



Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

INÊS DANIELA MARTINS DE SOUSA

Outubro de 2020

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Instituto Superior de Engenharia do Porto

Mestrado em Engenharia Química

Autor: Inês Daniela Martins de Sousa

*Dissertação Submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Engenharia Química, ramo opcional: Qualidade*

Orientação:

Valentina F. Domingues

Maria João Ramalhosa

Cristina Soares

outubro de 2020

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar, às minhas orientadoras, Doutora Cristina Soares, Doutora Valentina Domingues e Doutora Maria João Ramalhosa, pela oportunidade em integrar este projeto, por todo o auxílio que me prestaram e por terem acreditado desde o início que com trabalho e dedicação tudo se consegue. Agradeço também ao GRAQ pelas condições em que me receberam, correspondendo sempre às minhas necessidades ao longo das semanas de trabalho.

O meu maior agradecimento é direcionado a quem tenho de mais importante na minha vida: a minha família. Aos meus pais Lúcia e Eduardo, aos meus avós Constança e Adriano, e aos meus irmãos Adriano, Marta e Eduardo, por me acompanharem e apoiarem nesta etapa tão importante da minha vida, seja direta ou indiretamente, mas acima de tudo, porque sempre acreditaram em mim e nunca me deixaram desistir.

Agradeço também aos meus amigos, em especial à minha amiga Rita, que dia após dia me dava uma palavra amiga de carinho, de incentivo, de força e apoio e se mostrou sempre disponível para ajudar. Sem dúvida que é bom ter amigos assim. Também aos meus amigos Dinis, Mariana, Carolina e Marta, pela companhia e alegria que contagia toda a gente. Ao meu namorado Tiago, agradeço por ter estado ao meu lado, mesmo estando longe. A todos aqueles que acreditaram em mim quando já nem eu própria acreditava, só posso agradecer.

Acredito que a vida é feita de partilhas e, por isso, partilho esta conquista com todos vocês.

Resumo

Os cremes de rosto são produtos funcionais, constituídos por múltiplos ingredientes com diversificadas funções. Tradicionalmente, um dos principais ingredientes são os lípidos que podem ser saturados ou insaturados. Os lípidos insaturados e a sua interação com os restantes componentes dos cremes, bem como fatores externos, permitem prever a ocorrência do processo de oxidação. A oxidação lipídica, por sua vez, é um fenómeno espontâneo e inevitável, e um dos grandes problemas de deterioração de produtos cosméticos, como é o caso dos cremes de rosto, afetando-os quimicamente, fisicamente e sensorialmente. Assim, torna-se importante o estudo do comportamento do produto durante o seu tempo útil de vida, com base em métodos científicos e reprodutíveis.

Neste trabalho, foram testados dez cremes de diferentes composições, armazenados em estufa a 30°C, na ausência de luz, durante seis meses. Ao longo de cada mês, foi retirado um lote de amostras (de A a J), feita a respetiva análise sensorial (verificação de alteração na cor, odor e aspeto) e essas alíquotas foram congeladas para a realização das análises em simultâneo. Para cada amostra de creme, foram determinados os produtos primários de oxidação pelo método dos Dienos Conjugados (DC) expresso em percentagem, e pelo método do Índice de Peróxidos (IP) expresso em meqO₂/kg amostra seca. Foram também determinados os produtos secundários de oxidação, recorrendo ao método do Índice de *p*-Anidissina (ipA) e do ensaio das Substâncias Reativas ao Ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), expresso em concentração de malonaldeído (MDA), (mg/g amostra seca).

Inicialmente, conclui-se que a escolha do solvente para a dissolução das amostras não tem influência nos resultados obtidos. Na determinação do IP segundo o método iodométrico e o método colorimétrico, constata-se que ambos apresentam elevada sensibilidade e uma boa correlação entre si, com a vantagem de que o segundo requer menos quantidade de amostra, solvente e menos tempo de análise em laboratório. Conclui-se que o creme que apresenta maior extensão de oxidação lipídica, com base nos resultados obtidos de Valor Total de Oxidação (TOTOX), é o creme J. Já o creme D é o que apresenta uma menor extensão de oxidação lipídica. É de supor que a presença de ácidos gordos saturados permite inibir o processo de oxidação lipídica, diminuindo a velocidade de oxidação. Também, a presença de aditivos, como o tocoferol, que tem a função antioxidante, pode atuar como pro-oxidante.

Palavras-Chave: cremes de rosto, oxidação lipídica, métodos para determinação da oxidação lipídica

Abstract

Skincare products are functional products, consisting of multiple ingredients with several functions. Traditionally, one of the main ingredients are lipids that can be saturated or unsaturated. These unsaturated lipids and their interaction with the other components of the skincare products and external factors allow understanding and predicting the occurrence of oxidation. Lipid oxidation is a spontaneous and inevitable phenomenon and one of the significant problems of deterioration of cosmetic products, like skincare products, affecting the chemical, physical, and sensorial features. Thus, it is important to study the product's behavior during its lifetime, based on scientific and reproducible methods.

In this work, the skincare products of different compositions were tested, stored at 30°C, in the absence of light, for six months. During each month, a set of samples (from A to J) were taken. It was made sensory analysis (verification of color, odor, and appearance changes) and put them in the freezer until further analysis. For each skincare product, the primary oxidation products were determined by the conjugated dienes (DC) method expressed as a percentage and by the Peroxide Value (IP) method expressed in meqO₂/kg dry sample. Secondary oxidation products were also determined using the p-Anidisin Value (ipA) and the 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) test, expressed as malonaldehyde concentration (mg/g dry sample).

Initially, it is concluded that the choice of solvent does not influence the results obtained. In the determination of the Peroxide Value (IP) according to the iodometric method and the colorimetric method, it is observed that both present high sensitivity and a good correlation with each other, with the advantage, that the second requires fewer sample quantities, solvent and less time of analysis in the laboratory. It is concluded that the skincare products that have the greatest extent of lipid oxidation, based on the results obtained from Total Oxidation Value (TOTOX), is the Cream J. On the other hand, Cream D is the one with a smaller extent of lipid oxidation. The presence of saturated fatty acids inhibits the process of lipid oxidation and decrease the oxidation rate. Also, the presence of additives, such as tocopherol, can act as pro-oxidant or antioxidant.

Keywords: skincare products, lipid oxidation, methods for determination of lipid oxidation

Índice

Índice de figuras	xiii
Índice de tabelas	xv
Nomenclatura	xvii
1. Introdução.....	1
1.1 Enquadramento e objetivos	1
1.2 A pele	1
1.2.1 Envelhecimento cutâneo	2
1.3 Produtos cosméticos.....	3
1.4 Cremes de rosto	3
1.4.1 Constituintes das emulsões	5
1.4.2 Interface	5
1.4.2.1 Emulsionantes	5
1.4.3 Fase aquosa	6
1.4.3.1 Água e hidratantes	6
1.4.3.2 Modificadores de textura	6
1.4.3.3 Perfumes	7
1.4.3.4 Conservantes	7
1.4.4 Fase oleosa	7
1.4.5 Aditivos.....	8
1.5 Oxidação lipídica em emulsões	8
1.5.1 Mecanismos da oxidação lipídica.....	9
1.6 Métodos para quantificação da oxidação lipídica.....	13
1.6.1 Análise dos produtos primários de oxidação	14
1.6.1.1 Dienos conjugados	15

1.6.1.2 Índice de Peróxidos	15
1.6.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	16
1.6.2 Análise dos Produtos Secundários de Oxidação	16
1.6.2.1 Análise sensorial	17
1.6.2.2 Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico	17
1.6.2.3 Índice de <i>p</i> -Anidisina.....	18
1.6.2.4 Teste de Kreis ou Índice de ranço	19
1.6.2.5 Cromatografia gasosa – espectrometria de massa.....	20
2. Componente experimental.....	21
2.1 Identificação das emulsões em estudo	22
2.2 Amostragem	22
2.2.1 Equipamentos e material.....	22
2.3 Ensaio para seleção do solvente	22
2.4 Preparação das amostras	23
2.5 Determinação do teor de humidade	23
2.6 Ensaio para determinação da oxidação lipídica	24
2.6.1 Análise sensorial.....	24
2.6.2 Determinação dos dienos conjugados (DC).....	24
2.6.3 Determinação do Índice de Peróxidos (IP)	25
2.6.3.1 Reagentes e solventes utilizados	25
2.6.3.2 Procedimento experimental	26
2.6.4 Determinação do Índice de <i>p</i> -Anidisina (ipA).....	28
2.6.4.1 Reagentes e solventes utilizados	28
2.6.4.2 Procedimento experimental	29
2.6.5 Ensaio das Substâncias Reativas ao Ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARS).....	30
2.6.5.1 Reagentes e solventes utilizados	30

2.6.5.2	Procedimento experimental	30
2.6.6	Determinação do Valor Total de Oxidação (TOTOX)	32
3.	Resultados e Discussão	33
3.1	Seleção do solvente.....	33
3.2	Dissolução das amostras	34
3.3	Variação do teor de humidade ao longo do estudo.....	36
3.4	Avaliação do estado de oxidação lipídica	38
3.4.1	Análise sensorial.....	38
3.4.2	Determinação dos DC.....	58
3.4.3	Determinação do IP	60
3.4.4	Determinação do ipA.....	64
3.4.5	Ensaio de TBARS.....	66
3.5	Valor de TOTOX.....	69
3.6	Análise dos resultados por creme	71
3.6.1	Creme A	71
3.6.2	Creme B	72
3.6.3	Creme C	74
3.6.4	Creme D.....	75
3.6.5	Creme E	77
3.6.6	Creme F.....	78
3.6.7	Creme G.....	79
3.6.8	Creme H.....	81
3.6.9	Creme I	82
3.6.10	Creme J	83
3.7	Contributo dos constituintes para a oxidação.....	85
	Conclusões e sugestões para trabalho futuro	87

Referências bibliográficas.....	88
Anexo A - Emulsões em estudo	93
Anexo A.1 - Constituintes e funções.....	93
Anexo A.2 – Análise dos solventes.....	106
Anexo A.3 – Preparação das amostras	108
Anexo B – Método para determinação do IP	110
Anexo B.1 – Curva de calibração.....	110
Anexo C – Ensaio de TBARS	111
Anexo C.1 – Preparação das soluções.....	111
Anexo C.2 – Curva de calibração.....	112

Índice de figuras

Figura 1.1 - Representação esquemática das camadas constituintes da pele [3].....	2
Figura 1.2 - Representação esquemática dos tipos de emulsões. 1 – emulsão O/A; 2 – emulsão A/O; 3 – emulsão A/O/A; 4 – emulsão O/A/O [2]	4
Figura 1.3 – Esquema representativo dos constituintes mais comuns das emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica [7]	5
Figura 1.4 -Representação esquemática dos processos envolvidos na oxidação lipídica, que resultam em efeitos negativos para os sistemas de emulsões [16].....	11
Figura 1.5 - Desenvolvimento espectável dos produtos de oxidação lipídica primários e secundários, ao longo do tempo [17]	12
Figura 1.6 - Esquema representativo da degradação do ácido gordo insaturado, originando produtos primários (hidroperóxidos) e posteriormente, os secundários (MDA, 4-HDA e 2-alquenal). Adaptado de [18].....	13
Figura 1.7 - Deslocamento das ligações duplas durante a oxidação dos ácidos gordos polinsaturados e conseqüente formação de dienos conjugados [12]	15
Figura 1.8 - Representação esquemática da reação que ocorre entre o TBA e o MDA e os produtos resultantes [26].....	17
Figura 1.9 – Possíveis reações que ocorrem entre a p-Anidissina e o malonaldeído [27]	19
Figura 2.1 - Representação esquemática para obter a curva de calibração	26
Figura 2.2 - Representação esquemática para a determinação do IP nas amostras para o método I.....	27
Figura 2.3 - Representação esquemática para a determinação do IP nas amostras e branco para o método II	27
Figura 2.4 - Esquema representativo do processo para determinação do ipAA.....	29
Figura 2-5 - Esquema representativo das etapas do processo para obtenção de amostra isenta de gorduras	31
Figura 2.6 - Etapas para determinação da concentração de MDA	31

Figura 3.1 - Curva de calibração para os padrões de ferro (III) de 0 a 0,00020 µg/mL	61
Figura 3.2 - Resultados dos ensaios realizados para o IP segundo o método I e II.....	64
Figura 3.3 - Curva de calibração para os padrões de MDA de concentração 0 a 0,080 mg/L.....	67
Figura 3.4 – Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme A.....	71
Figura 3.5 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme B	72
Figura 21 – Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme C.....	74
Figura 3.7 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme D	76
Figura 3.8 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme E.....	77
Figura 3.9 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme F.....	78
Figura 3.10 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme G	80
Figura 3.11 – Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme H.....	81
Figura 3.12 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme I.....	82
Figura 3.13 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme J.....	84
Figura A2.1 - Dissolução das amostras de creme A (lado esquerdo) e H (lado direito), nos três solventes, após 5 minutos de agitação no vórtex	106
Figura A.2.2 - Dissolução das amostras de creme A em cada um dos solventes, após 30 minutos (37°C) no ultrassons.....	107

Índice de tabelas

Tabela 3.2 - Resultados obtidos para o índice de p-Anidissina (ipA) para as amostras de creme A e H em cada um dos três solventes	33
Tabela 3.3 - Resultados obtidos na determinação dos dienos conjugados para as amostras de creme A e H em cada um dos três solventes	34
Tabela 3.4 - Resultados relativos à dissolução das amostras de creme A ao creme J de cada um dos 6 meses de estudo	35
Tabela 3.5 - Resultados obtidos na determinação do teor de humidade, em percentagem	36
Tabela 3.6 – Análise sensorial efetuada ao creme A, ao longo dos 6 meses de estudo.	38
Tabela 3.7 - Análise sensorial efetuada ao creme B, ao longo dos 6 meses de estudo..	40
Tabela 3.8 - Análise sensorial efetuada ao creme C, ao longo dos 6 meses de estudo..	42
Tabela 3.9 - Análise sensorial efetuada ao creme D, ao longo dos 6 meses de estudo..	44
Tabela 3.10 - Análise sensorial efetuada ao creme E, ao longo dos 6 meses de estudo	46
Tabela 3.11 - Análise sensorial efetuada ao creme F, ao longo dos 6 meses de estudo	48
Tabela 3.12 - Análise sensorial efetuada ao creme G, ao longo dos 6 meses de estudo	50
Tabela 3.13 - Análise sensorial efetuada ao creme H, ao longo dos 6 meses de estudo	52
Tabela 3.14 - Análise sensorial efetuada ao creme I, ao longo dos 6 meses de estudo .	54
Tabela 3.15 - Análise sensorial efetuada ao creme J, ao longo dos 6 meses de estudo .	56
Tabela 3.16 – Valores médios obtidos de dienos conjugados (n=6), em percentagem .	58
Tabela 3.17 - Valores médios obtidos para a razão de absorvâncias a 272nm e 232nm	59
Tabela 3.18 – Índices de Peróxidos médios obtidos (n=6) pelo método I, para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6), em meqO ₂ /kg amostra seca....	61
Tabela 3.19 – Índices de Peróxidos obtidos pelo método de análise II, para as amostras C, E e H referentes ao mês 6 e à amostra F referente ao mês 4, em meqO ₂ /kg amostra seca.....	63
Tabela 3.20 - Índices de p-Anidissina médios obtidos (n=6), para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6)	64
Tabela 3.21 – Concentrações de MDA médias obtidas (n=6), para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6), expresso em mg/g amostra seca	67
Tabela 3.22 – Valores de TOTOX médios obtidos (n=6), para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6)	69

Tabela 3.23 – Contributo dos constituintes para o fenómeno de oxidação lipídica	85
Tabela A.1.1 - Registo dos componentes dos dez cremes em estudo, principais características e as suas funções	92
Tabela A.2.1 - Registo das massas pesadas (mg) e dos tempos de agitação, para cada amostra de creme para cada solvente testado	106
Tabela A.3.2 - Dados relativos ao tempo de dissolução das amostras no vórtex e no ultrassons	109
Tabela C.2.1 - Dados relativos à preparação das soluções padrão de MDA.....	112

Nomenclatura

A/O – Água/óleo

A/O/A – Água/óleo/água

AOCS - *American Oil Chemists' Society*

BHT - Butilhidroxitolueno

DC – Dienos conjugados

GC/MS – Cromatografia gasosa – espectrometria de massa

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

IDF – *International Dairy Federation*

ipA – Índice de *p*-Anidisina

IP – Índice de peróxidos

LOD – Limite de detecção

MDA – Malonaldeído

O/A – Óleo/Água

O/A/O – Óleo/Água/Óleo

TBA – Ácido 2-tiobarbitúrico

TBARS - Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico

TOTOX – Valor total de oxidação

UV - Ultravioleta

1. Introdução

1.1 Enquadramento e objetivos

A presente dissertação foi elaborada no âmbito da disciplina de Dissertação/Estágio, como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre em Engenharia Química, no ramo de Qualidade.

O trabalho foi desenvolvido no Grupo de Reação e Análises Químicas (GRAQ), integrado no Laboratório Associado para a Química Verde (LAQV) localizado no Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP).

Os principais objetivos deste estudo são, a avaliação do envelhecimento em produtos de cosmética (cremes de rosto), através do estudo do fenómeno de oxidação lipídica em cremes de aplicação dérmica, pela análise dos produtos primários e secundários de oxidação, e perceber a extensão da oxidação lipídica dos cremes selecionados. Este estudo foi também acompanhado de uma análise sensorial que foi conduzida de modo a examinar as alterações na cor, odor e aparência de cada creme ao longo do tempo.

Para que o objetivo principal fosse atingido, as tarefas realizadas consistiram no desenvolvimento e validação de métodos que permitiam a quantificação dos produtos resultantes da oxidação lipídica em produtos de cosmética, nomeadamente, o método do Índice de Peróxidos (IP), dos Dienos Conjugados (DC), das Substâncias Reativas ao Ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) e o Índice de *p*-Anidissina (ipA); e avaliação do envelhecimento em condições aceleradas dos cremes de rosto selecionados.

1.2 A pele

A pele é o órgão de maior dimensão do corpo humano, responsável por revestir toda a superfície do corpo, constituindo uma barreira eficaz de defesa. Adicionalmente, tem a função de ajudar na regulação corporal, através da receção de estímulos sensoriais [1].

Em termos anatómicos, é constituída fundamentalmente por dois tecidos adjacentes que são a epiderme e a derme. Além destas, é comum verificar que alguns autores consideram a estratificação da pele em três camadas distintas, pois incluem também a hipoderme (tecido subcutâneo) [2].

Na figura 1.1 encontra-se uma representação esquemática das várias camadas constituintes da pele.

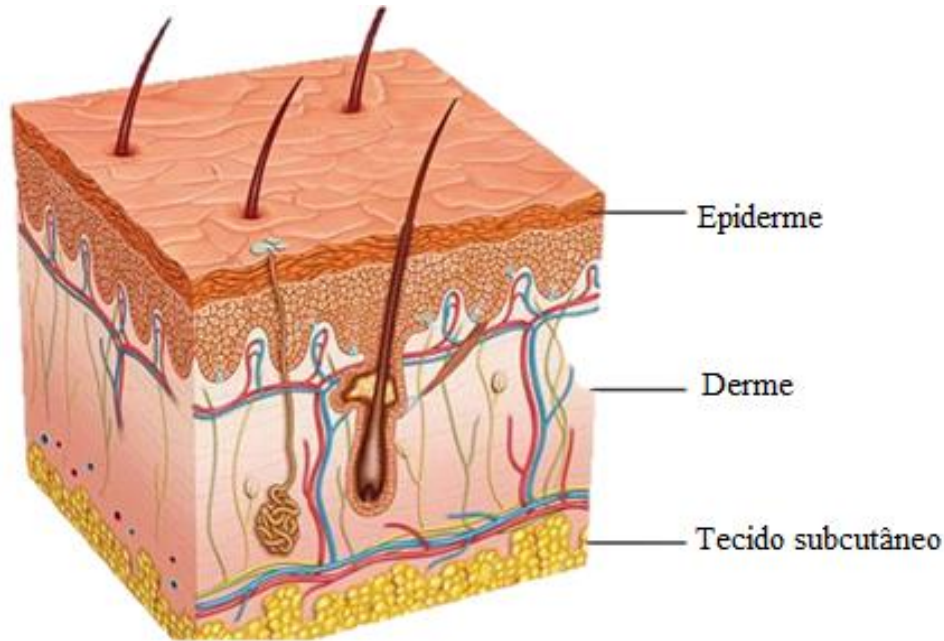


Figura 1.1 - Representação esquemática das camadas constituintes da pele [3]

1.2.1 Envelhecimento cutâneo

O envelhecimento da pele está associado a uma série de mudanças fisiológicas inevitáveis e irreversíveis, acompanhadas pela mudança no funcionamento normal do organismo. Existem ainda fatores independentes que promovem um aumento da taxa de envelhecimento normal da pele, entre eles, fatores cronológicos ou intrínsecos, fatores ambientais ou extrínsecos [1].

Os fatores intrínsecos surgem naturalmente a partir de determinada idade, quando o processo de renovação celular se torna mais lento e a produção hormonal sofre alterações, provocando uma diminuição da capacidade funcional da pele. As alterações mais perceptíveis na pele são a flacidez, o aparecimento de linhas finas e rugas, e a secura [1].

Por outro lado, designamos fatores extrínsecos os que resultam da ação de vários fatores ambientais como a poluição e a exposição solar crônica, especialmente associado à radiação ultravioleta. Este último, permite a formação de radicais livres, que por sua vez atacam a estrutura da pele, destruindo as fibras de colagénio e as fibras elásticas constituintes. Como consequências destacam-se os problemas de hidratação da pele, que levam a alterações na pigmentação, textura e homogeneidade da pele [1].

Assim, a aplicação de produtos cosméticos, nomeadamente cremes de rosto, associados à utilização de antioxidantes, pode representar numa estratégia eficiente para a proteção da pele contra o fenómeno oxidativo causado pelos diferentes agentes, uma vez que permitem neutralizar a formação de radicais livres, levando a uma redução ou prevenção dos sinais de envelhecimento da pele e às alterações provocadas pela radiação ultravioleta [1].

1.3 Produtos cosméticos

Desde os tempos pré-históricos (por volta do ano 30.000 a.C.) que se relatam as práticas de adorno e camuflagem da pele e dos cabelos. Com a organização das primeiras civilizações, no ano 3.000 a.C., os rituais de beleza foram difundidos a partir dos primeiros egípcios, indianos e orientais, que desenvolveram cosméticos e práticas similares. Nos dias de hoje, são vários os produtos cosméticos presentes na rotina diária, desde champôs, cremes de hidratação, pastas de dentes, entre outros [4].

Os produtos cosméticos podem ser definidos como qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com a superfície externa do corpo humano ou com os dentes e as mucosas bucais, tendo em vista, exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspeto, protegê-los, mantê-los em bom estado ou corrigir odores corporais [5].

1.4 Cremes de rosto

Relativamente aos cremes de hidratação do rosto, estes caracterizam-se por serem emulsões semi-sólidas que contêm ingredientes cosméticos dissolvidos ou suspensos. São constituídos por dois líquidos imiscíveis, dispersos um no outro sob a forma de gotículas [6]. Estas gotículas que se encontram em emulsão, constituem a fase dispersa ou interna, enquanto que o líquido que as cerca constitui a fase contínua ou externa. A fronteira entre as duas fases é a interface [7].

Os sistemas de emulsões podem classificar-se como simples e múltiplo. Os sistemas de emulsões simples poderão ser de dois tipos [2]:

- **Óleo/Água (O/A)**, em que a fase interna é constituída por substâncias lipofílicas imiscíveis com a fase externa, formada por sua vez, por água e substâncias polares;
- **Água/Óleo (A/O)**, em que a fase interna é constituída por água e componentes polares e a fase externa é formada por compostos apolares.

Contudo, quando temos gotículas de outra fase no interior das gotículas da fase interna, estamos perante sistemas de emulsão múltipla que podem denominar-se A/O/A ou O/A/O [2]. A figura 1.2 apresenta os vários tipos de emulsões descritas.

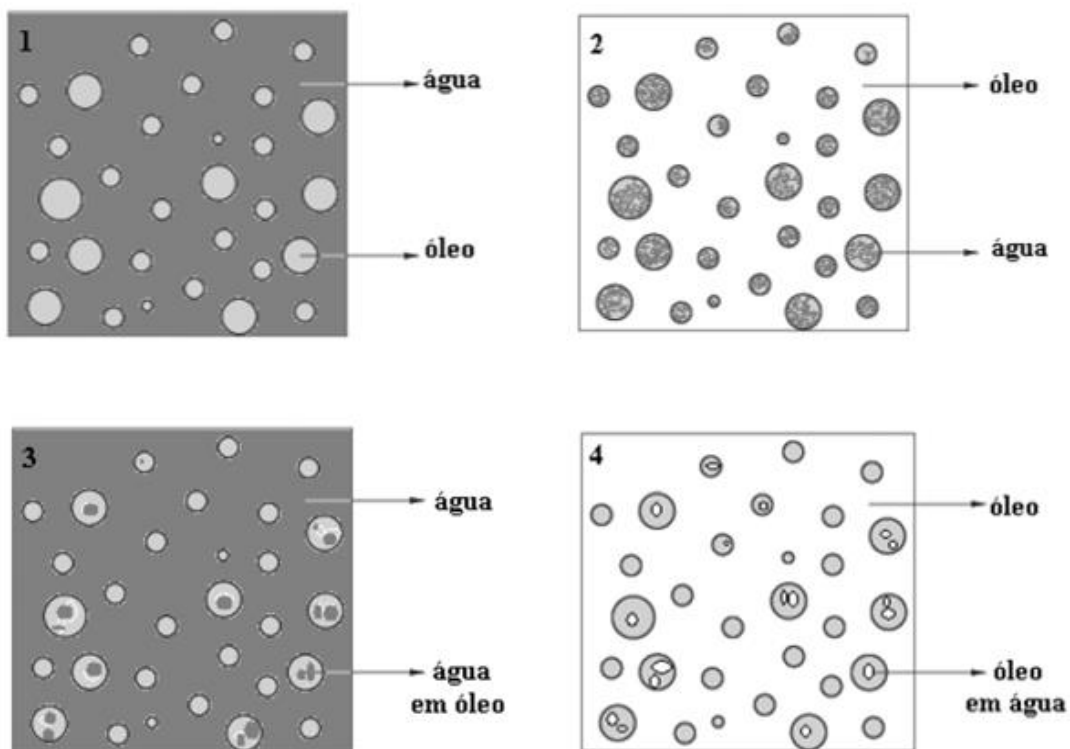


Figura 1.2 - Representação esquemática dos tipos de emulsões. 1 – emulsão O/A; 2 – emulsão A/O; 3 – emulsão A/O/A; 4 – emulsão O/A/O [2]

A maioria dos cremes de rosto são emulsões de óleo em água (O/A), embora se preparem numerosos cremes A/O. Os cremes O/A apresentam, geralmente, elevado poder de penetração na pele e têm propriedades surfatantes, as quais lhes permitem atravessar a barreira lipídica cutânea que emulsionam. Além de serem geralmente bem tolerados pela pele, os cremes O/A são facilmente removidos por simples lavagem com água [2].

1.4.1 Constituintes das emulsões

As emulsões semi-sólidas que constituem os cremes de rosto mais comuns, contêm na sua constituição vários elementos para as variadas funções que desempenham. A figura 1.3 apresenta de forma esquemática, os vários grupos de constituintes, que fazem parte destas emulsões, entre eles, água e hidratantes, modificadores de textura, perfume, conservantes, aditivos, óleos, ceras e emulsionantes [7]. Estes elementos estão presentes nas três fases (interface, aquosa e oleosa) que constituem os cremes para aplicação dérmica. No tópico seguinte serão abordadas as principais funções destes constituintes.

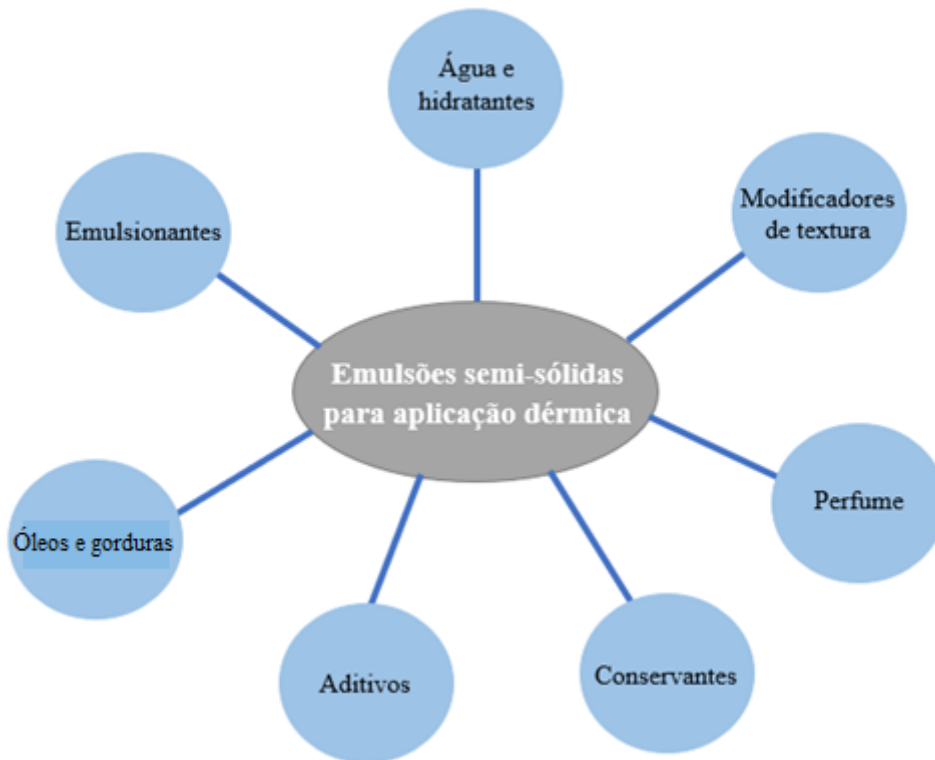


Figura 1.3 – Esquema representativo dos constituintes mais comuns das emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica [7]

1.4.2 Interface

1.4.2.1 Emulsionantes

Os emulsionantes têm como principal função o aumento da estabilidade física das fases constituintes. Muitas vezes, opta-se por utilizar uma mistura de emulsionantes para o efeito [8].

