfactante e as condições de emulsificação (tempo de mistura e velocidade) são otimizadas (Venkataramani et al., 2020).

A instabilidade de uma emulsão pode-se traduzir em diversas alterações das propriedades físicas e químicas do produto e está diretamente relacionada com o processo de produção.

A instabilidade química pode traduzir-se na ocorrência de fenómenos de oxidação e hidrólise.

Em alterações físicas podem ser observados fenómenos de sedimentação, floculação, coalescência, entre outros.

A floculação e coalescência são dois tipos de agregação de gotículas, consequência de processos onde se dispersam pequenas gotículas que não se devem fundir, pela adição de substâncias emulsionantes, sendo o objetivo prolongar o tempo de estabilidade da loção (Varka & Karapantsios, 2011).

O tamanho das gotículas presentes em emulsões está inversamente relacionado com a energia fornecida durante a homogeneização, sendo o processo de conversão de dois líquidos imiscíveis numa emulsão denominado homogeneização, e este é facilitado pela presença de substâncias emulsionantes. Assim, a presença de gotículas menores tem como resultado uma homogeneização mais estável e consequente produção de uma emulsão mais estável.

Na formulação das loções, os ingredientes utilizados e processos de produção impactam significativamente a estabilidade da mesma. Como consequência, regra geral, emulsões cosméticas com formulações mais naturais e ecológicas apresentam uma estabilidade inferior em comparação com formulações convencionais.

Estas últimas, tradicionalmente recorrem ao uso de surfactantes ou polímeros para conferir estabilidade. No entanto, estas substâncias apresentam maior risco de efeitos adversos, tanto ambientais, de toxicidade e para a saúde, o que tem levado ao crescimento de procura de soluções isentas de surfactantes (Venkataramani et al., 2020).

### **Ingredientes emulsificantes**

Emulsões são gotículas de água dentro de óleo (A/O) ou gotículas de óleo dentro da água (O/A). Uma vez que uma emulsão se caracteriza por ter gotículas bastante pequenas, na ordem dos poucos micrómetros, esta pode levar à instabilidade e tendência à coalescência. De forma a evitar este efeito, são usados ingredientes emulsificantes que asseguram uma mistura homogênea e consistência do produto estável a longo prazo.

Os ingredientes que proporcionam efeito emulsificante são moléculas anfílicas da família dos detergentes. Que atuam de forma a baixar a tensão interfacial entre a fase aquosa e oleosa, formando micelas microscópicas.

Os emulsificantes não iônicos mais utilizados em formulações de cremes corporais que têm como cabeça polar um éter oligomérico de oxietileno. No entanto, o mono-estearato da glicerina (não iônico) e o ácido esteárico livre (não iônico, ligeiramente aniônico) também são emulsificantes comuns em cremes hidratantes.

Por consequência a estabilidade de uma emulsão a longo prazo pode ser avaliada laboratorialmente pelo uso da centrifugação sobre condições padronizadas (3000 rpm por 30 minutos), sendo que a amostra não deve apresentar duas fases distintas a olho nu para ser considerada estável (Isenmann, 2019).

### **Modificadores de textura**

Gomas, alginatos, derivados de celulose, resinas e polímeros acrílicos são componentes orgânicos, cadeias poliméricas onde cada unidade repetitiva dispõe pelo menos de dois grupos laterais altamente polares. Assim formam um coloide hidrofílico que aumenta a viscosidade da formulação. Além destes, são usados também argilas (bentonita, montmorillonita) em forma de pó fino que igualmente deixam a formulação mais grossa e tixotrópica, sem afetar seu efeito cosmético e/ou sua aparência quando aplicados no corpo (Isenmann, 2019).

### **Preservantes/Conservantes**

Conservantes são ingredientes essenciais em formulações ricas em água, uma vez que auxiliam na prevenção do desenvolvimento de bactérias, vírus e fungos. No entanto, estes são comumente alergénios, devido à sua capacidade de se ligar a proteínas.

Sabe-se, que emulsões A/O requerem menos conservantes do que O/A, embora sejam mais comuns emulsões O/A (Barbaud & Lafforgue, 2021).

Todas as formulações que contêm água requerem de um sistema conservante bem desenvolvido e eficaz, para assegurar a inocuidade microbiológica do produto e um tempo de vida útil que satisfaz o cliente (Isenmann, 2019).

Todos os cremes e loções cosméticas que contêm água na sua composição, têm também presentes agentes conservantes. O objetivo destes ingredientes é retardar a degradação das gorduras (rancificação). Adicionalmente, estes ingredientes protegem ainda contra o desenvolvimento bacteriano e microbiano.

Alguns exemplos de ingredientes com capacidade conservante são o eugenol, o metilparabeno, o fenoxietanol, o sorbato de potássio e o propilparabeno. Sendo que o eugenol é particularmente utilizado em aplicações medicinais, pelo seu efeito antisséptico (Dionisio et al., 2018). Por sua vez o metilparabeno e o fenoxietanol são conservantes utilizados essencialmente pela indústria cosmética (Dicionário de Ingredientes, 2019), (Unilever, 2018).

A quantidade de agentes conservantes a ser adicionada à formulação de cosméticos, não é, no entanto, unânime. Uma vez que muitos destes ingredientes são potenciais alergénios para a pele. Por outro lado, a adição inadequada destes ingredientes pode levar ao produto a desenvolver atividade microbiana levando a possíveis infeções quando usado.

É ainda de notar que o teor de rancificação dos óleos varia consideravelmente, sendo que alguns são bastante estáveis por natureza, como por exemplo, o óleo de jojoba e o óleo de abacate dificilmente rancificam (Isenmann, 2019).

#### **1.2.2.4 Aditivos organoléticos**

Estes têm como principal objetivo aumentar a aceitação organolética do produto cosmético. Nesta categoria encontram-se ingredientes tais como os óleos essenciais, fragrâncias e pigmentos, entre outros.

### Óleos essenciais e fragrâncias

Óleos essenciais pertencem a este grupo sendo estas misturas complexas de substâncias ativas de origem vegetal, que proporcionam qualidades fragrantes, estes também podem apresentar propriedades antioxidantes (como o óleo de rosmaninho), hidratantes (como a rosa mosqueta), entre outras. A sua constituição tem como base três componentes principais:

- Terpenos voláteis - sujeitos a oxidação e geração de alergénios (como limoneno, linalol, etc.) ao entrar em contacto com oxigénio (exposição ao ar);
- Compostos aromáticos derivados de fenilpropano;
- Compostos de várias origens: carbonetos, aldeídos, ésteres resultantes de destilação e/ou pesticidas usados durante o cultivo (Barbaud & Lafforgue, 2021).

Uma das formas que as plantas têm de se manter vivas é pela produção de metabolitos secundários que têm um vasto leque de efeitos – podem ser tóxicos, aromáticos, corrosivos ou conferir um mau sabor. Quaisquer que sejam os efeitos, podem ser genericamente catalogados como repelentes, protetores ou atrativos.

Alguns metabolitos secundários são voláteis, o que significa que evaporam facilmente. Os compostos orgânicos voláteis (COV) têm muitas funções, sendo uma das quais a de ajudar as plantas a reter a hidratação que precisam para sobreviver (Robert Tisserand & Rodney Young, 2014).

### Regulamentação dos óleos essenciais e fragâncias

Este tipo de considerações de segurança está regulamentado pela Associação Internacional de Fragrâncias (IFRA). As regulamentações da IFRA estão divididas em 11 categorias diferentes, de acordo com o propósito do produto e forma de interação com a pele. Ou seja, as quantidades admitidas em produtos estão diretamente relacionadas com o tipo do mesmo (enxaguado ou não). Desta forma, embora os óleos essenciais sejam naturais, não significa que esteja garantida a sua segurança; tudo depende de como são usados (IFRA, n.d.).

Em 1998 foi estabelecida a nomenclatura internacional de ingrediente cosméticas INCI (do inglês, *International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*) onde foi definido

como os ingredientes devem ser listados e apresentados ao consumidor. A homogeneização da listagem e rotulagem dos produtos trouxe vantagens na identificação e padronização da listagem de ingredientes. No entanto também apresenta alguns desafios tais como o uso de nomes em latim, particularmente no caso de extratos naturais e do inglês, essencialmente no caso de substância sintéticas (Isenmann, 2019).

### **1.2.3 Vida útil de um cosmético**

Atualmente a vida útil de um cosmético é um fator de determinação obrigatório para avaliação da qualidade e segurança de produtos cosméticos. No entanto, este parâmetro não deve ser confundido com uma data de validade, sendo que esta última não é de determinação obrigatória em cosméticos, segundo as leis atuais (Cosmetics Info, 2022).

A vida útil de um produto refere-se ao período de tempo esperado em que um produto mantém o seu aspeto, textura, odor e atue como previsto. Este período é variável, conforme o tipo de produto, uso e armazenamento (U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2022).

Um outro parâmetro a ter em conta é o “período após a abertura” (PAO), sendo que atualmente na Europa, os produtos cosméticos com vida útil superior a 30 meses devem apresentar indicação deste parâmetro na sua embalagem. PAO é o período, em meses, durante o qual o produto permanecerá em boas condições após o consumidor o utilizar pela primeira vez (Cosmetics Info, 2022).

É ainda de ter em conta que estes indicadores são influenciados pelas condições de armazenamento e uso do produto. Sendo que produtos armazenados incorretamente, ou seja, sujeitos a luz solar direta, altas temperaturas, alto teor de humidade, ou contacto com o ar (ao serem abertos e examinados por consumidores antes do período de venda) têm maior probabilidade de se deteriorarem e apresentarem sinais de oxidação antes do período de vida útil assinalado na embalagem (Cosmetics Info, 2022).

### **1.2.3.1 Envelhecimento acelerado**

A norma ASTM F1980-21 (Guia Padrão para Envelhecimento Acelerado de Sistemas de Barreira Estéril e Dispositivos Médicos) fornece informação quanto ao desenvolvimento de protocolos de envelhecimento acelerado de forma a avaliar os efeitos da passagem do tempo na integridade estéril e propriedades físicas dos materiais de embalagem dos seus componentes (ASTM International, 2021).

Os testes de envelhecimento pretendem verificar se a durabilidade mínima dos produtos, sob as condições de armazenamento especificadas, mantêm a sua confiabilidade durante este tempo.

Existem duas tipologias distintas para os a avaliação da estabilidade, podendo estas ser baseadas em ensaios em tempo real ou acelerado.

No teste de estabilidade em tempo real, o produto é mantido num ambiente similar às condições normais de venda, onde as alterações físicas, químicas e microbiológicas são monitoradas em tempo real. No entanto, este ensaio apresenta dificuldades em avaliar produtos com períodos de vida útil longos, como é o caso das loções corporais que por norma tem uma esperança de vida útil de 1 ano.

Desta forma, os ensaios de envelhecimento acelerado são largamente aplicados na avaliação do envelhecimento deste tipo de produtos e recorrem a modelos matemáticos atualmente já bem conhecidos e validados.

As condições de temperatura e humidade diferenciadas das condições normais de venda e consumo são os fatores diferenciais e fundamentais na realização dos testes em questão (EUROLAB, 2017).

O método usado nos testes de vida útil é o padrão ASTM F 1980, onde o tempo de envelhecimento acelerado é calculado tendo em conta a temperatura e o tempo de vida útil em tempo real que o produto pode suportar de acordo com a estrutura e características da embalagem do produto. É aplicada ainda a equação de *Arrhenius* de forma a calcular o tempo de aceleração adequado ao produto.

De notar que as temperaturas aplicadas por norma estão compreendidas entre os 45 °C e os 65 °C e os tempos de análise rondam os 60 dias (equivalendo este a cerca de 3 anos de vida útil do produto) (EUROLAB, 2017).

## 1.3 Oxidação Lipídica

A oxidação lipídica pode-se dar em óleos e gorduras, sendo este um fenómeno comum e de ocorrência natural quando em contacto com oxigénio. Durante este fenómeno os óleos e gorduras são transformados em radicais livres, por ação de catalisadores, sendo que ao entrarem em contacto com oxigénio, estes radicais livres transformam-se em peróxidos e hidroperóxidos. São estes últimos que geram as características associadas à degradação, nomeadamente o ranço.

Este fenómeno natural e espontâneo com efeitos indesejados para a vida útil do produto não pode ser completamente evitado. Sendo apenas possível o atraso e diminuição de intensidade da degradação, por consequência de um aumento da estabilidade através da adição de antioxidantes na formulação do produto.

No entanto, os antioxidantes adicionados em cosméticos, podem ter diversas funções, desde fornecer proteção contra a degradação do produto final, como oferecer proteção da pele no local de aplicação (S. A. M. Silva et al., 2017).

### 1.3.1 Mecanismos de oxidação lipídica

A oxidação lipídica é um mecanismo de reação em cadeia, que engloba distintas etapas de desenvolvimento, designadas por: iniciação, propagação e terminação (Schaich, 2005).

A reação de iniciação de oxidação é usualmente considerada um processo espontâneo e aleatório, que pode ocorrer de duas formas distintas:

1. Absorção de energia, também designada por foto-oxidação,
2. Reação redox, também designada por auto-oxidação.

No mecanismo de iniciação por foto-oxidação, a indução de calor ou radiação ao produto contendo teor de gordura, levam ao desencadear da oxidação (Kusano & Ferrari, 1998).

Este mecanismo é promovido pela radiação UV, e envolve também a participação do oxigénio, como reagentes fundamentais à formação de hidroperóxidos, que por sua vez ao degradarem geram aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Silva et al., 1999).

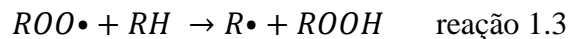
Por outro lado, o mecanismo de iniciação por auto-oxidação, surge pelo contacto com oxigénio. Onde as enzimas ou metais de transição presentes no produto catalisam a quebra das ligações entre o oxigénio e as moléculas dos ácidos gordos insaturados, levando a uma oxidação lipídica (Kusano & Ferrari, 1998).

O mecanismo de iniciação pode então ser descrito pela interação de um iniciador com o oxigénio, levando à reação com ácidos gordos insaturados (RH). Por sua vez, este proporciona a formação de radicais alquilo ( $R\bullet$ ), pela perda de um átomo de hidrogénio ( $H\bullet$ ), como descrito na reação 1.1.



Após o processo de iniciação ocorre a reação em cadeia, onde o segundo passo é o processo de propagação. Durante a propagação os ácidos gordos insaturados e oxigénio reagem até se esgotarem. Nesta fase, os radicais provenientes da iniciação são transformados em radicais peróxido ( $ROO\bullet$ ), sendo estes instáveis. Consequentemente, os radicais peróxidos ao reagirem com um átomo de hidrogénio originam hidroperóxidos ( $ROOH$ ), que são os produtos primários da oxidação. Sendo que estes produtos primários são geralmente incolores e inodoros.

Assim, o processo de propagação é descrito pelas reações 1.2 e 1.3.



Quando se esgota o substrato, as reações em cadeia cessam, o que se traduz pelo mecanismo de terminação. Como o próprio nome indica, a terminação leva à formação de produtos finais estáveis (não reativos), como descrito nas reações 1.4 e 1.5.



Os principais produtos finais da oxidação lipídica são derivados de hidroperóxidos, tais como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, entre outros hidrocarbonetos (Kusano & Ferrari, 1998).

Em resumo, o mecanismo de auto-oxidação apresenta as seguintes fases (Silva et al., 1999):

1. Desaparecimento dos substratos de oxidação (oxigênio, lípido insaturado);
2. Aparecimento dos produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos), cuja estrutura depende da natureza dos ácidos gordos presentes;
3. Aparecimento de produtos secundários de oxidação, provenientes da cisão e rearranjo dos peróxidos.

### **1.3.2 Determinação da estabilidade da matéria gorda**

Como já foi mencionado ao longo deste trabalho, a oxidação lipídica está na origem do desenvolvimento de ranço, proveniente do processo de deterioração da estabilidade da matéria gorda. Na Figura 1.4 é possível uma visualização esquemática deste processo, que não só leva à diminuição da via útil do produto, mas também pode levar à ocorrência de compostos nocivos (Silva et al., 1999).

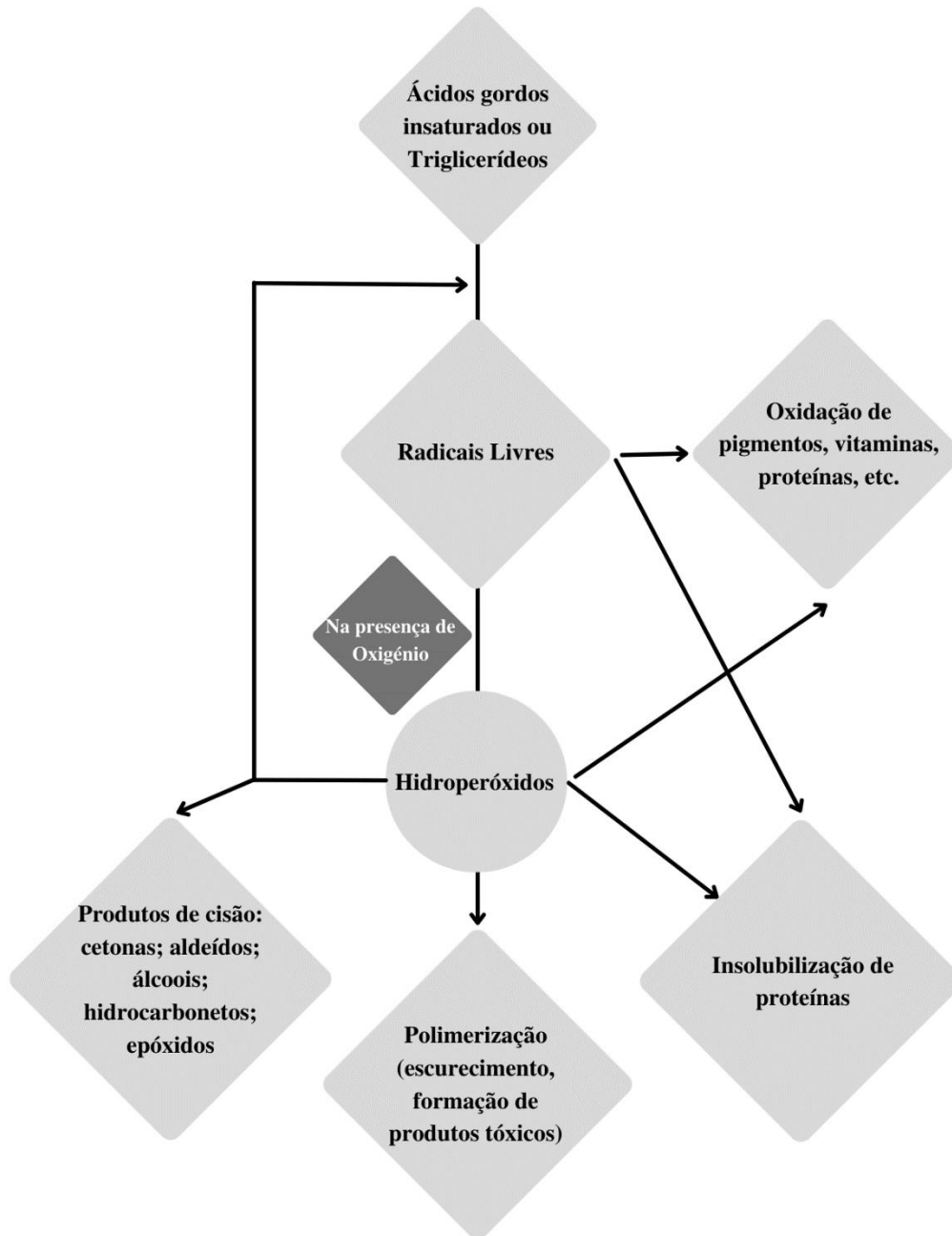


Figura 1.4- Representação esquemática do processo de oxidação lipídica, adaptado de (F. Silva et al., 1999).

## 1.4 Avaliação e quantificação da oxidação lipídica

Como descrito anteriormente, grande parte dos métodos utilizados para avaliação lipídica em cosméticos provêm da indústria alimentar. Uma vez que esta indústria, apresenta um elevado historial de avaliação destes métodos.

### **1.4.1 Aspectos organoléticos avaliados**

Alguns dos aspectos verificados na avaliação da deterioração das loções corporais são:

- Teor de humidade,
- Avaliação da integridade física, formação de fases distintas,
- Capacidade de penetração,
- Capacidade de espalhamento,
- Brilho.

### **1.4.2 Avaliação das Propriedades Organoléticas**

Na escolha de um produto cosmético o consumidor não tem em conta apenas a eficiência e a eficácia do produto, mas também a sensação e textura agradável que provem da aplicação do mesmo, etc. Consequentemente, a análise sensorial é uma ferramenta essencial no processo de avaliação da qualidade do produto durante a fase de desenvolvimento do mesmo (Gilbert et al., 2013).

### **1.4.3 Métodos de avaliação**

A avaliação do aspeto e textura de um cosmético, é um processo complexo, sendo estas usualmente misturas óleo/água. Assim sendo, os estudos têm vindo a ser conduzidos para avaliar e entender a influência de ingredientes específicos nas propriedades organoléticas do produto final. Alguns dos ingredientes mais estudados encontrados na literatura são os emolientes, hidratantes, agentes modificadores de textura e fragrâncias. Um ponto em comum nos estudos presentes na literatura é o uso de técnicas e métodos comumente utilizados e já amplamente validados pela indústria alimentar, para a avaliação do perfil sensorial e organolético dos cosméticos em estudo, assim como a quantificação da oxidação lipídica (Dubuisson et al., 2018).

Dois métodos comuns utilizados na avaliação sensorial, são a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e o Método da Análise Descritiva do Espectro (ADE) (Gilbert et al., 2013).

## **1.4.4 Extração Lipídica**

### **1.4.4.1 Método de Soxhlet**

Um método comum de extração lipídica recorrendo ao uso de solventes é o método de *Soxhlet*. Este método tradicional tem sido amplamente utilizado por diversas indústrias e é comumente modificado para melhor atuar sobre as necessidades específicas do material em estudo. Existe uma elevada heterogeneidade dos solventes usados, tais como hexano ou éter etílico e conseqüente dispersão nos resultados obtidos. Este método tem sido aplicado em estudos que envolvem a determinação lipídica total em microalgas, tecidos animais, e alimentos, como milho e soja (Chen et al., 2020).

No entanto, e devido à natureza de extração demorada, característica do método e uso de químicos agressivos para o meio ambiente, este método tem servido como padrão ao desenvolvimento de novos métodos de extração que desejam diminuir ou eliminar os inconvenientes desta primeira técnica, tal como o método *Folch* descrito na secção 1.4.4.2.

As maiores vantagens que o método de *Soxhlet* proporciona são, (Aelson Aloir Santana Brum et al., 2009):

- A amostra encontra-se sempre em contacto com o solvente, havendo uma renovação constante;
- A temperatura do sistema mantém-se relativamente alta, uma vez que o calor aplicado no processo de evaporação é constante;
- Metodologia simples;
- Possibilita a extração de uma quantidade elevada de óleo, sem necessidade de filtração após extração.

### **1.4.4.2 Método Folch**

O método *Folch* foi desenvolvido com base na matriz do método de *Soxhlet*, com o intuito de obter uma melhor separação das fases. Este método utiliza uma mistura de clorofórmio e metanol, seguido da adição da solução de cloreto de potássio (Aelson Aloir Santana Brum et al., 2009).

Apesar de ser um método largamente utilizado, este apresenta a desvantagem de utilizar solventes com toxicidade considerável, assim como proporcionar a extração indesejável de contaminantes não-lipídicos da fase orgânica (Aelson Aloir Santana Brum et al., 2009).

### **1.4.5 Análise dos produtos primários de oxidação**

Os produtos primários de oxidação, nomeadamente os peróxidos e hidroperóxidos, são geralmente avaliados pela determinação do Índice de peróxidos (IP), como descrito na secção 1.4.5.1. No entanto a avaliação dos produtos primários pode ser realizada por outros métodos, tais como o método de Dienos Conjugados (DC), como descrito na secção 1.4.5.2 (Silva et al., 1999). Sendo que estes produtos primários são geralmente incolores e inodoros.

#### ***1.4.5.1 Método do Índice de Peróxidos (IP)***

Este método traduz-se na diferença entre a formação e a decomposição de peróxidos, e deve ser determinado durante os estágios iniciais do processo oxidativo, para uma maior eficiência. A variação do nível de peróxidos varia de forma gaussiana ao longo do tempo, o que leva a concluir que um nível baixo de peróxidos não constitui uma garantia de boa estabilidade oxidativa do produto. Este método é expresso em milimoles de oxigénio ativo por quilograma de amostra seca (Silva et al., 1999).

#### ***1.4.5.2 Método dos Dienos Conjugados (DC)***

A oxidação dos ácidos gordos polinsaturados ocorre com a formação de hidroperóxidos e o deslocamento das ligações duplas, que levam à consequente formação de dienos conjugados, como exemplifica a Figura 1.5 (Silva et al., 1999).

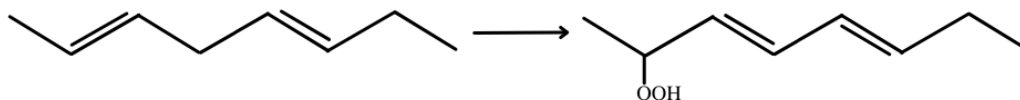


Figura 1.5- Reação de oxidação dos ácidos gordos polinsaturados levando à formação de hidroperóxidos, adaptado de (Silva et al., 1999).

Recorrendo à análise espectrofotométrica, é possível determinar o estado de oxidação do produto com alguma precisão, ainda que este método não seja o mais aconselhado para a análise de amostras complexas, como é o caso de loções corporais, este possibilita uma análise rápida e global do estado de oxidação.

Este método baseia-se na relação entre os produtos primários e secundários presentes em cada estado de oxidação de uma amostra, uma vez que os produtos primários, como os dienos conjugados absorvem a 232 nm e os produtos de oxidação secundários, como as cetonas insaturadas, apresentam um máximo de absorção a 272 nm. Esta distinção proporciona a avaliação da evolução oxidativa através da relação de absorção dos dois produtos de oxidação, dado por  $A_{272\text{ nm}}/A_{232\text{ nm}}$ . Através da análise desta relação, pode-se concluir que quanto maior a absorvância a 232 nm, mais elevada será a presença de peróxidos, o que corresponde ao início do processo de oxidação (Silva et al., 1999).

#### 1.4.6 Análise dos produtos secundários de oxidação

Os produtos secundários, nomeadamente aldeídos, cetonas e hidrocarbonetos, provenientes da consequente deterioração dos produtos primários, apresentam geralmente um odor desagradável.

##### 1.4.6.1 Método da reação do ácido tiobarbitúrico com o malonaldeído (TBARS)

O teste TBARS baseia-se na reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. Um dos principais produtos formados durante o processo oxidativo é o malonaldeído (MA), sendo este um aldeído com 3 átomos de carbono. A reação dá-se em meio ácido (pH 1-2) e a altas temperaturas, cerca

de 80 °C a 100 °C. Sendo que estas características proporcionam um aumento da velocidade e da sensibilidade de reação.

Como se pode verificar na Figura 1.6, este teste leva a molécula de MA a reagir com duas moléculas de TBA, que formam um complexo vermelho. O complexo obtido apresenta absorvância na gama de 532-535 nm e máximos de absorção secundários a 245 e 305 nm. Assim sendo, este método baseia-se na leitura espectrofotométrica da absorvância e/ou fluorescência.

O resultado deste teste é expresso em unidades de absorvância ou fluorescência por unidade de massa da amostra ou em valor TBA (mg de MA por g de amostra em base seca) (Silva et al., 1999).

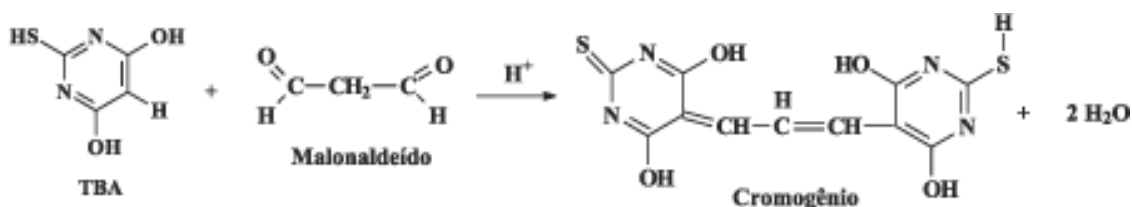


Figura 1.6- Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, obtendo-se um composto colorido, medido espectrofotometricamente a 532 nm (Oxford Biomedical Research, 2013).

Uma vez que o MA não é o único produto de oxidação lipídica que reage com o TBA, é aceitável falar em substâncias que reagem com o TBA. Este método por ter baixa especificidade em relação aos compostos detetados, leva a que outros aldeídos que não o MA, provenientes do processo de oxidação lipídica reajam com o TBA. Assim sendo, este método é normalmente usado como complemento a outros métodos, como o do IP e a avaliação organolética, de forma a aumentar a viabilidade dos resultados obtidos (Silva et al., 1999).

#### 1.4.6.2 Método do Índice de *p*-anisidina (*ipA*)

O *ipA* define-se como 100 vezes o valor da absorvância, medida a 350 nm, de uma solução resultante da reação de 1 g de lípido em 100 mL de solvente contendo *p*-anisidina. Sendo que a *p*-anisidina, em meio acético, leva à formação de um complexo amarelo. Esta cor deriva da degradação do ácido linoleico.

#### **1.4.6.3 Método para avaliação total da oxidação (TOTOX)**

Uma vez que nenhum dos métodos discutidos nas secções anteriores apresentam resultados para a oxidação total (TOTOX) da amostra, este pode ser determinado matematicamente com recurso aos resultados obtidos dos métodos de IP e ipA, equação 1.6 (Silva et al., 1999).

$$\text{Valor TOTOX} = 2 (\text{IP}) + (\text{ipA}) \quad \text{equação 1.6}$$

Perante a relação referida é possível correlacionar o nível de peróxidos (IP), que representam o potencial de degradação da qualidade organolética, com os aldeídos, que representam o estado de deterioração secundário (ipA). Uma amostra com teor de gordura bem preservado deve apresentar um valor total de oxidação inferior a 10 (Silva et al., 1999).

