

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA**  
**ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA – EST**  
**CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**LUANA MAQUINÉ VIEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE SABONETE LÍQUIDO**  
**ANTIMICROBIANO A PARTIR DE EXTRATO DE GUARANÁ**  
**(*Paullinia cupana*) E ÓLEO ESSENCIAL DO PAU-ROSA (*Aniba***  
***rosaeodora*)**

MANAUS

2021

**LUANA MAQUINÉ VIEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE SABONETE LÍQUIDO  
ANTIMICROBIANO A PARTIR DE EXTRATO DE GUARANÁ  
(*Paullinia cupana*) E ÓLEO ESSENCIAL DO PAU-ROSA (*Aniba  
rosaeodora*)**

**Monografia apresentada ao Curso de  
Graduação em Engenharia Química da  
Escola Superior de Tecnologia da  
Universidade do Estado do Amazonas, para  
obtenção do título de Bacharel em  
Engenharia Química.**

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Melchionna Albuquerque  
Co-orientador: Eng. Químico Edson Queiroz da Fonseca Junior

MANAUS

2021

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
**Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.**

V658d Vieira, Luana Maquiné  
DESENVOLVIMENTO DE SABONETE LÍQUIDO  
ANTIMICROBIANO A PARTIR DE EXTRATO DE  
GUARANÁ (*Paullinia cupana*) E ÓLEO ESSENCIAL DO  
PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora*) / Luana Maquiné  
Vieira. Manaus : [s.n], 2021.  
60 f.: color.; 30 cm.

TCC - Graduação em Engenharia Química -  
Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2021.  
Inclui bibliografia  
Orientador: Albuquerque, Patrícia Melchionna  
Coorientador: Junior, Edson Queiroz da Fonseca

1. fitocosméticos. 2. atividade antimicrobiana. 3.  
parâmetros físico-químicos. I. Albuquerque, Patrícia  
Melchionna (Orient.). II. Junior, Edson Queiroz da  
Fonseca (Coorient.). III. Universidade do Estado do  
Amazonas. IV. DESENVOLVIMENTO DE SABONETE  
LÍQUIDO ANTIMICROBIANO A PARTIR DE  
EXTRATO DE GUARANÁ (*Paullinia cupana*) E ÓLEO  
ESSENCIAL DO PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora*)

LUANA MAQUINÉ VIEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE SABONETE LÍQUIDO ANTIMICROBIANO  
A PARTIR DE EXTRATO DE GUARANÁ (*Paullinia cupana*) E ÓLEO  
ESSENCIAL DO PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora*)**

**Monografia de Conclusão de Curso para obtenção do título de Engenheira, Habilitação  
em Engenharia Química – Escola Superior de Tecnologia, Universidade do Estado do  
Amazonas**

Banca examinadora:



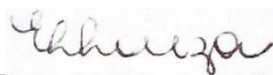
---

Profa. Dra. Patrícia Melchionna Albuquerque – Orientadora



---

Profa. Dra. Taís Xavier Guimarães – Kaá Alquimia Cabocla



---

Profa. Dra. Érica Simplício de Souza – UEA

Conceito: Aprovado.

Manaus, 19 de Julho de 2021

“Dedico ao meu Deus, à minha  
mãe Alcineide Maquiné, aos meus  
irmãos (Christiano, Mércio e Alessandro),  
bem como à toda minha família que  
esteve ao meu lado durante toda a vida.”

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu querido e amado Deus, o Senhor foi meu ajudador em todos os momentos e esteve ao meu lado em todos os minutos de minha jornada até aqui, me deu saúde, proteção e força para prosseguir e realizar meus sonhos, apesar de não ser merecedora, devido seu eterno e infinito amor por mim. *“Porque Deus amou o mundo de tal maneira que deu o seu Filho unigênito, para que todo aquele que nele crê não pereça, mas tenha a vida eterna.”* (João 3:16)

À minha querida mãe, Alcineide Maquiné, Deus não poderia ter escolhido uma mulher mais incrível para este papel em minha vida, por ser minha maior incentivadora, a pessoa que sempre esteve ao meu lado, cuidando e me lembrando do que é ser forte, por lutar por nossa família e nunca nos deixar faltar nada, obrigada por nunca ter desistido de mim, até mesmo quando eu achava não ser capaz de continuar.

À minha família, em especial à minha mãe e aos meus irmãos, Christiano Maquiné, Mércio Filho e Alessandro Maquiné, por serem meu exemplo de caráter e dedicação, profissional e pessoal. À minha cunhada Mayara Borges, por ser minha amiga e irmã durante toda vida. Ao meu sobrinho Pedro Borges, por ser a luz de nossa família e a criança mais sábia do mundo. À minha avó e avô, Clarice e Alcindo Maquiné (*in memoriam*) sei que estariam orgulhosos de mim.

Ao meu co-orientador e amigo Edson Queiroz, por todo apoio, amizade e disponibilidade em me ajudar e me ensinar a crescer sempre que eu precisei de suporte, seja na área acadêmica ou na área pessoal, obrigada por lutar meus sonhos junto comigo desde sempre.

À minha querida orientadora, Patrícia Melchionna, por todo suporte, paciência, por ser tão atenciosa, por todo incentivo que me deu e me dá desde minha primeira iniciação científica, eu não poderia ter uma sorte maior em tê-la como orientadora do início, até o fim da graduação, sua dedicação e apoio estarão sempre em meu coração.

Ao meu colega de faculdade Paulo Henrique França, por ter feito parte de momentos difíceis e felizes de minha vida, por ter estado sempre ao meu lado me apoiando e dizendo que eu era capaz.

À minha grande amiga Jéssica Martins, por ter sido minha fiel companheira durante a faculdade, por fazer parte de minha vida em todos os momentos.

Ao meu amado Raphael Rodrigues, por ter entrado em minha vida e por ter estado ao meu lado em momentos de ansiedade, alegrias, pelas noites em claro que ficou me incentivando a terminar de fazer as atividades, por cuidar tão bem de mim. Obrigada por lutar ao meu lado.

## RESUMO

A Amazônia é conhecida por possuir inúmeras riquezas quando se trata de sua flora. Dentre as inúmeras espécies de plantas existentes, muitas são consideradas matérias-primas vantajosas para a produção de cosméticos, visto que esses vegetais possuem em sua composição ativos com propriedades notáveis para a produção dos chamados fitocosméticos. Os fitocosméticos são formulações que possuem em sua constituição ativos naturais provenientes de extrato ou óleo essencial que define a atividade biológica do produto. O óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*) possui em sua composição moléculas com diversas atividades eficazes para formulações cosméticas, com destaque para a atividade antimicrobiana. Já o guaraná (*Paullinia cupana*), destaca-se por possuir além da atividade antimicrobiana, outras diversas propriedades terapêuticas como a atividade antioxidante. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver formulações de sabonete líquido com atividade antimicrobiana a partir do extrato de guaraná e de óleo essencial do pau-rosa e avaliar a estabilidade preliminar das formulações elaboradas. Após a obtenção dos extratos de guaraná e do óleo essencial, foi analisada a atividade antimicrobiana pelo método de diluição em microplaca. O extrato de guaraná que se mostrou mais ativo foi o diclorometânico, dessa maneira, o mesmo foi o escolhido para ser utilizado nas formulações dos sabonetes líquidos. O óleo essencial também se mostrou ativo, com os menores valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM). As propriedades físico-químicas analisadas nas formulações foram: centrifugação, pH, condutividade, viscosidade, índice de espuma e densidade relativa, além da cor, odor e aspecto, antes e após os testes de estabilidade preliminar (estresse térmico e ciclo gela-degela). Após as análises, foi possível perceber que em relação às propriedades organolépticas, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as formulações recém-preparadas e após passarem pelos testes de estabilidade preliminar. As mudanças ocorreram nos parâmetros físico-químicos, observados principalmente em razão do aumento da temperatura. Foi possível notar também que a formulação que continha o antimicrobiano padrão sofreu influência da radiação, sendo mais visível no baixo índice de espuma formado após a análise, mas ainda assim, na média em relação às outras formulações. Dessa maneira, verifica-se que o extrato diclorometânico de guaraná e o óleo essencial de pau-rosa, por possuírem atividade antimicrobiana, podem ser interessantes no desenvolvimento de sabonetes líquidos antissépticos.

Palavras-chave: fitocosméticos, atividade antimicrobiana, parâmetros físico-químicos, estabilidade preliminar.

## ABSTRACT

The Amazon region is known for having countless assets when it comes to its flora. Among the numerous existing species of plants, many of these are considered advantageous raw materials to produce cosmetics, as these vegetables have in their composition actives with remarkable properties to produce the so-called phytocosmetics. Phytocosmetics are formulations that have natural actives in their constitution from extracts or essential oils that define the biological activity of the product. Rosewood essential oil (*Aniba rosaeodora*) has molecules in its composition with several effective activities for cosmetic formulations, highlighting its antimicrobial activity. Guarana (*Paullinia cupana*), on the other hand, stands out for having, in addition to antimicrobial activity, other various therapeutic properties, such as antioxidant activity. In this context, the objective of this study was to develop liquid soap formulations with antimicrobial activity from guarana extract and rosewood essential oil, and to evaluate the preliminary stability of the elaborated formulations. After obtaining the guarana extracts and essential oil, the antimicrobial activity was analyzed by the microplate dilution method. The guarana extract that proved to be the most active was the dichloromethane extract, thus, it was chosen to be used in the formulations of liquid soaps. The essential oil was also active, with the lowest Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values. The physicochemical properties analyzed in the formulations were: centrifugation, pH, conductivity, viscosity, foam index and relative density, in addition to color, odor and appearance, before and after the preliminary stability tests (thermal stress and freeze-thaw cycle). After the analyses, it was possible to see that, in relation to organoleptic properties, there was no significant difference ( $p < 0.05$ ) between the newly prepared formulations and after passing through the preliminary stability tests. The changes occurred in the physicochemical parameters, observed mainly due to the increase in temperature. It was also possible to note that the formulation that contained the standard antimicrobial was influenced by radiation, being more visible in the low foam index formed after the analysis, but still, on average compared to other formulations. Thus, it appears that the dichloromethane extract of guarana and the essential oil of rosewood, for having antimicrobial activity, can be interesting in the development of antiseptic liquid soaps.

**Keywords:** phytocosmetics, antimicrobial activity, physicochemical parameters, preliminary stability.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Extratos de guaraná utilizados neste estudo. ....	20
Figura 2 - Sistema Clevenger para extração de óleos essenciais.....	21
Figura 3 - Pau-rosa ( <i>Aniba rosaeodora</i> ).....	23
Figura 4 - Estruturas químicas do (-) linalol e (+) linalol.....	24
Figura 5 - Fruto do guaraná ( <i>Paullinia cupana</i> ).....	25
Figura 6 - Estrutura química da cafeína. ....	26
Figura 7 - Estrutura química de uma molécula de sabão.....	28
Figura 8 - Formulações de sabonete líquido preparadas no presente estudo.....	38
Figura 9 - Formulações de sabonete líquido 24 horas após a preparação. ....	39
Figura 10 - Formulações após os testes em centrífuga. ....	40
Figura 11 - Formulações de sabonete líquido após os testes de estresse térmico. ....	44
Figura 12 - Formulações de sabonete líquido em geladeira para teste de ciclo gelo-degela....	45
Figura 13 - Formulações após teste de ciclo gelo-degela.....	46
Figura 14 - Amostras de sabonete líquido submetidas ao teste de estresse térmico e ciclo gelo-degela, após centrifugação.....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies de plantas da Amazônia e seus compostos ativos.....	17
Tabela 2 - Óleos essenciais e espécies produtoras. ....	22
Tabela 3 - Matérias-primas utilizadas na formulação de sabonete líquido. ....	32
Tabela 4 - Coeficientes empregados no cálculo de determinação da viscosidade, de acordo com a velocidade e o rotor selecionados. ....	34
Tabela 5 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de guaraná ( <i>Paullinia cupana</i> ) e do óleo essencial de pau rosa ( <i>Aniba rosaeodora</i> ) frente a cinco microrganismos.....	37
Tabela 6 - Características organolépticas das formulações de sabonete líquido após 24h de preparação.....	39
Tabela 7 - Valores de pH das formulações de sabonete líquido após 24 horas de preparo.....	41
Tabela 8 - Valores de condutividade elétrica das formulações de sabonete líquido 24 horas após o preparo.....	41
Tabela 9 - Valores de viscosidade em formulações preparadas após 24 horas. ....	42
Tabela 10 - Índices de espuma em formulações preparadas após 24 horas de preparo. ....	43
Tabela 11 - Densidades relativas em formulações 24 horas após o preparo. ....	44
Tabela 12 - Características organolépticas das formulações de sabonete após os testes de estresse térmico.....	45
Tabela 13 - Características organolépticas das formulações de sabonete líquido após o ciclo gela-degela.....	46
Tabela 14 - Valores de pH das formulações de sabonete líquido.....	47
Tabela 15 - Condutividade elétrica das formulações de sabonete líquido. ....	48
Tabela 16 - Viscosidade das formulações de sabonete líquido. ....	49
Tabela 17 - Índice de espuma das formulações de sabonete líquido.....	49
Tabela 18 - Densidade relativa das formulações de sabonete líquido. ....	50
Tabela 19 - Atividade antimicrobiana das formulações de sabonete líquido.....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
DMSO	Dimetil-sufóxido
ISSO	International Standard Organization
ITTO	International Tropical Timber Organization
OEPR	Óleo Essencial do Pau-Rosa
pH	Potencial Hidrogeniônico
RPM	Rotações por Minuto
SUFRAMA	Superintendência da Zona Franca de Manaus
UEA	Universidade do Estado do Amazonas
UFC	Unidade de Formação de Colônias