São compostos constituídos por moléculas com características anfifílicas, isto é, com uma parte polar, atraída pela água ou outros líquidos polares, e uma parte apolar, preferencialmente atraída por componentes apolares ou oleosos, localizados na interface entre as duas fases [7,8].

As propriedades anfifílicas características dos fosfolípidos, diminuem a interação entre as fases oleosa e aquosa, consoante as suas tendências lipofílica ou hidrófila, aumentando a estabilidade da emulsão [6,8]. Os emulsionantes utilizados podem ser iónicos (aniónicos ou catiónicos), anfotéricos e não-iónicos. No entanto, no tipo de emulsões O/A, apenas emulsionantes aniónicos e não-iónicos são utilizados [7].

Um dos emulsionantes mais utilizados é a lecitina, que consiste num glicerofosfolípido com características anfifílicas. Existem outros compostos emulsionantes como, por exemplo, *Ceteareth-20*, poligliceril-4-isoestearato e polímeros à base de silício orgânico (*Ciclometicone/PEG/PPG18/18 Dimeticone*, *Ciclopentasiloxano/PEG/PPG-18/18 dimeticone*, entre outros) [8].

1.4.3 Fase aquosa

1.4.3.1 Água e hidratantes

Nesta categoria estão incluídos os agentes oclusivos, humectantes e hidrocolóides¹, cuja função é reduzir ou impedir a perda de água por evaporação nas emulsões e, ao mesmo tempo, hidratar a pele [2].

Os hidratantes utilizados podem ser a glicerina, o sorbitol, o propilenoglicol, vários açúcares e a monoetanolamina de acetamida (MEA) [6]. De entre os hidrocolóides mais comumente utilizados, destaca-se, o amido, a goma xantana, a goma de guar, a goma de alfarroba, a goma *karaya*, a goma de tragacanto, a goma arábica e derivados de celulose [9].

1.4.3.2 Modificadores de textura

Os modificadores de textura (viscosificantes e estabilizantes) são utilizados para incrementar a consistência das emulsões O/A, de forma a melhorar a estabilidade destas

¹ Grupo heterogéneo de polímeros de cadeia longa (polissacarídeos e proteínas) caracterizados pela sua capacidade de formar dispersões viscosas em água [9].

preparações, mas também fornecer as propriedades reológicas desejadas, como humedecer e permitir uma fácil aplicação e manuseamento do creme no rosto [2,7].

Para o efeito são utilizados polímeros, incluindo ácido poliacrílico, metilcelulose, isoestearato isoestearílico, goma xantana, carbómeros, copolímeros de acrilatos, entre outros [2,7].

1.4.3.3 Perfumes

Os perfumes, óleos essenciais e fragrâncias, são utilizados em muitas emulsões de modo a conferir um odor específico [7]. Alguns exemplos de óleos essenciais são provenientes da planta *Stachys inflata* e dos seus constituintes e do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) [10].

1.4.3.4 Conservantes

A contaminação das emulsões por microrganismos pode afetar as propriedades físico-químicas do creme, causando problemas como alterações da cor e odor, hidrólise dos óleos, alterações de pH da fase aquosa e rutura da emulsão [8]. Assim, é necessária a adição de conservantes para impedir a degradação microbiana das emulsões, quer durante a sua preparação, quer durante a vida útil do produto [7].

Os conservantes antimicrobianos mais utilizados em preparações tópicas são o metilparabeno, o propilparabeno, os fenóis, o ácido benzóico, o ácido sórbico e os sais de amónio quaternário [8]. Alguns destes antimicrobianos apresentam também atividade antioxidante [7].

1.4.4 Fase oleosa

1.4.4.1 Óleos e gorduras

Os óleos e gorduras são constituídos por ácidos gordos insaturados² e atuam como lubrificantes, cuja função principal é aumentar a flexibilidade e suavidade da pele (emoliência), conferindo uma aparência suave e macia [7,10].

² Os ácidos gordos insaturados são ácidos carboxílicos com uma cadeia de 10 a 30 átomos de carbono ligados entre si [12]

Nesta fase, os óleos e gorduras mais utilizados incluem os hidrocarbonetos, os ésteres, os silicones e os óleos vegetais. Tradicionalmente, são utilizados compostos com um baixo grau de insaturação, pois são menos suscetíveis à oxidação. Apesar de existir uma maior tendência à oxidação dos óleos que contêm ácidos gordos polinsaturados, o interesse por eles tem vindo a aumentar, devido aos resultados que apresentam na aparência da pele e à sua funcionalidade [7].

1.4.5 Aditivos

Os aditivos são substâncias adicionadas às emulsões, para que estas possuam certas propriedades específicas. Exemplos de aditivos são os filtros de UV de proteção solar, os antioxidantes, as vitaminas, os extratos vegetais e os péptidos, utilizados com determinado propósito (ex: anti-vermelhidão). A maioria dos aditivos tem como função melhorar ou ajudar no mecanismo de defesa natural da pele [7].

Os antioxidantes são compostos que inibem ou bloqueiam o processo de formação de radicais livres. Exibem um potencial redox mais baixo do que o do composto que pretendem proteger, ou seja, são oxidados primeiro, impedindo que o composto sofra esse efeito. A utilização destes compostos é importante para manter a estabilidade das emulsões, protegendo-as do fenómeno da oxidação lipídica, e devem estar presentes nas três fases constituintes das emulsões semi-sólidas para uma maior eficiência [1].

Alguns dos antioxidantes utilizados são o ácido ascórbico, o α -tocoferol, a glutathione, a ubiquinona, o extrato de algas marinhas, a vitamina A, entre outros [1,6]. A vitamina E atua também como agente quelante, inativando os iões metálicos e prevenindo a deterioração das emulsões [7].

1.5 Oxidação lipídica em emulsões

A oxidação lipídica é um fenómeno espontâneo e inevitável, e um dos grandes problemas de deterioração de produtos cosméticos, como é o caso dos cremes de rosto, afetando-os quimicamente, fisicamente e sensorialmente. Estas alterações do tipo oxidativo, têm como principal consequência a modificação do aroma original e o aparecimento de odores característicos do ranço, o qual representa para o consumidor, ou para o transformador industrial, uma importante causa de depreciação ou rejeição [12, 13].

Estudos anteriormente realizados, demonstraram que a oxidação lipídica pode ocorrer em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica, quer apresentem quantidades de lípidos baixas ou elevadas. Na realidade existem outros fatores, para além do teor lipídico, que se deve ter em conta, como os constituintes dos cremes de rosto. Estes são sistemas complexos que contêm diferentes ingredientes e, ao interagirem entre si, podem ser potenciadores da oxidação. Por exemplo, a glicerina que apesar de atuar como hidratante, é um precursor de síntese de lípidos, quando é associado a 1, 2 ou 3 ácidos gordos, denominando-se de monoglicerídeo, diglicerídeo ou triglicerídeo, respetivamente [11]. A partição e difusão de antioxidantes e pró-oxidantes nas três fases, pode também influenciar significativamente o fenómeno da oxidação lipídica. Existem fatores físicos como é o caso da viscosidade e o tamanho das gotículas da fase emulsionada, que podem afetar a difusão de pró-oxidantes e, assim, aumentar ou diminuir também o efeito de oxidação lipídica [14].

1.5.1 Mecanismos da oxidação lipídica

O estudo dos mecanismos de oxidação lipídica nos produtos cosméticos é considerado essencial, pois permite elaborar medidas eficazes de prevenção contra a oxidação lipídica nestes produtos, através da identificação e segmentação dos mecanismos de oxidação responsáveis [14].

A degradação oxidativa pode ocorrer por várias vias, em função de fatores externos e dos agentes catalisadores [15], como a presença de luz, as diferenças de temperatura, a ação de microrganismos e o ar, que os tornam suscetíveis a alterações nas suas características e composição [11].

Os mecanismos de oxidação lipídica mais comuns que ocorrem nos lípidos presentes nas emulsões semi-sólidas em estudo, são:

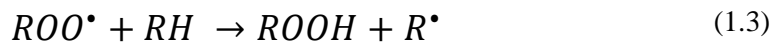
- **Fotooxidação**, mecanismo promovido pela radiação ultravioleta (UV) na presença de fotossensibilizadores (ex: clorofila) que absorvem a energia de comprimento de onda na região do visível e geram o oxigénio no estado singleto.
- **Autooxidação**, principal mecanismo de oxidação de óleos e gorduras. A autooxidação dos lípidos está associada à reação do oxigénio com ácidos gordos insaturados [15]. Este processo ocorre espontânea e naturalmente, mas pode ser acelerado.

A oxidação lipídica é um processo sequencial, composto por 3 fases, iniciação, propagação e terminação. Na primeira fase, as reações químicas podem ser promovidas pela incidência de luz, calor, ou pela presença de metais. Estes fatores, que têm a capacidade de romper a barreira eletroquímica entre o oxigénio e os ácidos gordos insaturados (RH), são iniciadores da oxidação lipídica [11].

Assim, a fase de iniciação ocorre quando um iniciador interage com o oxigénio, que ativado, pode reagir com o ácido gordo insaturado. Isto resulta na perda de um átomo de hidrogénio (H) e conseqüente formação de radicais alquilo ($R\bullet$), como está representado na equação 1.1. Depois de iniciada, a reação só termina quando ocorre o esgotamento das reservas de oxigénio e ácidos gordos insaturados [11].



Na segunda fase, ou fase de propagação, os radicais provenientes da fase de iniciação são convertidos noutros radicais instáveis, os radicais peróxido ($ROO\bullet$). Estes reagem com um átomo de hidrogénio de outro ácido gordo insaturado, originando os produtos primários da oxidação, os hidroperóxidos ($ROOH$), como simplificado nas equações 1.2 e 1.3. Os produtos primários de oxidação são hidroperóxidos, incolores e inodoros [7].



Na última fase, de terminação, ocorre a formação de compostos estáveis não reativos, que provêm das reações entre radicais, conforme se pode verificar nas equações 1.4 e 1.5 [15].



A figura 1.4 apresenta um breve esquema dos processos envolvidos na oxidação de óleos e gorduras na presença de radicais livres.

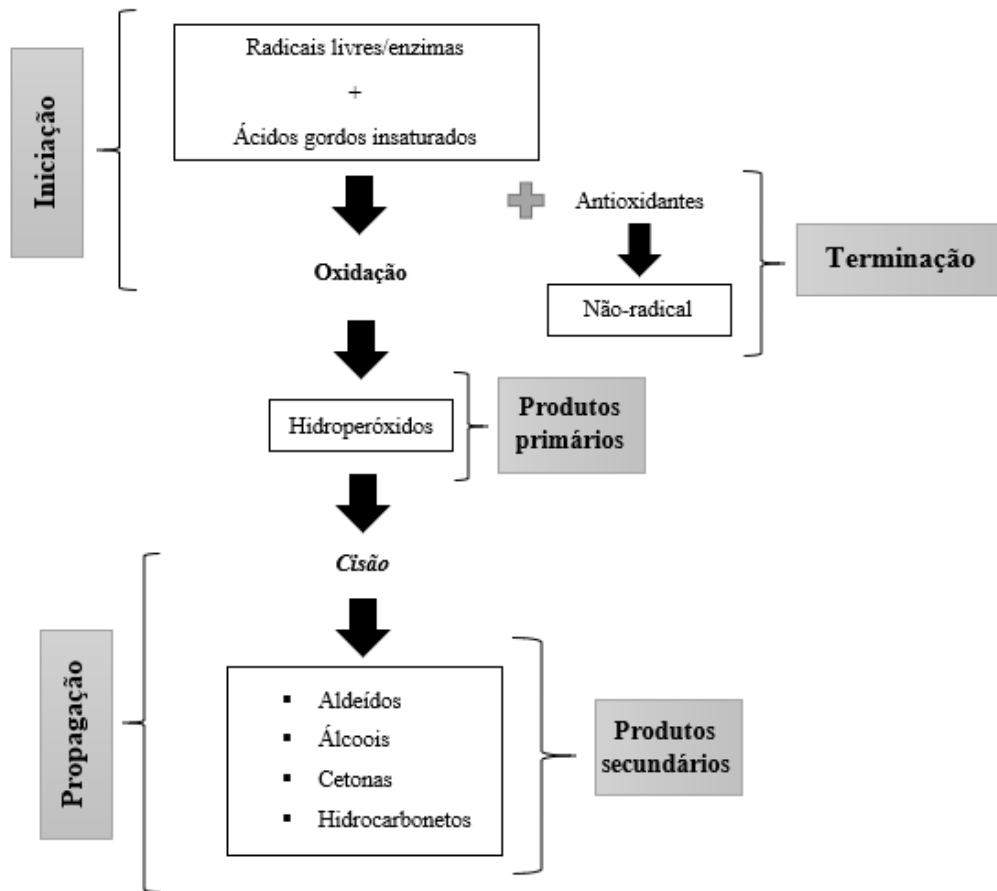


Figura 1.4 -Representação esquemática dos processos envolvidos na oxidação lipídica, que resultam em efeitos negativos para os sistemas de emulsões [16]

Os hidroperóxidos são os principais produtos de oxidação primária, que se acumulam durante as etapas de iniciação e propagação [17].

O tempo que decorre até que os hidroperóxidos atinjam um nível máximo de formação no processo de oxidação, é relativo do grau de saturação, ocorrendo mais cedo em lípidos com maior grau de insaturação, pois os seus hidroperóxidos são decompostos mais facilmente. Após esse nível ser atingido, é previsível que ocorra uma queda na taxa de formação de peróxidos, resultado da sua decomposição em vários compostos, como produtos secundários de oxidação. Esta queda verifica-se quando a taxa de decomposição é superior à taxa de formação de hidroperóxidos. Na teoria, isto significa que os produtos primários de oxidação vão dominar os estágios iniciais, e os produtos secundários os estágios mais finais do processo de oxidação [17]. A figura 1.5 ilustra o desenvolvimento dos produtos primários e secundários de oxidação, ao longo do tempo.

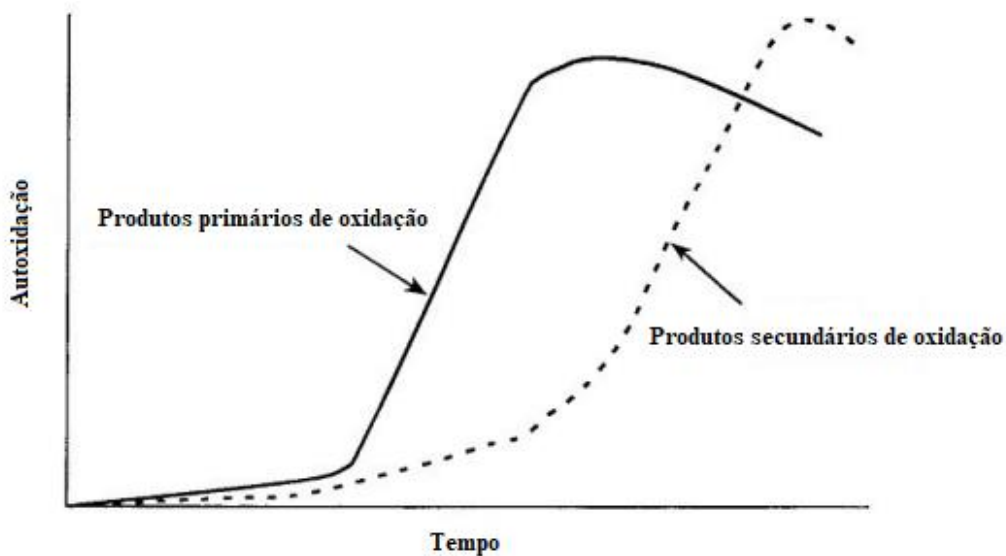


Figura 1.5 - Desenvolvimento espectável dos produtos de oxidação lipídica primários e secundários, ao longo do tempo [17]

Os produtos secundários da oxidação lipídica dos ácidos gordos insaturados, têm a capacidade de modificar o odor natural das emulsões bem como a sua cor, mesmo quando presentes em quantidades extremamente pequenas [7]. De entre os compostos, resultantes da degradação dos peróxidos, capazes de alterar as características e, portanto, a qualidade dos cremes, destacam-se os aldeídos, as cetonas, os ésteres, os álcoois e outros hidrocarbonetos [7, 15].

Tendo em conta a complexidade dos sistemas de emulsões que constituem os cremes de rosto, e embora a sua composição lipídica varie de creme para creme, o ácido linoleico (LA) e o éster etílico do ácido linoleico (ELA) são os constituintes principais dos ácidos gordos presentes na maior parte das emulsões semi-sólidas [13].

A figura 1.6 demonstra a reação de oxidação que ocorre nos ácidos gordos insaturados e os produtos principais que são alvo de estudo.

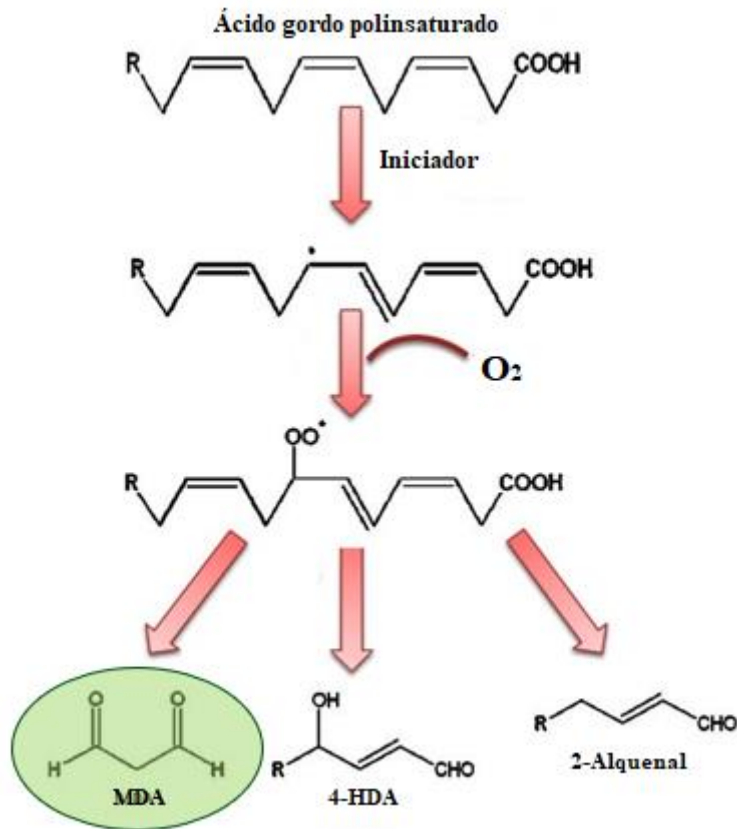


Figura 1.6 - Esquema representativo da degradação do ácido gordo insaturado, originando produtos primários (hidroperóxidos) e posteriormente, os secundários (MDA, 4-HDA e 2-alquenal). Adaptado de [18]

No decurso da decomposição de ácidos gordos insaturados, produzem-se compostos voláteis, hidrocarbonetos (pentano, n-hexano, etano), aldeídos (pentanal, hexanal, hex-2-enal, oct-2-enal, non-2-enal), cetonas (octa-1,5-dien-3-ona, oct-1-en-3-ona) ou ácidos (ácido fórmico), os quais são genericamente designados por produtos secundários [12].

O pentano e o hexanal são alguns dos principais produtos da oxidação do ácido linoleico através do 13-hidroperóxido, catalisada por radicais livres, sendo considerado um bom indicador de oxidação lipídica [14].

1.6 Métodos para quantificação da oxidação lipídica

Torna-se necessário, por um lado, controlar a qualidade das gorduras, através da determinação do seu grau de oxidação e, por outro, avaliar a capacidade antioxidante de novos compostos. Existe uma grande diversidade de métodos analíticos (químicos, físicos

e/ou físico-químicos) propostos na literatura para a avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante [12].

É importante estabelecer a distinção entre os testes para determinação da estabilidade oxidativa nas condições normais de armazenamento (testes de estabilidade em tempo real), e a avaliação da resistência à oxidação efetuada por testes preditivos, os quais promovem um envelhecimento acelerado (testes de estabilidade acelerados) [12].

Os testes acelerados recorrem a condições de oxidação acelerada (oxigenação intensiva, tratamento térmico e catálise metálica), e permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de gorduras ou a eficácia esperada de um antioxidante, isolado ou em conjunto com outros. Uma vez que os fenómenos naturais de oxidação são processos lentos, desenrolando-se ao longo de vários meses, os testes de estabilidade em tempo real tornam-se, por vezes, incompatíveis com o controlo de qualidade a nível industrial. Deste modo, os testes de estabilidade acelerados assumem particular importância neste estudo da oxidação lipídica [12].

1.6.1 Análise dos produtos primários de oxidação

Numa primeira análise, através de ressonância de spin eletrónico, é possível determinar os radicais livres formados no processo de oxidação, e assim, compreender o nível de oxidação [7].

Relativamente aos primeiros produtos resultantes da oxidação dos lípidos na fase de propagação, é possível analisá-los recorrendo, por exemplo, aos seguintes métodos: índice de peróxidos (IP) e dienos conjugados (DC). Estes métodos não podem ser utilizados para avaliar as alterações de odor da emulsão, como resultado da oxidação lipídica. As mudanças no odor são causadas pelos compostos voláteis, como resultado da fase de terminação do processo [16].

1.6.1.1 Dienos conjugados

A oxidação dos ácidos gordos polinsaturados ocorre com formação de hidroperóxidos e deslocamento das ligações duplas, com consequente formação de DC [12], como é demonstrado na figura 1.7.



Figura 1.7 - Deslocamento das ligações duplas durante a oxidação dos ácidos gordos polinsaturados e consequente formação de dienos conjugados [12]

Os DC absorvem energia a um comprimento de onda de 232 nm. Por sua vez, os produtos secundários da sua oxidação são, em particular, as α -dicetonas ou as cetonas insaturadas, que absorvem a um comprimento de onda correspondente a 272 nm. Esta diferença é particularmente interessante, permitindo diferenciar estados da evolução oxidativa com base na relação A272 nm/A232 nm [12].

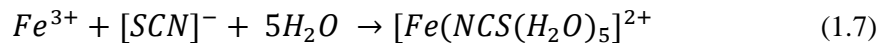
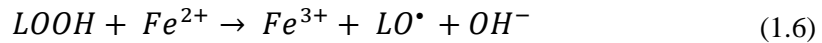
1.6.1.2 Índice de peróxidos

Os produtos primários da oxidação, nomeadamente, o Índice de Peróxidos (IP), são quantificados através do método de titulação iodométrica, da *AOCS Official Method Cd 8b-90:1993*. O processo de determinação do IP das gorduras e óleos ocorre através de reações redox entre os peróxidos (dissolvidos em soluções orgânicas) e o iodeto de potássio (solução saturada), em meio acético, de uma massa conhecida de gordura ou óleo, e pela determinação da correspondente quantidade libertada de iodo, por solução titulada de tiosulfato de sódio, na presença de amido como indicador [11,19].

Este método é o procedimento mais utilizado para a determinação do peróxido proveniente da oxidação dos óleos e gorduras. No entanto, existem fontes de erro que são reconhecidas, com esta avaliação, como a oxidação dos reagentes pelo ar, acelerada pela luz, e a reabsorção do iodo libertado, pelas ligações insaturadas dos ácidos gordos [20].

Uma alternativa a este método, é o proposto pela *International Dairy Federation (IDF) 74:2006*, onde se recorre a determinação espectrofotométrica com base na capacidade dos peróxidos em oxidar os iões ferrosos em iões férricos, formando um complexo com o tiocianato de amónio de cor avermelhada. A absorvância deste complexo é lida a um comprimento de onda de 500 nm [21,22].

O princípio do método encontra-se esquematizado nas equações 1.6 e 1.7.



Os peróxidos e hidroperóxidos resultam da oxidação primária de gorduras e óleos, sendo que o IP fornece a informação da quantidade destes compostos numa amostra de creme, em miliequivalentes de oxigénio por quilograma de gordura (meq O₂/kg gordura) [11].

Neste trabalho, está prevista a utilização do segundo método de análise para a determinação do IP. Para algumas amostras, recorreu-se também ao primeiro método, para termos de comparação de resultados, de modo a validar o método de análise escolhido.

1.6.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma das técnicas de análise utilizada na análise de hidroperóxidos. Devido à sua elevada sensibilidade e versatilidade, é possível analisar compostos com características diferentes (ex: volatilidade, peso molecular e polaridade) [23]. Uma das grandes vantagens desta técnica em relação à cromatografia gasosa (GC), é que opera à temperatura ambiente, o que permite diminuir o risco de formação de outras substâncias e a sua aplicação não necessita de derivatização prévia. A deteção ocorre na gama do ultravioleta, entre os 230 e 235 nm, através de detetor eletroquímico [24].

Contudo, a preparação das amostras é muitas vezes, demorada e requer frequentemente uma extração lipídica prévia [25].

Neste trabalho, não está prevista a utilização deste método de análise.

1.6.2 Análise dos produtos secundários de oxidação

Os produtos secundários de oxidação lipídica compreendem os compostos orgânicos voláteis e não-voláteis. Os compostos voláteis, nomeadamente os aldeídos e outros, são os responsáveis por alterarem significativamente o odor dos produtos de rosto e podem ser avaliados qualitativamente através de análise sensorial [7].

Para complementar a avaliação, estes compostos podem ser quantificados através de métodos espectrofotométricos, recorrendo ao ensaio das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), ao valor de *p*-anisidina (ipA) e ao teste de Kreis ou índice de ranço. Por outro lado, recorrendo à cromatografia gasosa-espetrometria de massa (GC-MS), é possível determinar todos os compostos voláteis presentes [7].

1.6.2.1 Análise sensorial

Na avaliação sensorial, a recolha e análise qualitativa de amostras ao longo do tempo, permite acompanhar o aparecimento progressivo dos produtos de degradação das gorduras, causadoras de odores e alterações visuais. É considerada uma das mais importantes análises, uma vez que avalia aquilo de que o consumidor se apercebe, traduzindo a sua aceitação relativamente ao produto [12].

Contudo, as dificuldades para a determinação do momento exato em que um produto sofre oxidação, e para a comparação de resultados, justifica-se a existência de um conjunto de testes objetivos, baseados na determinação de propriedades físicas e químicas [12].

1.6.2.2 Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico

O ensaio do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) tem como base a quantificação espectrofotométrica do principal aldeído produzido durante a decomposição dos ácidos gordos insaturados em hidroperóxidos, na oxidação primária, o MDA [11].

A figura 1.8 demonstra a reação que ocorre com o TBA na presença de MDA, formando um cromóforo de cor rosa.

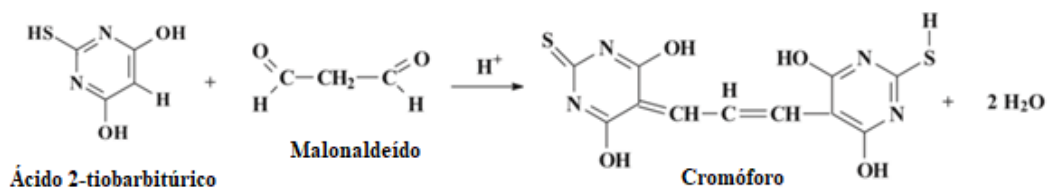


Figura 1.8- Representação esquemática da reação que ocorre entre o TBA e o MDA e os produtos resultantes [26]

O MDA não é o único produto de oxidação dos lípidos que reage com o TBA, os 4-hidroxicenais, os 2,4-alcadienais e os 2-alcenais formam igualmente cromóforos. Por essa razão são referidos como “substâncias que reagem com o TBA” (TBARS) [12].

O valor de TBARS, constitui outra maneira de expressar o valor obtido no teste de TBA, sendo atualmente mais utilizado e leva em consideração outras substâncias capazes de reagir com o ácido 2-tiobarbitúrico. Estes compostos reagem com TBA, produzindo uma substância de cor amarela (cromóforo), que é medida num comprimento de onda de máxima absorvância de 450nm [27].

Na ausência de coloração, uma alternativa ao método anteriormente apresentado, poderá ser o método de fluorescência, onde os compostos são irradiados e excitados desde o estado fundamental até a um nível de excitação. Ao retomar o seu estado fundamental, emitem a energia anteriormente absorvida. Normalmente, o comprimento de onda de excitação máxima varia entre 250 e 500 nm e o de emissão varia entre 280 e 600 nm [25]. Este método tem uma sensibilidade muito superior à detecção colorimétrica sendo usado para detetar quantidades muito inferiores de produtos da oxidação lipídica.

A quantidade deste subproduto revela informações acerca do estado oxidativo dos óleos e gorduras presentes. Porém, este método possui algumas desvantagens. Uma das limitações é a produção de MDA por autooxidação das moléculas da amostra com as condições do ensaio, devido à temperatura a que a amostra é sujeita. Outra desvantagem, como já referido, é a possibilidade de sobrestimação dos resultados, devido ao facto de haverem outros compostos derivados da oxidação lipídica a reagirem com TBA [11].

Os resultados são normalmente expressos em unidades de absorvância por unidade de massa da amostra ou em “valor TBA”, definido como a massa, em mg, de MDA por g de amostra [12].

Neste trabalho, está prevista a utilização do segundo método de análise para esta determinação.