#### **1.4.6.4 Método do índice de ranço ou teste de Kreis**

Este é um método colorimétrico baseado na reação do floroglucinol com epoxialdeídos, em meio ácido. Após reação é obtida uma coloração vermelha que pode ser quantificada pelo método de espectrofotometria.

Este teste apresenta a vantagem de ser rápido, fornecendo a indicação da ocorrência de oxidação lipídica ainda numa fase inicial do processo de deterioração da amostra. No entanto, para análise de amostras complexas verifica-se a desvantagem de existir interferência por parte dos aditivos da amostra (Silva et al., 1999).

Este método não vai ser utilizado durante a parte experimental deste estudo.

#### **1.4.6.5 Determinação dos compostos voláteis**

Os compostos voláteis, hidrocarbonetos (pentano, *n*-hexano, etano), aldeídos (pentanal, hexanal, oct-2-enal, non-2-enal), cetonas (octa-1,5-dien-3-ona, oct-1-en-3-ona) ou ácidos (ácido fórmico), aparecem numa fase precoce do processo da oxidação lipídica. Estes resultam da decomposição dos produtos primários do processo oxidativo (peróxidos).

A determinação destes compostos é usualmente realizada através do método de cromatografia gasosa (CG) de injeção direta ou por *headspace*. Sendo um método viável à análise de amostras complexas e que dispensa uma extração prévia, resulta em bons resultados quando comparado com a avaliação sensorial (Silva et al., 1999).

Este método não vai ser utilizado durante a parte experimental deste estudo.

#### 1.4.6.6 Comparação entre métodos analíticos

Na Tabela 1.2, apresenta-se uma breve comparação entre alguns dos métodos analíticos para a avaliação da oxidação lipídica, apresentados nas secções anteriores (Silva et al., 1999).

Tabela 1.2- Comparação entre métodos analíticos de avaliação da oxidação lipídica (F. Silva et al., 1999).

Método analítico	Características
<b>Índice de peróxidos</b>	Medida empírica; Menor sensibilidade e precisão que a avaliação sensorial ou GC
<b>TBARS</b>	Sensível; Preciso; Pouco específico
<b>Avaliação dos compostos voláteis por GC</b>	Ótima correlação com os dados da avaliação sensorial; Fornecer informações quanto à origem dos compostos responsáveis por <i>off flavors</i> e <i>off odors</i> .
<b>Avaliação sensorial</b>	Muito sensível; Exige aprendizagem; Difícil de pôr em prática
<b>Índice de ranço</b>	Requer altos níveis de oxidação; Não aplicável a compostos termolábeis

## **2. Componente Experimental**

O presente trabalho tem como objetivo principal a avaliação do envelhecimento em loções corporais e a realização de correlações entre a oxidação lipídica e a composição química das loções selecionadas.

Para a avaliação do envelhecimento (através da oxidação lipídica) começou-se por submeter as amostras recolhidas de cada solução a um envelhecimento acelerado, de forma a simular as condições de uso e armazenamento do produto após abertura (após início de contacto com oxigénio), e humidade elevada durante longos períodos.

Para além da análise dos produtos primários e secundários de oxidação foi ainda realizada uma avaliação da estabilidade das propriedades organoléticas das loções corporais. Esta avaliação permite relacionar a ocorrência de oxidação lipídica com a constituição química e a presença de ingredientes específicos na formulação das loções em estudo.

### **2.1 Identificação e Amostragem**

No presente estudo, foram selecionadas 10 loções corporais, para peles normais, de marcas diversas, com ingredientes ativos e óleos essenciais distintos. A composição e ingredientes presentes em cada solução pode ser consultada na Tabela A.1 (Anexo A.1).

A cada amostra foi atribuída uma identificação alfabética de A a J.

### **2.2 Envelhecimento Acelerado**

Posteriormente, foram recolhidas 7 alíquotas de cada loção (cerca de 15 g), sendo estas identificadas com a letra respetiva à amostra e o número referente ao tempo de oxidação (de 0 a 6), perfazendo um total de 70 amostras.

Para cada loção corporal obteve-se uma amostra inicial (congelada logo após a amostragem), como ponto de referência. As restantes 6 amostras referem-se aos seis meses de envelhecimento acelerado, onde uma amostra por mês foi retirada da estufa e

congelada para posterior avaliação. As massas pesadas para cada amostra podem ser consultadas na Tabela A.2 (Anexo A.2).

Todas as amostras, com a exceção das referentes ao tempo 0, foram submetidas a um processo de envelhecimento acelerado, recorrendo ao armazenamento das mesmas numa estufa sob condições controladas de temperatura ( $45 \pm 5$  °C), durante o tempo indicado (entre 1 e 6 meses).

### **2.2.1 Material e Equipamento**

- Balança analítica  $\pm 0,00001$  g (Mettler Toledo, Mod. MS205DU, Columbus, Ohio, EUA)
- 70 Tubos de centrifugação, com fundo cónico e tampa de plástico, 15 mL (ABDOS, Kolkata, Índia)
- Estufa (J.P. Selecta, Barcelona, Espanha) ajustada a  $45 \pm 5$  °C
- Arca frigorífica (Zanussi, ZFC51400WA 495LT, Pordenone, Itália)
- Suporte de tubos de ensaio

## **2.3 Análise Sensorial**

O procedimento seguido para a avaliação das propriedades organoléticas das amostras foi adaptado da Norma ISO 4120:2021 para análise sensorial (ISO, 2001).

Após a recolha mensal das amostras, como descrito na secção 2.2, foi avaliada a capacidade organolética, como odor, cor, textura, aspeto e presença de fases distintas, para cada amostra antes da congelação. O registo fotográfico e resumo da evolução organolética pode ser consultado nas Tabelas B.1 e B.2 (Anexo B) e ainda nas Figuras B.1 a B.11 (Anexo B.1).

Todas as amostras foram pesadas, após o tempo de envelhecimento, para a avaliação da perda de massa, o registo das massas pode ser consultado na Tabela A.2 (Anexo A.2).

O valor de massa perdida corresponde à perda de água e evaporação dos compostos voláteis (COVs) formados durante o processo de envelhecimento.

Após avaliação das propriedades organolépticas e pesagem, as amostras foram conservadas a uma temperatura de -20 °C, até realização dos testes de avaliação da oxidação lipídica.

De ressaltar, que apenas as amostras relativas ao tempo 0 (A0-J0) não foram submetidas ao processo de envelhecimento, tendo sido conservadas a -20 °C logo após a amostragem e avaliação sensorial.

## 2.4 Determinação do teor de humidade

No presente trabalho foi realizada uma análise complementar do teor de humidade, sendo este um parâmetro essencial à determinação da massa isenta de água da amostra (massa seca).

Para se realizar esta determinação as amostras necessitam de ser secas, ou seja, submetidas a uma temperatura de cerca de 120 °C, sendo imperativo realizar a pesagem das amostras no início e fim da secagem, uma vez que o teor de humidade é descrito pela equação 2.1.

$$\text{Humidade (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad \text{equação 2.1}$$

Onde:

$m_i$ - Massa de amostra pesada inicialmente, em mg;

$m_f$ - Massa de amostra pesada final, após secagem da amostra, em mg.

A determinação do teor de humidade neste trabalho, foi realizada usando cerca de 100 a 200 mg de amostra, em duplicado e com recurso a uma balança de humidades (Kern, Mod. MLS, Balingen, Alemanha).

Com base nos resultados obtidos neste ensaio e o cálculo da perda de massa total das amostras, descrito na secção 2.3, é possível ainda determinar a quantidade de massa perdida devido à evaporação de água versus perda dos compostos voláteis.

## **2.5 Extração dos componentes resultantes da oxidação lipídica**

A extração dos componentes resultantes da oxidação lipídica foi realizada com recurso ao isopropanol e seguindo o procedimento previamente validado (Sousa et al., 2020).

Começou-se por pesar 500 mg de cada amostra e adicionar 10 mL de isopropanol. Cada amostra foi de seguida agitada com recurso ao vórtex e colocada num banho termostático a 35 °C durante 20 minutos.

De seguida as amostras foram centrifugadas a 4500 rpm durante 15 minutos, de forma a obter o sobrenadante que foi utilizado nas restantes determinações.

### **2.5.1 Material e Equipamento**

- Balança analítica  $\pm 0,00001$  g (Mettler Toledo, Mod. MS205DU)
- 70 Tubos de centrifugação, com fundo cónico e tampa de plástico, 15 mL (ABDOS)
- Suporte de tubos de ensaio
- Vórtex analógico Heidolph (Pennsylvania, EUA), 300-2500 rpm
- Banho de Ultrassons, Ultrassons-HD com Aquecimento 5LT Selecta (Barcelona, Espanha)
- Centrífuga, Thermo Scientific, Heraeus, Megafuge 16R (Osterode am Harz, Alemanha)

### **2.5.2 Reagentes e Solventes**

- Isopropanol da Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA), pureza  $\geq 99,08\%$ .

## **2.6 Ensaio para determinação da oxidação lipídica**

A escolha dos métodos a utilizar foi feita com base em estudos prévios que comparam os resultados de diferentes métodos em produtos cosméticos (Sousa et al., 2020).

Assim sendo, após a extração dos produtos da oxidação lipídica realizado de acordo com o ponto 2.5, o sobrenadante foi utilizado na determinação da oxidação lipídica das várias amostras nos diferentes estados de oxidação.

Com recurso à determinação por vários métodos, foi possível comparar os resultados dos mesmos, aumentando desta forma a precisão do estudo.

A determinação dos produtos primários foi realizada com recurso aos métodos, dos Dienos Conjugados (DC) e Índice de peróxidos (IP), como descrito nas secções 2.6.1 e 2.6.2, respetivamente.

Por sua vez, a determinação dos produtos secundários foi realizada com recurso aos métodos, da determinação das espécies reativas com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) e do Índice de *p*-Anidissina (ipA), como descrito nas secções 2.6.3 e 2.6.4, respetivamente.

A determinação do valor de oxidação total (TOTOX) encontra-se descrito na secção 2.6.5. O TOTOX permite descrever a carga oxidativa total a que uma gordura ou óleo foi exposta. Quanto mais elevado, maior a oxidação sofrida pela amostra.

### 2.6.1 Determinação dos Dienos Conjugados (DC)

O procedimento seguido para a determinação dos Dienos Conjugados encontra-se descrito na literatura (F. Silva et al., 1999); Zhai et al., 2003), onde a absorvância, do sobrenadante das amostras obtido na secção 2.5, é lida na região de ultravioleta, para os comprimentos de onde de 232 nm e 272 nm, recorrendo a um leitor de microplacas (BioTek, Synergy HT, Winooski, Vermont, EUA).

Para a determinação foram adicionados, em microplacas, 150 µL de cada amostra, tendo sido realizadas 3 réplicas para cada amostra.

Para a determinação dos DC em percentagem, recorreu-se à equação 2.2, (Agregán et al., 2017). No entanto, a razão entre as absorvâncias a 232 nm e 272 nm é também um fator importante a determinar, como pode ser observado na equação 2.3.

$$DC(\%) = 0,84 * \frac{Abs_{232nm}}{C-K_0} \quad \text{equação 2.2}$$

$$DC = \frac{Abs_{272nm}}{Abs_{232nm}} \quad \text{equação 2.3}$$

Onde:

$Abs_{323nm}$  – absorvância da amostra, a 232 nm;

C – concentração da amostra (em g/L);

$Abs_{272nm}$  – absorvância da amostra, a 272 nm;

$K_0$  – absortividade dos grupos ácidos, igual a 0,03.

## 2.6.2 Determinação do índice de peróxidos (IP)

A determinação do IP foi realizada com base no método descrito pela *International Dairy Federation 74:2006* e no protocolo descrito em (Hornero-Méndez et al., 2001). O procedimento descrito na secção 2.6.3.3 tendo sido adaptado do método mencionado anteriormente, sofreu algumas alterações, nomeadamente na preparação da solução de ferro II, tendo sido preparada com recurso ao hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado ao invés de sulfato de ferro (II) heptahidratado e ainda a utilização de isopropanol como solvente.

### 2.6.2.1 Material e Equipamento

- Leitor de placas BioTek, Synergy HT
- Tubos de *ependorf* de 5 mL
- Microplacas de 96 poços

### 2.6.2.2 Reagentes e Solventes

- Ácido clorídrico da Sigma-Aldrich
- Água ultrapura (resistividade > 18,2 M.cm a 25 °C, obtida através de sistema Simplicity 185, Millipore, Burlington, MA).
- Cloreto de ferro (III) 97% da Sigma-Aldrich
- Hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado  $\geq 99\%$ , da Sigma-Aldrich
- Isopropanol da Sigma-Aldrich, pureza  $\geq 99,8\%$ , Lote: STBF4059V
- Peróxido de hidrogénio da Sigma-Aldrich
- Tiocianato de amónio da Merck (Algés, Portugal)

Para a determinação do IP foram ainda preparadas as soluções mencionadas de (1) a (3).

- (1) Solução de ferro (II)  $\cong$  1 mg/mL
- (2) Solução de tiocianato de amónio 300 g/L
- (3) Solução-mãe de cloreto de ferro (III) 10  $\mu$ g/mL

O procedimento seguido na preparação das seguintes soluções foi adaptado da norma ISO 3976:2006 (International Organization of Standardization (ISO), 2006), e pode ser consultado no C.1 Preparação das soluções.

### 2.6.2.3 Procedimento Experimental

O procedimento seguido na preparação das soluções padrão, branco e amostras encontra-se descrito na Tabela 2.1. A curva de calibração foi preparada com 6 padrões de Fe (III), com concentrações compreendidas entre 0,035 e 0,20  $\mu$ g/mL a partir da solução mãe (3). A preparação dos padrões e curva de calibração podem ser consultados no Anexo C.2.

Tabela 2.1- Descrição do procedimento experimental para a determinação do IP.

Passo	Padrões	Branco (para padrões)	Amostras	Branco (para amostras)
(1)	Adicionar uma alíquota de 2 mL de cada padrão em tubos <i>ependorf</i> de 5 mL	Adicionar uma alíquota de 2 mL de água ultrapura em tubos <i>ependorf</i> de 5 mL	Adicionar uma alíquota de 2 mL de cada solução de amostra em tubos <i>ependorf</i> de 5 mL	Adicionar uma alíquota de 2 mL de isopropanol em tubos <i>ependorf</i> de 5 mL
(2)			Adicionar 10 $\mu$ L de (2) solução de tiocianato de amónio	
(3)	Adicionar 10 $\mu$ L de (2) solução de tiocianato de amónio		Adicionar 10 $\mu$ L de (1) solução de Fe (II)	
(4)	Adicionar 180 $\mu$ L da mistura anterior em microplacas, perfazendo 6 réplicas			
(5)	Ler a absorvância no leitor de microplacas a 500 nm			

Para a determinação do IP recorreu-se à equação 2.4.

$$IP (meq_{O_2}/kg_{amostra}) = \frac{(Abs_{am} - Abs_b) * m}{55,84 * m_0} \quad \text{equação 2.4}$$

Onde:

$Abs_{am}$  – absorvância da amostra

$Abs_b$  – absorvância do branco

$m$  – declive da reta de calibração

$m_0$  – massa da amostra (em gramas)

### **2.6.3 Método das espécies reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)**

A determinação da oxidação lipídica através do método TBARS seguiu o protocolo descrito na literatura (Oxford Biomedical Research, 2013) e (Williamson et al., 2003).

#### **2.6.3.1 Material e Equipamento**

- Banho termostático Bandelin, Sonorex Digital 10P (Darmstadt, Germany), Temperatura máxima 80 °C
- Leitor de placas BioTek, Synergy HT
- Microplacas de 96 poços
- Tubos de *ependorf* de 5 mL
- Vórtex analógico Heidolph, 300-2500 rpm
- Banho de Ultrassons, Ultrassons-HD com Aquecimento 5LT Selecta
- Centrífuga, Thermo Scientific, Heraeus, Megafuge 16R

#### **2.6.3.2 Reagentes e Solventes**

- 1,1,3,3-Tetramethoxypropane 99% da Sigma-Aldrich
- 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) da Sigma-Aldrich

- Ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)  $\geq 98\%$  da Sigma-Aldrich
- Ácido clorídrico da Honeywell (Algés, Portugal)
- Ácido tricloroacético (TCA) da Merck
- Água ultrapura
- *n*-Hexano 99,5% da Carlo Erba (Algés, Portugal)

Para a determinação do TBARS foi necessária a preparação das soluções de (1) a (5). O procedimento seguido na preparação destas soluções encontra-se descrito no D.1 Preparação das soluções.

- (1) Solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5%
- (2) Solução de BHT 0,8% em *n*-hexano
- (3) Solução de ácido clorídrico 0,25 M
- (4) Solução de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) 4,7 g/L
- (5) Solução mãe Padrão de malonaldeído (MDA) 1 mg/L

### 2.6.3.3 *Procedimento Experimental*

Inicialmente, para obtenção da curva de calibração, foram preparadas 5 soluções padrão de MDA, com concentrações compreendidas entre 5,0 e 80,0  $\mu\text{g/L}$ . Sendo que para a leitura das fluorescências foi utilizado um  $\lambda$  excitação = 485 nm e  $\lambda$  emissão = 590 nm, recorrendo a um leitor de placas da BioTek, Synergy HT.

Foi selecionado este método por fluorescência uma vez que as amostras analisadas não desenvolveram coloração, o que indicava valores baixos de TBARS. Similarmente, a seleção dos  $\lambda$  de fluorescência foi realizada com base num estudo previamente realizado (Sousa et al., 2020), uma vez que foi a gama que apresentou melhores.

De forma a eliminar possíveis interferências a esta análise, realizou-se uma extração lipídica para cada amostra segundo o procedimento descrito em seguida:

- Adicionar 250  $\mu\text{L}$  da solução da amostra em tubos de *ependorf* de 5 mL;
- Adicionar 2,25 mL de TCA a 5%;
- Adicionar 1,25 mL de BHT a 0,8% em *n*-hexano;

- Agitar no vórtex analógico durante 1 a 2 minutos e centrifugar a 4500 rpm durante 5 minutos;
- Retirar alíquotas de fase aquosa isenta de *n*-hexano.

A determinação da TBARS foi realizada com base no procedimento descrito na Figura 2.1, e o procedimento para a preparação das soluções padrão e branco podem ser consultados no Anexo D.3.

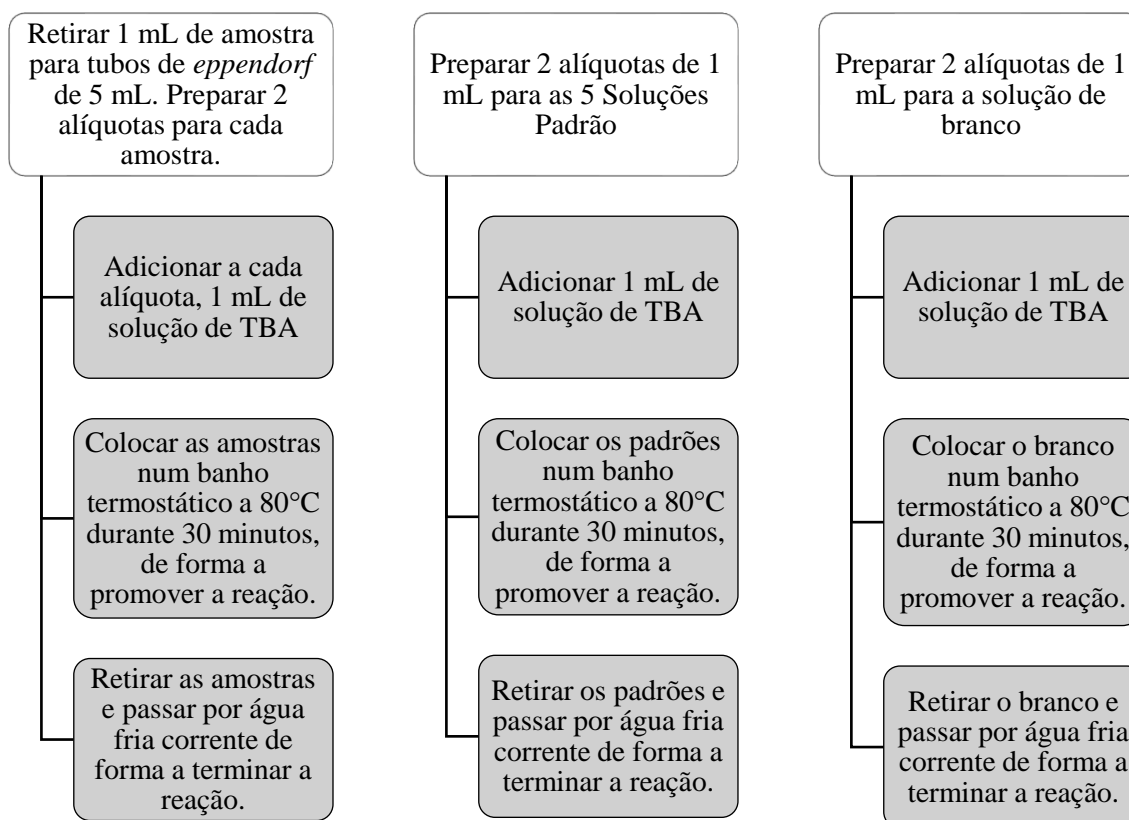


Figura 2.1- Procedimento para a preparação das amostras, soluções padrão e branco para a determinação da concentração de MDA.

Após a reação das amostras com o TBA ter ocorrido, foram preparadas microplacas com 180  $\mu$ L de cada amostra em triplicado, para posterior leitura de fluorescência para os comprimentos de onda indicados. A leitura da fluorescência das soluções padrão permitiu a construção da curva de calibração, onde é possível obter os resultados deste ensaio em concentração de MDA. Os resultados deste estudo podem ser consultados na secção 3.7.

## 2.6.4 Determinação do Índice de *p*-anidisina (ipA)

A determinação do ipA foi baseada no procedimento descrito na Norma *AOCS Official Method Cd 18-90* (Ye et al., 2020). Este procedimento apresenta duas etapas, descritas na secção 2.6.4.3, onde primeiro se procedeu à descoloração da *p*-anidisina e em segundo lugar, à preparação da solução da mesma.

### 2.6.4.1 *Material e Equipamento*

- Balança analítica Mettler Toledo, Mod. MS205DU
- Proveta de 50 mL
- Leitor de microplacas BioTek, Synergy HT
- Microplacas de 96 poços
- Placa de aquecimento, MR Hei-Standard, Heidolph (Darmstadt, Germany)
- Papel de filtro
- Exsicador
- Microplacas de 96 poços

### 2.6.4.2 *Reagentes e Solventes*

- Ácido acético glacial da Carlo Erba Reagents
- Água ultrapura
- Carvão ativado da Sigma-Aldrich
- *p*-anidisina da Merck
- Sulfito de sódio 98-105% da Merck
- Isooctano  $\geq 99,5\%$ , da Carlo Erba

### 2.6.4.3 *Procedimento experimental*

#### **Etapa 1: Descoloração dos cristais de *p*-anidisina**

A descoloração dos cristais de *p*-anidisina foi realizada com base na *Norma AOCS Official Method Cd 18-90* (Ye et al., 2020), onde este processo é realizado com recurso

ao uso de carvão ativado, e encontra-se descrito em detalhe no E.1 Procedimento para a descoloração dos cristais de *p*-anidisina.

### **Etapa 2: Preparação da solução de *p*-anidisina 2,5 mg/mL**

Para a preparação da solução de *p*-anidisina pesou-se cerca de  $1,25 \pm 0,1$  g dos cristais deste reagente já descolorados e adicionou-se 50 mL de ácido acético. A adição de ácido acético promove a dissolução dos cristais obtendo-se assim uma solução de *p*-anidisina com concentração de 2,5 mg/mL em ácido acético.

O procedimento utilizado na preparação das amostras para leitura em microplacas, encontra-se descrito a seguir:

- Em microplacas, adicionar 150  $\mu$ L da solução sobrenadante de cada amostra (solução obtida na secção 2.4), em triplicado e preparar ainda 12 réplicas para os brancos contendo 150  $\mu$ L da solução de isooctano;
- Ler a absorvância a 350 nm no leitor de microplacas;
- Adicionar 30  $\mu$ L da solução de *p*-anidisina;
- Deixar a mistura a reagir no escuro durante cerca de 10 minutos;
- Após reação, ler a absorvância a 350 nm no leitor de microplacas.

A determinação do *ipA* é obtida através da equação 2.5.

$$ipA = \frac{10 \cdot 1,2 \cdot (Abs_d - Abs_a)}{m_s} \quad \text{equação 2.5}$$

Onde:

$Abs_d$  – absorvância da amostra após 10 minutos da reação com a solução de *p*-anidisina

$Abs_a$  – absorvância da amostra antes da adição da solução de *p*-anidisina

$m_s$  – massa de amostra em base seca (em gramas)

### **2.6.5 Determinação do valor total de oxidação (TOTOX)**

A avaliação do TOTOX inclui ambos os produtos primários e secundários derivados do processo oxidativo.

Sendo que segunda a equação 2.6, é possível determinar o valor total de oxidação para cada amostra de loção corporal em estudo.

$$TOTOX = ipA + 2 * IP \quad \text{equação 2.6}$$

### **2.6.6 Análise estatística**

A normalidade dos dados foi avaliada pelos testes de Kolmogorov–Smirnov e Shapiro–Wilk. Os valores das determinações foram representados como média  $\pm$  desvio padrão e as comparações entre os grupos foram feitas pelo teste de Mann-Whitney, com nível de significância de  $p < 0,05$ . O estudo das correlações foi realizado recorrendo a matrizes de correlação de Pearson, com o intuito de explorar as associações entre a composição química das amostras e bioatividade.

Para a análise dos dados obtidos utilizou-se a convenção apontada por (Akoglu, 2018). Assim, para um valor  $r$  de 0 não há correlação, valores de  $\pm 0,10$  a  $\pm 0,30$  são indicadores de uma correlação fraca; entre  $\pm 0,40$  e  $\pm 0,60$  de uma correlação moderada; entre  $\pm 0,70$  e  $\pm 0,90$  de uma correlação forte e  $\pm 1$  representa uma correlação perfeita, para níveis de significância de  $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ . O programa de software IBMS SPSS para Windows, versão 26 (IBM Corp., Armonk, N.Y., EUA) foi usado para realizar as análises estatísticas.



## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1 Avaliação da evolução das propriedades organoléticas ao longo do tempo de envelhecimento**

Na presente secção foi analisada a evolução do aspeto de cada amostra em estudo, ao longo do período de oxidação acelerado.

No Anexo B, encontram-se informações adicionais quanto ao aspeto e evolução das propriedades organoléticas durante o período de oxidação das loções assim como o registo fotográfico nos diversos momentos do envelhecimento. Os parâmetros organoléticos avaliados foram a fragrância inicial e desenvolvimento de odor a ranço, alterações de cor, aspeto e textura.

No entanto, o parâmetro organolético que sofreu alterações mais significativas foi o aspeto, tanto a nível de cor como em relação à separação das loções em fases distintas.

Por outro lado, o desenvolvimento de odor a ranço foi menos significativo. As amostras A, B e F foram as que apresentaram odor mais notável a ranço. Globalmente, este tornou-se perceptível a partir do quarto mês, mantendo-se relativamente estável até ao final do estudo. Adicionalmente, a maioria das loções perdeu gradualmente a sua fragrância inicial, tornando-se esta impercetível partir do terceiro mês (caso das amostras E, F, G, H, I e J).

É apresentado na Tabela 3.1 um resumo comparativo relativo às alterações na aparência das loções no momento da abertura das embalagens (tempo 0) e após 6 meses de envelhecimento em condições aceleradas (tempo 6).

Tabela 3.1- Tabela resumo e comparação da alteração qualitativa do aspeto após 6 meses de envelhecimento em relação ao tempo inicial.

Amostra	Aspeto inicial	Aspeto ao fim dos 6 meses
A	Loção de aspeto leitoso e cor branca.	Separação em 2 fases, das quais um líquido amarelado e um gel translúcido.
B	Loção leitosa com toque aveludado e cor branca.	Separação em 3 fases, com alteração significativa da cor e textura.
C	Loção leitosa com toque aveludado e cor rosa-pálido.	
D	Loção leitosa com toque aveludado de cor branca.	Não ocorreu a separação de fases, no entanto verificou-se uma elevada perda de massa e alteração da textura e cor
E	Loção cremosa de cor rosa muito pálido.	
F	Loção cremosa de cor rosa muito pálido.	Separação em 3 fases, uma aquosa, uma cremosa e um gel, a cor não sofreu alterações significativas
G	Loção cremosa de cor branca	
H		
I	Loção leitosa de cor branca.	Não ocorreu a separação de fases, nem escurecimento significativo da amostra, no entanto verificou-se uma elevada perda de massa e mudança de textura.
J		Não ocorreu a separação de fases, no entanto verificou-se uma elevada perda de massa e mudança de textura e escurecimento significativo.

## 3.2 Avaliação da perda de massa e teor de humidade

### 3.2.1 Resultados da perda de massa

Pela análise dos resultados relativos à perda de massa durante o período de envelhecimento de 6 meses (Figura 3.1), verificou-se que as amostras com maior perda de massa foram a A e I (ambas com 86%), sendo que as amostras F (com 84%) e J (com 83%) também apresentaram uma perda de massa elevada.