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1 BIODIVERSIDADE DE PLANTAS NA AMAZÔNIA.....	17
2.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....	18
2.3 EXTRATOS VEGETAIS.....	19
2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	20
2.5 PAU-ROSA ( <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke).....	22
2.5.1 Linalol.....	24
2.6 GUARANÁ ( <i>Paullinia cupana</i> Kunth).....	25
2.7 FITOCOSMÉTICOS .....	26
2.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	27
2.9 SABONETE LÍQUIDO.....	28
2.10 ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS.....	30
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
3.1 MATERIAL VEGETAL .....	31
3.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE GUARANÁ .....	31
3.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	31
3.4 ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE SABONETE LÍQUIDO .....	32
3.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ORGANOLÉPTICOS DAS FORMULAÇÕES .....	33
3.5.1 Centrifugação.....	33
3.5.2 Análises de pH e Condutividade .....	33
3.5.3 Viscosidade.....	33
3.5.4 Índice de Espuma.....	34
3.5.5 Densidade Relativa .....	35
3.5.6 Cor, Odor e Aspecto das Formulações .....	35
3.6 ESTABILIDADE PRELIMINAR .....	36
3.6.1 Estresse Térmico.....	36
3.6.2 Ciclo Gela-Degela .....	36
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36

<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE GUARANÁ E ÓLEO ESSENCIAL DE PAU-ROSA .....	37
4.2 FORMULAÇÕES DE SABONETE LÍQUIDO .....	38
4.2.1 Análise Organoléptica das Formulações Recém Preparadas.....	38
4.2.2 Centrifugação.....	40
4.2.3 Análise de pH e Condutividade .....	40
4.2.4 Viscosidade.....	42
4.2.5 Índice de Espuma.....	42
4.2.6 Densidade Relativa .....	43
4.3 TESTES DE ESTABILIDADE PRELIMINAR .....	44
4.3.1 Estresse Térmico.....	44
4.3.2 Ciclo Gela-Degela .....	45
4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	47
4.4.1 Centrifugação.....	47
4.4.2 pH e Condutividade .....	47
4.4.3 Viscosidade.....	48
4.4.4 Índice de Espuma.....	49
4.4.5 Densidade Relativa .....	50
4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FORMULAÇÕES .....	50
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	52
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53

## 1 INTRODUÇÃO

A grande diversidade de matérias-primas oriundas da flora brasileira representa enormes vantagens para a produção de cosméticos, uma vez que nos últimos anos, nota-se um aumento no consumo de produtos que possuem em sua composição ativos naturais, tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento. Nesse contexto, a Amazônia possui um papel fundamental, pois é detentora de flora e fauna extremamente ricas, sendo encontradas inúmeras espécies vegetais exclusivamente na região Amazônica, com propriedades biológicas interessantes para o desenvolvimento de fitocosméticos. (LUPE, 2007; VEGGI, 2009; PIRES *et al.*, 2017)

Os fitocosméticos são cosméticos que possuem um ativo natural, proveniente de extratos ou óleos essenciais, cuja ação define a atividade biológica do produto (FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Já os extratos são preparados que possuem diversas consistências, sendo utilizados concentrados, que são obtidos a partir de matérias-primas vegetais secas (raízes, caules, folhas, frutos e sementes) e preparados por processos que necessitam da utilização de um solvente para sua obtenção. (REVISTA-FI, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2016)

Os óleos essenciais são constituintes voláteis que fazem parte de diferentes órgãos dos vegetais, e estão relacionados às diversas atividades necessárias para a sobrevivência da espécie, exercendo um papel fundamental na defesa contra microrganismos (LIMA *et al.*, 2006). Os vegetais possuem seu próprio sistema de defesa, que atua protegendo-os de outras plantas e predadores, sendo suas substâncias provenientes do metabolismo secundário. (VIZZOTTO *et al.*, 2010)

Os óleos essenciais, assim como os extratos vegetais, vêm sendo utilizados na composição de diferentes tipos de fitocosméticos, como cremes, xampus e sabonetes. Os sabonetes são considerados sabões especiais produzidos para a higiene corporal, podendo ser sólidos, líquidos ou pastosos (MÜNCHEN *et al.*, 2012). A utilização de sabonetes antissépticos tem sido cada vez maior, devido à sua capacidade de reduzir a população microbiana das mãos (SOARES, 2013).

A higienização das mãos com sabão é a forma mais simples de reduzir a ocorrência de doenças infecciosas e, para isso, são utilizados principalmente sabonetes que possuem em sua composição substâncias antibacterianas (RIBEIRO *et al.*, 2017). Recentemente, em função da pandemia de COVID-19, ficou ainda mais evidente a importância da higienização das mãos. (ROSA, *et al.*, 2020)

Ainda de acordo com Rosa, *et al.* (2020), o uso de diferentes tipos de sabões é eficiente na lavagem das mãos, porém, o uso do sabonete líquido é considerado mais vantajoso por possuir maior rendimento e maior potencial higiênico.

Para que o sabonete, ou outro cosmético chegue ao mercado consumidor, o estudo de sua estabilidade é de suma importância, para que indicações sobre o comportamento do produto sejam fornecidas, em um determinado intervalo de tempo, frente às diversas condições ambientais em que o mesmo possa ser submetido, desde sua produção, até o término de sua validade. Os tipos de alterações que influenciam na estabilidade de uma formulação podem ser externos ou extrínsecos, bem como inerentes à formulação ou intrínsecos. (ANVISA, 2004)

Sabendo que a Amazônia detém diversos recursos naturais e que a região possui matérias-primas importantes para as indústrias farmacêutica e cosmética, existe a possibilidade de desenvolvimento científico e econômico ligado ao desenvolvimento de bioprodutos, como os fitocosméticos (SILVA, 2016; PIRES *et al.*, 2017). No presente trabalho foram utilizadas duas espécies vegetais amazônicas para o desenvolvimento de um fitocosmético: o guaraná e o pau-rosa.

O guaraná (*Paullinia cupana*) é um fruto proveniente de uma trepadeira lenhosa originária da Amazônia Central, que pode atingir até 10 metros de altura, com cachos que produzem até 50 frutos, com cerca de três sementes cada. A principal característica química do guaraná é a presença de alcaloides tipo metilxantinas, como a cafeína, além de taninos e saponinas. Muitas pesquisas têm sido realizadas em relação às suas propriedades medicinais e atividades biológicas, como atividade antibacteriana e antioxidante. (MARTINS, 2014; FONSECA JUNIOR *et al.*, 2020)

A espécie *Aniba rosaeodora* (pau-rosa) está presente no Brasil e em diversos países como Venezuela, Peru, Colômbia e Equador. O óleo essencial do pau-rosa tem sido utilizado por muito tempo pela indústria de cosméticos e de perfumes, devido à presença do linalol como constituinte majoritário (CUSTÓDIO, 2013). O linalol possui diversas atividades biológicas importantes, destacando-se a atividade antimicrobiana. (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014)

Considerando as propriedades antimicrobianas já descritas para os metabólitos do guaraná e do pau-rosa, e a possibilidade de uso dessas espécies amazônicas na elaboração de fitocosméticos, o objetivo geral deste trabalho foi desenvolver sabonetes líquidos com atividade antimicrobiana a partir de extrato de guaraná e óleo essencial do pau-rosa. Os objetivos específicos foram:

- 1 - Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de guaraná e do óleo essencial do pau-rosa;
- 2 - Elaborar formulações de sabonetes líquidos utilizando o extrato de guaraná e o óleo essencial do pau-rosa;
- 3 - Analisar as propriedades físico-químicas, organolépticas e a atividade antimicrobiana das formulações elaboradas e;
- 4 - Investigar a estabilidade preliminar das formulações desenvolvidas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 BIODIVERSIDADE DE PLANTAS NA AMAZÔNIA

A Amazônia é considerada a maior reserva de biodiversidade de plantas do planeta, tendo sua área o equivalente a 5% da Terra. Os números equivalentes à biodiversidade encontrada na região Amazônica são bastante expressivos. Estima-se que a Amazônia abrigue um terço do estoque genético do planeta, possuindo mais de 60 mil espécies de plantas, sendo metade de plantas superiores, entre 3 e 4 mil de espécies arbóreas. (VIANA *et al.*, 2011)

As plantas têm sido utilizadas tradicionalmente por pessoas de todos os continentes no que se refere ao controle de doenças e pragas, muitas são conhecidas também por representarem fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos. Dessa forma, o fato que gera interesse por esses produtos encontrados na natureza é que apresentam grande diversidade em termos de estrutura química e propriedades biológicas e físico-químicas. (LUPE, 2007)

Com o avanço tecnológico, muitos estudos têm sido realizados com plantas e essas têm demonstrado propriedades hidratantes, anti-inflamatórias, antioxidantes, entre outras, fazendo com que a utilização da biodiversidade vegetal em cosméticos esteja em crescente desenvolvimento, frente aos produtos convencionais, ou seja, àqueles que não usam matéria-prima natural, sendo essa tendência observada em várias partes do mundo, como nos Estados Unidos e Japão. (PIRES *et al.*, 2017)

A Tabela 1 abaixo mostra alguns tipos de espécies amazônicas e seus compostos ativos, que possuem potencial para aplicações em diversa áreas, como em alimentos, produtos farmacêuticos e na indústria dos cosméticos.

Tabela 1 – Espécies de plantas da Amazônia e seus compostos ativos.

<b>Espécie</b>	<b>Compostos ativos</b>
Açaí ( <i>Euterpe oleracea</i> )	<i>Flavonoides e compostos fenólicos</i>
Cupuaçu ( <i>Theobroma grandiflorum</i> )	<i>Flavonoides</i>
Pupunha ( <i>Bactris gasipaes</i> )	<i>β-caroteno</i>
Guaraná ( <i>Paullinia cupana</i> )	<i>Atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica</i>
Cacau ( <i>Theobroma cacao</i> )	<i>Propriedades antioxidantes</i>
Castanha-do-pará ( <i>Bertholletia excelsa</i> )	<i>Vitamina E, propriedades antioxidantes, aminoácidos essenciais</i>
Tucumã ( <i>Astrocaryum aculeatum</i> )	<i>Flavonoides, β-caroteno</i>

Fonte: adaptada de ALMEIDA e SANTOS *et al.* (2020).

A flora amazônica é conhecida por apresentar matérias-primas interessantes para a produção de bioprodutos como os cosméticos, devido à sua grande diversidade de espécies vegetais disponível. De acordo com Araújo *et al.* (2007), as espécies nativas da região Amazônica, como o guaraná e o pau-rosa possuem características e propriedades importantes para a produção de cosméticos. O primeiro por possuir alto teor de alcaloides, nesse caso a cafeína que possui potencial antioxidante, e o segundo por ser rico em linalol, precursor do acetato de linalia, um fixador de fragrâncias, e que apresenta ação contra bactérias e fungos, possuindo dessa maneira potencial para produção de produtos de higiene pessoal, como desodorantes e sabonetes líquidos.

As espécies vegetais apresentam substâncias bioativas em sua composição, responsáveis por conferir propriedades importantes às plantas, como por exemplo, ação antioxidante e antimicrobiana. Essas substâncias bioativas, por sua vez, são provenientes do metabolismo secundário dessas espécies. (CUNHA *et al.*, 2016)

## 2.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas possuem a capacidade de produzir componentes orgânicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários possuem função estrutural de armazenamento de energia, já os metabólitos secundários não possuem relação com crescimento e desenvolvimento da planta. Metabólitos secundários estão envolvidos na defesa das plantas através de citotoxicidade para patógenos microbianos e podem ser utilizados para obtenção de medicamentos antimicrobianos, caso não possuam elevado nível de toxicidade. (VIZZOTTO *et al.*, 2010)

Muitos metabólitos secundários estão diretamente envolvidos nos mecanismos que permitem uma adequação do vegetal com o seu meio, dessa forma, essas substâncias despertam grande interesse não apenas pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em respostas aos estímulos do meio ambiente, mas também por suas propriedades farmacológicas. Porém, além de sua importância na área farmacêutica, muitos são de grande interesse nas áreas alimentar, agrônômica e de perfumaria. (PEREIRA; CARDOSO, 2012)

Pelo fato de muitos metabólitos secundários estarem diretamente envolvidos em mecanismos que permitem a adequação das plantas ao meio para a sobrevivência da espécie, plantas infectadas por microrganismos podem produzir um espectro diferente dessas substâncias para sua defesa. Os principais metabólitos secundários que possuem atividade antibacteriana são: lectinas, polipeptídios, ácidos fenólicos, terpenos e taninos. (PINTO, 2012)

Os taninos são substâncias que possuem boa solubilidade em água e a capacidade que os taninos têm em formar complexos com proteínas pode estar relacionado com sua atividade antimicrobiana. Além disso, os taninos atuam na inibição de enzimas microbianas extracelulares, privando os microrganismos de substratos necessários para o seu crescimento. (PINTO, 2012)

Visto que a Amazônia detém muitas espécies vegetais que podem ser importantes na elaboração de produtos para a indústria de cosméticos, devido aos ativos produzidos por seu metabolismo secundário, que podem estar presentes em sua composição e assim enriquecer os mesmos, extratos de alguns vegetais que contêm tais propriedades podem ser utilizados na formulação cosmética.

