

**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA**

**ELIANE MARIA MOLICA**

**CARACTERIZAÇÃO *in vitro* DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM  
CUCURBITÁCEAS E SUA APLICAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO  
DE PRODUTO PARA NUTRIÇÃO CUTÂNEA**

**BRASÍLIA-DF**

**2015**

#### **FICHA CATALOGRÁFICA:**

MOLICA, Eliane Maria.

Caracterização *in vitro* de compostos bioativos em cucurbitáceas e sua aplicação no desenvolvimento de produto para nutrição cutânea/ Eliane Maria Molica.

Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 2015. 97 f.: il.

Orientador: Dr. Celso Luiz Moretti.

1. Abóbora. 2. Carotenoides. 3. Antioxidante. 4. Emulsão. 5. Extrato vegetal. 6. Nutrição Humana. I. Título.

**ELIANE MARIA MOLICA**

**CARACTERIZAÇÃO *in vitro* DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM  
CUCURBITÁCEAS E SUA APLICAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE  
PRODUTO PARA NUTRIÇÃO CUTÂNEA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do título de Doutora em Nutrição Humana.

Orientador: Dr. Celso Luiz Moretti

**BRASÍLIA, DEZEMBRO DE 2015**

**ELIANE MARIA MOLICA**

**CARACTERIZAÇÃO *in vitro* DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM  
CUCURBITÁCEAS E SUA APLICAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO  
DE PRODUTO PARA NUTRIÇÃO CUTÂNEA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do título de Doutora em Nutrição Humana. Linha de pesquisa: Qualidade Nutricional e Alimentar.

Aprovado em:

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Celso Luiz Moretti  
Presidente da Banca/Embrapa Hortaliças

---

Profa. Dra. Wilma Maria Coelho de Araújo  
Membro Interno/ Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde,  
Universidade de Brasília - UnB.

---

Prof. Dr. Guilherme Martins Gelfuso  
Membro Externo/ Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências da  
Saúde, Universidade de Brasília - UnB

---

Dra. Lucimeire Pilon  
Membro Externo/Embrapa Hortaliças

---

Profa. Dra. Lívia Cristina Lira de Sá Barreto  
Membro Externo/ Departamento de Farmácia, Faculdade de Ceilândia,  
Universidade de Brasília - UnB

---

Profa. Dra. Sther Maria Lenza Greco  
Membro Suplente/ Área de Alimentos,  
Instituto Federal de Brasília - IFB

**BRASÍLIA - DF  
2015**

*A Deus, aos meus familiares e a todos  
que colaboraram direta ou indiretamente  
com este trabalho.*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos participantes desse objeto de pesquisa especialmente:  
A Deus, pela força, perseverança em não me deixar desistir;  
Aos meus familiares por acreditarem em minha capacidade;  
A Embrapa Hortaliças, UNB *Campus* Ceilândia e Darcy Ribeiro por permitir o uso de suas instalações;

Ao meu orientador Dr. Celso Luiz Moretti, pela oportunidade para a concretização desse estudo e na superação de tantos imprevistos ocorridos;

À Dra. Lucimeire Pilon, pela paciência, sugestões, facilitações e empenho para a realização desse estudo;

Ao Prof. Dr. Guilherme Gelfuso, Profa. Dra. Lívia Barreto, Profa. Dra. Eliane Fortes Gris, Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, pelos repasses de conhecimentos, pelas valiosas sugestões e a bela acolhida;

Ao Dr. Giovani Amaro pelas sugestões e acompanhamento;

À Dra. Leonora Mansur Mattos, pela participação, no início desse trabalho;

À Graduanda de Farmácia Amanda que esteve comigo nas mais variadas horas dos experimentos em laboratório na FCE;

Às minhas amigas doutoras, doutorandas Sther Greco, Lidiane Muniz, Grazielle Gebrim, Camila Guimarães, Adriana Barbosa, Heloisa Alves, Adriana Santos, Nathalie Ferreira e Cláudia Marques. Em especial Camila Guimarães;

Aos pesquisadores da Embrapa Hortaliças;

Aos técnicos dos laboratórios da Embrapa Hortaliças e laboratórios da UNB-FCE. Em especial ao João Batista, José Getúlio e Leonardo pelo apoio no desenvolvimento das atividades;

Ao Márcio Mendonça pela oportunidade de trabalho no Laboratório de Alimentos da UNB;

Aos estagiários e bolsistas da Embrapa Hortaliças Larissa, Ricardo Macedo, Déborah e Lucas.

**GRATA!!!!**

“Mas eu sei em que tenho credo e estou  
bem certo que Ele é poderoso para  
guardar meu tesouro até o dia apropriado  
de me entregar”

*(São Paulo)*

## SUMÁRIO

---

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
REFERÊNCIAS.....	4
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>7</b>
3.1 Espécies Reativas do Metabolismo do Oxigênio (ERMO) .....	7
3.2 Carotenoides – estrutura química .....	8
3.3 Principais fontes .....	9
3.4 Carotenoides e a saúde humana .....	10
3.5 Ingestão de $\beta$ -caroteno benefícios e cuidados.....	11
3.6 Abóbora e os carotenoides .....	12
3.7 Capacidade antioxidante.....	14
3.8 Pele.....	16
3.9 Nutrição cutânea.....	17
3.10 Pele e carotenoides.....	18
3.11 Emulsão .....	19
REFERÊNCIAS.....	22
<b>4. DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>29</b>
4.1 ARTIGO ORIGINAL: CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE ESPÉCIES DE ABÓBORA <i>Cucurbita</i> spp. ....	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
1 INTRODUÇÃO.....	32
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.1 Material vegetal.....	35
2.2 Processamento das amostras.....	35
2.3 Caracterização física e química das abóboras .....	36
2.3.1 Determinação de massa.....	36

2.3.2	Análise de cor .....	36
2.3.3	Determinação da composição centesimal .....	36
2.3.4	Determinação de pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável total(ATT), relação SST/ATT e umidade.....	37
2.3.5	Teor de Carotenoides.....	37
2.3.6	Teor de $\beta$ -caroteno.....	38
2.3.7	Teor de fenólicos totais (FT) .....	39
2.3.8	Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .....	39
2.4	Análise estatística dos dados .....	40
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.1	Caracterização física e química das abóboras .....	40
3.1.1	Determinação de massa.....	40
3.1.2	Análise de cor .....	41
3.1.3	Determinação da composição centesimal .....	43
3.1.4	Determinação de pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável total (ATT), relação SST/ ATT e umidade.....	45
3.1.5	Teores de carotenoides, $\beta$ -caroteno e fenólicos totais .....	47
3.1.6	Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .....	49
4	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52
4.2	ARTIGO ORIGINAL: DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO COSMÉTICA ANTIOXIDANTE CONTENDO EXTRATO DE ABÓBORA ( <i>Cucurbita moschata</i> ): AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ESTABILIDADE.....	57
	RESUMO.....	58
	ABSTRACT.....	59
1	INTRODUÇÃO.....	60
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	62
2.1	Material.....	62
2.2.	Obtenção do extrato de abóbora.....	62
2.3.	Preparo das formulações.....	63
2.4	Estabilidade acelerada das emulsões .....	64
2.5	Caracterização físico-química das emulsões .....	64
2.5.1	Características organolépticas .....	64

2.5.2 Determinação de pH.....	65
2.5.3 Teste de espalhabilidade .....	65
2.5.4 Teor de $\beta$ -caroteno.....	66
2.5.5 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .....	67
2.6 Análise estatística dos dados .....	67
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
3.1 Características organolépticas.....	68
3.2 Determinação de pH.....	69
3.3 Teste de espalhabilidade .....	71
3.4 Teor de $\beta$ -caroteno .....	73
3.5 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .....	74
4 CONCLUSÃO.....	76
5. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	76
REFERÊNCIAS.....	77
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>79</b>

## LISTA DE FIGURAS

---

### CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE ESPÉCIES DE ABÓBORA DO GÊNERO *Cucurbita* spp.

- Figura 1 - Cultivares Jacarezinho (*C. moschata*) (A), Exposição (*C. maxima*) (B) e híbrido Jabras (C)..... 35
- Figura 2 - Avaliação das massas de abóboras em gramas(g). Massa inicial (MI), massa de casca (MC), massa de polpa (MP), massa de semente (MS), massa de aparas (MA). Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ )..... 41
- Figura 3 - Luminosidade ( $L^*$ ), Cromaticidade ( $C^*$ ) e Ângulo Hue ( $h^\circ$ ) das polpas de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras. Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ )..... 42
- Figura 4 - Composição centesimal (CHO: carboidrato; proteína; EE; extrato etéreo; fibras; cinzas; e água), expressa em matéria seca, das polpas de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras. Os valores apresentados representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ )..... 44
- Figura 5 - Potencial hidrogeniônico (pH), sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável total (ATT) e relação SST/ATT e umidade nas polpas de abóboras. Os valores apresentados representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ )..... 46
- Figura 6 - Carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno e Fenólicos totais (FT) nas polpas de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras. Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas

	colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).....	48
Figura 7 -	Capacidade antioxidante de sequestrar o radical DPPH das polpas das abóboras. Os valores representam as médias ( $\pm$ desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).....	50

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO COSMÉTICA ANTIOXIDANTE  
CONTENDO EXTRATO DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*): AVALIAÇÃO  
DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ESTABILIDADE**

- Figura 1- Estrutura química do  $\beta$ -caroteno (Fonte: Rowe; Sheskey, 2005)..... 61
- Figura 2- Emulsões à base de extrato de abóbora recém-elaboradas e acondicionadas em potes de vidro com tampa rosqueável. A) presença do extrato, B) presença do extrato e BHT..... 69
- Figura 3- Avaliação do pH de emulsões à base de extrato de abóbora submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão)..... 70
- Figura 4- Demonstração da avaliação de espalhabilidade conforme as formulações e condições de temperatura armazenada no período de 90 dias. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão).e BHT e 40°C..... 72
- Figura 5- Avaliação de  $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$  de emulsão) durante o período de 90 dias nas diferentes emulsões O/A. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão)..... 73
- Figura 6- Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao TROLOX ( $\mu\text{M TEAC}$ ) das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade por 90 dias. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão)..... 75

## LISTA DE TABELAS

---

### **DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO COSMÉTICA ANTIOXIDANTE CONTENDO EXTRATO DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*): AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ESTABILIDADE**

Tabela 1 -	Composição das formulações de emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.....	63
Tabela 2 -	Parâmetros usados para avaliação das características organolépticas das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.....	65
Tabela 3 -	Resultados da avaliação organoléptica (aspecto, cor, odor, textura) das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.....	68

## LISTA DE SIGLAS

---

**ABTS:** 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

**ANOVA:** Análise de variância

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**AOAC:** Association of Official Analytical Chemists

**ABHT:** Ausência de BHT

**ATT:** Acidez titulável total

**BHT:** Hidroxitolueno de butila

**CT:** Carotenoides Totais

**CIELAB:** Commission Internationale de L'Eclairage em espaço de cores L\*a\*b\*

**CLAE-FR:** Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa

**DPPH:** 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

**DCNT:** Doenças crônicas não transmissíveis

**EAG:** Equivalentes de Ácido Gálico

**ERMO:** Espécies Reativas do Metabolismo do Oxigênio

**g:** Gramas

**H:** Hidrogênio

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrogênio

**mg:** Miligramas

**µg:** Microgramas

**mL:** mililitros

**mL:** microlitros

**mM:** milimolar

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Superóxido

**OH:** hidroxila

**OMS:** Organização Mundial da Saúde

**PBHT:** Presença de BHT

**RPM:** Rotações por minuto

**Ratio:** Relação entre SST/ATT

**TEAC:** Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao TROLOX

**SST:** Sólidos solúveis totais

## RESUMO

---

MOLICA, Eliane Maria. **Caracterização *in vitro* de compostos bioativos em cucurbitáceas e sua aplicação no desenvolvimento de produto para nutrição cutânea.** 2015. 97 folhas. Tese [Doutorado] – Programa de Pós-graduação em Nutrição Humana, Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, UNB, Brasília, 2015.

Orientador: Dr. Celso Luiz Moretti. 17/12/2015.

As hortaliças são conhecidamente boas fontes de carotenoides. Pesquisas demonstram que a ingestão de quantidades expressivas de frutas e hortaliças previne várias doenças crônicas não transmissíveis. Tendo em vista, a existência de compostos antioxidantes em espécies de cucurbitáceas e a lacuna existente na literatura relativa à caracterização destes compostos, e aliando o uso deste alimento de forma diversificada. Este estudo teve como objetivo a caracterização física, química e de compostos bioativos de espécies de cucurbitáceas na polpa de seus frutos e o desenvolvimento de um produto para nutrição cutânea. Os frutos foram caracterizados quanto à cor, pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável total, relação entre sólidos solúvel total e acidez titulável total, umidade, composição centesimal, compostos bioativos e capacidade antioxidante. Após análise estatística dos resultados obtidos, 0,5% do extrato cetônico liofilizado da variedade de abóbora selecionada foi utilizado no desenvolvimento de emulsão cosmética. Em adição, variação na fórmula com incorporação de antioxidante sintético (BHT) foi realizada. As emulsões foram submetidas ao estudo de estabilidade acelerada em 2 condições climáticas (25°C e 40°C) por 90 dias, e submetidas às avaliações de características organolépticas, pH, espalhabilidade, capacidade antioxidante e teor de  $\beta$ -caroteno nos tempos 1, 7, 15, 30, 60 e 90 dias após manufatura. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5%. As polpas dos frutos apresentaram diferenças em sua composição centesimal e semelhantes rendimentos de polpa e produção de resíduos no processamento. As amostras se diferenciaram com relação a algumas das qualidades físico-químicas e apresentaram capacidade antioxidante semelhante. Para utilização em produto de aplicação tópica a qualidade nutricional foi melhor evidenciada para a *C. moschata*, destacando-se no conteúdo de compostos bioativos. As emulsões elaboradas apresentaram características físico-químicas compatíveis à aplicação cutânea, com manutenção de estabilidade por 90 dias quando armazenada em condições menos drásticas. Sendo assim, o estudo revelou a *C. moschata* como a espécie mais apropriada para incorporação em emulsões para aplicação tópica, com manutenção de suas características de estabilidade física e química durante o período de estudo em condições ambientais.

**Palavras-chave:** Abóbora; carotenoides; antioxidante; emulsão; extrato vegetal; nutrição humana.

---

## ABSTRACT

---

MOLICA, Eliane Maria. Cucurbitaceae bioactive compounds in vitro characterization and their use in the development of a new product for cutaneous nutrition. 2015. 97 sheets. Thesis [Doctorate] – Post-graduation Program in Human Nutrition, Nutrition Department, Health Science College, UNB, Brasilia, 2015.

Advisor: Dr. Celso Luiz Moretti. 17/12/2015

Vegetables are good sources of carotenoids. Several non-communicable chronic diseases as atherosclerosis, cancer, type II diabetes, hypertension, and obesity are prevented by significant intake of vegetables rich in carotenoids and phenolic compounds. Once those antioxidant compounds are found in several species of *Cucurbita sp.* and literature reviews demonstrate a gap on a better characterization of carotenoids and phenolic compounds in those vegetables, and allying various application use of that food. This thesis aimed to characterize physical and chemical properties of bioactive compounds of *Cucurbita sp.* obtained from their fruit pulp to develop a new product for cutaneous nutrition. Materials were physically and chemically characterized as color, pH, total soluble solids, total titratable acidity, humidity, centesimal composition, bioactive compounds and antioxidant activity. After statistical analysis of the results, 0.5% of lyophilized ketone extract of the variety of selected pumpkin was used in the development of cosmetic emulsion. In addition, variations in formula incorporation with synthetic antioxidant (BHT) was performed. All studied emulsions were submitted to stability test under two accelerated climatic conditions (25°C and 40°C, 75% RH) up to 90 days, afterwards organoleptic characteristics, pH, spreadability, antioxidant activity and  $\beta$ -carotene content were evaluated in 1, 7, 15, 30, 60 and 90 days after emulsions manufacturing. All results were submitted to the one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test at 5%. Fruits pulps had centesimal composition differences but similar yields and processing waste productions. Samples had some physical-chemical properties differences, but even antioxidant ability. For topical use of emulsion, *C. moschata* had the best nutritional quality by its content of bioactive compounds. The manufacturing emulsions presented physical-chemical properties compatible with topical applications, with stability kept within 90 days when stored under less drastic conditions. Therefore, the study indicates *C. moschata* as the most appropriate pumpkin specie to be used in topical emulsion formulation, keeping its physical-chemical properties of stability during the studied period in environmental conditions.

**Keywords:** Pumpkin; carotenoids; antioxidant; emulsion; plant extract; human nutrition.

---

## INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

---

Os radicais livres são espécies produzidas no corpo humano por meio de processos metabólicos, especialmente durante processos inflamatórios e por influência de fatores externos, como a irradiação solar (Ferreira; Matsubara, 1997; Darvin et al., 2011; Zastrow et al., 2009). Embora o organismo humano possua mecanismos de proteção para neutralizar os radicais livres, dietas com pouca ingestão de frutas e hortaliças, exposições exacerbadas à luz do sol, o fumo e os efeitos do envelhecimento potencializam a formação dessas espécies reativas (Rodriguez-Amaya et al., 2008; Darvin et al., 2011).

Pesquisas demonstram que a ingestão de quantidades expressivas de frutas e hortaliças está associada à prevenção de várias doenças crônicas não transmissíveis como a aterosclerose, câncer, diabetes tipo II, hipertensão arterial e obesidade. A ingestão periódica de alimentos ricos em carotenoides e compostos fenólicos pode prevenir a ocorrência de variadas doenças degenerativas (Podsdek, 2007).

A constatação de que as hortaliças e as frutas possuem substâncias biologicamente ativas que trazem benefícios à saúde ou efeitos fisiológicos desejáveis tem impulsionado estudos sobre suas propriedades antioxidantes (Silva et al., 2010). Embora as hortaliças sejam conhecidamente boas fontes de compostos bioativos, seu conteúdo pode ser influenciado pela variedade, grau de maturação, condições de cultivo, colheita, armazenamento, estação do ano e pela parte da hortaliça que é consumida (Campos et al., 2006; Rodriguez-Amaya et al., 2008; Jacobo-Valenzuela et al., 2011).

Dentre as diversas hortaliças consumidas no Brasil tem-se a abóbora, que pertence à família Cucurbitaceae. As cucurbitáceas são conhecidas pela grande versatilidade e valor alimentício (Gonzaga et al., 1999).

Os carotenoides e as vitaminas E e C estão na dieta como nutrientes e com reconhecimento das suas características como antioxidantes (Lima, 2008). Estes compostos têm demonstrado efeitos benéficos à saúde da pele

humana, especialmente pela aplicação tópica (Richelle et al., 2006). Quando os níveis de antioxidantes endógenos estão esgotados significativamente, é recomendado a aplicação tópica de antioxidantes (Freitas et al., 2015).

Muitos antioxidantes naturais, têm sido utilizados em produtos cosméticos, devido à sua eficácia na redução dos efeitos de radicais livres na pele (Darvin et al., 2011;. Freitas et al., 2015; Nichols; Katiyar, 2010). O uso de substâncias naturais em substituição a antioxidantes sintéticos vem crescendo devido à grande aceitação da população por produtos oriundos de fontes naturais (Lange et al., 2009; Buhler; Ferreira, 2008).

Do exposto, estudos buscando a caracterização *in vitro* de compostos bioativos presentes em cucurbitáceas são extremamente desejáveis, tendo-se em vista o potencial de sua utilização no desenvolvimento de um produto para nutrição cutânea, que poderá atender a um mercado demandante crescente.

O trabalho está estruturado na forma de artigos científicos, apresentado conforme a seguir:

**Artigo 1 – “Caracterização física, química e de compostos bioativos da polpa de espécies de abóbora *Cucurbita* spp.”**

**Artigo 2 – “Desenvolvimento de emulsão cosmética antioxidante contendo extrato de abóbora (*Cucurbita moschata*): avaliação da capacidade antioxidante e estabilidade”**

Após os artigos, seguem-se as conclusões baseadas em todo o estudo que compuseram a presente tese.

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 Objetivo geral

Caracterização física, química e de compostos bioativos em espécies de cucurbitáceas *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* e do híbrido Jabras e o desenvolvimento e caracterização de emulsão contendo extrato de abóbora (*Cucurbita moschata*).