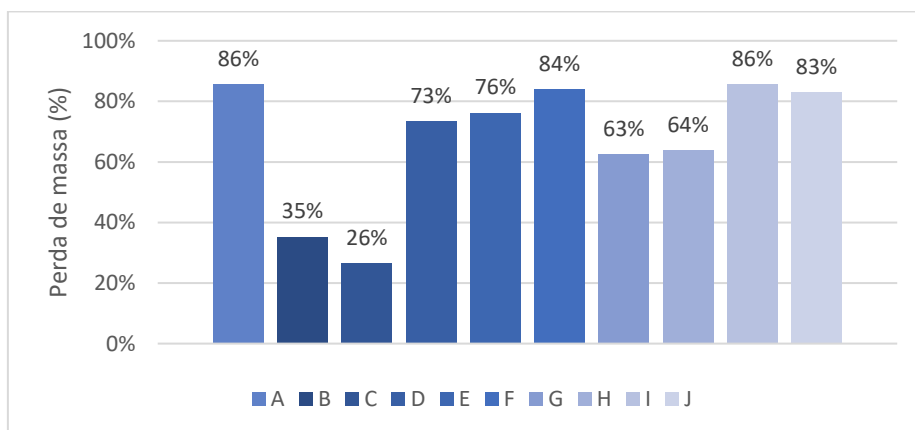


Figura 3.1- Perda de massa total após 6 meses de envelhecimento.

De uma forma geral, a maioria das amostras apresentou uma perda de massa superior a 50%, com a exceção das amostras B e C, que apresentam uma perda de 35% e 26% respetivamente.

No entanto, pela análise da perda de massa não é possível retirar conclusões quanto à composição da amostra, uma vez que este parâmetro engloba tanto a perda de água (teor de humidade) por evaporação, como a evaporação de compostos voláteis (VOCs), tais como os aldeídos (Andrewes et al., 2021).

Por outro lado, pela análise da evolução mensal da perda de massa para cada amostra (Figura 3.2 e Tabela F.1), verifica-se que estas podem ser divididas em dois grupos distintos: por um lado temos amostras que apresentam uma perda de massa proporcional ao tempo de envelhecimento, como é o caso das amostras F, G, H e I. As restantes amostras apresentam uma evolução não linear, uma vez que estas apresentam um aumento da massa num certo momento do processo de envelhecimento.

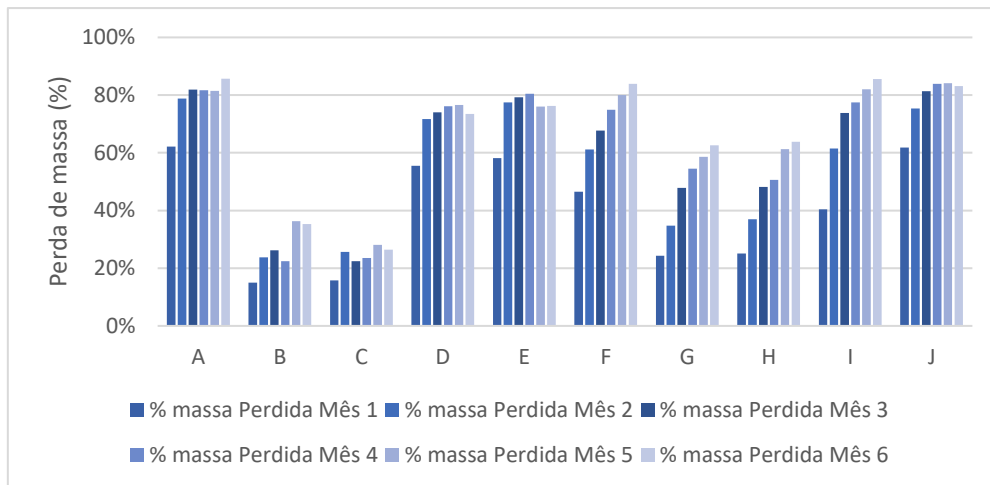


Figura 3.2- Percentagem de perda de massa ao fim de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 meses.

Este aumento de massa, ao invés de redução como seria de esperar, pode dever-se à libertação de água em certas fases do processo oxidativo, mas também pela formação de peróxidos, uma vez que um composto ao oxidar fica com mais átomos de oxigénio, levando ao conseqüente aumento de massa da molécula. Desta forma os resultados da perda de massa podem ser comparados com os resultados obtidos para o teste de teor de humidades (Figura 3.3 e Tabela F.2).

Assim, vemos que a amostra A apresenta um comportamento estável entre o terceiro e quarto mês, seguido de um aumento da massa entre o mês 4 (82%) e 5 (81%), seguida de uma diminuição no sexto mês. Este resultado é validado ainda pelo teor de

humidade uma vez que a amostra apresentava um teor de 25% no quarto mês e aumento até aos 28% no quinto mês. É ainda possível verificar que esta amostra apresentou a maior perda de massa durante os primeiros dois meses, onde sofre uma perda de cerca de 20%.

As amostras B e C apresentam um comportamento similar onde se verifica uma redução da perda de massa no quarto e terceiro mês, respetivamente, seguido de um aumento significativo no quinto mês. A amostra C apresenta ainda outro decréscimo na redução da perda de massa no último mês, sendo esta a amostra com menor perda de massa no total do tempo de oxidação (26% de perda de massa entre o mês 0 e 6).

### 3.2.1 Resultados do teor de humidade

Quanto ao teor de humidade verifica-se que as amostras B e C apresentaram uma pequena redução no seu teor de humidade durante estes primeiros meses (Figura 3.3). No entanto, as duas amostras apresentaram um comportamento distinto, sendo que no caso da amostra B é possível verificar que houve uma constante flutuação do teor de humidade, aumentou 3 pontos percentuais entre o mês 2 e 4 (81% para 84%), seguido de um decréscimo no quinto mês para 80% e conseqüente aumento no mês seguinte até aos 82%. Pode verificar-se que há diferenças estatísticas no teor de humidade entre os meses 0 e 2, 0 e 3, 1 e 4, 1 e 6 e ainda entre os meses 2 e 3 para  $p \leq 0,05$ . O que leva a concluir que esta amostra (B) apresenta uma forte resistência à perda de humidade.

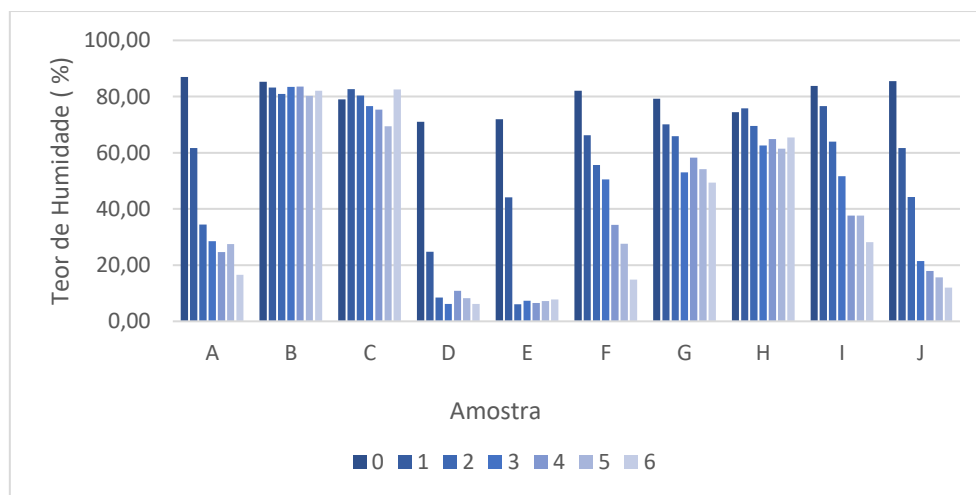


Figura 3.3- Evolução do teor de humidade para as amostras em estudo durante seis meses de oxidação acelerada.

Já a amostra C apresenta um aumento do teor de humidade do primeiro para o segundo mês (79% para 83%), e outro aumento entre o mês 5 para o 6 (70% para 83%), no entanto estes resultados não têm significância estatística ( $p > 0,05$ ).

As amostras D, E e J, apresentam um comportamento similar entre elas, uma vez que a perda de massa desacelerou a partir do quarto mês no caso da amostra E (passando de 80% para 76%), sendo que o teor de humidade aumentou gradualmente entre o segundo e sexto mês (de 6,1% para 7,8%), com uma ligeira inflexão da tendência entre o tempo 3 e 4 (7,3% para 6,6%).

Já as amostras D e J perderam menos massa do mês cinco para o seis (com 77% para 73% e 84% para 83%, respetivamente), sendo que para ambas as amostras os resultados desta diferença não apresentam significância estatística ( $p > 0,05$ ). Adicionalmente o teor de humidade da amostra D aumentou significativamente entre o terceiro e quarto mês (6,1% para 11%), enquanto o teor de humidade da amostra J manteve uma tendência decrescente significativa durante os seis meses de estudo ( $p \leq 0,05$ ).

Por sua vez as amostras D e E apresentaram um decréscimo do teor de humidade muito acelerado nos dois primeiros meses, sendo as que atingiram valores mais baixos durante o sexto mês de envelhecimento.

As amostras com comportamento linear (F, G, H e I) apresentam uma perda de massa constante em cada intervalo de tempo o que pode ser um indicador de que as reações de oxidação primárias em cadeia ainda estariam a ocorrer. Após os seis meses de oxidação é provável que se comesçassem a formar produtos secundários e a possível consequente inversão da tendência de perda de massa após este período.

A tendência linear observada para a perda de massa é também visível nos resultados de teor de humidade, com a exceção da amostra H que sofreu um ligeiro aumento de teor de humidade entre o tempo 3 (63%) e 4 (65%) e ainda entre o mês 5 (61%) e 6 (65%). Estatisticamente, a diferença entre os meses 3 e 4 é significativa para  $p \leq 0,05$ . Já a diferença de 4% do teor de humidade entre o quinto e sexto mês não é estatisticamente diferente ( $p > 0,05$ ).

É ainda importante a comparação dos resultados do teor de humidade com o aumento da massa em relação aos produtos de oxidação. Esta análise pode ser feita tendo por base os resultados compilados na Figura 3.4, onde se verifica que a maioria das

amostras apresenta uma elevada perda de humidade. Principalmente durante os dois primeiros meses do processo de oxidação, com a exceção das amostras B, C, H e I.

O decréscimo visualizado pode estar relacionado com o facto de estas amostras serem as que apresentam maior percentagem de ingredientes hidratantes em relação ao total de ingredientes (Figura 3.4), com a exceção da amostra I (com apenas 3% de ingredientes hidratantes na sua composição).

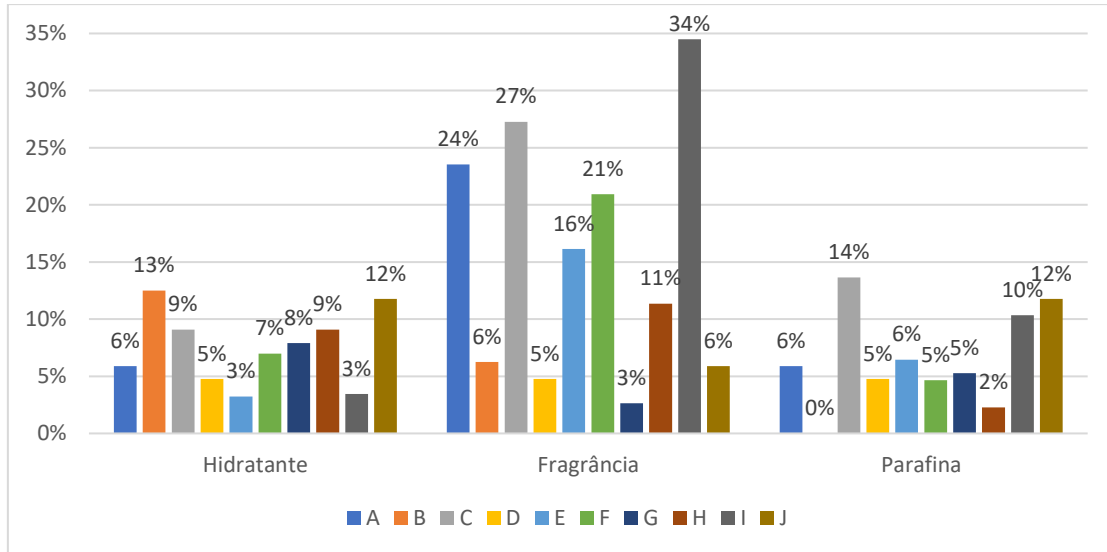


Figura 3.4- Presença de ingredientes com efeito hidratante, fragrâncias e parafinas na formulação de cada loção corporal em estudo.

Por outro lado, a amostra I teve um comportamento de perda de humidade relativamente linear entre os meses 0 e 3, estabilizando o seu teor de humidade em 38% nos dois meses seguintes, e baixando até 28% no último mês de envelhecimento acelerado. Estatisticamente, a diferença no teor de humidade é apenas significativa entre o mês 4 para o 5 ( $p \leq 0,05$ ).

Tal como verificado na avaliação da perda de massa, também na evolução do teor de humidade é possível observar uma inversão da tendência. Considerando que algumas amostras apresentam um aumento do teor de humidade em determinados meses, este fenómeno pode dever-se ao próprio processo de oxidação, onde determinadas reações levam à produção de água. No entanto, é também importante ter em conta as variáveis deste estudo, tais como a variação da temperatura da estufa durante o processo de envelhecimento, assim como o estudo ter sido realizado sem controlo de humidade.

Comparando os resultados da Figura 3.2 com a Figura 3.4, verifica-se que as amostras com elevado teor de ingredientes aromáticos (fragâncias), como por exemplo, a amostra A, E, F e I, apresentam a um elevado teor de perda de massa, com a exceção da amostra C. De notar que as amostras referidas, têm presentes limoneno, linalol e citronelol, entre outras substâncias voláteis (Edenilson dos S. Niculau et al., 2013).

No entanto, o baixo teor de perda de massa da amostra C em relação às outras, pode-se dever ao facto de esta conter um elevado teor de ingredientes parafinados na sua composição (como o dimeticone), o que atua de forma a diminuir a volatilidade das fragâncias presentes (Mamusa et al., 2021).

### 3.3 Avaliação da extração lipídica

A Tabela 3.2 apresenta os resultados relativos à dissolução das amostras com isopropanol.

Desta forma é possível verificar que todas as amostras foram dissolvidas com o solvente selecionado para este estudo, ainda que algumas apresentassem algum resíduo.

Tabela 3.2- Análise qualitativa do potencial de dissolução do isopropanol em cada amostra.

Amostra	Qualidade da dissolução com isopropanol (Após vórtex e Ultrassons)
A e C	Dissolvido
B, D, E, F, G e H	Dissolvido (com algum resíduo)
I	Dissolvido (com formação de bola de creme)
J	Dissolvido (com formação de lamela de creme)

### 3.4 Dienos conjugados em loções

A partir da Tabela 3.3 é possível a análise dos resultados obtidos para o ensaio dos dienos conjugados.

Tabela 3.3 - Resultados experimentais do teste de DC (n=3), em percentagem.

Amostra	Período de oxidação (Meses)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	5,45±<0,01	5,58±<0,01	5,65±<0,01	5,52±<0,01	5,64±<0,01	5,72±<0,01	5,65±<0,01
B	7,59±<0,01	5,58±<0,01	5,23±<0,01	5,61±<0,01	5,56±<0,01	5,51±<0,01	5,64±<0,01
C	5,54±<0,01	5,68±<0,01	5,62±<0,01	5,57±<0,01	5,60±<0,01	5,51±<0,01	5,63±<0,01
D	5,70±<0,01	5,73±<0,01	5,68±<0,01	5,66±<0,01	5,72±<0,01	5,72±<0,01	5,68±<0,01
E	5,56±<0,01	5,56±<0,01	5,58±<0,01	5,55±<0,01	5,59±<0,01	5,55±<0,01	5,53±<0,01
F	5,63±<0,01	5,64±<0,01	5,62±<0,01	5,66±<0,01	5,73±<0,01	5,60±<0,01	5,71±<0,01
G	5,61±<0,01	5,82±<0,01	5,54±<0,01	5,67±<0,01	5,54±<0,01	5,75±<0,01	5,67±<0,01
H	5,60±<0,01	5,63±<0,01	5,56±<0,01	5,71±<0,01	5,48±<0,01	5,57±<0,01	5,67±<0,01
I	5,59±<0,01	5,59±<0,01	5,70±<0,01	5,63±<0,01	5,63±<0,01	5,65±<0,01	5,64±<0,01
J	5,51±<0,01	5,52±<0,01	5,54±<0,01	5,59±<0,01	5,73±<0,01	5,61±<0,01	5,65±<0,01

Pela análise da média resultante do ensaio de DC, é possível verificar que os valores obtidos são muitos semelhantes para todas as amostras e tempos de oxidação, rondando os 5-6%, mas foram registadas diferenças significativas entre os valores ( $p \leq 0,05$ ).

Para a amostra A, entre o mês 0 e o mês 1 verificou-se que não há diferenças significativas para a razão de DC, ou seja, o valor medido nestes dois meses (na data de abertura do creme e um mês depois) não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ). Embora seja possível observar significância nos resultados de DC em alguns meses do estudo, tais como na passagem do mês 0 para os meses 4 e 5 e do mês 1 para o 4 e 6, entre outros.

Quando comparadas as amostras entre si no mês 0 verifica-se que existem diferenças significativas para o resultado de DC, com as exceções da relação entre as amostras A/H, A/I, C/D, C/G, E/H, F/G e H/I para os valores de DC ( $p > 0,05$ ).

Já para o mês 6, verifica-se que existem diferenças significativas para quase todas as amostras para os valores de DC ( $p \leq 0,05$ ), com as exceções das relações entre as amostras A/H, A/I, C/G, D/F e F/G.

O aumento do teor do DC, em particular nos meses finais do envelhecimento poderá ser um indicador de que a taxa de formação do DC é superior à sua decomposição. Por outro lado, esta tendência de aumento do teor pode ser explicada pela presença de compostos secundários que se formam na última fase do envelhecimento e também absorvem na região do UV.

Apenas as amostras D e E apresentam uma diminuição do valor final de DC em relação ao inicial (D0=5,70%, D6=5,68% e E0=5,56%, E6=5,53%), no entanto estas variações não são significativas quando analisadas estatisticamente ( $p > 0,05$ ). Esta diminuição provavelmente está relacionada com a formação de produtos secundários de

oxidação. Uma vez que estes produtos secundários absorvem no comprimento de onda de 272 nm, também a razão de absorvâncias para estas amostras apresenta um aumento mais significativo do que nas outras amostras.

Por outro lado, esta informação pode ser validada pela comparação com os teores dos produtos de oxidação secundários, uma vez que estas amostras (D e E) apresentam um aumento do valor de ipA bastante acentuado logo no primeiro mês do estudo, seguido de uma estabilização do seu resultado.

A partir da Tabela 3.4 é possível a análise da razão de absorvâncias entre 272 nm e 232 nm, onde os valores para as absorvâncias a 232 nm indicam o valor de dienos conjugados no início da oxidação (valor mais elevado de peróxidos). Por sua vez os valores lidos na absorvância de 272 nm indicam o valor de alfa-dicetonas. Assim, quando mais elevada esta razão maior será o teor de produtos secundários de oxidação.

Tabela 3.4- Resultados médios obtidos para a razão de absorvâncias de 272 nm e 232 nm, (n=3).

Amostra	Período de oxidação (Meses)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	1,016±0,002	1,038±0,004	1,048±0,007	1,036±0,003	1,037±0,006	1,025±0,003	1,022±0,007
B	1,001±0,001	1,006±0,001	1,007±0,002	1,004±0,002	0,997±0,002	1,006±0,002	1,002±0,002
C	1,043±0,003	1,049±0,002	1,052±0,002	1,046±0,003	1,057±0,012	1,051±0,000	1,052±0,007
D	1,041±0,004	1,070±0,003	1,067±0,003	1,064±0,002	1,074±0,009	1,065±0,001	1,063±0,001
E	1,006±0,003	1,020±0,005	1,023±0,000	1,023±0,005	1,019±0,002	1,015±0,004	1,013±0,002
F	1,035±0,005	1,059±0,006	1,066±0,004	1,065±0,003	1,065±0,001	1,059±0,006	1,069±0,009
G	1,037±0,005	1,058±0,003	1,051±0,003	1,054±0,007	1,050±0,008	1,058±0,006	1,055±0,005
H	1,011±0,006	1,021±0,004	1,015±0,002	1,018±0,002	1,024±0,005	1,025±0,004	1,020±0,004
I	1,016±0,003	1,028±0,002	1,026±0,009	1,025±0,006	1,031±0,007	1,036±0,010	1,034±0,007
J	1,024±0,001	1,047±0,003	1,075±0,003	1,068±0,008	1,070±0,004	1,074±0,011	1,078±0,002

Uma vez que os valores da razão obtidos são superiores a 1 para todas as amostras, podemos concluir que as amostras apresentam maior quantidade de dicetonas do que de dienos conjugados em todas as fases do envelhecimento.

O método dos DC juntamente com os valores de IP são os dois métodos mais usados para a avaliação dos produtos primários de oxidação lipídica. O método DC apresenta maiores limitações quando comparado com o de IP. No entanto, estes dois são usualmente realizados no mesmo estudo de forma a relacionar os dados obtidos, sendo que a leitura dos dienos conjugados na gama de UV oferece informação importante quanto à fase inicial da oxidação lipídica, quantificando o teor de hidropéroxidos (Semb & Kristinova, 2012).

Por outro lado, este método apresenta limitações quanto à sua sensibilidade na fase secundária de oxidação, uma vez que os produtos secundários se sobrepõem na mesma gama de UV. Este método é ainda largamente dependente da composição de ácidos gordos da amostra em análise (Semb & Kristinova, 2012).

### 3.5 Índice de peróxidos em loções

No estudo da determinação do IP foi necessária a construção de uma curva de calibração (Figura C.1) e consequente preparação de soluções padrão de ferro (III). Estes dados podem ser consultados nas Tabelas C.1 e C.2.

Na Tabela F.3 é possível a análise dos resultados obtidos para este ensaio, onde os resultados estão expressos em meq O<sub>2</sub>/kg de amostra seca. Estes resultados dizem respeito à média das leituras em triplicado para cada amostra e estão também representados graficamente na Figura 3.5.

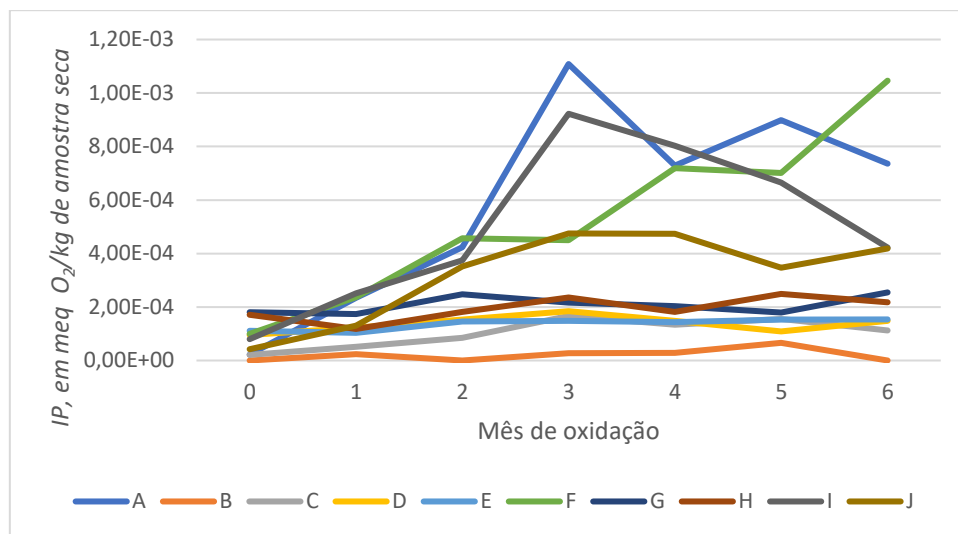


Figura 3.5- Evolução do IP ao longo de seis meses para cada amostra em estudo.

Verifica-se que de forma geral o valor de IP aumentou ao longo do tempo para todas as amostras em estudo. No entanto as amostras podem ser divididas em dois grupos consoante os resultados apresentados para este ensaio: amostras A, F, I e J apresentam variações mais significativas do valor de IP ao longo do tempo quando em comparação com as restantes amostras.

É ainda possível verificar que o maior incremento do teor de peróxidos deu-se entre o primeiro e terceiro mês, para as amostras A (valor máximo de  $1,1 \times 10^{-3} meqO_2/kg$ ), I ( $9,2 \times 10^{-4} meqO_2/kg$ ), e J ( $4,8 \times 10^{-4} meqO_2/kg$ ), no entanto estas variações não apresenta significância estatística ( $p > 0,05$ ).

Foi ainda observado, que para as amostras A, I e J os valores estabilizaram ou até diminuíram a partir do quarto mês, este fenómeno de estabilização pode ser explicado pelo facto de alguns dos compostos geradores de peróxidos serem consumidos de forma gradual ao longo do tempo.

A amostra F apresenta um comportamento distinto com um aumento do valor de IP ao longo dos 6 meses atingindo um máximo de  $1,1 \times 10^{-3} meqO_2/kg$  no final do estudo. Esta amostra é também a que apresenta maior valor ao sexto mês.

Por outro lado, a amostra B é a que apresenta menor teor de peróxidos, com resultados abaixo do limite de deteção para os meses 0, 2 e 6 e um valor máximo de  $6,6 \times 10^{-5} meqO_2/kg$  no mês 5.

Como valores de referência tomou-se alguns dos exemplos na Tabela 3.5 (Hornero-Méndez et al., 2001) e (Thomsen et al., 2018).

Tabela 3.5- Valores de referência para o estudo de IP para diferentes amostras de óleo vegetal (Hornero-Méndez et al., 2001) e (Thomsen et al., 2018).

<b>Amostra de óleo</b>	<b>IP (meq O<sub>2</sub>/kg) inicial</b>	<b>IP (meq O<sub>2</sub>/kg) após 30 dias a 25 °C</b>
<b>Azeite</b>	9,2±0,74	15±0,38
<b>Óleo de soja</b>	9,3±0,77	13±0,26
<b>Óleo de girassol</b>	18±0,65	23±1,65
<b>Creme tópico para a pele</b>	0,62±0,01	0,65±0,01

Quando comparados com os valores da Tabela 3.4, verifica-se que a tendência de aumento do valor de IP após um período de oxidação é similar ainda que a ordem de grandeza seja consideravelmente distinta entre os resultados deste estudo e os divulgados na literatura para diferentes amostras: óleos alimentares (Hornero-Méndez et al., 2001) e cremes para aplicação tópica (Thomsen et al., 2018).

Por outro lado, os valores baixos de IP obtidos neste estudo não indicam necessariamente que não tenha ocorrido oxidação, uma vez que estes resultados podem

dever-se ao fenómeno de rápida conversão dos peróxidos em produtos secundários de oxidação (Thomsen et al., 2018). Esta interpretação pode ser validada pela análise dos valores de ipA e TOTOX, uma vez que os peróxidos possivelmente já sofreram oxidação secundária demonstrado pelos valores de ipA significativamente maiores a partir do segundo mês (amostras C, D, E, F e G) ou terceiro mês (amostras A e J).

Os resultados podem ainda dever-se à presença de agentes quelantes de metais, como o EDTA (presente em D, E, F, G, H e I), que por sua vez têm impacto na diminuição do valor de IP ao competir com o ferro presente nos reagentes utilizados para este método (Semb & Kristinova, 2012).

De notar ainda que as soluções de ferro são sensíveis à presença de oxigénio, uma vez que este catalisa a sua auto-oxidação.

### **3.6 Resultados da determinação do ipA**

Os resultados obtidos da determinação do ipA encontram-se na Tabela F.5. A determinação pelo método ipA foi realizada em triplicado para cada amostra de creme nas diferentes fases de oxidação em estudo.

O ipA mede o conteúdo de aldeídos gerados durante a decomposição dos hidroperóxidos (principalmente 2-alcenais e 2,4-alcadienais). Esta reação produz um composto de cor amarelada que absorve a 350 nm, e uma vez que as amostras não são submetidas a ácidos fortes ou temperaturas elevadas, existe um menor risco de degradação dos hidropéroxidos (Semb & Kristinova, 2012).

Desta forma, e pela análise dos resultados apresentados na Figura 3.6, verifica-se uma tendência crescente deste parâmetro para todas as loções em estudo, ainda que de forma mais significativa para algumas das amostras, tais como a A (A6=2,4), F (F6=2,8) e J (J6=3,8).

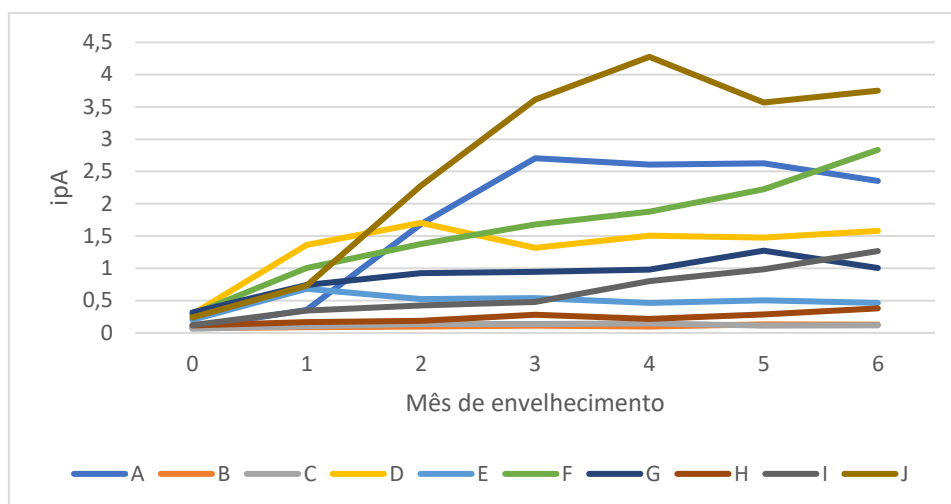


Figura 3.6- Evolução da formação de aldeídos para cada amostra ao longo dos seis meses.

O método de ipA quando comparado com os resultados da avaliação organolética, pode confirmar e quantificar a libertação de compostos voláteis tais como os aldeídos (que são responsáveis pela alteração do odor das amostras) (Silva et al., 1999).