### 2.3 EXTRATOS VEGETAIS

Extração é definida como uma operação físico-química de transferência de massa, em que os sólidos solúveis e voláteis podem ser extraídos devido ao contato entre o solvente e os sólidos. (VEGGI, 2009)

Os extratos são preparações concentradas e podem possuir diversas formas de consistência, obtidas através de matérias-primas vegetais que necessitam passar ou não por tratamento prévio, como inativação enzimática ou moagem e preparadas com o uso de um solvente específico (REVISTA-FI, 2010). A escolha do solvente que será utilizado no processo depende de um prévio estudo químico relacionado ao pH e à polaridade dos metabólitos secundários presentes no vegetal. Os solventes mais usados são água, etanol, metanol, clorofórmio, éter e acetona. (RODRIGUES *et al.*, 2016)

Os extratos vegetais estão sendo cada vez mais utilizados na formulação de cosméticos, devido à presença de vitaminas, sais minerais e outras propriedades que conferem grandes vantagens e enriquecem o produto. (LEONARDI *et al.*, 2002)

O contato do vegetal com o solvente escolhido para a realização da extração pode ocorrer por diferentes métodos, porém, os principais são a maceração, percolação e turbólise, sendo o primeiro uma técnica que envolve o contato direto do vegetal com o solvente, podendo ser um contato estático ou dinâmico. Ao final do tempo estipulado para a extração, obtém-se o chamado extrato líquido, que caso não seja o objetivo final da extração, é filtrado e submetido à evaporação para a eliminação do solvente, originando o chamado extrato seco, ou seja, os princípios ativos retirados do vegetal e deixados em forma de pó. (MARQUES, 2005)

As preparações dos extratos vegetais implicam em basicamente duas etapas: a primeira seria a escolha da parte da planta que será utilizada, como por exemplo, raiz, caule, folha ou galhos, juntamente com a utilização do solvente e a segunda parte seria a concentração ideal, por eliminação mais ou menos completa do solvente escolhido. (REVISTA-FI, 2010)

A Figura 1 mostra os extratos de guaraná utilizados no presente estudo, onde o hexano, diclorometano e álcool etílico foram utilizados como solventes.

Figura 1 - Extratos de guaraná utilizados neste estudo.



Fonte: própria (2019).

Além dos extratos vegetais, os óleos essenciais encontrados em algumas partes das plantas também possuem substâncias conhecidas por apresentarem em sua composição propriedades que podem contribuir para a produção de cosméticos.

## 2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são definidos pela *International Standard Organization* (ISO) como produtos obtidos pela destilação por arraste com vapor de água e pela ação de espremer o pericarpo dos frutos. São misturas complexas que contêm substâncias voláteis, sendo na maioria das vezes, odoríferas e líquidas. São substâncias consideradas óleos por serem geralmente de aparência oleosa à temperatura ambiente, alta volatilidade recebendo dessa forma também o nome de óleos voláteis, e são chamados de essências por possuírem aromas agradáveis e intensos na maioria dos seus representantes. (VITTI e BRITO, 2003)

Os óleos essenciais são metabólitos secundários que podem ser extraídos de diversas partes das plantas, e são importantes para garantir vantagens de adaptação aos vegetais no meio em que estão inseridos. A composição química dos óleos essenciais tende a variar de espécie para espécie e também de acordo com a parte em que é retirado da planta. Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de demonstrar a possibilidade de utilização dos óleos essenciais no combate às bactérias patogênicas e aos radicais livres, tornando o uso desses metabólitos uma alternativa viável econômica e ecologicamente. (MIRANDA *et al.*, 2016)

O método de extração de óleo essencial que consiste no arraste dos compostos por vapor de água utilizando-se o sistema Clevenger é mostrado na Figura 2. É considerado o método mais viável em questão econômica e utilizado para a extração dos óleos essenciais. Nesse processo, o calor da água faz com que as paredes celulares se abram e o óleo presente entre as células evapore juntamente com a água. Os constituintes dos óleos, ao final, permanecem sobre a camada de água e podem ser removidos e separados, visto que eles são mais leves. (GUERRA, 2014).

Figura 2 - Sistema Clevenger para extração de óleos essenciais.



Fonte: adaptada de GUERRA (2014).

Segundo Vitti e Brito (2003), os óleos essenciais possuem diversas características, destacando-se as seguintes:

- sabor: geralmente pode ser ácido e picante;

- cor: na maioria das vezes são incolores ou levemente amarelados, quando recentemente extraídos;
- estabilidade: são instáveis principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais;
- propriedades ópticas: os óleos essenciais possuem índice de refração e são opticamente ativos, propriedades que são bastante utilizadas para sua identificação e também para o controle de qualidade.

As principais matérias-primas para a obtenção dos óleos essenciais são as flores, folhas, cascas e frutos dos vegetais, algumas das espécies são mostradas na Tabela 2. (BIZZO *et al.*, 2009)

Tabela 2 - Óleos essenciais e espécies produtoras.

<b>ÓLEO ESSENCIAL</b>	<b>ESPÉCIE</b>
Laranja (Brasil)	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck
Menta japonesa (Índia)	<i>Mentha arvensis</i> L. f. <i>piperascens</i> Malinv. ex Holmes
Limão	<i>Citrus limon</i> (L.) N.L. Burm.
Cravo-da-índia	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. e L. M. Perry
Cedro (China)	<i>Chamaecyparis funebris</i> (Endl.) Franco
Eucalipto (tipo citronela)	<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.
Cedro (EUA)	<i>Juniperus virginiana</i> L. e <i>J. ashei</i> Buchholz

Fonte: adaptada de BIZZO *et al.* (2009).

Os óleos essenciais são principalmente empregados como fixadores de fragrâncias e como aromas em composições para a área farmacêutica ou mesmo em sua forma pura (bruta), fornecendo substâncias biologicamente ativas como o limoneno, eugenol e mentol (BIZZO *et al.*, 2009). Dentre os óleos essenciais empregados em perfumaria, destaca-se o óleo essencial do pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), uma planta membro da família Lauraceae, muito explorada entre as décadas de 1960 e 1980 (CONTIM; CONTIM, 2018).

## 2.5 PAU-ROSA (*Aniba rosaeodora* Ducke)

O gênero *Aniba* é composto por cerca de 48 espécies descritas, dentre essas espécies, existem algumas que possuem grande valor econômico devido a presença de óleo essencial em sua composição, como o óleo essencial do pau-rosa (*Aniba rosaeodora*, Figura 3), muito

utilizado nas indústrias de perfumaria sendo considerado um ótimo fixador de fragrâncias. A espécie *A. rosaeodora* está presente em diversos países como, Brasil, Guiana, Venezuela, Peru, Colômbia e Equador. No Brasil, a espécie pode ser encontrada nos estados do Amapá, Pará e Amazonas. (CUSTÓDIO, 2013)

O pau-rosa é a planta aromática mais conhecida e de grande importância para o comércio dos óleos essenciais. O óleo essencial é obtido na maioria das vezes pela destilação de seus galhos, folhas, madeiras e raízes, contendo este, uma alta porcentagem de linalol. (REIS *et al.*, 2014)

Figura 3 - Pau-rosa (*Aniba rosaeodora*).



Fonte: FIORAVANTI (2012).

A árvore do pau-rosa é conhecida por ser de grande porte podendo atingir até 30 m de altura por 2 m de diâmetro, possuindo um tronco retilíneo ramificado no ápice, com casca pardo-amarelo ou avermelhada, a copa estreita ou em formato ovalada ocupa o dossel intermediário ou superior da floresta. As folhas são coriáceas, simples, alternas, obovada-elípticas com 6 a 25 cm de comprimento e 2,5 a 10 cm de largura. O fruto é uma baga de coloração violáceo-escura, medindo de 2 a 3 cm de comprimento e cerca de 1,5 a 2 cm de diâmetro. (SAMPAIO, 2003; REIS *et al.*, 2014)

São atribuídos vários usos para o óleo essencial do pau-rosa, como ação analgésica, antisséptica, bactericida e antimicrobiana. Estudos realizados para verificar a atividade

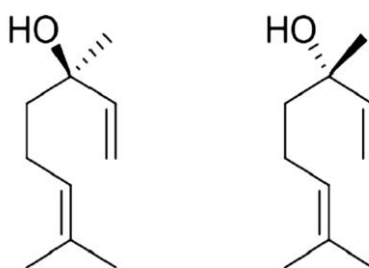
antimicrobiana no óleo essencial do pau-rosa (OEPR), concluíram que ele pode agir e ser eficaz contra as seguintes espécies microbianas: *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo typhimurium, *Staphylococcus aureus*, entre outras. (SANTOS, 2017)

O OEPR é constituído em grande parte por um composto denominado linalol, um monoterpeno muito utilizado como componente de perfumes finos na indústria de cosméticos. Também tem sido muito utilizado na indústria farmacêutica, em virtude de estudos que confirmaram as atividades terapêuticas relacionadas ao linalol, como anestésico local e capacidade antimicrobiana. (CONTIM; CONTIM, 2018)

### 2.5.1 Linalol

O linalol, 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol, cujas estruturas enantioméricas se encontram na Figura 4. Trata-se de um monoterpeno alcoólico terciário encontrado em diversas espécies de plantas. É um líquido que possui coloração que varia de incolor a amarelo pálido, sendo bastante comercializado para ser ingrediente de vários produtos cosméticos, como sabonetes, shampoos e perfumes. (SILVA, 2015)

Figura 4 - Estruturas químicas do (-) linalol e (+) linalol.



Fonte: CAMARGO; VASCONCELOS (2014).

Os monoterpenos (C<sub>10</sub>) são conhecidos por serem constituintes básicos voláteis dos óleos essenciais aromáticos, fazendo parte de cerca de 90% de sua composição. O linalol é bastante conhecido por possuir muitas atividades biológicas importantes, tais como: atividade antimicrobiana, ações sedativas, anticonvulsivantes, hipotérmicas, vasorrelaxantes, entre outras. (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014)

O linalol é um componente que está presente em muitos óleos essenciais da flora brasileira, como o pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), a tangerina (*Citrus reticulata*), o jasmim

(*Jasminum auriculatum*) e a lavanda (*Lavandula dentata*). Considerado um importante composto para a indústria cosmética e farmacêutica, o linalol é atualmente bastante usado como fixador de fragrâncias. Aproximadamente 70% dos compostos que são produzidos pela indústria de perfumes contêm linalol em sua fórmula, sendo que os perfumes e produtos considerados mais refinados, utilizam apenas o linalol natural em suas formulações. (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014)

Além do pau-rosa, outra espécie amazônica de interesse para a indústria de cosméticos é o guaraná, devido às suas propriedades medicinais e, a partir disso, dentre as atividades que foram verificadas, destacam-se sua atividade antioxidante e antibacteriana. (MARTINS, 2014; FONSECA JUNOR *et al.*, 2020)

## 2.6 GUARANÁ (*Paullinia cupana* Kunth)

O guaraná (Figura 5) é umas das espécies mais conhecidas na biodiversidade da Amazônia, sendo de alto valor econômico devido à grande comercialização do seu fruto e seus derivados, em virtude de suas propriedades medicinais, estimulantes e energéticas. (KUSKOSKI *et al.*, 2005)

Figura 5 - Fruto do guaraná (*Paullinia cupana*).



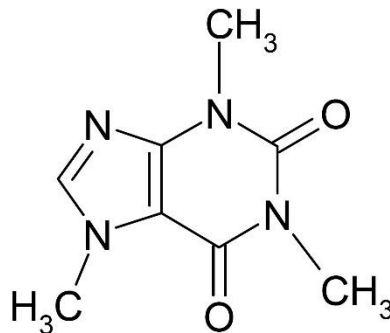
Fonte: MARTINS (2014).

O guaranazeiro é um arbusto trepador, que possui folhas alternadas, imparipenadas, contendo 5 folíolos oval-lanceolados, sem gavinhas nos seus ramos, podendo atingir até 12 metros de altura, prendendo-se às árvores vizinhas e vive em média 35 anos. Atinge seu apogeu

aos 5 anos e a partir dos 3 anos, já começa a produzir frutos. É uma planta adaptada à baixa altitude, clima quente e úmido (85% de umidade relativa), 26°C de temperatura média anual e precipitações anuais entre 1500 e 2000 mm. (MIRANDA; METZNER, 2010)

A semente do guaraná é rica em purina, amido e outros tipos de açúcares, já o tegumento é conhecido por ser rico em fibras. Toda semente é constituída por taninos e uma pequena quantidade de óleo essencial (PINTO, 2012). A semente do fruto pode apresentar até 6% de cafeína (4 a 8% na massa seca), em comparação ao café que pode atingir de 1 a 2,25% de cafeína em sua constituição. A presença de cafeína (Figura 6) no guaraná em pó varia de acordo com a procedência da matéria-prima, método de cultivo, presença de contaminantes químicos e métodos de secagem. (MIRANDA; METZNER, 2010)

Figura 6 - Estrutura química da cafeína.



Fonte: HILTON (2018).

Verifica-se a presença de compostos fenólicos nas sementes do guaraná, principalmente os taninos e catequinas. Estes são considerados ingredientes funcionais importantes, pois podem atuar com a atividade antioxidante, protegendo dessa maneira, o efeito dos radicais livres no organismo, auxiliando na prevenção de doenças e no envelhecimento precoce. (REVISTA-FI, 2009) Assim, a presença dessas substâncias nos vegetais pode originar os chamados fitocosméticos.