### 2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar parâmetros físicos e químicos (massa, cor, pH, teor de sólidos solúveis totais, acidez titulável total, relação entre sólido solúvel total e acidez titulável total e umidade, das polpas das diferentes abóboras;
- Estimar composição centesimal nas polpas das diferentes abóboras;
- Quantificar compostos bioativos (carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno e fenólicos totais) das polpas de abóboras;
- Avaliar capacidade antioxidante das polpas das diferentes espécies de abóboras;
- Elaborar formulações de emulsão óleo-em-água;
- Analisar parâmetros organolépticos (cor, odor, aspecto, textura) das emulsões;
- Avaliar parâmetros físicos e químicos (pH e espalhabilidade) das emulsões;
- Avaliar capacidade antioxidante e quantificar  $\beta$ -caroteno nas emulsões.

## REFERÊNCIAS

BUHLER, F. V.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilexparaguariensis* St. Hil a 5 e 10%. **Revista Perspectiva**, n. 119, p. 47-55, set. 2008.

CAMPOS, F.M.; SOUZA, P.M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M., STRINGUETA, P.C. Provitaminas A em hortaliças comercializadas no mercado formal e informal de Viçosa (MG), em três estações do ano. **Tecnologia de Alimentos** v.26, n.1, 2006.

DARVIN, M.E.; FLUHR, J.W.; MEINKE, M.C.; ZASTROW, L.; STERRY, W.; LADEMANN, J. Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. *Experimental Dermatology*, V.20, p.125–129, 2011.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**. 43(1): 61-8, 1997.

FREITAS, J.V; PRAÇA, F.S.G ;BENTLEY, M.V.L.B.; GASPAR, L.R. Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. **International Journal of Pharmaceutics**, v.484, p. 131–137, 2015.

GONZAGA, V.; FONSECA, J.N.L.; BUSTAMANTE, P.G.; TENENTE, R.C.V. Intercâmbio de germoplasma de cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, v.17, p. 06-09, 1999.

JACOBO-VALENZUELA, N.; MARÓSTICA-JUNIOR, M. R.; ZAZUETA-MORALES, J.J.; GALLEGOS-INFANTE, J.A. Physicochemical, technological properties, and health-benefits of *Cucurbita moschata* Duchense vs. Cehualca. A review. **Food Research International**, v.44, 2587–2593, 2011.

LANGE, M. K.; HEBERLE, G.; MILAO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base nao-ionica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 145-151, jan-mar, 2009.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense* Cambi).** (Tese de Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 219p, 2008.

NICHOLS, J.A.; KATIYAR, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms **Arch Dermatol Res**, v.302, p. 71–83, 2010.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science Technology** v. 40, p.1-11, 2007.

RICHELLE M, SABATIER M, STEILING H, WILLIAMSON G. Skin bioavailability of dietary vitamin E, carotenoids, polyphenols, vitamin C, zinc and selenium. **Br J Nutr.**; 96(1) p.227-38, 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian data-base on food carotenoids: Factors affecting carotenoids composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 445–463, 2008.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.11, 3, p.669-682, 2010.

ZASTROW, L.; GROTH, N.; KLEIN, F.; KOCKOTT, D.; LADEMANN, J.; RENNEBERG, R.; FERRERO, L. The Missing Link – Light-Induced (280–1,600 nm) Free Radical Formation in Human Skin. **Skin Pharmacol Physiol**, v.22, p.31-44, 2009.

## REVISÃO DA LITERATURA

---

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

---

#### 3.1 Espécies Reativas do Metabolismo do Oxigênio (ERMO)

Radical Livre refere-se ao átomo ou molécula que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. O não emparelhamento confere alta reatividade e instabilidade a estes radicais. Portanto, os Radicais livres ou provocam ou resultam das reações de óxido-redução. Radicais livres não é o termo ideal para designar os agentes reativos patogênicos, pois alguns deles não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada. Como em sua maioria, é derivado do metabolismo, o termo Espécies Reativas do Metabolismo do Oxigênio (ERMO) tem sido mais utilizado, pois inclui os radicais livres e outras espécies, que embora não possuam elétrons desemparelhados, são também muito reativas e instáveis. Os três principais tipos de ERMO são: superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e hidroxila ( $OH^-$ ) (Ferreira; Matsubara, 1997).

Existem evidências de que as ERMO possam estar envolvidas em mais de 50 doenças. Podem ser causa ou consequência de doenças humanas associadas ao estresse oxidativo. Por isso, antioxidantes naturais e sintéticos têm sido recomendados para o alívio dos sinais e sintomas destas doenças e, mesmo, para bloquear sua evolução (Ferreira; Matsubara, 1997).

ERMO são espécies produzidas no corpo humano por meio de processos metabólicos, especialmente durante processos inflamatórios e por influência de fatores externos, como a irradiação solar (Darvin et al., 2011; Zastrow et al., 2009). Embora o organismo humano possua mecanismos de proteção para neutralizar as ERMO, exposições exacerbadas à luz do sol, o fumo e os efeitos do envelhecimento potencializam a formação dessas espécies reativas (Darvin et al., 2011).

A propriedade antioxidante dos carotenoides é estudada e o mecanismo proposto varia dependendo do composto, mas de um modo geral, se dá pela capacidade de reagir com radicais livres, neutralizando-os, e de

quelar oxigênio singlete, fazendo com que este retorne ao estado triplete, menos reativo (Edge et al., 1997).

### 3.2 Carotenoides – estrutura química

Estruturalmente, os carotenoides são compostos por quarenta átomos de carbonos simétricos e lineares  $C_{40}$ , formados pela união cauda-cabeça de oito unidades isoprenoides  $C_5$ , exceto na posição central com inversão de sequência no centro da molécula, são geralmente tetraterpenoides (Rodrigues-Amaya, 1999, Ötles; Çagindi, 2007). Por apresentarem duplas ligações conjugadas, podem ser oxidados tanto química quanto biologicamente a partir de clivagens em uma ou nas duas extremidades (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

A nomenclatura sistemática dos carotenoides baseia-se no núcleo central denominado caroteno, sendo as especificações para as extremidades designadas pelas letras gregas  $\beta$  (beta),  $\epsilon$  (épsilon),  $\psi$  (psi),  $\xi$  (phi) e  $k$  (kappa). Tais letras assumem os seguintes significados:  $\beta$  e  $\epsilon$ , ciclohexano;  $k$ , ciclopenteno;  $\psi$ , acíclico e  $\xi$ , cíclico (Pimentel et al., 2005).

Essas moléculas podem sofrer modificações, provocadas por ciclização, hidrogenação, desidrogenação, introdução de oxigênio, rearranjos, encurtamento de cadeias ou combinações dessas modificações (Dutta et al., 2005; Rodriguez-Amaya et al., 2008). Com as modificações, ocorre a formação de compostos voláteis que provocam sabores indesejáveis, perda de cor e da atividade biológica, mesmo sendo moderadamente termoestáveis (Rodriguez-Amaya, 1999).

Quanto à estrutura química, os carotenoides são classificados em dois grupos, os carotenos (hidrocarotenoides) apresentam somente átomos de carbono e hidrogênio em sua molécula (licopeno,  $\beta$ -caroteno) e os chamados xantofilas (oxicarotenoides) contém átomos de oxigênio em sua molécula, além de carbono e hidrogênio (luteína e zeaxantina) (Damodaran et al., 2008, Rodriguez-Amaya, 1999; Thane; Reddy, 1997). Os grupos substituintes oxigenados mais comuns são os de hidroxilas (OH), ceto (C=O), epóxido, aldeído (CHO), carboxi (CO<sub>2</sub>H), carbometoxi (CO<sub>2</sub>Me) e metoxi (OMe) (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

Os carotenoides possuem coloração amarela, laranja ou vermelha e estão presentes em várias frutas e hortaliças como, por exemplo, no tomate (licopeno), na cenoura, no mamão e na manga ( $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno) e na abóbora ( $\beta$ -caroteno) (Silva et al., 2010). A função antioxidante dos carotenoides reduz o risco de câncer, catarata, degenerescência macular da retina e o processo de envelhecimento (Damodaran et al., 2008). Os carotenoides são encontrados principalmente na forma trans, sendo a mais estável. Fatores físicos e/ou químicos (calor, luz solar direta e pró-oxidantes) podem modificar a molécula (Siqueira et al., 2007).

A estrutura química dos principais carotenoides encontra-se na Figura 1.

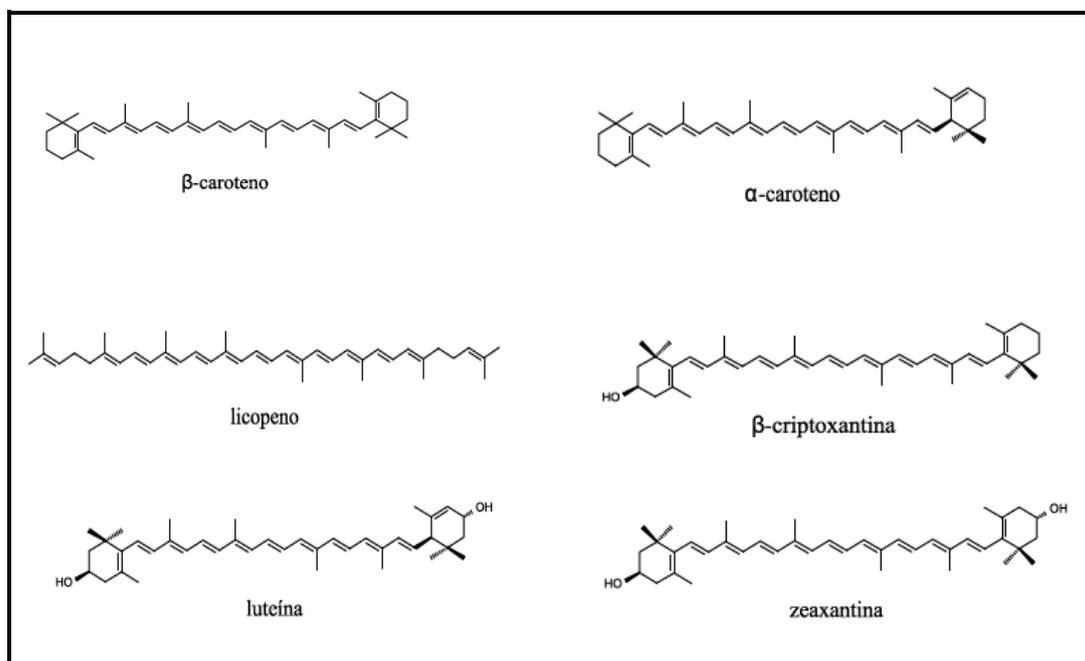


Figura 1 - Estrutura dos carotenoides considerados importantes para a saúde (Adaptado de Rodriguez-Amaya et al., 2008).

### 3.3 Principais fontes

Os alimentos de origem vegetal biossintetizam os carotenoides não acontecendo o mesmo com os de origem animal. Os carotenoides são encontrados em fungos, bactérias, animais, em todos os tecidos verdes de plantas (Bauernfiend, 1981). Embora sendo encontrados em animais, estes

não podem sintetizá-los sendo necessária sua ingestão através de dietas contendo frutas e vegetais (Rao; Rao, 2007).

Os alimentos de origem vegetal contém os principais carotenoides como também pequenas quantidades de seus precursores e derivados, o que torna sua composição complexa e variável (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

As hortaliças são conhecidamente boas fontes de carotenoides, seu conteúdo pode ser influenciado pela variedade, grau de maturação, condições de cultivo, estação do ano e pela parte da hortaliça que é consumida. As condições de colheita, armazenamento e exposição para o consumidor podem alterar o seu conteúdo, tanto qualitativamente quanto quantitativamente (Campos et al., 2006).

Os vegetais folhosos ou não folhosos apresentam perfil de carotenoides qualitativo definido, sendo luteína,  $\beta$ -caroteno, violaxantina e a neoxantina como os principais. Já as frutas e os vegetais frutos têm composição em carotenoides bem mais complexa e diversificada, destacando-se o  $\alpha$ -caroteno, o  $\beta$ -caroteno e a luteína (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

### **3.4 Carotenoides e a saúde humana**

O termo “alimentos bioativos” foi primeiramente introduzido no Japão em meados dos anos 80 referindo-se aos alimentos processados contendo ingredientes que auxiliam funções específicas do corpo além de serem nutritivos, sendo estes alimentos definidos como “alimentos para uso específico de saúde” (Foods for Specified Health Use-FOSHU). Em 1991 estabeleceu-se que FOSHU são alimentos que têm efeito específico sobre a saúde devido à sua constituição química e que não devem expor o consumidor ao risco de saúde ou higiênico (Moraes; Colla, 2006).

Cresceu o reconhecimento de que o efeito protetor dos alimentos não é devido apenas a uma classe de compostos, e sim ao resultado da ação de um número de substâncias bioativas existentes em cada alimento (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

Interesse em carotenoides e saúde humana remonta há 80 anos, quando a ligação entre  $\beta$ -caroteno e vitamina A foi demonstrado pela primeira

vez, e a importância na dieta contendo o  $\beta$ -caroteno e alguns outros carotenoides como pró-vitamina A foi estabelecida (Britton et al., 2008). O  $\beta$ -caroteno é o carotenoide que apresenta maior atividade pró-vitamina A.

Compostos bioativos tais como, vitamina E, vitamina C, carotenoides, polifenóis entre outros, possuem capacidade antioxidante e seus benefícios para a saúde humana são devidos às suas atividades anti-inflamatórias, de inibição da agregação plaquetária e de combate aos efeitos danosos dos radicais livres (Silva et al., 2010).

Além de aliviar os sintomas em distúrbios de fotossensibilidade por  $\beta$ -caroteno, os dados com carotenoides testados em humanos, mostram uma redução moderada no desenvolvimento de eritema induzido pelo sol. Experiências com  $\beta$ -caroteno estão sendo realizadas ao longo dos últimos 30-40 anos, apontando os benefícios dos carotenoides em fotoproteção da pele humana (Goralczyk; Wertz, 2008).

Pigmentos carotenoides também se acumulam em todas as camadas de pele, incluindo a derme, epiderme e estrato córneo. Esta acumulação contribui com a aparência normal do amarelamento da pele (Alaluf et al., 2002; Mayne et al., 2010).

### **3.5 Ingestão de $\beta$ -caroteno benefícios e cuidados**

Uma combinação de atividade física, ingestão de variedade de alimentos e interação social é o perfil de estilo de vida mais provável para otimizar a saúde, assim como, refletir no aumento da longevidade e envelhecimento saudável. As modificações dietéticas não somente influenciam o estado de saúde atual, como também, se um indivíduo futuramente desenvolverá ou não alguma doença como câncer, doenças cardiovasculares e diabetes (OMS, 2003).

Os carotenoides mais pesquisados por seu envolvimento na saúde humana são o  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina. O  $\beta$ -caroteno, o  $\alpha$ -caroteno e a  $\beta$ -criptoxantina são pró-vitaminas A. O  $\beta$ -caroteno é o carotenoide de maior potência pró-vitamina A com 100% de atividade (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

Os carotenoides e as vitaminas E e C, estão na dieta como nutrientes e com reconhecimento das suas características como antioxidantes (Lima, 2008).

Apresentação de estudos demonstrando que o consumo alimentar de  $\beta$ -caroteno ou a sua concentração plasmática e a baixa incidência de câncer do pulmão e doenças cardiovasculares iniciam nos anos 90. Porém, outro estudo mostrou dados com o aumento da incidência de câncer de pulmão em fumantes e trabalhadores expostos ao amianto devido a altas doses suplementares de  $\beta$ -caroteno. Dessa forma, os carotenoides reconquistaram a sua importância na saúde, mas a ênfase foi deslocada para os carotenoides diferentes do  $\beta$ -caroteno. Portanto, a recomendação atual permanece sendo o aumento do consumo de uma variedade de frutas e verduras ricas em carotenoides (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

### **3.6 Abóbora e os carotenoides**

Abóbora é membro da família Cucurbitaceae, que inclui maxixe, chuchu, pepinos, melões e melancias, a abóbora é originária das Américas, onde era consumida pelos nativos, muito antes da chegada dos europeus (Ferriol; Picó, 2008).

O termo *abóbora* é utilizado para frutos de diferentes espécies do gênero *Cucurbita*: *C. pepo*, *C. maxima*, *C. moschata*, *C. argyrosperma* e *C. ficifolia* que são as mais comumente cultivadas. Além de diferentes espécies, existem mais de cem variedades, diversificando na forma, tamanho e cor do fruto (Caili et al., 2006; Ferriol; Picó, 2008). A *Cucurbita moschata*, é amplamente cultivada e consumida em vários países do mundo (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

As abóboras das espécies *C. moschata*, *C. maxima* e *C. pepo* estão disponíveis durante todo o ano. Seu armazenamento permite ser à temperatura ambiente durante vários meses (Azevedo-Meleiro; Rodriguez-Amaya, 2007). Abóboras de polpa laranja destacam-se por possuírem elevados teores de carotenoides principalmente  $\beta$ -caroteno (Barroso et al., 2007, Carvalho et al., 2012).

Resultados de pesquisas analisadas para os carotenoides  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e luteína em algumas abóboras brasileiras encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) em abóboras brasileiras.

Descrição	Carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ )		
	$\alpha$ -caroteno	$\beta$ -caroteno	luteína
Abóbora 'Baianinha' (C. moschata), sem casca	47 (E)	235 (E)	8,6 e 8,5 (E)
Abóbora Cabotiã 'Híbrido Tetsukabuto', sem casca	0,2 (E)	22 (E)	38 (E)
Abóbora 'Goianinha' (C. moschata), sem casca	24 (E)	57 (E)	18 (E)
Abobrinha italiana 'Caserta' (C.pepo)		1,4 (E)	4,6 (E)
Abóbora 'Jerimum caboclo' (C. maxima), sem casca	0,4 (E)	21 (E)	47 (E)
Abóbora 'Menina', madura, sem casca	25 (E)	53 (E)	10 (E)
Abóbora 'Mogango' (C.pepo), sem casca		5,4 (E)	9,8 (E)
Abóbora Moranga 'Exposição' (C.maxima), sem casca			13
	0,1 (E)	16 (E)	10 (E)

Fonte: Adaptado de Rodriguez-Amaya et al. (2008). E = trans.

Estudos realizados sobre a composição de carotenoides em abóboras cultivadas no nordeste do Brasil identificaram que a *Cucurbita máxima*, variedade Jerimum caboclo, apresentou 11 tipos de carotenoides, sendo 60% luteína e 27%  $\beta$ -caroteno e *Cucurbita moschata*, variedade baianinha, 19 tipos de carotenoides, sendo 74% (317,8  $\mu\text{g/g}$ )  $\beta$ -caroteno (Arima; Rodriguez-Amaya, 1990).

A variação nos resultados de compostos bioativos. irá ser influenciada por diferentes fatores tais como: processo de preparo da matéria-prima, diferentes variedades e do estado de maturação do fruto (Shi et al., 2010).

Sob o ponto de vista nutricional, a importância da presença de abóboras na dieta reside no fato de serem consideradas fontes de carotenoides, compostos responsáveis pela sua atrativa coloração e que

desempenham importante papel na saúde humana (Jacobo-Valenzuela et al., 2011).

### 3.7 Capacidade antioxidante

Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (Ribeiro et al., 2008).

Devido à relação, atividade antioxidante e ação contra doenças, a capacidade antioxidante dos alimentos vem sendo determinada *in vitro*, fazendo a correlação com as concentrações das substâncias bioativas no alimento. Porém, é necessário diferenciar efeito antioxidante no alimento propriamente dito e o efeito de antioxidantes na saúde (Rodriguez-Amaya et al., 2008).

Os antioxidantes obtidos na dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenoides são extremamente importantes na intercepção dos radicais livres (Bianchi; Antunes, 1999).

Componentes como o  $\beta$ -caroteno agem inibindo o oxigênio singlete e interagindo sinergicamente com a vitamina E, para inibir a peroxidação lipídica. Outros constituintes fenólicos em alimentos, tais como os flavonóides, podem também reduzir os danos causados pelo estresse oxidativo (Schwenke, 1998).

A capacidade antioxidante total de extratos vegetais não traduz precisamente, o que ocorre *in vivo* nas células vegetais, onde nestas ocorre atividade dinâmica de um sistema antioxidante formado por enzimas (superóxido dismutase, catalase, etc.) e compostos de baixo peso molecular (flavonoides, taninos, etc.) (Neill et al., 2002).

Determinar a capacidade antioxidante de um produto tem a função de avaliar a sua proteção contra oxidação como também informar o seu potencial antioxidante. Métodos que determinam a capacidade antioxidante são divididos em dois grupos: captura dos radicais livres (capturado ao ser adicionado o composto antioxidante), e na determinação da oxidação da

molécula (pelo consumo de oxigênio ou pela formação de produtos de oxidação) (Lima, 2008; Chu et al, 2013).

A capacidade antioxidante de derivados vegetais tem sido avaliada por diferentes métodos, colorimétricos, biológicos e eletroquímicos, entre outros métodos instrumentais. Entre os métodos colorimétricos destacam-se aqueles que relacionados à habilidade dos antioxidantes através da captura dos radicais como o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) e 2,2'-azinobis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) (Rufino, et al., 2007).