Desta forma, verificou-se que a amostra A começou a apresentar odor a ranço no quarto mês, e o seu valor de ipA atingiu um máximo no terceiro mês (2,7), estabilizando no seguinte período do estudo, o que indica que esta amostra ao terceiro mês já estaria a formar produtos de oxidação secundários.

Também a amostra F apresentou os primeiros sinais de odor a ranço ao quarto mês, o que está em linha com os resultados de ipA, uma vez que esta apresenta uma tendência crescente quase de forma linear e atingindo o segundo valor mais elevado de teor de ipA das 10 amostras em estudo (2,8).

A amostra J, contendo apenas 16 ingredientes é a que apresenta maior valor de ipA ao sexto mês do estudo, o que pode ser justificado pelo óleo vegetal utilizado ou pela presença de um elevado teor de ingredientes parafinados na sua composição. Um destes compostos pode ser a glicerina que quando submetida a condições de envelhecimento acelerado, oxida dando origem a um gliceraldeído que é um composto volátil (Thomsen et al., 2018).

Por outro lado, a amostra J que é a amostra com maior teor de ipA no final dos 6 meses (3,8), não se detetou odor a ranço durante a avaliação organolética. No entanto, esta avaliação qualitativa da fragrância das amostras é vulnerável a um elevado erro do operador e por isso os seus resultados devem ser apenas utilizados de forma a comparar

e validar os resultados quantitativos obtidos a partir de métodos mais precisos, nomeadamente o método de ipA e de TBARS.

### 3.7 Resultados da determinação do TBARS

Os resultados médios para o ensaio de TBARS (realizados em triplicado) podem ser consultados na Tabela F.4 (Anexo F).

Os resultados da determinação do TBARS vêm expressos em mg/g amostra seca e foram obtidos com recurso à curva de calibração presente na Figura D.1 (Anexo D.3).

Através da análise da Figura 3.7, verifica-se que para a maioria das amostras a concentração de MDA aumentou ao longo dos seis meses de envelhecimento acelerado. Os resultados obtidos através deste método são usualmente correlacionados com os resultados do método de IP, uma vez que o MDA não é o único produto de oxidação lipídica que reage com o TBA (os 4-hidroxicenais, 2,4-alcadienais e 2-alcenais formam igualmente um cromogéneo) interferindo na especificidade do método. Também outros aldeídos não provenientes do processo de degradação lipídica podem reagir com o TBA, principalmente quando na presença de um baixo teor de MDA. Por estes motivos, o teste de TBA é usualmente realizado como complemento ao método de IP (Silva et al., 1999) e (Barriuso et al., 2008).

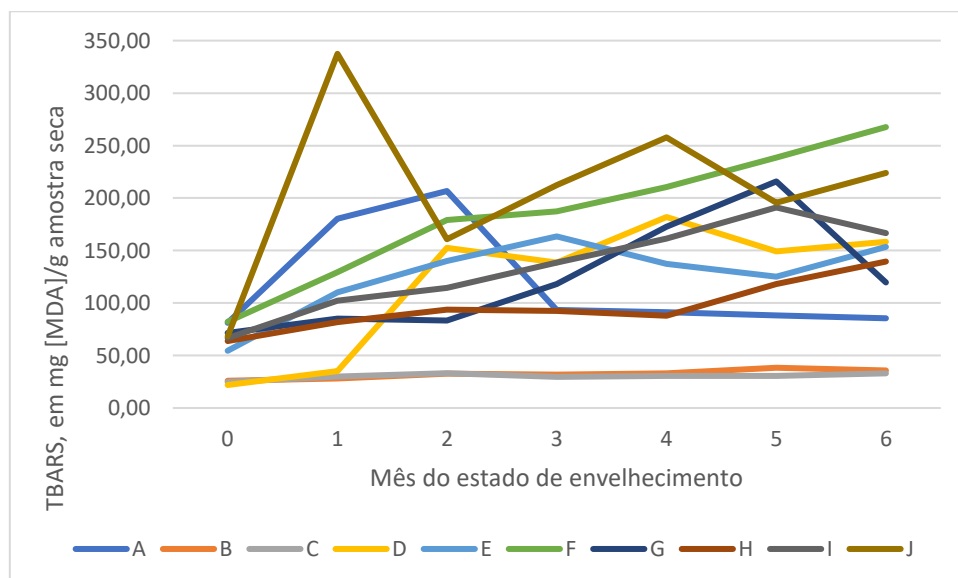


Figura 3.7- Evolução da concentração de MDA para cada amostra ao longo dos seis meses (ensaio de TBARS).

No entanto, é notória a elevada heterogeneidade no comportamento de cada amostra, não sendo por isso possível a identificação de uma tendência comum a todas as loções corporais em estudo.

As amostras B e C apresentam um comportamento constante e sem alterações significativas na concentração do composto avaliado neste estudo (sendo que os resultados destas amostras se encontram compreendidos entre 26,0-38,4 mg/g e 24,8-33,2 mg/g, respetivamente).

Já as amostras A, D, E, G, I e J apresentam uma elevada variação ao longo do tempo, aumentando e diminuindo a concentração de TBARS.

Por outro lado, as amostras F (sendo o valor obtido no início do estudo de 82,1 mg/g e no final de 268 mg/g) e H (sendo o valor obtido no início do estudo de 63,8 mg/g e no final de 140 mg/g) apresentam uma variação menos acentuada, e um aumento relativamente constante e estável ao longo dos seis meses.

A amostra F é ainda a que apresenta um maior valor de concentração de MDA no final do estudo (268 mg/g), juntamente com a amostra J (224 mg/g), o que indica que estas amostras sofreram uma maior extensão da degradação de hidropéroxidos durante os seis meses do estudo.

Embora o comportamento varie de amostra para amostra, todas apresentam um aumento significativo da concentração de MDA quando comparado o mês zero com o mês seis. Este comportamento é espectável uma vez que ocorre a formação de aldeídos durante o processo de oxidação, assim como a formação de outras substâncias tais como aldeídos e cetonas que também estes contribuem para o aumento da fluorescência nos comprimentos de onda aplicados neste estudo (Barriuso et al., 2008).

Os valores da literatura para óleos de alimentação de suínos (41 a 622  $\mu\text{mol/kg}$  ou 2,95 a 44 mg/kg em equivalentes de MDA) (Shurson et al., 2015) e para a peroxidação em loções cosméticas com filtro UV (0,2 a 1,2  $\mu\text{mol/kg}$  ou 14 a 86  $\mu\text{g/kg}$  em equivalentes de MDA), verifica-se que são valores muito mais baixos quando comparados com os resultados obtidos neste trabalho (Damiani et al., 2010).

As diferenças observadas podem ser devidas às diferentes condições de envelhecimento usadas por (Damiani et al., 2010) que envelheceram a amostra com recurso a lâmpadas comerciais de radiação UVA, irradiando as amostras a  $35 \pm 2$  °C durante 15 minutos enquanto neste trabalho as amostras foram deixadas a  $45 \pm 5$  °C durante 6 meses.

O método TBARS apresenta, no entanto, algumas limitações, uma vez que é um método menos específico relativamente à espectrofotometria e ainda por ser altamente condicionado pelas condições a que a reação ocorre, dificultando assim a sua replicabilidade. Desta forma, as condições da reação, tais como a temperatura e período ao qual as amostras permanecem no banho termostático, assim como o pH da solução e presença de antioxidantes são todos fatores que influenciam significativamente a formação de cor e consequente medição da concentração de MDA.

### **3.8 Correlação entre a presença de extratos naturais e o valor de TOTOX**

Os resultados relativos aos valores TOTOX médios foram calculados a partir dos resultados de  $I_p$  e  $ipA$  ( $n=3$ ) e encontram-se na Tabela F.6 e os resultados experimentais, medidos em triplicado, podem ser consultados na Tabela F.6.

Com base na análise da Figura 3.8, verifica-se um aumento do valor de TOTOX para todas as amostras, quando comparado o mês inicial com o sexto mês de envelhecimento acelerado, ainda que o aumento deste parâmetro não tenha sido linear ao longo do tempo.

As amostras B, C, E e H apresentam um aumento pouco significativo do valor de TOTOX, o que indica que estas amostras oxidaram pouco durante os seis meses de estudo. No entanto, e principalmente no caso da amostra H, verifica-se um aumento linear do TOTOX a partir do mês quatro, sendo que seria espectável que este continuasse a aumentar após o sexto mês de oxidação.

Por outro lado, as amostras A ( $A_0=0,0850$  e  $A_6=2,35$ ) com glicerina, F ( $F_0=0,340$  e  $F_6=2,84$ ) com geraniol e óleo de soja, e J ( $J_0=0,240$  e  $J_6=3,80$ ) com manteiga de karité, são as que apresentam maior incremento do valor de TOTOX ao longo deste estudo.

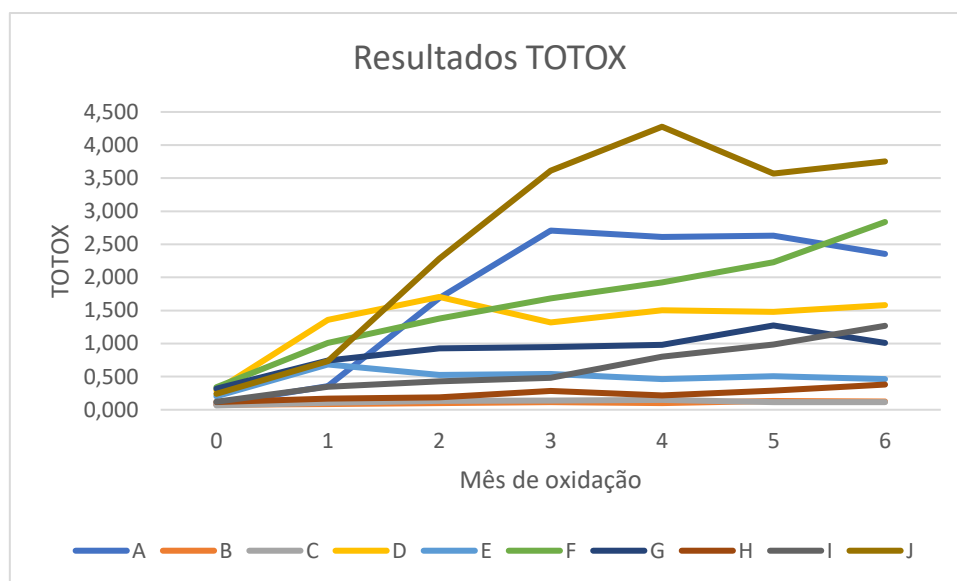


Figura 3.8- Resultados da evolução de TOTOX.

Pela análise da Tabela 3.6 e Figura 3.9, que comparam o valor de TOTOX ao fim dos seis meses de envelhecimento acelerado aplicados no presente estudo com a presença de extratos naturais na formulação de cada amostra, verifica-se que a amostra com maior valor de TOTOX é a J (3,75), e esta contém extrato de óleo de argão.

Tabela 3.6 - Descrição dos extratos naturais presentes nas amostras em estudo e respectivos valores de TOTOX no final do estudo.

<i>Amostra</i>	<i>Presença de Substâncias Naturais</i>	<i>TOTOX</i>	<i>Desvio Padrão</i>
A	A – Sal Marinho	2,35	<0,1
B	B - Extrato de Aloé Vera	0,130	0,02
C	C - Extrato de Frutos Vermelhos	0,120	0,01
D	D - Extrato de leite de amêndoa e óleo de coco	1,58	<0,1
E	E - Óleo de abacate e extrato de flor de calêndula	0,465	<0,01
F	F - Extrato de flor de lótus e leite de arroz	2,84	<0,1
G	G - Extrato de cacau	1,01	0,1
H	H - Extrato de baunilha	0,380	0,02
I	I - Extrato de Óleo de Amêndoa	1,27	0,1
J	J - Extrato de Óleo de Argão	3,75	0,2

Também as amostras A (2,35) e F (2,84) apresentam um elevado valor de TOTOX, sendo que estas apresentam na sua composição, sais minerais e extrato de flor de lótus e leite de arroz, respetivamente.

Por outro lado, as amostras B (0,130) e C (0,120) apresentam um valor de oxidação reduzido, tendo estas presentes extratos de aloé vera e extrato de frutos vermelhos, respetivamente.

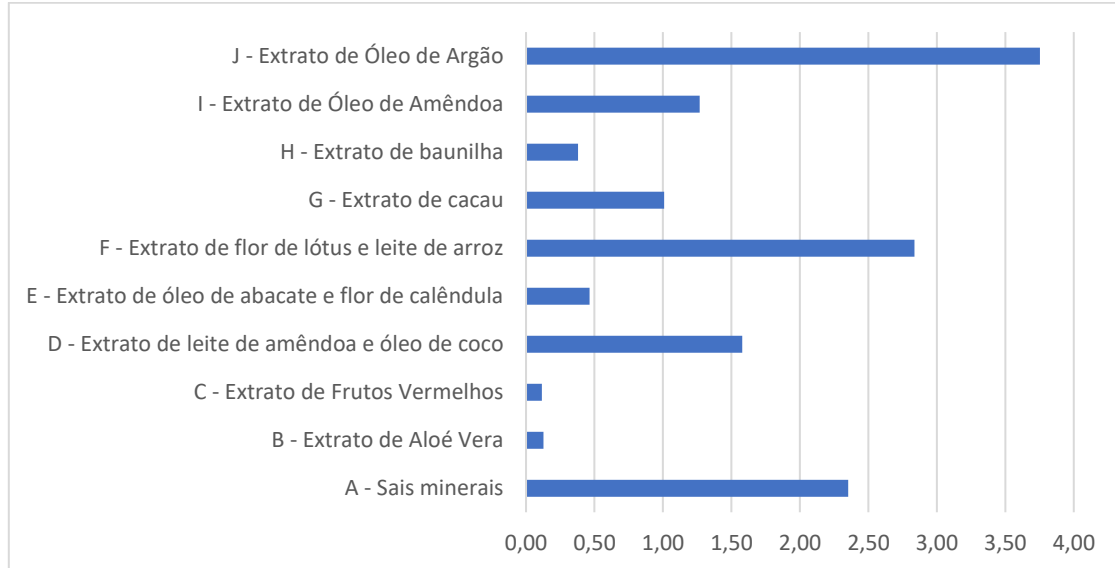


Figura 3.9- Valor TOTOX para cada creme em estudo, em relação à presença de extratos naturais na composição de cada amostra.

Pela análise dos resultados obtidos, verifica-se que as amostras com extratos de óleos, com exceção da amostra E (0,465), apresentam um maior valor de oxidação, o que é espectável devido ao elevado teor lipídico dos óleos em geral.

Também se verifica que a presença de extratos de leite vegetal (nomeadamente de arroz ou amêndoa) levam a um elevado teor de oxidação, como se observa nas amostras D (1,58) e F (2,84).

Por outro lado, a amostra E que tem presente na sua formulação extrato de óleo de abacate apresenta um valor de TOTOX relativamente baixo, quando comparado com as restantes amostras que contêm outras fontes de óleo. Este fenómeno pode dever-se à presença de flor de calêndula nesta amostra, uma vez que este extrato oferece uma elevada proteção antioxidante, como foi também verificado num estudo realizado (Sousa et al., 2020).

Verifica-se ainda que a presença de extratos de plantas e frutas, como a calêndula, baunilha, cacau, aloé vera e frutos vermelhos contribuem para um baixo teor de oxidação das amostras em estudo e conseqüente menor taxa de degradação após estas serem submetidas a um processo de envelhecimento acelerado.

Pela análise da Figura 3.10 é possível correlacionar os resultados da oxidação lipídica com a percentagem de ingredientes com potencial preservante e oxidante em cada amostra.

De notar que as percentagens apresentadas correspondem a uma estimativa da presença de cada ingrediente em relação ao total de ingredientes presentes em cada produto, uma vez que não é possível saber a razão exata nas formulações em estudo.

Na avaliação da percentagem de ingredientes potencialmente preservantes foram considerados os ingredientes com propriedades antioxidantes, antibacterianos e antimicrobianos. Por outro lado, os ingredientes com potencial oxidativo considerados foram os humectantes e emolientes. A classificação de cada ingrediente conforme a sua função pode ser consultada no Anexo A.1, Tabela A.1.

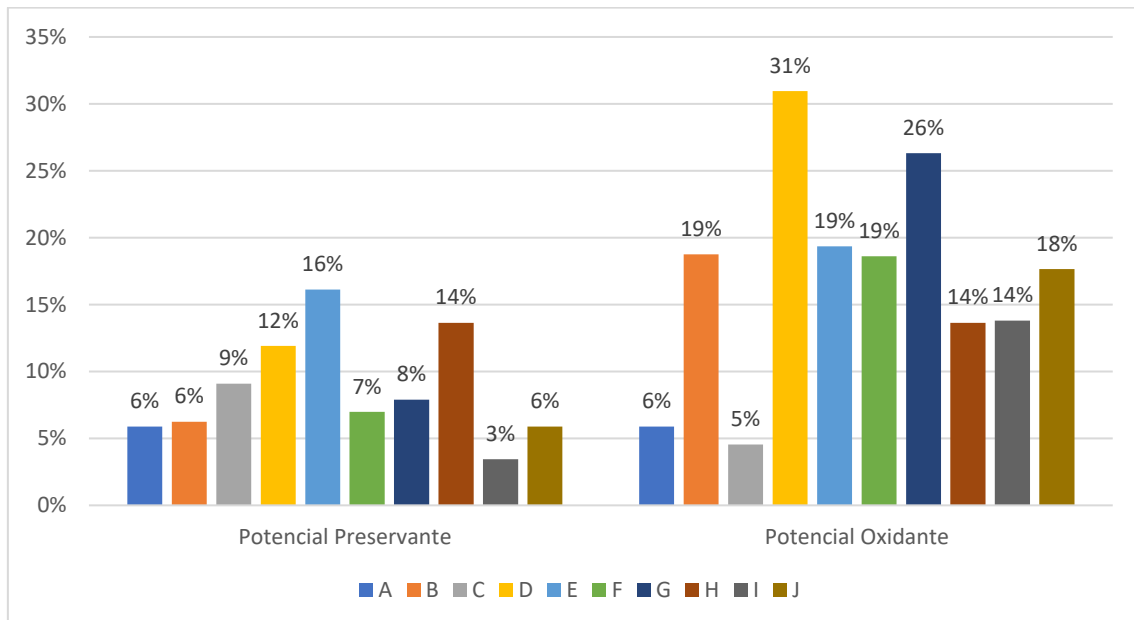


Figura 3.10- Percentagem do número de ingredientes com propriedades preservantes versus potenciais oxidantes presentes em cada amostra.

Verifica-se um comportamento diferente em relação à amostra B, uma vez que este foi uma das que apresentou menor teor de oxidação, mas quando analisada a sua composição esta apresenta uma elevada percentagem de ingredientes humectantes e emolientes. Deste forma seria de esperar que a amostra B apresentasse valores elevados de TOTOX. Por outro lado, um dos ingredientes principais desta amostra é o extrato de aloé vera, que apesar de ser um ingrediente altamente humectante, também tem propriedades antioxidantes. Desta forma verifica-se que a análise por este meio não é

muito precisa, uma vez que a classificação dos ingredientes é complexa, podendo um ingrediente atuar em diferentes funções.

### 3.9 Comparação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos

Na Figura 3.11, é possível a comparação dos resultados obtidos para os diversos ensaios realizados tendo em conta o mês de abertura de cada loção corporal (mês 0) e após seis meses de envelhecimento acelerado (mês 6).

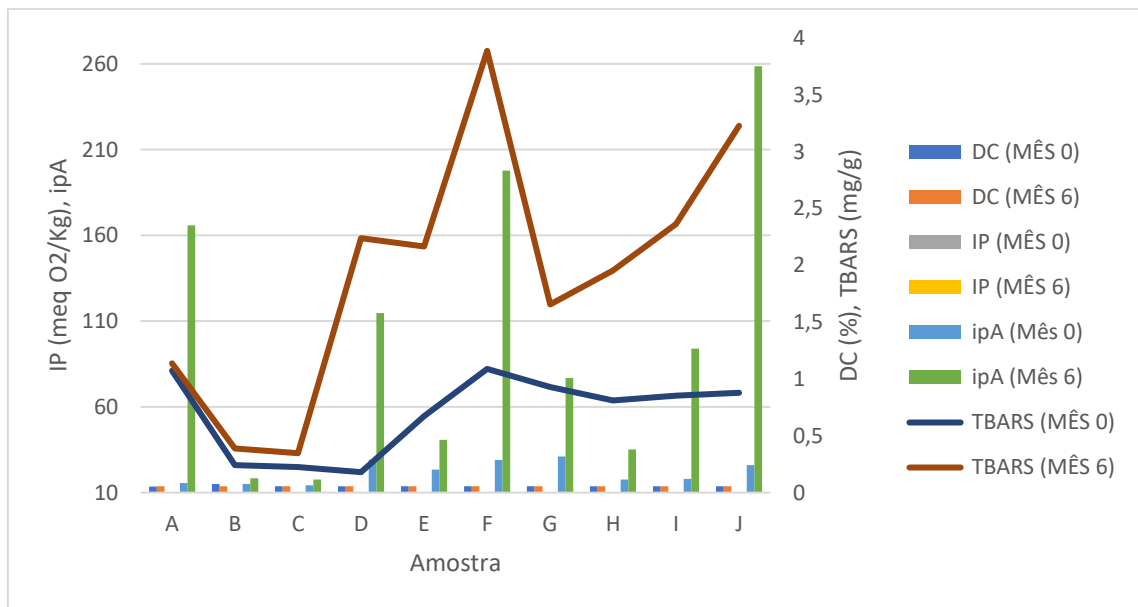


Figura 3.11- Comparação dos resultados dos ensaios de DC, IP, ipA e TBARS para as amostras em estudo quando abertas (mês 0) e após submetidas a um processo de envelhecimento acelerado durante 6 meses (mês 6).

Como descrito anteriormente, verifica-se desta forma que as amostras A, D, F, G, I e J apresentam um elevado aumento no valor de ipA em relação ao mês zero.

As amostras D, E, F, H, I e J apresenta, por sua vez um elevado aumento do valor de TBARS, sendo que as amostras F e J são as que apresentam maior diferença entre o mês de abertura da loção corporal e o mês seis. Uma vez que o ensaio de TBARS está relacionado com os produtos secundários de oxidação, pode-se concluir que as amostras mencionadas são as que apresentam maior degradação de hidroperóxidos.

De forma geral verifica-se que a formação dos produtos secundários é bastante mais significativa em relação aos valores obtidos para a oxidação primária.

### 3.10 Avaliação dos resultados por amostra de loção corporal

Na presente secção serão apresentados os dados relativos aos diversos métodos de avaliação da oxidação lipídica por cada amostra em estudo.

#### 3.10.1 Loção A

A amostra A tem presente sal marinho como um aditivo natural. A amostra apresenta ainda um elevado percentual de agentes antibacterianos, como o fenoxietanol, e potenciais oxidantes, como o palmitato de isopropilo, que atua como um emoliente.

Quando analisado o comportamento desta amostra, pela análise da Figura 3.12, verifica-se que o seu comportamento é concordante com a composição, uma vez que a amostra apresenta uma elevada oxidação lipídica, com um aumento significativo no segundo mês.

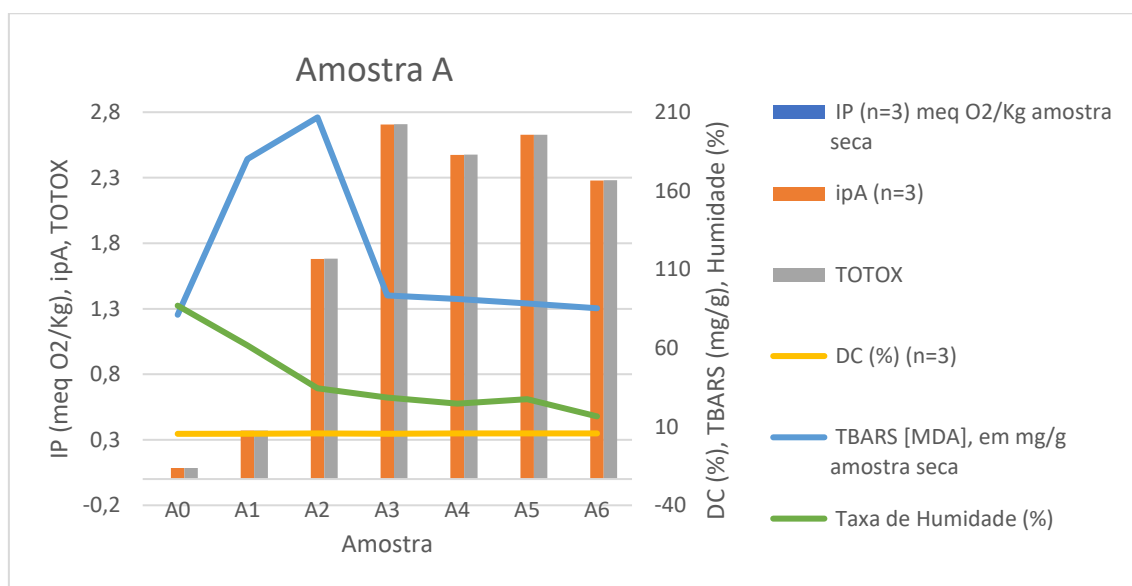


Figura 3.12- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra A.

Este foi também o momento (mês 2) onde o resultado de TBARS atingiu um máximo (207 mg/g), decrescendo significativamente ao terceiro mês. Este comportamento pode dever-se ao facto de o TBA reagir com aldeídos, em particular com o MDA, que por sua vez sofrem alterações por serem instáveis e reativos, ou ainda por

serem mais voláteis levando à sua diminuição ao longo do tempo (Dasgupta & Klein, 2014).

É ainda possível verificar que a amostra sofre uma oxidação significativa, pela avaliação do valor de ipA, que aumenta consideravelmente do primeiro para o segundo mês, atingindo um valor máximo ao terceiro mês do estudo (2,7).

Pela análise estatística (Tabela G.1) verifica-se que existe uma correlação forte positiva entre o TBARS e a razão de DC, ou seja, quando o TBARS aumenta a razão de DC também aumenta para  $p \leq 0,01$ . O mesmo verifica-se entre o ipA e o IP, entre o ipA e o TOTOX e ainda entre o TOTOX e o DC.

Sendo que o aumento do TBARS indica um aumento nos produtos de oxidação secundários. Já a correlação forte positiva entre o ipA e o IP indica que as duas reações de oxidação (primária e secundária) estão a decorrer em simultâneo.

Já entre o IP e o DC há uma correlação média positiva ( $p \leq 0,05$ ). Observou-se ainda uma correlação forte negativa entre a humidade e os outros métodos (nomeadamente com o ipA, IP, TOTOX e DC para um  $p \leq 0,01$ ), ou seja, à medida que a humidade diminui, estes valores aumentam.

### **3.10.2 Loção B**

A amostra B foi uma das que apresentou um menor valor de TOTOX ao sexto mês quando comparada com as outras amostras. Pela análise da sua composição, verifica-se que esta tem presente extrato de *Aloé vera*, que apesar de ser um ingrediente altamente hidratante e até emoliente, também apresenta capacidade antioxidante devido à presença de vitaminas e minerais.

Esta amostra apresenta na sua composição uma elevada percentagem de ingredientes emolientes (coco-aprilato/caprato, éter dicaprílico e óleo vegetal), hidratantes (extrato de *Aloé vera*) e antioxidantes (tocoferol).

Pela análise da Figura 3.13, verifica-se que a amostra apresenta um comportamento relativamente estável ao longo dos seis meses de estudo.

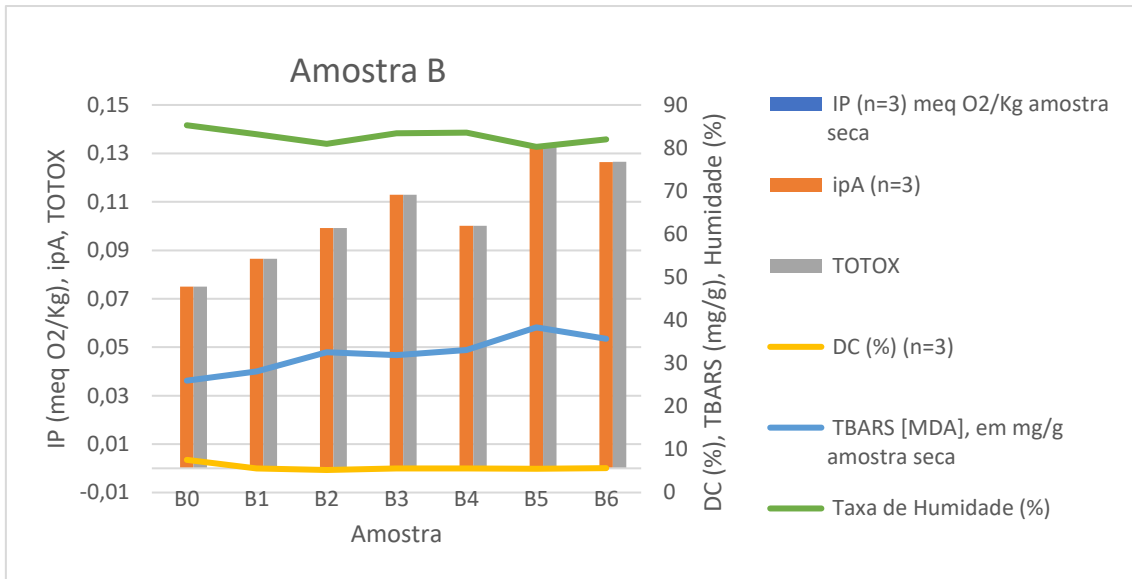


Figura 3.13- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra B.

Os resultados da análise estatística para a amostra B (Tabela G.2) mostram que existe uma correlação forte positiva entre o TBARS e o ipA, assim como entre o TBARS e o TOTOX, para  $p \leq 0,01$ . Este aumento dos valores de TBARS e ipA indicam que a amostra B apresenta um aumento significativo de produtos secundários.