## 2.7 FITOCOSMÉTICOS

A fitocosmética é considerada o ramo da cosmetologia dedicada ao estudo e aplicação dos princípios ativos dos vegetais. Os fitocosméticos podem ser definidos como cosméticos que se diferenciam por possuírem ativos naturais, de origem vegetal em suas composições, podendo ser um extrato vegetal ou um óleo essencial, que irá definir a atividade biológica desse produto.

Dessa maneira, os fitocosméticos são compostos que são destinados para serem utilizados em diversas partes do corpo humano, em especial a epiderme, no sistema capilar, nas unhas, lábios, órgãos genitais externos, possuindo a finalidade principal de limpar, perfumar, proteger e manter o bom estado ou corrigir os odores corporais. (RUIVO, 2012; CRESPO, 2012; MAGALHÃES *et al.*, 2015)

De acordo com Revilla (2001) em seus estudos, cerca de 70 espécies amazônicas podem ser utilizadas para fins cosméticos. Na Amazônia existem diversas matérias-primas nativas que indicam a possibilidade de desenvolvimento de bioprodutos, em especial no setor de cosméticos. (MIGUEL, 2009)

Diversas atividades biológicas desejadas para um fitocosmético são provenientes do metabolismo secundário de plantas, como por exemplo a atividade antimicrobiana, uma propriedade bastante estudada por pesquisadores, devido ao fato de que nas últimas décadas a resistência bacteriana vem sendo um problema enfrentado pela Saúde Pública. No Brasil existe uma grande busca por novos agentes antimicrobianos de origem vegetal, visto que o país possui a maior biodiversidade de flora do Planeta. (CRESPO, 2012)

## 2.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Há séculos, as propriedades antimicrobianas de extratos vegetais e óleos essenciais provenientes dos metabólitos secundários das plantas são reconhecidas empiricamente e apenas há alguns anos, comprovadas cientificamente. Muitos estudos sobre as atividades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais têm sido realizados em diversos países como, Brasil, Cuba, Índia e México, países esses que possuem flora diversificada e uma rica tradição no uso de plantas medicinais para fim antibacteriano e antifúngico. (DUARTE, 2006)

Segundo Lima *et al.* (2006), tem sido estabelecido que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem em sua composição propriedades antifúngicas e cerca de 35% possuem atividade antimicrobiana.

A atividade antimicrobiana em óleos essenciais pode ser atribuída à sua capacidade de penetrar através das membranas das bactérias até o interior da célula, exibir atividade inibitória sobre as propriedades funcionais das mesmas e suas propriedades lipofílicas. Com relação à resposta antimicrobiana para bactérias patogênicas de origem alimentar, esta pode ser atribuída à natureza fenólica de alguns óleos essenciais. Os compostos fenólicos possuem a capacidade de alterar a permeabilidade da célula microbiana, ocasionando morte celular devido à danificação das membranas citoplasmáticas. (HEBERLE *et al.*, 2016)

A formulação de produtos relacionados à higiene que possuem potencial antimicrobiano é de fundamental importância para a prevenção de muitas doenças, bem como a realização de ações preventivas simples, como lavar as mãos e fazer a antissepsia correta das mesmas com sabonetes líquidos. (MAGALHÃES *et al.*, 2015)

## 2.9 SABONETE LÍQUIDO

De acordo com a literatura, o sabão foi inventado pelos fenícios por volta de 2500 a.C. Nessa época, diz-se que para a fabricação de sabões eram utilizados água fervente juntamente com banha de cabra e cinzas de madeira, obtendo assim, um sabão pastoso. No século VII apareceu o sabão sólido quando os árabes descobriram o processo chamado saponificação, misturando gordura animal, óleos naturais e soda cáustica, que após o processo de fervura endurece e forma o sabão em pedra. (ESPOSITO; MILARÉ, 2011)

A comercialização de sabões deu-se no século IX na França, sendo o país em que ocorreu pela primeira vez a industrialização dos mesmos. Devido ao grande uso no cotidiano da população, os sabões, sabonetes e detergentes possuem um importante valor comercial, principalmente em virtude do poder que as moléculas dessas substâncias possuem em dissolver gorduras e óleos (substâncias insolúveis em água) e que aderem com facilidade em superfícies e ao corpo humano. (MÜNCHEN *et al.*, 2012)

Quimicamente, os sabões apresentam cadeia carbônica com doze a dezoito átomos, possuindo em sua extremidade uma característica polar, conforme a Figura 7. (MÜNCHEN *et al.*, 2012)

Figura 7 - Estrutura química de uma molécula de sabão.



Fonte: Vilalba (2018).

O sabonete é considerado uma evolução do sabão, sendo utilizados produtos mais nobres na sua fabricação como a glicerina, extrato glicólico, aromatizantes, corantes, entre outros, porém, ainda usando a mesma reação química empregada na fabricação dos sabões. (ESPOSITO; MILARÉ, 2011)

Os sabonetes são tipos especiais de sabões utilizados para higiene corporal e podem ser encontrados em formas sólidas, líquidas ou pastosas, sendo adicionados a sua formulação corantes, fragrâncias e conservantes. Os sabonetes líquidos estão sendo cada vez mais utilizados no dia a dia e vêm sendo largamente desenvolvidos, devido principalmente a sua praticidade. A produção de sabonetes líquidos pode ser subdividida nos chamados sabonetes sintéticos, que são produzidos a partir de derivados do petróleo ou de plantas, e os naturais que são produzidos por reação direta entre óleo e uma base. (MÜNCHEN *et al.*, 2012)

Normalmente, a pele do ser humano é colonizada por bactérias e fungos e cada área diferente do corpo possui concentrações diferenciadas de bactérias por centímetro quadrado. As espécies, que podem ser encontradas nas mãos, são divididas em dois grupos, a microbiota transitória e a residente. A microbiota transitória adere de uma maneira fraca à pele e encontra-se mais superficialmente, sendo representada por contaminantes ambientais recentes, que podem sobreviver por curtos períodos de tempo na pele, sendo considerados não colonizantes. Destacam-se entre os microrganismos transitórios: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella sp.* Para que ocorra a remoção dessas espécies, é necessário a simples higienização das mãos com água e sabão, por meio de fricção mecânica. (HIGIOKOTA e BARZOTTO, 2013)

Já a microbiota residente é aquela que está aderida às camadas mais profundas da pele. Dentre as bactérias que fazem parte dessa microbiota podem ser destacadas: *Staphylococcus coagulase negativa*, *Corynebacterium sp.*, *Propionibacterium acnes* e *Acinetobacter sp.* Estas espécies não podem ser removidas totalmente por lavagens simples, necessitando assim do uso de soluções com propriedades antimicrobianas. (HIGIOKOTA e BARZOTTO, 2013)

O uso de sabonetes antissépticos tem crescido cada vez mais, devido à sua capacidade de reduzir a população microbiana das mãos. De maneira geral, os antissépticos são substâncias bactericidas, porém, ocasionalmente são bacteriostáticos. Os antissépticos devem atender alguns requisitos para garantir sua qualidade, tais como: ter amplo espectro na ação antimicrobiana, ação rápida, não causar hipersensibilidade, ressecamento, irritação, manchas, corrosão, possuir odor agradável ou ausente, ter boa solubilidade e estabilidade. (SOARES, 2013)

Muitas pesquisas têm sido feitas com o intuito de investigar propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais de plantas, visando o desenvolvimento de formulações de origem natural que sejam ativas contra microrganismos patógenos, que possam causar algum tipo de dano aos seres humanos. (RIBEIRO *et al.*, 2017)

## 2.10 ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

A estabilidade de formulações cosméticas é definida como o tempo em que são mantidas as propriedades que o produto possuía no momento de sua elaboração, em todo o seu período de estocagem, ou em que é utilizado. A estabilidade das formulações cosméticas depende de fatores que são relacionados ao próprio produto, propriedades físico-químicas dos princípios ativos, o pH, as impurezas presentes, o tipo e propriedades dos materiais de embalagem e do processo que foi empregado na sua obtenção. (HIGIOKOTA e BARZOTTO, 2013)

As alterações que influenciam a estabilidade das formulações podem ser classificadas como intrínsecas (determinados por fatores inerentes à formulação) e extrínsecas (ocasionadas por fatores externos). Podem ser classificados como fatores intrínsecos: incompatibilidade física (precipitação, separação de fases e formação de gretas), incompatibilidade química (pH, reações de óxido-redução, reações de hidrólise, interações entre os ingredientes que são utilizados nas formulações) e interação entre os ingredientes da formulação e o material no qual está acondicionada. Já os fatores extrínsecos podem ser classificados como: o tempo (o envelhecimento do produto pode alterar suas características originais), a temperatura, luz e oxigênio, umidade, material e acondicionamento, microrganismos e vibração. (ANVISA, 2004)

Segundo a Anvisa (2004), fazer o estudo da estabilidade de formulações cosméticas fornece informações que contribuem para:

- orientar no desenvolvimento da formulação e mostrar qual o melhor tipo de material para o acondicionamento adequado do produto;
- fornecer os subsídios necessários para o melhoramento das formulações;
- estimar o prazo de validade e fornecer dados para confirmar essa informação;
- auxiliar no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica, produzindo informações acerca da confiabilidade e segurança dos produtos.

Os principais parâmetros físico-químicos que são avaliados nas formulações cosméticas pra avaliar a estabilidade são: teste de centrifuga, viscosidade, potencial hidrogeniônico (pH), densidade, condutividade e resistividade, sólidos totais, índice de espuma e espalhabilidade. (SILVA, 2016)

Os dados obtidos em um estudo de estabilidade podem ser qualitativos ou quantitativos, devendo ser levadas em consideração as informações previamente obtidas e o histórico de outros produtos que podem auxiliar na interpretação. Diversas ferramentas estatísticas podem ser utilizadas, devendo-se escolher o que está de acordo com o critério utilizado na análise e na interpretação de dados (ANVISA, 2004).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal de estudo foi obtido no município de Maués, interior do estado do Amazonas. O óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*) foi gentilmente cedido pela Fazenda Magaldi e as sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) foram fornecidas pela empresa D'Amazonia Origens. As sementes de guaraná foram secas na sombra à temperatura ambiente e trituradas em um moinho elétrico de facas com tela de 3,0 mm para se obter os extratos de guaraná.

#### 3.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE GUARANÁ

As sementes de guaraná secas e trituradas foram maceradas a frio em *n*-hexano à temperatura ambiente por 3 ciclos de 48 horas, seguido de 20 min no ultrassom, com filtração e renovação do solvente a cada ciclo (CURSINO, 2011; SILVA, 2012). O mesmo procedimento foi realizado com outros dois solventes por esgotamento: diclorometano e etanol. Assim, após evaporação do solvente em rotaevaporador, foram obtidos três extratos vegetais: hexânico, diclorometânico e etanólico.

#### 3.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para determinar a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais, óleos essenciais e das formulações de sabonete líquido, foi usada a metodologia da NCCLS (2003). Os microrganismos patogênicos utilizados na avaliação da atividade antimicrobiana foram adquiridos comercialmente (Cefar Diagnóstica). Foram utilizadas cepas de *Candida albicans* ATCC 12.031, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16.404, *Escherichia coli* ATCC 8.739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9.027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6.538.

Os extratos de guaraná foram ressuspensos em dimetil-sulfóxido (DMSO 1%). O óleo essencial de pau-rosa e as formulações cosméticas foram diluídas em Tween 80 (1%). Posteriormente, as amostras foram testadas frente aos microrganismos patogênicos.

As bactérias foram mantidas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , a levedura em caldo Sabouraud Dextrose (DS) e o fungo em caldo Batata Dextrose (BS) a  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . O inóculo foi obtido no padrão de turbidez 0,5 na escala de MacFarland, que equivale a

concentração final de 2 a 5 x 10<sup>6</sup> UFC/mL (CLSI, 2009). Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados pelo método de diluição em microplaca de 96 poços. A solução teste dos extratos foi preparada na concentração de 40 mg/mL em dimetilsulfóxido (DMSO) a 1%, enquanto a solução teste do óleo e das formulações foi elaborada na mesma concentração em Tween 80 a 1%, sendo estes utilizados como controle negativo e de esterilidade. Em seguida, foram realizadas diluições das amostras para a obtenção da concentração inibitória mínima (CIM). O volume de 100 µL, tanto da solução teste quanto de inóculo, foi utilizado no ensaio em triplicata. Como controle positivo foi utilizado levofloxacino (20 mg/mL). Posteriormente, as microplacas foram incubadas a 37°C por 24 h (bactérias), 48 h (levedura) e 28°C por 72 h (fungo). Como revelador, foi utilizado 30 µL do indicador resazurina para bactérias e TTC (cloreto de 2,3,5- trifeniltetrazólio) para a levedura e para o fungo.

### 3.4 ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE SABONETE LÍQUIDO

A elaboração do sabonete líquido foi realizada conforme a metodologia descrita por Silva (2016), com modificações. A Tabela 3 mostra as matérias-primas e as concentrações utilizadas para a elaboração do fitocosmético.

Tabela 3 - Matérias-primas utilizadas na formulação de sabonete líquido.