A característica do método DPPH, é não envolver condições drásticas de temperatura e oxigenação, o radical possui coloração púrpura. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radical (R.), o DPPH é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, apresenta absorção entre 515-520 nm. Preocupações devem ser tomadas, quanto à utilização do método e interpretação do resultado tais como: concentração do composto analisado, meio reacional, presença de interferentes, sinergismos entre outros (Molyneux, 2004).

Antes de utilizar o radical ABTS faz-se necessário que ocorra uma reação, que pode ser gerada através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. As amostras reduz o radical, tornando-o mais estável, com consequente redução da absorbância a 754 nm. O Método de captura do radical ABTS<sup>•+</sup> tem sido utilizado para compostos fenólicos e carotenoides (Arts et al., 2001). Por ser utilizado tanto para amostras hidrossolúveis e lipossolúveis confere vantagens quando comparado com outros métodos (Scalfi et al., 2000).

As substâncias com ação antioxidante atuam neutralizando os radicais livres tidos como principais responsáveis pelo envelhecimento cutâneo. Por esta razão, ingredientes como as vitaminas E e C, que são antioxidantes naturais, são encontrados na grande maioria em produtos para a pele (Ribeiro, 2010).

Mesmo com estudos cada vez mais frequente para as evidências bioquímicas, clínicas e epidemiológicas de muitos compostos funcionais, o consenso científico ainda não ocorreu, para que se tenha políticas públicas

referentes ao seu uso. Pesquisa para identificação, ação biológica e alimentos dirigidos para a saúde pública ainda se fazem necessárias (Del Ré; Jorge, 2012).

Quando os níveis de antioxidantes endógenos estão esgotados significativamente, é recomendada a aplicação tópica de antioxidantes (Freitas et al., 2015).

### 3.8 Pele

A pele possui um sistema sofisticado envolvendo processos bastante complexos principalmente quando sofre ação de fatores externos. Sua relação com os demais órgãos ocorre de forma integrada tornando possível o equilíbrio do corpo com o ambiente. A pele e a mucosa estabelecem até o que é possível ou não interagir com o organismo (Barbosa, 2011). A pele é o maior órgão do corpo humano, totalizando 16% do peso corporal (Ribeiro, 2010, Gartner; Hiatt, 2007).

A pele é constituída por três camadas distintas: a epiderme, a derme e a hipoderme. Uma superior - a epiderme; uma camada intermediária - a derme; e uma camada profunda - a hipoderme (Figura 2).

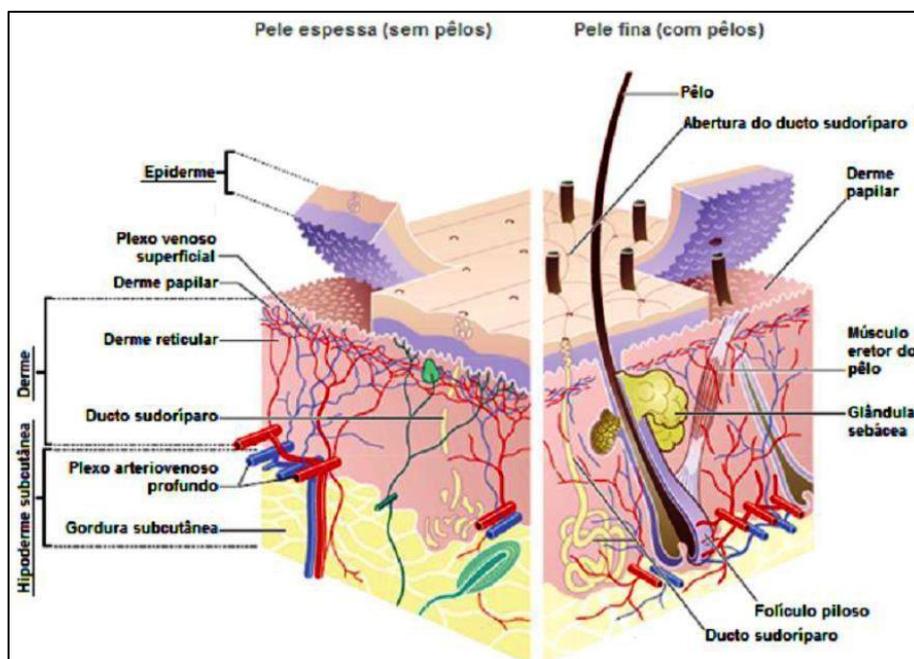


Figura 2 - Camadas da pele e principais estruturas (Adaptado de Hunter et al., 2002).

A epiderme é a camada mais superficial. Existem quatro tipos de células na epiderme: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, sendo as mais abundantes os queratinócitos (Junqueira; Carneiro, 2004; Leonardi, 2008).

Os melanócitos sintetizam um pigmento castanho escuro, a melanina. A melanina é responsável pelo escurecimento da pele por exposição à luz solar. Embora esta seja a ação visível da melanina, como resposta à luz solar, a sua principal função é absorver radiação ultravioleta (UV) e visível (Junqueira; Carneiro, 2004).

Abaixo da epiderme encontra-se a derme. A derme é constituída por tecido conjuntivo, no qual se apoia a epiderme e é responsável pela união entre a pele e o tecido celular subcutâneo (hipoderme). Na derme encontram-se várias estruturas derivadas da epiderme, como é o caso dos folículos pilosos e das glândulas sebáceas e salivares. Após a derme encontra-se a hipoderme, camada mais profunda da pele e tem a função de realizar o deslizamento da pele sobre as estruturas em que se apoia, além da função de ser depósito nutritivo de a reserva de energia e proteção contra o frio (Junqueira; Carneiro, 2004; Leonardi, 2008).

A pele possui pH levemente ácido (4,6 – 5,8), protegendo-a da ação de bactérias e fungos superficialmente. Como o pH da pele sofre diversas alterações quando é exposta a agentes provocadores de agressões, as secreções cutâneas tem capacidade tamponante para que estas características se mantenham (Rodrigues, 1995, Pinto et al., 1997). Resultados obtidos no experimento na pele de mulheres entre 30 e 45 anos de idade não demonstrou para nenhum dos fatores (tempo, substância ativa, presença ou não da substância ativa no veículo) diferença estatística, no pH (Leonardi et al., 2002).

### **3.9 Nutrição cutânea**

As primeiras associações realizadas entre nutrição e pele foram relativo às carências nutricionais específicas, como as do escorbuto e pelagra. Mesmo antes de estas deficiências nutricionais afetarem outros tecidos é na pele a sua forma mais visível (Boelsma et al., 2001, Boelsma et al., 2003).

O funcionamento e aparência da pele são afetados por fatores endógenos e ambientais. Por um lado a pele é susceptível à predisposição genética, ao estado imune, hormonal, nutricional, e ao stress (Boelsma et al., 2001, Boelsma et al., 2003).

As manifestações do envelhecimento cronológico são visivelmente percebidas na pele. Inúmeros mecanismos celulares e moleculares estão envolvidos nesse envelhecimento natural, aliados a outros fatores secundários, também chamados de fatores extrínsecos, como exposição ao sol e tabagismo, que podem acelerar o processo fisiológico do envelhecimento cutâneo. Diversas evidências científicas apontam os radicais livres como os principais causadores de mudanças na pele relacionadas à idade. O mecanismo mais eficaz para reduzir os efeitos do envelhecimento cutâneo é a correta nutrição deste tecido (Ribeiro, 2010).

Estudos têm mostrado associações entre nutrição e pele, das quais se destaca a relação entre nutrição e fotoproteção. A pele humana está constantemente exposta à radiação solar (radiação UV, visível e infravermelha). A radiação UV é responsável pela formação de espécies reativas de oxigênio e radicais livres na pele (Mcardle et al., 2004).

Normalmente a forma clássica de administração de compostos para a pele ocorre por aplicação tópica, como para os antioxidantes também, e nem sempre pode ser a mais eficiente, pois o ativo deve estar viável tanto na preparação como na penetração da pele. Estudos relacionam que, quanto maior a administração por via oral ou tópica de antioxidante, maior será a quantidade desta substância na pele, e maior será a sua proteção (Boelsma et al., 2001).

### **3.10 Pele e carotenoides**

Os carotenoides se encontram na epiderme e são secretados pelas glândulas sebáceas. Os locais da pele com maior produção de sebo, como a testa, são aqueles que têm maior concentração de carotenoides (Richelle et al., 2006, Gomes, 2007).

Os carotenoides têm também a capacidade de alterar características absorptivas da pele e têm efeito imunomodulador e ação fotoprotetora.

Pesquisa, concluiu que o consumo de  $\beta$ -caroteno aumenta as propriedades refletoras da pele. Mesmo não podendo atuar como protetor solar, devido à quantidade de carotenoides existente na pele não ser suficiente, o  $\beta$ -caroteno pode ter uma ação fotoprotetora direta devido à sua capacidade física de absorver luz (Boelsma et al., 2001).

No papel como antioxidante, sequestrando espécies reativas de oxigênio e radicais livres, testes realizados em ratos, mostrou que  $\beta$ -caroteno era capaz de inibir a carcinogênese induzida pela radiação UV (Kullavanijaya; Lim, 2005).

O desempenho dos antioxidantes *in vivo* dependerá: dos tipos de radicais livres produzidos; onde e como são gerados esses radicais; análise e métodos para a identificação dos danos e doses ideais para desenvolver a proteção (Bianchi; Antunes, 1999).

Precauções devem ser tomadas, pois, é perfeitamente possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas que não obtenha a mesma proteção, ou até que aumente as lesões induzidas em outros sistemas, ou tecidos (Halliwell et al., 1995).

### **3.11 Emulsão**

As emulsões são misturas termodinamicamente instáveis de dois líquidos imiscíveis, constituídos de uma fase dispersa insolúvel na fase dispersante e um terceiro componente que é o agente emulsionante, responsável pela estabilização do sistema (Ansel et al., 2000).

Existem dois grupos principais de emulsão: emulsões simples e emulsões múltiplas. São definidas conforme a distribuição das diferentes fases que compõem o sistema (Figura 3). Sistemas formados por gotas de óleo, dispersas em uma fase aquosa, são chamados de emulsões simples óleo/água (O/A), sistemas formados por gotas de água dispersas em uma fase óleo são chamados emulsões simples água/óleo (A/O). Emulsões múltiplas possuem estrutura mais complexa que a das emulsões simples. Os tipos mais comuns são água/óleo/água (A/O/A) e óleo/ água/óleo (O/A/O) (Bouyer et al., 2012).

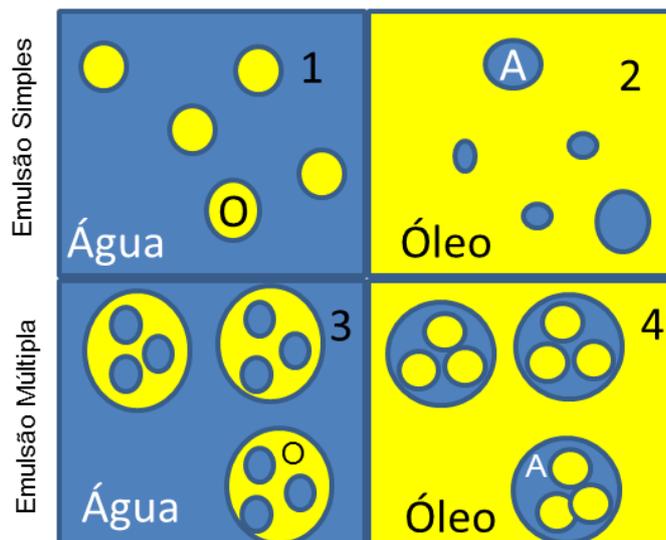


Figura 3 – Representação esquemática das estruturas das emulsões. 1: O/A; 2: A/O; 3: A/O/A; 4: O/A/O. A: fase aquosa; O: fase óleo (Adaptado de Bouyer et al., 2012).

As emulsões são muito empregadas para uso tópico, devido a sua capacidade de veiculação de princípios ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis, de diminuição da irritabilidade dérmica de certos fármacos e principalmente da boa aceitação por parte do consumidor (Lachman et al., 2001).

O desenvolvimento de emulsões para nutrição cutânea, incorporada de ativos de origem vegetal com propriedades antioxidantes tem crescido devido principalmente à tendência mundial pela busca de produtos naturais em substituição aos sintéticos. Dentre os diversos ativos, sobressaem aqueles à base de extratos de frutas e hortaliças (Lange et al., 2009; Buhler; Ferreira, 2008).

As emulsões são amplamente utilizadas tanto para incorporação de fármacos, como para ativos cosméticos (Figura 4). Para tanto, deve-se mostrar estável, sendo sua avaliação de estabilidade necessária. Esta avaliação pode ocorrer por estudo de teste de estabilidade acelerada. Sendo possível verificar se um determinado produto, manterá suas características iniciais quando submetido a condições controladas e específicas (Zanin et al., 2001; BRASIL, 2004).

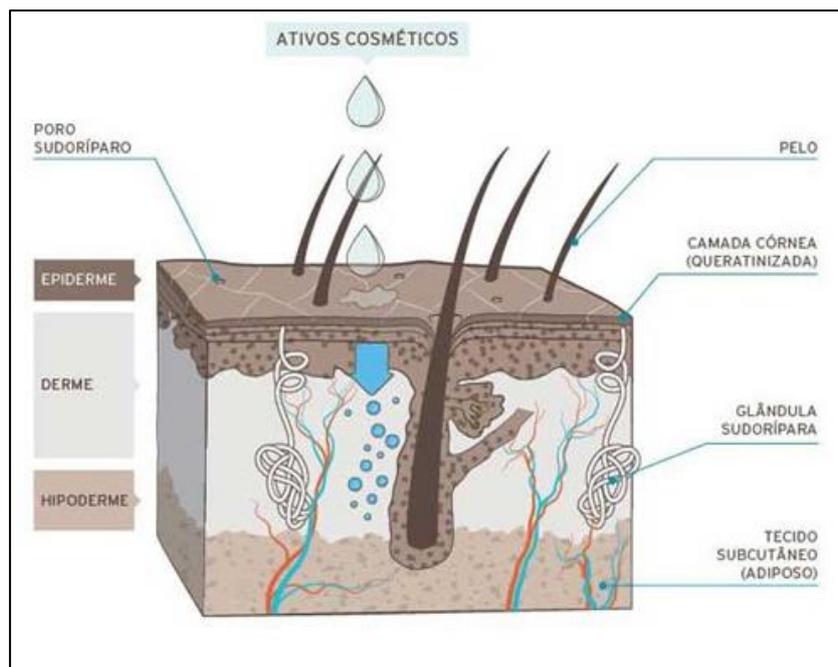


Figura 4 – Penetração de ativos na pele a partir de emulsões. Fonte: (<http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2012>).

Conforme o perfil de estabilidade apresentado por um produto é possível avaliar seu desempenho, segurança e eficácia. O estudo de estabilidade acelerada fornece como ocorrerá o comportamento do produto, em um período de tempo e nas condições ambientais a que foi submetido (BRASIL, 2004, Souza; Ferreira, 2010).

A instabilidade de uma emulsão pode ser ocasionada pela reação de oxidação, alterando cor e odor do produto, provocada pelo oxigênio atmosférico ou por ação microbiana. A inibição da oxidação pode ser conseguida na adição de substâncias antioxidantes na formulação (Silva; Soares, 1996).

Dessa forma, muitos antioxidantes naturais, tais como quercetina, catequina e carotenóides, têm sido utilizados em produtos cosméticos devido à sua eficácia na redução dos efeitos de radicais livres na pele, diminuindo o fotoenvelhecimento cutâneo (Darvin et al., 2011; Freitas et al., 2015; Nichols; Katiyar, 2010). Essas substâncias estão presentes em várias espécies vegetais, e seu uso em substituição ou em associação a antioxidantes sintéticos vem crescendo devido à grande aceitação da população por produtos oriundos de fontes naturais (Lange et al., 2009; Buhler; Ferreira, 2008).

## REFERÊNCIAS

ALALUF, S.; HEINRICH, U.; STAHL, W.; TRONNIER, H.; WISEMAN, S. Dietary carotenoids contribute to normal skin color and UV photosensitivity. **J. Nutr.** v. 132, p.399–403, 2002.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G; ALLEN, J. R. L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos.** 6.ed. São Paulo: Editorial Premier; 2000.

ARIMA, H.K.; RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from northeastern Brazil. **Archivos Latino americanos de Nutrición**, Caracas, v. 40, n. 2, p. 284-292, jun. 1990.

ARTS, M. J.; HAENEN, G. R.; VOSS, H. P.; BAST, A. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. **Food and Chemical Toxicology**, v.39, n. 8, p.787-791, 2001.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Qualitative and quantitative differences in carotenoid composition among *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, and *Cucurbita pepo*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 4027–4033, 2007.

BARBOSA, F.DE S. **Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea.** 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto Alberto Luiz Coimbra, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

BARROSO, M.R.; MAGALHÃES, M.J.; CARNIDE, V.; MARTINS, S. Cucurbitáceas de Trás-os-Montes, Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte, **Coleção Uma Agricultura com Norte**, 2007.

BAUERNFIEND, J. C. Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. Nova Iorque: Academic Press, p. 835–836, 1981.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr**, v. 12, n.2, p. 123-130, 1999.

BOELSMA, E.; HENDRIKS, H.; ROZA, L. Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. **Am J Clin Nutr.**; 73(1): 853-64, 2001.

BOELSMA, E.; VIJVER, L.; GOLDBOHM, R.; KLÖPPING-KETELAARS, I.; HENDRIKS, H., ROZA, L. Human skin condition and its associations with nutrient concentration in serum and diet. **Am J Clin Nutr.**; 77(1): 348-55, 2003.

BOUYER, E. et al. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, v.436, n.1-2, p.359-378, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, DF: ANVISA, 2004. 52p. (Séries Temáticas. Qualidade, v.1). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia\\_series.htm](http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia_series.htm).> Acesso em: 20 jul. 2015.

BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, F, PFANDER, H. **Carotenoids: Nutrition and Health**. V 5: 3, H (Eds.). BirkhauserVerlag Basel, p. 1-6, 2008.

BUHLER, F. V.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilexparaguariensis* St. Hil a 5 e 10%. **Revista Perspectiva**, n. 119, p. 47-55, set. 2008.

CAILI, F.; HUAN, S.; QUANHONG, L. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 61, n. 2, p. 73–80, 2006.

CAMPOS, F.M.; SOUZA, P.M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M., STRINGUETA, P.C. Provitaminas A em hortaliças comercializadas no mercado formal e informal de Viçosa (MG), em três estações do ano. **Ciência Tecnologia de Alimentos** v.26, n.1, 2006.

CARVALHO, M. J.; GOMES, P. B.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S.; MONTE, P. H. F.; CARVALHO, J.L.V.; NUTTI, M. R.; NEVES, A. C. L.; VIEIRA, A. C. R. A.; RAMOS, S.R. Total carotenoid content,  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. **Food Research International**, v. 47, p.337–340, 2012.

CHU, Y.; WISE, M. L.; GULVADY, A.A.; CHANG, T.; KENDRA, D.F.; KLINKEN, B.J.; SHI, Y.; O'SHEA, M. In vitro antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of seven common oats. **Food Chemistry**, v.139, p. 426–431, 2013.

DAMODARAN, S. **Amino Acids, Peptides, and Protein** In: Fennema's food chemistry, 4. ed. Damodaran, S.; Parkin, K.; Fennema, O.R. Eds. CRC Press. Boca Raton. 1144p, 2008.

DARVIN, M.E.; FLUHR, J.W.; MEINKE, M.C.; ZASTROW, L.; STERRY, W.; LADEMANN, J. Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. **Experimental Dermatology**, V.20, p.125–129, 2011.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DUTTA, D.; CHAUDHURI, U.R.; CHAKRABORTY, R. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. **African Journal of Biotechnology**, Calcutá, v. 4, n. 13, p. 1510-1520, 2005.

EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. The carotenoids as antioxidants – a review. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 41, n. 3, p. 189–200, 1997.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**. 43(1): 61-8, 1997.

FERRIOL, M.; PICÓ, B. Pumpkin and Winter Squash. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. **Vegetables I**. New York: Springer, p. 317 – 349, 2008.

FREITAS, J. V.; PRAÇA, F. S. G ;BENTLEY, M.V.L.B.; GASPAR, L.R. Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. **International Journal of Pharmaceutics**, v.484, p. 131–137, 2015.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia em cores**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

GOMES, F. Carotenoides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. **Rev Nutr**. V.20, n.5, p.537-48, 2007.