1.6.2.3 Índice de *p*-anidisina

O índice de *p*-anidisina (ipA) é determinado por espectrofotometria, com base no método *American Oil Chemists' Society* (AOCS) Cd 18-90. Esta análise permite determinar a presença de aldeídos (produtos da oxidação secundária), formados através da decomposição de peróxido numa amostra lipídica. É um ensaio complementar ao índice de peróxidos, sendo este reativo a subprodutos da oxidação primária [11].

O ipA, em meio acético, forma um complexo de cor amarelada com os aldeídos que possuem duas duplas ligações conjugadas, em particular com o 2-alquenal e o 2,4-alcadienal resultante da degradação dos hidroperóxidos [14].

A estrutura química dos aldeídos está relacionada com a intensidade da cor, sendo a presença de ligações duplas um fator catalisador. Este método é mais propenso a reagir com aldeídos insaturados do que com saturados, mas é um indicador fiável da rancidez e oxidação lipídica das gorduras animais e óleos vegetais [11]. A figura 1.9 demonstra a reação que ocorre entre um aldeído (MDA) e a *p*-anidisina.

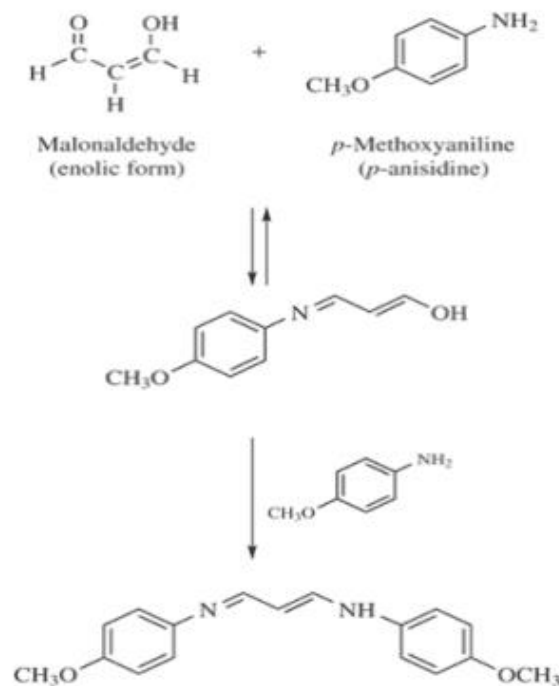


Figura 1.9 – Possíveis reações que ocorrem entre a *p*-Anidisina e o malonaldeído [27]

1.6.2.4 Teste de Kreis ou índice de ranço

O teste de Kreis para determinação do ranço em gorduras, é um método colorimétrico que se baseia na reação, em meio ácido, do floroglucinol com matéria oxidada, nomeadamente, os epoxialdeídos ou os seus acetais. A coloração vermelha obtida é medida por espectrofotometria. Trata-se de um teste rápido que fornece evidências da ocorrência de oxidação lipídica numa fase precoce do desenvolvimento do ranço [11].

Embora este método seja útil na verificação do estado de oxidação até ao momento da realização do teste, não permite identificar a partir de que momento a amostra se torna

organoleticamente rançosa, e por esse motivo, torna-se difícil fazer uma análise quantitativa [28,29]. Destacam-se outras desvantagens como o facto de muitas vezes, ocorrer desenvolvimento de cor em amostras livres de ranço, o que leva a constatar que o desenvolvimento de coloração não é proporcional ao desenvolvimento de rancidez [23].

Deste modo, este teste pode servir com o propósito de evidenciar a ocorrência de oxidação em lípidos, mas não promove um índice fiável de rancidez [23].

1.6.2.5 Cromatografia gasosa – espetrometria de massa

A cromatografia gasosa tem vindo a revelar-se um dos métodos mais utilizados na separação, deteção e quantificação de compostos voláteis, e, através da espetrometria de massa permite identificar esses compostos [25]. É possível também recorrer a esta técnica para analisar e detetar visualmente pequenas quantidades de hidroperóxidos, no entanto, devido à termo instabilidade destes compostos, é necessário proceder a extração e derivatização prévia [23, 24, 25].

Este método permite identificar hidrocarbonetos, maioritariamente de cadeia curta como o pentano, que surgem numa fase inicial da autoxidação dos lípidos, enquanto que os aldeídos não são detetados nesta fase. Pode ser bastante útil na determinação da extensão de rancidez de substâncias puras, no entanto, em sistemas complexos de misturas de lípidos e outros constituintes, como é o caso das emulsões para aplicação dérmica, pode haver uma dificuldade acrescida na identificação e quantificação dos compostos [23].

Neste trabalho, não está prevista a utilização deste método de análise.

2. Componente experimental

O presente trabalho visa avaliar o envelhecimento de emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica. De modo a realizar esta avaliação em sistemas de emulsões de complexidade real, foram selecionados vários cremes de rosto existentes no mercado e para diferentes tipos de pele. Os produtos escolhidos são de diversas marcas, e a sua composição foi analisada e resumida na tabela A.1 (Anexo A).

A análise do envelhecimento depreende o processo de oxidação lipídica, que ocorre na presença de matéria gorda, e que é um constituinte fundamental nos cremes de aplicação dérmica. Neste trabalho irá proceder-se a um teste de estabilidade acelerada em cremes de rosto. O estudo deste processo consiste no acompanhamento do progresso da oxidação dos diferentes cremes, durante um período de sete meses, e compreende as etapas que a seguir são descritas:

1. Submeter as amostras dos vários cremes analisados, a condições aceleradas de envelhecimento, a uma temperatura constante de 30°C e na presença de ar.
2. Análise complementar do efeito da escolha do solvente na preparação das amostras, como descrito na secção 2.3.
3. Análise complementar do teor de humidade, descrito na secção 2.5.
4. Análise sensorial das amostras, nomeadamente, alterações na cor, odor e no aspeto em relação ao mês 0 e ao longo de cada mês decorrido, como descrito na secção 2.6.1.
5. Análise dos produtos primários de oxidação, segundo os métodos dos DC e IP, como descritos nas secções 2.6.2 e 2.6.3, respetivamente.
6. Análise dos produtos secundários de oxidação, nomeadamente, compostos voláteis (essencialmente aldeídos), segundo o ensaio para determinação do ipA e TBARS, como descritos nas secções 2.6.4 e 2.6.5, respetivamente.
7. Avaliação da estabilidade oxidativa, nomeadamente na análise do efeito da interação dos constituintes das emulsões com o processo da oxidação lipídica e, conseqüentemente, com os compostos voláteis formados.

2.1 Identificação das emulsões em estudo

Foram selecionados 10 cremes e atribuída uma codificação de A a J. Para cada creme, foram preparadas 7 amostras para serem submetidas a condições de envelhecimento acelerado, nas condições descritas.

Na tabela A.1.1, no anexo A.1, encontra-se a composição descrita no rótulo de cada creme.

2.2 Amostragem

Para o estudo da evolução da oxidação lipídica, foram preparadas 7 amostras de cada um dos cremes (A a J), isto é, 70 amostras, correspondendo cada uma das sete amostras a cada um dos meses de ensaio.

De cada creme de rosto em estudo, foram retirados e colocados em tubos, cerca de 6 g de creme. Em seguida, foram armazenados em estufa a 30°C, em contacto com o ar e ao abrigo da luz.

2.2.1 Equipamentos e material

- Balança analítica $\pm 0,001$ g (Mettler Toledo, Mod. MS205DU, Columbus, Ohio, EUA)
- 70 tubos de ensaio de centrifugação de plástico com tampa
- Câmara de incubação, ajustada para 30 °C (Lovibon, Mod. ET618, Amesbury, Reino Unido)
- Congelador (Zanussi, ZFC51400WA 495LT, Pordenone, Itália)
- Suporte para tubos de ensaio

2.3 Ensaio para seleção do solvente

Para selecionar qual o solvente mais adequado na dissolução das amostras de cremes, foram testados 3 solventes orgânicos, o *n*-hexano (Merck, Darmstadt, Alemanha), o isooctano (Carlo Erba Reagents, Barcelona, Espanha) e o isopropanol (Honeywell, Charlotte, Carolina do Norte, EUA). O *n*-hexano e o isooctano são os solventes discriminados para a determinação do ipA e o isopropanol foi previamente descrito como sendo adequado para dissolver cremes cosméticos [30, 31 e 32]. Deste modo, pesaram-se $250 \pm 0,1$ mg de amostra (cremes A e H) numa balança analítica Mettler Toledo Mod.

MS205DU, e foram adicionados 5,0 mL de cada um dos solventes. De seguida, a mistura foi agitada no agitador vortex (Analogico 300-2500 rpm, Radnor, Pennsylvania, EUA) na posição 10 de velocidade, e, quando necessário, no banho de ultrassons (Ultrasons-HD C/ Aquecimento 5LT Selecta, Barcelona, Espanha) a 37 °C durante 30 minutos, de modo a que a amostra de creme fosse dissolvida no solvente.

No anexo A.2 encontram-se o registo das massas pesadas (em mg) de cada amostra de creme e as informações relativas à sua dissolução nos diferentes solventes, nomeadamente, o tempo de agitação necessária até dissolução da amostra.

Para cada um dos três solventes e amostras de creme (A e J), foram ainda determinados o ipA e DC. Para tal, recorreu-se a um espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution, Mod. 300, Waltham, Massachusetts, EUA). O procedimento experimental para a realização destes dois métodos encontra-se descrito nas secções 2.6.2 e 2.6.4.

2.4 Preparação das amostras

Na preparação das amostras, à semelhança do teste realizado aos solventes, foram pesadas cerca de $500 \pm 0,01$ mg de amostras de cada creme (de A a J), para cada mês de estudo, numa balança analítica Mettler Toledo Mod. MS205DU e foram adicionados 10,0 mL de isopropanol para a sua dissolução de forma a obter uma solução de creme com uma concentração de 5% (m/v) [30,31]. A mistura foi agitada no agitador vortex analógico 300-2500 rpm na posição 10 de velocidade, e, quando necessário, no ultrassons Ultrasons-HD C/ Aquecimento 5LT Selecta.

No anexo A.3 encontra-se o registo das massas pesadas (em mg) para cada amostra de creme, assim como os tempos de agitação no vórtex e no ultrassons, necessários à dissolução das amostras.

2.5 Determinação do teor de humidade

Para a determinação do teor de humidade, recorreu-se à termogravimetria diferencial, onde foi utilizada uma balança de humidades (Kern, Mod. MLS, Balingen, Alemanha). A amostra foi aquecida até 120°C, registada a massa inicial pesada e a massa final, após a amostra ser submetida a essa temperatura. Esta determinação torna-se importante para efeitos de cálculo da massa seca de amostra (isenta de água). Este parâmetro é utilizado nas determinações dos restantes métodos de análise.

O teor de humidade, em percentagem, é dado pela equação (2.1):

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

Onde:

m_i – massa de amostra pesada inicialmente (em mg);

m_f – massa de amostra final, após ser submetida à temperatura de 120°C (em mg)

2.6 Ensaio para determinação da oxidação lipídica

2.6.1 Análise sensorial

Mensalmente e durante seis meses, foram retiradas amostras de cada creme correspondentes ao tempo inicial de envelhecimento, mês 0 (desde a amostra A0 à J0), e após cada 30 dias, correspondendo aos meses de 0 a 6. De seguida, analisaram-se as características organoléticas, nomeadamente, aspeto, cor e odor, de todas as amostras.

Por fim, todas amostras foram colocadas a -20°C até serem efetuadas as restantes análises.

2.6.2 Determinação dos dienos conjugados (DC)

A determinação dos DC foi realizada com base em [12, 31] onde é lida a absorvância na região de ultravioleta, para dois comprimentos de onda de 232 nm e 272 nm. Foram adicionados 150 µL da solução da amostra em microplacas, com 6 réplicas de cada e leitura da absorvância a 232 e 272 nm, através de um leitor de placas (BioTek, Synergy HT, Winooski, Vermont, EUA).

A determinação dos DC, em percentagem, é obtida através da equação (2.2) [33].

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

Onde:

Abs_{232nm} – absorvância das amostras a 232 nm;

C – concentração da amostra (em g/L);

K_0 – absorvância dos grupos ácidos ou ésteres

Adicionalmente, foi também estudada a razão das absorvâncias a 232 nm e 272 nm [12].

2.6.3 Determinação do índice de peróxidos (IP)

A determinação do IP foi realizada com base em [22] e no método da *International Dairy Federation* 74:2006 [21] (designado como método I) com algumas alterações, nomeadamente, na preparação da solução de ferro II, onde foi utilizado hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado ao invés de sulfato de ferro (II) heptahidratado e a utilização de isopropanol como solvente.

Para efeitos de comparação de resultados, foram testadas também quatro amostras de diferentes cremes, de acordo com o AOCs *Official Method* Cd 8b-90:1993 (designado como método II).

2.6.3.1 Reagentes e solventes utilizados

- Tiocianato de amónio da Merck
- Hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado da Sigma-Aldrich (Darmstad, Alemanha)
- Cloreto de bário dihidratado da Merck
- Ácido clorídrico da Honeywell
- Cloreto de ferro (III) 97% da Sigma-Aldrich
- Água ultrapura (resistividade > 18.2 MΩ.cm a 25 °C) obtida de um sistema Simplicity 185, Millipore (Burlington, MA).
- Isopropanol da Honeywell
- Isopropanol LC-MS CHROMASOLV® da Honeywell
- Água oxigenada 130 vol. Da LabChem (Zelienople, Pensilvânia, EUA)
- Ácido acético glacial da Carlo Erba Reagents
- Isooctano da Carlo Erba Reagents
- Cozimento de amido

Para a determinação do IP foram preparadas as seguintes soluções:

- (1) Solução de cloreto de bário dihidratado
- (2) Solução de hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado
- (3) Solução de ferro (II)

- (4) Solução de tiocianato de amónio
- (5) Solução-mãe de cloreto de ferro (III) 10 µg/mL
- (6) Solução de ácido acético-isoctano (3:2)
- (7) Solução de iodeto de potássio saturada
- (8) Solução de tiosulfato de sódio 0,01M

A preparação das soluções encontra-se descrito em [21,23].

2.6.3.2 Procedimento experimental

1. Método I

Para a construção da curva de calibração, foram preparados 6 padrões de Fe (III), com concentrações compreendidas entre 0,035 e 0,20 µg/L. As etapas do processo para obter a curva de calibração encontram-se esquematizadas na figura 2.1. No anexo B.1, encontram-se os dados relativos à preparação dos padrões e do branco.

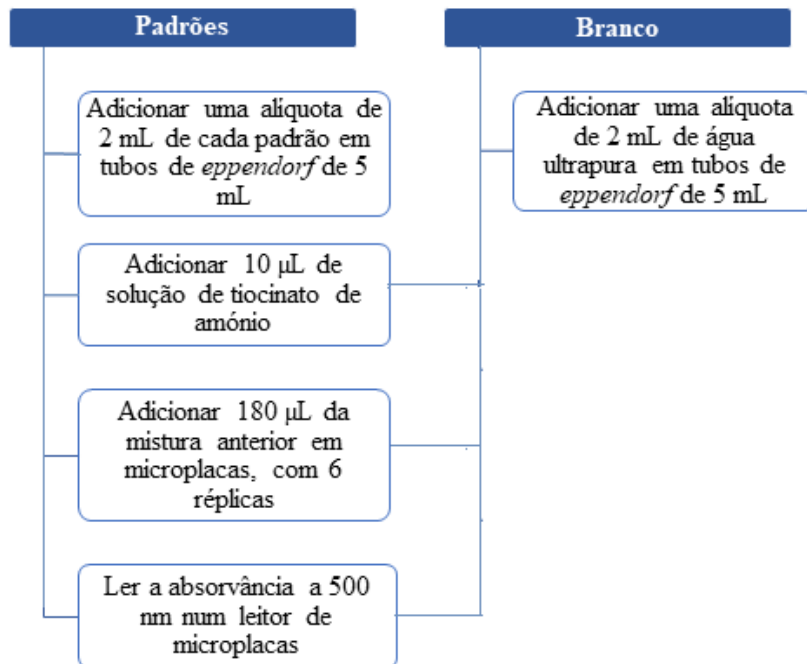


Figura 2.1 - Representação esquemática para obter a curva de calibração

Para a determinação do IP nas amostras, o procedimento encontra-se descrito na figura 2.2.

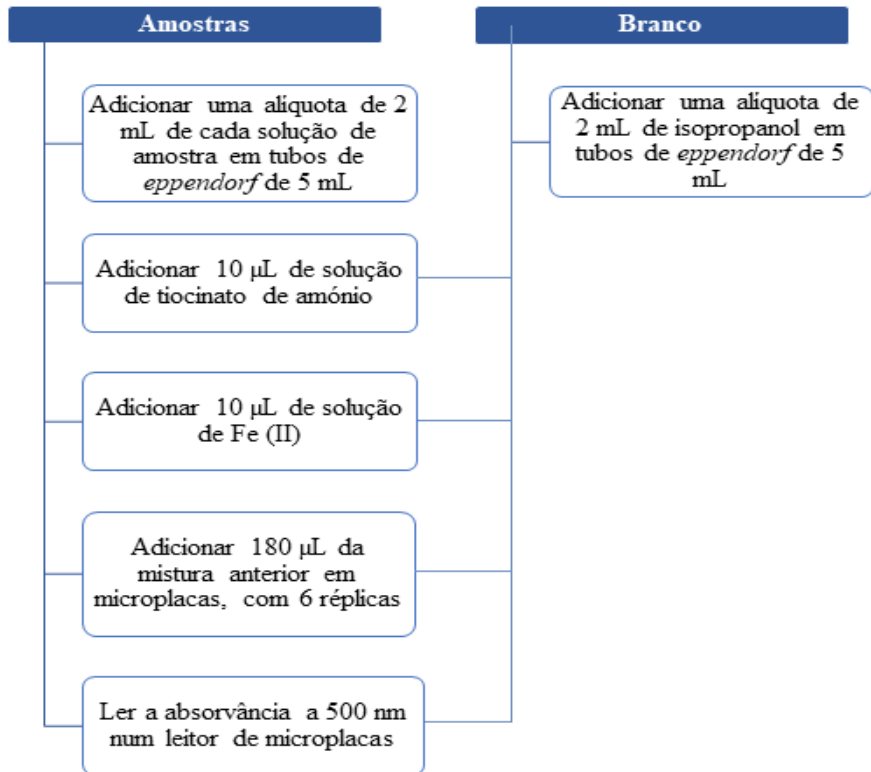


Figura 2.2 - Representação esquemática para a determinação do IP nas amostras para o método I

2. Método II

As etapas do processo para o método II encontram-se esquematizadas na figura 2.3.

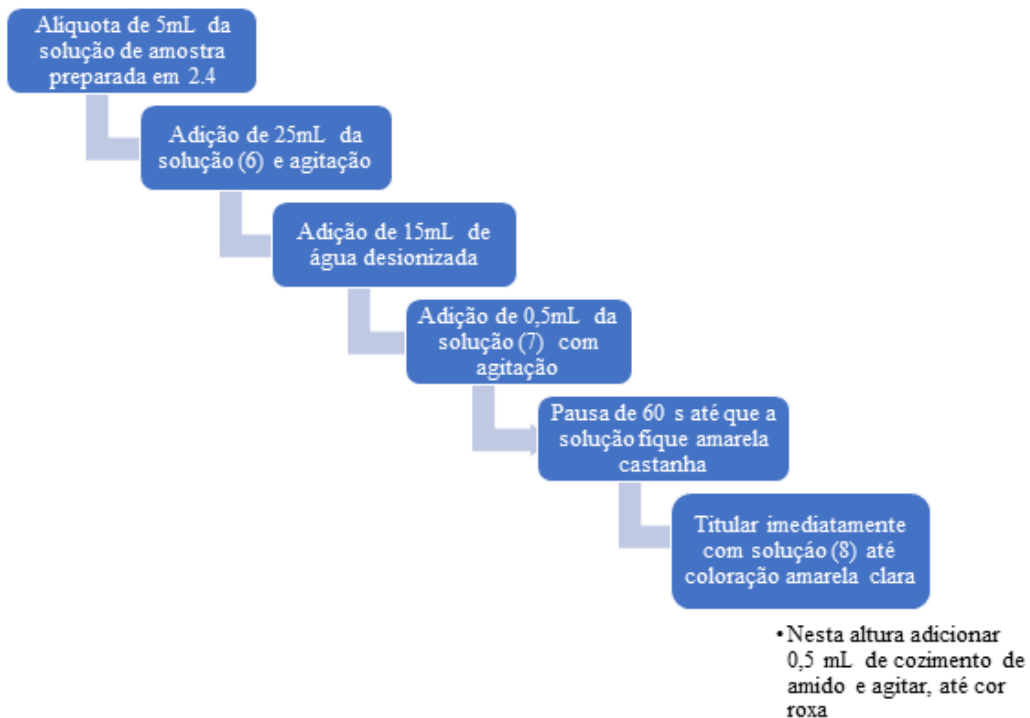


Figura 2.3 - Representação esquemática para a determinação do IP nas amostras e branco para o método II

O IP para o método I foi calculado de acordo com a equação (2.3) [22].

$$IP (meqO_2/kg amostra) = \frac{(Abs_{am} - Abs_b) \times m}{55,84 \times m_0} \quad (2.3)$$

O Índice de Peróxidos para o método II foi calculado de acordo com a equação (2.4) [34].

$$IP (meqO_2/kg amostra) = \frac{(V1 - V0) \times N \times 1000}{m_0} \quad (2.4)$$

Onde:

Abs_{am} – absorvância da amostra

Abs_b – absorvância do branco

m – declive da reta de calibração

m_0 – massa da amostra (em g)

$V1$ – volume de solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra (em mL)

$V0$ – volume de solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco (em mL)

N – concentração molar da solução de tiosulfato de sódio

2.6.4 Determinação do índice de *p*-anidisina

A determinação do ipA foi realizada com base na norma *AOCS Official Method Cd 18-90* e compreende duas etapas: numa primeira fase, foi necessário proceder à descoloração da *p*-anidisina e, de seguida, à preparação dessa solução.

2.6.4.1 Reagentes e solventes utilizados

- *p*-anidisina da Merck
- Sulfito de sódio 98-105% da Merck
- Carvão ativado da Sigma-Aldrich
- Ácido acético glacial Carlo Erba Reagents
- Água ultrapura

2.6.4.2 Procedimento experimental

1. Descoloração dos cristais de *p*-anidisina

Devido à coloração escura que os cristais de *p*-anidisina apresentavam, foi necessário proceder à sua descoloração prévia, de acordo com o descrito na norma *AOCS Official Method Cd 18-90*.

2. Preparação da solução de *p*-anidisina 2,5 mg/mL

Na preparação da solução de *p*-anidisina, foram pesados $1,25 \pm 0,01$ mg dos cristais de *p*-anidisina na balança Mettler Toledo, Mod. MS205DU, Adicionaram-se 50 mL de ácido acético, medido em proveta, de modo a dissolver os cristais, obtendo-se uma solução de *p*-anidisina com concentração 2,5 mg/mL em ácido acético. A figura 2.4 apresenta o esquema do processo para a determinação do ipA.

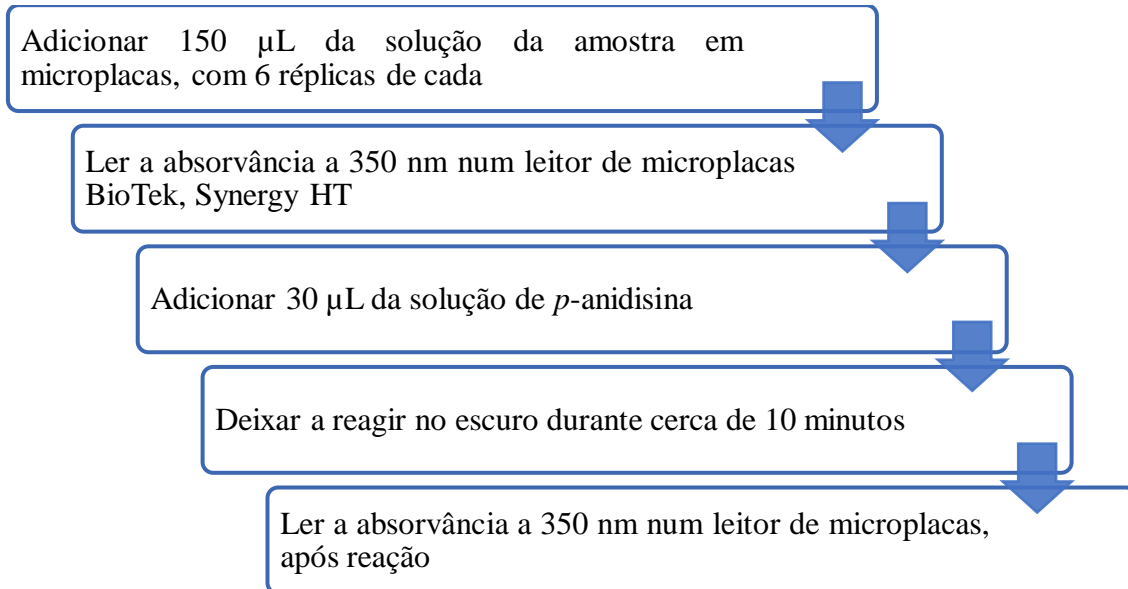


Figura 2.4 - Esquema representativo do processo para determinação do ipA

O ipA é obtido através da equação (2.5) [30].

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

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 g)

2.6.5 Ensaio das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico

O ensaio do TBARS foi realizado com base na descrição encontrada na pesquisa bibliográfica [35, 36].

2.6.5.1 Reagentes e solventes utilizados

- Ácido tricloroacético (TCA) da Merck
- *2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol* (BHT) da Aldrich
- Ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) $\geq 98\%$ da Sigma-Aldrich,
- *1,1,3,3-Tetramethoxypropane* 99% da Aldrich
- Ácido clorídrico da Honeywell
- Água ultrapura
- n-Hexano da Merck

Para a determinação das substâncias reativas ao TBA, foi necessário preparar as seguintes soluções:

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

A preparação das soluções encontra-se descrita no anexo C.1.

2.6.5.2 Procedimento experimental

Prepararam-se 5 soluções padrão de MDA, com concentrações compreendidas entre 5,0 e 80,0 $\mu\text{g/L}$, de modo a obter a curva de calibração. A leitura das fluorescências foi feita para a gama de fluorescência $\lambda_{\text{excitação}} = 485 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 590 \text{ nm}$, utilizando um leitor de placas BioTek, Synergy HT. Foram testadas várias combinações de comprimentos de onda de excitação e emissão, e esta gama foi selecionada por apresentar valores máximos de fluorescência. Foi selecionado o método de detecção por fluorescência uma vez que nenhuma das amostras analisada desenvolveu coloração. No anexo C.2 encontram-se os dados relativos à preparação das soluções padrão, bem como da solução branco.

De seguida, procedeu-se à extração de lípidos nas soluções de amostra, de modo a eliminar possíveis interferências à análise. A figura 2.5 demonstra esquematicamente as etapas do processo de extração de gorduras.

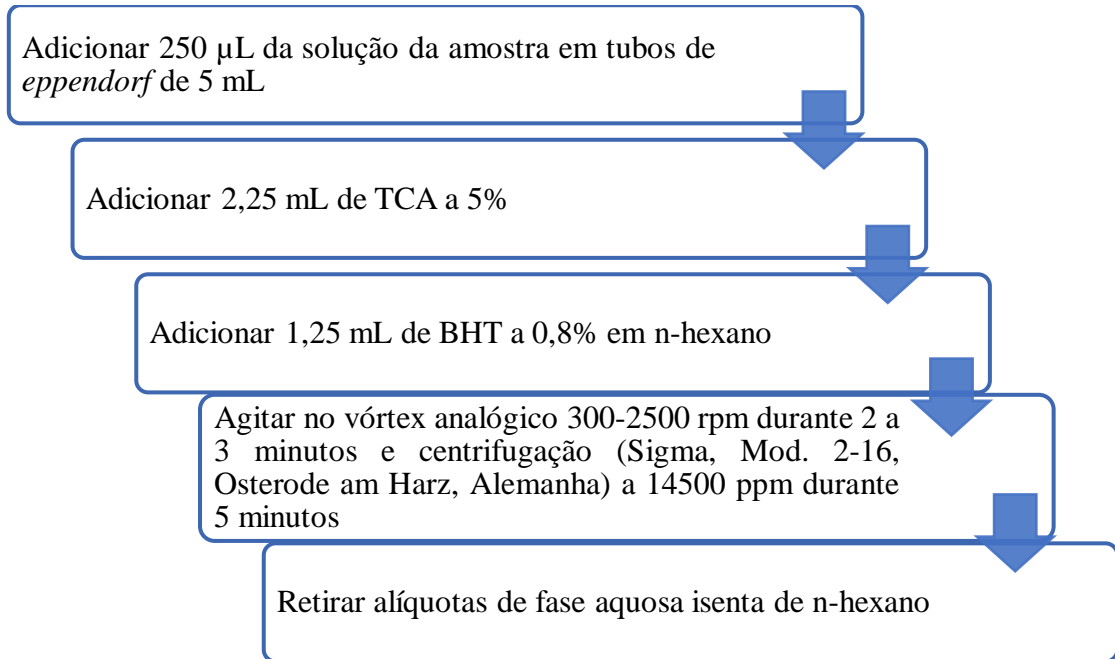


Figura 2.5 - Esquema representativo das etapas do processo para obtenção de amostra isenta de gorduras

A determinação da concentração de MDA nas amostras foi realizada de acordo com o descrito na figura 2.6.