MATÉRIA-PRIMA	CONCENTRAÇÃO (%)
Lauril éter sulfato de sódio	24
Perolizante (surfax)	3
Cocoamidapropilbetaína (anfótero)	3
Dietanolamida de ácido graxo de coco (amida 90)	3
Propilenoglicol	3
Metilparabeno	0,15
Mentol cristal	0,3
Cloreto de sódio (solução a 10%)	10
Água (q.s.p)	100
EDTA dissódico	0,1
Extrato de guaraná a 0,1% (formulações 3 e 5)	10
Óleo essencial de pau rosa a 0,1% (formulações 2 e 5)	10
Levofloxacino a 0,1% (formulação 4)	10

Fonte: adaptada de SILVA *et al.* (2016).

A partir dessas matérias-primas, foram elaboradas cinco formulações distintas, em duplicata: (1) branco ou controle negativo (sem adição de ativo antimicrobiano); (2) com óleo essencial de pau-rosa a 0,1%; (3) com extrato vegetal de guaraná a 0,1%; (4) contendo levofloxacino a 0,1%; e (5) com extrato vegetal de guaraná e óleo essencial de pau-rosa, ambos a 0,05%. As formulações foram preparadas a partir da mistura dos componentes na temperatura de 80°C, sendo os ativos adicionados após o arrefecimento natural das mesmas.

### 3.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ORGANOLÉPTICOS DAS FORMULAÇÕES

Os parâmetros físico-químicos e organolépticos foram analisados 24 h após o preparo do sabonete líquido e após os testes de estabilidade preliminar. Os parâmetros físico-químicos analisados nas formulações elaboradas foram: centrifugação, pH, condutividade, viscosidade, índice de espuma e densidade específica. Já os organolépticos avaliados foram: cor, odor e aspecto.

#### 3.5.1 Centrifugação

Os testes de centrifugação foram realizados acondicionando-se 10 mL de amostra em tubos centrífugos que foram submetidos às rotações de 1.000, 2.500 e 3.500 rpm, mantidas por 15 min em cada velocidade. Após a centrifugação, foi avaliado visualmente a ocorrência de algum tipo de alteração. (SILVA, 2016)

#### 3.5.2 Análises de pH e Condutividade

Os valores de pH e condutividade foram determinados através da inserção direta de um eletrodo na diluição aquosa 1:10 (p/p) das amostras homogeneizadas, à temperatura de 25°C, sendo cada análise realizada em triplicata. (DAVIS, 1977)

#### 3.5.3 Viscosidade

A viscosidade das amostras foi analisada utilizando um viscosímetro rotativo analógico. A viscosidade foi determinada através da força de fricção gerada por um rotor imerso na amostra girando em velocidade constante. Aproximando-se uma faixa de viscosidade para o fluido, foram selecionados o rotor e a velocidade utilizados no teste (Tabela 4).

Tabela 4 - Coeficientes empregados no cálculo de determinação da viscosidade, de acordo com a velocidade e o rotor selecionados.

	<b>RPM</b>	<b>ROTOR 1</b>	<b>ROTOR 2</b>	<b>ROTOR 3</b>	<b>ROTOR 4</b>
<b>L</b> <b>RPM</b>	0.3	200	1000	4000	20000
	0.6	100	500	2000	10000
	1.5	40	200	800	4000
	3.0	20	100	400	2000
<b>H</b> <b>RPM</b>	6	10	50	200	1000
	12	5	25	100	500
	30	2	10	40	200
	60	1	5	20	100

Fonte: Manual do viscosímetro rotativa analógico Q860A da marca Quimis.  
RPM = Rotações por minuto. L = baixa velocidade. H = alta velocidade.

A amostra foi colocada em um tubo de aço inoxidável no nível indicado pelo rotor. A velocidade foi selecionada e foi esperado um tempo de estabilização do indicador por aproximadamente 30 segundos para a leitura do valor indicado no disco. O teste foi feito em triplicata. Para calcular a viscosidade absoluta, o ângulo de deflexão indicado no disco graduado foi multiplicado pelo coeficiente k (Tabela 4) segundo a fórmula abaixo:

$$\eta = k \times \alpha$$

Onde:

$\eta$  = viscosidade absoluta (cP);

k = coeficiente encontrado na tabela 3;

$\alpha$  = ângulo de deflexão.

### 3.5.4 Índice de Espuma

O índice de espuma foi obtido através de uma proveta de 100 mL, onde foram colocados 10 mL de água destilada, 5 mL de solução de ácido acético a 4% e 5 mL de uma solução da amostra de sabonete líquido (1:10). Posteriormente foram adicionados 5 mL de solução de bicarbonato de sódio (5%), onde ocorreu a produção de bolhas pela liberação de dióxido de carbono. Assim, foram anotados o volume máximo de espuma formada e o volume total dos

reagentes, para a relação de porcentagem, de acordo com a metodologia de Bittencourt *et al.* (1999), adaptada por Silva (2016).

### 3.5.5 Densidade Relativa

Foi utilizado um balão volumétrico de 10 mL e uma balança analítica. Após a medida da massa, a densidade foi calculada de acordo com a relação massa/volume. (ANVISA, 2007)

Foi pesado o balão vazio ( $M_0$ ), o balão cheio com água destilada ( $M_1$ ) e o balão volumétrico cheio com a formulação ( $M_2$ ). Os ensaios foram realizados em triplicata. A densidade foi calculada através da fórmula abaixo:

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Onde:

$d$  = densidade relativa (g/mL);

$M_0$  = massa do balão volumétrico vazio (g);

$M_1$  = massa do balão volumétrico com água destilada (g);

$M_2$  = massa do balão volumétrico com amostra (g).

### 3.5.6 Cor, Odor e Aspecto das Formulações

A análise organoléptica foi realizada através da análise da cor, do aspecto e do odor das formulações de sabonete líquido. Utilizou-se o olfato para a avaliação do odor e a análise do aspecto e da coloração foi feita visualmente. Foi considerada qualquer tipo de alteração de coloração, odor ou separação de fases como sinal de instabilidade da formulação. As formulações submetidas à avaliação nos diferentes tempos foram comparadas à formulação controle. (LANGE *et al.*, 2009)

## 3.6 ESTABILIDADE PRELIMINAR

### 3.6.1 Estresse Térmico

As amostras foram acondicionadas em frascos de vidro transparente e aquecidas em estufa em temperatura de 40 a 80°C. As análises foram realizadas com aumento da temperatura de  $5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  em  $5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , mantendo uma temperatura a cada 30 minutos. Após os testes, foram realizadas novamente as análises dos parâmetros físico-químicos e organolépticos. (FERRARI, 1998)

### 3.6.2 Ciclo Gela-Degela

Para essa análise, as amostras foram expostas a variações de temperaturas por 12 dias. O 1º dia corresponde às 24 horas após o preparo das formulações. As amostras foram expostas em temperaturas de  $4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}/24\text{ h}$  em geladeira e  $45\text{ °C} \pm 2\text{ °C}/24\text{ h}$  em estufa, completando-se assim, um ciclo. As leituras dos parâmetros foram realizadas ao final do 6º ciclo. (MORAIS, 2006)

## 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os parâmetros físico-químicos (pH, condutividade, viscosidade, densidade relativa e índice de espuma) foram submetidos ao teste t de Student para comparação das médias pareadas após os testes de estabilidade (estresse térmico e ciclo gela-degela) e foi aplicado o teste de Tukey para discriminação das diferenças entre as médias das formulações. Os dados de t de Student foram tratados com o programa Biostat, versão 5.0, enquanto as análises estatísticas de Tukey foram avaliadas pelo software Past ( $p < 0,05$ ). (SOKAL e ROHLF, 1995)

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE GUARANÁ E DO ÓLEO ESSENCIAL DE PAU-ROSA

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos para a atividade antimicrobiana dos extratos de guaraná e do óleo essencial de pau-rosa.

Tabela 5 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de guaraná (*Paullinia cupana*) e do óleo essencial de pau rosa (*Aniba rosaeodora*) frente a diferentes microrganismos.

Amostra	Concentração Inibitória Mínima (CIM) – mg/mL				
	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
EEG	2,0	1,0	40,0	-	-
EDG	2,0	1,0	20,0	-	-
EHG	-	-	-	-	-
OEPR	1,0	1,0	1,25	-	0,62

EEG = Extrato Etanólico de guaraná; EDG = Extrato Diclorometânico de guaraná; EHG = Extrato Hexânico de guaraná; OEPR = Óleo essencial de pau-rosa.

O extrato etanólico de guaraná não apresentou atividade frente às bactérias *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Porém, apresentou atividade frente aos outros microrganismos testados, tendo como concentração inibitória mínima 2,0 mg/mL para *C. albicans*, 1,0 mg/mL para *A. brasiliensis* e 40,0 mg/mL para *E. coli*, indicando que o extrato etanólico de guaraná apresenta potencial frente a um tipo de fungo filamentoso, uma levedura e uma bactéria Gram-negativa. Pinto (2012) avaliou a atividade de diferentes extratos de guaraná e selecionou o extrato hidroetanólico como o mais promissor. Após purificação parcial do extrato, a autora verificou atividade contra *S. aureus* resistente à metilina, corroborando o potencial dos metabólitos do guaraná para uso em formulações com ação antimicrobiana.

O extrato diclorometânico de guaraná, da mesma forma que o extrato etanólico, não apresentou atividade frente a *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Entretanto, mostrou-se ativo contra as outras cepas avaliadas (*C. albicans*, *A. brasiliensis* e *E. coli*), sendo as concentrações inibitórias mínimas de 2,0 mg/mL, 1,0 mg/mL e 20,0 mg/mL, respectivamente.

Já o extrato hexânico de guaraná não apresentou atividade contra nenhum dos microrganismos utilizados no estudo. O hexano é um solvente apolar e as principais substâncias

extraídas são lipídeos, ceras e pigmentos (CHOZE, 2004). As substâncias extraídas não mostraram potencial antimicrobiano durante as análises. Dessa forma, o extrato hexânico não é indicado para ser utilizado nas formulações do sabonete líquido antisséptico.

A partir dos resultados da atividade antimicrobiana obtidos, o extrato diclorometânico foi o escolhido para ser incorporado nas formulações do sabonete líquido, uma vez que apresentou uma menor CIM frente a *E. coli*, mostrando assim maior eficácia. Além disso, esse extrato não apresentou toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, conforme estudo de Fonseca Junior *et al.* (2020), sendo indicado, portanto, para formulações cosméticas.

O óleo essencial de pau-rosa apresentou atividade frente a maioria das cepas utilizadas, com exceção de *P. aeruginosa*, porém, mostrou-se muito eficiente frente às outras cepas de microrganismos estudadas, apresentando CIM de 0,62 mg/mL para a bactéria *S. aureus*, uma bactéria comumente encontrada na pele e cavidade nasal das pessoas, responsável por muitas infecções hospitalares. (SALES e SILVA, 2012; MATIAS *et al.*, 2021)

Portanto, nota-se que o extrato diclorometânico da semente do guaraná e o óleo essencial de pau-rosa possuem grande potencial para serem incorporados em formulações de sabonete líquido antimicrobiano e foram selecionados para a elaboração do fitocosmético.

## 4.2 FORMULAÇÕES DE SABONETE LÍQUIDO

### 4.2.1 Análise Organoléptica das Formulações Recém Preparadas

Foram elaboradas para o presente trabalho cinco formulações de sabonete líquido (Figura 8). Após 24 horas da elaboração de todas as formulações, foi realizada a observação de cor, odor e aspecto de todas elas, através de análise macroscópica.

Figura 8 - Formulações de sabonete líquido preparadas no presente estudo.



Todas as formulações elaboradas apresentaram uma coloração branca perolada, com exceção das formulações que continham extrato de guaraná, as quais ficaram com uma tonalidade levemente bege perolada. A característica perolada de todas as formulações deve-se à presença da base perolizante *Surfax*, uma das matérias-primas utilizadas. A Tabela 6 apresenta os resultados das características organolépticas das formulações após 24h de elaboração.

Tabela 6 - Características organolépticas das formulações de sabonete líquido após 24h de preparação.

Formulação	Aspecto	Coloração	Odor
1 (Branco)	Homogêneo	Branco perolado	Característico do mentol
2 (Óleo essencial)	Homogêneo	Branco perolado	Característico do OEPR
3 (Extrato guaraná)	Homogêneo	Branco bege perolado	Característico do mentol
4 (Antimicrobiano)	Homogêneo	Branco perolado	Característico do mentol
5 (Óleo + Extrato)	Homogêneo	Branco bege perolado	Característico do OEPR

OEPR = Óleo essencial de pau-rosa.

Com relação ao odor, as amostras da formulação padrão (branco), as que continham o antimicrobiano (levofloxacino) e as que tinham somente o extrato de guaraná, apresentaram como característica o odor refrescante do componente mentol. Já as formulações que continham óleo essencial em sua constituição, apresentaram odor característico do próprio óleo. Os óleos essenciais são definidos como materiais voláteis que apresentam odor e fragrância característicos. (STEFFENS, 2010)

A Figura 9 apresenta as formulações de sabonete líquido após passadas as 24 h de sua elaboração. Não houve separação de fases em nenhuma das amostras, todas elas permaneceram com aspecto homogêneo.

Figura 9 - Formulações de sabonete líquido 24h após a preparação.