GORALCZYK, R.; WERTZ, K. Skin Photoprotection by Carotenoids. In: **Carotenoids: Nutrition and Health**. 5: 3. Britton, G., Liaaen-Jensen, F, Pfander, H (Eds.). Birkhauser Verlag Basel, p. 335-359, 2008.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., Lölinger, J., Aruoma, O. I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HUNTER, J. A. A., SAVIN, J. A., DAHL, M. V. **Clinical Dermatology**, 3 ed., Oxford, Blackwell Publishing, 2002.

JACOBO-VALENZUELA, N.; MARÓSTICA-JUNIOR, M. R.; ZAZUETA-MORALES, J. J.; GALLEGOS-INFANTE, J. A. Physicochemical, technological properties, and health-benefits of *Cucurbita moschata* Duchense vs Cehualca. A review. **Food Research International**, v.44 , p.2587–2593, 2011.

JUNQUEIRA, L; CARNEIRO, J. editores. **Histologia Básica**. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H. Photoprotection. **J Am Acad Dermatol**. v.52, n. 6, p. 937-58, 2005.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. Á; KANIG, J. A. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.2, 2001.

LANGE, M. K.; HEBERLE, G.; MILAO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base nao-ionica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 145-151, jan-mar, 2009.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida por metodologia não invasiva. **An Bras Dermatol.**; v. 77, n. 5, p.563-9, 2002.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia aplicada**. 2ª edição. São Paulo: Santa Izabel, 2008.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense Cambi*)**. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 219p, 2008.

MAYNE, S.T.; CARTMEL, B.; SCARMO, S.; LIN, H.Q.; LEFFELL, D.J.; WELCH, E.; ERMAKOV, I.; BHOSALE, P.; BERNSTEIN, P.S.; GELLERMANN, W. Noninvasive assessment of dermal carotenoids as a biomarker of fruit and vegetable intake. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 92, p.794–800, 2010.

MCARDLE, F.; RHODES, L.; PARSLEW, R., CLOSE, G.; JACK, C.; FRIEDMANN, P., MALCOLM, J. J. .Effects of oral vitamin E and  $\beta$ -carotene supplementation on ultraviolet radiationinduced oxidative stress in human skin. **Am J Clin Nutr.** v.80, n.1, p.1270-75, 2004.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos bioativos e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**.v. 3(2), p. 109-122, 2006.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin, **J. Sci. Technol.**, 26(2) : 211-219, 2004.

NEILL, S.O, GOULD, K.S, KILMARTIN, P.A, MITCHELL, KA, MARKHAM, K.R , Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. **Pant Cell and Enviroment**, 25, 539-47. 2002.

NICHOLS, J.A.; KATIYAR, S.K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms **Arch Dermatol Res**, v.302, p. 71–83, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Diet, Nutrition and Prevenetion of Cronic Diseases. Genebra: **WHO/FAO expert consultation**. Technical Report Series, 2003.

ÖTLES, S.; ÇAGINDI, Ö. Carotenoids as natural colorants. In: SOCACIU, C. **Food colorants: chemical and function properties**. Washington: CRC Press. p. 51-70, 2007.

PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais**. São Paulo: Varela, 95 p, 2005.

PINTO, P.; GALEGO, N.; SILVA, N. Definição de critérios de avaliação dos efeitos sobre a superfície cutânea de cremes hidratantes: I – análise após uma aplicação. **Rev Port Farm**. 47 (1): 23-34, 1997.

RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. **Pharmacological research**, 55: 207-216, 2007.

RIBEIRO, S. M. R. et al. Efeitos pró e antioxidantes dose dependente de compostos bioativos. In: Costa, N. M. B.; Rosa, C. O. (Org.) **Alimentos funcionais: benéficos para a saúde**. Viçosa: Editora UFV, p.235-60, 2008.

RIBEIRO, C.J. **Cosmetologia aplicada à dermoestética**. São Paulo: Pharmabooks, 2ª ed. 2010.

RICHELLE; M.; SABATIER, M.; STEILING, H.; WILLIAMSON, G. Skin bioavailability of dietary vitamin E, carotenoids, polyphenols, vitamin C, zinc and selenium. **Br J Nutr**. v.96, n.1, p.227-38, 2006.

RODRIGUES-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoids analyses in foods**. Washington: ILSI PRESS, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian data-base on food carotenoids: Factors affecting carotenoids composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 445–463, 2008.

RODRIGUES, L. A avaliação biofísica da superfície cutânea: indicadores fisiológicos da funcionalidade epidérmica. **RevPort Farm**. 45 (1): 52-9, 1995.

RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., BRITO ES, MORAIS, S.M., SAMPAIO, C.G., JIMENEZ, J.P., CALIXTO, F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, 127: 1-4, 2007.

SCALFI, L.; FOGLIANO, V.; PENTANGELO, A.; GRAZIANI, G.; GIORDANO, I.; RITIENI, A. Antioxidant activity and general fruit characteristics in different ecotypes of Corbarini small tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n.4, p.1363-1366, 2000.

SCHWENKE, D.C. Antioxidants and atherogenesis. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, p.424-445, 1998.

SHI, J. et al. Effects of supercritical CO<sub>2</sub> fluid parameters on chemical composition and yield of carotenoids extracted from pumpkin. **Food Science and Technology**, Zurique, v. 49, n. 1, p. 39-44, 2010.

SILVA, E. C. DA.; SOARES, I. C. Tecnologia das emulsões. **Revista Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 8, n. 5, p. 37-46, set-out 1996.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.11, 3, p.669-682, 2010.

SIQUEIRA, E. M. A; ARRUDA, S.F.; VARGAS, R.M.; SOUZA, E.M.T. β-caroteno da folha de mandioca (*Manihot Esculenta* Crantz) melhora o estado nutricional de vitamina A em ratos. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 146, n. 2, p. 235-240, 2007.

SOUZA, V.B; FERREIRA, J.R.N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitislabrusca*L.) **Rev Ciênc. Farm Básica Apl.**,v.31, n.3, p. 217-222, 2010.

THANE, C.; REDDY, S. Processing of fruit and vegetables: effects on carotenoids. **Nutrition & Food Science**, London, v. 97, n. 2, p. 58-65, Apr. 1997.

ZANIN, S. M. W; MIGUEL, M.D.; CHIMELLI, M.; DALMAZ, A.C. Parâmetros físicos no estudo da estabilidade das emulsões. **Revista Visão Acadêmica**, v. 2, n. 2, p. 47-58, 2001.

ZASTROW L, GROTH N, KLEIN F, KOCKOTT D, LADEMANN J, RENNEBERG R, FERRERO L, The Missing Link – Light-Induced (280–1,600 nm) Free Radical Formation in Human Skin. *Skin Pharmacol Physiol*, v.22, p.31-44, 2009.

---

## DESENVOLVIMENTO

---

## 4. DESENVOLVIMENTO

---

### 4.1 ARTIGO ORIGINAL

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA  
POLPA DE ESPÉCIES DE ABÓBORA *Cucurbita* spp.**

**PHYSICAL, CHEMICAL AND BIOACTIVE COMPOUNDS  
CHARACTERIZATION OF DIFFERENT PUMPKIN'S PULP OF *Cucurbita*  
spp.**

## RESUMO

---

As hortaliças são conhecidamente fontes de nutrientes essenciais à manutenção da vida e também compostos bioativos, como os carotenoides. Embora esses micronutrientes encontrem-se presentes em níveis muito baixos ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), estão entre os constituintes alimentícios mais importantes. Este estudo teve como objetivo a caracterização de compostos bioativos em espécies de cucurbitáceas *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* e do híbrido Jabras na polpa de seus frutos. Os materiais foram caracterizados quanto à massa (g), cor, pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável total, relação entre sólidos solúveis totais e acidez titulável total, umidade e composição centesimal. Os teores de carotenoides totais, fenólicos totais e capacidade antioxidante (DPPH) foram determinados por espectrofotometria na faixa do UV/visível. O  $\beta$ -caroteno foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Quanto à coloração, o ângulo Hue para *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras foi de  $72,2^\circ$ ,  $81,3^\circ$  e  $84,1^\circ$ , respectivamente, correspondente ao laranja. Para a composição centesimal, o híbrido Jabras apresentou o maior valor para os carboidratos; entretanto, *C. maxima* obteve valores superiores para extrato etéreo, fibras totais e água. As amostras de *C. moschata* e *C. maxima* se assemelharam nos valores para proteína e cinzas. As amostras não apresentaram variação entre si para pH, obtendo resultado médio de 7,57; no entanto, os teores de sólidos solúveis totais foram 18,0%, superiores para o híbrido Jabras quando comparado com as outras amostras. Por outro lado, o material *C. maxima* apresentou acidez titulável 2,3 vezes inferior às duas outras espécies estudadas. *C. maxima* apresentou a maior relação entre sólidos solúveis e acidez, sendo a abóbora menos ácida. A polpa de *C. moschata* apresentou elevados teores de carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno e fenólicos totais, de  $136,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ,  $117,1 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $11,0 \text{mg g}^{-1}$  EAG, respectivamente, quando comparado com *C. maxima* e o híbrido Jabras, que apresentaram valores significativamente inferiores. Os teores de  $\beta$ -caroteno para *C. moschata* foram 13,6 e 5,6 vezes maiores quando comparados a *C. maxima* e o híbrido Jabras, respectivamente. As espécies de abóboras estudadas apresentaram capacidade antioxidante semelhante. As amostras apresentaram semelhantes rendimentos de polpa e produção de resíduos durante o processamento. A *C. moschata* destacou-se no conteúdo de compostos bioativos.

**Palavras-chave:** *C. moschata*; *C. maxima*; carotenoides; antioxidante.

## ABSTRACT

---

Foods provide essential nutrients and bioactive compounds for live maintenance. Although some of those provided compounds are micronutrients ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), they are highly important, such as carotenoids which can be found in vegetables. The present research aimed to characterize pulp bioactive compounds of *Cucurbita moschata*, *C. maxima* and a hybrid one named Jabras. Materials were physically and chemically characterized as weight (g) color, pH, total soluble solids, total titratable acidity, humidity and centesimal composition. Total carotenoid content, total phenolic compounds, and antioxidant activity (DPPH) were determined by spectrophotometry in UV to the visible range. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used for  $\beta$ -carotene quantification. Hue angle for the color measure was  $72.2^\circ$ ,  $81.3^\circ$  and  $84.2^\circ$  for *C. moschata*, *C. maxima*, and Jabras, respectively, which corresponds to an orange color. The hybrid Jabras demonstrated to have higher carbohydrates levels; *C. maxima* had higher values of ether extract, total fibers and water. Samples of *C. moschata* and *C. maxima* had even results for proteins, and ashes. All samples had no significant pH difference (average result 7.57), but total soluble solids contents were 18,0% higher in Jabras samples. *C. maxima* total titratable acidity were twice as high (2.3) when compared with other species. *C. maxima* also demonstrated to have the higher total soluble solids/ acidity rate, being the pumpkin specie less acid. *C. moschata* pulp had a higher content of total carotenoids,  $\beta$ -carotenoids total phenolic compounds as  $136.2 \mu\text{g g}^{-1}$ ,  $117.1 \mu\text{g g}^{-1}$  and  $11.0 \mu\text{g g}^{-1}$  GAE, respectively, when compared to *C. maxima* and Jabras, which values were significantly lower.  $\beta$ -carotene contents to *C. moschata* were 13.6 to 5.6 times higher compared to *C. maxima* and Jabras respectively. Pumpkins samples studied presented even antioxidant properties. They also had even pulped yield during samples processing. *C. moschata* stood out in bioactive compounds.

**Keywords:** *C. moschata*; *C. maxima*; carotenoid; antioxidant.

## 1 INTRODUÇÃO

Os alimentos fornecem nutrientes essenciais à manutenção da vida e também compostos bioativos, como os carotenoides. Embora estes compostos sejam micronutrientes, presentes em níveis muito baixos (microgramas por grama), os carotenoides estão entre os constituintes alimentícios mais importantes (Rodríguez-Amaya et al., 2008). São pigmentos naturais, colorindo de amarelo a laranja ou vermelho muitas frutas, hortaliças, gema de ovo, crustáceos e alguns peixes. São considerados substâncias bioativas, com efeitos benéficos à saúde, e alguns deles possuem atividade pró-vitamina A (Rodríguez-Amaya et al., 2008).

O  $\beta$ -caroteno é o carotenoide que apresenta maior atividade pró-vitamina A, estando presente em alimentos amarelados, como a manga, a cenoura e a abóbora (Damodaran et al., 2008).

Além dos carotenoides, os compostos fenólicos também possuem propriedades antioxidantes por sua constituição química, e são encontrados geralmente em todo o reino vegetal. Estão divididos em dois grupos: os flavonoides e derivados e os ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (Soares, 2002).

Pesquisas demonstram que a ingestão de quantidades expressivas de frutas e hortaliças está associada à prevenção de várias doenças crônicas não transmissíveis, como a aterosclerose, câncer, diabetes tipo II, hipertensão arterial e obesidade. A ingestão periódica de alimentos ricos em carotenoides e compostos fenólicos pode prevenir a ocorrência de variadas doenças degenerativas (Podsdek, 2007).

Mesmo com estudos cada vez mais frequentes para as evidências bioquímicas, clínicas e epidemiológicas de muitos compostos funcionais, o consenso científico ainda não ocorreu para que se tenha políticas públicas referentes ao seu uso. Pesquisas para identificação, ação biológica e alimentos dirigidos para a saúde pública ainda se fazem necessárias (Del Ré; Jorge, 2012).

O conteúdo de carotenoides nas hortaliças pode ser influenciado pela variedade, grau de maturação, condições de cultivo, estação do ano e

pela parte da hortalica que é consumida. As condições de colheita, armazenamento e exposição para o consumidor podem alterar o seu conteúdo, tanto qualitativamente quanto quantitativamente (Campos et al., 2006).

Dentre as diversas hortaliças consumidas no Brasil, tem-se a abóbora, que pertence à família Cucurbitaceae. As cucurbitáceas são conhecidas pela grande versatilidade e valor alimentício e dentre as principais espécies da família citam-se *Cucurbita* sp. (abóboras, abobrinhas e morangas) *Cucumis* sp. (pepinos, melões e maxixe), *Sechium eduli* (chuchu), *Citrulus lanatus* (melancia), *Lageraria* sp. (abobrinha d'água ou marimba), *Luffa* sp. (bucha) e *Mormodica charantia* (melão de são caetano). O gênero *Cucurbita* sp. compreende várias espécies conhecidas. As cinco espécies mais comumente cultivadas são *Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita argyrosperma* e *Cucurbita ficifolia* (Gonzaga et al., 1999). As abóboras de polpa laranja destacam-se por possuírem elevados teores de carotenoides, principalmente  $\beta$ -caroteno (Barroso et al., 2007, Carvalho et al., 2012).

Abóboras são plantas comuns amplamente cultivadas e utilizadas como alimento desde os tempos antigos. Algumas espécies, tais como *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* e *Cucurbita pepo*, revelaram elevados níveis de carotenoides, principalmente  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, luteína e zeaxantina (Boiteux et al., 2007; Rodriguez-Amaya et al., 2008). Dentre essas espécies, a *Cucurbita moschata* destaca-se devido à possibilidade de certos acessos do fruto apresentarem altos teores de  $\beta$ -caroteno, isto é, de pró-vitamina A. Entretanto, este conteúdo sofre interferência de fatores genéticos e sazonais dentre outros (Jacobo-Valenzuela et al., 2011).

As abóboras do gênero *Cucurbita* são amplamente cultivadas, principalmente nos estados da região nordeste. Por possuírem grande quantidade de carotenoides com atividade pró-vitamina A, podem servir para ajudar a minimizar a deficiência de vitamina A, que é um problema de saúde pública que afeta principalmente crianças e mulheres em áreas carentes do Brasil (Arima; Rodriguez-Amaya, 1988; Carvalho et al., 2012).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), a produção mundial de abóboras em 2013 superou 24

milhões de toneladas. Só a China produziu 28,9 % da produção, destacando também a Índia, Rússia, Estados Unidos e Egito (FAOSTAT, 2015).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de espécies vegetais, sendo uma fonte apreciável de terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados. Estes antioxidantes têm demonstrado ser excelentes compostos bioativos, sendo utilizados na indústria alimentícia e farmacêutica (Zheng; Wang, 2001).

Em seus estudos, Sousa et al. (2012) analisaram teores de carotenoides totais e de  $\beta$ -caroteno. Os acessos de mais altos teores de carotenoides totais são fontes apreciáveis destes importantes compostos para a alimentação humana, sendo possível um maior aproveitamento de seu potencial.

Tendo-se em vista a existência de compostos antioxidantes como carotenoides e fenólicos em espécies de *Cucurbita* spp. e a lacuna existente na literatura relativa à caracterização destes compostos nestas espécies, fazem-se necessárias a sua quantificação, bem como a avaliação da sua capacidade antioxidante.

O presente estudo teve como objetivo a caracterização, *in vitro*, de compostos bioativos, bem como a determinação de características químicas e físicas de diferentes espécies de cucurbitáceas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

Abóboras *in natura* das cultivares Jacarezinho (*C. moschata*), Exposição (*C. maxima*) e híbrido Jabras (híbrido obtido do cruzamento de uma linhagem de *C. maxima* e outra linhagem de *C. moschata*) (Figura 1), foram produzidas no segundo semestre de 2013 em campos de produção experimental na Embrapa Hortaliças, Brasília-DF, seguindo as práticas agrônômicas empregadas para as espécies em estudo. Os frutos foram colhidos no ponto ótimo de maturidade hortícola e imediatamente levados para o Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos (LCTA) da Unidade.



Figura 1 - Cultivares Jacarezinho (*C. moschata*) (A), Exposição (*C. maxima*) (B) e híbrido Jabras (C).

### 2.2 Processamento das amostras

Os frutos foram higienizados manualmente em água corrente, sanitizados por imersão em solução de hipoclorito de sódio ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) por 10 min, cortados ao meio e analisados quanto à cor da polpa.

Para as demais análises, os frutos foram descascados manualmente ( $\pm 2 \text{ mm}$  de espessura de casca) e as sementes retiradas manualmente e posteriormente a polpa foi ralada em processador de alimentos (SKYMPSEN PA-7, SC, Brasil). As polpas raladas foram acondicionadas em sacos de polietileno de 12 micras, com aproximadamente

100 g cada, devidamente identificados, selados e, em seguida, armazenados a -18°C até o momento da realização das análises.

## 2.3 Caracterização física e química das abóboras

### 2.3.1 Determinação de massa

Para determinação da massa fresca, os frutos foram pesados individualmente em balança eletrônica (FILIZOLA, BP6, Campo Grande, Brasil). O percentual de rendimento foi obtido pela seguinte equação:

$$R(\%) = \frac{\text{(massa da (polpa, casca, semente ou aparas))}}{\text{massa do fruto inteiro}} \quad \text{(Equação 1)}$$

### 2.3.2 Análise de cor

A determinação da cor foi medida, pelo sistema CIELAB, sendo  $L^*$  a luminosidade,  $C^*$  a cromaticidade, e  $H^\circ$  o ângulo Hue, em colorímetro (MINOLTA, Cr 200 b, Osaka, Japão). Os valores numéricos de  $a^*$  ( $a^*$  negativo, verde;  $a^*$  positivo, vermelho) e  $b^*$  ( $b^*$  negativo, azul;  $b^*$  positivo, amarelo) foram convertidos em cromaticidade ( $C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$ ), que indica a intensidade da cor, e em ângulo Hue ( $h^\circ = \tan^{-1} [b^*/a^*]$ ), que indica a tonalidade (McGuire, 1992).

### 2.3.3 Determinação da composição centesimal

O extrato etéreo foi determinado por extração com solvente em temperatura elevada com modificações (AOCS, 2005). O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl e o teor de proteína bruta foi obtido pelo uso do fator 6,25 para conversão de nitrogênio em proteína. Cinzas foram determinadas utilizando-se o método de incineração a 550°C (IAL, 2008). O teor de fibra bruta foi determinado por digestão ácida e básica (IAL, 2008). Os carboidratos foram obtidos pelo cálculo da diferença entre a soma total dos valores encontrados para proteína, extrato etéreo, fibra bruta, cinzas e água. Os resultados foram expressos como percentual de amostra em base seca.