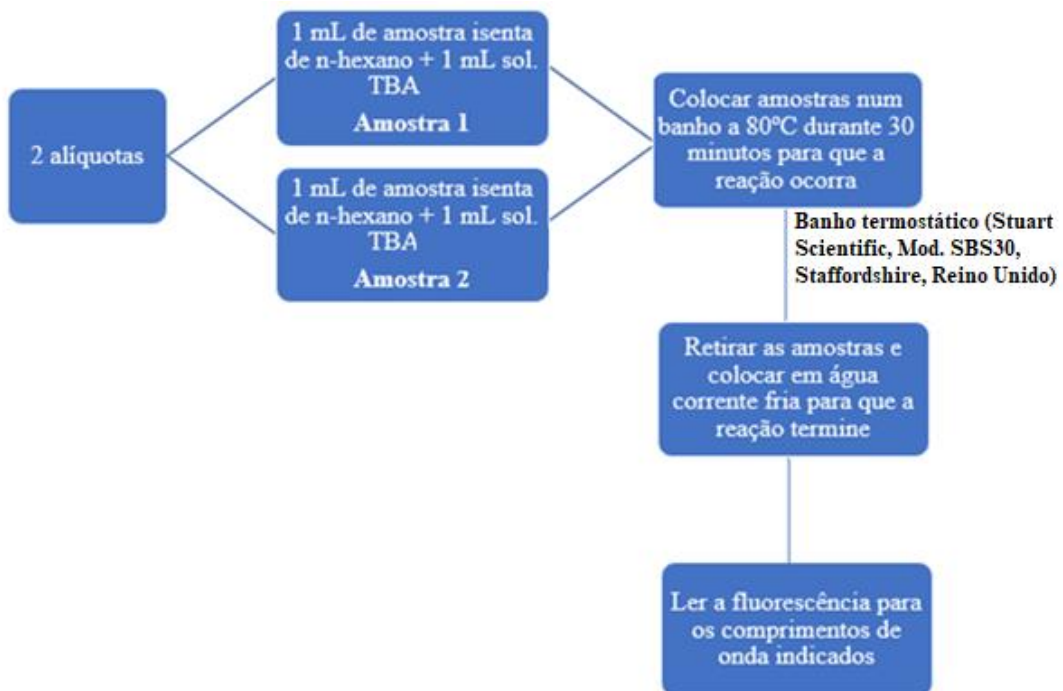


Figura 2.610 - Etapas para determinação da concentração de MDA

O resultado deste ensaio é expresso em concentração de MDA, calculada a partir da reta de calibração obtida.

2.6.6 Determinação do valor total de oxidação (TOTOX)

O TOTOX é uma medida da oxidação total, incluindo os produtos primários e secundários de oxidação [27].

O estado de oxidação das amostras de creme pode ser obtido através do cálculo do TOTOX, de acordo com a equação (2.6) [33].

$$TOTOX = ipA + 2 \times IP \quad (2.6)$$

3. Resultados e Discussão

3.1 Seleção do solvente

Para a seleção do solvente foram testados os dois solventes (*n*-hexano e isooctano) indicados em [34] e o isopropanol, para a dissolução das amostras A e H que apresentavam propriedades opostas (diferentes viscosidades). Na tabela 3.1 encontram-se as informações relativas à dissolução das amostras de creme (A e H) em cada um dos três solventes testados (isopropanol, *n*-hexano e isooctano).

Tabela 3.1 - Resultados relativos à dissolução das amostras de creme A e H em cada um dos três solventes

Estado final	Amostras
Amostra completamente dissolvida	Creme A em isopropanol Creme H em isopropanol
Amostra parcialmente dissolvida	Creme A em <i>n</i> -hexano Creme A em isooctano Creme H em <i>n</i> -hexano Creme H em isooctano

Após testar os três solventes, verifica-se que aquele que dissolve uma maior quantidade de amostra, quer no creme A quer no creme H, é o isopropanol. Por este motivo, este foi o solvente usado em todos os ensaios. Pelle *et al.*, [32] usaram o isopropanol para dissolução de cremes, com uma concentração final de 1%, enquanto Zhai *et al.*, [31] usaram butanol para preparar soluções de creme a 5%.

Nas tabelas 3.2 e 3.3 encontram-se os resultados obtidos para o ipA e para os DC, respetivamente.

Tabela 3.2 - Resultados obtidos para o ipA para as amostras de creme A e H em cada um dos três solventes

Solvente	ipA	
	Creme A	Creme H
<i>n</i> -Hexano	4,25	9,12
Isooctano	2,48	6,04
Isopropanol	4,57	9,39

Tabela 3.3 - Resultados obtidos na determinação dos dienos conjugados para as amostras de creme A e H em cada um dos três solventes

Solvente	DC (%)		Abs _{272nm} /Abs _{232nm}	
	Creme A	Creme H	Creme A	Creme H
<i>n</i> -Hexano	0,0140	0,0340	1,47	1,17
Isooctano	0,0110	0,0400	1,94	1,07
Isopropanol	0,00800	0,0280	2,12	1,23

Através da análise da tabela 3.2, verifica-se que os ipA obtidos para as amostras de creme A utilizando como solventes o isopropanol e *n*-hexano, variam entre 4,57 e 4,25, apresentando um coeficiente de variação de 5,13%. O mesmo se verifica com as amostras de creme H, onde os valores estão compreendidos entre 9,12 e 9,39, obtendo-se um coeficiente de variação de 2,06%.

Por sua vez, analisando a tabela 3.3, verifica-se que os valores obtidos para os DC, para o creme A, utilizando o isooctano e o isopropanol, apresentam um coeficiente de variação de 17,0% e para a razão de absorvâncias obteve-se 6,27%. No caso do creme H, utilizando o *n*-hexano e o isopropanol, obtiveram-se como coeficientes de variação 13,7% para a percentagem de DC, e 3,54% para a razão de absorvâncias.

Assim, verifica-se que os valores obtidos não apresentaram uma discrepância considerável entre si, pelo que se conclui que o solvente utilizado não influencia significativamente os valores obtidos nos dois métodos. Deste modo, foi selecionado o isopropanol, devido à sua menor toxicidade, comparativamente aos restantes solventes, tendo, conseqüentemente, um menor impacto ambiental. Também é menos corrosivo, permitindo a reutilização de materiais, contribuindo para uma economia sustentável. Por fim, este solvente apresenta uma menor volatilidade à temperatura ambiente, maior estabilidade, possibilitando a obtenção de resultados mais reprodutíveis.

3.2 Dissolução das amostras

A tabela 3.4 apresenta os resultados após dissolução das amostras de cremes (A a J) de cada um dos 6 meses, no solvente selecionado (isopropanol).

Tabela 3.4 - Resultados relativos à dissolução das amostras de creme A ao creme J de cada um dos 6 meses de estudo

Estado final	Amostra				
Amostras completamente dissolvidas	A0	A1	A2	B3	
	C0	B1	C2	C3	
	D0	C1	D2	D3	
	E0	D1	F2	F3	
	F0	F1	J2	J3	
	H0	I1			
	J0	J1			
	A4	C5	A6		
	B4	D5	C6		
	C4	F5	D6		
	D4	J5	F6		
	F4		J6		
	Amostras parcialmente dissolvidas	B0	E1	B2	A3
		G0	G1	E2	E3
I0		H1	G2	G3	
			H2	H3	
			I2	I3	
E4		A5	B6		
G4		B5	E6		
H4		E5	G6		
I4		G5	H6		
J4		H5	I6		
		I5			

Verifica-se que as amostras do creme C, D e F para todos os meses, foram completamente dissolvidas no solvente, o que demonstra a eficácia na infiltração do solvente na matriz dos cremes indicados, devido à presença de compostos solúveis. Por outro lado, as amostras do creme G para todos os meses, foram parcialmente dissolvidas no solvente, o que indica que o isopropanol apresenta um fraco desempenho na dissolução deste creme, devido à presença de compostos insolúveis nele.

Verifica-se também que, para todos os cremes, à exceção dos três anteriormente referidos, à medida que a amostra se torna mais envelhecida e mais heterogénea, a sua dissolução no solvente torna-se mais difícil e incompleta.

3.3 Variação do teor de humidade ao longo do estudo

A tabela 3.5 apresenta os resultados obtidos para a determinação do teor de humidade, em percentagem, das amostras de creme (A a J) de cada um dos 6 meses de estudo.

Tabela 3.5 - Resultados obtidos na determinação do teor de humidade, em percentagem

Amostra	Mês	Humidade média (%)	Amostra	Mês	Humidade média (%)	Amostra	Mês	Humidade média (%)
A	0	61,5 ± 0,1	E	0	85,5 ± 5,2	I	0	79,8 ± 1,2
	1	42,9 ± 0,7		1	66,6 ± 0,9		1	42,6 ± 4,9
	2	55,6 ± 2,3		2	31,0 ± 4,8		2	32,4 ± 0,7
	3	30,1 ± 3,0		3	11,0 ± 0,8		3	10,2 ± 0,8
	4	7,17 ± 0,23		4	14,3 ± 0,4		4	7,06 ± 0,28
	5	17,6 ± 0,1		5	10,3 ± 0,6		5	8,04 ± 0,42
B	6	32,4 ± 0,8	6	18,0 ± 2,5	6	7,44 ± 0,04		
	0	66,4 ± 0,8	F	0	84,6 ± 0,1	J	0	81,5 ± 5,1
	1	53,0 ± 5,5		1	80,6 ± 2,2		1	63,3 ± 1,3
	2	44,2 ± 3,8		2	79,2 ± 0,9		2	71,9 ± 5,2
	3	8,28 ± 1,03		3	12,7 ± 2,0		3	9,89 ± 0,91
	4	4,93 ± 0,10		4	9,15 ± 0,22		4	16,0 ± 0,3
5	6,79 ± 0,32	5		13,7 ± 0,1	5		13,1 ± 0,2	
C	6	7,38 ± 1,80	6	12,7 ± 2,9	6	10,2 ± 1,5		
	0	71,9 ± 1,9	G	0	77,3 ± 0,5			
	1	67,3 ± 2,4		1	52,4 ± 2,4			
	2	72,4 ± 6,4		2	17,2 ± 1,4			
	3	20,6 ± 2,6		3	15,0 ± 0,9			
	4	10,7 ± 0,2		4	6,74 ± 0,41			
5	10,4 ± 0,5	5		6,54 ± 0,40				
D	6	11,4 ± 1,6	6	9,74 ± 1,27				
	0	72,5 ± 1,8	H	0	82,4 ± 0,2			
	1	61,1 ± 6,8		1	43,4 ± 0,1			
	2	44,7 ± 1,3		2	7,85 ± 0,22			
	3	66,6 ± 0,7		3	15,8 ± 2,4			
	4	9,31 ± 0,12		4	15,4 ± 0,5			
5	12,2 ± 0,2	5		16,2 ± 0,4				
	6	12,8 ± 1,2	6	11,7 ± 0,5				

Pela análise da tabela 3.5, verifica-se que houve um decréscimo do teor de humidade em todas as amostras de creme, ao longo dos 6 meses de envelhecimento, com exceção dos últimos meses, onde o teor aumentou.

O maior decréscimo foi verificado para o creme I, onde inicialmente tinha 79,8% de humidade e ao fim de 6 meses tinha um teor em humidade de 7,44%, correspondente a uma diminuição de 72,4% de humidade. Por outro lado, o menor decréscimo ocorreu no creme A, com 61,5% de humidade no mês 0 e 32,4% no mês 6, o que corresponde a um decréscimo de 29,1%. Tal deve-se à evaporação parcial da água constituinte das amostras, ao serem submetidas a condições de envelhecimento acelerado. Adicionalmente, uma elevada concentração de ácidos gordos saturados presentes, que possuem cadeias de carbono de elevada estabilidade, levam a uma menor volatilização da amostra durante o ensaio, diminuindo os valores de humidade que se obtêm [29].

Por outro lado, verifica-se que o processo de oxidação leva à formação de água, o que faz com que, em determinados meses, o teor em humidade aumente, como resultado desse processo. Também, alguns erros podem ser induzidos nesta análise, uma vez que envolve o aquecimento da amostra até 120°C, o que leva a que amostras com maior teor de compostos voláteis produzidos (mais envelhecidas) tenham maior perda desses compostos e, conseqüentemente, a percentagem de humidade não é só relativa à massa de água que evaporou, mas também à massa destes compostos, levando a maiores resultados aparentes de humidade.



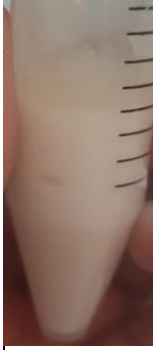
3.4 Avaliação do estado de oxidação lipídica

3.4.1 Análise sensorial

Nas tabelas 3.6 a 3.15 encontram-se os registos efetuados em relação aos parâmetros sensoriais: cor, odor e aspeto, de todas as amostras analisadas, durante os 6 meses de ensaio.

Tabela 3.6 – Análise sensorial efetuada ao creme A, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme A

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
A0	8-01-2020	0	Branco rosado	Odor intenso a flores	Homogéneo	
A1	11-02-2020	1	Branco rosado	Odor a flores com menor intensidade	Gordura à superfície	
A2	11-03-2020	2	Branco rosado	Odor a flores pouco intenso, alterado, ligeiramente desagradável	Gordura à superfície	







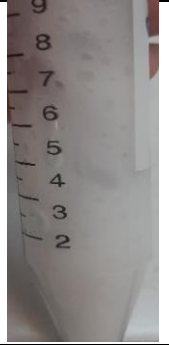
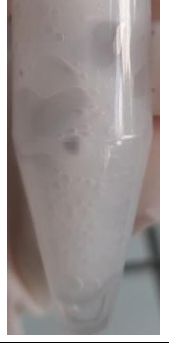
Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
A3	14-04-2020	3	Branco rosado (rosa clarinho)	Odor a flores muito pouco intenso, alterado, desagradável	Gordura à superfície e de algumas bolhas de ar	
A4	14-05-2020	4	Amarelada	Odor alterado, muito pouco intenso e ligeiramente desagradável	Gordura à superfície, algumas bolhas de ar e aspeto baço, ceroso	
A5	15-06-2020	5	Amarelo mais intenso	Odor pouco alterado, muito pouco intenso	Aspeto gelatinoso, gordura à superfície e algumas bolhas de ar	
A6	15-07-2020	6	Amarelo menos intenso	Odor pouco alterado, muito pouco intenso	Aspeto gelatinoso, gordura à superfície e algumas bolhas de ar	

Tabela 3.7 - Análise sensorial efetuada ao creme B, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme B

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
B0	8-01-2020	0	Branco leitoso	Odor suave a flores	Homogéneo	
B1	11-02-2020	1	Branco leitoso	Odor suave a flores	Aspetto ligeiramente baço e ceroso na superfície da amostra; algumas bolhas de ar	
B2	11-03-2020	2	Incolor	Odor suave a flores, praticamente e inalterado	Aspetto baço, ceroso, menos consistente e algumas bolhas de ar	
B3	14-04-2020	3	Incolor	Odor a flores menos suave	Aspetto baço, ceroso, menos consistente e algumas bolhas de ar	


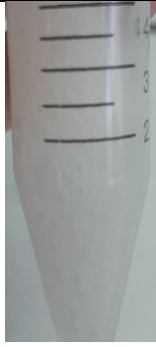




Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
B4	14-05-2020	4	Incolor	Odor muito pouco suave, quase inalterado	Aspeto baço, ceroso e presença de bolhas de ar	
B5	15-06-2020	5	Incolor	Odor muito pouco intenso, praticamente inalterado	Aspeto baço, ceroso e presença de bolhas de ar	
B6	15-07-2020	6	Incolor	Odor agradável, praticamente inalterado	Aspeto baço, ceroso à superfície e presença de bolhas de ar	

Tabela 3.8 - Análise sensorial efetuada ao creme C, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme C

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
C0	8-01-2020	0	Branco leitoso	Odor a flores muito suave, quase inodoro	Homogéneo	
C1	11-02-2020	1	Branco leitoso	Odor a flores alterado, ligeiramente áspero	Aspeto baço e ceroso na superfície	
C2	11-03-2020	2	Branco leitoso	Odor pouco intenso a flores, mais áspero	Aspeto baço, ceroso na superfície e presença de algumas bolhas de ar	
C3	14-04-2020	3	Branco	Odor pouco intenso a flores, mais áspero	Aspeto baço, ceroso e menos consistente e presença de bolhas de ar	








Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
C4	14-05-2020	4	Branco com tom amarelado	Odor ligeiramente desagradável mais áspero, pouco intenso a flores	Aspeto baço, ceroso e presença de bolhas de ar	
C5	15-06-2020	5	Tom amarelado mais intenso	Odor ligeiramente desagradável mais áspero, pouco intenso a flores	Aspeto baço, ceroso e presença de bolhas de ar	
C6	15-07-2020	6	Tom amarelado	Odor pouco alterado, pouco intenso	Aspeto baço à superfície e presença de bolhas de ar	

Tabela 3.9 - Análise sensorial efetuada ao creme D, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme D

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
D0	8-01-2020	0	Branco leitoso	Odor a rosas muito suave e agradável	Homogéneo	
D1	11-02-2020	1	Branco leitoso	Odor a rosas muito suave e agradável, pouco alterado	Homogéneo com aspeto brilhante	
D2	11-03-2020	2	Branco	Odor a rosas muito suave e agradável, pouco alterado	Aspeto brilhante e presença de algumas bolhas de ar	
D3	14-04-2020	3	Incolor	Odor a rosas agradável, mas menos intenso	Aspeto gelatinoso, menos consistente e presença de líquido à superfície	








Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
D4	14-05-2020	4	Incolor	Odor agradável com menos intensidade	Aspeto gelatinoso, menos consistente e presença de líquido sobrenadante e de algumas bolhas de ar	
D5	15-06-2020	5	Incolor	Odor menos intenso e ligeiramente irritante	Aspeto gelatinoso, brilhante e presença de líquido sobrenadante, de algumas bolhas de ar e de grânulos nas paredes do tubo	
D6	15-07-2020	6	Incolor	Odor menos intenso e ligeiramente desagradável	Aspeto gelatinoso, brilhante, presença de líquido sobrenadante, de algumas bolhas de ar e de grânulos nas paredes do tubo	

Tabela 3.10 - Análise sensorial efetuada ao creme E, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme E

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
E0	8-01-2020	0	Branco leitoso com tom amarelado	Odor a aloé vera, agradável e pouco intenso	Homogéneo	
E1	11-02-2020	1	Branco leitoso com tom amarelado	Odor a aloé vera, agradável e pouco intenso (pouco alterado)	Aspetto brilhante e presença de algumas bolhas de ar	
E2	11-03-2020	2	Branco com tom amarelado mais intenso	Odor a aloé vera, agradável e pouco intenso (pouco alterado)	Presença de líquido sobrenadante e algumas bolhas de ar; redução significativa do volume ocupado pelo creme no tubo	
E3	14-04-2020	3	Tom amarelado	Odor a aloé vera, agradável, mas menos intenso	Presença de líquido sobrenadante e aspeto gelatinoso, menos consistente	


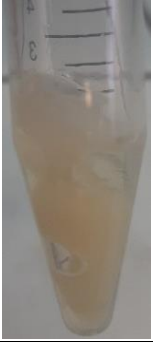





Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
E4	14-05-2020	4	Amarelo intenso	Odor menos intenso, agradável, pouco alterado	Presença de líquido à superfície e de algumas bolhas de ar; aspeto gelatinoso e brilhante	
E5	15-06-2020	5	Amarelo intenso	Quase inodoro	Presença de líquido à superfície e de algumas bolhas de ar; aspeto gelatinoso e brilhante	
E6	15-07-2020	6	Amarelo intenso	Quase inodoro e agradável	Presença de líquido à superfície e de algumas bolhas de ar; aspeto gelatinoso e brilhante	

Tabela 3.11 - Análise sensorial efetuada ao creme F, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme F

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
F0	8-01-2020	0	Branco leitoso	Odor suave, quase inodoro	Homogéneo	
F1	11-02-2020	1	Branco leitoso	Odor suave, quase inodoro (pouco alterado)	Aspetto baço e ceroso na superfície; presença de algumas bolhas de ar	
F2	11-03-2020	2	Branco leitoso	Odor suave, quase inodoro (pouco alterado)	Aspetto baço, ceroso e menos consistente; presença de bolhas de ar	
F3	14-04-2020	3	Branco com tom amarelado	Odor suave, menos intenso, quase inodoro	Aspetto baço, ceroso e menos consistente; presença de bolhas de ar	








Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
F4	14-05-2020	4	Branco com tom ligeiramente amarelado	Odor muito suave, pouco alterado	Aspetto baço e ceroso; presença de bolhas de ar	
F5	15-06-2020	5	Tom amarelado	Odor ligeiramente irritante	Aspetto baço e ceroso; presença de bolhas de ar	
F6	15-07-2020	6	Tom amarelado	Odor quase inodoro, ligeiramente irritante	Aspetto baço à superfície e ceroso; presença de bolhas de ar	

Tabela 3.12 - Análise sensorial efetuada ao creme G, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme G

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
G0	8-01-2020	0	Azul claro	Odor a flores, agradável e suave	Homogéneo	
G1	11-02-2020	1	Azul com tom mais escuro	Odor a flores, agradável e suave	Aspeto brilhante	
G2	11-03-2020	2	Azul com tom mais escuro, esverdeado	Odor a flores menos intenso	Aspeto baço, ceroso e menos consistente; presença de bolhas de ar	
G3	14-04-2020	3	Verde intenso	Odor a flores menos intenso	Aspeto gelatinoso e menos consistente; presença de bolhas de ar	








Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
G4	14-05-2020	4	Verde intenso	Odor menos intenso e ligeiramente desagradável	Aspeto gelatinoso, menos consistente e brilhante à superfície; presença de bolhas de ar	
G5	15-06-2020	5	Verde intenso	Odor ligeiramente irritante com maior intensidade	Aspeto gelatinoso e baço; presença de grânulos à superfície e de bolhas de ar	
G6	15-07-2020	6	Verde intenso	Odor ligeiramente irritante	Aspeto gelatinoso e baço; presença de grânulos à superfície e de bolhas de ar	

Tabela 3.13 - Análise sensorial efetuada ao creme H, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme H

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
H0	8-01-2020	0	Branco leitoso	Odor rosas suave, pouco intenso	Homogéneo	
H1	11-02-2020	1	Branco leitoso	Odor rosas suave, pouco intenso	Aspeto baço e ceroso na superfície da amostra	
H2	11-03-2020	2	Branco com tom transparente	Odor rosas suave, pouco intenso	Aspeto baço, ceroso e menos consistente da amostra	
H3	14-04-2020	3	Branco ligeiramente transparente	Odor rosas suave, pouco alterado	Aspeto baço, ceroso e menos consistente	








Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
H4	14-05-2020	4	Incolor	Odor um pouco desagradável	Aspeto baço, ceroso e brilhante à superfície; presença de bolhas de ar	
H5	15-06-2020	5	Incolor com tom amarelado, muito pouco intenso	Odor um pouco desagradável pouco intenso	Aspeto baço, ceroso e brilhante à superfície; presença de bolhas de ar	
H6	15-07-2020	6	Incolor com tom amarelado, muito pouco intenso	Odor ligeiramente desagradável pouco intenso	Aspeto baço e ceroso à superfície; presença de bolhas de ar	

Tabela 3.14 - Análise sensorial efetuada ao creme I, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme I

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspeto	
I0	8-01-2020	0	Branco leitoso	Odor a rosas suave	Homogéneo	
I1	11-02-2020	1	Branco leitoso	Odor a rosas suave e pouco alterado	Aspeto brilhante	
I2	11-03-2020	2	Branco	Odor a rosas suave e pouco alterado (mais irritante)	Aspeto brilhante	
I3	14-04-2020	3	Branco transparente	Odor alterado, mais irritante	Aspeto baço, ceroso, menos consistente e presença de algumas bolhas de ar	

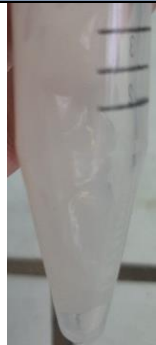







Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
I4	14-05-2020	4	Incolor	Odor agradável, ligeiramente irritante	Aspetto baço e ceroso e brilhante à superfície; presença de algumas bolhas de ar	
I5	15-06-2020	5	Incolor	Odor pouco alterado	Aspetto baço e ceroso e brilhante à superfície; presença de algumas bolhas de ar	
I6	15-07-2020	6	Incolor	Odor pouco alterado	Aspetto baço e ceroso e brilhante à superfície; presença de algumas bolhas de ar	

Tabela 3.15 - Análise sensorial efetuada ao creme J, ao longo dos 6 meses de estudo

Creme J

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registo fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
J0	8-01-2020	0	Branco	Odor flores muito suave, quase inodoro	Homogéneo	
J1	11-02-2020	1	Branco	Odor flores menos intenso	Aspetto brilhante	
J2	11-03-2020	2	Branco	Odor flores menos intenso	Aspetto brilhante; presença de algumas bolhas de ar	
J3	14-04-2020	3	Amarelado	Odor flores menos intenso, pouco alterado	Aspetto gelatinoso, menos consistente; presença de gordura à superfície e de algumas bolhas de ar	

Amostra	Data	Tempo de envelhecimento (meses)	Análise sensorial			Registro fotográfico
			Cor	Odor	Aspetto	
J4	14-05-2020	4	Amarelado	Odor muito pouco intenso	Aspetto gelatinoso; presença de algumas bolhas de ar	
J5	15-06-2020	5	Amarelado	Odor pouco alterado	Aspetto gelatinoso; presença de grânulos nas paredes do tubo e algumas bolhas de ar	
J6	15-07-2020	6	Amarelado	Odor pouco alterado, ligeiramente desagradável	Aspetto gelatinoso e brilhante; presença de líquido, de grânulos nas paredes do tubo e algumas bolhas de ar	

Pela observação dos resultados anteriores, relativamente à cor das amostras de creme, verificou-se que ao longo dos 6 meses de envelhecimento as amostras brancas A, C, E, F e J adquiriram uma cor amarelada e as amostras B, D, H, I uma coloração transparente. Por sua vez a amostra de creme G que possuía inicialmente uma cor azul, ao longo dos meses obteve uma coloração verde mais intensa.

Em relação ao odor verificaram-se pequenas alterações, uma vez que à medida que as amostras se tornavam mais envelhecidas, a intensidade dos perfumes constituintes das amostras foi diminuindo mas não se dissipou por completo, ainda que tenham surgido ao longo do tempo odores ligeiramente desagradáveis, mas pouco significativos.

Por fim, as maiores alterações foram registadas ao nível do aspeto visual, onde se verificaram que algumas amostras possuíam aspetos gelatinosos, brilhantes e a presença de gordura à superfície. Em algumas destas amostras, também se verificou a presença de líquido sobrenadante (óleos) e de grânulos. Outras amostras, após os seis meses de envelhecimento, adquiriram um aspeto baço, ceroso e também a presença de líquido sobrenadante e grânulos. De um modo geral, surgiu o aparecimento de bolhas de ar em praticamente todas as amostras em estudo. Estas alterações surgem como reflexo das reações do processo de oxidação que decorreram ao longo dos meses.

Analisando a tabela A.1.1 (anexo A.1) da constituição dos cremes, verifica-se que em todos eles existem precursores da oxidação lipídica, como a glicerina, ácidos gordos saturados, insaturados e misturas de triglicerídeos, pelo que são previsíveis as alterações observadas.

3.4.2 Determinação dos DC

Os resultados do ensaio de determinação dos DC para os dez cremes em estudo, ao longo dos seis meses, encontram-se nas tabelas 3.16 e 3.17.