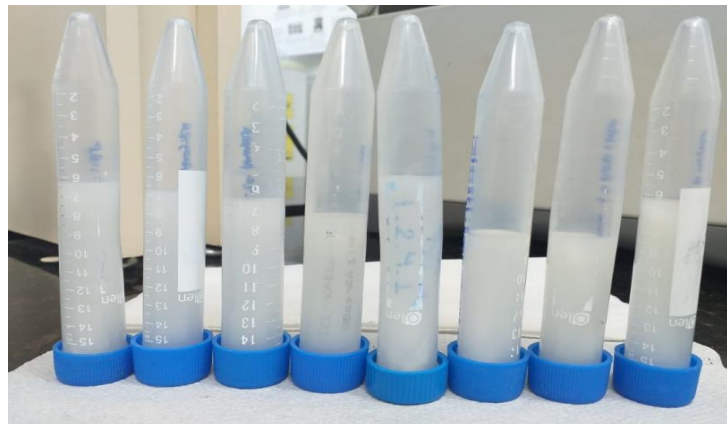
A separação de fases pode se dá por instabilidade nas formulações devido incompatibilidade dos reagentes, quantidade insuficiente dos mesmos, ou por evaporação de água das formulações. (ROSÁRIO *et al.*, 2021)

#### 4.2.2 Centrifugação

Após o teste de centrifugação, todas as formulações mantiveram o aspecto homogêneo, sem mudança de fase, conforme mostra a Figura 10.

Quando em meio ácido, o tensoativo anfótero adquire características catiônicas podendo reagir com o tensoativo aniônico (DALTIM, 2011). Nas formulações de sabonete líquido, o lauril éter sulfato de sódio foi o tensoativo aniônico utilizado, enquanto a substância cocoamidopropilbetaína corresponde ao tensoativo anfótero. Quando esta combinação acontece, resultados não satisfatórios podem vir a ocorrer em formulações cosméticas, como em sabonetes. Os resultados podem ser precipitação, turvação e perda do poder antisséptico. (HIGIOKOTA e BARZOTTO, 2013)

Figura 10 - Formulações após os testes em centrífuga.



#### 4.2.3 Análise de pH e Condutividade

O pH cutâneo, segundo a literatura, é levemente acidificado variando entre 4,5 e 5,8. Esta faixa de pH contribui para a proteção fungicida e bactericida na superfície na pele (LOPES *et al.*, 2018). Os valores de pH dos sabonetes líquidos formulados ficaram dentro da faixa neutra, porém, acima dos valores de pH considerados ideais para a pele, segundo a literatura.

A Tabela 7 apresenta os valores de pH obtidos nas formulações de sabonete líquido após 24 horas de preparo (valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão):

Tabela 7 - Valores de pH das formulações de sabonete líquido após 24 horas de preparo.

<b>Formulação</b>	<b>pH</b>
<b>1</b> (Branco)	7,37 <sup>a</sup> ± 0,01
<b>2</b> (Óleo essencial)	7,02 <sup>a</sup> ± 0,57
<b>3</b> (Extrato guaraná)	7,26 <sup>a</sup> ± 0,06
<b>4</b> (Antimicrobiano)	7,38 <sup>a</sup> ± 0,04
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	7,08 <sup>a</sup> ± 0,10

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Segundo Cunha *et al.* (2008), o estudo do pH em formulações é importante para verificar a estabilidade das amostras, bem como para mostrar que caso ocorra variações ao longo do tempo, essas variações podem ter sido ocasionadas por hidrólise de componentes da formulação, impurezas ou erro no processo de produção.

Da mesma forma que o pH, a determinação da condutividade elétrica em formulações é importante para verificação da estabilidade (MARINO, 2018). Segundo Machado (2008), a condutividade elétrica determina a capacidade que a formulação tem em conduzir corrente elétrica, variando conforme o tipo e número de íons contidos na amostra.

A Tabela 8 apresenta os valores de condutividade elétrica obtidos nas formulações de sabonete líquido 24 horas após o preparo (valores expressos como média ± desvio-padrão).

Nas formulações recém-preparadas, nota-se que não houve uma variação significativa relacionada à condutividade elétrica, porém, a formulação contendo o antimicrobiano padrão foi a amostra que apresentou maior condutividade dentre as amostras inicialmente preparadas, fato que pode estar ligado à composição do antimicrobiano levofloxacino.

Tabela 8 - Valores de condutividade elétrica das formulações de sabonete líquido 24 horas após o preparo.

<b>Formulação</b>	<b>Condutividade elétrica (<math>\mu\text{S/cm}</math>)</b>
<b>1</b> (Branco)	230,85 <sup>a</sup> ± 53,95
<b>2</b> (Óleo essencial)	252,95 <sup>a</sup> ± 80,68
<b>3</b> (Extrato guaraná)	256,50 <sup>a</sup> ± 26,16
<b>4</b> (Antimicrobiano)	264,00 <sup>a</sup> ± 19,80
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	224,50 <sup>a</sup> ± 3,54

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.4 Viscosidade

Viscosidade é a medida de fluidez de um líquido. Dessa maneira, quanto maior a viscosidade de um líquido, maior será sua resistência. A viscosidade interfere na espalhabilidade de um produto sobre uma superfície, o que demonstra uma característica importante no desenvolvimento de formulações, visto uma menor viscosidade confere ao produto uma maior espalhabilidade nas mãos e maior facilidade na remoção no momento do enxágue. (VITORINO, 2018) Segundo Lopes *et al.* (2018), a viscosidade é uma característica relevante na formulação de cosméticos e essencial para a aceitação do público consumidor.

A Tabela 9 apresenta os valores de viscosidade obtidos nas formulações de sabonete líquido preparadas após 24 horas (valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão).

Tabela 9 - Valores de viscosidade em formulações preparadas após 24 horas.

<b>Formulação</b>	<b>Viscosidade (mPa.s)</b>
<b>1</b> (Branco)	11.100,00 <sup>a</sup> $\pm$ 1131,37
<b>2</b> (Óleo essencial)	8.400,00 <sup>a</sup> $\pm$ 1131,37
<b>3</b> (Extrato guaraná)	7.500,00 <sup>a</sup> $\pm$ 848,53
<b>4</b> (Antimicrobiano)	7.650,00 <sup>a</sup> $\pm$ 1343,50
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	7.600,00 <sup>a</sup> $\pm$ 848,53

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

De acordo com Rodrigues *et al.* (2012), a legislação estabelece que a viscosidade mínima de um sabonete líquido é de 2.000 mPa.s. Como pode-se observar na Tabela 9, os valores de viscosidade apresentaram-se acima do que estabelece a legislação e precisa ser ajustada nas formulações.

Esse aumento de viscosidade pode ter sido ocasionado pelo agente perolizante e pelos agentes tensoativos que foram incorporados às formulações, que as torna mais sensíveis à adição de cloreto de sódio, visto que a adição incorreta desse sal pode aumentar drasticamente a viscosidade de sabonetes líquidos. (COUTO *et al.*, 2007)

#### 4.2.5 Índice de Espuma

Um outro parâmetro físico-químico importante na análise de sabonetes líquidos é o índice de espuma que o cosmético é capaz de gerar e manter. Do ponto de vista comercial,

muitas vezes a espuma que o produto faz é associado ao grau de limpeza que o mesmo pode realizar. (BONFIM *et al.*, 2018)

A Tabela 10 apresenta os valores de índice de espuma obtidos nas formulações de sabonete líquido preparadas após 24 horas (valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão). Nota-se que a formulação padrão branco foi a que apresentou menor porcentagem de formação de espuma, porém, todas as outras formulações ficaram com índice de espuma semelhante, sem diferença estatística significativa.

Tabela 10 - Índices de espuma em formulações preparadas após 24 horas de preparo.

<b>Formulação</b>	<b>Índice de espuma</b>
<b>1</b> (Branco)	61,82 <sup>a</sup> $\pm$ 2,57
<b>2</b> (Óleo essencial)	66,38 <sup>a</sup> $\pm$ 0,40
<b>3</b> (Extrato guaraná)	66,38 <sup>a</sup> $\pm$ 0,40
<b>4</b> (Antimicrobiano)	65,21 <sup>a</sup> $\pm$ 0,43
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	65,81 <sup>a</sup> $\pm$ 0,41

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Em trabalhos realizados por Couto *et al.* (2007), sabonetes líquidos perolados que possuíam maior viscosidade apresentaram maior índice de espuma, o que não foi observado no presente trabalho.

#### 4.2.6 Densidade Relativa

A densidade relativa é caracterizada como a relação entre a densidade absoluta da amostra estudada e a densidade relativa de uma substância padrão escolhida. A densidade dos líquidos pode ser avaliada medindo-se a sua massa e determinando-se o seu volume. No caso dos líquidos, uma alteração relativamente pequena na temperatura pode afetar consideravelmente o valor da densidade. (CÉSAR *et al.*, 2004) A análise da densidade em sabonetes líquidos é importante para a garantia da qualidade e manutenção das características específicas do produto cosmético. (SOARES, 2014)

Segundo Rodrigues *et al.* (2012), a legislação estabelece que a densidade de sabonetes líquidos é de 1,05 g/cm<sup>3</sup>. A literatura também afirma que em sabonetes líquidos, os valores aceitáveis para a densidade encontram-se entre 1,010 e 1,020 g/cm<sup>3</sup>. (PRADO *et al.*, 2019)

A Tabela 11 apresenta os valores de densidade relativa obtidos nas formulações de sabonete líquido 24 horas após o preparo (valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão).

Tabela 11 - Densidades relativas em formulações 24 horas após o preparo.

Formulação	Densidade relativa
1 (Branco)	1,04 <sup>a</sup> ± 1,01
2 (Óleo essencial)	1,03 <sup>a</sup> ± 0,00
3 (Extrato guaraná)	1,03 <sup>a</sup> ± 0,01
4 (Antimicrobiano)	1,03 <sup>a</sup> ± 0,00
5 (Óleo + Extrato)	1,02 <sup>a</sup> ± 0,00

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Ao analisar as densidades apresentadas na Tabela 11, nota-se que as formulações, 24 horas após o preparo, possuem valores próximos da faixa descrita na literatura como ideal.

### 4.3 TESTES DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

#### 4.3.1 Estresse Térmico

As formulações de sabonete líquido foram submetidas ao teste de estresse térmico, onde foram aquecidas em estufa com variações de 40 a 80°C, elevando a temperatura em  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  e sendo mantida por 30 min a cada variação. A Figura 11 apresenta as formulações após a realização dos testes de estresse térmico.

Não houve mudança significativa nas características organolépticas que pudesse ser observada de forma macroscópica em nenhuma das formulações após o estresse térmico. As formulações de sabonete líquido continuaram com um aspecto semelhante ao que pôde ser observado após 24 horas do preparo.

Figura 11 - Formulações de sabonete líquido após os testes de estresse térmico.



A Tabela 12 apresenta os resultados das propriedades organolépticas observadas nas formulações de sabonete líquido após o teste de estresse térmico.

Tabela 12 - Características organolépticas das formulações de sabonete após os testes de estresse térmico.

<b>Formulação</b>	<b>Aspecto</b>	<b>Coloração</b>	<b>Odor</b>
<b>1</b> (Branco)	Homogêneo	Branco perolado	Característico do mentol
<b>2</b> (Óleo essencial)	Homogêneo	Branco perolado	Característico do OEPR
<b>3</b> (Extrato guaraná)	Homogêneo	Branco bege perolado	Característico do mentol
<b>4</b> (Antimicrobiano)	Homogêneo	Branco perolado	Característico do mentol
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	Homogêneo	Branco bege perolado	Característico do OEPR

OEPR = Óleo essencial de pau-rosa.

#### 4.3.2 Ciclo Gela-Degela

Na análise do ciclo gela-degela as amostras foram expostas a variações de temperatura por 12 dias. As amostras foram mantidas em geladeira (Figura 12) em temperatura de  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 24 h e em estufa em temperatura de  $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 h (quando completou-se um ciclo). Os parâmetros organolépticos e físico-químicos foram avaliados após decorrido o 6º ciclo (Figura 13).

Figura 12 - Formulações de sabonete líquido em geladeira para teste de ciclo gelo-degela.



Figura 13 - Formulações após teste de ciclo gelo-degela.



Foi possível verificar mudanças nas características organolépticas das formulações, quando comparadas aos testes de estresse térmico e formulações após 24 horas da preparação. Essas mudanças foram verificadas principalmente na coloração das amostras que apresentaram um tom mais escuro, em especial as formulações que continham o extrato de guaraná. Segundo Lopes (1968), ao ser exposto à luz ou ar, o extrato de guaraná adquire um sedimento castanho avermelhado, denominado “vermelho do guaraná”, o que pode explicar a mudança de cor.

O aspecto das formulações permaneceu homogêneo, sem alterações visíveis. O odor das amostras, por outro lado, ficou relativamente mais forte, quando comparados às formulações após 24 h de sua elaboração.

A Tabela 13 apresenta os resultados das características organolépticas das formulações de sabonete líquido, após o ciclo gela-degela.

Tabela 13 - Características organolépticas das formulações de sabonete líquido após o ciclo gela-degela.

<b>Formulação</b>	<b>Aspecto</b>	<b>Coloração</b>	<b>Odor</b>
<b>1</b> (Branco)	Homogêneo	Branco/bege perolado	Característico mais forte do mentol
<b>2</b> (Óleo essencial)	Homogêneo	Branco/bege perolado	Característico mais forte do OEPR
<b>3</b> (Extrato guaraná)	Homogêneo	Bege perolado	Característico mais forte do mentol
<b>4</b> (Antimicrobiano)	Homogêneo	Branco/bege perolado	Característico mais forte do mentol
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	Homogêneo	Bege perolado	Característico mais forte do OEPR

OEPR = Óleo essencial de pau-rosa.