Por outro lado, o TBARS apresenta também uma correlação forte negativa com a humidade e o DC ( $p \leq 0,01$ ), e uma correlação média positiva ( $p \leq 0,05$ ) com o IP. A correlação média entre o TBARS e IP indica que as duas reações de oxidação ainda estão a decorrer em simultâneo, no entanto a reação de formação de produtos secundários é mais significativa que a de produtos primários, uma vez que existe uma correlação mais forte entre o valor de TBARS e ipA.

Já a humidade apresenta correlações fortes negativas com o ipA e TOTOX ( $p \leq 0,01$ ), e uma correlação média negativa com a razão de DC ( $p \leq 0,05$ ). Entre a humidade e o DC há uma correlação forte positiva, assim como entre o ipA e o TOTOX ( $p \leq 0,01$ ). Já entre o ipA e o DC e entre o TOTOX e DC verificam-se correlações médias negativas ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.10.3 Loção C

A amostra C apresenta um comportamento similar à amostra B (Figura 3.14).

No entanto, a amostra C tem na sua composição extratos de frutos vermelhos que atuam como antioxidantes e protetores contra a oxidação lipídica da amostra. Esta tem também um elevado teor de ingredientes emolientes (palminato de isopropilo), anti-bacterianos (fenoxietanol), fragrâncias (diversas), e ainda a presença de parafinas (dimeticone, citrato de estearato de gliceril, parafina líquida).

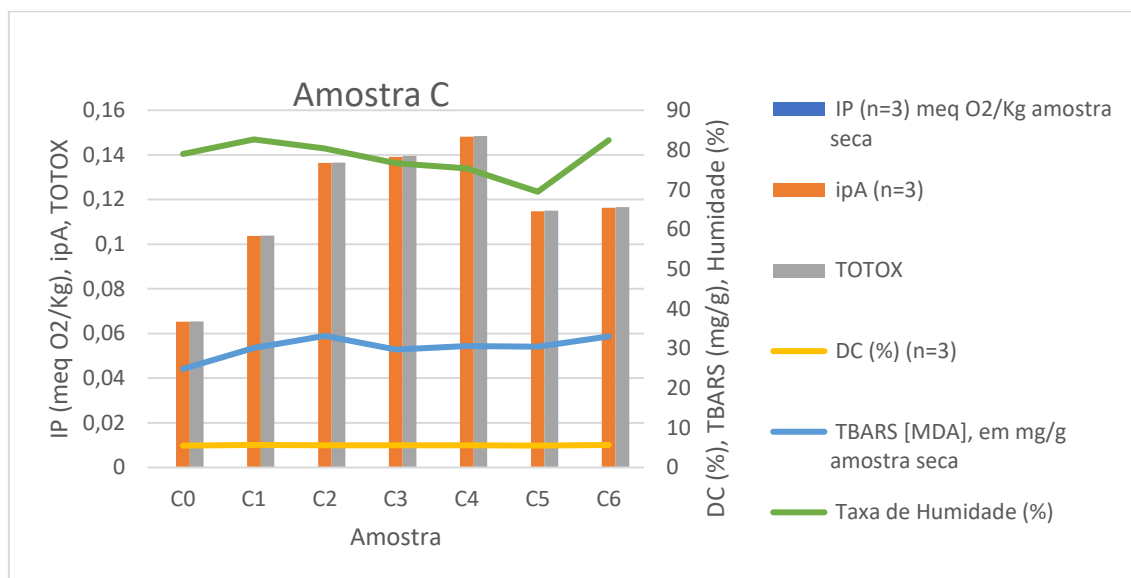


Figura 3.14- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra C.

Pela análise dos resultados da análise estatística para a amostra C (Tabela G.3) verifica-se que existem maioritariamente correlações fortes e positivas para  $p \leq 0,01$ , nomeadamente entre o TBARS com o ipA, e com o TOTOX (indicam o aumento dos produtos secundários), entre a humidade e o DC, entre o ipA com o IP e TOTOX e ainda entre o IP e TOTOX. A correlação forte e positiva entre o ipA e IP indica que amostra C ao fim dos seis meses de estudo ainda estaria a sofrer em simultâneo ambas as reações primária e secundária.

Verificam-se também relações médias positivas entre o TBARS e o DC e entre o TBARS e a razão de DC ( $p \leq 0,05$ ).

Por fim, pode-se observar uma correlação forte negativa entre a humidade e o IP ( $p \leq 0,01$ ).

### 3.10.4 Loção D

Segunda a avaliação dos ingredientes da amostra D, esta apresenta ingredientes com capacidade oxidativa, devido à presença de humectantes (ciclopentasiloxano, pentilenoglicol e ureia) e emolientes (diversos, a destacar o óleo de coco e leite de amêndoas) e hidratantes (água, propilenoglicol e sódio PCA).

Em contrapartida, a loção contém ainda diversos ingredientes com potencial antibacteriano (fenoxietanol metilparabeno), anti-microbiano (sorbato de potássio propilparabeno) e antioxidante (triglicérido caprílico/cáprico).

Desta forma, e pela comparação com a Figura 3.15, verifica-se que o crescimento acentuado do valor de TBARS nos primeiros meses do estudo, é justificado, uma vez que a presença de ingredientes emolientes e humectantes proporcionam a oxidação lipídica dos produtos primários durante esta primeira fase do estudo.

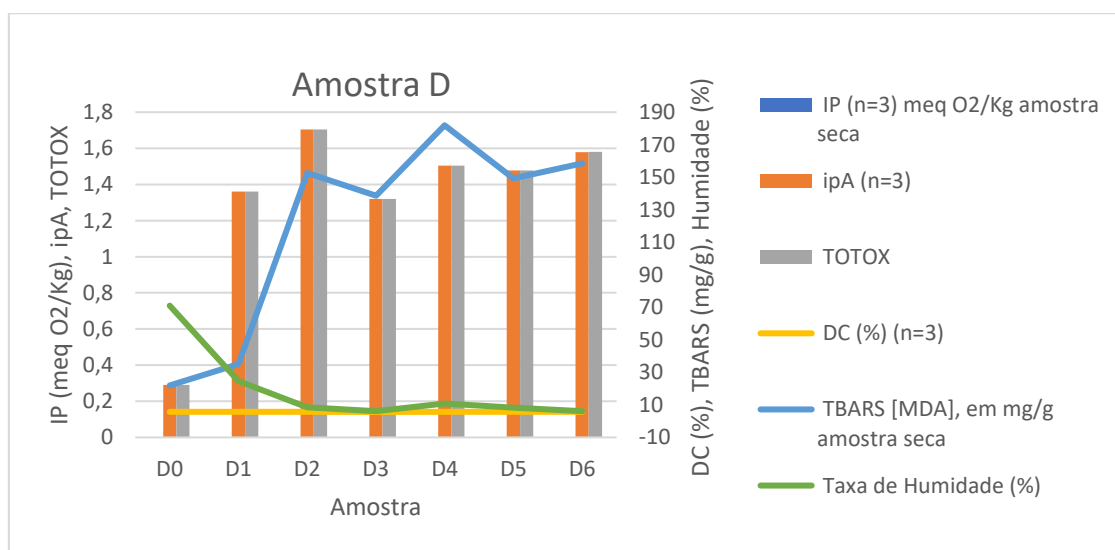


Figura 3.15- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra D.

Os resultados da análise estatística (Tabela G.4) mostram várias correlações fortes positivas ( $p \leq 0,01$ ), nomeadamente entre o TBARS e ipA, IP, TOTOX e razão de DC, sendo que a correlação destes parâmetros indica que ambas as reações (primária e secundária) ainda estariam a decorrer no final do estudo.

Existem também correlações fortes positivas ( $p \leq 0,01$ ), entre o ipA com o TOTOX e razão de DC e ainda entre o TOTOX e a razão de DC.

Verificam-se também correlações fortes negativas entre o TBARS e humidade e entre a humidade e ipA, IP, TOTOX e razão de DC.

São ainda verificadas algumas correlações médias positivas ( $p \leq 0,05$ ) nomeadamente entre o ipA e IP, o IP e TOTOX e ainda entre o IP e razão de DC.

### 3.10.5 Loção E

Pela análise da Figura 3.16, verifica-se que a amostra E apresenta um comportamento diferenciado em relação às soluções previamente discutidas. Uma vez que esta, apresenta um elevado decréscimo do teor de humidade nos dois primeiros meses do estudo, e um aumento quase proporcional do teor de TBARS. Este fenómeno pode dever-se à acentuada evaporação da fase aquosa assim como dos ingredientes voláteis, como as fragrâncias (citronelol, geraniol, limoneno, linalol). Assim como à oxidação primária dos ingredientes emolientes (gliceril estearato, glicina de óleo de soja, óleo de sementes de girassol, ácido linoleico isomerizado).

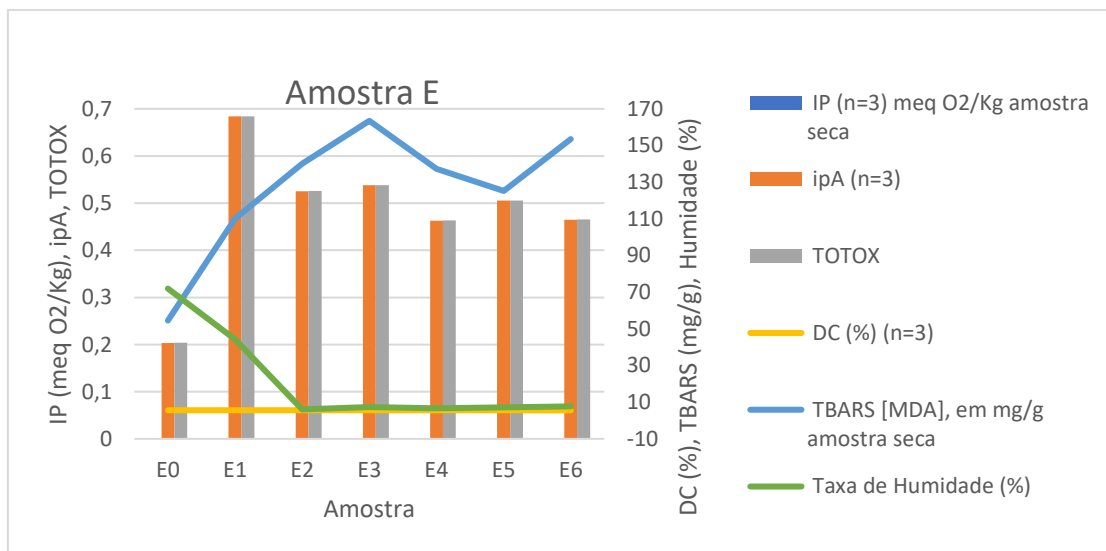


Figura 3.16- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra E.

No entanto o TOTOX ao mês seis não é muito elevado quando comparado com as restantes amostras em estudo, isto pode ser justificado pela elevada quantidade de ingredientes protetores encontrados na formulação do produto, tais como antibacterianos, antimicrobianos e antioxidantes.

De notar ainda que os extratos naturais principais presentes na amostra são o extrato do óleo de abacate e a flor de calêndula. Sendo que o primeiro apesar do elevado teor lipídico, apresenta também uma elevada estabilidade à oxidação e ainda presença de vitaminas e antioxidantes. Já a flor de calêndula é notoriamente um extrato com elevado efeito protetor contra o envelhecimento acelerado da matéria gorda.

Quanto à análise estatística (Tabela G.5) é possível verificar uma correlação forte positiva ( $p \leq 0,01$ ) entre o TBARS e o ipA, IP e TOTOX, assim como entre o ipA e TOTOX e entre o ipA e a razão de DC, assim como entre o TOTOX e razão de DC.

Estas correlações fortes positivas indicam que as duas reações de oxidação estão a decorrer em simultâneo, verificando se um aumento dos produtos de oxidação primários e secundários.

Verificam-se também correlações fortes negativas entre o TBARS e a humidade e entre a humidade e o IP e a razão de DC.

Relativamente às correlações médias, estas existem entre o TBARS e razão DC (positiva) e entre a humidade e o ipA (negativa), para  $p \leq 0,05$ .

### **3.10.6 Loção F**

A amostra F apresenta um aumento em incrementos constantes ao longo dos seis meses, como verificado pela Figura 3.17. Sendo o resultado de TOTOX elevado quando em comparação com as restantes amostras.

Esta contém como extratos naturais o extrato de flor de lótus e leite de arroz, assim como diversos ingredientes com propriedades emolientes (cocoato de etilhexil, estearato de glicerol, óleo de girassol, ácido linoleico isomerizado, extrato de farelo de arroz, óleo de germen de arroz, óleo de ricínio hidrogenado PEG-40), antibacterianas (fenoxietanol metilparabeno) e um elevado teor de ingredientes com propriedades organolépticas, tais como o geraniol, limoneno, linalol e fragrâncias não discriminadas.

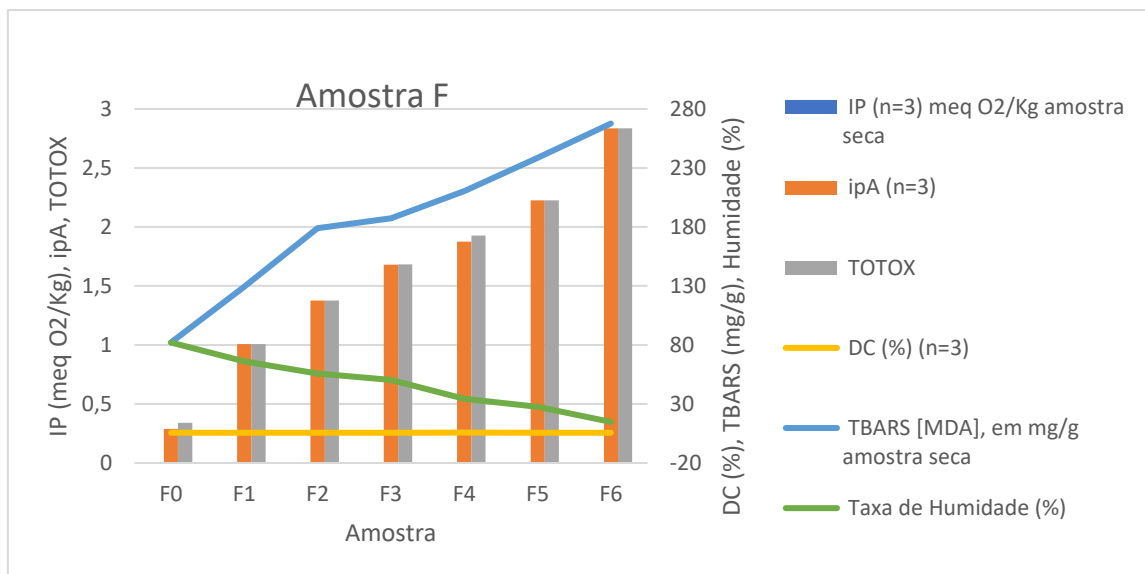


Figura 3.17- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra F.

Quanto à análise estatística (Tabela G.6) é possível verificar uma correlação forte positiva ( $p \leq 0,01$ ) entre o TBARS e o ipA, IP e TOTOX, assim como entre o ipA e IP, TOTOX e a razão de DC, sendo que estes resultados são bastante similares à amostra E.

Estas correlações fortes positivas indicam que as duas reações de oxidação estão a decorrer em simultâneo, verificando se um aumento tanto dos produtos de oxidação primários como secundários.

Existe ainda uma correlação forte positiva entre o IP e TOTOX, DC e razão de DC, e entre o TOTOX e razão de DC.

Verificam-se também correlações fortes negativas entre a humidade e todos os outros métodos, com a exceção do DC (correlação média negativa para  $p \leq 0,05$ ).

Entre o ipA e DC e o TOTOX e DC há uma correlação média positiva.

### 3.10.7 Loção G

A amostra G contém diversos ingredientes com propriedades emolientes (betaína, palmitato de etilhexil, estearato de etilhexil, glicose, estearato de glicerol, óleo de semente de macadâmia, acetato de poliglicerila, manteiga de sementes de cacau), assim como antioxidantes, contendo ainda extrato natural de cacau.

Apesar da presença de ingredientes com propriedades antioxidantes (triglicerídeo caprílico/caprico, tocoferol), a amostra apresentou um elevado envelhecimento ao fim

dos seis meses, com destaque para os resultados elevados de ipA e TBARS entre o quinto e sexto meses, segundo a análise da Figura 3.18.

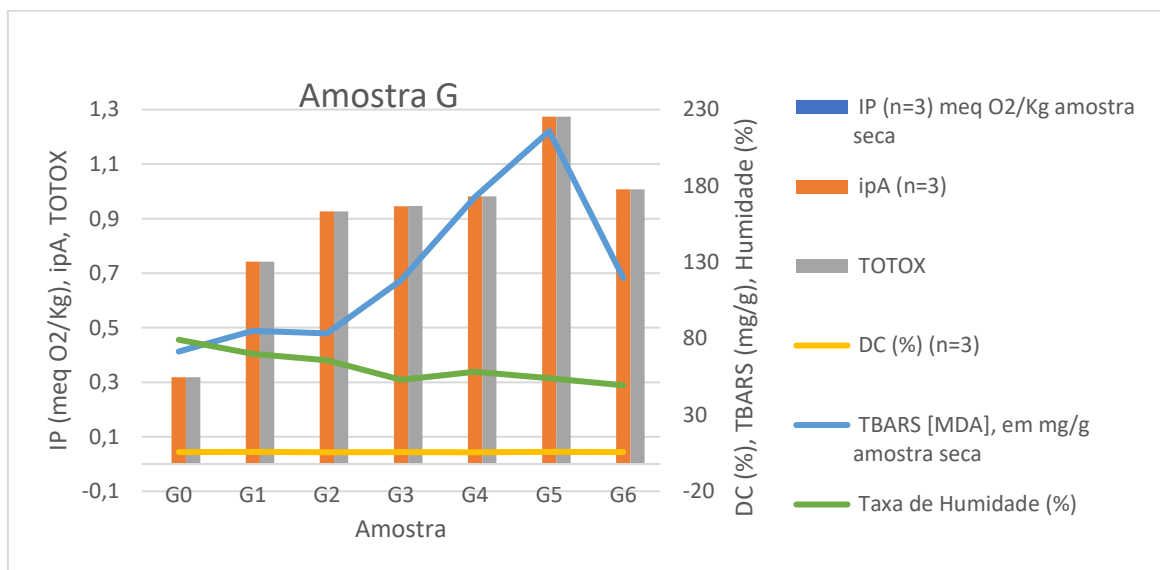


Figura 3.18- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra G.

Segundo a análise estatística da amostra G (Tabela G.7) existe correlação forte positiva entre o TBARS e ipA e TOTOX, e entre o ipA e TOTOX e a razão de DC, assim como entre o TOTOX e a razão de DC ( $p \leq 0,01$ ). Todas estas correlações indicam um aumento dos produtos de oxidação secundários.

Verificam-se também correlações fortes negativas entre a humidade e todos os outros métodos, com a exceção do DC (que não apresenta uma correlação significativa) e com o IP onde a correlação é média negativa ( $p \leq 0,05$ ). A correlação entre o IP e o DC também é média negativa.

### 3.10.8 Loção H

A amostra H tem na sua composição o extrato de baunilha, o que confere essencialmente propriedades aromáticas, e alguma proteção contra a oxidação lipídica.

Pela análise da Figura 3.19, verificou-se que esta apresenta um teor de envelhecimento (TOTOX) mediano em comparação com os resultados das outras amostras. Este resultado deve-se essencialmente aos resultados do teste de ipA e TBARS,

sendo que ambos apresentam o seu maior valor ao sexto mês e com previsão de aumento nos meses seguintes, caso o estudo fosse prolongado.

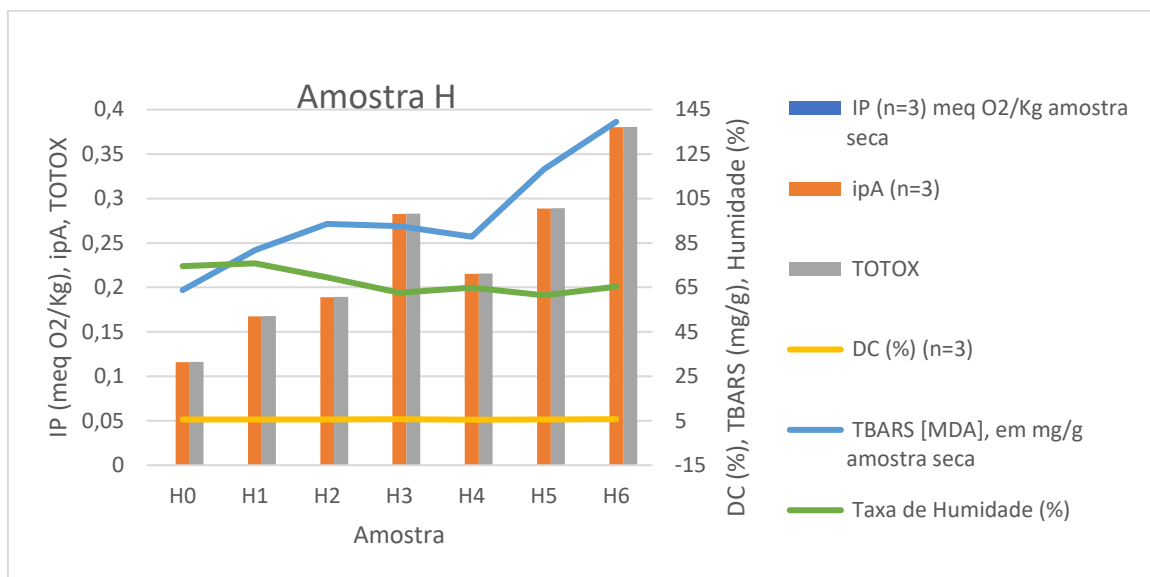


Figura 3.19- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra H.

Numa primeira análise a composição da amostra H apresenta ser bastante equilibrada, e completa, tendo presentes agentes humectantes, emolientes, hidratantes, parafinas, fragrâncias, antioxidantes, antibacterianos e antimicrobianos. Desta forma a sua complexidade dificulta a análise do impacto dos ingredientes.

Pela análise estatística da amostra H (Tabela G.8) existe correlação forte positiva entre o TBARS e IP e TOTOX, e entre o ipA e IP e TOTOX, assim como entre o IP e TOTOX ( $p \leq 0,01$ ). Estas correlações indicam que as duas reações de oxidação estão a decorrer em simultâneo, verificando-se um aumento tanto dos produtos de oxidação primários como secundários.

Já as correlações fortes negativas verificam-se entre o TBARS e humidade e entre a humidade e ipA, IP e TOTOX.

### 3.10.9 Loção I

A amostra I apresenta um comportamento semelhante à amostra G, no entanto com uma perda de teor de humidade mais acentuado e valor de TOTOX no sexto mês ligeiramente mais baixo, como se pode verificar pela análise da Figura 3.20.

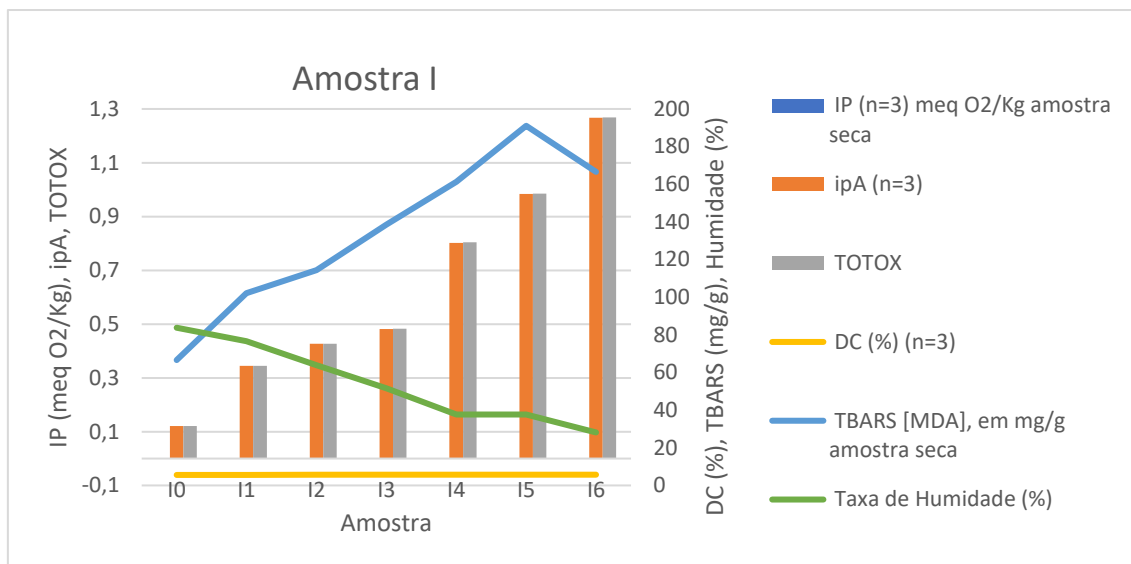


Figura 3.20- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra I.

Esta solução apresenta um elevado teor de ingredientes humectantes (glicol pentileno, sorbitol) a perda de humidade é notória ao longo do ensaio. O extrato natural presente é o extrato de óleo de amêndoa, que tem propriedades emolientes, mas que apesar de atuar também como antioxidante, os níveis de ipA e TOTOX aumentam linearmente com o tempo.

Pela análise estatística (Tabela G.9) existe correlação forte positiva entre o TBARS e ipA, IP, TOTOX e razão de DC. Assim como entre o ipA e TOTOX e razão de DC e ainda entre o TOTOX e a razão de DC ( $p \leq 0,01$ ). Estas correlações indicam que as duas reações de oxidação estão a decorrer em simultâneo, verificando-se um aumento tanto dos produtos de oxidação primários como secundários.

Por outro lado, as correlações fortes negativas verificam-se entre o TBARS e a humidade e entre a humidade e todos os outros métodos com a exceção do DC.

### 3.10.10 Loção J

Pela análise da Figura 3.21 verifica-se que a amostra J apresenta um pico de deteção de TBARS no primeiro mês de envelhecimento acelerado. Poderia pensar-se que logo no primeiro mês de envelhecimento já existem produtos de oxidação secundários a serem formados, no entanto, existe uma grande variedade de outros compostos (como lípidios oxidados, aldeídos saturados e insaturados, sacarose e ureia) que interferem no

método de TBARS, levando à sobrestimação da concentração de malonaldeído (Dasgupta & Klein, 2014).

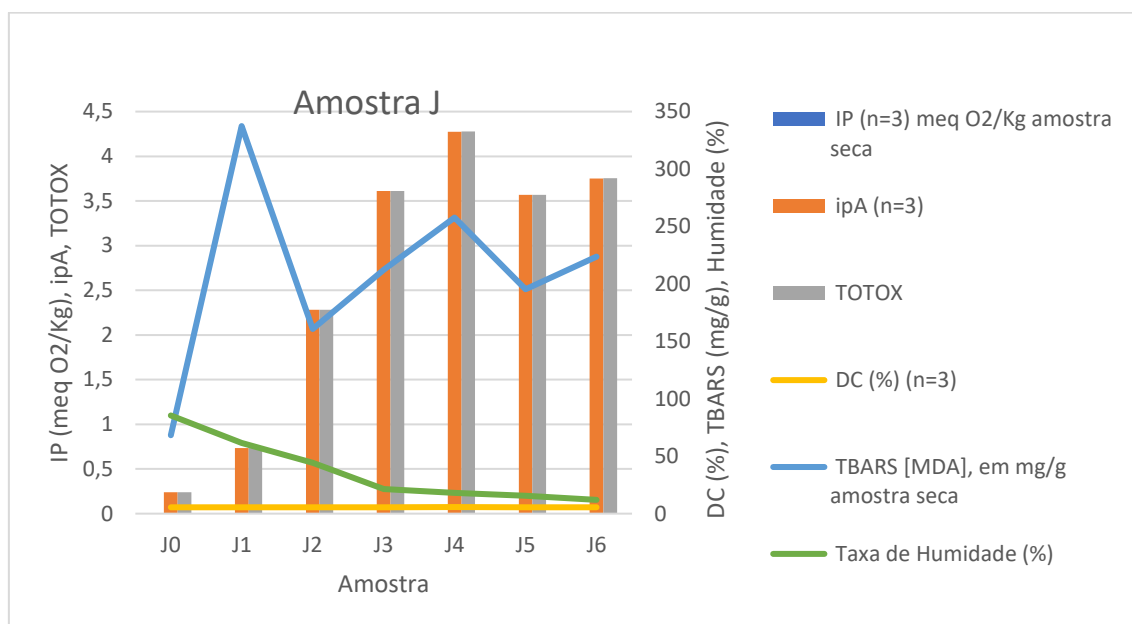


Figura 3.21- Resultados dos diversos ensaios realizados para a amostra J.

Por outro lado, os resultados de TBARS quando comparados com os de IP (que são da ordem dos  $4 \times 10^{-4}$  meq O<sub>2</sub>/Kg), levam a concluir que os produtos de oxidação secundários começaram a gerar-se logo no primeiro mês do estudo, ou seja ocorreu uma elevada degradação dos hidroperóxidos. Por outras palavras, verificou-se que esta amostra sofreu uma elevada extensão da oxidação lipídica.

A amostra J é a que apresenta maior valor de TOTOX ao fim dos seis meses, ao comparar este resultado com a sua composição, verifica-se que esta loção contém diversos ingredientes com propriedades emolientes (óleo de caroço de *Argânia spinosa*, manteiga de karité, estearato de glicerina), e antibacteriano (fenoxetanol).

A amostra contém como extrato natural principal o óleo de argão, sendo que este óleo possui um índice de iodo na gama dos 99 a 105 mg/100 g (Gracefruit Limited, 2019). A manteiga de karité qua também está presente, contém um índice de iodo de cerca de 70g/100mg (Okafor Joseph et al., 2017).