Tabela 3.16 – Valores médios obtidos de dienos conjugados (n=6), em percentagem

Mês	Dienos conjugados (%) ± SD (n=6)			
	A	B	C	D
0	$1,50 \times 10^{-4} \pm 6,65 \times 10^{-6}$	$1,94 \times 10^{-4} \pm 8,74 \times 10^{-6}$	$2,04 \times 10^{-4} \pm 6,71 \times 10^{-6}$	$3,31 \times 10^{-4} \pm 8,05 \times 10^{-6}$
1	$9,45 \times 10^{-5} \pm 6,08 \times 10^{-6}$	$1,41 \times 10^{-4} \pm 1,38 \times 10^{-5}$	$1,77 \times 10^{-4} \pm 8,35 \times 10^{-6}$	$2,87 \times 10^{-4} \pm 2,17 \times 10^{-5}$
2	$1,33 \times 10^{-4} \pm 6,27 \times 10^{-6}$	$1,22 \times 10^{-4} \pm 3,59 \times 10^{-6}$	$2,00 \times 10^{-4} \pm 1,57 \times 10^{-5}$	$1,80 \times 10^{-4} \pm 8,67 \times 10^{-5}$
3	$9,91 \times 10^{-5} \pm 7,39 \times 10^{-6}$	$9,52 \times 10^{-5} \pm 3,04 \times 10^{-6}$	$1,15 \times 10^{-4} \pm 8,26 \times 10^{-6}$	$5,12 \times 10^{-6} \pm 1,36 \times 10^{-7}$
4	$6,9 \times 10^{-5} \pm 2,58 \times 10^{-6}$	$8,58 \times 10^{-5} \pm 2,51 \times 10^{-6}$	$9,76 \times 10^{-5} \pm 4,97 \times 10^{-6}$	$1,81 \times 10^{-4} \pm 1,89 \times 10^{-5}$
5	$7,33 \times 10^{-5} \pm 3,57 \times 10^{-6}$	$8,99 \times 10^{-5} \pm 6,63 \times 10^{-6}$	$9,19 \times 10^{-5} \pm 6,86 \times 10^{-6}$	$1,65 \times 10^{-4} \pm 4,40 \times 10^{-6}$
6	$9,08 \times 10^{-5} \pm 2,88 \times 10^{-6}$	$8,63 \times 10^{-5} \pm 5,87 \times 10^{-5}$	$8,11 \times 10^{-5} \pm 1,75 \times 10^{-6}$	$1,93 \times 10^{-4} \pm 1,56 \times 10^{-5}$
Mês	E	F	G	H
0	$9,03 \times 10^{-4} \pm 2,93 \times 10^{-5}$	$3,64 \times 10^{-4} \pm 9,68 \times 10^{-6}$	$7,76 \times 10^{-4} \pm 2,91 \times 10^{-5}$	$3,24 \times 10^{-4} \pm 8,71 \times 10^{-6}$
1	$1,72 \times 10^{-5} \pm 3,52 \times 10^{-7}$	$3,99 \times 10^{-4} \pm 6,21 \times 10^{-5}$	$9,22 \times 10^{-7} \pm 1,81 \times 10^{-8}$	$1,43 \times 10^{-4} \pm 9,81 \times 10^{-6}$
2	$9,46 \times 10^{-6} \pm 2,37 \times 10^{-7}$	$2,97 \times 10^{-4} \pm 1,10 \times 10^{-5}$	$5,40 \times 10^{-7} \pm 1,07 \times 10^{-8}$	$1,01 \times 10^{-4} \pm 6,45 \times 10^{-6}$
3	$7,86 \times 10^{-6} \pm 3,02 \times 10^{-7}$	$1,16 \times 10^{-4} \pm 1,06 \times 10^{-5}$	$5,31 \times 10^{-7} \pm 7,25 \times 10^{-9}$	$1,14 \times 10^{-4} \pm 6,72 \times 10^{-6}$
4	$8,57 \times 10^{-6} \pm 3,65 \times 10^{-7}$	$1,19 \times 10^{-4} \pm 3,58 \times 10^{-6}$	$4,89 \times 10^{-7} \pm 1,17 \times 10^{-8}$	$1,31 \times 10^{-4} \pm 6,82 \times 10^{-6}$
5	$8,30 \times 10^{-6} \pm 2,43 \times 10^{-7}$	$1,25 \times 10^{-4} \pm 1,21 \times 10^{-5}$	$4,99 \times 10^{-7} \pm 1,13 \times 10^{-8}$	$8,68 \times 10^{-5} \pm 3,32 \times 10^{-6}$
6	$9,24 \times 10^{-6} \pm 1,17 \times 10^{-7}$	$1,11 \times 10^{-4} \pm 8,63 \times 10^{-6}$	$5,19 \times 10^{-7} \pm 1,32 \times 10^{-8}$	$1,05 \times 10^{-4} \pm 6,24 \times 10^{-6}$

Mês	I	J	
0	$2,94 \times 10^{-4} \pm 6,15 \times 10^{-6}$	$5,01 \times 10^{-4} \pm 4,29 \times 10^{-5}$	
1	$1,63 \times 10^{-4} \pm 5,56 \times 10^{-6}$	$1,84 \times 10^{-5} \pm 5,37 \times 10^{-7}$	
2	$1,30 \times 10^{-4} \pm 3,82 \times 10^{-6}$	$1,97 \times 10^{-5} \pm 5,24 \times 10^{-7}$	
3	$1,19 \times 10^{-4} \pm 6,73 \times 10^{-6}$	$8,60 \times 10^{-6} \pm 1,62 \times 10^{-7}$	
4	$1,34 \times 10^{-4} \pm 8,57 \times 10^{-6}$	$9,57 \times 10^{-6} \pm 2,15 \times 10^{-7}$	
5	$1,14 \times 10^{-4} \pm 6,67 \times 10^{-6}$	$8,65 \times 10^{-6} \pm 1,45 \times 10^{-7}$	
6	$1,10 \times 10^{-4} \pm 7,69 \times 10^{-6}$	$9,5 \times 10^{-6} \pm 2,30 \times 10^{-7}$	

Tabela 3.17 - Valores médios obtidos para a razão de absorvâncias a 272nm e 232nm

Mês	Dienos conjugados (Abs 272nm/Abs 232nm) \pm SD (n=6)				
	A	B	C	D	E
0	$0,524 \pm 0,014$	$0,328 \pm 0,006$	$0,562 \pm 0,009$	$0,541 \pm 0,003$	$0,610 \pm 0,003$
1	$0,536 \pm 0,011$	$0,299 \pm 0,009$	$0,538 \pm 0,034$	$0,559 \pm 0,009$	$0,456 \pm 0,007$
2	$0,562 \pm 0,022$	$0,281 \pm 0,011$	$0,461 \pm 0,028$	$0,519 \pm 0,042$	$0,504 \pm 0,004$
3	$0,584 \pm 0,005$	$0,256 \pm 0,012$	$0,663 \pm 0,043$	$0,370 \pm 0,007$	$0,516 \pm 0,006$
4	$0,616 \pm 0,009$	$0,263 \pm 0,012$	$0,703 \pm 0,021$	$0,587 \pm 0,010$	$0,525 \pm 0,006$
5	$0,622 \pm 0,021$	$0,266 \pm 0,021$	$0,739 \pm 0,044$	$0,592 \pm 0,005$	$0,507 \pm 0,002$
6	$0,603 \pm 0,040$	$0,254 \pm 0,009$	$0,670 \pm 0,010$	$0,588 \pm 0,006$	$0,546 \pm 0,002$
Mês	F	G	H	I	J
0	$0,371 \pm 0,012$	$0,561 \pm 0,003$	$0,504 \pm 0,007$	$0,460 \pm 0,004$	$0,320 \pm 0,015$
1	$0,249 \pm 0,015$	$0,377 \pm 0,008$	$0,606 \pm 0,008$	$0,526 \pm 0,008$	$0,332 \pm 0,005$
2	$0,305 \pm 0,013$	$0,388 \pm 0,006$	$0,659 \pm 0,003$	$0,509 \pm 0,014$	$0,350 \pm 0,007$
3	$0,237 \pm 0,010$	$0,387 \pm 0,006$	$0,623 \pm 0,006$	$0,512 \pm 0,004$	$0,323 \pm 0,002$
4	$0,228 \pm 0,009$	$0,391 \pm 0,006$	$0,589 \pm 0,014$	$0,565 \pm 0,014$	$0,318 \pm 0,002$
5	$0,208 \pm 0,023$	$0,388 \pm 0,003$	$0,522 \pm 0,014$	$0,554 \pm 0,025$	$0,310 \pm 0,002$
6	$0,229 \pm 0,013$	$0,388 \pm 0,005$	$0,603 \pm 0,008$	$0,564 \pm 0,027$	$0,307 \pm 0,002$

O valor de DC de todas as amostras permanece pouco alterado desde o estado inicial até ao final do período de envelhecimento. A ligeira diminuição da percentagem em DC e o consequente aumento da razão de absorvâncias, está relacionado com a formação de produtos secundários da decomposição dos DC, caracterizados por absorverem no comprimento de onda de 272nm.

Por sua vez, um decréscimo do conteúdo de DC (tabela 3.16) e o aumento da razão de absorvâncias (tabela 3.17) pode ser justificado pelo facto de existir um maior número de compostos que absorvam a um comprimento de onda de 232nm do que a 272nm e, ao

mesmo tempo, ter ocorrido a decomposição de substâncias que absorvem para um comprimento de onda de 232 nm.

Por outro lado, um aumento do teor em DC, especialmente nos meses finais de envelhecimento, e em simultâneo, a diminuição da razão de absorvâncias indica que a taxa de formação dos DC é superior à taxa da sua decomposição, mas também se deve à presença de compostos secundários que absorvem na mesma região do UV.

Não foram encontrados valores de DC para cosméticos na literatura, mas os valores obtidos neste trabalho foram muito pequenos quando comparados com amostras de leite [29] que possuem na sua composição entre 70-75% de ácidos gordos insaturados e um conteúdo em dienos conjugados de aproximadamente constante e igual a 0,30%. Tal pode ser justificado pela presença de ácidos gordos saturados em maior proporção do que os ácidos gordos insaturados, que inibem a oxidação lipídica [17].

Esta técnica não é tão generalizada como a determinação do IP, uma vez que pode levar a uma subestimação dos resultados de oxidação, pois os hidroperóxidos que contenham menos de duas ligações duplas, podem não ser detetados. Por outro lado, também uma sobrestimação é possível se as ligações duplas conjugadas estiverem presentes no ácido gordo presente na formulação do creme [17].

Deste modo, este método é válido e fornece informações úteis apenas quando estamos perante amostras com quantidades substanciais de ácidos linoleicos ou ácidos gordos ainda mais insaturados [17].

3.4.3 Determinação do IP

Como referido anteriormente, para o cálculo do IP, foi necessário construir a curva de calibração com as sete soluções padrão de ferro (III) preparadas. Na figura 3.1 encontra-se a curva de calibração obtida para o este ensaio.

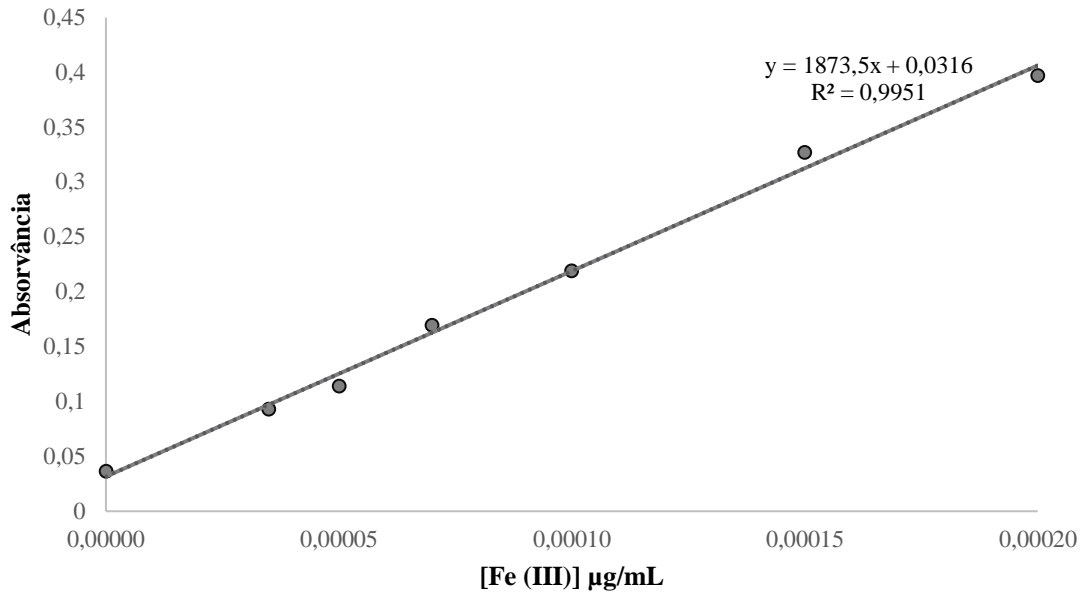


Figura 3.1 - Curva de calibração para os padrões de ferro (III) de 0 a 0,00020 µg/mL

A tabela 3.18 apresenta os IP médios calculados com base nas seis leituras de absorvâncias (n=6) realizadas a cada amostra, expressos em meqO₂/kg amostra seca, para o método de análise I.

Tabela 3.18 – Índices de Peróxidos médios obtidos (n=6) pelo método I, para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6), em meqO₂/kg amostra seca

Mês	IP ± SD (n=6) meq O ₂ /kg amostra seca			
	A	B	C	D
0	6,74 ± 0,32	9,01 ± 0,23	9,16 ± 0,42	1,58 ± 0,20
1	2,80 ± 0,17	4,30 ± 0,26	10,0 ± 0,4	3,33 ± 0,47
2	6,28 ± 0,23	2,06 ± 0,22	8,34 ± 0,79	4,75 ± 0,31
3	3,69 ± 0,23	3,32 ± 0,13	11,2 ± 0,9	5,34 ± 0,14
4	2,80 ± 0,30	0,917 ± 0,173	6,66 ± 0,15	3,68 ± 0,18
5	2,73 ± 0,12	1,07 ± 0,12	7,30 ± 0,42	4,46 ± 0,16
6	2,86 ± 0,23	3,81 ± 0,16	9,67 ± 0,48	5,39 ± 0,36
Amostra	E	F	G	H
0	13,6 ± 0,6	24,1 ± 0,6	25,0 ± 1,0	30,5 ± 1,5
1	7,96 ± 0,66	5,40 ± 0,68	1,22 ± 0,23	11,2 ± 0,6
2	3,47 ± 0,15	4,68 ± 0,44	0,944 ± 0,301	8,12 ± 0,62
3	4,96 ± 0,11	3,51 ± 0,11	0,971 ± 0,064	9,01 ± 0,83
4	3,84 ± 0,15	13,3 ± 1,7	0,480 ± 0,212	10,8 ± 0,6
5	4,30 ± 0,36	6,70 ± 1,20	1,41 ± 0,06	10,4 ± 0,6
6	6,79 ± 0,27	2,73 ± 0,46	3,95 ± 0,13	10,4 ± 0,3

Amostra	I	J	
0	12,8 ± 0,4	29,5 ± 1,6	
1	2,35 ± 0,40	1,17 ± 0,16	
2	3,01 ± 0,17	5,76 ± 0,63	
3	1,01 ± 0,04	4,79 ± 0,23	
4	1,37 ± 0,16	2,60 ± 0,23	
5	1,21 ± 0,10	2,61 ± 0,18	
6	2,96 ± 0,16	2,95 ± 0,19	

Pela análise da tabela 3.18 verifica-se que, de forma geral, o valor de IP ao fim de 6 meses de estudo para todos os cremes, é significativamente inferior ao valor inicial, com exceção dos cremes C, onde o valor final (9,67) é muito próximo do valor inicial (9,16) e do creme D onde o IP aumentou de 1,58 até 5,39 meqO₂/kg amostra seca. Inicialmente, o creme H possuía o maior índice de peróxidos e o creme D menor. Já ao fim de 6 meses, observa-se que é o creme J o que sofreu uma maior diminuição do teor em peróxidos, de 29,5 até 2,95 meqO₂/kg amostra seca.

Thomsen *et al.*, [35] obtiveram valores de IP pelo método IDF para amostras de cremes em condições de envelhecimento de 20°C e 40°C, igual a 1 meq/kg no início. Este valor aumentou ligeiramente até 8 meq/kg, tal como espectável, devido à baixa quantidade lipídica presente. A diferença destes valores para os que foram obtidos neste trabalho, deve-se ao solvente utilizado e à extração lipídica realizada previamente por Thomsen *et al.*, [35]. Estes autores determinaram os valores do IP apenas na fração lipídica dos cremes e não na totalidade de creme dissolvida tal como neste trabalho. Assim os valores obtidos, comparativamente aos valores indicados na literatura, são considerados elevados, e podem também ser justificados pela presença de componentes da matriz das formulações em estudo, como a manteiga de karité e o óleo de palma que contêm 48 e 51% de ácidos gordos insaturados, respetivamente, e das interações entre os compostos que a constituem [37]. A presença de oxigénio durante os ensaios também leva a um aumento da autoxidação do ferro (II). Para além do oxigénio, também o solvente utilizado pode ter impacto nos resultados obtidos, uma vez que os radicais formados na decomposição dos hidroperóxidos podem atrair os hidrogénios dos solventes, e formar outros radicais. Estes radicais derivados dos solventes orgânicos, na presença de oxigénio, formam radicais peróxilo, os quais são responsáveis por produzir novamente os hidroperóxidos [17].

Para além disso, a presença de pigmentos pode representar interferências nos resultados, no caso de absorverem na mesma região de comprimento de onda usado para determinar o IP. Para contornar este problema, uma possível alternativa seria proceder à extração dos pigmentos utilizando éter dietílico [17].

Por outro lado, um baixo valor de IP não implica necessariamente que não tenha ocorrido oxidação. Este resultado pode estar relacionado com uma rápida conversão dos peróxidos em produtos secundários de oxidação, mas também à presença de agentes quelantes de metais, como o EDTA, que diminui significativamente o valor de IP pela competição pelo ferro presente [17].

Apesar de na literatura [35] o IP em cosméticos ter sido determinado pelo método IDF também usado neste trabalho, os resultados obtidos foram validados, comparando o método espectrofotométrico com o método de titulação iodométrica convencional [34]. A tabela 3.19, por sua vez, apresenta os resultados da determinação do IP de quatro amostras com características diferentes, pelo método II.

Tabela 3.19 – IP obtidos pelo método de análise II, para as amostras C, E e H referentes ao mês 6 e à amostra F referente ao mês 4, em meqO₂/kg amostra seca

Amostra	IP meq O ₂ /kg amostra seca
C6	9,08 ± 0,91
E6	8,59 ± 0,86
F4	13,3 ± 1,3
H6	11,4 ± 1,1

Na figura 3.2 encontra-se o gráfico dos resultados da determinação do IP pelos dois métodos.

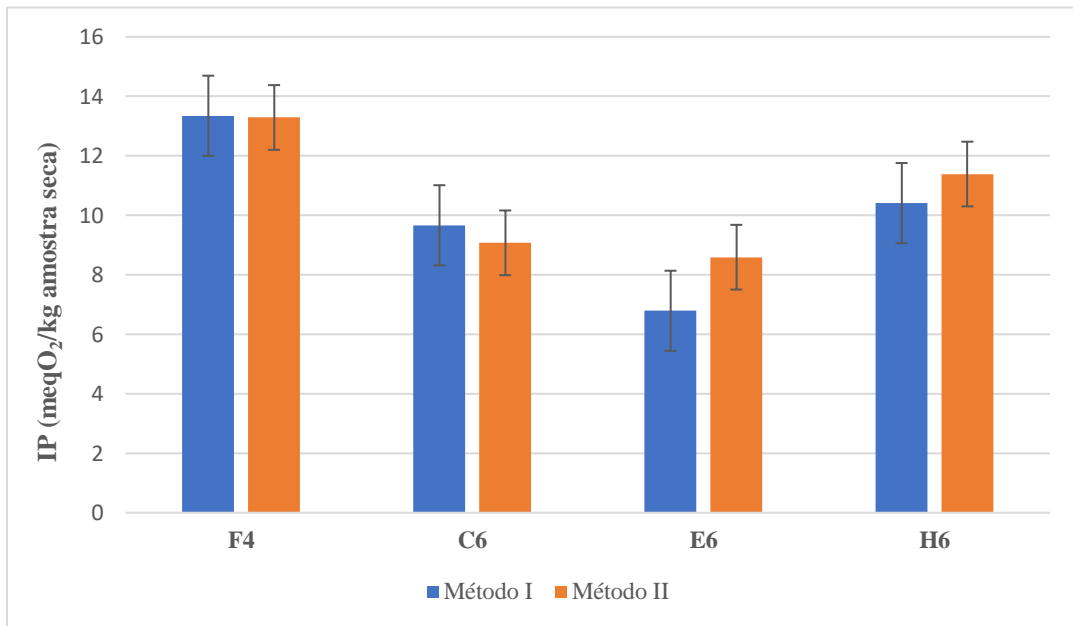


Figura 3.2 II - Resultados dos ensaios realizados para o IP segundo o método I e II

Observando os resultados obtidos na figura anterior, e por comparação com os resultados obtidos pelo método I, verifica-se que para as amostras C6, E6, F4 e H6 se obtêm coeficientes de variação de 4,45%, 16,6%, 0,308% e 6,34%, respetivamente.

Deste modo, verifica-se que ambos os métodos apresentam elevada sensibilidade e uma boa correlação entre si, pelo que se conclui que o método IDF74:2006 é uma boa alternativa ao método tradicional da AOCS, utilizando menos quantidade de amostra, solvente e requerendo menos tempo de análise em laboratório.

3.4.4 Determinação do ipA

Os resultados do ensaio de determinação do ipA para os dez cremes em estudo, ao longo dos seis meses, encontram-se na tabela 3.20.

Tabela 3.20 - ipA médios obtidos (n=6), para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6)

Mês	ipA ± SD (n=6)				
	A	B	C	D	E
0	4,85 ± 0,18	4,99 ± 0,55	7,04 ± 0,23	8,31 ± 0,48	15,0 ± 0,7
1	3,08 ± 0,26	4,25 ± 0,15	5,95 ± 0,22	6,69 ± 0,51	8,59 ± 0,24
2	4,33 ± 0,06	3,51 ± 0,16	6,56 ± 0,32	4,31 ± 0,30	4,21 ± 0,07
3	2,82 ± 0,12	2,37 ± 0,08	3,60 ± 0,27	4,24 ± 0,10	3,76 ± 0,16

Mês	ipA \pm SD (n=6)				
	A	B	C	D	E
4	2,05 \pm 0,07	2,18 \pm 0,07	2,90 \pm 0,18	3,51 \pm 0,17	4,61 \pm 0,15
5	2,27 \pm 0,06	1,97 \pm 0,14	2,20 \pm 0,20	4,39 \pm 0,62	4,17 \pm 0,29
6	2,87 \pm 0,14	2,15 \pm 0,02	2,91 \pm 0,15	3,97 \pm 0,24	4,44 \pm 0,34
Mês	F	G	H	I	J
0	12,1 \pm 0,6	11,8 \pm 0,4	10,2 \pm 0,6	8,87 \pm 0,32	10,5 \pm 0,9
1	9,25 \pm 0,42	7,91 \pm 0,21	3,19 \pm 0,34	3,44 \pm 0,02	5,54 \pm 0,42
2	9,08 \pm 0,56	6,01 \pm 0,20	2,42 \pm 0,12	2,89 \pm 0,04	6,83 \pm 0,15
3	2,39 \pm 0,09	2,43 \pm 0,05	3,38 \pm 0,35	2,23 \pm 0,08	2,51 \pm 0,10
4	2,32 \pm 0,11	2,11 \pm 0,06	3,18 \pm 0,27	1,98 \pm 0,13	2,48 \pm 0,15
5	2,17 \pm 0,10	2,25 \pm 0,19	2,17 \pm 0,08	2,01 \pm 0,38	2,19 \pm 0,07
6	2,40 \pm 0,17	2,29 \pm 0,14	2,76 \pm 0,39	2,19 \pm 0,14	2,37 \pm 0,14

Pela análise da tabela anterior, verifica-se uma tendência decrescente do valor de ipA, para todas as amostras de creme, até ao terceiro mês e aproximadamente a partir do quarto mês, observa-se uma estabilização dos valores até ao final dos seis meses. Tal pode ser justificado pelo consumo de compostos geradores de peróxidos, o que vai diminuindo gradualmente, ao longo do tempo. Também, e tendo em conta a forma de cálculo deste índice, verifica-se que está dependente do teor de humidade, que vai diminuindo gradualmente, o que leva a que a massa de amostra seca aumente ao longo dos meses, refletindo no menor ipA.

No início (mês 0) observa-se um ipA muito elevado quando comparado com os restantes meses, o que pode ser justificado pelo elevado teor em ácidos gordos polinsaturados, mesmo sendo o creme fresco (não sujeito ao processo de envelhecimento) [27]. Muitos compostos voláteis estão presentes inicialmente nos componentes constituintes dos cremes, e são gerados com maior abundância ao longo do armazenamento em condições de envelhecimento acelerado a 30°C. Exemplo disso é a glicerina, presente em todos os cremes, com exceção do creme E, que contém pelo menos o aldeído butanal, que contribui para o valor inicial de ipA. A glicerina tem a capacidade de se oxidar a aldeído, como gliceraldeído na presença de iões metálicos a elevadas temperaturas. Adicionalmente, as impurezas presentes (aproximadamente 0,5%), ainda que em pouca percentagem, podem contribuir para o desenvolvimento de compostos voláteis quando sujeita a condições aceleradas [38].

O grau de insaturação dos ácidos gordos insaturados, também é um fator importante a ter em conta, pois quanto menor for, mais compostos voláteis são formados. Os triglicerídeos cáprico e caprílico, apesar de terem um grau de insaturação baixo, oxidam em larga extensão durante o armazenamento em condições aceleradas. Isto deve-se ao facto de os ácidos gordos sofrerem autooxidação a elevadas temperaturas [13].

Por outro lado, o *D*-pantenol presente nos cremes A, D, G e H, é bastante estável durante o envelhecimento acelerado [37], pelo que leva a que haja menor formação de compostos.

Em estudos anteriores realizados por Thomsen *et al.* [37] às matérias-primas constituintes dos cremes, verificou que inicialmente estavam presentes pequenas quantidades de octanal no filtro de UV benzoato, que está presente na formulação do creme G em estudo neste trabalho. Thomsen *et al.* [37] verificaram que após três meses de envelhecimento acelerado, observaram a presença de aldeídos predominantemente formados nos filtros de UV benzoato e triazina, também eles constituintes do creme G. O composto volátil que Thomsen *et al.* [37] detetaram em maior concentração ao fim dos três meses, foi o 3-metil-1-butanol, proveniente essencialmente do filtro de UV cinamato, presente nos cremes deste estudo D, H e J.

Pequenas quantidades e várias diferenças na estrutura química e propriedades dos componentes das emulsões semi-sólidas em estudo, tornam difícil a medição de todos os compostos presentes em simultâneo [17].

Na literatura, não foram encontrados valores de ipA para amostras de creme de aplicação dérmica.

3.4.5 Ensaio de TBARS

Neste trabalho, utilizou-se o método fluorimétrico. Esta escolha deve-se à sensibilidade deste método em relação ao apresentado em primeiro lugar, onde se obteve um limite de deteção (LOD) de 0,004 e 0,045 µg/L, para o método fluorimétrico e espectrofotométrico, respetivamente (dados não apresentados).

Como já referido, para o ensaio de TBARS, foi necessário construir a curva de calibração com as sete soluções padrão de MDA preparadas. Na figura 3.3 encontra-se a curva de calibração obtida para o este ensaio.

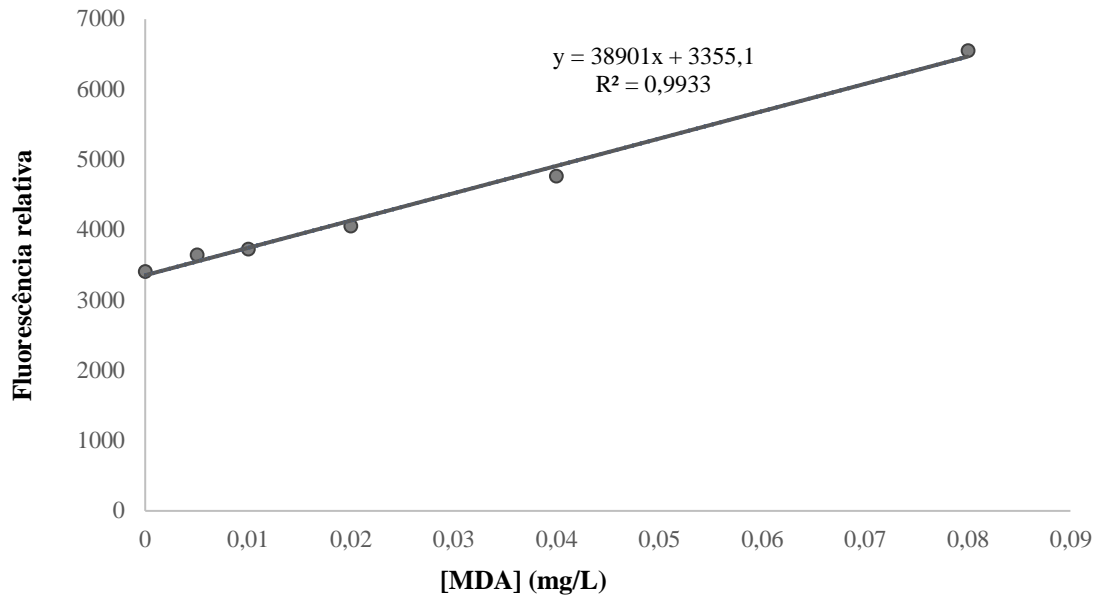


Figura 12 - Curva de calibração para os padrões de MDA de concentração 0 a 0,080 mg/L

Na tabela 3.21 encontram-se as concentrações de MDA médias calculadas com base nas seis leituras de fluorescência (n=6) realizadas a cada amostra, expressos em mg/g amostra seca.

Tabela 3.21 – Concentrações de MDA médias obtidas (n=6), para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6), expresso em mg/g amostra seca

Mês	[MDA] ± SD (n=6) mg/g amostra seca				
	A	B	C	D	E
0	0,0660 ± 0,0300	0,0620 ± 0,0140	0,0480 ± 0,0150	0,0520 ± 0,0160	0,135 ± 0,041
1	0,0390 ± 0,0070	0,0420 ± 0,0100	0,0710 ± 0,0220	0,0380 ± 0,0070	0,0840 ± 0,0340
2	0,0210 ± 0,0140	0,0310 ± 0,0050	0,0450 ± 0,0120	0,0190 ± 0,0070	0,0240 ± 0,0060
3	0,161 ± 0,015	0,156 ± 0,013	0,196 ± 0,015	0,154 ± 0,008	0,123 ± 0,049
4	0,144 ± 0,069	0,204 ± 0,054	0,225 ± 0,113	0,0680 ± 0,0460	0,0430 ± 0,0190
5	0,186 ± 0,060	0,153 ± 0,023	0,129 ± 0,115	0,152 ± 0,032	0,137 ± 0,109
6	0,330 ± 0,209	0,153 ± 0,035	0,267 ± 0,076	0,109 ± 0,027	0,152 ± 0,037
Mês	F	G	H	I	J
0	0,104 ± 0,018	0,0740 ± 0,0460	0,0850 ± 0,0310	0,168 ± 0,020	0,120 ± 0,016
1	0,145 ± 0,037	0,0600 ± 0,0140	0,0310 ± 0,0050	0,0440 ± 0,0060	0,0340 ± 0,0250

2	0,0720 ± 0,0160	0,0110 ± 0,0030	0,0120 ± 0,0060	0,168 ± 0,031	0,0290 ± 0,0150
3	< LOD	0,123 ± 0,091	0,184 ± 0,101	0,120 ± 0,015	0,118 ± 0,035
4	0,0670 ± 0,0070	0,0720 ± 0,0160	0,162 ± 0,093	0,0410 ± 0,0110	< LOD
5	0,201 ± 0,044	0,237 ± 0,064	0,137 ± 0,025	0,317 ± 0,077	0,0760 ± 0,0310
6	0,173 ± 0,018	0,289 ± 0,094	0,208 ± 0,127	0,313 ± 0,157	0,0360 ± 0,0330

De acordo com a tabela 3.21, verifica-se um aumento não linear da concentração de MDA desde o início até ao mês seis, tal como seria espectável, devido à formação de aldeídos. Apesar do ensaio de TBARS ser expresso em concentração de MDA, este não é o único composto a reagir com o TBA. Existem também outras substâncias que reagem com o TBA, e contribuem para o aumento da absorvância/fluorescência para os comprimentos de onda em estudo, como alcanos, 2-alquenais, 2,4-alcadienais, cetonas, entre outros. Outras limitações são as condições de reação como a temperatura, tempo de aquecimento, pH e presença de antioxidantes ou iões metálicos, conhecidos por afetar significativamente o desenvolvimento de coloração. Na literatura, encontram-se valores entre 41 e 622 $\mu\text{mol/kg}$ para diferentes óleos de alimentação de suínos [39], mas não foram encontrados valores de TBARS em cosméticos.