#### **2.3.4 Determinação de pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável total(ATT), relação SST/ATT e umidade**

O pH foi determinado por leitura direta das amostras homogeneizadas em água destilada na proporção 1:9 p/p em potenciômetro (QUIMIS, Q799-D2, São Paulo, Brasil). O conteúdo dos sólidos solúveis totais (SST) foi determinado em refratômetro digital (ATAGO, PR-101, Tokyo, Japão), com resultados expressos em °Brix. Para acidez titulável total (ATT), as amostras foram tituladas com NaOH (0,1 N) em titulador automático (QUIMIS, Q799-D2, São Paulo, Brasil), sendo expressa em equivalente de ácido cítrico, em g 100 g<sup>-1</sup>. A relação SST/ATT foi determinada pelo quociente entre os dois constituintes. A umidade das amostras foi determinada por secagem da amostra em estufa, a 105°C, até massa constante. As análises foram realizadas de acordo com metodologias do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

#### **2.3.5 Teor de Carotenoides**

O processo de extração dos carotenoides totais baseou-se na metodologia de Rodriguez-Amaya et al. (1999), com algumas modificações. Pesou-se aproximadamente 2 g da amostra, que foi macerada em almofariz usando, no total, 50 mL de acetona gelada (10°C) e homogeneização por 1 minuto. O extrato foi filtrado a vácuo através de papel filtro em um funil de Büchner. A extração foi repetida até o resíduo ficar esbranquiçado. O filtrado foi transferido para um funil de separação contendo 40 mL de éter de petróleo, onde ocorreu a partição dos carotenoides para o éter. A acetona foi retirada do funil por meio de três lavagens consecutivas com água destilada. Foi utilizado sulfato de sódio anidro para remoção da água residual. Aferiu-se o volume (50 mL) com éter de petróleo. A leitura da absorbância foi realizada a 450 nm. Durante toda a extração, a vidraria foi mantida protegida da luminosidade. Secou-se alíquota de 5 mL sob N<sub>2</sub>, que foi ressuspensa no momento da quantificação de β-caroteno.

A quantificação dos carotenoides foi determinada por espectrofotometria, efetuando-se leitura da absorbância do extrato obtido na etapa de extração no comprimento de onda a 450 nm e, em seguida,

calculando-se a sua concentração com coeficiente de absorvidade ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) referente à extinção do  $\beta$ -caroteno em éter de petróleo (Davies, 1976).

$$CT(\mu\text{g g}^{-1}) = \frac{\text{Abs. Vol. } 10^4}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot P} \quad (\text{Equação 2})$$

CT = carotenoides totais; Abs = absorvância no  $\lambda$  máximo; Vol = volume da diluição (mL);  $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$ ; P = peso da amostra (g).

### 2.3.6 Teor de $\beta$ -caroteno

A escolha pela quantificação do teor de  $\beta$ -caroteno deveu-se pela relação aos carotenos pró-vitamínicos, que foi observado como majoritário nas amostras de abóbora.

A identificação e quantificação de  $\beta$ -caroteno foram realizadas em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência, constituído por um módulo de mistura dos solventes, desgaseificador, bomba reodine, sistema de controle, forno de coluna e amostrador automático (Shimadzu, SPD-M20A, Japão).

A identificação e quantificação de  $\beta$ -caroteno nas amostras foi realizada em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, Japão), constituído por um módulo de mistura dos solventes, desgaseificador, bomba reodine, sistema de controle, forno de coluna e amostrador automático.

A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa Waters C<sub>18</sub> Spherisorb (4,6 x 150 mm) revestida internamente com grupamentos octadecil (partículas de 3  $\mu\text{m}$ ). A detecção para  $\beta$ -caroteno foi realizada a 450 nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software SL Solution. Para a separação, injetou-se 20  $\mu\text{L}$  de amostra que foi diluída em acetona e foi filtrada em membrana de PVDF, e eluída em fase móvel composta por acetonitrila/metanol/acetato de etila nas proporções 80:10:10 (v/v/v) em corridas de 26 minutos. Utilizou-se vazão constante de 0,8 mL min<sup>-1</sup>. Os picos foram identificados pela comparação com o tempo de retenção do padrão de  $\beta$ -caroteno (Sigma Aldrich, EUA), e a quantificação para a *C. moschata* foi baseada na curva analítica construída para o padrão:  $y = 6 \cdot 10^6 x - 1294$  ( $R^2$ : 0,9953). A quantificação de *C. maxima* e híbrido Jabras foi

baseada na curva analítica construída para o padrão:  $y = 7 \cdot 10^6 x + 4106,9$  ( $R^2$ : 0,9942) em que  $y$  é a área do pico correspondente ao  $\beta$ -caroteno e  $x$  é o valor de concentração em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

### 2.3.7 Teor de fenólicos totais (FT)

O teor de fenólicos totais nos extratos foi quantificado utilizando-se o método Folin-Ciocalteu, com modificações (Singleton et al., 1999). Foram adicionados, nesta ordem, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu (15 mL de Folin e 30 mL de água destilada), 0,5 mL de extrato metanólico da amostra e 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 10% em água. Foi realizada a agitação em vortex por 1 min e, em seguida, foi deixado reagir por 60 min. Foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 765 nm. Uma curva analítica de ácido gálico foi elaborada para expressar os resultados em miligramas de Equivalentes de Ácido Gálico (EAG) ( $\text{mg g}^{-1}$ ). A equação da reta ( $y = 148,78x - 10,641$ ;  $R^2$ : 0,9938) foi obtida. Os conteúdos dos compostos fenólicos totais foram apresentados em matéria seca (liofilizada) para facilitar a comparação, pois as amostras apresentam diferentes teores de umidade. Além disso, o processo de liofilização possibilita melhor conservação da amostra (Martins et al., 2011).

### 2.3.8 Capacidade antioxidante *in vitro*

A capacidade antioxidante foi determinada pela metodologia do radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) (Kim et al., 2002). Uma alíquota 0,1 mL de extrato metanólico da amostra foi adicionada a 3,9 mL de solução metanólica de DPPH• (100  $\mu\text{M}$ ). A mistura foi homogeneizada e mantida, em temperatura ambiente, por 30 min ao abrigo da luz. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 517 nm, antes de adicionar a amostra ( $A_0$ ) e após 30 min de reação ( $A_f$ ). A concentração de DPPH• no meio de reação foi calculada conforme a curva de calibração obtida por regressão linear. O padrão utilizado foi o ácido gálico, as soluções de DPPH e padrão foram preparadas no mesmo dia da análise. A capacidade de sequestrar radical livre foi expressa como percentual de sequestro do radical e calculada conforme a fórmula:

$$(\%) \text{Inibição do radical} = \frac{1-A_f}{A_0} \cdot 100 \text{ (Equação 3)}$$

## 2.4 Análise estatística dos dados

O experimento foi conduzido com delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (espécies de abóboras) e três repetições. As amostras foram analisadas em triplicata. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5%. As análises foram realizadas utilizando o programa SPSS versão 20.0 e GraphPad Prism® 5.0.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Caracterização física e química das abóboras

#### 3.1.1 Determinação de massa

Foram obtidas para as análises experimentais as seguintes quantidades de massa de polpa, 9,0 kg de *C. moschata*, 17,4 kg de *C. maxima* e 17,4 kg do híbrido Jabras.

O rendimento percentual no processamento das polpas das espécies avaliadas foi ( $74,0 \pm 2,9\%$ ), ( $74,1 \pm 3,8\%$ ) e ( $77,0 \pm 3,0\%$ ) para *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras, respectivamente. O resíduo constituído de cascas foi ( $10,8 \pm 0,8\%$ ), ( $11,2 \pm 1,2\%$ ) e ( $12,6 \pm 2,50\%$ ), sementes ( $5,3 \pm 1,7\%$ ), ( $5,2 \pm 2,0\%$ ) e ( $2,3 \pm 0,1\%$ ) e aparas ( $9,3 \pm 1,5\%$ ), ( $8,1 \pm 2,7\%$ ) e ( $6,4 \pm 1,10\%$ ) para *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras respectivamente quando a separação for feita manualmente.

Na Figura 2, encontram-se os resultados de massa inicial (MI), massa de casca (MC), massa de polpa (MP), massa de semente (MS) e massa de aparas (MA) em gramas(g) das amostras analisadas.

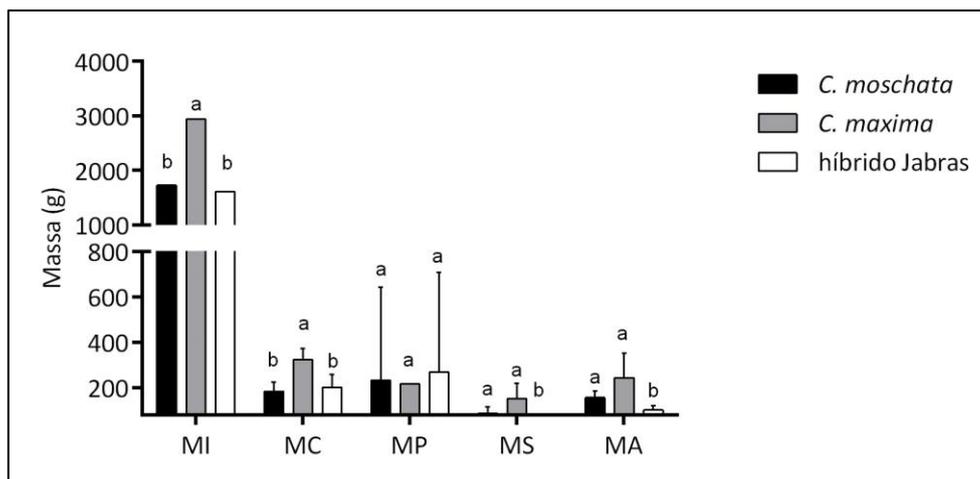


Figura 2 - Avaliação das massas de abóboras em gramas(g). Massa inicial (MI), massa de casca (MC), massa de polpa (MP), massa de semente (MS), massa de aparas (MA). Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

As massas médias iniciais (MI) dos frutos não apresentaram diferença significativa para *C. moschata* e híbrido Jabras; no entanto, ambas produziram frutos menores que *C. maxima* (Figura 2). Os resultados encontrados para MI de *C. moschata* foram semelhantes aos reportados por Jacobo-Valenzuela et al. (2011), que variaram de 0,59 a 8,75 kg. A *C. maxima* apresentou valores de massa da casca (MC) ( $40 \pm 50,1\%$ ) superiores às MC das demais amostras, possivelmente em razão de seu formato arredondado, achatado e os seus gomos longitudinais salientes, o que propiciou maior dificuldade no descasque manual. Quanto à massa das sementes (MS), o híbrido Jabras apresentou valores menores, de 2,5 e 4,3 vezes, do que em *C. moschata* e *C. maxima*, respectivamente, confirmando ser esta uma característica da cultivar (Botrel et al., 2013).

### 3.1.2 Análise de cor

A cor e a uniformidade nas hortaliças, muitas vezes, são indicativos de frescor, sabor e valor nutricional (MacDougall, 2002). A luminosidade ( $L^*$ ) da polpa está relacionada com a coloração clara e escura dos produtos. As variações de cores em frutos são principalmente devidas aos pigmentos

denominados clorofilas, carotenoides e antocianinas, responsáveis pelo verde, vermelho-amarelo, vermelho e azul-violáceo respectivamente (Jorge et al., 2011). No consumo dos alimentos, a cor é um atributo que auxilia na aceitação ou rejeição de um produto (Amariz, 2011).

A obtenção da cor de um produto se dá pela avaliação conjunta dos atributos luminosidade ( $L^*$ ), cromaticidade ( $C^*$ ) e ângulo Hue ( $h^\circ$ ). Os valores médios de  $L^*$  para a polpa de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras foram de 67,2, 76,0 e 76,7, respectivamente (Figura 3).

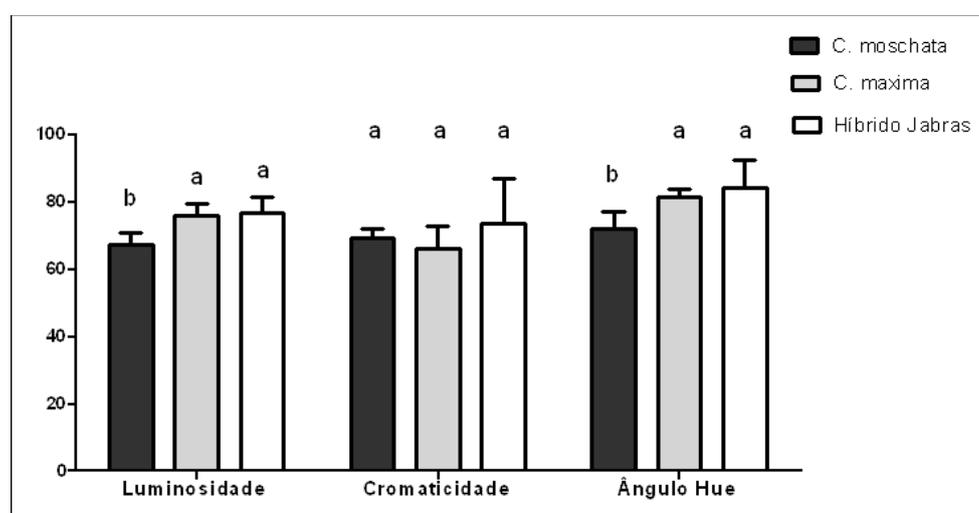


Figura 3 - Luminosidade ( $L^*$ ), Cromaticidade ( $C^*$ ) e Ângulo Hue ( $h^\circ$ ) das polpas de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras. Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A faixa de  $L^*$  varia de 0 (preto) até 100 (branco). A *C. moschata* apresentou o menor valor de  $L^*$  para a polpa ( $P < 0,05$ ), tendo, portanto, coloração mais escura que as demais abóboras. Já a polpa de *C. maxima* e o híbrido Jabras mostraram-se mais claras, com maiores valores de  $L^*$ . Amariz (2011) obteve valores de  $L^*$  para cucurbitáceas na faixa de 40 a 50, coloração mais escura do que as encontradas para as cucurbitas neste estudo. Gajewski, et al. (2008) encontraram valor de 65,7 para  $L^*$  em *C. moschata*, próximo ao encontrado nesta pesquisa para a mesma espécie.

Os valores de  $C^*$  encontrados para todas as amostras apresentaram semelhanças entre si ( $P > 0,05$ ). A *C. moschata*, a *C. maxima* e o híbrido Jabras apresentaram valores de 69,2, 66,3 e 75,0, respectivamente. A  $C^*$  está ligada a saturação da cor, utiliza escala de 0 (cor opaca) a 60 (cores puras), valores mais altos são mais desejáveis.

O ângulo de cor expresso como  $^{\circ}\text{Hue}$  explica a cor propriamente dita, variando em uma faixa de 0 a  $360^{\circ}$ ; o  $0^{\circ}$  corresponde a cor vermelho,  $90^{\circ}$  a cor amarelo,  $180^{\circ}$  a cor verde e  $270^{\circ}$  a cor azul (Voss, 1992). O ângulo Hue para *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras foi de  $72,2^{\circ}$ ,  $81,3^{\circ}$  e  $84,1^{\circ}$ , respectivamente, onde a coloração obtida corresponde a laranja, pois a faixa para esta cor varia de  $55$  a  $90^{\circ}$ . Portanto, a *C. moschata* apresentou menor  $^{\circ}\text{Hue}$ , diferenciando das demais. Já a *C. maxima* e híbrido Jabras foram semelhantes entre si.

Em seus estudos, Amariz (2011) encontrou média variando entre  $59,7^{\circ}$  e  $70,6^{\circ}$  e quanto menor  $^{\circ}\text{Hue}$ , maior a intensidade da cor laranja. Diferenças entre os parâmetros de determinação de cor podem ocorrer devido às diferenças geográficas ou das cultivares dos frutos (Tamer et al., 2010).

### **3.1.3 Determinação da composição centesimal**

Os percentuais de carboidratos na polpa de frutos maduros das cucurbitáceas analisadas foram diferentes entre si. De forma decrescente os percentuais obtidos para o híbrido Jabras, *C. moschata* e *C. maxima* foram os valores ( $61,7 \pm 0,58\%$ ), ( $55,0 \pm 0,38\%$ ) e ( $46,6 \pm 0,81\%$ ) respectivamente (Figura 4).

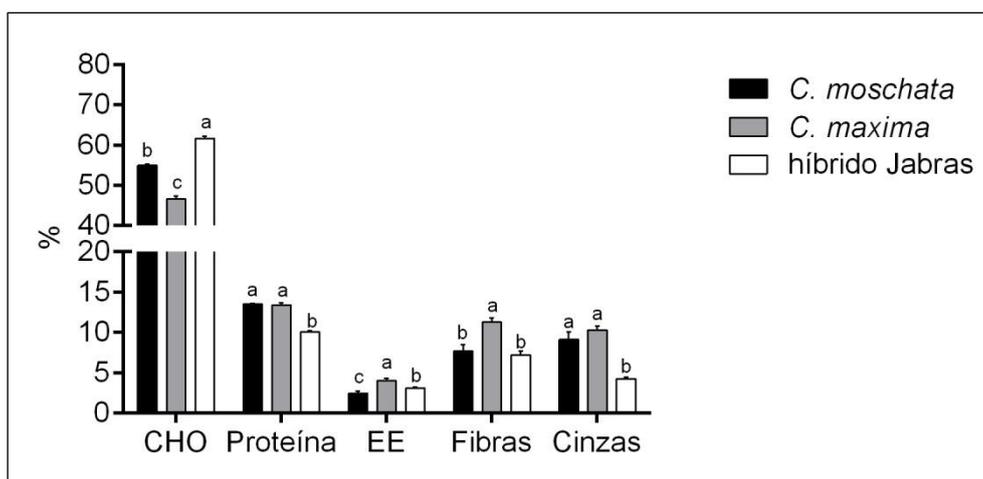


Figura 4 - Composição centesimal (CHO: carboidrato; proteína; EE; extrato etéreo; fibras; cinzas; e água), expressa em matéria seca, das polpas de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras. Os valores apresentados representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A fração de carboidratos foi a variável analisada que apresentou o maior percentual na composição centesimal, o que confirma ser a abóbora um alimento que contém ótima quantidade deste macronutriente, que na ingestão e absorção é responsável por liberar glicose e fornecer energia para as células. Mesmo contendo percentuais altos de carboidratos, uma das características importantes do ponto de vista nutricional da abóbora é seu valor calórico baixo que, dependendo da cultivar, pode variar de 15 a 25 kcal em 100 g (Nawirska-Olszańska et al., 2014).

Os maiores valores médios de proteína foram obtidos para a *C. moschata* e *C. maxima*, ( $13,5 \pm 0,10\%$ ) e ( $13,4 \pm 0,26\%$ ), respectivamente (Figura 4), sendo semelhantes entre si ( $P > 0,05$ ). Já o híbrido Jabras apresentou menor valor ( $10,0 \pm 0,14\%$ ). Entretanto, a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) relata conteúdos de proteínas próximos aos encontrados neste estudo, de  $1,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  e  $1,0 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  para abóbora cabotian e moranga, respectivamente, assemelhando-se com o híbrido Jabras e a *C. máxima*, que obtiveram  $1,39 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  e  $1,19 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  respectivamente.

Os valores de extrato etéreo em *C. maxima* e híbrido Jabras foram diferentes ( $P < 0,05$ ), e maiores do que os encontrados para *C. moschata*, sendo eles ( $4,0 \pm 0,35\%$ ), ( $3,0 \pm 0,10\%$ ) e ( $2,45 \pm 0,23\%$ ), respectivamente.

Para fibras totais a amostra que apresentou maior valor foi a *C. maxima* com  $11,3 \pm 0,50\%$  e as amostras de *C. moschata* e o híbrido Jabras apresentaram valores semelhantes, de ( $7,7 \pm 0,79\%$ ) e ( $7,2 \pm 0,48\%$ ), respectivamente.

As cinzas em *C. moschata* foi de  $9,1 \pm 0,93\%$  e em *C. maxima* de ( $10,3 \pm 0,46\%$ ), sendo estatisticamente semelhantes ( $P > 0,05$ ). O híbrido Jabras se diferencia, com valores bem inferiores, de ( $4,22 \pm 0,23\%$ ) (Figura 4). O teor de cinzas geralmente é utilizado como critério na identificação dos alimentos podendo ser considerado medida geral de qualidade (Albuquerque et al., 2006). Um comportamento constante esperado no conteúdo mineral nos alimentos é de não se alterar com o tempo de armazenamento, exceto quando existe contaminação microbiológica, onde os microrganismos poderão utilizá-los (Belmiro et al., 2010).

#### **3.1.4 Determinação de pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável total (ATT), relação SST/ ATT e umidade**

As amostras não diferiram significativamente quanto ao pH (Figura 5). O pH de *C. moschata* apresentou-se acima do encontrado por Nawirska-Olszańska et al. (2014), com valor de 6,9 para *C. moschata*. Entretanto, coincide para *C. maxima*, que obteve pH variando de 7,0 a 7,8. Em seus estudos, Alves et al. (2010) observaram aumento nos valores de pH de abóboras durante o armazenamento, que considerou estar relacionado ao consumo dos ácidos orgânicos pelo processo respiratório. Os valores de pH encontrados pelos autores ficaram entre 6,1 a 6,6 sendo inferiores aos encontrados neste estudo.