Como termo de comparação, verificamos que o óleo de soja contém um índice de iodo de cerca de 127 mg/100g e o óleo de girassol um índice de iodo de 260 mg/100g (Graça, C; 2010). Uma vez que quanto maior este índice maior é o potencial oxidativo do

óleo, pode-se concluir que o óleo de argão e a manteiga de karité apresentam um potencial oxidativo inferior a outros óleos também usados em fórmulas cosméticas.

Por outro lado, a amostra não contém ingredientes com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, o que pode ser a razão pela qual o valor de ipA aumentou significativamente no segundo mês do estudo. Concluindo-se assim que não só é importante ter em atenção aos ingredientes com elevado potencial oxidativo, como também aos ingredientes protetores ao desencadeamento das reações de oxidação.

A análise estatística da amostra J (Tabela G.10) mostra ainda que existe uma correlação forte positiva entre o ipA e IP, TOTOX, DC e razão de DC, assim como entre o IP e TOTOX, DC e razão de DC, e finalmente entre o TOTOX e DC e razão de DC e entre o DC e razão de DC para  $p \leq 0,01$ . Estas correlações indicam que as duas reações de oxidação estão a decorrer em simultâneo, verificando se um aumento tanto dos produtos de oxidação primários como secundários.

Por outro lado, a humidade apresenta correlações fortes negativas com todos os métodos ( $p \leq 0,01$ ).



## 4. Conclusões

Com o presente trabalho foi possível a avaliação e determinação da extensão do envelhecimento de loções corporais com diferentes formulações químicas.

Pela análise sensorial, conclui-se que o envelhecimento acelerado, auxiliado pela exposição das amostras a condições controladas de temperatura, promove alterações significativas do aspeto, textura e cor das amostras em estudo. Também se verificaram algumas alterações em relação ao odor (desenvolvimento de ranço), no entanto os resultados foram pouco significativos.

Verificou-se que a composição química das loções tem um papel fundamental no comportamento e extensão da oxidação lipídica. No entanto, a complexidade das amostras apresenta uma dificuldade quanto à determinação do efeito de ingredientes isolados. De forma geral verificou-se que a presença de aditivos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas auxiliam na proteção contra a oxidação lipídica e consequente envelhecimento do produto.

Por fim, foi verificado que a loção que apresentou uma extensão de oxidação lipídica mais significativa, foi a amostra J, tendo presente na sua composição o extrato de óleo de argão.

Em contrapartida, a amostra B, com extrato de Aloé Vera, e C, com extrato de frutos vermelhos, foram as duas loções corporais com valores de TOTOX mais baixos, tendo por isso sofrido menor oxidação lipídica durante os meses do estudo, em comparação com as demais amostras.

As amostras F e J são as que apresentam maior diferença entre o mês de abertura da loção corporal e o mês seis. Uma vez que o ensaio de TBARS está relacionado com os produtos secundários de oxidação, pode-se concluir que as amostras mencionadas são as que apresentam maior degradação de hidroperóxidos.

De forma geral verifica-se que a formação dos produtos secundários é bastante mais significativa em relação aos valores obtidos para a oxidação primária.

No entanto, a amostra G é a única que apresenta apenas correlações significativas para o aumento dos produtos de oxidação secundários, enquanto, que todas as outras amostras apresentam um aumento significativo de ambos os produtos provenientes da oxidação (primários e secundários).

Por outro lado, todas as outras amostras apresentam correlações fortes para ambas as reações de oxidação, sugerindo que elas estariam a decorrer em simultâneo.

Conclui-se que a loção corporal com maior extensão da oxidação lipídica foi a amostra J, uma vez que esta apresenta um valor total de oxidação (TOTOX) superior, 3,75. Por outro lado, as loções com menor extensão lipídica no final do estudo foram as amostras B e C com valores de TOTOX de 0,130 e 0,120, respetivamente.

## 5. Sugestões para Trabalho Futuro

Como proposta de melhoria para trabalhos futuros, seria particularmente interessante estender o período de envelhecimento acelerado, uma vez que seis meses são pouco representativos do tempo de vida útil de uma loção corporal. Tal foi constatado, pois no caso de algumas das amostras, estas ainda estariam a desenvolver produtos secundários de oxidação durante o sexto mês do estudo.

Como proposta para trabalhos futuros, seria também importante proceder à determinação dos compostos voláteis, recorrendo a métodos como a cromatografia gasosa de injeção direta ou por *headspace*. Os resultados desta análise poderiam ainda ser comparados com a avaliação organolética e ainda com a perda de massa de forma a validar os resultados obtidos.



## Referências

- Aelson Aloir Santana Brum, Lia Ferraz de Arruda, & Marisa Aparecida Bismara Regitano-d'Arce. (2009). *Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal*.
- Agregán, R., Munekata, P. E., Domínguez, R., Carballo, J., Franco, D., & Lorenzo, J. M. (2017). Proximate composition, phenolic content and in vitro antioxidant activity of aqueous extracts of the seaweeds *Ascophyllum nodosum*, *Bifurcaria bifurcata* and *Fucus vesiculosus*. Effect of addition of the extracts on the oxidative stability of canola oil under accelerated storage conditions. *Food Research International*, 99, 986–994. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.009>
- Akoglu, H. (2018). User's guide to correlation coefficients. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 18(3), 91. <https://doi.org/10.1016/J.TJEM.2018.08.001>
- Andrewes, P., Bullock, S., Turnbull, R., & Coolbear, T. (2021). Chemical instrumental analysis versus human evaluation to measure sensory properties of dairy products: What is fit for purpose? *International Dairy Journal*, 121. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2021.105098>
- ASTM International. (2021). *Standard Guide for Accelerated Aging of Sterile Barrier Systems and Medical Devices*. <https://www.astm.org/f1980-21.html>
- Barbaud, A., & Lafforgue, C. (2021). Risks associated with cosmetic ingredients. In *Annales de Dermatologie et de Venereologie* (Vol. 148, Issue 2, pp. 77–93). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2020.04.027>
- Barriuso, B., Astiasarán, I., & Ansorena, D. (2008). *A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: A challenging task*.
- Bom, S., Jorge, J., Ribeiro, H. M., & Marto, J. (2019). A step forward on sustainability in the cosmetics industry: A review. In *Journal of Cleaner Production* (Vol. 225, pp. 270–290). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.255>
- Chen, W., Liu, Y., Song, L., Sommerfeld, M., & Hu, Q. (2020). Automated accelerated solvent extraction method for total lipid analysis of microalgae. *Algal Research*, 51. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102080>
- Cosmetics Info. (2022). *Shelf Life*. <https://www.cosmeticsinfo.org/whats-in-my-products/shelf-life/>
- Damiani, E., Astolfi, P., Giesinger, J., Ehlis, T., Herzog, B., Greci, L., & Baschong, W. (2010). Assessment of the photo-degradation of UV-filters and radical-induced peroxidation in cosmetic sunscreen formulations. [Http://Dx.Doi.Org/10.3109/10715760903486065](http://Dx.Doi.Org/10.3109/10715760903486065), 44(3), 304–312. <https://doi.org/10.3109/10715760903486065>
- Dasgupta, A., & Klein, K. (2014). Methods for Measuring Oxidative Stress in the Laboratory. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*, 19–40. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405872-9.00002-1>

- Dicionário de Ingredientes. (2019). *Methylparaben (Metilparabeno)*.  
<https://www.entreapele.com.br/post/2018/03/06/methylparaben-metilparabeno>
- Dionisio, K. L., Phillips, K., Price, P. S., Grulke, C. M., Williams, A., Biryol, D., Hong, T., & Isaacs, K. K. (2018). Data Descriptor: The Chemical and Products Database, a resource for exposure-relevant data on chemicals in consumer products. *Scientific Data*, 5. <https://doi.org/10.1038/SDATA.2018.125>
- Dubuisson, P., Picard, C., Grisel, M., & Savary, G. (2018). How does composition influence the texture of cosmetic emulsions? *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 536, 38–46.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.08.001>
- Edenilson dos S. Niculau, Péricles B. Alves, Paulo Cesar de L. Nogueira, & Valéria Regina de S. Moraes. (2013). *Atividade inseticida de óleos essenciais*.
- EUROLAB. (2017). *Teste de Estabilidade*. <https://www.eurolab.com.tr/pt/sektorel-test-ve-analizler/endustriyel-testler/raf-omru-stabilite-testi>
- Graça, C. (2010). *Determinação do índice de iodo a partir da composição dos óleos*. Universidade de Aveiro.
- Gracefruit Limited. (2019). *Certificate of Analysis*.  
<https://www.gracefruit.com/uploads/attachments/product/414/Argan%20Oil%200004604.pdf>
- Hornero-Méndez, D., Pérez-Gálvez, A., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2001). A rapid spectrophotometric method for the determination of peroxide value in food lipids with high carotenoid content. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(11), 1151–1155. <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0404-y>
- International Organization of Standardization (ISO). (2001). *ISO 4120:2021 - Sensory analysis — Methodology*. <https://www.iso.org/standard/76666.html>
- International Organization of Standardization (ISO). (2006). *ISO 3976:2006 - Milk fat — Determination of peroxide value*. <https://www.iso.org/standard/38685.html>
- Isenmann, A. (2019). *Princípios químicos em produtos cosméticos e sanitários*.
- Kim, S., & Lee, T. G. (2018). Stabilization of L-ascorbic acid in cosmetic emulsions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 57, 193–198.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.08.023>
- Kusano, C., & Ferrari, B. (1998). Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista de Nutrição*, 11(1), 3–14. <https://doi.org/10.1590/S1415-52731998000100001>
- Mamusa, M., Resta, C., Sofroniou, C., & Baglioni, P. (2021). Encapsulation of volatile compounds in liquid media: Fragrances, flavors, and essential oils in commercial formulations. *Advances in Colloid and Interface Science*, 298.  
<https://doi.org/10.1016/J.CIS.2021.102544>

- Oxford Biomedical Research. (2013). *2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)*. [www.oxfordbiomed.com](http://www.oxfordbiomed.com)
- Robert Tisserand, & Rodney Young. (2014). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. [https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=DbEKAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=essential+oil+safety&ots=jy9uE6yTFn&sig=QOjzJ35ctBh\\_EO0YU8vPXZmmgI&redir\\_esc=y#v=onepage&q=essential%20oil%20safety&f=false](https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=DbEKAQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=essential+oil+safety&ots=jy9uE6yTFn&sig=QOjzJ35ctBh_EO0YU8vPXZmmgI&redir_esc=y#v=onepage&q=essential%20oil%20safety&f=false)
- Schaich, K. M. (2005). Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. <https://doi.org/10.1002/047167849X.BIO067>
- Semb, T. N., & Kristinova, V. (2012). Analytical Methods for Determination of the Oxidative Status in Oils. *113*. <https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/handle/11250/245799>
- Shurson, G. C., Kerr, B. J., & Hanson, A. R. (2015). Evaluating the quality of feed fats and oils and their effects on pig growth performance. In *Journal of Animal Science and Biotechnology* (Vol. 6, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0005-4>
- Silva, F., Fernanda, M., Borges, M., & Ferreira, M. (1999). *Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante*. 22(1).
- Sousa, I., Domingues, V., Ramalhosa, M., & Soares, C. (2020). *Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica*.
- The International Fragrance Association (IFRA). (2022). *Index of IFRA Standards-50th Amendment*.
- Thomsen, B., Raagaard, Taylor, R., Madsen, R., Hyldig, G., Blenkiron, P., & Jacobsen, C. (2018). *General rights Investigation of Lipid Oxidation in the Raw Materials of a Topical Skin Formulation: A Topical Skin Formulation Containing a High Lipid Content*. <https://doi.org/10.1002/aocs.12015>
- Unilever. (2018). *Fenoxietanol*. <https://wiop.unilever-fima.com/phenoxyethanol/>
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2022). *Shelf Life and Expiration Dating of Cosmetics*. <https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetics-labeling/shelf-life-and-expiration-dating-cosmetics>
- Varka, E. M., & Karapantsios, T. D. (2011). Global versus local dynamics during destabilization of eco-friendly cosmetic emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 391(1–3), 195–200. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.08.003>
- Venkataramani, D., Tsulaia, A., & Amin, S. (2020). Fundamentals and applications of particle stabilized emulsions in cosmetic formulations. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 283). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102234>
- Williamson, K. S., Hensley, K., & Floyd, R. A. (2003). Fluorometric and Colorimetric Assessment of Thiobarbituric Acid-Reactive Lipid Aldehydes in Biological

Matrices. *Methods in Biological Oxidative Stress*, 57–65.

<https://doi.org/10.1385/1-59259-424-7:57>

- Ye, L., Harris, E., Budge, S. M., & Sullivan Ritter, J. (2020). Flavors' Decreasing Contribution to p-Anisidine Value over Shelf Life May Invalidate the Current Recommended Protocol for Flavored Fish Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97(12), 1335–1341. <https://doi.org/10.1002/AOCS.12435>
- Yorgancioglu, A., & Bayramoglu, E. E. (2013). Production of cosmetic purpose collagen containing antimicrobial emulsion with certain essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 378–382. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.013>
- Zhai, H., Choi, M. J., Arens-Corell, M., Neudecker, B. A., & Maibach, H. I. (2003). A rapid, accurate, and facile method to quantify the antioxidative capacity of topical formulations. *Skin Research and Technology*, 9(3), 254–256. <https://doi.org/10.1034/J.1600-0846.2003.00032.X>

## Anexo A. Categorização dos ingredientes

### A.1 Emulsões em Estudo

Nesta secção é apresentada uma descrição dos constituintes e respetivas funções dos ingredientes presentes nos rótulos de cada loção corporal em análise. Na Tabela A.1 é possível consultar a quantidade presente de cada ingrediente relativamente ao número total de ingredientes para cada loção corporal em estudo.

Tabela A.1- Estudo da avaliação dos ingredientes que podem ter impacto no envelhecimento das loções corporais.

Ingrediente	Categoria	Função	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1,2-Hexanediol	Veículo (Base)	Emoliente				(10/42)						
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	Agente estabilizante	Emulsificante				(11/42)	(8/31)	(9/43)				(15/17)
Alcohol Denat	Agente estabilizante	Modificador de textura	(4/17)	(3/16)								
Allantoin	Aditivo (bio)ativo	Hidratante							(17/38)	(13/44)		
Aloe Barbadensis Leaf Juice Powder	Aditivo (bio)ativo	Hidratante		(10/16)								
Alpha-Isomethyl Ionone	Aditivo organolético	Fragrância			(21/22)			(35/43)			(19/29)	
Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer	Aditivo organolético	Modificador de textura							(14/38)	(14/44)		
Aqua	Aditivo (bio)ativo	Hidratante	(1/17)	(1/16)	(1/22)	(1/42)	(1/31)	(1/43)	(1/38)	(1/44)	(1/29)	(1/17)
Argania Spinosa Kernel Oil	Veículo (Base)	Emoliente										(8/17)
Arginine	Aditivo (bio)ativo	Aminoácido								(15/44)		
Ascorbic Acid	Aditivo (bio)ativo	Vitamina							(34/38)	(16/44)		
Ascorbyl Palmitate	Aditivo (bio)ativo	Vitamina							(33/38)	(14/44)		
Benzophenone-4	Aditivo (bio)ativo	Filtro UV			(15/22)							

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Benzyl Alcohol	Agente estabilizante	Modificador de textura	(15/17)	(15/16)	(18/22)			(36/43)				
Benzyl Salicylate	Aditivo organolético	Fragrância						(37/43)		(41/44)	(20/29)	
Betaine	Veículo (Base)	Emoliente							(13/38)	(18/44)		
Bisabolol	Aditivo organolético	Fragrância								(19/44)		
Butylene Glycol	Agente estabilizante	Modificador de textura						(10/43)				
Butyrospermum Parkii (Shea Butter)	Veículo (Base)	Emoliente										(9/17)
Calendula Officinalis Flower Extract	Aditivo (bio)ativo	Antioxidante					(9/31)					
Caprylic/Capric Triglyceride	Aditivo (bio)ativo	Antioxidante				(3/42)	(4/31)		(11/38)	(20/44)		
Carbomer	Agente estabilizante	Emulsificante	(9/17)			(12/42)	(10/31)				(15/29)	
Cetearyl Alcohol	Aditivo organolético	Modificador de textura	(6/17)	(8/16)	(5/22)				(5/38)	(4/44)	(3/29)	(7/17)
Cetearyl Ethylhexanoate	Agente estabilizante	Emulsificante										(3/17)
Cetyl Alcohol	Agente estabilizante	Emulsificante				(13/42)	(11/31)	(11/43)				
CI 17200	Aditivo organolético	Pigmento			(22/22)							
CI 77891	Aditivo organolético	Pigmento				(42/42)	(31/31)					
Citral	Aditivo organolético	Fragrância			(20/22)							
Citric Acid (AHA)	Aditivo (bio)ativo	Aminoácido		(13/16)					(36/38)	(21/44)		
Citronellol	Aditivo organolético	Fragrância	(16/17)		(17/22)		(27/31)				(21/29)	
Coco-Caprylate/Caprato	Veículo (Base)	Emoliente		(4/16)								
Cocos Nucifera Oil	Veículo (Base)	Emoliente				(14/42)						
Collagen Amino Acids (Colagénio)	Aditivo (bio)ativo	Aminoácido				(15/42)						
Coumarin	Aditivo organolético	Fragrância			(19/22)	(41/42)		(38/43)				

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Cyclopentasiloxane	Veículo (Base)	Humectante				(16/42)	(12/31)	(12/43)				
Decylene Glycol	Veículo (Base)	Emoliente				(17/42)						
Dicaprylyl Ether	Veículo (Base)	Emoliente		(6/16)								
Dimethicone	Veículo (Base)	Parafina	(8/17)		(8/22)	(4/42)	(5/31)	(7/43)	(7/38)	(7/44)	(10/29)	(12/17)
Dimethiconol	Aditivo (bio)ativo	Hidratante						(13/43)				
Dipropyl Heptyl Carbonate	Aditivo (bio)ativo	Filtro UV								(6/44)		
Disodium EDTA	Aditivo organolético	Modificador de textura				(18/42)	(13/31)	(14/43)		(22/44)	(16/29)	
D-Limonene	Aditivo organolético	Fragrância								(42/44)		
Ethylhexyl Cocoate	Veículo (Base)	Emoliente						(5/43)				
Ethylhexyl Palmitate	Veículo (Base)	Emoliente							(4/38)	(3/44)		
Ethylhexyl Stearate	Veículo (Base)	Emoliente							(2/38)	(8/44)		
Ethylhexylglycerin	Agente estabilizante	Modificador de textura		(14/16)	(14/22)						(28/29)	
Eugenol	Agente estabilizante	Anti-bacteriano								(43/44)	(24/29)	
Fructose	Aditivo (bio)ativo	Apaziguante							(23/38)	(23/44)		
Geraniol	Aditivo organolético	Fragrância					(28/31)	(39/43)			(23/29)	
Glucose	Veículo (Base)	Emoliente							(22/38)	(24/44)		
Glycerin	Agente estabilizante	Modificador de textura	(2/17)	(2/16)	(4/22)	(2/42)	(2/31)	(2/43)	(3/38)	(2/44)	(5/29)	(2/17)
Glyceryl Glucoside	Aditivo (bio)ativo	Hidratante			(9/22)							
Glyceryl Laurate	Aditivo organolético	Modificador de textura							(19/38)	(25/44)		
Glyceryl Stearate	Veículo (Base)	Emoliente				(19/42)	(14/31)	(15/43)	(8/36)	(10/44)		(5/17)
Glyceryl Stearate Citrate	Veículo (Base)	Parafina			(7/22)				(6/38)			
Glyceryl Stearate SE	Agente estabilizante	Emulsificante	(5/17)	(5/16)								
Glycine Soja Oil (soybean oil)	Veículo (Base)	Emoliente					(15/31)					
Glycol Stearate	Agente estabilizante	Emulsificante				(5/42)	(6/31)	(8/43)				

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Helianthus Annuus Seed Oil (sunflower oil)	Veículo (Base)	Emoliente			(20/42)	(16/31)	(16/43)				
Hexyl Cinnamal	Aditivo organolético	Fragrância					(40/43)			(22/29)	
Hydroxycitronellal	Aditivo organolético	Fragrância					(41/43)			(25/29)	
Hydroxypropyl Starch Phosphate	Agente estabilizante	Emulsificante		(7/16)							
Isoeugenol	Aditivo organolético	Fragrância								(27/29)	
Isohexadecane	Aditivo organolético	Modificador de textura					(17/43)				
Isomerized Linoleic Acid	Veículo (Base)	Emoliente			(21/42)	(17/31)	(18/43)				
Isopropyl Myristate	Aditivo organolético	Modificador de textura							(9/44)		
Isopropyl Palmitate	Veículo (Base)	Emoliente	(3/17)	(3/22)						(4/29)	
Lactic Acid	Aditivo (bio)ativo	Aminoácido			(22/42)		(19/43)				
Limonene	Aditivo organolético	Fragrância	(14/17)	(16/22)		(29/31)	(42/43)			(26/29)	
Linalool	Aditivo organolético	Fragrância	(13/17)			(30/31)	(43/43)		(44/44)	(18/29)	
Macadamia Ternifolia Seed Oil	Veículo (Base)	Emoliente						(15/38)			
Maltose	Aditivo organolético	Modificador de textura						(25/38)	(26/44)		
Maris Sal (Sal marinho)	Aditivo	Anti-inflamatório	(7/17)	(10/22)							
Methylparaben	Agente estabilizante	Anti-bacteriano		(13/22)	(23/42)	(18/31)	(20/43)				
Nelumbo Nucifera Flower Extract	Aditivo (bio)ativo	Hidratante					(21/43)				
Octyldodecanol	Aditivo organolético	Modificador de textura					(4/43)				
<i>Oryza sativa</i> Bran Extract	Veículo (Base)	Emoliente					(22/43)				
<i>Oryza sativa</i> Germ Oil	Veículo (Base)	Emoliente					(23/43)				
Palmitic Acid	Aditivo organolético	Modificador de textura			(8/42)						
Panthenol	Aditivo (bio)ativo	Apaziguante						(12/38)		(8/29)	

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Paraffinum Liquidum	Veículo (Base)	Parafina			(2/22)						(2/29)	(4/17)
Parfum	Aditivo organolético	Fragrância	(17/17)	(16/16)	(21/22)	(24/42)	(19/31)	(24/43)	(31/38)	(27/44)	(14/29)	(13/17)
PEG-100 Stearate	Aditivo organolético	Modificador de textura				(7/42)	(7/31)		(9/38)	(11/44)		(6/17)
PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	Veículo (Base)	Emoliente				(25/42)		(25/43)				
PEG-8	Agente estabilizante	Modificador de textura								(28/44)		
Pentaerythrityl Distearate	Aditivo organolético	Modificador de textura							(10/38)	(12/44)		
Pentylene Glycol	Veículo (Base)	Humectante				(26/42)			(18/38)	(29/44)	(13/29)	
Pérsea Gratissima Oil	Veículo (Base)	Emoliente					(20/31)					
Petrolatum	Veículo (Base)	Parafina				(9/42)	(21/31)	(6/43)			(29/29)	
Phenoxyethanol	Agente estabilizante	Anti-bacteriano	(12/17)		(12/22)	(27/42)	(22/31)	(26/43)	(38/38)	(39/44)		(10/17)
Polyglyceryl Acetate	Veículo (Base)	Emoliente							(21/38)			
Polyglyceryl-2 Seq Isostearate	Agente estabilizante	Emulsificante								(30/44)		
Polysorbate 80	Agente estabilizante	Emulsificante						(27/43)				
Potassium Lactate	Veículo (Base)	Emoliente				(28/42)						
Potassium Sorbate	Agente estabilizante	Anti-microbiano				(29/42)				(40/44)		
Propylene Glycol	Aditivo (bio)ativo	Hidratante				(30/42)						
Propylparaben	Agente estabilizante	Anti-microbiano				(31/42)	(23/31)	(28/43)				
Prunus Amygdalus Dulcis Oil	Veículo (Base)	Emoliente				(32/42)					(6/29)	
Prunus Amygdalus Dulcis Seed Extract	Veículo (Base)	Emoliente				(33/42)						
Sine Adipe Lac	Aditivo (bio)ativo	Apaziguante				(34/42)		(29/43)				
Sodium Acrylate/Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer	Aditivo organolético	Modificador de textura						(30/43)				

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Sodium Carbomer	Aditivo organolético	Modificador de textura			(11/22)							
Sodium Cetearyl	Aditivo organolético	Modificador de textura	(11/17)									
Sodium Cetearyl Sulfate	Aditivo organolético	Modificador de textura		(12/16)								
Sodium Chloride	Aditivo organolético	Modificador de textura						(27/38)	(31/44)			
Sodium Hyaluronate	Aditivo (bio)ativo	Hidratante							(32/44)		(17/17)	
Sodium Hydroxide	Aditivo organolético	Modificador de textura	(10/17)					(37/38)	(38/44)			
Sodium Lactate	Aditivo organolético	Modificador de textura			(35/42)			(28/38)	(33/44)			
Sodium PCA	Aditivo (bio)ativo	Hidratante						(26/38)	(34/44)			
Sorbitan Caprylate	Aditivo (bio)ativo	Apaziguante									(16/17)	
Sorbitan Monooleate	Agente estabilizante	Emulsificante						(31/43)				
Sorbitan Stearate	Agente estabilizante	Emulsificante								(11/29)		
Sorbitol	Veículo (Base)	Humectante								(7/29)		
Stearamide AMP	Aditivo organolético	Modificador de textura				(36/42)	(24/31)	(32/43)				
Steareth-21	Aditivo organolético	Modificador de textura								(9/29)		
Stearic Acid	Agente estabilizante	Emulsificante				(6/42)	(3/31)	(3/43)				
Tetrasodium EDTA	Aditivo organolético	Modificador de textura							(35/38)			
Theobroma Cacao Seed Butter	Veículo (Base)	Emoliente							(16/38)			
Tocopherol	Aditivo (bio)ativo	Antioxidante		(11/16)					(32/38)	(35/44)		
Tocopheryl Acetate	Aditivo (bio)ativo	Vitamina				(37/42)	(25/31)				(17/29)	(11/17)
Tocopheryl Fruit Extract	Aditivo (bio)ativo	Antioxidante								(36/44)		
Trehalose	Aditivo organolético	Modificador de textura										
Trideceth-9	Aditivo organolético	Modificador de textura				(38/42)		(33/43)				

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Triethanolamine	Aditivo organolético	Modificador de textura				(39/42)	(26/31)	(34/43)			(12/29)	
Urea	Veículo (Base)	Humectante				(40/42)			(24/38)			
Vegetable Oil	Veículo (Base)	Emoliente		(9/16)								
Xanthan Gum	Aditivo organolético	Modificador de textura							(20/38)	(37/44)		(14/17)



## A.2 Amostragem e Preparação

A Tabela A.2 apresenta a massa pesada, em gramas, para cada amostra de loção corporal, para todos os tempos em análise, assim como a avaliação da massa perdida durante o envelhecimento, em gramas.

*Tabela A.2- Registo da massa inicial pesada, em gramas, para cada amostra de loção corporal, assim como massa pesada após tempo de envelhecimento respetivo, em gramas, e registo da massa perdida durante o envelhecimento, em gramas.*

<b>Amostra</b>	<b>Massa loção corporal (g)</b>	<b>Massa amostra após envelhecimento (g)</b>	<b>Massa perdida durante envelhecimento (g)</b>	<b>% massa perdida</b>
A0	12,8685	-	-	-
A1	13,2490	5,24526	8,00369	62%
A2	13,0450	2,89963	10,1453	79%
A3	13,0151	2,47176	10,5433	82%
A4	12,8537	2,34584	10,5078	82%
A5	13,0736	2,59371	10,4798	81%
A6	13,4409	2,41107	11,0298	86%
B0	12,5438	-	-	-
B1	13,7109	11,7828	1,92813	15%
B2	12,8304	9,77935	3,05108	24%
B3	13,4517	10,0734	3,37827	26%
B4	12,7102	9,82811	2,88208	22%
B5	12,9785	8,31366	4,66482	36%
B6	13,4679	8,92425	4,54367	35%
C0	12,9352	-	-	-
C1	12,9440	10,9176	2,02640	16%
C2	13,0824	9,78191	3,30048	26%
C3	13,3938	10,5064	2,88746	22%
C4	12,9725	9,94352	3,02893	24%
C5	13,5411	9,92678	3,61436	28%
C6	13,2500	9,84857	3,40140	26%
D0	13,6584	-	-	-
D1	13,2868	6,15053	7,13630	55%
D2	13,5632	4,33227	9,23088	72%
D3	13,9117	4,38306	9,52865	74%
D4	14,3373	4,54406	9,79322	76%
D5	14,3888	4,54111	9,84767	77%
D6	13,8197	4,37074	9,44900	73%
E0	14,0674	-	-	-
E1	13,8436	6,36500	7,47858	58%
E2	14,4025	4,43323	9,96928	77%
E3	14,6048	4,41220	10,1926	79%
E4	14,8914	4,54156	10,3499	80%
E5	14,0365	4,25111	9,78534	76%
E6	14,0870	4,27456	9,81244	76%
F0	13,9212	-	-	-
F1	13,4480	7,46400	5,98395	47%
F2	13,8385	5,96504	7,87343	61%
F3	13,6328	4,91920	8,71363	68%
F4	13,6232	3,98370	9,63953	75%

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

<b>F5</b>	13,8993	3,60140	10,2979	80%
<b>F6</b>	13,8062	3,00832	10,7978	84%
<b>G0</b>	13,6047	-	-	-
<b>G1</b>	13,5633	10,4310	3,12518	24%
<b>G2</b>	13,6489	9,17226	4,47659	35%
<b>G3</b>	13,7075	7,55490	6,15261	48%
<b>G4</b>	14,1226	7,10889	7,01373	55%
<b>G5</b>	14,0727	6,52691	7,54581	59%
<b>G6</b>	14,3068	6,25682	8,04995	63%
<b>H0</b>	13,9684	-	-	-
<b>H1</b>	14,5695	11,3407	3,22882	25%
<b>H2</b>	14,6913	9,94159	4,74974	37%
<b>H3</b>	13,5586	7,36485	6,19370	48%
<b>H4</b>	14,7969	8,27746	6,51943	51%
<b>H5</b>	14,7975	6,91273	7,88474	61%
<b>H6</b>	14,0074	5,79668	8,21074	64%
<b>I0</b>	14,0329	-	-	-
<b>I1</b>	13,7629	8,56892	5,19398	40%
<b>I2</b>	14,5672	6,65943	7,90775	61%
<b>I3</b>	14,6263	5,13103	9,49525	74%
<b>I4</b>	14,1476	4,17894	9,96863	77%
<b>I5</b>	14,3297	3,78012	10,5496	82%
<b>I6</b>	14,2490	3,23974	11,0093	86%
<b>J0</b>	13,3803	-	-	-
<b>J1</b>	13,6169	5,65620	7,96068	62%
<b>J2</b>	13,4477	3,74545	9,70226	75%
<b>J3</b>	13,1905	2,72718	10,4633	81%
<b>J4</b>	13,4440	2,65167	10,7923	84%
<b>J5</b>	13,3721	2,54166	10,8305	84%
<b>J6</b>	13,1362	2,44433	10,6919	83%

## Anexo B. Análise Sensorial Após Período de Oxidação

No Anexo B.1 é possível consultar os resultados obtidos para cada loção após o período de oxidação de 6 meses.