Este método tem sido alvo de críticas, devido à baixa sensibilidade na deteção de baixos níveis de MDA e por ser um método pouco específico, apesar da utilização de fluorimetria aumentar a sensibilidade (cerca de 100 vezes) relativamente ao método espectrofotométrico. Com o intuito de melhorar a especificidade e sensibilidade deste ensaio, algumas modificações ao teste original foram propostas por vários autores, como a redução da temperatura de aquecimento, adição de antioxidantes à amostra de modo a inibir o processo de oxidação durante o teste, extração do MDA antes da formação do cromóforo, pela análise direta no FTIR e uso do HPLC para separar o complexo antes da medição ou para caracterizar as espécies individualmente [40].

3.5 Valor de TOTOX

Na tabela 3.22 encontram-se os valores de TOTOX médios calculados com base nos seis valores de IP e de ipA (n=6) realizados a cada amostra.

Tabela 3.22 – Valores de TOTOX médios obtidos (n=6), para as amostras de A a J e para cada mês de estudo (de 0 a 6)

Mês	Valor de TOTOX \pm SD (n=6)				
	A	B	C	D	E
0	18,3 \pm 0,8	23,2 \pm 0,7	25,3 \pm 0,6	11,5 \pm 0,3	42,3 \pm 1,9
1	8,83 \pm 0,36	12,9 \pm 0,6	26,1 \pm 0,6	3,97 \pm 0,09	24,5 \pm 1,3
2	17,1 \pm 0,2	7,63 \pm 0,49	23,2 \pm 1,7	14,1 \pm 0,2	11,1 \pm 0,3
3	10,2 \pm 0,5	9,02 \pm 0,31	26,6 \pm 0,4	14,9 \pm 0,3	13,7 \pm 0,3
4	7,51 \pm 0,50	4,02 \pm 0,34	16,3 \pm 0,4	11,0 \pm 0,3	12,3 \pm 0,2
5	7,80 \pm 0,20	4,19 \pm 0,14	17,0 \pm 0,8	13,3 \pm 0,6	12,8 \pm 0,7
6	8,78 \pm 0,33	9,77 \pm 0,33	22,2 \pm 1,1	14,8 \pm 1,0	18,0 \pm 0,7
Mês	F	G	H	I	J
0	60,4 \pm 1,3	61,8 \pm 2,4	71,2 \pm 3,5	34,4 \pm 0,5	68,2 \pm 1,5
1	20,0 \pm 1,0	10,4 \pm 0,5	25,2 \pm 1,1	8,15 \pm 0,80	7,78 \pm 0,64
2	18,8 \pm 0,7	7,90 \pm 0,6	18,7 \pm 1,3	8,91 \pm 0,32	18,5 \pm 1,3
3	9,40 \pm 0,15	4,37 \pm 0,18	21,9 \pm 1,4	4,25 \pm 0,13	12,1 \pm 0,5
4	29,0 \pm 3,3	3,07 \pm 0,41	24,9 \pm 1,3	4,83 \pm 0,29	7,85 \pm 0,23
5	15,5 \pm 2,4	5,12 \pm 0,19	23,4 \pm 1,2	4,51 \pm 0,40	7,41 \pm 0,37
6	7,67 \pm 0,16	10,2 \pm 0,3	23,6 \pm 0,8	8,11 \pm 0,31	8,27 \pm 0,52

Analisando a tabela 3.22, verifica-se que o valor de TOTOX diminui não linearmente, desde o mês 0 até ao mês 6, provavelmente como resultado da alteração lipídica. Por outro lado, para o creme D, o valor tende a aumentar não significativamente, devido ao aumento do IP, verificado na tabela 3.18 e à diminuição do ipA (ver tabela 3.19).

Estes resultados traduzem uma baixa estabilidade oxidativa, que pode estar relacionada com a baixa concentração de lípidos quando comparado a uma maior concentração de água que pode conter vestígios de iões metálicos pró-oxidantes. Estes vestígios, podem ser iniciadores de oxidação lipídica, bloqueando o efeito dos antioxidantes, mas também podem iniciar a decomposição dos hidroperóxidos a produtos secundários a uma velocidade superior à espectável. Os efeitos na oxidação lipídica provocada pelos diversos constituintes das emulsões semi-sólidas, torna difícil a

comparação entre diferentes preparações cosméticas [13]. Por esse motivo, na secção seguinte serão apresentados os resultados relativos a cada creme individualmente e será feita uma breve discussão desses resultados.

3.6 Análise dos resultados por creme

3.6.1 Creme A

Na figura 3.4, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme A, ao longo dos seis meses de estudo.

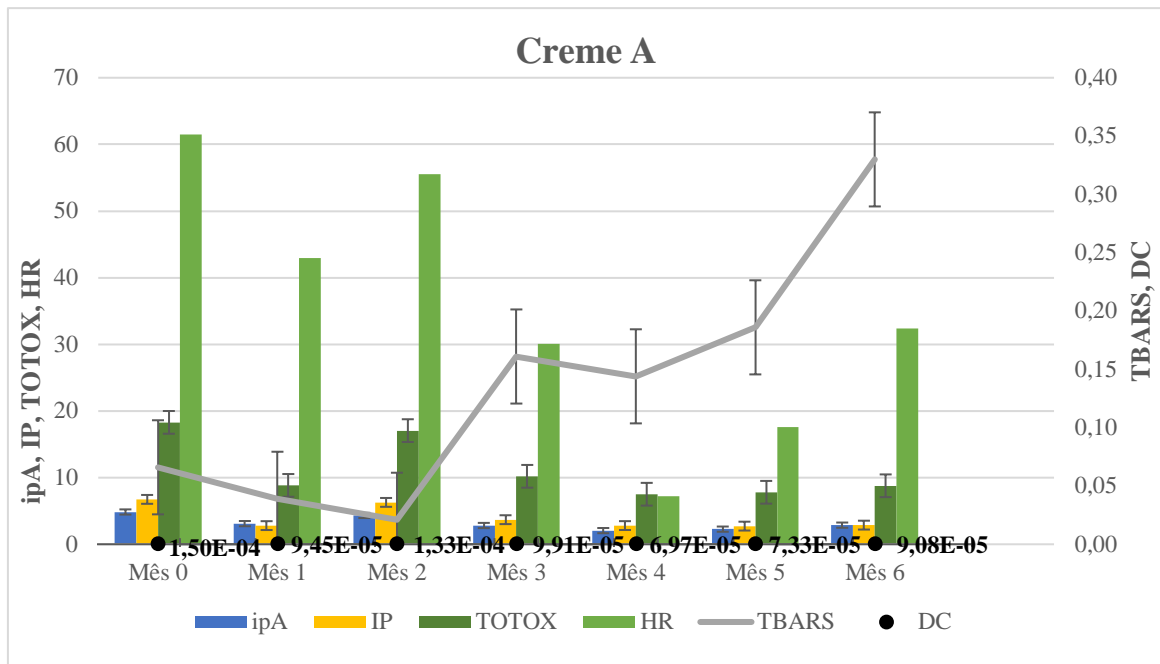


Figura 3.4 – Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme A

Observando a figura 3.4, relativamente aos DC e IP, verifica-se que no primeiro mês (mês 1) e no segundo mês (mês 2) houve um decréscimo seguido de um aumento ligeiramente menos acentuado, em relação ao mês anterior, respetivamente. Entre o terceiro mês e o quarto mês, ocorreu de novo um decréscimo progressivo em relação ao mês anterior. A partir do quarto mês até ao último, os valores apresentaram alguma estabilidade. Assim, o comportamento para os dois métodos foi semelhante, representado, entre o início e o fim do ensaio, um decréscimo de cerca de 40% para o método dos DC, e 57% para o método do IP.

Para o método do ipA, entre o primeiro e segundo mês, verifica-se um decréscimo seguido de um aumento. No terceiro mês verificou-se de novo uma diminuição permanecendo constante até ao último mês, onde voltou a aumentar ligeiramente, o que representa uma diminuição entre o mês inicial e o final de 41%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi decrescente até ao segundo mês, a partir do qual houve

um acréscimo e permaneceu aproximadamente constante, até ao último mês, no qual aumentou acentuadamente, representando um aumento em relação ao mês 0 de 80%.

Por fim, o valor de TOTOX diminuiu no primeiro mês e voltou a aumentar no segundo, verificando-se uma tendência decrescente nos restantes meses e um ligeiro aumento entre os meses 4 a 6. Estes resultados são expectáveis, tendo em conta as variações que ocorrem nos valores de ipA e IP, e representam uma diminuição próximo de 50%.

O creme em estudo tem na sua constituição a glicerina, coco caprilato, manteiga de karité, óleo de argão, caprilil glicol, D-pantenol e alguns aditivos como o extrato de chá verde, o sal dissócido de EDTA e hidróxido de sódio que podem ser fatores importantes no aceleração/retardamento da oxidação lipídica.

Os valores apresentados são inferiores relativamente aos valores obtidos nos restantes cremes, e tal pode ser justificado pela presença dos aditivos que favorecem a inibição da oxidação lipídica, atuando como antioxidantes.

3.6.2 Creme B

Na figura 3.5, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme B, ao longo dos seis meses de estudo.

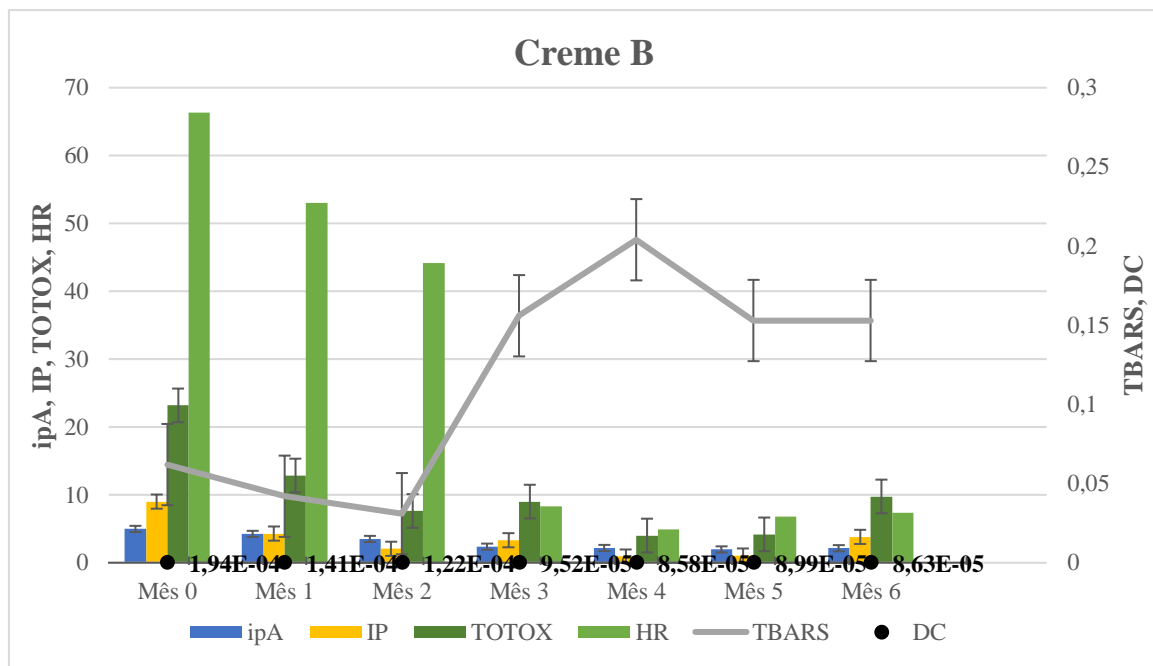


Figura 3.5 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme B

Observando a figura 3.5, relativamente aos DC e IP, verifica-se que do primeiro mês (mês 1) ao terceiro mês (mês 3), onde houve um decréscimo acentuado, em relação ao mês anterior para o método dos DC, e um decréscimo do mês 1 ao mês 2 no IP seguido de um ligeiro aumento até ao mês 3. A partir do terceiro mês, surge um decréscimo mantendo o valor constante até ao final do ensaio, para o método dos DC. Para o IP, a partir do terceiro mês ocorreu um decréscimo, seguido de aumento progressivo até ao mês 6. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo semelhante, de cerca de 56% para o método dos DC, e 58% para o método do IP.

Para o método do ipA, desde o mês inicial até ao quinto mês, observa-se um decréscimo progressivo seguido de ligeiro aumento no último mês, correspondente a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 57%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi decrescente até ao segundo mês, a partir do qual houve um acréscimo até ao quarto mês, seguido de uma diminuição e estabilização do valor até ao final, representando um aumento em relação ao mês 0 de 59%.

Por fim, o valor de TOTOX diminuiu no primeiro e segundo meses, e voltou a aumentar, verificando-se uma tendência decrescente nos restantes meses e um ligeiro aumento entre o quarto e o último mês. Estes resultados são expectáveis, tendo em conta as variações que ocorrem nos valores de ipA e IP, e representam uma diminuição próximo de 58%.

O creme em estudo tem na sua constituição triglicerídeos cáprico/caprílico, triglicerídeos C10-C18, glicerina, caprilil glicol, lecitina hidrogenada, D-pantenol e como aditivos inclui o ácido cítrico, benzoato de sódio e tocoferol que podem ser componentes importantes no aceleração e retardamento, respetivamente, da oxidação lipídica.

Os valores anteriores apresentam uma diminuição global muito próxima e são mais baixos relativamente aos valores obtidos nos restantes cremes, e tal pode ser justificado pela presença de ácidos gordos saturados em maior proporção do que os ácidos gordos insaturados, que inibem a oxidação lipídica, e os aditivos presentes que retardam o processo de oxidação lipídica, atuando como antioxidantes. Exemplo disso é quando o α -tocoferol está presente a elevadas concentrações, pode ter um efeito pro-oxidante, mas quando a sua concentração diminui (com a evolução da oxidação) até ao ponto de inflexão, adquire um efeito contrário, atuando como antioxidante. O ponto de inflexão do α -tocoferol corresponde ao ponto de inflexão do aumento de peróxidos e hidroperóxidos.

O γ e δ -tocoferol já não exibem o efeito de pro-oxidante. Assim, a influência do α -tocoferol no processo de oxidação pode ser mais predominante do que a presença de ácidos gordos [41].

3.6.3 Creme C

Na figura 3.6, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme C, ao longo dos seis meses de estudo.

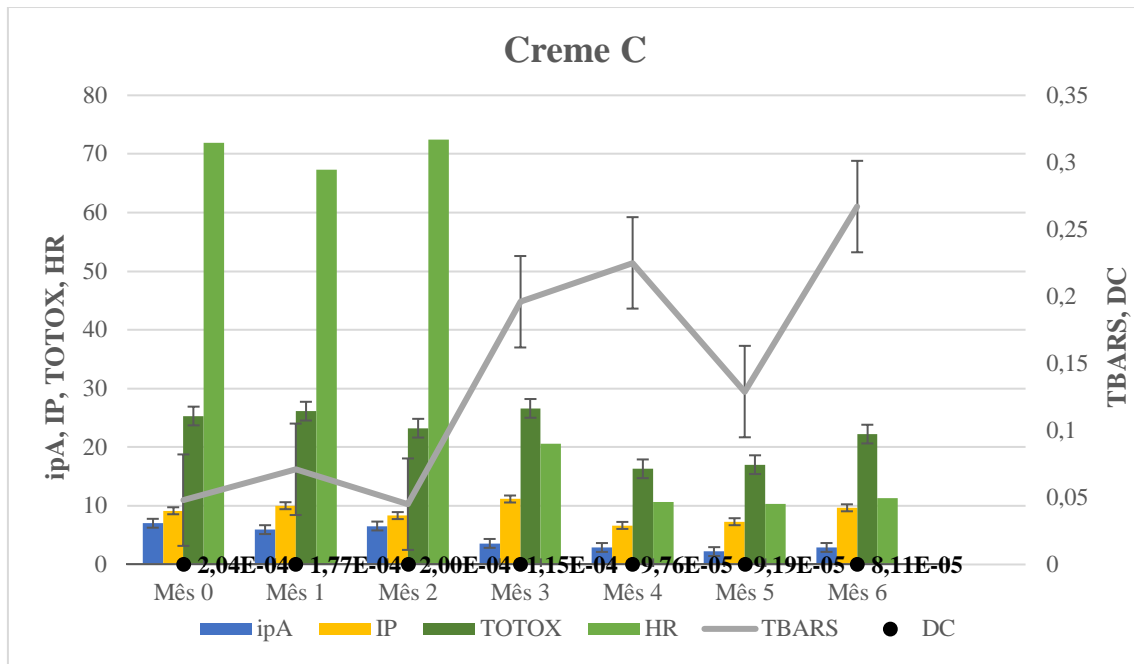


Figura 3.6 – Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme C

Pela análise da figura 3., relativamente aos DC, verifica-se que do primeiro mês (mês 1) ao terceiro, manteve-se com poucas oscilações com diminuição a partir do mês 3, permanecendo depois constante. Para o IP, o valor manteve-se aproximadamente constante (com pequenas oscilações) até ao terceiro mês, onde surge um decréscimo mais acentuado e com poucas variações até ao final. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 60% para o método dos DC, e um aumento 5% para o método do IP.

Para o método do ipA, desde o mês inicial (mês 0) até ao segundo mês, observa-se uma tendência constante seguido de decréscimo até ao último mês onde houve ligeiro aumento. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 59%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi ligeiramente oscilatório até ao segundo mês, a partir do qual houve um acréscimo acentuado, seguido de uma diminuição

do mês 4 ao mês 5 e novo aumento do valor no mês final, representando um aumento em relação ao mês 0 de 82%.

Por fim, o valor de TOTOX mantém-se constante até ao mês 3, a partir do qual diminuiu acentuadamente, voltando a aumentar no último mês. Estes resultados são expectáveis, tendo em conta as variações que ocorrem nos valores de ipA e IP, e representam uma diminuição baixa de 12%.

O creme em estudo tem na sua constituição triglicerídeos cáprico/caprílico, manteiga de karité, óleo de semente de chia, óleo de semente de limão, glicerina, e nos aditivos inclui o extrato de goji, extrato de gengibre, spirulina em pó, teprenona, sal dissódico de EDTA, hidróxido de sódio, ácido cítrico e benzoato de sódio que podem ser componentes importantes no aceleração/retardamento da oxidação lipídica. Como misturas de compostos orgânicos, destaca-se o citral, o limoneno e o perfume.

Os valores anteriores são mais altos relativamente aos valores apresentados nos cremes anteriores, o que pode ser justificado pela presença de ácidos gordos insaturados em maior proporção do que os ácidos gordos saturados, para além disso, os aditivos presentes podem estar a promover um efeito pro-oxidante, favorecendo a oxidação de forma mais rápida. Por fim, os compostos orgânicos presentes estão em maior número que nos dois cremes anteriores, fazendo com os valores de ipA e TBARS (utilizado para avaliar os produtos secundários, de natureza orgânica) sejam mais elevados, influenciados pela presença destes compostos.

3.6.4 Creme D

Na figura 3.7, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme D, ao longo dos seis meses de estudo.

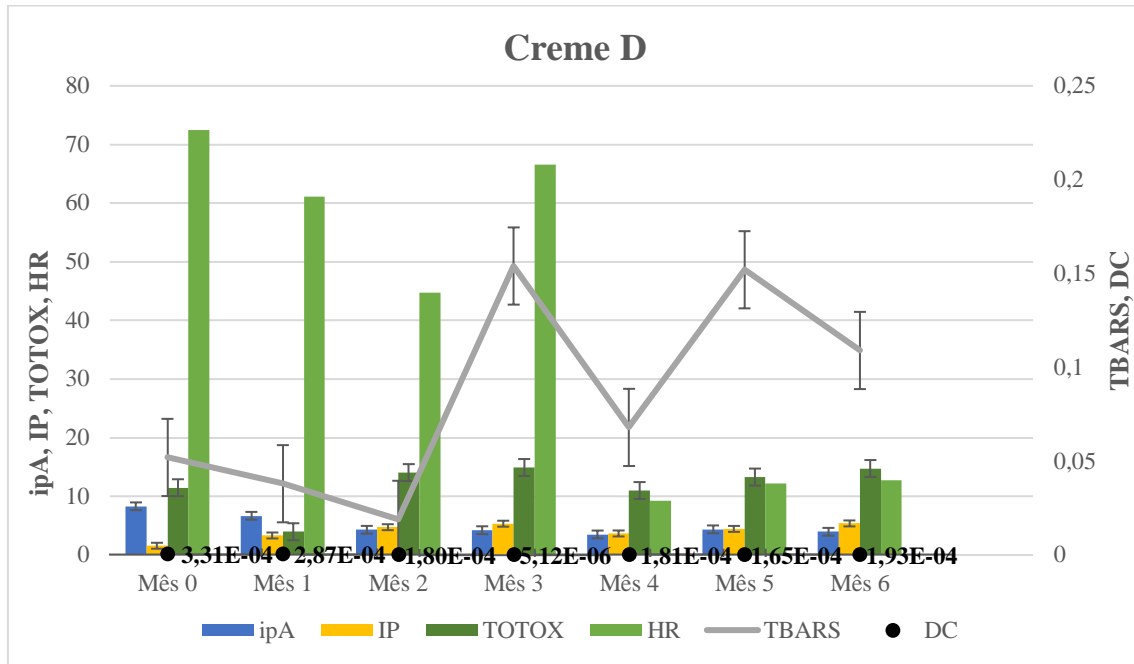


Figura 3.7 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme D

Pela análise da figura 3.6, relativamente aos DC, verifica-se que do mês 0 ao mês 3, o valor diminuiu. A partir do terceiro mês, o valor aumentou e manteve-se estável até ao final. Para o IP, o valor aumentou gradualmente até ao terceiro mês, onde sofreu ligeira descida e manteve-se aproximadamente constante (com pequenas oscilações). Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 42% para o método dos DC, e um aumento de 71% para o método do IP.

Para o método do ipA, desde o mês inicial até ao segundo mês, observa-se uma tendência decrescente gradual, seguido de pequenas oscilações do valor até ao último mês. A diminuição observada entre o mês inicial e o final é de 52%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o valor diminuiu até ao segundo mês, onde houve um aumento exponencial, seguido de oscilações (diminuição-aumento-diminuição), representando um aumento em relação ao mês 0 de 53%.

Por fim, o valor de TOTOX diminuiu até ao mês 1, e aumentou, permanecendo estável até ao mês 6. Estes resultados representam um aumento de 22%.

O creme em estudo tem na sua constituição triglicerídeos cáprico/caprílico, óleo *olus*, óleo de amêndoas doces, glicerina, caprilil glicol, D-pantenol e como aditivos inclui o metoxicinamato de octilo, salicilato de etilhexilo, butil-metoxidibenzoilmetano, acetato de tocoferol, hidroxitolueno butilado, ácido cítrico e hidróxido de sódio.

Pelo valor de TOTOX obtido, verifica-se que o processo de oxidação lipídica foi mais lento para este creme, em comparação com os restantes cremes analisados, e tal pode ser justificado pela presença de ácidos gordos saturados e aditivos, que retardam o processo de oxidação.

3.6.5 Creme E

Na figura 3.8, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme E, ao longo dos seis meses de estudo.

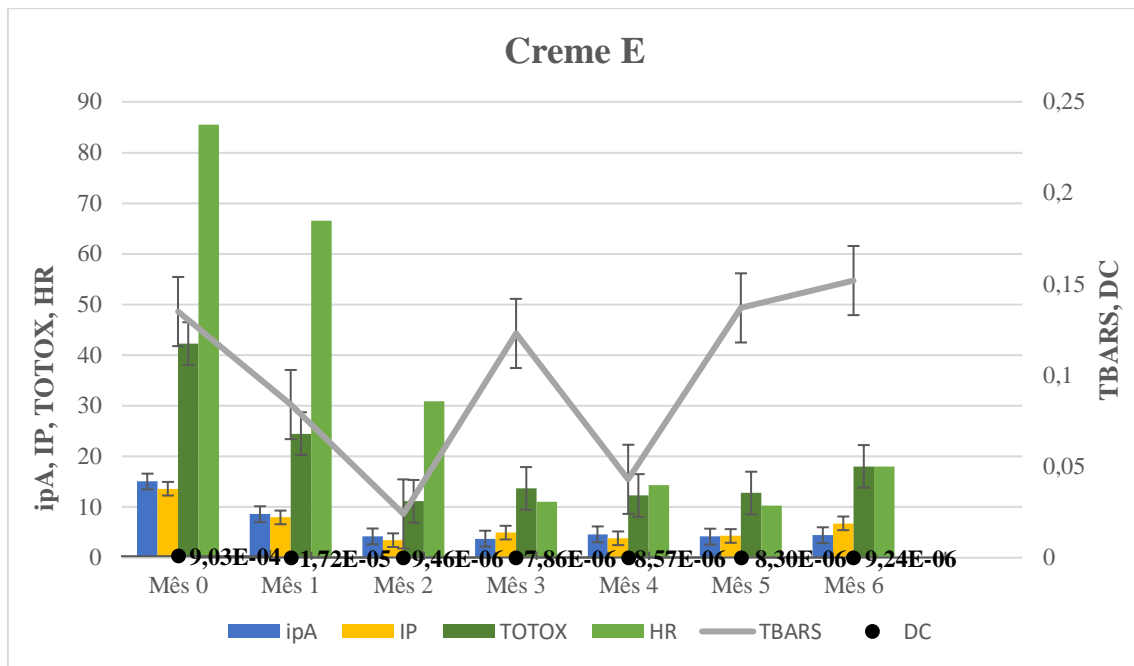


Figura 3.8 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme E

Pela análise da figura 3.8, relativamente aos DC, verifica-se que ocorreu uma diminuição gradual até ao mês 2 e de seguida o valor permaneceu constante até ao final do mês de envelhecimento. À semelhança do método anterior, para o IP, o valor diminuiu acentuadamente até ao segundo mês, e de seguida permaneceu constante até ao final. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 99% para o método dos DC, e 50% para o método do IP.

Para o método do ipA, desde o mês inicial até ao segundo mês, observa-se uma tendência decrescente seguido de estabilização do valor até ao último mês. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 70%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o valor diminuiu acentuadamente até ao segundo mês, a partir do qual houve

oscilações de amplitude considerável até ao mês final, representando um aumento em relação ao mês 0 de 11%.

Por fim, o valor de TOTOX diminui gradualmente até ao mês 2, a partir do qual estabiliza, e voltou a aumentar no último mês. Estes resultados representam uma diminuição de 57%.

O creme em estudo tem na sua constituição apenas caprilil glicol e aditivos acetato de tocoferol, EDTA tetrassódico, ácido ascórbico, ácido cítrico, benzoato de sódio, sulfito de sódio, que podem ser componentes importantes no aceleração/retardamento da oxidação lipídica.

Os valores anteriores relativos aos compostos secundários de oxidação são elevados e oscilam em torno do mesmo valor, o que pode ser justificado pela presença de aditivos em maior proporção do que ácidos gordos, acelerando o processo de oxidação e também a interação entre os diferentes constituintes leva a esta oscilação.

3.6.6 Creme F

Na figura 3.9, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme F, ao longo dos seis meses de estudo.

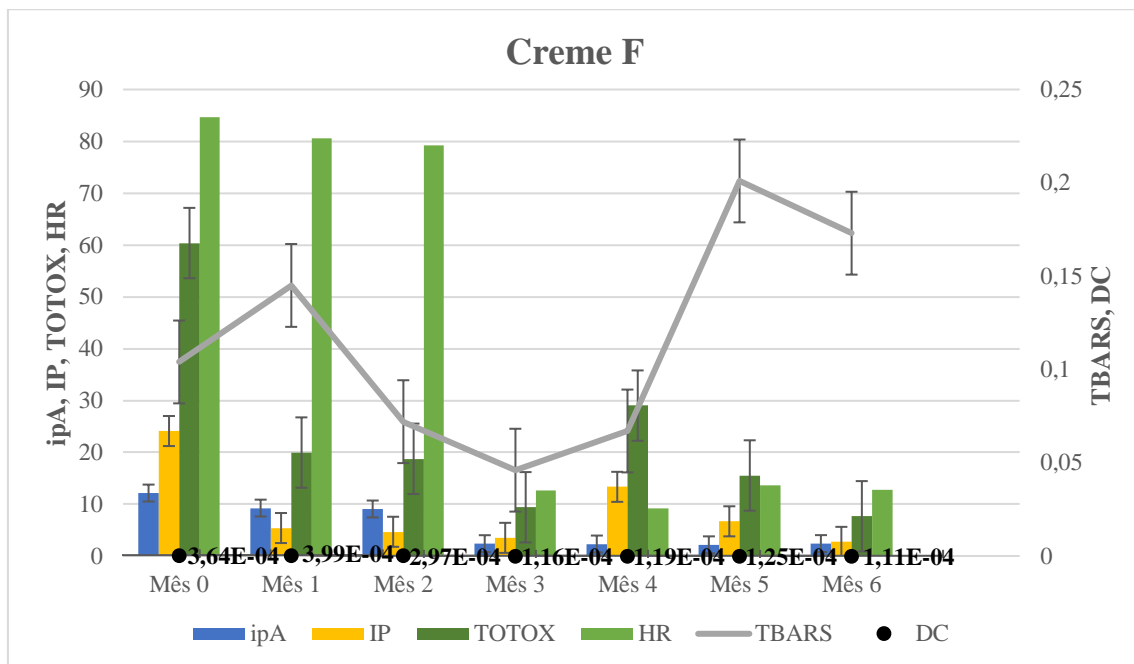


Figura 3.9 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme F

Pela análise da figura 3.9, relativamente aos DC, verifica-se que até ao último mês o valor foi oscilatório. Para o IP, o valor diminuiu acentuadamente até ao mês 1 e manteve-se estável até ao mês 3, a partir do qual sofreu um aumento acentuado seguido de diminuição. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 70% para o método dos DC e 89% para o método do IP.