## 4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

### 4.4.1 Centrifugação

Como nas formulações recém-preparadas, não foi observada separação de fases em nenhuma das amostras que foram submetidas à centrifugação, após o teste de estresse térmico e do ciclo gela-degela. Todas as formulações mantiveram o aspecto homogêneo. Quando não há indícios de instabilidade nas formulações, não há necessidade de reformulação. (ANDRADE, 2008)

Figura 14 - Amostras de sabonete líquido submetidas ao teste de estresse térmico e ciclo gela-degela, após centrifugação.



### 4.4.2 pH e Condutividade

A Tabela 14 apresenta os resultados de pH encontrados nas amostras após 24 horas de preparo e após o teste de estresse térmico e do ciclo gela-degela (valores expressos como média  $\pm$  desvio-padrão).

Tabela 14 - Valores de pH das formulações de sabonete líquido.

Formulação	Após 24 h	Estresse térmico	Ciclo gela-degela
1 (Branco)	7,37 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	7,79 $\pm$ 0,19	7,20 $\pm$ 0,26
2 (Óleo essencial)	7,02 <sup>a</sup> $\pm$ 0,57	7,60 $\pm$ 0,04	7,43 $\pm$ 0,10
3 (Extrato guaraná)	7,26 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	7,10 $\pm$ 0,70	7,44 $\pm$ 0,01
4 (Antimicrobiano)	7,38 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04	7,51 $\pm$ 0,07	5,77 $\pm$ 1,71
5 (Óleo + Extrato)	7,08 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10	7,56 $\pm$ 0,04	7,00 $\pm$ 0,41

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\*Indica diferença significativa entre a formulação preparada após 24 h e após teste de estabilidade, segundo teste t de Student.

Observa-se na Tabela 14 que os valores de pH das amostras antes e depois de submetidas aos testes de estabilidade não apresentaram diferença significativa, porém, ainda assim ficaram acima dos valores ideais de pH para sabonetes líquidos. (LOPES *et al.*, 2018). Com os resultados de pH obtidos, verifica-se a eficácia dos conservantes em manter os níveis de pH das soluções.

A Tabela 15 apresenta os valores de condutividade elétrica obtidos nas amostras recém-preparadas e quando submetidas ao estresse térmico e ao ciclo gela-degela.

Tabela 15 - Condutividade elétrica das formulações de sabonete líquido.

<b>Formulação</b>	<b>Após 24h</b>	<b>Estresse térmico</b>	<b>Ciclo gela-degela</b>
<b>1</b> (Branco)	230,85 <sup>a</sup> ± 53,95	277,00 ± 11,31	242,00 ± 29,70
<b>2</b> (Óleo essencial)	252,95 <sup>a</sup> ± 80,68	272,50 ± 65,76	274,62 ± 115,08
<b>3</b> (Extrato guaraná)	256,50 <sup>a</sup> ± 26,16	273,00 ± 7,07	260,50 ± 4,24
<b>4</b> (Antimicrobiano)	264,00 <sup>a</sup> ± 19,80	267,00 ± 28,28	270,50 ± 31,82
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	224,50 <sup>a</sup> ± 3,54	249,50 ± 21,92	238,50 ± 34,65

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\*Indica diferença significativa entre a formulação preparada após 24 h e após teste de estabilidade, segundo teste t de Student.

Nota-se na Tabela 15 que houve um aumento de condutividade quando as formulações foram submetidas aos testes de estabilidade. Segundo Brasil (2019), o aumento da condutividade elétrica pode ser ocasionado pela coalescência. A coalescência é um fenômeno que acontece por diversos fatores, como pela escolha inadequada dos componentes da formulação, por reações químicas como hidrólise, óxido-redução, processos fotoquímicos, entre outros fatores que podem vir a causar instabilidade nas formulações. (SIQUEIRA, 2017)

#### 4.4.3 Viscosidade

A Tabela 16 apresenta os resultados de viscosidade encontrados nas amostras recém-preparadas, bem como após os testes de estabilidade de estresse térmico e ciclo gela-degela (valores expressos como média ± desvio-padrão).

De acordo com os dados da Tabela 16, nota-se que os valores de viscosidade diminuíram quando comparados aos valores das amostras recém-preparadas. Segundo o teste t de Student, os resultados da formulação contendo óleo essencial (2) e a formulação contendo óleo essencial e extrato de guaraná (5), apresentaram diferenças significativas. Observa-se ainda que a viscosidade teve maior diminuição quando as amostras passaram pelo estresse térmico. De acordo com Isaac *et al.* (2008), Canciam (2012) e Melo *et al.* (2013), a diminuição da

viscosidade após os testes de estabilidade é comum, pois a viscosidade é diretamente afetada pela temperatura e está relacionada com a proximidade das moléculas.

Tabela 16 - Viscosidade das formulações de sabonete líquido.

<b>Formulação</b>	<b>Após 24h</b>	<b>Estresse térmico</b>	<b>Ciclo gela-degela</b>
<b>1</b> (Branco)	11100,00 <sup>a</sup> ± 1131,37	10550,00 ± 122,08	10780,00 ± 1244,51
<b>2</b> (Óleo essencial)	8400,00 <sup>a</sup> ± 1131,37	7810,00 ± 919,24	8150,00* ± 1145,51
<b>3</b> (Extrato guaraná)	7500,00 <sup>a</sup> ± 848,53	6200,00 ± 141,42	7270,00 ± 721,25
<b>4</b> (Antimicrobiano)	7650,00 <sup>a</sup> ± 1343,50	7440,00 ± 1583,92	7500,00 ± 1414,21
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	7600,00 <sup>a</sup> ± 848,53	7300,00 ± 1074,80	7320,00* ± 876,81

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\*Indica diferença significativa entre a formulação preparada após 24 h e após teste de estabilidade, segundo teste t de Student.

Esse parâmetro físico-químico está ligado à força de atração que existe entre as moléculas, e quando a formulação é exposta a altas temperaturas, as moléculas são mais afastadas, diminuindo assim a viscosidade. Ao contrário, quando a formulação é exposta a temperaturas menores, mais baixas, as moléculas tendem a aproximar-se, ocasionando consequentemente uma maior viscosidade. (SILVA *et al.*, 2019)

#### 4.4.4 Índice de Espuma

A Tabela 17 apresenta os resultados dos índices de espuma encontrados nas amostras após 24 horas de preparo e após os testes de estabilidade de estresse térmico e ciclo gela-degela (valores expressos como média ± desvio-padrão).

Tabela 17 - Índice de espuma das formulações de sabonete líquido.

<b>Formulação</b>	<b>Após 24h</b>	<b>Estresse térmico</b>	<b>Ciclo gela-degela</b>
<b>1</b> (Branco)	61,82 <sup>a</sup> ± 2,57	43,66 ± 0,00	48,71 ± 0,93
<b>2</b> (Óleo essencial)	66,38 <sup>a</sup> ± 0,40	46,66* ± 0,00	52,37* ± 0,80
<b>3</b> (Extrato guaraná)	66,88 <sup>a</sup> ± 0,40	46,16* ± 0,31	52,37* ± 0,80
<b>4</b> (Antimicrobiano)	65,21 <sup>a</sup> ± 0,43	42,67 ± 4,63	43,72 ± 6,12
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	65,81 <sup>a</sup> ± 0,41	44,40 ± 2,18	48,68* ± 1,86

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\*Indica diferença significativa entre a formulação preparada após 24 h e após teste de estabilidade, segundo teste t de Student.

Observa-se na Tabela 17 que os índices de espuma das amostras contendo óleo essencial e extrato de guaraná, apresentaram diferença significativa segundo teste de t de Student tanto

após o teste de estresse térmico quanto após o ciclo gela-degela. E a amostra contendo tanto o óleo essencial quanto o extrato de guaraná, apresentaram diferença significativa somente no ciclo gela-degela. Como citado anteriormente, a formulação branco (sem ativos) foi a que apresentou um menor índice de espuma quando recém-preparada. Após os testes de estabilidade, tanto no estresse térmico quanto no ciclo gela-degela, a formulação que continha o antimicrobiano padrão foi a que apresentou um menor índice.

De acordo com a literatura, alguns fármacos podem ser diretamente afetados pela radiação (TONESSEN, 2001). Dessa maneira, o antimicrobiano utilizado pode ter sofrido algum tipo de alteração em suas propriedades físico-químicas o que ocasionou uma diminuição em seu índice de espuma.

#### 4.4.5 Densidade Relativa

De acordo com Higioka e Barzotto (2013), pode-se considerar, de maneira geral, que a densidade dos sabonetes líquidos está entre 1,010 e 1,020 g/cm<sup>3</sup>. A Tabela 18 apresenta os valores de densidade relativa encontrados nas formulações antes e após os testes de estabilidade.

Observa-se na Tabela 18 que a formulação contendo óleo e o extrato de guaraná (5) foi a única que apresentou uma densidade relativa dentro da faixa descrita na literatura.

Tabela 18 - Densidade relativa das formulações de sabonete líquido.

<b>Formulação</b>	<b>Após 24h</b>	<b>Estresse térmico</b>	<b>Ciclo gela-degela</b>
<b>1</b> (Branco)	1,04 <sup>a</sup> ± 1,01	1,01 ± 0,04	1,05 ± 0,00
<b>2</b> (Óleo essencial)	1,03 <sup>a</sup> ± 0,00	1,01 ± 0,01	1,07 ± 0,00
<b>3</b> (Extrato guaraná)	1,03 <sup>a</sup> ± 0,01	1,04 ± 0,04	1,00 ± 0,04
<b>4</b> (Antimicrobiano)	1,03 <sup>a</sup> ± 0,00	1,05 ± 0,03	1,03 ± 0,00
<b>5</b> (Óleo + Extrato)	1,02 <sup>a</sup> ± 0,00	1,02 ± 0,00	1,01 ± 0,00

Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa, segundo o Teste de Tukey (p<0,05).

\*Indica diferença significativa entre a formulação preparada após 24 h e após teste de estabilidade, segundo teste t de Student.

#### 4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FORMULAÇÕES

A Tabela 19 apresenta os resultados das análises antimicrobianas das formulações de sabonete líquido.

Tabela 19 - Atividade antimicrobiana das formulações de sabonete líquido.

Formulação	Concentração Inibitória Mínima (CIM) – mg/mL				
	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1 (Branco)	-	-	-	-	-
2 (Óleo essencial)	10,0	10,0	20,0	-	20,0
3 (Extrato guaraná)	-	10,0	20,0	-	-
4 (Antimicrobiano)	-	-	20,0	20,0	-
5 (Óleo + Extrato)	-	20,0	10,0	-	10,0

As cepas testadas foram as mesmas utilizadas para avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de guaraná e do óleo essencial. Observa-se que a formulação 1 (branco) não apresentou atividade frente a nenhum dos microrganismos testados, o que era esperado, visto que a mesma não continha nenhum extrato, óleo ou antimicrobiano padrão em sua composição. Segundo Balogh (2011), o mentol pode conferir características antimicrobianas aos cosméticos, contudo, nas formulações testadas no presente estudo, provavelmente, o componente estava em baixa concentração, por isso não foi identificada atividade.

Os resultados da Tabela 19 mostram que a formulação contendo óleo essencial apresentou atividade frente a todas as cepas avaliadas, com exceção da *P. aeruginosa*. A formulação contendo o extrato de guaraná apresentou potencial antimicrobiano frente ao *A. brasiliensis* e à *E. coli*. A formulação contendo o antimicrobiano padrão (antibiótico levofloxacino) não apresentou atividade frente à cepa de *S. aureus*. A formulação 5, contendo o extrato e o óleo essencial mostrou possuir potencial tanto para espécies de bactérias quanto de fungos, mostrando ser interessante o uso de ambos os ativos em incorporações de cosméticos para fins antissépticos.