Na Tabela B.1 podem ser consultados e comparadas as propriedades organolépticas de cada loção relativas ao tempo zero.

Na Tabela B.2 pode-se consultar a evolução das propriedades organolépticas e perda de massa ao longo dos seis meses.

A escala de perda de massa considerada foi a seguinte:

- Perda de massa entre 0 a 3 gramas – definido como “Pouco”
- Perda de massa entre 4 a 6 gramas – definido como “Médio”
- Perda de massa superior a 7 gramas – definido como “Elevado”

Tabela B.1- Tabela Comparativa das Propriedades Organolépticas no Tempo Zero.

Amostra	Fragrância	Cor	Aspetto	Leitoso	Líquido	Aveludado	Cremoso	Absorção	Empacotamento	Registo Fotográfico
A0	Leve	Branco	Translúcido	X	X			Rápida	Fácil	
B0	Leve	Branco	Translúcido	X		X		Normal	Fácil	
C0	Intenso	Rosa pálido	Translúcido	X		X		Normal	Difícil	
D0	Intenso	Branco	Opaco brilhante	X		X		Normal	Difícil	

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)






<b>E0</b>	Presente	Branco	Opaco brilhante	X			X		Normal	Difícil	
<b>F0</b>	Intenso	Ligeiramente Rosa pálido	Opaco brilhante	X				X	Normal	Muito difícil (Bolhas)	
<b>G0</b>	Intenso	Branco	Opaco brilhante	X				X	Normal	Muito difícil (Bolhas)	
<b>H0</b>	Leve	Branco	Opaco brilhante	X				X	Normal	Muito difícil (Bolhas)	
<b>I0</b>	Intenso	Branco	Opaco brilhante	X	X			X	Normal	Fácil (Bolhas pequenas)	
<b>J0</b>	Intenso	Branco	Translúcido	X	X					Rápida	

Tabela B.2- Tabela com evolução das propriedades organolépticas ao longo do tempo.

<i>Amostra</i>	<i>Perda de Massa (Qualitativa)</i>	<i>Fragrância</i>	<i>Nº fases</i>	<i>Branco</i>	<i>Bege</i>	<i>Rosa</i>	<i>Aspetto</i>	<i>Leitoso</i>	<i>Líquido</i>	<i>Aveludado</i>	<i>Cremoso</i>	<i>Gel</i>	<i>Bolhas</i>
<i>A1</i>	Elevado	Leve	1	X			Semi-Translúcido		X				X
<i>B1</i>	Pouco	Leve	4	X			Translúcido	X	X		X	X	
<i>C1</i>	Pouco	Intenso	4			X	Translúcido	X	X		X	X	
<i>D1</i>	Elevado	Intenso	2	X			Opaco		X		X		X
<i>E1</i>	Elevado	Leve	3	X			Opaco		X		X		X
<i>F1</i>	Médio	Leve	3	X	X		Opaco				X	X	
<i>G1</i>	Pouco	Imperceptível	2	X			Opaco				X	X	
<i>H1</i>	Pouco	Leve	2	X			Opaco				X	X	

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

<i>I1</i>	Médio	Presente	3	X		Semi-Translúcido			X	X
<i>J1</i>	Elevado	Impercetível	3	X	X	Semi-Translúcido			X	X
<i>A2</i>	Elevado	Impercetível	2		X	Tranlúcido	X	X		X
<i>B2</i>	Pouco	Leve	3	X	X	Semi-Translúcido		X		X
<i>C2</i>	Pouco	Leve	4	X	X	Opaco		X	X	X
<i>D2</i>	Elevado	Leve	2		X	Opaco			X	X
<i>E2</i>	Elevado	Impercetível	3		X	Opaco			X	X
<i>F2</i>	Elevado	Leve	3		X	Translúcido	X			
<i>G2</i>	Médio	Impercetível	3	X	X	Semi-Translúcido	X			X
<i>H2</i>	Médio	Leve	2	X		Opaco			X	X
<i>I2</i>	Elevado	Leve	2	X		Semi-Translúcido			X	X
<i>J2</i>	Elevado	Impercetível	2		X	Opaco			X	X
<i>A3</i>	Elevado	Leve	2	X	X	Translúcido				X
<i>B3</i>	Pouco	Presente	4	X	X	Translúcido		X	X	X
<i>C3</i>	Pouco	Leve	4	X	X	Translúcido		X	X	X
<i>D3</i>	Elevado	Presente	1		X	Opaco			X	X
<i>E3</i>	Elevado	Impercetível	1		X	Opaco			X	X
<i>F3</i>	Elevado	Impercetível	2		X	Opaco/Semi- Translúcido			X	X
<i>G3</i>	Médio	Impercetível	3	X		Translúcido			X	X
<i>H3</i>	Médio	Impercetível	3		X	Translúcido			X	X
<i>I3</i>	Elevado	Impercetível	2	X	X	Semi-Translúcido			X	X
<i>J3</i>	Elevado	Impercetível	2	X	X	Opaco			X	X
<i>A4</i>	Elevado	Ranço muito leve	2	X	X	Translúcido		X		X
<i>B4</i>	Pouco	Ranço muito leve	4	X	X	Semi-Translúcido		X	X	X

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

<i>C4</i>	Pouco	Impercetível	3	X		X	Opaco/Semi- Translúcido	X	X	X
<i>D4</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	X
<i>E4</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	X
<i>F4</i>	Elevado	Ranço muito leve	1		X		Opaco		X	X
<i>G4</i>	Elevado	Impercetível	3		X		Opaco/Translúcido	X	X	X
<i>H4</i>	Elevado	Ranço muito leve	4	X	X		Opaco/Translúcido	X	X	X
<i>I4</i>	Elevado	Ranço muito leve	1	X	X		Semi-Translúcido		X	
<i>J4</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	
<i>A5</i>	Elevado	Ranço muito leve	2	X	X		Translúcido			X
<i>B5</i>	Elevado	Ranço muito leve	3	X	X		Opaco/Semi- Translúcido	X	X	X
<i>C5</i>	Elevado	Impercetível	3	X	X	X	Opaco/Semi- Translúcido	X	X	X
<i>D5</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	X
<i>E5</i>	Elevado	Ranço muito leve	1		X		Opaco		X	X
<i>F5</i>	Médio	Ranço muito leve	1		X		Opaco		X	X
<i>G5</i>	Médio	Impercetível	3		X		Opaco/Translúcido	X	X	X
<i>H5</i>	Elevado	Impercetível	3		X		Opaco/Translúcido	X	X	X
<i>I5</i>	Elevado	Impercetível	1	X	X		Opaco		X	
<i>J5</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	X

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

<i>A6</i>	Elevado	Ranço muito leve	2	X	X		Translúcido			X
<i>B6</i>	Elevado	Ranço muito leve	3	X	X		Opaco/Semi-Translúcido	X	X	X
<i>C6</i>	Elevado	Impercetível	3	X	X	X	Opaco/Semi-Translúcido	X	X	X
<i>D6</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	X
<i>E6</i>	Elevado	Ranço muito leve	1		X		Opaco		X	X
<i>F6</i>	Médio	Ranço muito leve	1		X		Opaco		X	X
<i>G6</i>	Médio	Impercetível	3		X		Opaco/Translúcido	X	X	X
<i>H6</i>	Elevado	Impercetível	3		X		Opaco/Translúcido	X	X	X
<i>I6</i>	Elevado	Impercetível	1	X	X		Opaco		X	
<i>J6</i>	Elevado	Impercetível	1		X		Opaco		X	X

## B.1 Análise Sensorial das Propriedades Organoléticas das Loções em Análise

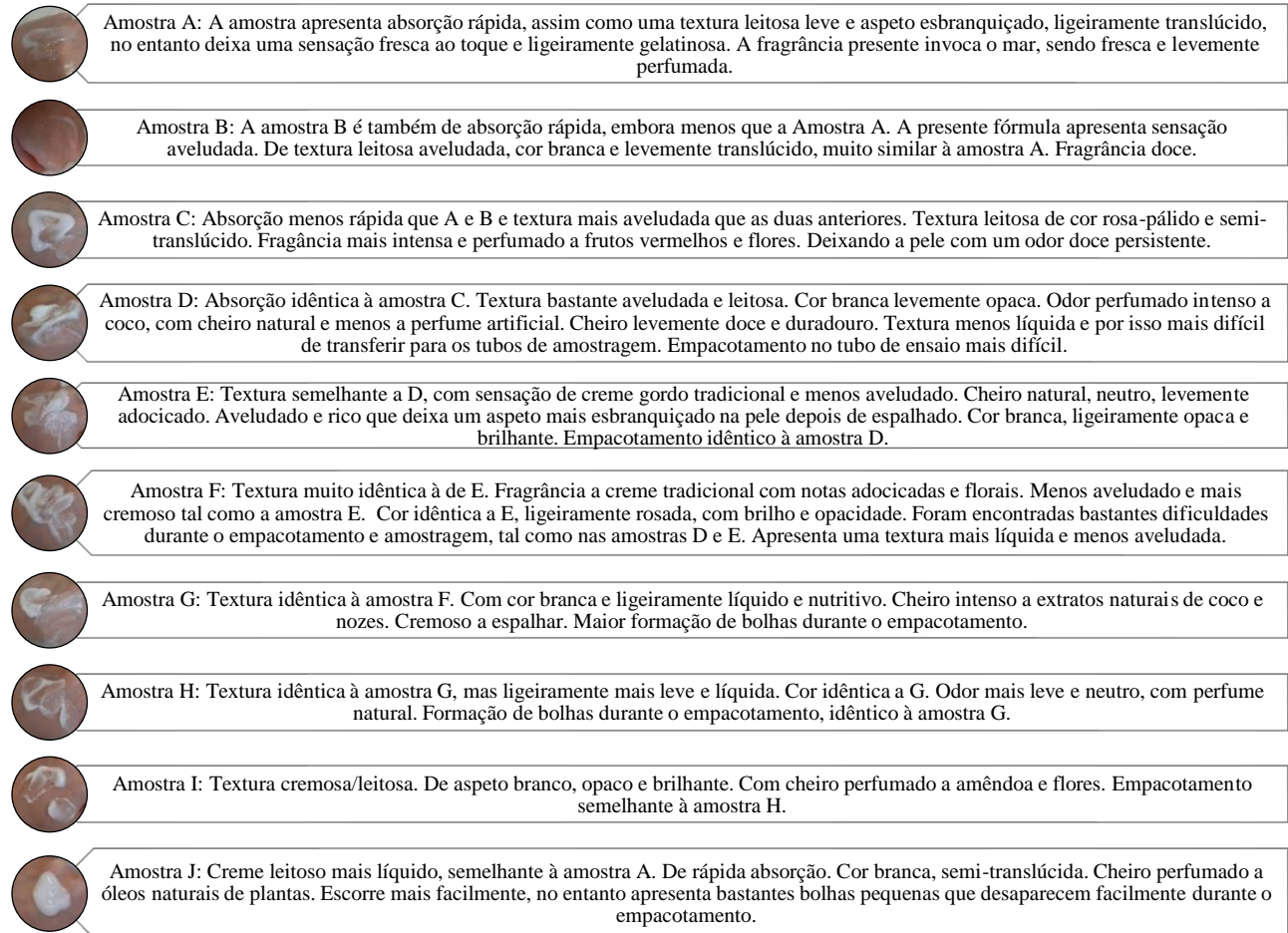
- 
- Amostra A: A amostra apresenta absorção rápida, assim como uma textura leitosa leve e aspeto esbranquiçado, ligeiramente translúcido, no entanto deixa uma sensação fresca ao toque e ligeiramente gelatinosa. A fragrância presente invoca o mar, sendo fresca e levemente perfumada.
- Amostra B: A amostra B é também de absorção rápida, embora menos que a Amostra A. A presente fórmula apresenta sensação aveludada. De textura leitosa aveludada, cor branca e levemente translúcido, muito similar à amostra A. Fragrância doce.
- Amostra C: Absorção menos rápida que A e B e textura mais aveludada que as duas anteriores. Textura leitosa de cor rosa-pálido e semi-translúcido. Fragrância mais intensa e perfumado a frutos vermelhos e flores. Deixando a pele com um odor doce persistente.
- Amostra D: Absorção idêntica à amostra C. Textura bastante aveludada e leitosa. Cor branca levemente opaca. Odor perfumado intenso a coco, com cheiro natural e menos a perfume artificial. Cheiro levemente doce e duradouro. Textura menos líquida e por isso mais difícil de transferir para os tubos de amostragem. Empacotamento no tubo de ensaio mais difícil.
- Amostra E: Textura semelhante a D, com sensação de creme gordo tradicional e menos aveludado. Cheiro natural, neutro, levemente adocicado. Aveludado e rico que deixa um aspeto mais esbranquiçado na pele depois de espalhado. Cor branca, ligeiramente opaca e brilhante. Empacotamento idêntico à amostra D.
- Amostra F: Textura muito idêntica à de E. Fragrância a creme tradicional com notas adocicadas e florais. Menos aveludado e mais cremoso tal como a amostra E. Cor idêntica a E, ligeiramente rosada, com brilho e opacidade. Foram encontradas bastantes dificuldades durante o empacotamento e amostragem, tal como nas amostras D e E. Apresenta uma textura mais líquida e menos aveludada.
- Amostra G: Textura idêntica à amostra F. Com cor branca e ligeiramente líquido e nutritivo. Cheiro intenso a extratos naturais de coco e nozes. Cremoso a espalhar. Maior formação de bolhas durante o empacotamento.
- Amostra H: Textura idêntica à amostra G, mas ligeiramente mais leve e líquida. Cor idêntica a G. Odor mais leve e neutro, com perfume natural. Formação de bolhas durante o empacotamento, idêntico à amostra G.
- Amostra I: Textura cremosa/leitosa. De aspeto branco, opaco e brilhante. Com cheiro perfumado a amêndoa e flores. Empacotamento semelhante à amostra H.
- Amostra J: Creme leitoso mais líquido, semelhante à amostra A. De rápida absorção. Cor branca, semi-translúcida. Cheiro perfumado a óleos naturais de plantas. Escorre mais facilmente, no entanto apresenta bastantes bolhas pequenas que desaparecem facilmente durante o empacotamento.

Figura B.1- Resumo das propriedades organoléticas no tempo 0 (análise realizada aquando da abertura da embalagem de cada amostra).

As figuras que se seguem (B.2 a B.11) dizem respeito ao registo fotográfico e uma breve descrição do aspeto de cada amostra em estudo ao longo dos seis meses.

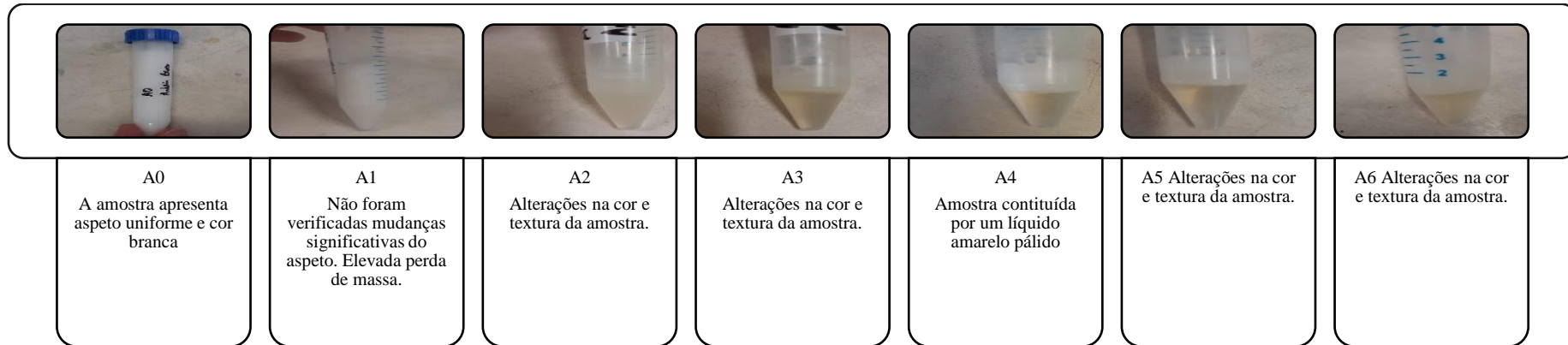


Figura B.2- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra A, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

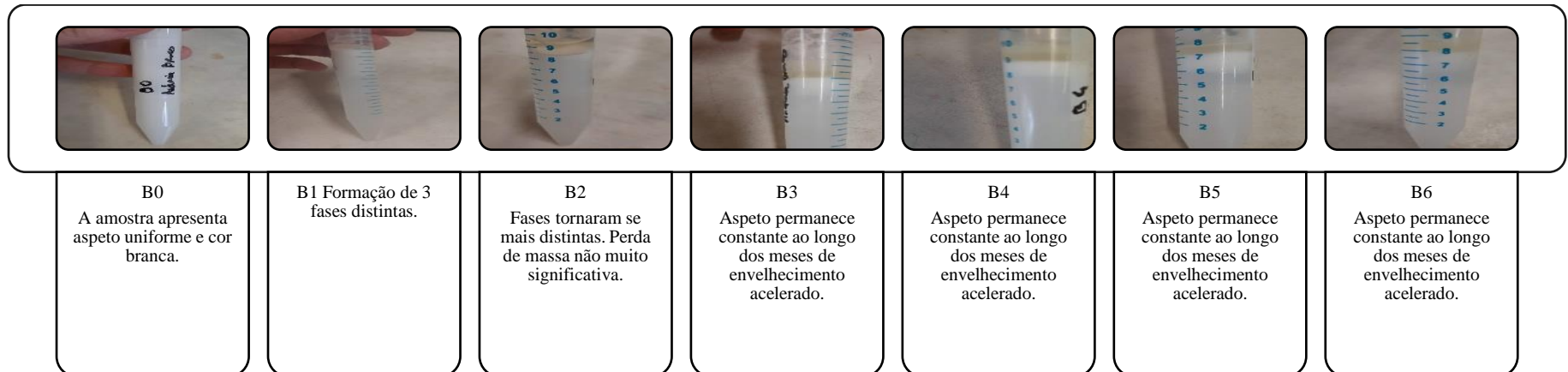


Figura B.3- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra B, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

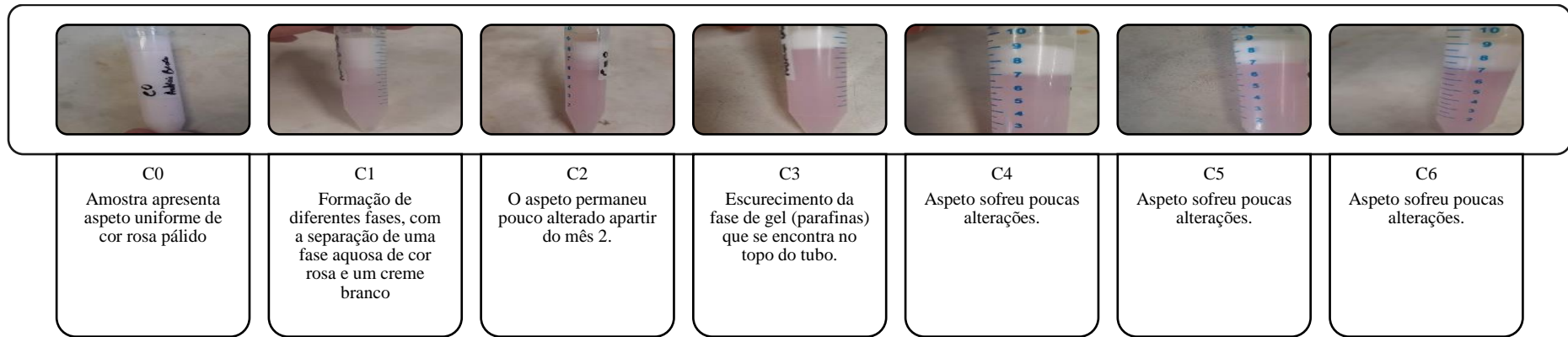


Figura B.4- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra C, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

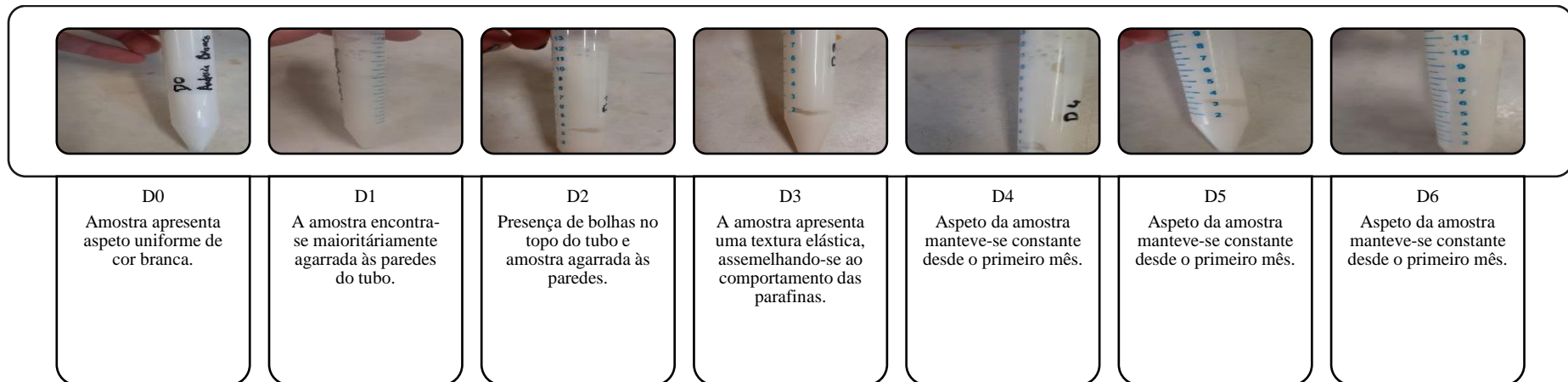


Figura B.5- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra D, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

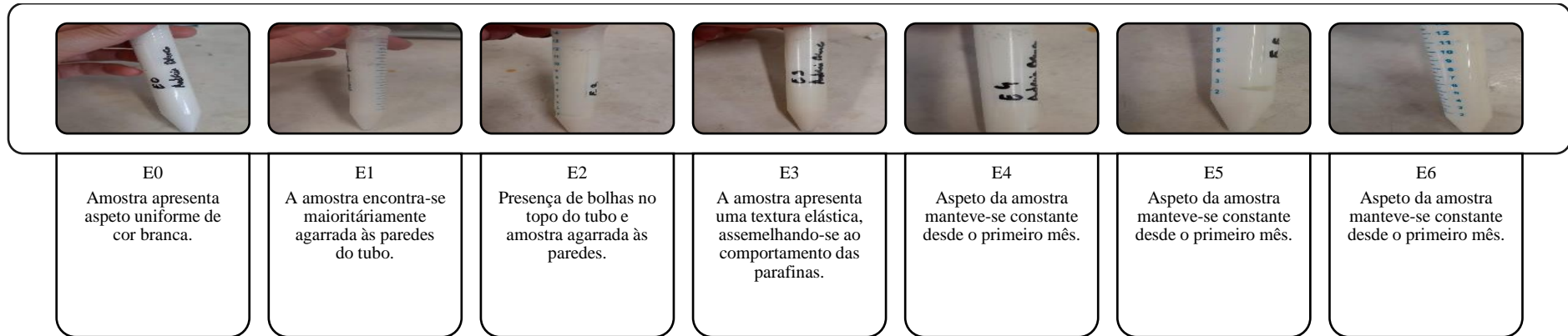


Figura B.6- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra E, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

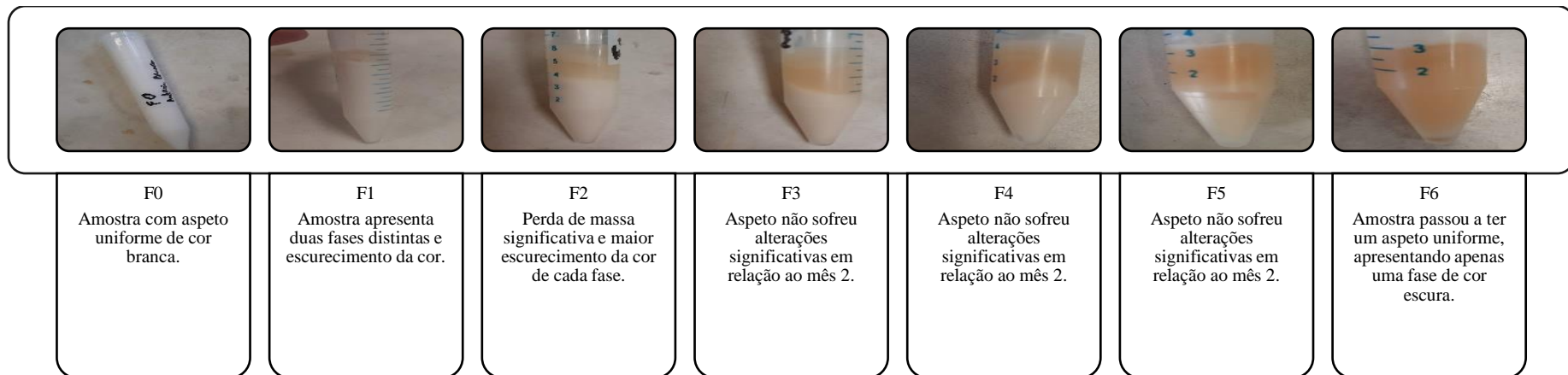


Figura B.7- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra F, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

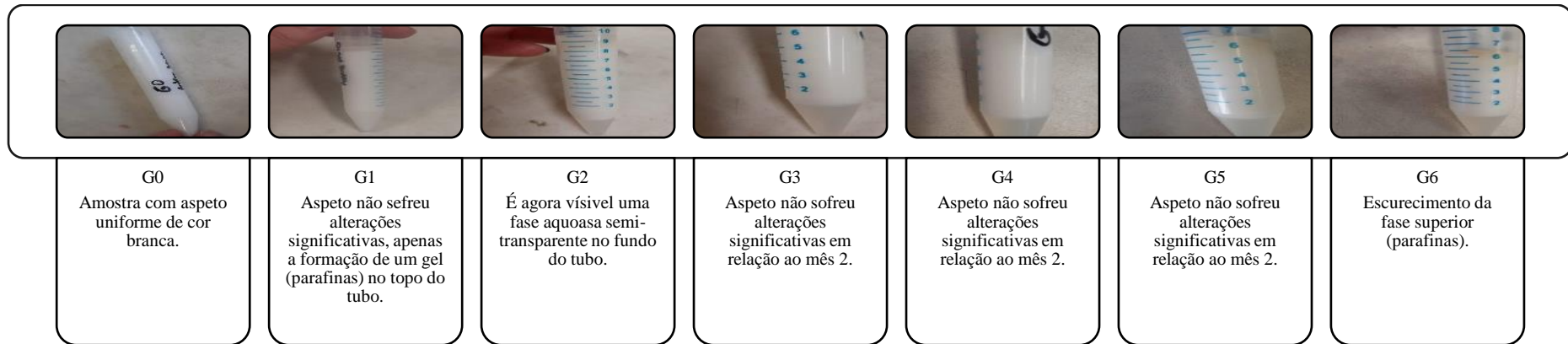


Figura B.8- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra G, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

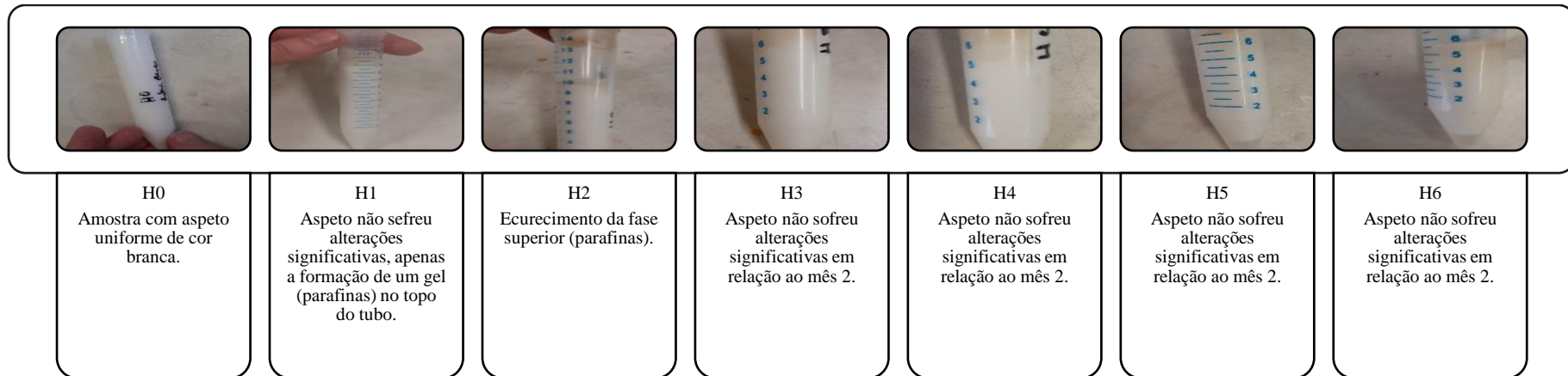


Figura B.9- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra H, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

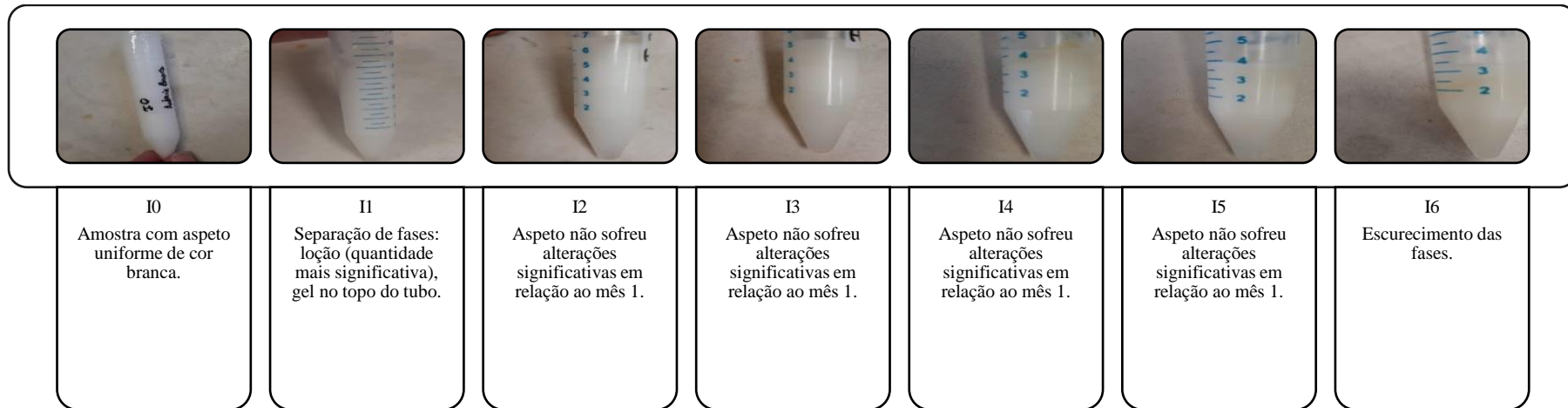


Figura B.10- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra I, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.