Para o método do ipA, desde o mês inicial até ao segundo mês, observa-se uma tendência constante seguido de decréscimo até ao mês seguinte, e estabilização do valor. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 80%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi muito oscilatório, onde aumentou até ao mês 1, onde diminuiu até ao mês 3, seguido de aumento gradual até ao quinto mês, tendo novamente diminuído no último mês. Representa um aumento em relação ao mês 0 de 40%.

Por fim, o valor de TOTOX decresce acentuadamente até ao mês 3, a partir do qual aumenta acentuadamente, e voltou a diminuir até último mês. Estes resultados representam uma diminuição elevada de 87%.

O creme em estudo tem na sua constituição coco caprilato, óleo de rosas, óleo de semente de girassol, glicerina e os aditivos inclui o ácido cítrico, hidróxido de sódio e tocoferol.

Pelo valor de TOTOX obtido, verifica-se que o processo de oxidação lipídica foi muito rápido para este creme, e tal pode ser justificado pela presença de ácidos gordos insaturados e aditivos (tocoferol), que aceleram o processo de oxidação.

3.6.7 Creme G

Na figura 3.10, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme G, ao longo dos seis meses de estudo.

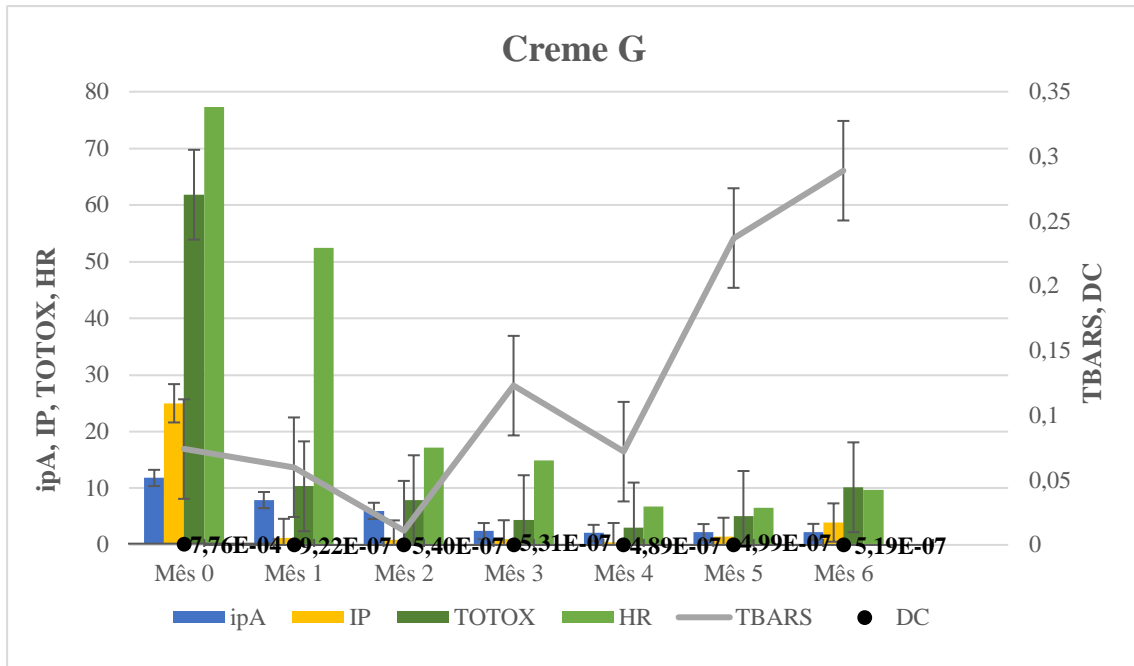


Figura 3.10 13- Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme G

Pela análise da figura 3.10, relativamente aos DC, verifica-se que ocorreu uma diminuição acentuada até ao primeiro mês e manteve-se constante até ao final. Para o IP, o valor decresceu acentuadamente e manteve-se constante. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de 100% para o método dos DC e 84% para o método do IP.

Para o método do ipA, o valor manteve-se estável até ao segundo mês, onde decresceu ligeiramente, mantendo-se constante. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 81%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi decrescente até ao mês 2, seguido de comportamento oscilatório e, a partir do mês 4 houve um acréscimo acentuado, representando um aumento em relação ao mês 0 de 74%.

Por fim, o valor de TOTOX decresce consideravelmente até ao mês 4, a partir do qual aumentou acentuadamente. Estes resultados representam uma diminuição de 84%.

O creme em estudo tem na sua constituição coco de ácido caprilato, glicerina, D-pantenol e nos aditivos inclui o etilhexil triazona, acetato de tocoferol, sal dissócido de EDTA, dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato, hidróxido de sódio, ácido benzóico e tocoferol. Como misturas de compostos orgânicos, destaca-se o citronelol e o perfume.

Dado o baixo teor lipídico presente neste creme, seria expectável que os valores fossem mais baixos, o que não se verifica, e tal pode ser justificado pela presença de compostos orgânicos e a elevada proporção em aditivos.

3.6.8 Creme H

Na figura 3.11, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme H, ao longo dos seis meses de estudo.

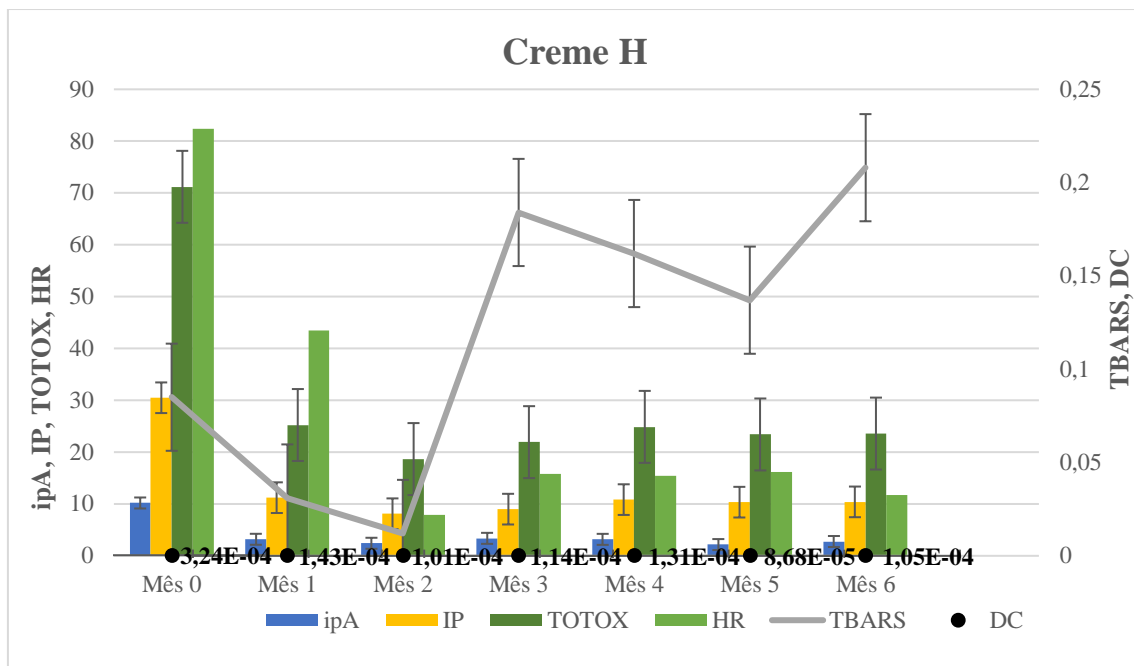


Figura 3.11 – Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme H

Pela análise da figura 3.11, relativamente aos DC, verifica-se que ocorreu uma diminuição gradual até ao mês 2 e estabilizou o valor, seguido de nova diminuição. Para o IP, o valor decresceu acentuadamente do mês 0 ao mês 1 e manteve-se constante até ao final. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 68% para o método dos DC e 66% para o método do IP.

Para o método do ipA, verifica-se uma descida do mês 0 ao mês 1 seguido de uma estabilização do valor até ao mês 6. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 73%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi decrescente até ao segundo mês, a partir do qual houve um acréscimo acentuado, seguido de uma diminuição até ao mês 5 e novo aumento do valor no mês final, representando um aumento em relação ao mês 0 de 59%.

Por fim, o valor de TOTOX decresceu acentuadamente até ao mês 2, a partir do qual manteve-se constante. Estes resultados representam uma diminuição de 67%.

O creme em estudo tem na sua constituição triglicerídeos cáprico/caprílico, manteiga de karité, glicerina, ácido palmítico, caprilil glicol, D-pantenol. e como aditivos inclui o metoxicinamato de octilo, acetato de tocoferol, EDTA tetrassódico, benzoato de sódio, hidroxitolueno butilado, ácido cítrico, salicilato de benzilo. Como misturas de compostos orgânicos, destaca-se o linalol, citronelol, lilial, ionona alfa-isometil, hexil cinamaldeído, geraniol, limoneno e perfume.

Dado o considerável teor lipídico presente neste creme, era expectável que os valores fossem elevados, o que se verifica, assim como a elevada presença de compostos orgânicos.

3.6.9 Creme I

Na figura 3.12, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme I, ao longo dos seis meses de estudo.

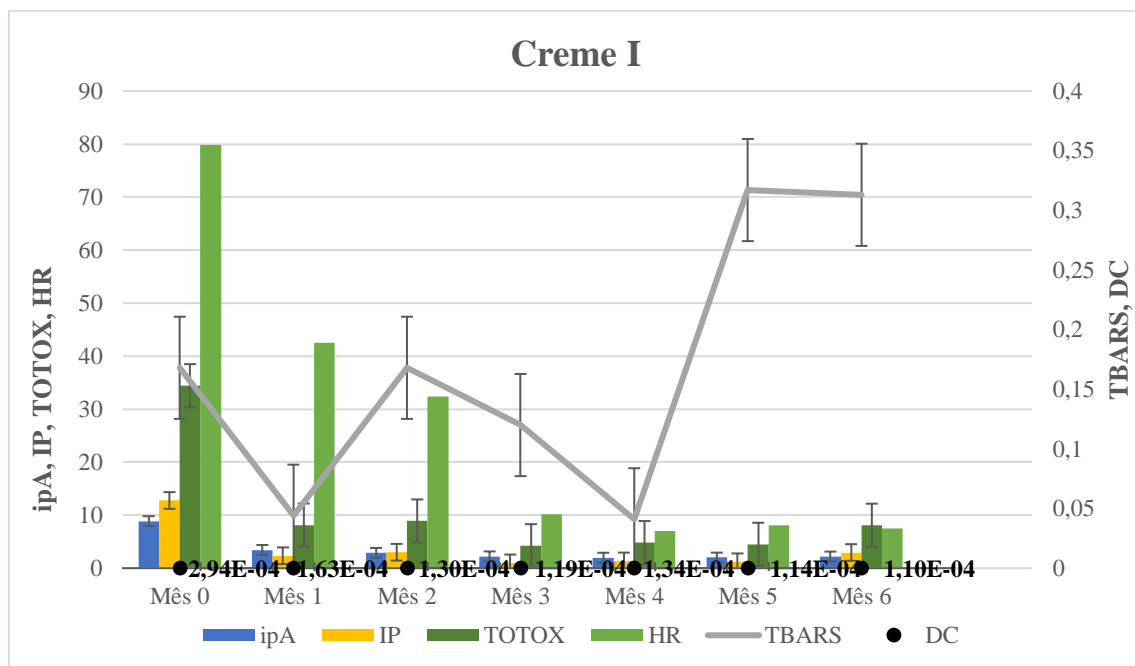


Figura 3.12 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme I

Pela análise da figura 3.12, relativamente aos DC, verifica-se que houve uma diminuição até ao mês 3, a partir do qual o valor permaneceu constante. Para o IP, o valor diminuiu durante o primeiro mês e manteve-se constante. Assim, entre o início e o fim do

ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 63% para o método dos DC e 77% para o método do IP.

Para o método do Índice de *p*-Anidisia, verifica-se que houve uma diminuição até ao mês 4, a partir do qual o valor permaneceu constante. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 75%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi muito oscilatório até ao mês final, representando um aumento em relação ao mês 0 de 46%.

Por fim, o valor de TOTOX diminuiu durante o primeiro mês, onde permaneceu constante e diminuiu de novo, permanecendo de novo, constante. Face a estes resultados, ocorreu uma diminuição total de 76%.

O creme em estudo tem na sua constituição triglicerídeos cáprico/caprílico, manteiga de karité, óleo de soja, glicerina, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, caprilil glicol e nos aditivos inclui o hidróxido de sódio, ácido cítrico e tocoferol. Como misturas de compostos orgânicos, destaca-se o linalol, citronelol e o perfume.

Dado o teor lipídico presente neste creme, era expectável que os valores fossem elevados, o que se verifica.

3.6.10 Creme J

Na figura 3.13, encontram-se os resultados obtidos graficamente de DC, IP, ipA, TBARS, TOTOX e HR para o creme J, ao longo dos seis meses de estudo.

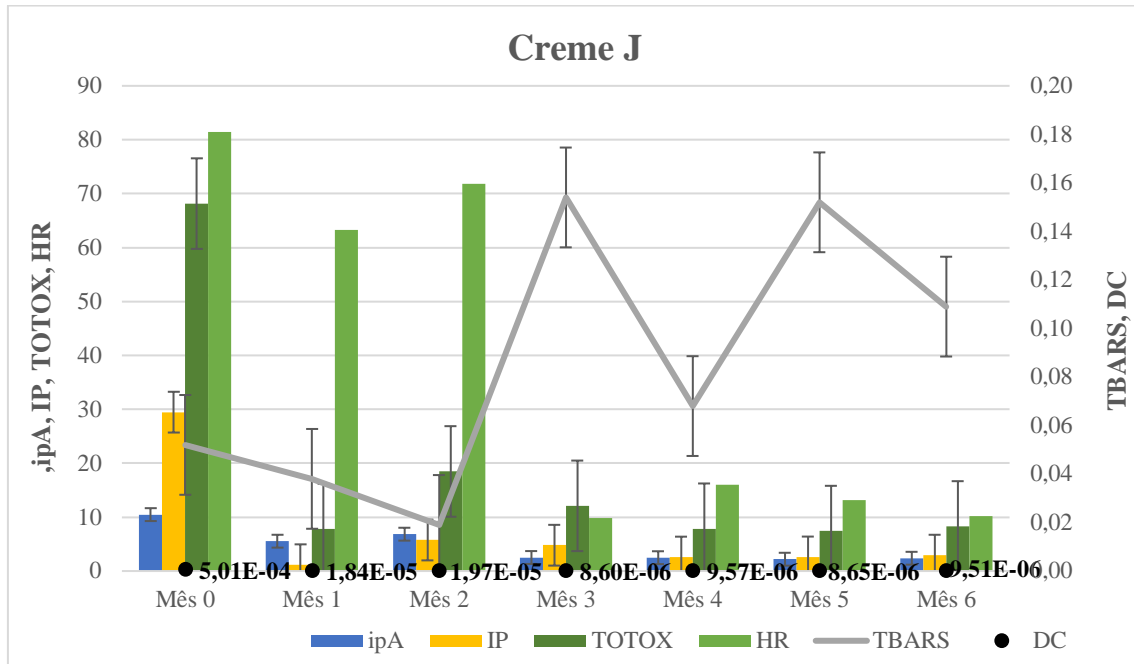


Figura 3.13 - Resultados dos ensaios realizados para as amostras de creme J

Pela análise da figura 3.13, relativamente aos DC, verifica-se que ocorreu uma diminuição gradual até ao mês 4, seguido de estabilização. Para o IP, o valor teve uma queda abrupta durante o primeiro mês, e de seguida, voltou a aumentar, estabilizando o valor. Assim, entre o início e o fim do ensaio, verificou-se um decréscimo de cerca de 98% para o método dos DC e 90% para o método do IP.

Para o método do ipA, desde o mês inicial até ao primeiro mês, observa-se uma queda, seguido de estabilização e nova diminuição, seguido de estabilização final. Corresponde a uma diminuição entre o mês inicial e o final de 77%. Por sua vez, para o ensaio do TBARS, o comportamento foi muito oscilatório até ao mês final, representando um decréscimo em relação ao mês 0 de 70%.

Por fim, o valor de TOTOX diminuiu acentuadamente durante o primeiro mês, a partir do qual aumentou, voltou a diminuir e até estabilizar no mês 4. Estes resultados representam uma diminuição de 88%.

O creme em estudo tem na sua constituição manteiga de karité, óleo *olus*, óleo de amêndoas doces, glicerina, ácido esteárico, caprilil glicol e nos aditivos inclui o metoxicinamato de octilo, tocoferol, sal dissócido de EDTA e hidróxido de sódio.

Tendo em conta o elevado teor lípido, essencialmente constituído por ácidos gordos insaturados, seria de esperar que este fosse o creme a sofrer maior degradação, como resultado da oxidação, como se verifica.

3.7 Contributo dos constituintes para a oxidação

A tabela 3.23 apresenta um resumo dos principais constituintes e derivados destes, dos cremes, que podem contribuir para o estado de oxidação lipídicas das amostras em estudo.

Tabela 3.23 – Contributo dos principais constituintes para o fenómeno de oxidação lipídica

Constituintes	Creme									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Triglicerídeos cáprico/caprílico	X	X	X	X				X	X	
Triglicerídeos C10-C18		X								
Coco de Ácido Caprilato	X					X	X			
Manteiga de karité	X		X					X	X	X
Óleo <i>olus</i>				X						X
Óleo de argão	X									
Óleo de amêndoas doces				X						X
Óleo de rosas						X				
Óleo de semente de chia			X							
Óleo de semente de girassol						X				
Óleo de semente de limão			X							
Óleo de soja									X	
Glicerina	X	X	X	X		X	X	X	X	X
Ácido mirístico									X	
Ácido palmítico								X	X	
Ácido esteárico									X	X
Caprilil glicol	X			X	X			X	X	X
Lecitina hidrogenada	X									
D-pantenol	X			X			X	X		
Compostos orgânicos	1	1	3	1	1	1	2	8	3	1
Aditivos	3	3	8	7	6	3	7	7	3	4
TOTAL	8	3	5	6	1	4	3	6	8	6

A parcela “total” inclui os que contêm na sua composição ácidos gordos saturados e insaturados; e também compostos aromáticos, como terpenos, entre outros, que podem contribuir para o valor dos compostos secundários de oxidação (voláteis) mas também para um menor valor, uma vez que são mais propícios à volatilização. De entre os cremes que apresentam uma maior degradação destacam-se o H e o J, provavelmente pela presença de um maior teor de compostos orgânicos (no primeiro caso) podendo influenciar o valor de compostos secundários, pelo método do ipA. Para o segundo caso, pode-se justificar pela presença de aditivos em baixa proporção face à matéria suscetível de oxidação presente.

4. Conclusões e sugestões para trabalho futuro

Os objetivos propostos foram concluídos com sucesso. Os resultados obtidos numa primeira fase, onde foram testados os solventes *n*-hexano, isopropanol e isooctano em duas amostras, através do método de ipA e DC, indicam que o solvente não tem influência nos resultados, obtendo-se valores concordantes para os três solventes. Deste modo, o solvente a utilizar na dissolução das amostras em estudo, foi o isopropanol por apresentar melhores resultados na dissolução das amostras, menor volatilização e, conseqüentemente, menor perda de amostra; por não danificar o material usado permitindo a sua reutilização e, por fim, por ser um solvente menos tóxico e mais amigo do ambiente.

Conclui-se, pela análise sensorial, que o envelhecimento acelerado pelo aumento de temperatura, promove alterações significativas ao nível do aspeto e cor dos cremes em estudo. Em relação ao odor dos cremes, não se verificaram alterações significativas e características do ranço.

Pela análise do Índice de Peróxidos (IP) segundo o método iodométrico e o método colorimétrico, constata-se que ambos apresentam elevada sensibilidade e uma boa correlação entre si, com a vantagem de que o segundo requer menos quantidades de amostra, solvente e menos tempo de análise em laboratório.

Conclui-se que o creme que apresenta maior extensão de oxidação lipídica, com base nos resultados obtidos de Valor Total de Oxidação (TOTOX), é o creme J. Já o creme D é o que apresenta uma menor extensão de oxidação lipídica. A presença de ácidos gordos saturados permite inibir o processo de oxidação lipídica, diminuindo a velocidade de oxidação. Também, a presença de aditivos, como o tocoferol, pode atuar como pro-oxidante ou antioxidante.

Futuramente, seria importante a abordagem de outras metodologias de envelhecimento acelerado, como a exposição à luz ou a adição de agentes que promovam o efeito, e aplicação de métodos específicos que permitam estudar o comportamento das emulsões sujeitas a envelhecimento acelerado, por GC-MS, através da identificação dos compostos presentes no início, durante e no final do tempo de envelhecimento.

Referências bibliográficas

- [1] Silva, M. A. S., Michniak-Kohn, B., Leonardi, G. R. (2017). *An overview about oxidation in clinical practice of skin aging*, An. Bras. Dermatol, 92(3), 367-374.
- [2] Oliveira, Â (2009). *Desenvolvimento de formulações cosméticas com ácido hialurónico*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. 100 pp.
- [3] ‘DayCare cosmetics. “Saúde & Bem-estar”. <http://daycarecosmetics.com/saiba-mais/saude-bem-estar/> (acedido em 20 de fevereiro de 2020).
- [4] Cosmética em foco. “História dos cosméticos da antiguidade ao século XXI.” 1 de abril de 2018. <https://cosmeticaemfoco.com.br/artigos/historia-dos-cosmeticos-da-antiguidade-ao-seculo-xxi/> (visitado a 20 de novembro de 2019).
- [5] Infarmed — Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P. “Cosméticos”. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/cosmeticos> (visitado a 20 de novembro de 2019).
- [6] Berton-Carabin, C. C., Ropers, M. H., Genot, C. (2014). *Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13, 945-977.
- [7] Thomsen, B. R. (2018). *Lipid oxidation in skincare products*. Kgs. Lyngby, Denmark: Technical University of Denmark. 262 pp.
- [8] Krambeck, K. (2009). *Desenvolvimento de Preparações Cosméticas contendo Vitamina C*, Dissertação de Mestrado de Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. 96 pp.
- [9] Saha, D., Bhattacharya, S. (2010) *Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review*, Journal of Food Science and Technology, 47(6). 587–597.
- [10] Cosmetics info. “Find an ingredient” <https://www.cosmeticsinfo.org/glossary> (acedido a 1 de abril de 2020).
- [11] Castro, F. (2018). *Eficácia de um filme ativo na oxidação lipídica de alimentos com alto teor de gordura*, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. 98 pp.

- [12] Silva, F., Borges, M., Ferreira, M. (1999). *Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante*, Química Nova, 22 (1), 94-103.
- [13] Ito, J. *et al.* (2019). *Evaluation of lipid oxidation mechanisms in beverages and cosmetics via analysis of lipid hydroperoxide isomers*, Scientific Reports, 9:7387, 1-13.
- [14] Thomsen, B., Taylor, R., Hyldig, G., Blenkiron, P., Jacobsen, C. (2018). *Lipid Oxidation and Degradation Products in Raw Materials: Low-Fat Topical Skin-Care Formulations*, Journal of the American Oil Chemists' Society, 95: 853–864.
- [15] Vilas Bôas, R. (2014). *Avaliação da atividade de antioxidantes naturais na síntese de monoglicerídeos via glicerólise do óleo de babaçu durante o curso de reações descontínuas e contínuas*, Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena. 80pp.
- [16] Khanum, R., Thevanayagam, H. (2017). *Lipid peroxidation: Its effects on the formulation and use of pharmaceutical emulsions*, Asian Journal of Pharmaceutical Sciences 12, 401–411.
- [17] Semb, T. *Analytical Methods for Determination of the Oxidative Status in Oils*. Norwegian University of Science and Technology 3-11pp.
- [18] Shah, D. *et al* (2014) *Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus*, Journal of Biomedical Science, 21:23.
- [19] Quaresma, M. (2016). *Controlo da Qualidade Alimentar numa Indústria de Panificação e Pastelaria*. Tese de Mestrado em Engenharia Alimentar, Instituto Politécnico de Coimbra. 63-pp.
- [20] Stuffin, C. B., Weatherall, H. (1945). *Determination of the Peroxide Value of Oils and Fats*, The Analyst, 836, 403-409.
- [21] IDF 74:2006, *Milk fat - Determination of peroxide value*, International Dairy Federation.
- [22] Shantha, N. Decker, E. (1994). *Rapid, Sensitive, Iron-Based Spectrophotometric Methods of Determination of Peroxide Values of Food Lipids*, Journal of AOAC International, vol.77 no.2 1994.
- [23] Gray, J., I. *A Measurement of Lipid Oxidation: A Review*, Department of Food Science. Journal of the American Oil Chemists' Society, vol.55: 540-545.

- [24] Dobarganes, M., Velasco, J. (2002) *Analysis of lipid hydroperoxides*, Eur. J. Lipid Scie. Technol. 104 420-428.
- [25] Barriuso, B., Astiasarán, I., Ansorena, D. (2013). *A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task*, Eur Food Res Technol, 236:1-7
- [26] Osawa, C. C., Felício, E. P., Gonçalves, G. A. L. (2005). *Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos*, Química Nova, 8(4), 655-663.
- [27] Shahidi, F., Zhong, Y. (2005) *Lipid Oxidation: Measurement Methods*, John Wiley & Sons, Inc.
- [28] Magnus, B.Sc. (1935) *A Colorimetric Method for the Quantitative Measurement of Rancidity*, The Analyst, 515-519.
- [29] Mehta, M., B. et al. (2018). *Evaluation of different methods to monitor primary stage of oxidation of heat clarified milk fat (ghee)*, Journal of Food Processing and Preservation, 42:4-5
- [30] AOCS Cd 18-90:1993, *Sampling and analysis of commercial fats and oils*, American Oil Chemists' Society
- [31] Zhai, H. et al. (2003). *A rapid, accurate, and facile method to quantify the antioxidant capacity of topical formulations*, Skin Research and Technology 9:254-256
- [32] Pelle, E. et al. (2002). *A test for antioxidant activity in cosmetic formulations*, J. Cosmetics. Sci, 53, 237-240
- [33] Agregán, R. et al. (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, 986-994
- [34] AOCS Cd 8b-90:1993, *Sampling and analysis of commercial fats and oils*, American Oil Chemists' Society

- [35] *100 Test Cuvete Assy for 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)*
Oxford Biomedical Research
- [36] Williamsom, K, Hensley, K., Floyd, R. *Fluorometric and Colorimetric Assessment of Thiobarbituric Acid-Reactive Lipid Aldehydes in Biological Matrices*, NJ
- [37] Thomsen, B. *et al* (2017) *Investigation of Lipid Oxidation in High- and Low-Lipid-Containing Topical Skin Formulations*, J Am Oil Chem Soc 94:1287-1300
- [38] Thomsen, B. *et al* (2018) *Investigation of Lipid Oxidation in the Raw Materials of A Topical Skin Formulation: A Topical Skin Formulation Containing a High Lipid Content*. J Am Oil Chem Soc 95:185-196
- [39] Shurson, G. *et al* (2015) *Evaluating the quality of feed fats and oils and their effects on pig growth performance*, Journal of Animal Science and Biotechnology 6:10
- [40] Botsoglou, N. *et al.* (1994) *Rapid, Sensitive, and Specific Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Peroxidation in Animal Tissue, Food And Feedstuff Samples*, American Chemical Society, 42, 1931-1937
- [41] Cao, J. *et al* (2015) *Effect of Fatty Acid and Tocopherol on Oxidative Stability of Vegetable Oils with Limited Air*, International Journal of Food Properties, 18:808–820

Anexos

Anexo A - Emulsões em estudo

Anexo A.1 - Constituintes e funções

Na tabela A.1.1 encontram-se discriminados os componentes das emulsões em estudo, assim como as suas principais características químicas e as suas funções nos cremes que constituem.