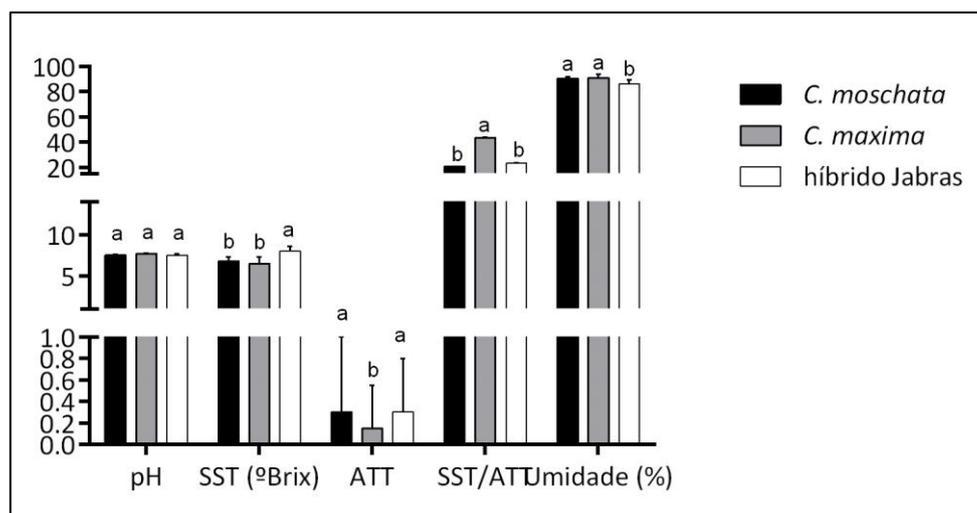


Figura 5 - Potencial hidrogeniônico (pH), sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável total (ATT) e relação SST/ATT e umidade nas polpas de abóboras. Os valores apresentados representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Os sólidos solúveis representam boa parte dos açúcares (85 a 90%) encontrados na maioria dos frutos, sendo o restante constituído de vitaminas, fenólicos, pectinas e ácidos orgânicos (Alves et al., 2010). Visando ao processamento, é interessante ter teores de sólidos solúveis mais elevados, já que no processamento ocorrerá perda do suco celular por extravasamento do corte o que irá ocasionar menor sabor doce do produto (Sasaki et al., 2006).

O híbrido Jabras apresentou maiores teores de sólidos solúveis ( $P < 0,05$ ), sendo ( $18,0 \pm 0,5\%$ ), superior às demais amostras (Figura 5). Porém, o 8,0 °Brix encontrado foi inferior ao apresentado por Botrel et al. (2013), com valor de 8,73 °Brix para o mesmo híbrido. Os valores deste estudo encontraram-se dentro do intervalo de variação reportada por outros autores, como Jacobo-Valenzuela et al. (2011), de 5,40 a 11,0 °Brix; Santos et al. (2011), de 5 a 10 °Brix para abóboras comerciais; e Nawirska-Olszańska et al. (2014), de 11,9 °Brix para *C. moschata* e de 3,1 a 8,9 °Brix para *C. maxima*.

Os ácidos orgânicos em hortaliças realçam o sabor dos alimentos, como também estimulam a ação de glândulas digestivas e peristaltismo intestinal. Os teores de ácidos livres em hortaliças variam entre 0,2 a 0,4 g

100g<sup>-1</sup> de tecido fresco; por conseguinte, o pH é elevado (5,5 a 6,5), com algumas exceções (Nawirska-Olszańska et al., 2014).

Quanto aos teores de acidez total nas diferentes amostras, os valores ficaram entre 0,15 e 0,3 g 100 g<sup>-1</sup> de equivalente de ácido cítrico. A *C. moschata* e o híbrido Jabras foram semelhantes entre si ( $P>0,05$ ). Já a *C. maxima* obteve o menor valor, mostrando ser diferente das demais, com acidez 2,3 vezes menor (Figura 5).

Nawirska-Olszańska et al. (2014) estudaram os ácidos orgânicos em abóboras (málico, cítrico e fumárico) e verificaram a maior variação para o ácido cítrico, que ficou entre 4,85 a 0,10 g kg<sup>-1</sup>, constatando que os percentuais de ácidos dependem da cultivar analisada.

A relação entre sólidos solúveis totais e acidez titulável total (*ratio*) está relacionada ao sabor. Quanto maior o equilíbrio entre os teores de açúcares e ácidos melhor o sabor. A *C. maxima* obteve o maior valor de *ratio* (Figura 5), sendo ( $50,6 \pm 0,46\%$ ) superior às demais ( $P<0,05$ ), demonstrando ser a espécie menos ácida.

As amostras de abóbora avaliadas apresentaram conteúdo diferenciado para umidade (Figura 5). A *C. moschata* e a *C. maxima* foram semelhantes entre si ( $P>0,05$ ), enquanto que o híbrido Jabras apresentou ( $5,0 \pm 3,5\%$ ) menos água em sua polpa. Resultados semelhantes foram encontrados por Provesi (2010), que analisou cultivar diferente de *C. moschata* e mesma cultivar de *C. maxima*, e encontrou teores de umidade de 90,2 e 91,3% respectivamente. Os valores encontrados para o híbrido Jabras e *C. maxima* são semelhantes aos relatados na Tabela de Composição de Alimentos (TACO, 2011), de 88,5 e 95,9% para abóbora cabotian e moranga, respectivamente.

### 3.1.5 Teores de carotenoides, $\beta$ -caroteno e fenólicos totais

Os resultados da análise de compostos bioativos apresentados na Figura 6, mostram valores médios de 136,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  de carotenoides totais para *C. moschata*, valores semelhantes aos encontrados por Ramos et al. (2009)

para esta mesma espécie, que variou de 100,50-365,40  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Souza et al. (2012) encontrou valores entre 14,93 - 290,62  $\mu\text{g g}^{-1}$  de carotenoides totais.

Dentre as diferentes amostras, a *C. moschata* foi a que apresentou maiores valores para o conteúdo de carotenoides, apresentando diferença significativa das demais espécies estudadas. *C. maxima* e híbrido Jabras se assemelham nos valores de carotenoides totais. Em seus estudos, Rodriguez-Amaya et al. (2008) também encontram maiores percentuais de carotenoides e  $\beta$ -caroteno para espécie *C. moschata*. Estes teores também se encontram dentro do intervalo reportado por Jacobo-Valenzuela et al. (2011).

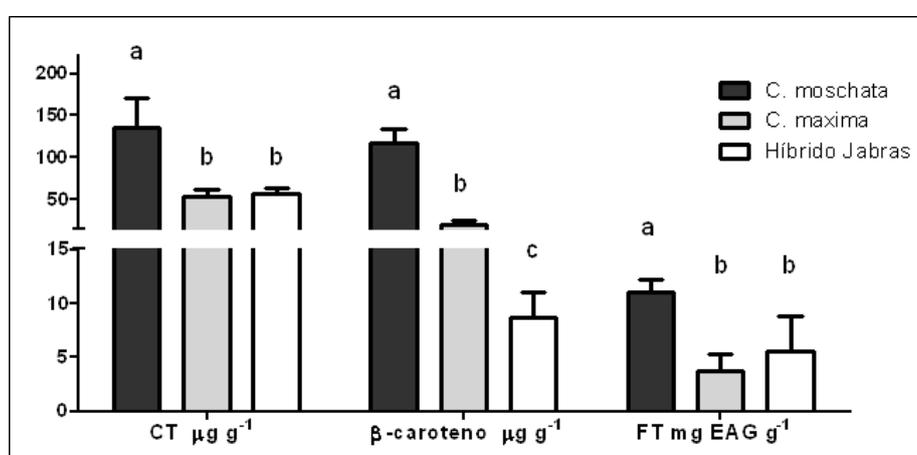


Figura 6 - Carotenoides totais (CT),  $\beta$ -caroteno e Fenólicos totais (FT) nas polpas de *C. moschata*, *C. maxima* e híbrido Jabras. Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

O maior conteúdo de  $\beta$ -caroteno foi encontrado para *C. moschata* ( $117,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ), seguido de *C. maxima* ( $20,9 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e híbrido Jabras ( $8,6 \mu\text{g g}^{-1}$ ) (Figura 6), Provesi (2010), em sua pesquisa, encontrou  $15,4 \mu\text{g g}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno em *C. maxima*, inferior ao encontrado neste estudo para a mesma cultivar.

Outros estudos apresentam valores de  $235 \mu\text{g g}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno em polpa de *C. moschata* 'Baianinha' (Rodriguez-Amaya et al., 2008);  $7 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno em *C. moschata* 'Queijo Long Island'; valor entre 1,4 a  $7,4 \text{ mg}$

100g<sup>-1</sup> de  $\beta$ -caroteno em *C. maxima*; e 3,5 mg 100g<sup>-1</sup> de  $\beta$ -caroteno para o híbrido Tetsukabuto cultivados na Áustria (Murkovic et al., 2002).

Há relatos que aumentos nos teores de carotenoides totais podem ocorrer em função do amadurecimento, ou seja, frutas e hortaliças apresentam maiores teores de carotenoides quando colhidas maduras (Mercadante; Rodriguez-Amaya, 1998).

Alves et al. (2010) verificaram redução do teor de  $\beta$ -caroteno durante o armazenamento de abóbora minimamente processada, seguida de incremento no conteúdo, valores estes entre 1,1 a 1,9 mg 100g<sup>-1</sup> sugerindo que pode ter ocorrido degradação seguida de síntese de  $\beta$ -caroteno. Os valores estão próximo dos valores encontrados para *C. maxima* e híbrido Jabras no presente trabalho.

Para os fenólicos totais *C. moschata*, *C. maxima* e o híbrido Jabras, foram encontrados valores de 11,0, 3,78 e 5,6 mg g<sup>-1</sup>, em EAG, respectivamente (Figura 6). A *C. moschata* apresentou teores de compostos fenólicos significativamente superiores a *C. maxima* e o híbrido Jabras, sendo que não houve diferença significativa entre estas duas últimas espécies. Os teores de compostos fenólicos em *C. maxima* e o híbrido Jabras foram 2,9 e 2,0 vezes menores, respectivamente, que a *C. moschata*. Já, Tamer et.al. (2010) reportaram valor de 476,6 mg 100g<sup>-1</sup> EAG para fenólicos totais em *C. moschata* valor abaixo do encontrado neste estudo.

Pesquisas têm demonstrado que ocorre uma forte relação positiva entre fenólicos totais e a capacidade antioxidante de frutas e hortaliças (Kaur; Kapoor, 2002; Abdille et al., 2005), enquanto outras não têm evidenciado a correlação (Kahkonen et al., 1999; Ismail et al., 2004). A correlação destas duas variáveis neste estudo também não foi evidenciada (dados não apresentados).

### **3.1.6 Capacidade antioxidante *in vitro***

A capacidade antioxidante total de extratos vegetais não traduz precisamente, o que ocorre *in vivo* nas células vegetais, onde nestas ocorre atividade dinâmica de um sistema antioxidante formado por enzimas

(superóxido dismutase, catalase, etc.) e compostos de baixo peso molecular (flavonoides, taninos, etc.) (Neill et al., 2002).

A característica do método do DPPH é que ele não envolve condições drásticas de temperatura e oxigenação, ele possui coloração púrpura. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radical (R.), o DPPH é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, apresenta absorção entre 515-520 nm (Molyneux, 2004). Assim, os resultados da capacidade antioxidante das cucurbitáceas foram expressos em (%) de Inibição do radical DPPH (Figura 7).

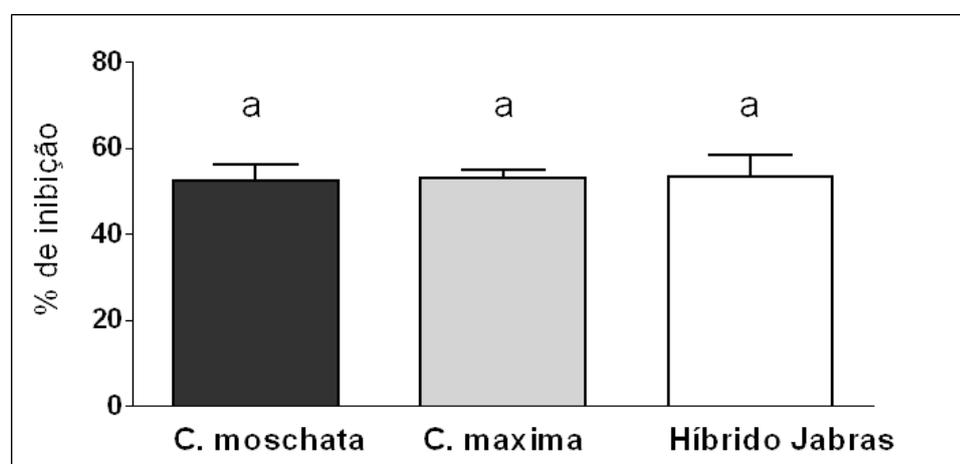


Figura 7 - Capacidade antioxidante de sequestrar o radical DPPH das polpas das abóboras. Os valores representam as médias ( $\pm$  desvio padrão). Letras iguais nas colunas respectivas às abóboras, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A *C. moschata*, a *C. maxima* e o híbrido Jabras apresentaram percentuais de inibição de 53,0, 52,8 e 58,5%, respectivamente (Figura 7). As amostras não apresentaram diferença significativa entre si. Gajewski et al. (2008), ao avaliarem a atividade antioxidante pelo método DPPH em três cultivares de *C. maxima* e uma cultivar de *C. Moschata*, reportaram valores de 10,2, 56,7, 73,2 e 63,1%, respectivamente, com alguns destes valores próximos aos valores encontrados neste estudo.

#### 4 CONCLUSÃO

A *C. moschata* destacou-se no conteúdo de compostos bioativos (carotenoides,  $\beta$ -caroteno e fenólicos totais), em relação à *C. maxima* e ao híbrido Jabras; no entanto, os materiais estudados apresentaram semelhança quanto à capacidade antioxidante e rendimento de polpa e produção de resíduos durante o processamento.

## REFERÊNCIAS

ABIDILLE, M.D.H.; SINGH, R.P.; JAYAPRAKASHA, G.K.; JENA, B.S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chem**, Washington, v.90, p.891-896, 2005.

ALBUQUERQUE, R. C.; SAMPAIO, L. R.; RIBEIRO, R. R. F. BELTRÃO, N. E. DE M.; SEVERINO, L. S.; FREIRE, R. M. M.; PEDROZA, J. P. Teor de cinzas e matéria orgânica da torta de mamona em função do armazenamento em diferentes embalagens. In: Congresso Brasileiro de Mamona, 2, 2006, Campina Grande. Anais... Campina Grande: **EMBRAPA**, 2006.

ALVES, J.A.; VILAS BOAS, E.V.B.; VILAS BOAS, B.M.; SOUZA, E. C. Qualidade de produto minimamente processado à base de abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 30(3): 625-634, jul.-set. 2010.

AMARIZ, A. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de acessos de jerimum de leite (*Cucurbita moschata*) pertencentes ao banco ativo de germoplasma de cucurbitáceas da Embrapa semiárido.** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), UFRS, Mossoró, 133p, 2011.

ARIMA, H. K.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. **Journal of Micronutrient Analysis**, v. 4, p. 177-191, 1988.

AOCS **Official Procedure, Approved Procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction.** American Oil Chemists Society, Urbana, IL (2005).

BARROSO, M.R.; MAGALHÃES, M.J.; CARNIDE, V.; MARTINS, S. Cucurbitáceas de Trás-os-Montes, Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte, **Coleção Uma Agricultura com Norte**, 2007.

BELMIRO, T.M.C.; QUEIROZ, A.J.M.; FIGUEIRÊDO, R.M.F.; FERNANDES, T.K.S.; BEZERRA, M.C.T. Alterações químicas e físico-químicas em grãos de abóbora durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.9, p.1000–1007, 2010.

BOITEUX L. S.; NASCIMENTO, W. M.; FONSECA, M. E. N.; LANA, M. M.; REIS A; MENDONÇA, J. L.; LOPES J. F; REIFSCHNEIDER F. J. B.. 'Brasileirinha':cultivar de abóbora (*Cucurbita moschata*) de frutos bicolors com valor ornamental e aptidão para consumo verde. **Horticultura Brasileira**, 25: 103-106, 2007.

BOTREL, N.; AMARO, G. B.; CARVALHO, A. D. F.; LOPES, J. F. Qualidade Pós-colheita de Abóboras Híbridas Tipo Japonesa, Produzidas em Sistema Orgânico. In *Embrapa Hortaliças-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In:

**CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS**, 7, 2013, Uberlândia. Variedade melhorada: a força da nossa agricultura: anais. Viçosa, MG: SBMP, 2013.

CAMPOS, F.M.; SOUZA, P.M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M., STRINGUETA, P.C. Provitaminas A em hortaliças comercializadas no mercado formal e informal de Viçosa (MG), em três estações do ano. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, 2006.

CARVALHO, M.J.; GOMES, P. B.; GODOY, R.L.O.; PACHECO, S.; MONTE, P.H.F.; CARVALHO, J.L.V.; NUTTI, M.R.; NEVES, A.C.L.; VIEIRA, A.C.R.A.; RAMOS, S.R. Total carotenoid content,  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. **Food Research International**, 47, p.337–340, 2012.

DAMODARAN, S. **Amino Acids, Peptides, and Protein** In: Fennema's food chemistry, 4. ed. Damodaran, S.; Parkin, K.; Fennema, O.R. Eds. CRC Press. Boca Raton. 1144p, 2008.

DAVIES, B.H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W. (Ed.). 2. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**, London: Academic. p. 38-65, 1976.

DEL RÉ, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

FAOSTAT. FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://faostat.fao.org> Acesso em: 26 set. 2015.

GAJEWSKI, M.; RADZANOWSKA, J; DANILCENRO, H.; JARIENE, E.; CERNIAUSKIENE, J. Quality of pumpkin cultivars in relation to sensory characteristics. **Notulae Botanicae Hort. Agrobotanici**, Cluj-Napoca, vol 36, n1, p. 73-79, 2008.

GONZAGA, V.; FONSECA, J.N.L.; BUSTAMANTE, P.G.; TENENTE, R.C.V. Intercâmbio de germoplasma de cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, v.17, p. 06-09, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, 2008. 1020p.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z.M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, v. 87, p.581-586, 2004.

JACOBO-VALENZUELA, N.; MARÓSTICA-JUNIOR, M.R.; ZAZUETA-MORALES, J.J.; GALLEGOS-INFANTE, J.A. Physicochemical, technological properties, and health-benefits of *Cucurbita moschata* Duchense vs Cehualca. A review. **Food Research International**, v.44 ,2587–2593, 2011.

JORGE, L. A. C.; GONÇALVES, D. S.; OYAMA, P. I. C.; FERREIRA, M.D. Uso de sistemas de imagem para classificação de frutas e hortaliças. In: **Tecnologia pós-colheita em frutas e hortaliças**. Embrapa Instrumentação. Cap 7 p. 127-157, 2011.

KAHKONEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J-P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v.47, p.3954-3962, 1999.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.37, p.153-161, 2002.

KIM, D.-O.; LEE, K. W.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, Washington, v. 50, p. 3713-3717, 2002.

MACDOUGALL, D.B., **Colour in food: improving quality**, New York: CRC Press, p.366 p, 2002.

MARTINS, E.C.; LEONARDI, R.R.; OLIVEIRA, C.R.; MATSUMOTO, F.M.T. Liofilização como alternativa para conservação do leite humano. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 29, n. 2, p. 119-122, 2011.

MCGUIRE, R.G. Reporting of objective colour measurements. **HortScience**, v.27, n.12, p. 1254-1255, 1992.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effect of ripening, cultivar differences, and processing of the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 128-130, 1998.

NEILL, S.O, GOULD, K.S, KILMARTIN, P.A, MITCHELL, KA, MARKHAM, K.R , Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. **Pant Cell and Environment**, 25, 539-47. 2002.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin, **J. Sci. Technol.**, 26(2) : 211-219, 2004.

MURKOVIC, M.; MULLEDER, U.; NEUNTEUFL, H. Carotenoid content in different varieties of pumpkins. **Journal of Food Composition and Analysis**, 15, 633–638, 2002.

NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, A; BIESIADA, A.; SOKOŁ-ŁETOWSKA, A; KUCHARSKA, A. Z. Characteristics of organic acids in the fruit of different pumpkin species. **Food Chemistry**, 148, 415–419, 2014.

PROVESI, J.G. **Estabilidade e efeitos do processamento e estocagem sobre os carotenóides em purês de abóbora**. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos), UFSC, Florianópolis, 123p, 2010.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science Technology** v. 40, p.1-11, 2007.