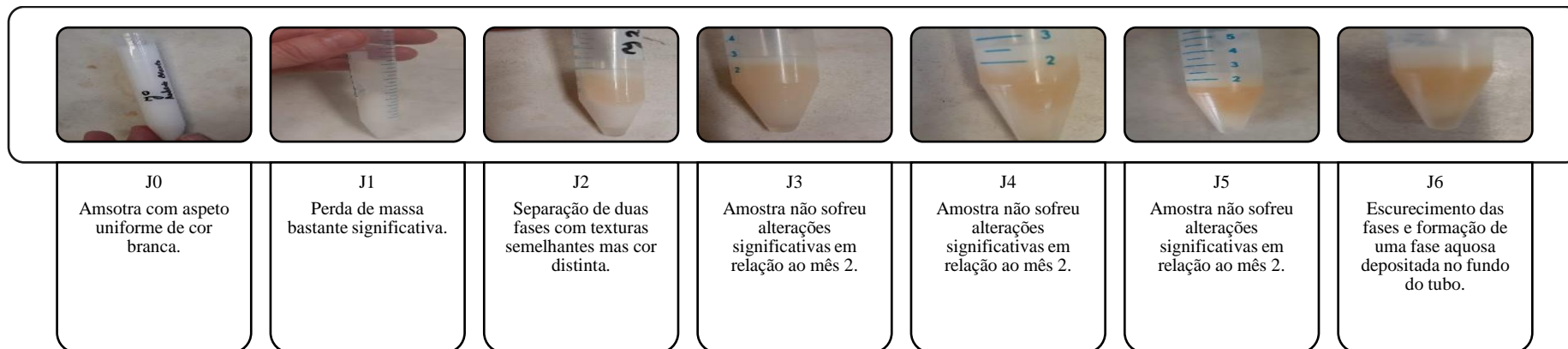


Figura B.11- Registo fotográfico da evolução do aspeto da amostra J, ao longo dos 6 meses de oxidação acelerada.



## **Anexo C. Determinação do IP**

### **C.1 Preparação das soluções**

#### **(1) Solução de ferro (II) $\cong$ 1 mg/mL**

Pesar cerca de 0,35 g de solução de Hexacianoferrto (II) de potássio trihidratado e dissolver em 100 mL de água. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico (10 mol/L) e agitar bem.

Dissolver 15 g de tiossianato de amónio em água, perfazendo o volume de um balão volumétrico de 50 mL.

#### **(2) Solução de tiocianato de amónio**

Dissolver 15 g de tiocianato de amónio em água, perfazendo o volume de um balão volumétrico de 50 mL.

#### **(3) Solução-mãe de cloreto de ferro (III) 10 $\mu$ g/mL**

Dissolver 0,1000 g de cloreto de ferro (III) em 10 mL de ácido clorídrico (10 mol/L) num balão volumétrico de 100 mL.

Adicionar 0,2 mL de solução de peróxido de hidrogénio e remover o excesso do mesmo levando à ebulição por 5 minutos. Deixar a solução arrefecer à temperatura ambiente.

De seguida perfazer o balão volumétrico com água ultrapura.

Na Tabela C.1, é possível a consulta das massas pesadas para a preparação das soluções para a determinação do IP.

*Tabela C.1- Massas pesadas para a preparação das soluções para o método do IP.*

<b>Reagente</b>	<b>Massa pesada</b>
Tiocianato de amónio	15,003 g
Hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado	0,3511 g
Cloreto de ferro (III)	0,1080 g

## C.2 Preparação das soluções padrão e curva de calibração

Para a construção da curva de calibração para o ensaio de IP, prepararam-se 6 soluções padrão de Ferro III com concentrações compreendidas entre 0,035 e 0,20  $\mu\text{g/mL}$ . Sendo que os padrões P1 e P2 foram preparados a partir de uma solução diluída 10 vezes da solução mãe (1,0  $\mu\text{g/mL}$ ) e as restantes soluções padrão preparadas com recurso direto à solução mãe de concentração 10,0  $\mu\text{g/mL}$ .

A Tabela C.2, contém as concentrações de cada solução padrão, e o volume de solução mãe necessário para a sua preparação.

A construção da curva de calibração foi então realizada a partir da leitura da fluorescência de cada amostra para uma gama de absorvância de 500 nm, Figura C.1.

Tabela C.2- Concentração das soluções padrão preparadas para o ensaio de IP.

Solução	[sol. Padrão] ( $\mu\text{g/mL}$ )	V <sub>sol. Mãe de Fe III</sub> ( $\mu\text{L}$ )	V <sub>água</sub> (mL)	V <sub>final</sub> (mL)
Branco	0	0	2,00	
P1	0,0350	10,00	1,99	
P2	0,0500	100,0	1,90	
P3	0,0700	20,00	1,98	2,0
P4	0,100	200,0	1,80	
P5	0,150	300,0	1,70	
P6	0,200	400,0	1,60	

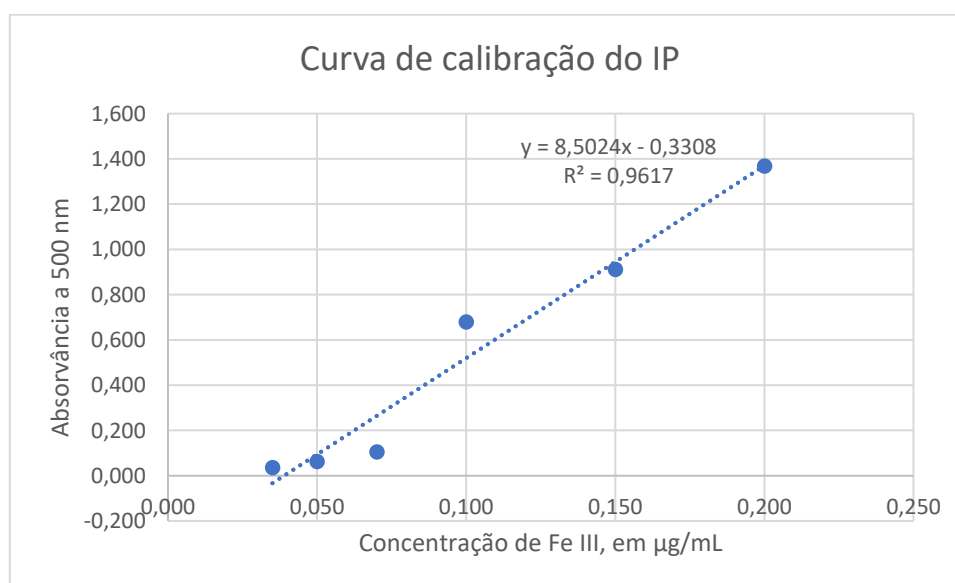


Figura C.1- Curva de calibração para o ensaio de IP.

## **Anexo D. Determinação do TBARS**

### **D.1 Preparação das soluções**

No presente anexo encontram-se descritos os procedimentos utilizados na preparação das soluções usadas na determinação do TBARS. Sendo que a massa real pesada para a preparação de cada solução, assim como a concentração real encontram-se descritas na Tabela D.1.

#### **(1) Solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5%**

Pesar cerca de 50 g de TCA e perfazer o volume de um balão volumétrico de 1000 mL, com água desionizada.

#### **(2) Solução de BHT 0,8% em *n*-Hexano**

Pesar cerca de 200 mg de BHT e perfazer o volume de um balão volumétrico de 250 mL, com *n*-Hexano.

#### **(3) Solução de ácido clorídrico (HCl) 0,25M**

Num balão volumétrico de 200 mL, adicionar cerca de 9,68 mL de HCl e perfazer o volume com água desionizada.

#### **(4) Solução de ácido 2-Tiobarbitúrico (TBA)**

Pesar cerca de 750 mg de TBA  $\geq 98\%$  e 30 mL de TCA 5% e adicionar 160 mL de solução de HCl 0,25M, medido em proveta.

#### **(5) Solução mãe Padrão de malonaldeído (MDA) 1 mg/L**

Medir 1 mL da solução mãe de MDA preparada a partir de *1,1,3,3-Tetramethoxypropane* 99% numa proveta e adicionar a um balão volumétrico de 100 mL. Por fim, perfazer o volume do balão volumétrico com água desionizada.

Tabela D.1- Massas pesadas para a preparação das soluções para o ensaio de TBARS.

Solução	Massa pesada
Ácido tricloroacético (TCA) a 5%	50,104 g
BHT 0,8% em n-hexano	200,50 mg
Ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)	750,60 mg

## D.2 Curva de calibração para o ensaio de TBARS

Para a construção da curva de calibração para o ensaio de TBARS, prepararam-se 5 soluções padrão de MDA com concentrações entre 5,0 e 80,0  $\mu\text{g/L}$ , a partir da solução mãe diluída 100 vezes.

A Tabela D.2, contém as concentrações de cada solução padrão, volume de solução mãe de MDA, TCA a 5% e isopropanol necessários à preparação de cada padrão assim como para a preparação do branco.

A construção da curva de calibração foi então realizada a partir da leitura da fluorescência de cada amostra para uma gama de fluorescência compreendida entre  $\lambda=485\text{ nm}$  e  $\lambda=590\text{ nm}$ , sendo estes o valor de excitação e emissão respectivamente, Figura D.1.

Tabela D.2- Concentração das soluções padrão preparadas para o ensaio de TBARS.

Solução	sol. Padrão ( $\mu\text{g/L}$ )	$V_{\text{sol. Mãe de MDA}} (\mu\text{L})$	$V_{\text{isopropanol}} (\text{mL})$	$V_{\text{TCA 5\%}} (\text{mL})$	$V_{\text{total}} (\text{mL})$	Fluorescência (485/590 nm)
<b>Branco</b>	0	0	1,0	9,000	10,0	823,0
<b>P1</b>	5,0	125		7,375		3157
<b>P2</b>	10	250		7,250		4037
<b>P3</b>	20	500	2,5	7,000		6354
<b>P4</b>	40	1000		6,500		10527
<b>P5</b>	80	2000		5,500	18406	

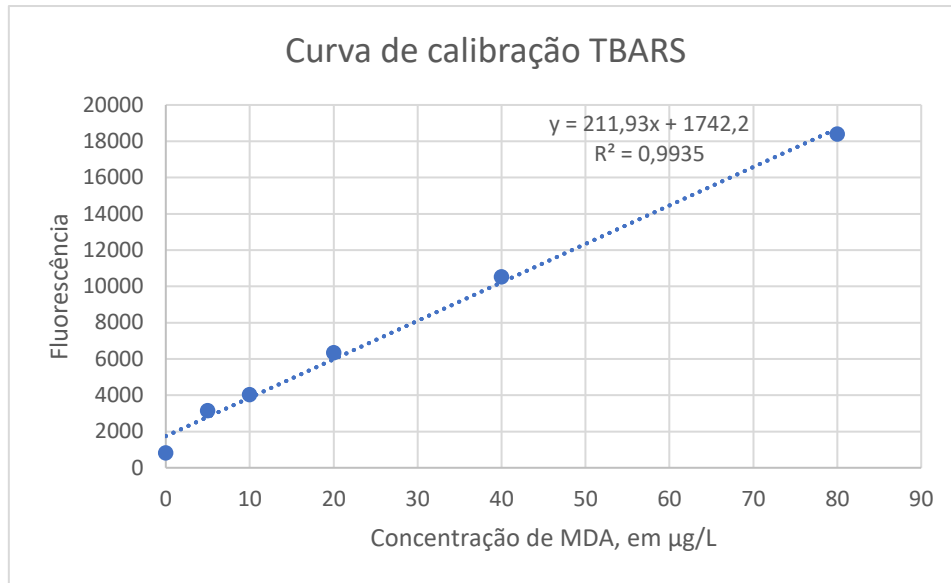


Figura D.1- Curva de calibração para o ensaio de TBARS.



## **Anexo E. Determinação do ipA**

### **E.1 Procedimento para a descoloração dos cristais de *p*-anidisina**

O procedimento descrito nesta secção foi adaptado da *Norma AOCS Official Method Cd 18-90* (Ye et al., 2020).

1. Dissolver cerca de 5,0 g de *p*-anidisina em 100 mL de água a 75°C.
2. Adicionar 0,2 g de sulfito de sódio e 2,0 g de carbono ativado, e agitar por 5 minutos.
3. Filtrar por papel de filtro.
4. Arrefecer a solução filtrada num banho de gelo a 0 °C, e deixar a esta temperatura por pelo menos 4 horas ou idealmente durante a noite.
5. De seguida filtrar novamente a solução com recurso a papel de filtro e secar os cristais obtidos num exsiccador.
6. Transferir os cristais secos para um frasco de vidro escuro para posterior uso na preparação da solução de *p*-anidisina.

Na Tabela E.1, é possível a consulta das massas pesadas para a preparação da solução da *p*-anidisina, tendo em conta também os reagentes necessários à descoloração dos cristais.

*Tabela E.1- Massas pesadas para o método de descoloração da p-anidisina e conseqüente preparação da solução.*

<b>Reagente</b>	<b>Massa pesada (g)</b>
<i>P</i> -anidisina (para descoloração)	5,0029
Sulfito de sódio	0,2250
Carbono ativado	2,0172
<i>P</i> -anidisina (descolorada)	1,26467



## Anexo F. Resultados Experimentais para cada ensaio

O presente anexo contém os dados experimentais e respectivos desvios padrões para os diferentes ensaios realizados neste estudo.

Na Tabela F.1 podem ser consultados os valores relativos à perda de massa para cada amostra ao longo do tempo de estudo, os resultados estão expressos em percentagem.

*Tabela F.1- Resultados experimentais da perda de massa, em percentagem.*

Amostra	Período de oxidação (Meses)					
	1	2	3	4	5	6
A	62	79	82	82	81	86
B	15	24	26	22	36	35
C	16	26	22	24	28	26
D	55	72	74	76	77	73
E	58	77	79	80	76	76
F	47	61	68	75	80	84
G	24	35	48	55	59	63
H	25	37	48	51	61	64
I	40	61	74	77	82	86
J	62	75	81	84	84	83

Na Tabela F.2 podem ser consultados os resultados experimentais para o teor de humidade de cada amostra e respectivos desvio padrão, em percentagem e medidos em duplicado.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Tabela F.2- Resultados da evolução do teor de humidade para cada amostra ao longo dos seis meses de processo de oxidação, em percentagem.

Amostra/Mês	Teor de humidade (%)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	87±0,90	62±1,3	35±1,6	29±2,5	25±0,90	28±0,60	17±2,6
B	85±0,60	83±1,0	81±1,3	83±0,90	84±1,3	80±0,90	82±0,40
C	79±3,3	83±1,8	80<0,010	77±1,4	75±2,2	70±1,6	83±1,9
D	71±0,70	25±0,80	8,5±3,3	6,1±0,90	11±0,90	8,3±0,90	6,1±0,10
E	72±0,10	44±2,9	6,1±1,6	7,3±0,80	6,6±1,0	7,2±1,4	7,8±1,9
F	82±0,10	66±1,3	56±1,0	51±1,2	34<0,010	28±1,1	15±0,90
G	79±1,9	70±0,40	66±0,90	53±1,0	58±0,50	54±0,20	49±3,3
H	75±3,2	76±0,90	70±1,90	63±1,2	65±2,9	61±1,3	65±3,4
I	84±0,60	77±0,40	64±1,2	52±2,0	38±3,3	38±2,2	28±0,80
J	86±0,20	62<0,010	44±2,9	22±0,30	18±0,30	16<0,010	12±0,60

Na Tabela F.3 podem ser consultados os resultados experimentais para o ensaio de IP, medidos em triplicado.

Tabela F.3- Resultados experimentais do teste de IP (n=3), em meqO<sub>2</sub>/Kg de amostra seca, durante os 6 meses.

Amostra/Mês	IP (meq O <sub>2</sub> /Kg)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	2,2E-05±<0,010	2,4E-04±<0,010	4,2E-04±<0,010	1,1E-03±<0,010	7,3E-04±<0,010	9,0E-04±<0,010	7,4E-04±<0,010
B	n.d.	2,4E-05±<0,010	n.d.	2,8E-05±<0,010	2,8E-05±<0,010	6,6E-05±<0,010	n.d.
C	2,1E-05±<0,010	5,1E-05±<0,010	8,4E-05±<0,010	1,7E-04±<0,010	1,3E-04±<0,010	1,6E-04±<0,010	1,1E-04±<0,010
D	9,5E-05±<0,010	1,2E-04±<0,010	1,5E-04±<0,010	1,8E-04±<0,010	1,5E-04±<0,010	1,1E-04±1,7E-20	1,5E-04±<0,010
E	1,1E-04±<0,010	1,0E-04±<0,010	1,5E-04±<0,010	1,5E-04±<0,010	1,4E-04±<0,010	1,5E-04±<0,010	1,5E-04±<0,010
F	9,9E-05±<0,010	2,4E-04±<0,010	4,6E-04±<0,010	4,5E-04±<0,010	7,2E-04±<0,010	7,0E-04±1,3E-19	1,1E-03±<0,010
G	1,8E-04±<0,010	1,8E-04±<0,010	2,5E-04±<0,010	2,2E-04±<0,010	2,0E-04±3,3E-20	1,8E-04±<0,010	2,6E-04±<0,010
H	1,7E-04±<0,010	1,2E-04±<0,010	1,8E-04±<0,010	2,4E-04±<0,010	1,8E-04±<0,010	2,5E-04±<0,010	2,2E-04±<0,010
I	8,0E-05±<0,010	2,5E-04±<0,010	3,8E-04±<0,010	9,2E-04±3,2E-05	8,0E-04±<0,010	6,7E-04±<0,010	4,2E-04±<0,010
J	4,2E-05±<0,010	1,3E-04±<0,010	3,5E-04±<0,010	4,8E-04±<0,010	4,7E-04±6,6E-20	3,5E-04±<0,010	4,2E-04±6,6E-20

Na Tabela F.4 podem ser consultados os resultados experimentais para o ensaio de TBARS, medidos em triplicado.

Tabela F.4- Resultados experimentais do teste de TBARS, expressos em concentração de MDA (mg/g amostra seca) (n=3).

Amostra/Mês	TBARS (mg/g)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	81,2±4,84	180±6,00	207±2,36	93,5±3,31	91,1±1,95	88,3±3,49	85,3±2,01
B	26,0±0,230	28,1±0,180	32,6±1,42	31,9±0,980	33,1±0,410	38,4±0,880	35,7±0,650
C	24,8±0,630	30,1±0,560	33,2±0,250	29,7±0,890	30,6±0,450	30,4±0,550	33,0±0,480
D	21,9±0,530	35,1±1,04	153±9,48	138±6,83	181±6,83	150±5,56	158±8,19
E	54,5±1,98	110±7,00	140±9,58	164±6,89	137±8,78	125±4,57	154±5,72
F	82,1±2,74	129±2,20	179±7,22	187±6,65	210±13,1	239±0,260	268±6,46
G	71,5±0,920	85,1±0,710	83,4±1,73	118±1,15	173±2,53	216±6,25	120±4,95
H	63,8±1,22	81,8±2,44	93,6±5,54	92,5±5,36	87,8±3,51	118±4,97	140±8,12
I	66,6±0,570	102±9,48	114,4±6,62	139±3,90	161±4,16	191±5,64	167±4,81
J	68,3±1,63	337±5,21	160,7±3,98	212±9,05	258±5,31	195±5,61	224±2,34

Na Tabela F.5 podem ser consultados os resultados experimentais para o ensaio de ipA, medidos em triplicado.

Tabela F.5- Resultados experimentais do teste de ipA (n=3) para as amostras em estudo.

Amostra/Mês	ipA						
	0	1	2	3	4	5	6
A	0,085±0,0050	0,36±0,024	1,7±0,059	2,7±0,023	2,6±0,083	2,6±0,091	2,4±0,0030
B	0,075±0,0020	0,086±0,0050	0,099±0,0060	0,11±0,0070	0,10±0,0080	0,13±0,0020	0,13±0,015
C	0,065±0,018	0,10±0,0020	0,14±0,0080	0,14±0,010	0,15±0,0050	0,12±0,015	0,12±0,0080
D	0,29±0,021	1,4±0,026	1,7±0,030	1,3±0,035	1,5±0,070	1,5±0,047	1,6±0,017
E	0,20±0,0050	0,68±0,034	0,53±0,031	0,54±0,025	0,46±0,013	0,50±0,0090	0,47±0,0030
F	0,29±0,074	1,0±0,031	1,3±0,022	1,7±0,021	1,9±0,083	2,2±0,032	2,8±0,023

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

<b>G</b>	0,32±0,031	0,74±0,030	0,93±0,0060	0,95±0,079	0,98±0,020	1,3±0,092	1,0±0,075
<b>H</b>	0,12±0,0010	0,17±0,0090	0,19±0,0030	0,28±0,034	0,22±0,015	0,29±0,0060	0,38±0,020
<b>I</b>	0,12±0,0030	0,35±0,024	0,43±0,041	0,48±0,0090	0,80±0,0090	0,98±0,047	1,3±0,077
<b>J</b>	0,24±0,029	0,73±0,047	2,3±0,021	3,6±0,072	4,3±0,0050	3,6±0,052	3,8±0,12

Na Tabela F.6 podem ser consultados os resultados experimentais de TOTOX, medidos em triplicado.

Tabela F.6- Resultados médios de TOTOX para cada amostra.

Amostra/Mês	TOTOX						
	0	1	2	3	4	5	6
<b>A</b>	0,085±0,0070	0,36±0,030	1,7±0,073	2,7±0,028	2,6±0,12	2,6±0,13	2,4±0,0040
<b>B</b>	0,075±0,0020	0,086±0,0060	0,099±0,0070	0,11±0,0090	0,10±0,0090	0,13±0,0030	0,13±0,019
<b>C</b>	0,065±0,022	0,10±0,0020	0,14±0,010	0,14±0,013	0,15±0,0060	0,12±0,019	0,12±0,010
<b>D</b>	0,29±0,026	1,4±0,032	1,7±0,043	1,3±0,049	1,5±0,099	1,5±0,057	1,6±0,025
<b>E</b>	0,20±0,0060	0,68±0,042	0,53±0,038	0,54±0,031	0,46±0,016	0,51±0,011	0,47±0,0030
<b>F</b>	0,34±0,0030	1,0±0,039	1,4±0,027	1,7±0,025	1,9±0,077	2,2±0,040	2,8±0,028
<b>G</b>	0,32±0,037	0,74±0,036	0,93±0,0080	0,95±0,097	0,98±0,024	1,3±0,13	1,0±0,092
<b>H</b>	0,11±0,0020	0,17±0,011	0,19±0,0030	0,28±0,041	0,22±0,018	0,29±0,0070	0,38±0,024
<b>I</b>	0,12±0,0040	0,35±0,030	0,43±0,050	0,48±0,011	0,80±0,010	0,98±0,058	1,3±0,095
<b>J</b>	0,24±0,036	0,73±0,058	2,3±0,029	3,6±0,10	4,3±0,0080	3,6±0,073	3,8±0,17

## Anexo G. Resultados da Análise Estatística

Tabela G 1- Dados relativos à correlação estatística para a amostra A, (n=21).

**Correlações Amostra A (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	0,133	-0,358	-0,370	-0,358	0,138	0,692**
Humidade		1	-0,888**	-0,834**	-0,888**	-0,717	-0,289
ipA			1	0,946**	1,000**	0,640**	0,146
IP				1	0,946**	0,466*	0,166
TOTOX					1	0,640**	0,146
DC						1	0,216
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Tabela G.2- Dados relativos à correlação estatística para a amostra B, (n=21).

**Correlações Amostra B (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,751**	0,862**	0,522*	0,862**	-0,637**	0,121
Humidade		1	-0,671**	-0,427	-0,672**	0,693**	-0,458*
ipA			1	0,398	1,000**	-0,543*	0,120
IP				1	0,399	-0,280	0,299
TOTOX					1	-0,543*	0,120
DC						1	-0,307
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Tabela G.3- Dados relativos à correlação estatística para a amostra C, (n=21).

**Correlações Amostra C (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	0,128	0,664**	0,396	0,664**	0,447*	0,482*
Humidade		1	-0,151	-0,573**	-0,153	0,750**	-0,117
ipA			1	0,693**	1,000**	0,231	0,424
IP				1	0,695**	-0,234	0,261
TOTOX					1	0,230	0,424
DC						1	0,078
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Tabela G.4- Dados relativos à correlação estatística para a amostra D, (n=21).

**Correlações Amostra D (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,822**	0,702**	0,596**	0,702**	-0,248	0,569**
Humidade		1	-0,947**	-0,641**	-,948**	0,182	-0,799**
ipA			1	0,532*	1,000**	-0,094	0,808**
IP				1	0,532*	-0,444*	0,478*
TOTOX					1	-0,094	0,808**
DC						1	0,183
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Tabela G.5- Dados relativos à correlação estatística para a amostra E, (n=21).

**Correlações Amostra E (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,920**	0,562**	0,774**	0,562**	-0,141	0,536*
Humidade		1	-0,469*	-0,889**	-0,470*	-0,038	-0,561**
ipA			1	0,070	1,000**	0,036	0,735**
IP				1	0,071	-0,110	0,238
TOTOX					1	0,036	0,735**
DC						1	0,185
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Tabela G.6- Dados relativos à correlação estatística para a amostra F, (n=21).

**Correlações Amostra F (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,944**	0,959**	0,906**	0,959**	0,317	0,708**
Humidade		1	-0,986**	-0,980**	-0,986**	-0,476*	-0,668**
ipA			1	0,967**	1,000**	0,451*	0,715**
IP				1	0,967**	0,567**	0,640**
TOTOX					1	0,451*	0,715**
DC						1	0,379
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Tabela G.7- Dados relativos à correlação estatística para a amostra G, (n=21).

**Correlações Amostra G (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,635**	0,789**	-0,131	0,789**	0,092	0,365
Humidade		1	-0,804**	-0,483*	-0,805**	-0,045	-0,561**
ipA			1	0,233	1,000**	0,150	0,574**
IP				1	0,233	-0,453*	0,210
TOTOX					1	0,150	0,574**
DC						1	0,389
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

\* Correlação é significativa para o nível 0,05.

Tabela G.8- Dados relativos à correlação estatística para a amostra H, (n=21).

**Correlações Amostra H (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,664**	0,897**	0,646**	0,897**	0,188	0,424
Humidade		1	-0,724**	-0,801**	-0,725**	-0,001	-0,423
ipA			1	0,717**	1,000**	0,372	0,415
IP				1	0,717**	0,196	0,258
TOTOX					1	0,372	0,415
DC						1	-0,223
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

Avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (loções corporais)

Tabela G.9- Dados relativos à correlação estatística para a amostra I, (n=21).

**Correlações Amostra I (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,931**	0,868**	0,718**	0,869**	0,379	0,638**
Humidade		1	-0,938**	-0,659**	-0,939**	-0,423	-0,583**
ipA			1	0,400	1,000**	0,369	0,613**
IP				1	0,401	0,274	0,344
TOTOX					1	0,369	0,613**
DC						1	0,118
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.

Tabela G.10- Dados relativos à correlação estatística para a amostra J, (n=21).

**Correlações Amostra J (N=21)**

	TBARS	Humidade	ipA	IP	TOTOX	DC	Razão DC
TBARS	1	-0,364	0,249	0,259	0,249	0,313	0,329
Humidade		1	-0,968**	-0,924**	-0,968**	-0,785**	-0,884**
ipA			1	0,944**	1,000**	0,836**	0,846**
IP				1	0,944**	0,767**	0,869**
TOTOX					1	0,836**	0,846**
DC						1	0,575**
Razão DC							1

\*\* Correlação é significativa para o nível 0,01.