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Tabela A.1.1 - Registo dos componentes dos dez cremes em estudo, principais características e as suas funções

Função	Grupo	Creme										
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
Emoliente Hidratante Modificador de textura (viscosificante)	Gordura de origem vegetal	Manteiga de Karité (1/31)	---	Manteiga de Karité (7/31)	---	---	---	---	Manteiga de Karité (13/44)	Manteiga de Karité (2/28)	Manteiga de Karité (1/22)	
Emoliente Hidratante	Óleo vegetal	Óleo de argão (2/31)	---	---	Óleo de amêndoas doces (12/27)	---	---	---	---	---	Óleo de amêndoas doces (5/22)	
		---		---	Óleo <i>olus</i> (14/27)	---	---	---	---	Óleo <i>olus</i> (11/22)		
---		---		Óleo de sementes de chia (9/31)	---	---	---	---	---	Óleo de soja (14/28)	---	
Conservante		Fenoxietanol (29/31)		---	Fenoxietanol (27/31)	Fenoxietanol (11/27)	Fenoxietanol (11/25)	---	Fenoxietanol (10/37)	Fenoxietanol (26/44)	---	Fenoxietanol (21/22)
Fragância		---		---	---	---	---		---	Eugenol (43/44)	---	---
Emoliente	Óleo mineral	---	---	---	---	---	---	---	Óleo mineral (9/44)	---	---	
Solvente	---	Água (3/31)	Água (1/19)	Água (1/31)	Água (1/27)	Água (1/25)	Água (1/20)	Água (1/37)	Água (1/44)	Água (1/28)	Água (2/22)	
Emoliente Hidratante Fragrância	Mistura de triglicerídeos saturados	Triglicerídeos de Ácidos Cáprico/ Caprílico (4/31)	Triglicerídeos de Ácidos Cáprico/ Caprílico (2/19)	Triglicerídeos de Ácidos Cáprico/ Caprílico (2/31)	Triglicerídeos de Ácidos Cáprico/ Caprílico (3/27)	---	---	---	Triglicerídeos de Ácidos Cáprico/ Caprílico (4/44)	Triglicerídeo s de Ácidos Cáprico/ Caprílico (4/28)	---	

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Hidratante	Triglicéridos	---	---	---	---	---	Semente de girassol (20/20)	---	---	---	---
Emoliente Hidratante	Triésteres e misturas	---	Triglicéridos C10-C18 (3/19)	---	---	---	---	---	---	---	---
Emoliente	Ésteres e misturas	Caprilil glicol de Ácidos Caprilato/ Cáprico (5/31)	Caprilato de glicerilo (10/19)	---	---	Erucato de olefílico (4/25)	Óleo de quadril de rosa (11/20)	Benzoato de alquilo (C12-C15) (4/37)	Benzoato de benzilo (42/44)	---	Benzoato de alquilo (C12-C15) (4/22)
		Coco de Ácido Caprilato (6/31)	---	---	---	---	Coco de Ácido Caprilato (8/20)	Coco de Ácido Caprilato (13/37)	---	---	---
Hidratante Emoliente		---	---	Óleo da semente de limão (21/31)	---	---	---	---	---	---	---
Emoliente Emulsionante		---	---	---	---	---	Poligliceril-3 dicitrato/ estearato (4/20)	Caprílico/ capril glucósido (25/37)	---	---	Miristato de isopropilo (7/22)
Emoliente Hidratante Emulsionante		---	---	---	Estearato de Glicerilo (6/27)	---	Estearato de Glicerilo (7/20)	---	---	---	---
Aditivo (antioxidante) Hidratante		---	---	---	Acetato de tocoferol (22/27)	Acetato de tocoferol (12/25)	---	Acetato de tocoferol (12/37)	Acetato de tocoferol (14/44)	---	---
Conservante Fragância		---	---	---	---	---	---	Etilparabeno (16/37)	---	---	---

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
								Metilparabe no (17/37)	----	----	----
Aditivo (filtro de UV) Fragância	Ésteres e misturas	----	----	----	----	----	----	----	Salicilato de benzilo (44/44)	----	----
Modificador de textura (estabilizante e viscosificante)	Álcoois gordos e misturas	Álcool Cetoestearílico (7/31)	Álcool Cetoestearílico (7/19)	Álcool estearílico (5/31)	Álcool Cetoestearílico (7/27)	----	----	Álcool Cetoestearli co (5/37)	----	Álcool estearílico (10/28)	Álcool Cetoestearílico (6/22)
Modificador de textura (estabilizante e viscosificante)		----	----	Álcool miristílico (10/31)	Álcool Cetílico (6/27)	----	Álcool Cetílico (5/20)	----	Álcool Cetílico (6/44)	----	----
					Álcool benzílico (11/31)	----	----	Álcool benzílico (9/20)	----	----	----
Modificador de textura (estabilizante e viscosificante)					Álcool araquidilo (8/31)	----	----	----	----	----	----
Modificador de textura (estabilizante) Emoliente					----	Octildodecanol (4/27)	Octildodecanol (5/25)	Octildodecanol (6/20)	----	----	----
Hidratante Fragância	Álcool e misturas	Glicerol (8/31)	Glicerol (4/19)	Glicerol (6/31)	Glicerol (2/27)	----	Glicerol (3/20)	Glicerol (2/37)	Glicerol (2/44)	Glicerol (3/28)	Glicerol (3/22)
Hidratante Modificador de textura (viscosificante)			Propilenoglicol (14/31)	----	----	Propilenoglicol (23/27)	Propilenoglicol (6/25)	----	----	----	----

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme										
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
Fragância												
Emoliente	Álcoois e misturas	Pantenol (16/31)	----	----	Pantenol (18/27)	----	----	Pantenol (11/37)	Pantenol (15/44)	----	----	
Emulsionante		----	----	Miristilo glucósido (16/31)	----	----	----	----	----	----	----	----
				Polisorbato 80 (19/31)	----	----	----	----	----	----	Polisorbato 80 (15/22)	
Conservante Emoliente Hidratante				----	Octano-1,2-diol (17/27)	Octano-1,2-diol (18/25)	----	----	Octano-1,2-diol (27/44)	Octano-1,2-diol (21/28)	Octano-1,2-diol (22/22)	
Conservante					----	1,2-Hexanodiol (25/25)	----	----	----	----	----	
Fragância Conservante Modificador de textura (viscosificante)									Álcool benzílico (29/37)	----	----	----
Emulsionante Aditivo (ajustador de pH)									----	Trietanolamina (29/44)	----	----
Modificador de textura (viscosificante e estabilizante)										----	Álcool desnaturado (6/28)	----

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Emoliente Hidratante										1,3 – Propanodiol (20/28)	----
Emulsionante Hidratante Modificador de textura (viscosificante)	Aminoácidos	Betaína (9/31)	----	----	----	----	----	----	----	----	----
Hidratante		Serina (22/31)	----	----	----	----	----	----	----	Arginina (17/28)	----
Emulsionante	Forma auto- emulsionante	Estearato de Glicerilo SE (10/31)	----	----	----	----	----	----	----	Estearato de Glicerilo SE (7/28)	----
Emoliente	Diésteres e misturas	Fosfato de dicetilo (11/31)	Carbonato dicaprílico (5/19)	Carbonato dicaprílico (3/31)	----	----	----	Carbonato dicaprílico (6/37)	----	----	----
			Distearato de Poliglicerina-3 (6/19)	----	----	----	----	Adipato de dibutilo (3/37)	----	----	----
Emoliente		----	Citrato de estearato de glicerina (9/19)	----	----	----	----	----	----	----	----
Emoliente Emulsionante		----	----	----	----	----	----	----	----	Distearato Metilglucose de Poliglicerina -3 (8/28)	----
Emulsionante	Éteres	Fosfato de Ceteth-10 (12/31)	----	----	Ceteth-20 (15/27)	----	----	----	Trideceth-6 (10/44)	----	Cetareth-20 (17/22)

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
		---			Stearth-20 (16/27)	---	---	---	---	---	---
Hidratante Conservante	Éteres	Etilhexilglicerina (28/31)	---	Etilhexilglicerina (28/31)	---	Etilhexilglicerina (14/25)	---	---	---	---	---
Emoliente		---	---	---	---	---	---	---	---	Éter dicaprilíco (5/28)	---
Hidratante	Extratos	Extrato de mel (13/31)	Extrato de aloe vera (15/19)	---	---	Extrato de aloe vera (2/25)	---	Alantoína (22/37)	---	---	---
		---	---	---	---	---	Extrato de maçã (27/37)	---	---	---	
Aditivo (antioxidante e filtro de UV) Emoliente Hidratante Conservante Fragância		Extrato de chá verde (18/31)	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Aditivo (antioxidante)		---	---	Extrato de goji (13/31)	---	---	---	---	---	---	---
Emoliente		---	Extrato da planta amor-perfeito (18/19)	---	---	---	Extrato de framboesas (18/20)	Extrato de semente de milhete (28/37)	Extrato de framboesas (24/44)	---	---
		---	---	---	---	---	---	---	Extrato de morango (23/44)	---	---

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Aditivo (antioxidante) Emoliente Fragância			----	Extrato de gengibre (14/31)	----	----	----	----	----	----	----
Emoliente Hidratante Fragância	Extratos	----	----	----	Extrato da planta margarida (24/27)	----	Extrato de frutos de groselha negra (19/20)	----	----	----	----
Fragância					----		Extrato de amoras (14/20)				
Emulsionante Modificador de textura (viscosificante)					----	----	----	Extrato de carragenina (10/25)	----	----	----
Hidratante	Sais de ácido hialurônico	Hialuronato de sódio (15/31)	----	Hialuronato de sódio (15/31)	----	----	----	----	----	----	----
Emulsionante Modificador de textura (estabilizante e viscosificante) Hidratante	Monossacarídeos e polissacarídeos	Goma xantana (17/31)	Goma xantana (9/19)	----	----	Goma xantana (7/25)	Goma guar (12/20)	----	----	Goma xantana (23/28)	----
Hidratante		Glicogénio (19/31)	----	----	----	Glucose (19/25)	----	----	----	----	----
Emulsionante Modificador de textura (estabilizante) Hidratante		Maltodextrina (23/31)	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Emulsionante Hidratante	Produto da hidrogenação da Licitina	Licitina Hidrogenada (20/31)	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hidratante	Ácidos e derivados	Ácido pirrolidona carboxílico de sódio (21/31)	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Aditivo (ajustador de pH)		---	Ácido cítrico (13/19)	Ácido cítrico (26/31)	Ácido cítrico (26/27)	Ácido cítrico (21/25)	Ácido cítrico (15/20)	---	Ácido cítrico (34/44)	Ácido cítrico (22/28)	---
Fragância	Ácidos e derivados	---	---	---	---	---	---	Ácido tânico (34/37)	---	---	---
Conservante								---	---	Ácido salicílico (25/28)	---
Emulsionante Hidratante Emoliente	Ácidos gordos	---	---	---	Estearato de polietilenoglicol-75 (9/27)	---	---	---	---	Ácido esteárico (12/28)	Ácido esteárico (8/22)
Hidratante	Ácidos gordos	---	---	---	---	---	---	---	---	Ácido mirístico (18/28)	---
Emulsionante Hidratante										---	---

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Perfume	Hidrocarbonetos (aromáticos e outros)	Perfume (24/31)	Perfume (16/19)	Perfume (23/31)	Perfume (13/27)	Perfume (16/25)	Perfume (10/20)	Perfume (19/37)	Perfume (16/44)	Perfume (28/28)	Perfume (20/22)
Fragância	Hidrocarbonetos (aromáticos e outros)			Citral (30/31)	----	----	----	Citronelol (32/37)	Citronelol (36/44)	Citronelol (27/28)	----
				Limoneno (31/31)	----	----	----	----	Limoneno (41/44)	----	----
				----	----	----	----	----	Linalol (35/44)	Linalol (26/28)	----
Fragância	Hidrocarbonetos (aromáticos e outros)	----	----	----	----	----	----	----	Lilial (37/44)	----	----
									Ionona alfa-isometil (38/44)	----	----
									Hexil cinamaldeído (39/44)	----	----
									Geraniol (40/44)	----	----
Emoliente	Hidrocarbonetos (aromáticos e outros)			Isohexadecano (22/31)	----	Esqualano (3/25)	----	----	Isohexadecano (3/44)	----	Isohexadecano (14/22)
Conservante Aditivo (ajustador de pH) Fragância				----	----	----	----	Ácido benzóico (24/37)	----	----	----
Emoliente Emulsionante				----	----	----	----	----	----	Ciclopentasiloxano (5/44)	----

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Aditivo (agente quelante)	Sólido cristalino inorgânico	Sal dissódico de EDTA (25/31)	----	Sal dissódico de EDTA (24/31)	----	Sal dissódico de EDTA (17/25)	----	Sal dissódico de EDTA (14/37)	Sal dissódico de EDTA (30/44)	Fitato de sódio (16/28)	Sal dissódico de EDTA (18/22)
Modificador de textura (viscosificante) Emulsionante	Sólido cristalino inorgânico	Cloreto de sódio (26/31)	----	----	----	----	----	Sulfato de sódio (37/37)	----	----	----
Aditivo (ajustador de pH)		Hidróxido de sódio (27/31)	----	Hidróxido de sódio (25/31)	Hidróxido de sódio (27/27)	----	Hidróxido de sódio (16/20)	Hidróxido de sódio (21/37)	----	Hidróxido de sódio (15/28)	Hidróxido de sódio (19/22)
Hidratante		----	Levulinato de sódio (8/19)	----	----	----	----	----	----	----	----
Hidratante Emulsionante		----	Estearoil glutamato de sódio (11/19)	----	----	----	----	----	----	----	----
		----	Estearoil glutamato de sódio (12/19)	----	----	----	----	----	----	----	----
Aditivo (agente quelante) Fragância Conservante		----	Benzoato de sódio (14/19)	Benzoato de sódio (29/31)	----	Benzoato de sódio (23/25)	----	----	Benzoato de sódio (32/44)	----	----
Conservante	Sólido cristalino inorgânico	----	Sorbato de potássio (19/19)	----	Sorbato de potássio (22/25)	----	Sorbato de potássio (36/37)	Sorbato de potássio (31/44)	----	----	
Aditivo (antioxidante)		----	----	Hidroxitolueno butilado (BHT) (25/27)	Sulfito de sódio (24/25)	----	----	Hidroxitolueno butilado (BHT) (33/44)	----	----	

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme											
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
Aditivo (filtro de UV)			---	---	Salicilato de etilhexilo (20/27)	---	---	---	---	---	---		
Aditivo (corante)	Pigmento sintético	Amaranto (30/31)	---	---	---	---	---	Azul Ácido 3 (35/37)	---	---	---		
		Amarelo 6 (31/31)	---	---	---	---	---	---	---	---	---		
Aditivo (antioxidante) Hidratante	Vitamina	---	Tocoferol (17/19)	---	---	---	Tocoferol (17/20)	Tocoferol (33/37)	---	Tocoferol (24/28)	Tocoferol (12/22)		
Aditivo (antioxidante e ajustador de pH)			---			---	---	Ácido ascórbico (20/25)	---	---	---	---	---
Hidratante			---			---	---	---	---	---	Biotina (21/44)	---	---
Emulsionante Modificador de textura (estabilizante) Hidratante Emoliente	Polímeros e Copolímeros	---	---	Dimeticone (4/31)	Dimeticone (8/27)	Dimeticone (13/25)	---	Dimeticone (20/37)	Dimeticone (7/44)	---	---		
Emulsionante Modificador de textura (viscosificante e estabilizante)		---	---	Copolímero de acrilato de sódio e acriloldimimetilato (17/31)	---	Copolímero de Acrilatos e Isodecanoato de vinil (15/25)	---	Copolímero de acrilato de sódio e acriloldimimetilato (7/37)	Copolímero de acrilamida e acrilato de sódio (8/44)	---	Copolímero de acrilato de sódio e acriloldimimetilato (13/22)		
Emulsionante Modificador de textura (viscosificante)		---	---	---	Poliacrilato de sódio (19/27)	Poliacrilato de sódio (7/25)	---	---	Poliacrilato de sódio (20/44)	---	---		

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
e estabilizante) Emoliente											
Emoliente Hidratante	Polímeros e Copolímeros					Goma biossacarídica-4 (9/25)		----	Polietilenoglicol-8 (17/44)	----	----
Emulsionante Modificador de textura (viscosificante)								Polisobuteno (8/37)	<i>Ammonium Acryloyldimethylta urate/VP Copolymer</i> (11/44)	----	----
Modificador de textura (viscosificante e estabilizante)		----	----	----	----	----	----	Polímero cruzado de Acrilato de alquil e acrilato C10- 30 (23/37)	Polímero cruzado de Acrilato de alquil e acrilato C10-30 (28/44)	Carbómero (13/28)	Carbómero (16/22)
Emoliente Hidratante Modificador de textura (viscosificante)								----	Copolímero de polietileno-8 e metilenodifenidicil ananato saturado (18/44)	----	----
Emulsionante								----	<i>Laureth-4</i> (22/44)	----	----
Emulsionante	Alquilo	----	----	Glucósido de araquidilo (15/31)	----	----	----	----	----	----	
Aditivo (filtro de UV)	Composto orgânico	----	----	Spirulina em pó (18/31)	Metoxicinamato de octilo (10/27)	----	----	Etilhexil- triazona (9/37)	Metoxicinamato de octilo (12/44)	----	Metoxicinamat o de octilo (10/22)

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme												
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J			
Aditivo (filtro de UV)	Composto orgânico	----	----	----	Butil-metoxidibenzoil-metano (21/27)	----	----	Dietilamino-hidroxi-benzoil hexil benzoato (15/37)	----	----	----			
					----		Bis-etilhexiloxifenol metoxifenil-triazina (18/37)	----	----	----				
					----		Ácido dehidroacético (13/20)	Ácido dehidroacético (26/37)	----	----	----			
Conservante	----				----		----	----	----	----	----	----		
Hidratante	Composto orgânico				----		----	----	----	----	----	----	----	Hidroxietilo de ureia (9/22)
Aditivo	Ingrediente ativo				----		----	Teprenona (20/31)	----	----	----	----	----	----
Hidratante	Solução aquosa de vapor destilado	----	----	----	----	----	Destilado de trigo (2/20)	----	----	----	----			
Hidratante Fragância		----	----	----	----	----	----	----	Água de flor de rosa-chá (11/28)	----				
Hidratante	Líquido obtido através de fermentação	----	----	----	----	----	----	Fermento da proteína <i>Lupinus Albus</i> e alga <i>Chlorella Vulgaris</i> (30/37)	----	----	----			

Avaliação do envelhecimento em emulsões semi-sólidas para aplicação dérmica

Função	Grupo	Creme									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Modificador de textura (viscosificante e estabilizante) Emulsionante	Carboidratos e produtos	----	----	----	----	----	----	Pectina (31/37)	----	----	----
Hidratante Modificador de textura (viscosificante)								----		Amido de milho (9/28)	----
Hidratante	Produto obtido por condensação	----	----	----	----	----	----	----	Serinato de Palmitoil Miristílico (19/44)	----	----

Anexo A.2 – Análise dos solventes

Na tabela A.2.1 apresentam-se os registos das massas pesadas (em mg) para cada amostra de creme, e as informações relativas à dissolução, nomeadamente, os tempos de agitação no vórtex e no ultrassons.

Tabela A.2.1 - Registo das massas pesadas (mg) e dos tempos de agitação, para cada amostra de creme para cada solvente testado

Amostras	Massa pesada (mg)	Tempo vórtex	Tempo ultrassons
Creme A em <i>n</i> -hexano	250,7	5'	30' (37 °C)
Creme A em isoocatano	250,9	5'	30' (37 °C)
Creme A em isopropanol	250,6	5'	30' (37 °C)
Creme H em <i>n</i> -hexano	250,2	5'	30' (37 °C)
Creme H em isoocatano	250,5	5'	30' (37 °C)
Creme H em isopropanol	250,3	30''	----

Na figura A.2.1 observam-se as preparações das amostras de creme A (lado esquerdo) e creme H (lado direito), dissolvidas em cada um dos três solventes, após 5 minutos de agitação no vórtex a velocidade na posição 10.

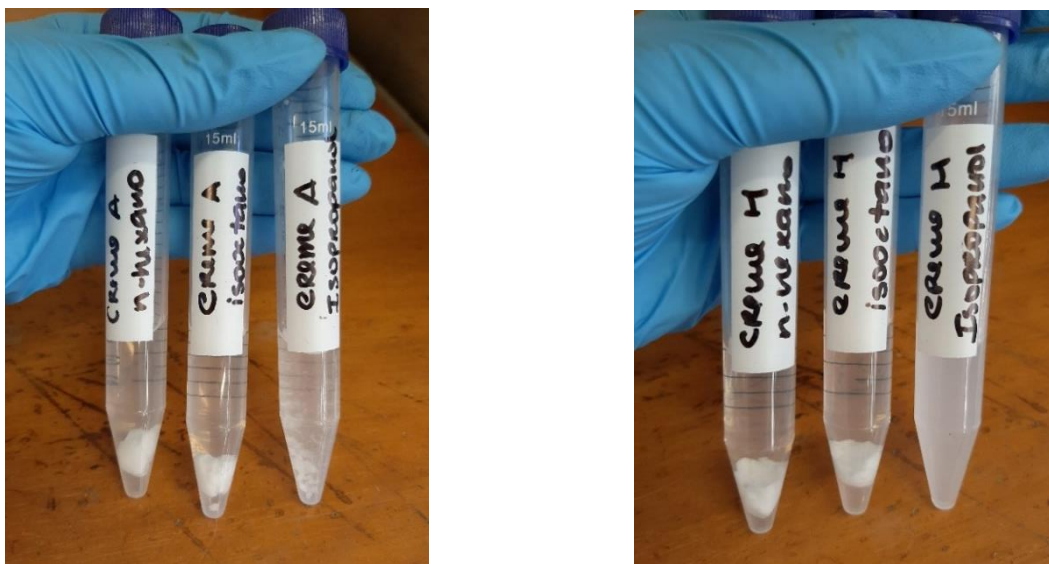


Figura A.2.1 - Dissolução das amostras de creme A (lado esquerdo) e H (lado direito), nos três solventes, após 5 minutos de agitação no vórtex

Na figura A.2.2 observam-se as preparações das amostras de creme A dissolvidas em cada um dos três solventes, após serem agitadas no vórtex e serem submetidas no ultrassons.

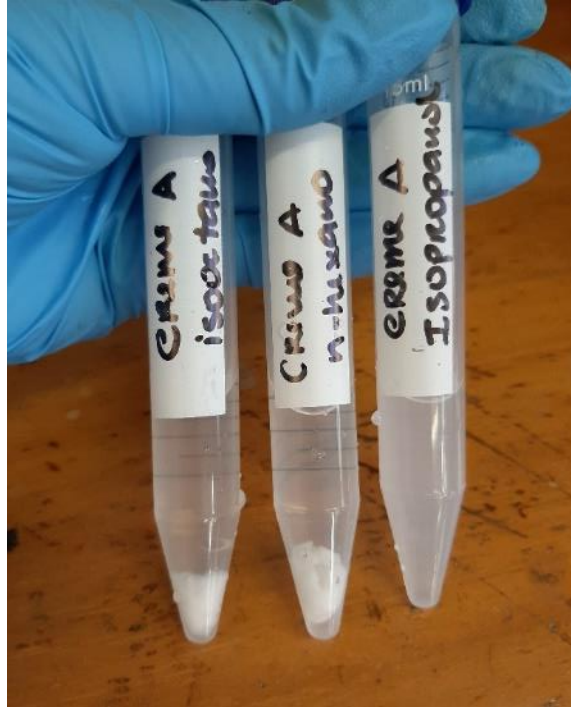


Figura A.2.2 - Dissolução das amostras de creme A em cada um dos solventes, após 30 minutos (37°C) no ultrassons

Anexo A.3 – Preparação das amostras

Na tabela A.3.1 encontra-se o registo das massas pesadas (em mg) para cada amostra de creme.

Tabela A.3.1 - Registo das massas pesadas para as 7 amostras dos cremes de A a J, referentes aos meses de estudo 0 a 6

Amostra	Massa pesada (g)	Amostra	Massa pesada (g)	Amostra	Massa pesada (g)
A0	6,117	E0	6,154	I0	6,162
A1	6,159	E1	6,141	I1	6,176
A2	6,115	E2	6,189	I2	6,155
A3	6,173	E3	6,164	I3	6,156
A4	6,146	E4	6,144	I4	6,165
A5	6,130	E5	6,157	I5	6,182
A6	6,169	E6	6,181	I6	6,170
B0	6,178	F0	6,141	J0	6,130
B1	6,177	F1	6,135	J1	6,173
B2	6,150	F2	6,165	J2	6,177
B3	6,172	F3	6,136	J3	6,146
B4	6,179	F4	6,145	J4	6,153
B5	6,157	F5	6,185	J5	6,160
B6	6,165	F6	6,155	J6	6,157
C0	6,169	G0	6,177		
C1	6,149	G1	6,191		
C2	6,136	G2	6,153		
C3	6,149	G3	6,185		
C4	6,145	G4	6,134		
C5	6,174	G5	6,148		
C6	6,130	G6	6,171		
D0	6,142	H0	6,130		
D1	6,190	H1	6,185		
D2	6,145	H2	6,160		
D3	6,135	H3	6,138		
D4	6,179	H4	6,139		
D5	6,181	H5	6,135		
D6	6,168	H6	6,174		

A tabela A.3.2 apresenta o tempo de agitação no vórtex, no ultrassons para dissolução das amostras de cremes.

Tabela A.3.2 - Dados relativos ao tempo de dissolução das amostras no vórtex e no ultrassons

Amostra	Tempo vórtex	Tempo ultrassons	Amostra	Tempo vórtex	Tempo ultrassons	Amostra	Tempo vórtex	Tempo ultrassons
C0 D0 F0 H0 J0	5'	----	A3 E3 G3 H3 I3	5'	1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)	A5 B5 E5 G5 H5 I5	5'	45' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)
A0 E0	5'30''	10' (35 °C) 30' (37 °C)						
B0 G0 I0	5'	10' (35 °C) 30' (37 °C) 40' (38 °C) 1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)	B3	11'	1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 1h30' (44 °C)	C5	11'	10' (42 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)
A1 B1 C1 I1	6'	1h20' (35 °C)	C3	10'	10' (42 °C)	D5	5'	----
D1	5'30''	30' (37 °C) 40' (38 °C) 45' (39 °C)	D3	5'	----	F5	11'	10' (42 °C)
F1 J1	5'30''	30' (37 °C)	F3	11'	10' (42 °C)	J5	6'	45' (39 °C) 10' (42 °C)
E1 G1 H1	5'	1h20' (35 °C) 30' (37 °C) 40' (38 °C) 1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)	J3	5'30''	1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 1h30' (44 °C)	A6	5'30''	45' (39 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)

Amostra	Tempo vórtex	Tempo ultrassons	Amostra	Tempo vórtex	Tempo ultrassons	Amostra	Tempo vórtex	Tempo ultrassons
A2	6'	1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 1h30' (44 °C)	A4	5'30''	45' (39 °C)	B6	10'	45' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)
B2	5'	1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)	B4	6'	1h30' (39 °C) 10' (42 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)	C6	11'	10' (42 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)
C2	5'30''	40' (38 °C)	C4	11'	10' (42 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)	D6	5'	----
D2	11'	10' (42 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)	D4	5'	----	E6 G6 H6 I6	5'	45' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)
E2 G2 H2 I2	5'	40' (38 °C) 1h30' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)	F4	11'	----	F6	11'	10' (42 °C)
F2 J2	11'	10' (42 °C)	E4 G4 H4 I4 J4	5'	45' (39 °C) 30' (43 °C) 4h (44 °C)	J6	6'	45' (39 °C) 30' (43 °C) 3h (44 °C)

Anexo B – Método para determinação do IP

Anexo B.1 – Curva de calibração

Para a curva de calibração, foram preparados 6 padrões de Fe (III), com concentrações compreendidas entre 0,035 e 0,20 µg/L, a partir de outras soluções padrão anteriormente

preparadas de concentrações 1,0 a 10,0 µg/L. Na tabela B.1.1 encontram-se os dados relativos à preparação dos padrões e do branco.

Tabela B.1.1 - Dados relativos à preparação das soluções padrão de Fe (III)

Padrão	[Sol. padrão] (µg/L)	V_{sol. mãe de Fe III} (µL)	V_{água} (mL)	V_{final} (mL)
Branco	0	0	2,0	2,0
P1	0,035	10,0	1,99	2,0
P2	0,05	100,0	1,90	2,0
P3	0,07	20,0	1,98	2,0
P4	0,10	200,0	1,80	2,0
P5	0,15	100,0	1,90	2,0
P6	0,20	400,0	1,60	2,0

Anexo C – Ensaio de TBARS

Anexo C.1 – Preparação das soluções

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

Pesar cerca de 125g de TCA da Merck e perfazer o volume de 2,5L do balão volumétrico com água desionizada.

(2) Solução de BHT 0,8% em n-hexano

Pesar cerca de 160mg de BHT da Aldrich num balão volumétrico de 20mL e perfazer o volume com *n*-Hexano da Meck.

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

Adicionar aproximadamente 48,4mL de HCl concentrado da Honeywell, num balão de 1L e perfazer o volume com água desionizada.

(4) Solução de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)

Pesar 0,750 g de TBA ≥ 98% da Sigma-Aldrich 30g de TCA a 5% e adicionar 160mL (medido em proveta) da solução de HCl 0,25M.

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

Medir 1mL da solução mãe de MDA preparada a partir de *1,1,3,3-Tetramethoxypropane* 99% da Aldrich em proveta e adicionar num balão volumétrico de 100mL, perfazendo o volume com água desionizada.

Anexo C.2 – Curva de calibração

Prepararam-se 5 soluções padrão de MDA, com concentrações compreendidas entre 5,0 e 80,0 $\mu\text{g/L}$, de modo a obter a curva de calibração. A leitura das fluorescências foi feita para a gama de fluorescência $\lambda_{\text{excitação}} = 485 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 590 \text{ nm}$. A tabela C.2.1 apresenta os dados relativos à preparação das soluções padrão, bem como da solução branco.

Tabela C.2.1 - Dados relativos à preparação das soluções padrão de MDA

Gama	λ (nm)	[Sol. mãe de MDA] (mg/L)	Padrão	[Sol. padrão] ($\mu\text{g/L}$)	$V_{\text{sol. mãe de MDA}}$ (μL)	$V_{\text{TCA 5\%}}$ (mL)	$V_{\text{isopropanol}}$ (mL)	V_{final} (mL)
Fluorescência	485/590	1,0	Branco	0	0	90	10	100
			P1	5	125	97,38	2,5	100
			P2	10	250	97,25	2,5	100
			P3	20	500	97,0	2,5	100
			P4	40	1 000	96,5	2,5	100
			P5	80	2 000	95,5	2,5	100