RAMOS, S. R. R., CARVALHO, H. W. L., OLIVEIRA, I. R., ANJOS, J. L., QUEIRÓZ, M. A., LIMA, M. A. C. Identificação de acessos locais de abóbora com elevados teores de carotenóides totais e características agrônômicas e comerciais. **3ª Reunião Anual de Biofortificação no Brasil**. 31 de maio a 05 de junho de 2009. Aracaju, Sergipe, Brazil, 2009.

RODRIGUES-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoids analyses in foods**. Washington: ILSI PRESS, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoids composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 445–463, 2008.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELARAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, part. A, p. 152-177, 1999.

SANTOS, A.C.; RAMOS, S.R.R.; GÓIS, G.R.; CARDOSO, B.T.; RIBEIRO, I.B.O.; CAMPOS, E.T. Avaliação preliminar para características químicas e nutricionais em frutos de variedades tradicionais de abóbora. **IV Reunião de Biofortificação**, Teresina, 2011.

SASAKI, F.F.; DEL AGUILA, J.S.; GALLO, C.R.; ORTEGA, E.M.M.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, RA. Alterações fisiológicas, qualitativas e microbiológicas durante o armazenamento de abóbora minimamente processada em diferentes tipos de corte. **Horticultura Brasileira**, 24: 170-174, 2006.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas, 15(1):71-81, 2002.

SOUZA, C.O.; MENEZES, J.D.S.; NETO, D.C.R.; ASSIS, J. G. A.; SILVA, S. R.; DRUZIAN, J.I. Carotenoides totais e vitamina A de cucurbitáceas do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido. **Ciência Rural**, v.42, n.5, 2012.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4ª Ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 161 p, 2011.

TAMER, C. E; İNCEDAYI, B.; PARSEKER YÖNEL, S.; YONAK, S.; ÇOPUR, O.U. Evaluation of several quality criteria of low calorie pumpkin dessert.

**Notulae Botanicae Hort. Agrobotanici**, Cluj-Napoca, vol 38, n.1, p. 76-80, 2010.

VOSS, D. H. Relating colourimeter measurement of plant colour to the royal horticultural society colour chart. **HortScience**, v. 27, n.12, p. 1256-1260, 1992.

ZHENG, W; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in select herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.11, p. 5165-5170, 2001.

## 4.2 ARTIGO ORIGINAL

---

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO COSMÉTICA ANTIOXIDANTE  
CONTENDO EXTRATO DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*): AVALIAÇÃO  
DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ESTABILIDADE**

**ANTIOXIDANT COSMETIC EMULSION DEVELOPMENT WITH PUMPKIN  
(*Cucurbita moschata*) EXTRACT: ANTIOXIDANT CAPACITY AND  
EMULSION STABILITY EVALUATIONS**

## RESUMO

---

Tendo em vista o potencial cosmético ainda não explorado de extratos de abóbora como antioxidante para a pele, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização de emulsão contendo extrato de abóbora (*Cucurbita moschata*), visando a obter uma formulação com capacidade antioxidante e estável para o tratamento e nutrição cutânea. Emulsões óleo-em-água foram preparadas contendo 0,5% do extrato de abóbora em sua composição. As formulações foram acrescidas ou não do antioxidante sintético BHT para verificar sua influência na estabilidade das emulsões. A estabilidade em condições ambiente (aproximadamente 25° C) e acelerada (40 ± 2° C e 75 ± 5 % UR das formulações foi então avaliada por um período de 90 dias, por meio da análise de parâmetros físico-químicos como características organolépticas, pH, espalhabilidade, capacidade antioxidante e teor de β-caroteno das emulsões. As formulações contendo o extrato de abóbora apresentaram aspecto atrativo e valores de pH e espalhabilidade inicial compatíveis com a aplicação cutânea. Quando armazenadas em temperatura ambiente, as emulsões demonstraram estabilidade preliminar adequada ao longo dos 90 dias de análise, com manutenção do teor de β-caroteno e capacidade antioxidante durante todo o período e leves alterações no pH e espalhabilidade, que não devem afetar a sua performance. Conclui-se, portanto, que as emulsões desenvolvidas com extrato de abóbora possuem potencial para se tornarem um produto cosmético.

**Palavras-chave:** Extrato vegetal; antioxidante; *Cucurbita moschata*; carotenoides.

## ABSTRACT

---

Pumpkin crude extract has the potential to be used in cosmetic industry, although it is poorly explored. This research aimed the development and characterization of the pumpkin (*Cucurbita moschata*) emulsion, aiming a stable and antioxidant emulsion for cutaneous nutrition and treatment. 0,5% (w/v) oil-water emulsions from crude extracts of *C. moschata* were formulated with and without synthetic BHT antioxidant to evaluate its stability influence. The stability under normal (25°C) and modified (40±2°C and 75±5% RH) climatic conditions of emulsions were tested throughout 90 days, a period of which physical-chemical emulsions conditions as organoleptic characteristics, pH, spreading, antioxidant activity and β-carotene content were evaluated. Emulsions added with small amounts of synthetic BHT antioxidant demonstrated to be stable through 90 day period, with the maintenance of pH, spread and β-carotene content. As a result, emulsions with pumpkin (*C. moschata*) crude extract have potential use as a cosmetic product.

**Keywords:** plant extract; antioxidante; *Cucurbita moschata*; carotenoids.

## 1 INTRODUÇÃO

Os radicais livres são espécies produzidas no corpo humano por meio de processos metabólicos, especialmente durante processos inflamatórios e por influência de fatores externos, como a irradiação solar (Darvin et al., 2011; Zastrow et al., 2009). Embora o organismo humano possua mecanismos de proteção para neutralizar os radicais livres, exposições exacerbadas à luz do sol, o fumo e os efeitos do envelhecimento potencializam a formação dessas espécies reativas (Darvin et al., 2011). Nesses casos, quando os níveis de antioxidantes endógenos estão esgotados significativamente, é recomendada a aplicação tópica de substâncias antioxidantes (Freitas et al., 2015).

Dessa forma, muitos antioxidantes naturais, tais como quercetina, catequina e carotenóides, têm sido utilizados em produtos cosméticos devido à sua eficácia na redução dos efeitos de radicais livres na pele, diminuindo o fotoenvelhecimento cutâneo (Darvin et al., 2011; Freitas et al., 2015; Nichols; Katiyar, 2010). Essas substâncias estão presentes em várias espécies vegetais, e seu uso em substituição ou em associação a antioxidantes sintéticos vem crescendo devido à grande aceitação da população por produtos oriundos de fontes naturais (Lange et al., 2009; Buhler; Ferreira, 2008).

O interesse na aplicação de carotenóides na promoção da saúde humana remonta há 80 anos, quando a ligação entre  $\beta$ -caroteno e vitamina A foi demonstrada pela primeira vez e a importância na dieta de  $\beta$ -caroteno e alguns outros carotenóides como pró-vitamina A foi bem estabelecida (Britton et al., 2008). Essas substâncias podem ser encontradas em fungos, bactérias, e em todos os tecidos verdes de plantas (Bauernfiend, 1981). Os carotenoides são uma classe de pigmentos naturais, geralmente tetraterpenoides  $C_{40}$ , construídos a partir de oito unidades isoprenóides  $C_5$ , com inversão de sequência no centro da molécula (Figura 1).

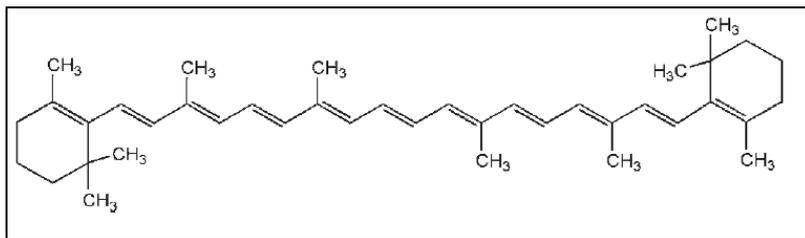


Figura 1 - Estrutura química do  $\beta$ -caroteno (Fonte: Rowe; Sheskey, 2005).

A atuação dos carotenoides se dá tanto na inibição da síntese de oxigênio singlete quanto na interação sinérgica com a vitamina E para inibir a peroxidação lipídica (Schwenke, 1998). Estudos têm demonstrado uma redução moderada no desenvolvimento de eritema induzido pelo sol por meio de aplicação de carotenóides na pele (Goralczyk; Wertz, 2008).

A abóbora é um alimento vegetal rico nos principais carotenóides, além de possuir pequenas quantidades de seus precursores e derivados, o que torna sua composição complexa e variável (Rodriguez-Amaya et al., 2008). Este fruto pertence à família Curcubitaceae, e as espécies mais comumente cultivada de abóboras são *Curcubita pepo*, *Curcubita maxima*, *Curcubita argyrosperma*, *Curcubita ficifolia* e *Curcubita moschata* (Gonzaga et al., 1999).

Estudos realizados sobre a composição de carotenóides em abóboras cultivadas no nordeste do Brasil identificaram que a *Cucurbita maxima*, variedade Jerimum caboclo, apresentou 11 tipos de carotenóides, sendo 60% luteína e 27%  $\beta$ -caroteno, e a *Cucurbita moschata*, variedade baianinha, 19 tipos de carotenóides, sendo 74% ( $317,8 \mu\text{g g}^{-1}$ )  $\beta$ -caroteno (Arima; Rodriguez-Amaya, 1990). Além disso, variação de fatores tais como: processo de preparo da matéria-prima, variedades da espécie e do estado de maturação do fruto mostraram influenciar sobremaneira a composição de substâncias bioativas presentes em abóboras (Shi et al., 2010).

Diante do exposto e tendo em vista que o potencial cosmético de extratos de abóbora como antioxidante para a pele não foi explorado até o momento, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização

de emulsão contendo extrato de abóbora (*Cucurbita moschata*), visando a obter uma formulação com capacidade antioxidante e estável para o tratamento e nutrição da pele.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material

O padrão de  $\beta$ -caroteno (99,9% de pureza), bem como os reagentes ABTS [2,2'-azinobis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)] e persulfato potássico, utilizados na análise de capacidade antioxidante, foram obtidos da Sigma-Aldrich (EUA). Para preparo da emulsão, foram utilizados metilparabeno (lote 1103174) e EDTA (lote 1000310) obtidos da Vetec (Brasil), propilenoglicol (lote A955D5FL11) e cera Polawax<sup>®</sup> (lote 000594728) obtidos da Viapharma (Brasil), hidroxitolueno de butila (BHT, lote 5789) obtido da Opção Fenix (Brasil), propilparabeno (lote 200908223#8) obtido da DEG (Brasil), e vaselina líquida (lote 130516EC5875) obtida da Pharma Nostra (Brasil). Trietanolamina e solução de ácido cítrico a 40% foram utilizadas para a correção do pH no produto final. Etanol e acetona, grau farmacêutico, foram obtidos da Vetec (Brasil). Solventes como acetonitrila (lote 1206105) e acetato de etila (lote 1208987) obtidos da Vetec (Brasil) e metanol (lote 71056) obtido da Dinâmica (Brasil), utilizados nas análises cromatográficas, eram de grau HPLC.

### 2.2. Obtenção do extrato de abóbora

Quatrocentos e cinquenta gramas de polpa da abóbora Jacarezinho (*Cucurbita moschata*) cultivadas no campo da Embrapa Hortaliças-DF e previamente liofilizadas (liofilizador Terrone<sup>®</sup>, modelo L3000) foram submetidos a trituração em moinho. Alíquotas de 10 g da amostra de polpa liofilizada foram dissolvidas em 300 mL de acetona e armazenadas sob refrigeração a  $4 \pm 2^\circ \text{C}$  durante 48 horas. Após o período de infusão, a dispersão foi colocada para agitar em agitador magnético (Thelga, Brasil) durante 30 minutos e filtrada em filtro de lã de vidro média por duas vezes e submetida à dessecação, utilizando evaporador rotativo com banho-maria (Tecnal<sup>®</sup>, modelo TE 211, Brasil) à temperatura de  $40 \pm 1^\circ \text{C}$ . A amostra passou então por câmara de secagem a

30 ± 2° C. Todo o procedimento ocorreu ao abrigo da luz (Souza; Ferreira, 2010; Rockenbach et al., 2007). O extrato obtido foi armazenado em placa de petri vedada, protegida da luz em temperatura -20 ± 2° C até o momento de sua utilização para o preparo das formulações. O percentual de rendimento da extração foi calculado como sendo 2,35%.

### 2.3. Preparo das formulações

Produziram-se três lotes de duas diferentes formulações, com variação na presença do agente antioxidante sintético BHT e do extrato. As formulações foram designadas: (i) ABHT para indicar a ausência do agente antioxidante sintético BHT e (ii) PBHT para indicar a presença de BHT em sua composição. O percentual de cada um dos componentes nas formulações analisadas está especificado na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das formulações de emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.

Componentes	Quantidade dos componentes nas diferentes formulações (% p/p)	
	ABHT	PBHT
Extrato de <i>C. moschata</i>	0,5	0,5
Cera Polawax™	11	11
Vaselina líquida	5	5
Propilparabeno	0,02	0,02
Metilparabeno	0,15	0,15
BHT	-	0,5
EDTA	0,1	0,1
Propilenoglicol	5	5
Água destilada	qsp.	qsp.

As emulsões foram preparadas aquecendo-se em banho-maria os componentes da fase oleosa (cera Polawax™, vaselina líquida e propilparabeno) a 80° C e todos os componentes da fase aquosa

(metilparabeno, BHT, EDTA, propilenoglicol e água destilada) a 85° C. As fases foram homogeneizadas em batedeira planetária (Arno<sup>®</sup>, Brasil), com batedor do tipo balão, vertendo-se a fase aquosa sobre a fase oleosa e mantendo-se a agitação por aproximadamente 40 minutos até arrefecimento. Por fim, procedeu-se a correção do pH para 5,5 utilizando-se solução de ácido cítrico 40%. Para a elaboração das emulsões contendo o extrato, metade do conteúdo total de vaselina líquida foi usado na preparação da emulsão base e o restante usado para solubilizar o extrato que foi incorporado à base resfriada sob agitação até completa homogeneização.

## **2.4 Estabilidade acelerada das emulsões**

Alíquotas de 30 g das emulsões recém-preparadas foram envasadas, em triplicatas, em recipientes de vidro transparentes com capacidade para 90 mL, dotados de tampa rosqueável, e armazenadas ao abrigo da luz em condições climáticas distintas (condições ambientais e em câmara climática à  $40 \pm 2^\circ \text{C}$  e  $75 \pm 5 \% \text{UR}$ ). A estabilidade das formulações foi avaliada nos tempos 1, 7, 15, 30, 60 e 90 dias após manufatura, mediante a realização de ensaios físico-químicos descritos à continuação.

## **2.5 Caracterização físico-química das emulsões**

### **2.5.1 Características organolépticas**

A análise das propriedades organolépticas das formulações considerou os parâmetros de aspecto, cor, odor e textura, com uso dos critérios apresentados na Tabela 2. Alíquota de cada amostra foi comparada com padrões, armazenados à temperatura de  $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  e ao abrigo da luz. O aspecto e a cor foram avaliados visualmente e o odor diretamente através do olfato (BRASIL, 2004).

Tabela 2- Parâmetros usados para avaliação das características organolépticas das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.

<b>Siglas</b>	<b>Características</b>
N	Normal sem alteração
OA	Opaco - aspecto
BA	Brilhoso - aspecto
LMC	Levemente Modificada - Cor
LMO	Levemente Modificado - Odor
MC	Modificado - Cor
MO	Modificado - Odor
IMC	Intensamente Modificada - Cor
IMO	Intensamente Modificado - Odor
LT	Lisa- Textura
AET	Aerada - Textura
ART	Arenosa - Textura

Fonte: BRASIL, 2004.

### **2.5.2 Determinação de pH**

Amostras de 1 g das emulsões PBHT e ABHT, em triplicata, foram dispersas em 9 mL de água destilada (Ferrari, 2002). O pH de cada mistura foi determinado com o auxílio de um medidor de pH (Labmeter<sup>®</sup>, Modelo PHS-3B) pela inserção direta do eletrodo. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente.

### **2.5.3 Teste de espalhabilidade**

A espalhabilidade das emulsões ABHT e PBHT foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Knorst (1991). Utilizou-se uma placa molde de vidro circulares de 20 cm de diâmetro, 0,3 cm de espessura e com orifício central com diâmetro de 1,2 cm, sobreposta sobre uma placa de vidro quadrada (20 cm x 20 cm), ambas colocadas sobre uma folha de papel

milimetrado. Adicionou-se aproximadamente 1 g de amostra no orifício, nivelando com auxílio de uma espátula. Retirou-se a placa circular e sobre a amostra foram colocadas cinco placas de vidro (diâmetro = 20 cm; espessura = 0,3 cm), sucessivamente em intervalos de um minuto, com anotação dos diâmetros formados nas posições vertical e horizontal. As placas tinham os respectivos pesos: placa 1- 302,08 g; placa 2- 300,32 g; placa 3 -300,03 g; placa 4- 302,28 g e placa 5- 301,01 g. Para o cálculo da espalhabilidade foi utilizada a seguinte equação (Lange et al., 2009):

$$E_i = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \text{ (Equação 1)}$$

$E_i$  = espalhabilidade da amostra para peso  $i$  ( $\text{mm}^2$ )  $d$  = diâmetro médio (mm)  $\pi = 3,14$ .

#### 2.5.4 Teor de $\beta$ -caroteno

A identificação e quantificação de  $\beta$ -caroteno nas amostras foi realizada em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, Japão), constituído por um módulo de mistura dos solventes, desgaseificador, bomba reodine, sistema de controle, forno de coluna e amostrador automático.

A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa Waters  $C_{18}$  Spherisorb (4,6 x 150 mm) revestida internamente com grupamentos octadecil (partículas de 3  $\mu\text{m}$ ). A detecção para  $\beta$ -caroteno foi realizada a 450 nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software SL Solution. Para a separação, injetou-se 20  $\mu\text{L}$  de amostra que foi diluída em acetona e foi filtrada em membrana de PVDF, e eluída em fase móvel composta por acetonitrila/metanol/acetato de etila nas proporções 80:10:10 (v/v/v) em corridas de 26 minutos. Utilizou-se vazão constante de 0,8  $\text{mL min}^{-1}$ . Os picos foram identificados pela comparação com o tempo de retenção do padrão de  $\beta$ -caroteno, e a quantificação foi realizada baseada na curva analítica construída para o padrão:  $y = 6 \cdot 10^6 x - 1294$  ( $R^2: 0,9953$ ), em que  $y$  é a área do pico correspondente ao  $\beta$ -caroteno e  $x$  é o valor de concentração em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

### **2.5.5 Capacidade antioxidante *in vitro***

A avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* do extrato de abóbora nas emulsões, assim como a verificação da manutenção dessa atividade ao longo do estudo de estabilidade acelerada foi determinada pelo método de captura de radicais livres ABTS (Re et al, 1999). O radical foi originado pela reação química com o persulfato potássico. Os resultados foram expressos em Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao TROLOX ( $\mu\text{M}$  TEAC).

O extrato foi extraído das emulsões mediante dissolução de 0,2 g de cada amostra em 0,5 mL de solução acetona:etanol (80:20 v/v), seguido por homogeneização em vortex e centrifugação à 10.000 rpm, por 5 minutos, à 25° C. Para cada 20  $\mu\text{L}$  do sobrenadante obtido foram adicionados 980  $\mu\text{L}$  de solução etanólica de ABTS (7mM) em tubo de ensaio, que foram imediatamente homogeneizadas em vortex. Esta mistura permaneceu em repouso por 6 minutos e ao abrigo da luz. Após, a absorbância foi avaliada em espectrofotômetro à 754 nm.

### **2.6 Análise estatística dos dados**

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos dividido em esquema fatorial 2 x 2 (ausência e presença de BHT, em duas temperaturas, 25°C e 40°C), em 6 parcelas subdivididas no tempo (1, 7, 15, 30, 60, e 90 dias), com 3 repetições (n= 30g).

Para a análise estatística dos resultados foram utilizados a análise de variância (ANOVA), o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias, usando o programa SPSS versão 20.0 e GraphPad Prism® 5.0. Diferenças entre as médias no nível de 5% ( $P < 0,05$ ) foram consideradas significantes.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Características organolépticas

Os resultados da análise organoléptica das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade por 90 dias em distintas condições climáticas estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3 - Avaliação organoléptica das amostras para aspecto (A), cor (C), odor (O) e textura (T) durante o período de 90 dias.

Dias	Condições ambientais (25 ± 2° C)								Condições em câmara climática (40 ± 2° C e 75 ± 5 % UR)							
	ABHT				PBHT				ABHT				PBHT			
	A	C	O	T	A	C	O	T	A	C	O	T	A	C	O	T
1	BA	N	N	LT	BA	N	N	AET	BA	N	N	LT	BA	N	N	AET
7	BA	N	N	AET	BA	N	N	AE	BA	N	N	LT	BA	N	N	AET
15	BA	N	N	LT	BA	N	N	LT	BA	N	N	LT	BA	N	N	LT
30	BA	N	N	LT	BA	N	N	AET	BA	N	N	LT	BA	N	N	AET
60	BA	N	N	AET	BA	N	N	LT	BA	N	N	LT/ET	BA	N	N	LT/ET
90	BA	N	N	LT	BA	LMC	LMO	AE	BA	N	N	LT/ET	BA	LMC	LMO	LT/ET

ABHT= ausência de BHT, PBHT= presença de BHT, N = Normal, BA= Brilhoso - aspecto, LMC= Levemente Modificada – Cor, LMO= Levemente Modificado – Odor, LT= Lisa - Textura, AET= Aerada – Textura, ET= Endurecimento - Textura.

Foi notado que o aspecto brilhoso e odor característico de todas as formulações foram mantidos até finalização do estudo. Porém a coloração inicialmente amarela (Figura 2) foi mantida apenas nas emulsões ABHT armazenadas à 25 ± 2° C, as emulsões armazenadas em câmara climática (40 ± 2° C e 75 ± 5 % UR), apresentaram leve modificação com escurecimento superficial e odor, endurecimento da textura a partir do 60º dia, com progressão dessa característica entre o 60º e o 90º dia. Essas alterações podem ter ocorrido em virtude da evaporação de água da formulação produzindo oxidação superficial, e indicam que as formulações deverão ser armazenadas sem exposição ao calor. Em seus estudos Lange et al. (2009), também observou alteração em emulsão contendo 2% de resveratrol, provocada por

evaporação de água ou ação do calor que acelera as reações entre os componentes da formulação.



Figura 2 - Emulsões à base de extrato de abóbora recém-elaboradas e acondicionadas em potes de vidro com tampa rosqueável. A) presença do extrato, B) presença do extrato e BHT.

Todas as emulsões obtidas com o extrato de abóbora apresentaram coloração amarelada, aspecto brilhoso e odor característico da hortaliça (Figura 2). Esse tipo de apelo é importante quando se trata de um produto cosmético em que o consumidor é quem decidirá pela escolha do produto, e essas características tendem a ser levadas em consideração no momento da escolha.

### 3.2 Determinação de pH

Variações no pH de uma emulsão são também indicativos de perda de estabilidade do sistema (Brasil, 2004) e a análise desse parâmetro também foi determinada durante o tempo de armazenamento. Os resultados da análise do pH das emulsões contendo o extrato ao longo do estudo de estabilidade por 90 dias encontram-se apresentados na Figura 3.

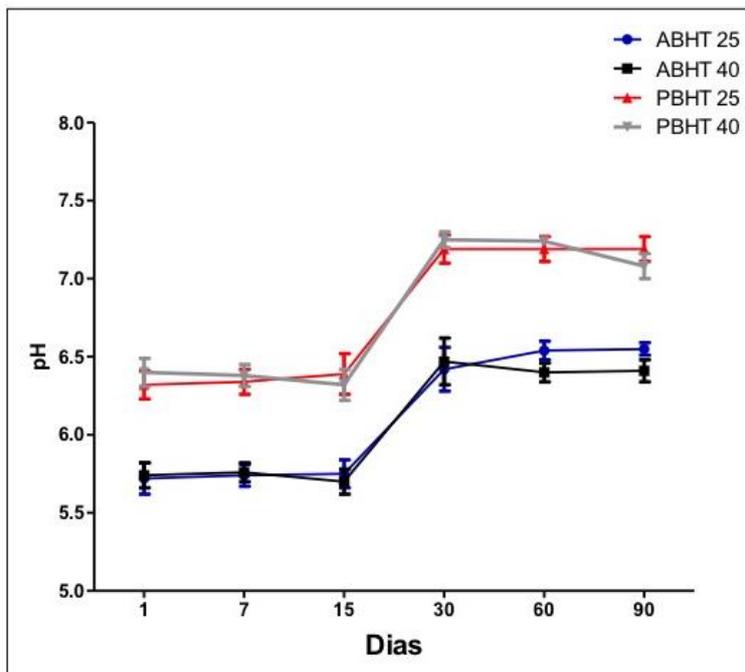


Figura 3 - Avaliação do pH de emulsões à base de extrato de abóbora submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão).

Um comportamento relativamente estável de pH frente às condições climáticas avaliadas foi verificado. Pode-se observar que as emulsões não sofreram alterações significativas ( $P > 0,05$ ) entre os primeiros 15 dias, como também para o período entre o 30º e o 90º de armazenamento.

Apesar de ambas as emulsões terem tido o seu pH inicialmente corrigido com solução de ácido cítrico 40% no dia de preparo para valores entre 5,6 e 5,7, verificou-se que após 24 h, a emulsão PBHT apresentou aumento do pH (para 6,3 a 6,4). Essa alteração inicial pode ser justificada por problemas de homogeneização da formulação, que normalmente tente a ser estabilizada após 24 h de seu preparo.

A partir do 30º dia de estudo, verificou-se que ambas emulsões sofreram um aumento proporcional entre si com relação a seus pHs (Figura 3). Acredita-se que o acondicionamento, apesar de ter sido realizado em

recipientes com tampas, pode ter favorecido a perda de água com o passar do tempo, caso uma vedação perfeita não tenha acontecido. Essa perda gera uma concentração da formulação com conseqüente aumento do pH, que indica a concentração de íons hidroxila no sistema.

Apesar do aumento observado na Figura 3 ter sido significativo ( $P < 0,05$ ), em termos práticos, o valor final é compatível com o pH da pele (Leonardi et al., 2002) e, portanto, indicado para aplicação tópica dermatológica. Além disso, a análise estatística dos dados revelou correlação positiva, com coeficiente de correlação 0,6 e 0,547 (dados não apresentados) para as amostras PBHT e ABHT, respectivamente, entre o pH e a concentração de  $\beta$ -caroteno, indicando a manutenção da estabilidade deste metabólito secundário com a manutenção do pH acima de 5,7 ao longo do estudo.

### **3.3 Teste de espalhabilidade**

Espalhabilidade é definida como a expansão de uma formulação semissólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo (Feltkamp et al., 1983), é uma das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica (Knorst, 1991).

Na Figura 4 estão apresentados os resultados do teste de espalhabilidade das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.

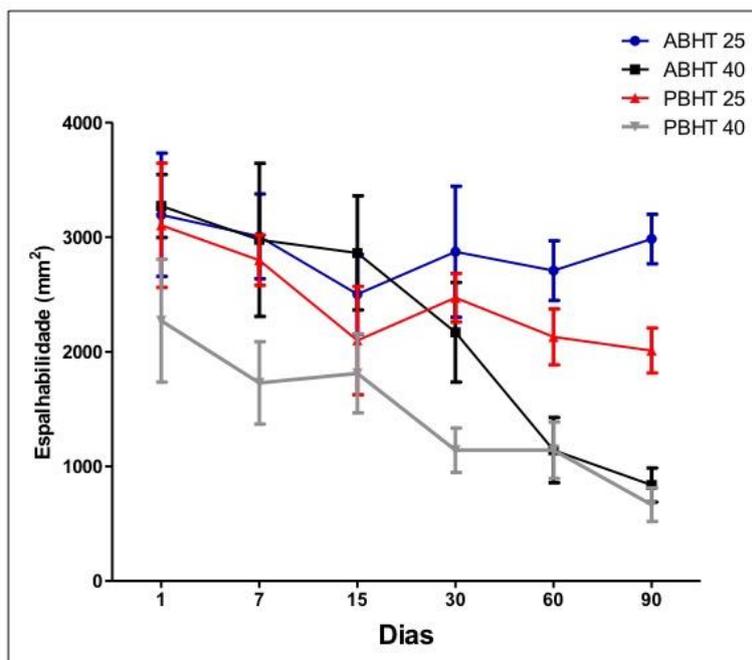


Figura 4 - Demonstração da avaliação de espalhabilidade conforme as formulações e condições de temperatura armazenada no período de 90 dias. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão).

A emulsão que não continha o antioxidante sintético BHT (ABHT) e que foi armazenada em condições ambientais apresentou uma espalhabilidade mais constante durante todo o estudo, apesar de que a formulação contendo BHT (PBHT) e mantida a temperatura ambiente também demonstrou manutenção de espalhabilidade ao longo do estudo (Figura 4). Já a formulação PBHT armazenada a  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $75 \pm 5\%$  UR foi a que apresentou maior variação média de espalhabilidade no mesmo período, com valores variando entre 3103,45 e 665,09  $\text{mm}^2$ . Essa alteração provavelmente ocorreu por perda de água da formulação, fato anteriormente mencionado para justificativa das alterações ocorridas para características organolépticas e pH, e que é afetada mais diretamente para formulações mantidas a temperaturas mais altas. A análise estatística dos dados corrobora essa afirmação, ao verificar correlação negativa entre pH e espalhabilidade, com coeficiente de correlação -0,464 para a emulsão ABHT(dados não apresentados). Esse estudo corrobora os dados

apresentados até aqui, que diz respeito à contra indicação em se armazenar as formulações em ambientes com temperatura elevada.

### 3.4 Teor de $\beta$ -caroteno

Na Figura 5 estão apresentados os valores da quantificação de  $\beta$ -caroteno por CLAE durante o estudo de estabilidade acelerada por 90 dias.

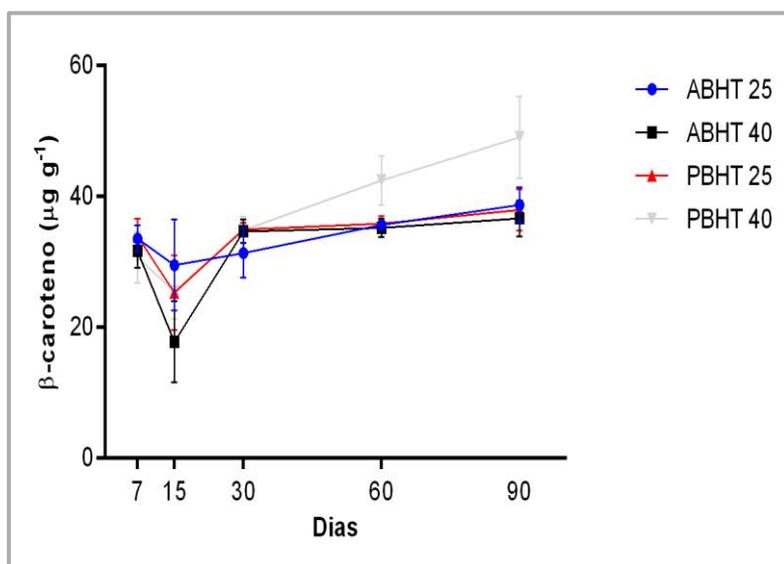


Figura 5 - Avaliação de  $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$  de emulsão) durante o período de 90 dias nas diferentes emulsões O/A. ABHT25- Ausência de BHT e 25°C, ABHT40- Ausência de BHT e 40°C, PBHT25- Presença de BHT e 25°C, PBHT40- Presença de BHT e 40°C. Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão).

Pode-se observar uma queda do teor de  $\beta$ -caroteno no 15º dia para todas as emulsões, mas a queda foi significativa estatisticamente ( $P < 0,05$ ) somente para as emulsões em temperatura a 40°C. No entanto analisando-se o perfil apresentado para os valores de  $\beta$ -caroteno durante todo o período de análise, com retomada do teor do marcador imediatamente no próximo tempo, sugerindo que o ocorrido deveu-se por erro experimental na análise quantitativa ou amostral.

De maneira geral, portanto, não foi notada alteração significativa no teor de  $\beta$ -caroteno durante os períodos avaliados, sendo que as variações apresentadas (Figura 5) estão dentro dos limites de precisão e exatidão do método analítico ( $P > 0,05$ ).

### **3.5 Capacidade antioxidante *in vitro***

Por fim, a manutenção da capacidade antioxidante do extrato foi examinada como complementação à análise do teor de  $\beta$ -caroteno nas formulações, de modo a revelar de maneira mais contundente a estabilidade e a efetividade das emulsões preparadas. Assim, a capacidade antioxidante das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade acelerada por 90 dias foram expressas em Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao TROLOX ( $\mu\text{M TEAC}$ ) (Figura 6).

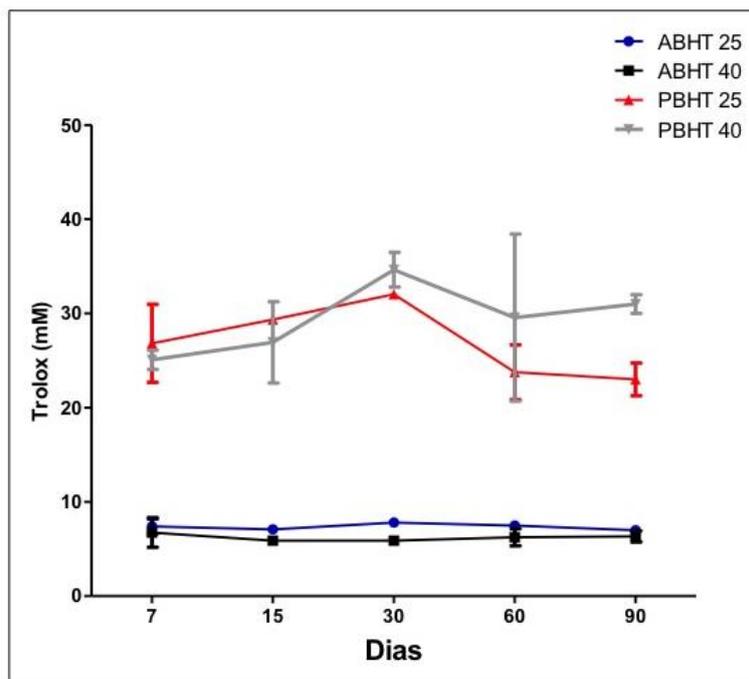


Figura 6 - Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao TROLOX ( $\mu\text{M TEAC}$ ) das emulsões submetidas ao estudo de estabilidade por 90 dias. ABHT25- Ausência de BHT e  $25^{\circ}\text{C}$ , ABHT40- Ausência de BHT e  $40^{\circ}\text{C}$ , PBHT25- Presença de BHT e  $25^{\circ}\text{C}$ , PBHT40- Presença de BHT e  $40^{\circ}\text{C}$ . Barras verticais representam as médias ( $\pm$  desvio padrão).

A formulação que continha somente o extrato de abóbora (ABHT) demonstrou capacidade antioxidante expressiva e constante durante todo o período de estudo e mesmo submetida a temperaturas altas (Figura 6). Conforme esperado, a emulsão PBHT apresentou capacidade antioxidante superior em virtude da presença do composto sintético BHT, que demonstrou agir de maneira sinérgica ao  $\beta$ -caroteno contido no extrato, aumentando o potencial antioxidante da formulação.

Os resultados encontrados para as emulsões evidenciaram a manutenção do teor e capacidade antioxidante durante todo o período de estudo.

#### 4 CONCLUSÃO

As emulsões desenvolvidas com extrato de abóbora possuem potencial para se tornarem um produto cosmético. A formulação contendo o extrato de abóbora apresentou um aspecto atrativo e, pH e espalhabilidade inicial compatível com a aplicação cutânea e, quando armazenada em temperatura ambiente, demonstrou estabilidade preliminar adequada durante os 90 dias de análise, com manutenção do teor de  $\beta$ -caroteno e capacidade antioxidante durante todo o período e leves alterações no pH e espalhabilidade, que não devem afetar seu desempenho.

#### 5. PERSPECTIVAS FUTURAS

Com a produção de uma maior quantidade de extrato de abóbora, pretendem-se realizar experimentos *in vitro* de permeação cutânea com as emulsões, para verificar se há absorção de  $\beta$ -caroteno nas camadas mais profundas da pele, o que seria mais um indicativo da efetividade da formulação desenvolvida nesse projeto.

## REFERÊNCIAS

ARIMA, H.K.; RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from northeastern Brazil. **Archivos Latino americanos de Nutrición**, Caracas, v. 40, n. 2, p. 284-292, jun. 1990.

BAUERNFIEND, J. C. Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. Nova Iorque: **Academic Press**, p. 835–836, 1981.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, DF: ANVISA, 2004. 52p. (Séries Temáticas. Qualidade, v.1). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia\\_series.htm](http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia_series.htm).> Acesso em: 20 jul. 2015.

BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, F, PFANDER, H. **Carotenoids: Nutrition and Health**. V 5: 3., H (Eds.). BirkhauserVerlag Basel, ISBN 978-3-7643-7500-3.p. 1-6, 2008.

BUHLER, F. V.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilexparaguariensis* St. Hil a 5 e 10%. **Revista Perspectiva**, n. 119, p. 47-55, set. 2008.

DARVIN, M.E.; FLUHR, J.W.; MEINKE, M.C.; ZASTROW, L.; STERRY, W.; LADEMANN, J. Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. *Experimental Dermatology*, V.20, p.125–129, 2011.

FELTKAMP, H.; FUCKS, P.; SUCKER, H. *Pharmazeutische qualitaetskontrolle*. Stuttgart: Georg Thieme, p. 714-735. 1983.

FREITAS, J.V; PRAÇA, F.S.G ;BENTLEY, M.V.L.B.; GASPAR, L.R. Trans-*resveratrol* and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. **International Journal of Pharmaceutics**, v.484, p. 131–137, 2015.

GONZAGA, V.; FONSECA, J.N.L.; BUSTAMANTE, P.G.; TENENTE, R.C.V. Intercâmbio de germoplasma de cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, v.17, p. 06-09, 1999.

GORALCZYK, R.; WERTZ, K. Skin Photoprotection by Carotenoids. In: **Carotenoids: Nutrition and Health**. 5: 3. Britton, G., Liaaen-Jensen, F, Pfander, H (Eds.). BirkhauserVerlag Basel, ISBN 978-3-7643-7500-3.p. 335-359, 2008.

KNORST, M.T. Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Compositae – marcela*. [Dissertação]. Porto Alegre: Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1991.

LANGE, M. K.; HEBERLE, G.; MILAO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-ionica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 145-151, 2009.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Study of pH variation on the skin using cosmetic formulations with and without vitamins A, E or ceramide: by a non-invasive method. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

NICHOLS, J.A.; KATIYAR, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms **Arch Dermatol Res**, v.302, p. 71–83, 2010.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.26, p.1231–1237, 1999.

ROCKENBACH, I. I, SILVA, G. L, RODRIGUES, E., GONZAGA, L. V; FETT, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e PinotNoir (*Vitisvinifera*). **Rev Inst Adolfo Lutz**, 66(2):158-63 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoids composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 445–463, 2008.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S.C. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 5. ed. Inglaterra: Pharmaceutical Press, p.945, 2005.

SOUZA, V. B.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitislabrusca*L.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Videira, v. 31, n. 1, p.217-222, 2010.

SCHWENKE, D.C. Antioxidants and atherogenesis. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, p.424-445, 1998.

SHI, J. ET AL. Effects of supercritical CO<sub>2</sub> fluid parameters on chemical composition and yield of carotenoids extracted from pumpkin. **Food Science and Technology**, Zúrique, v. 49, n. 1, p. 39-44, 2010.

ZASTROW, L.; GROTH, N.; KLEIN, F.; KOCKOTT, D.; LADEMANN, J.; RENNEBERG, R.; FERRERO, L. The Missing Link – Light-Induced (280–1,600 nm) Free Radical Formation in Human Skin. **Skin Pharmacol Physiol**, v.22, p.31-44, 2009.

## 5. CONCLUSÕES

---

As análises dos resultados obtidos para *Cucurbita* spp. permitem concluir:

Que a hortaliça é fonte de carboidratos, e contém muita água em sua composição. As amostras de abóboras avaliadas apresentaram bom rendimento de polpa, com potencial para serem utilizadas no processamento industrial. Que as cucurbitáceas apresentaram semelhança quanto à capacidade antioxidante. Além disso, *Cucurbita moschata* apresentou maiores teores em carotenoides, fenólicos totais e  $\beta$ -caroteno precursor de vitamina A.

A formulação contendo o extrato de abóbora apresentou um aspecto atrativo e, pH e espalhabilidade compatível para uso tópico, com manutenção do composto bioativo e capacidade antioxidante. A emulsão armazenada em temperatura ambiente demonstrou estabilidade preliminar adequada durante todo o período de estudo. As análises sugerem que as emulsões desenvolvidas com extrato de abóbora, possuem potencial para se tornarem um produto para nutrição cutânea, como cosmético.