## 5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- O extrato etanólico e diclorometano de guaraná, assim como o óleo essencial de pau-rosa apresentaram atividade antimicrobiana. Os extratos mostraram-se ativos contra *C. albicans*, *A. brasiliensis* e *E. coli*. O óleo essencial de pau-rosa apresentou atividade frente a quase todas as cepas, inclusive para *S. aureus*;
- As características organolépticas das formulações apresentaram alterações após os testes de estresse térmico e ciclo gela-degela. A coloração das amostras que continham extratos de guaraná foi alterada, ficando mais escura;
- Nenhuma das amostras recém-preparadas ou submetidas aos testes de estabilidade preliminar apresentou mudança de fase;
- Os dados de pH obtidos foram superiores ao pH ideal de um sabonete líquido encontrado na literatura, mas mesmo assim considerados satisfatórios tendo em vista que não houve variação entre as formulações. Já a condutividade aumentou após os testes de estabilidade, o que pode estar relacionado à coalescência nas amostras;
- A viscosidade das amostras diminuiu após os testes de estabilidade preliminar, o que era esperado pelo fato de a viscosidade ser diretamente influenciada pelo aumento da temperatura;
- Após os testes de estabilidade preliminar, a formulação que continha o antimicrobiano padrão foi a que apresentou menor índice de espuma, o que pode ser explicado pela influência direta da radiação em alguns tipos de fármacos;
- Em relação às análises de densidade relativa, as formulações que continham óleo essencial e o extrato de guaraná ficaram dentro da média da densidade encontrada nos sabonetes líquidos, de acordo com a literatura;
- A formulação contendo o extrato de guaraná e o óleo essencial de pau-rosa apresentou atividade contra cepas de bactérias e de fungos. Portanto, a incorporação desses ativos em formulações de sabonetes líquidos pode ser uma estratégia interessante para agregar valor ao fitocosmético e, conseqüentemente aos ativos amazônicos.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, F. F. **Desenvolvimento e avaliação de cristais líquidos obtidos em emulsões O/A à base de óleo de andiroba e éster fosfórico**. 2008. 151 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para avaliação da segurança de produtos cosméticos**. Anvisa. 1 ed. 2003.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Série: Qualidade. v. 1, Anvisa, 1 ed., Brasília, 2004.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de boas práticas em pesquisa e desenvolvimento para a indústria de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos**. 36 p. Anvisa, 1 ed. 2007.
- ARAÚJO, V. F.; PETRY, A. C.; ECHEVERRIA, R. M.; FERNANDES, E. C.; JÚNIOR, F. P. Plantas da Amazônia para produção cosmética. **Universidade de Brasília (UnB) Instituto de Química (IQ) - Laboratório De Tecnologia Química (Lateq)**. Brasília, 2007.
- BALOGH, T. S. **Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor**. 2011. 267 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- BITTENCOURT, A. M. B.; COSTA, V. G.; BIZZO, H. R. Avaliação da qualidade de detergentes a partir do volume de espuma formado. **Química Nova na Escola**, v. 1, n. 9, p. 43-45, 1999.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.
- CANCIAM, C. A. Efeito da temperatura na viscosidade de alguns ésteres: predição da energia de ativação viscosa. **E-xacta**, v. 5, n. 1, p. 83-97, 2012.
- CHAAR, J. S. **Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie *Aniba dukei* Kostermans**. Tese (Doutorado), Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.
- CHOZE, R. **Técnicas de separação e identificação empregadas na análise de produtos naturais de plantas**. 2004. Trabalho de conclusão de curso de Química. Universidade Federal de Santa Catarina. 2004.

CONTIM, L. A. S.; CONTIM, L. S. R. A tecnologia produtiva do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) como aliada ao desenvolvimento sustentável da região amazônica. **Inclusão Social**, v. 12, n. 1, 2018.

COUTO, W. F.; GRAMIGNA, L. L.; FERREIRA, M. J.; SANTOS, O. D. H. Avaliação de parâmetros físico-químicos em formulações de sabonetes líquidos com diferentes concentrações salinas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, 2007.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**, M27-A3, CLSI, Wayne, Pa, USA, 3rd edition, 2009.

CRESPO, J. M. R. S. **Aplicação do extrato da *Allamanda cathartica* L. no desenvolvimento de formulação fitocosmética, para antisepsia das mãos de manipuladores de alimentos**. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.

CUNHA, A. **Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia**. Lisboa, Fundação Caloust e Gulbenkian, 2008.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

CURSINO, L. M. C.; SILVA, I.; MARIÚBA, L. A. M.; JEFFREYS, M. F.; LIMA, N. M.; OLIVEIRA, J. L.; NOGUEIRA, P. P. O.; NUNEZ, C. V. Antibacterial activity of *Minquartia guianensis* extracts and phytochemical evaluation. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 23, p. 505-510, 2011.

CUSTÓDIO, D. L. **Aproveitamento dos subprodutos da extração do óleo do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* DUCKE) para a obtenção de bioprodutos**. 2013. 159 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013.

DAVIS, H. M. Analysis of Creams and Lotions. In: SENZEL, A. J. (Ed.) **Newburger's Manual of Cosmetic Analysis**. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1977. 32p.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2011.

SILVA, T. F.; BORTOLOTO, J. W.; DEUSCHLE, R. A. N.; CLAUDINO, T. S.; DEUSCHLE, V. C. K. N. Desenvolvimento e estudo de estabilidade físico-química de formulações cosméticas antienvhecimento. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, p. 107-113, 2019.

DEVORE, J. L. **Probabilidade e Estatística: para Engenharia e Ciências**. Tradução da 8ª ed. São Paulo: Cengage, 2013.

ROSÁRIO, M. S.; GAUTO, M. I. R.; SILVA, A. C. L. N.; SALES, J. S.; PEREIRA, F. S.; SANTOS, E. P. Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata* Martius). **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 29552-29570, 2021.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

ESPOSITO, S.; MILARÉ, T. A “Fabricação de Sabonetes e Perfumes Artesanais”, pelo método de Saponificação, para auxiliar na aprendizagem de conceitos químicos. **Universidade Estadual Paulista – UNESP**. Trabalho de Conclusão de Curso. São Paulo, 2011.

FERRARI, M. **Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba**. 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

FIGUEIREDO, B. K.; MARTINI, P. C.; MICHELIN, D. C. Desenvolvimento e estabilidade preliminar de um fitocósmético contendo extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) (L.) Kuntze (Theaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 95, n. 2, p. 770-788, 2014.

FIORAVANTI, C. O perfume da Amazônia. **Tecnologia Ecologia**. PESQUISA FAPESP 202. Dezembro de 2012.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. OS ANTIOXIDANTES. [www.revista-fi.com.br](http://www.revista-fi.com.br). Nº 06 – 2009.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. EXTRATOS VEGETAIS. [www.revista-fi.com.br](http://www.revista-fi.com.br). Nº 11 – 2010.

GUERRA, A. P. **Obtenção, caracterização química e determinação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Schinus terebenthifolius* Raddi (Aroeira)**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

HERBELE, T., KRINGEL, D. H., EVANGELHO, J. A., DANNEBERG, G., OLIVEIRA, R. P., DIAS, A. R. G. Atividade antimicrobiana de óleo essencial de laranja. **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação: a árvore que sustenta a vida**. FAURGS, Gramado/ RS, 2016.

HIGIOKOTA, A. S.; BARZOTTO, I. L. M. Desenvolvimento e controle físico-químico de sabonete líquido com digluconato de clorexidina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 34, n. 4, p. 537-543, 2013.

HILTON, M. **Meu enorme problema com a cafeína**. MH com uma perspectiva global. 2018. Disponível em: < <https://www.michellhilton.com/2018/01/meu-enorme-problema-com-a-cafeina.html>>. Acesso em: maio. 2019.

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORREA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocósméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.

JEZINI, V. S. **Uso de planejamento estatístico experimental aplicado ao desenvolvimento de xampu anticaspa com extratos de alecrim e arnica**. 2013. Trabalho de conclusão de curso em Engenharia Química. Universidade do Estado do Amazonas. 2013.

KUSKOSKI, E. M.; ROSEANE, F.; GARCÍA, A. A.; TRONCOSO, G. A. M. Propriedades químicas e farmacológicas do fruto de guaraná (*Paullinia cupana*). **Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica**, v. 12, n. 2, p. 45-52, 2005.

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

LEONARDI, G. R.; ORLANDO, R. S. B.; CARNEIRO, A. C. G.; FREITAS, P. C. D. Avaliação e aplicação cosmética de extratos vegetais de cereais integrais com atividade antioxidante. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 14, n. 7/8, p. 66-69, 2002.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 197-201, 2006.

LOPES, A. C.; MORAES, A.; OLIVEIRA, A. F. R.; GUIMARÃES, B. P.; OLIVEIRA, C. F.; BETIM, F. C. M.; MARTINEZ, A. L.; BOBEK, V. B. Análise físico-química comparativa de sabonetes líquidos. Comparative physical-chemical analysis of liquid soap. **Visão Acadêmica**, v.19, n. 2, 2018.

LOPES, R. C. **Tratado de bromatologia**. Editora Casares. Madrid, 1968.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007.

MACHADO, A. R. J. **Avaliação das características físico-químicas e biológicas dos resíduos de tanques sépticos coletados por caminhões limpa-fossas na cidade de tubarão SC**. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MAGALHÃES, L. S.; PUSSENTE, C. G.; AZEVEDO, L. R.; CRESPO, J. M. R. S. Avaliação da atividade antibacteriana do extrato de *Caesalpinia ferrea* Martius e desenvolvimento de uma formulação fitocosmética. **Revista Científica da Faminas**, v. 11, n. 1, 2015.

MARQUES, L. C. Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v. 3, n. 2, p. 74-76, 2005.

MARINO, C. J. M. **Desenvolvimento e controle de qualidade de formulações emulsionadas contendo óleo de Castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**. Trabalho de conclusão de curso em Farmácia. Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT. 2018.

MARTINS, M. **Métodos naturais de detoxificação de micotoxinas em alimentos Amazônicos: guaraná (*Paullinia cupana Kunth*) e castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**. 2014. 159 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

MATIAS, R. R.; SEPÚLVEDA, A. M. G.; BATISTA, B. N.; LUCENA, J. M. V. M.; ALBUQUERQUE, P. M. Degradation of *Staphylococcus aureus* biofilm using hydrolytic

enzymes produced by amazonian endophytic fungi. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 193, p. 2145–2161, 2021.

MELO, E. K. S.; CARVALHO, A. L. M.; BORBA, V. F. C.; SOUSA, G. D.; TABOSA, M. A. M.; LEAL, L. B. Análise e estudo viscosimétrico de diferentes géis de cetoprofeno 2,5%. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 95-99, 2013.

MICHILES, R. J. **A cadeia produtiva do guaraná: um estudo com o guaraná no município de maués**. 2010. 218 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2010.

MIGUEL, L. M. **Experiência sobre a utilização da biodiversidade**: as bioindústrias de cosméticos na Amazônia brasileira. Trabalho apresentado no 12º Encuentro de Geógrafos da América Latina - EGAL, 2009, Montevideo/Uruguai.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MIRANDA, M. V.; METZNER, B, S. *Paullinia cupana*: revisão da matéria médica. **Revista de Homeopatia**, v. 73, n. 1/2, p. 1-17, 2010.

MORAIS, G. C. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento de hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. 2006. 181 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

MÜNCHEN, S.; THIES, R. F.; ADAIME, M. B. Sabonete líquido: uma abordagem para a Química Orgânica. **XVI Encontro Nacional de Ensino de Química (XVI ENEQ) e X Encontro de Educação Química da Bahia (X EDUQUI)** Salvador, BA, Brasil. 2012.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PINTO, P. M. **Atividade antibacteriana das espécies *Paullinia cupana* Kunth. e *Ptychopetalum olacoides* Benth.** 2012. 218 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.

PINTO, A. C. L.; REIS, A. H. S. L. R.; GERÓS, A. I. S.; DA SILVA, A. S. M.; PINTO, A. J. A. R.; MOREIRA, C. S. **Sabão, Detergentes e Glicerina**. Universidade do Porto. Faculdade de Engenharia. Porto, 2012.

PIRES, L. K. S.; GRISOTTO, M. G.; GRISOTTO, R. F. O uso de plantas da Amazônia na produção de bioprodutos para tratamentos de pele. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 9, n. 1, p. 78-88, 2017.

REIS, J. S.; MARTORANO, L. G.; JÚNIOR, S. B.; SALOMÃO, R. P.; MONTEIRO, D. C. A.; NASCIMENTO, N. C. C. Espécimes de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke-Lauraceae) na Floresta Nacional do Tapajós: espécie nativa ameaçada de extinção na Amazônia. In: **Embrapa**

**Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE).** In: Seminário de Pesquisas Científicas da Floresta Nacional do Tapajós. Santarém. Anais. Santarém: Instituto Chico Mendes, 2014.

REVILLA, J. **Plantas da Amazônia:** oportunidades econômicas e sustentáveis. Manaus: SEBRAE: INPA, 2001. 405 p

RIBEIRO, B. D.; COELHO, M. A. Z.; BARRETO, D. W. Obtenção de extratos de guaraná ricos em cafeína por processo enzimático e adsorção de taninos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, p. 261-270, 2012.

RIBEIRO, C. J.; GASPI, F. O. G., PAGANOTTE, D. M. Ação antimicrobiana de sabonetes líquidos à base do extrato e do óleo volátil de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Revista Científica da FHO|UNIARARAS** v. 5, n. 1, 2017.

ROSA, L. L., SOBREIRA, F. H. O., SOARES, T. C. A. E., DOS SANTOS, J. R. B., BRITO, L. M. Uso do sabonete líquido como estratégia de higiene no controle da COVID-19 no Município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 89861-89872, 2020.

RODRIGUES, A. I.; RODRIGUES, B. G.; SOUSA, M. F.; OLIVEIRA, D. F. **Caracterização física e físico-química de sabonete líquido a base de palma forrageira.** Encontro Nacional de Educação, Ciência e Tecnologia da UEPB. 2012.

RODRIGUES, F. A.; PIMENTA, V. S. C.; BRAGA, K. M. S.; ARAÚJO, E. G. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 23; p. 871, 2016.

RUIVO, J. S. P. **Fitocosmética: aplicação de extratos vegetais em Cosmética e Dermatologia.** Dissertação (Mestrado). Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde. Porto, 2012.

SALES, L. M.; SILVA, T. M. *Staphylococcus aureus* meticilina resistente: um desafio para a saúde pública. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 3, n. 1, p. 1-13, 2012.

SAMPAIO, P. T. B., FERRAZ, I. D. K., CAMARGO, J. L. C. Pau-rosa *Aniba rosaeodora* Ducke Lauraceae. **Manual de Sementes da Amazônia**, Fascículo 3, 2003.

SANTOS, E. R. Q. **Óleos essenciais ricos em linalol (*Aniba rosaeodora*, *A. parviflora* e *Aeollanthus suaveolens*) na Amazônia e seus efeitos neurocomportamentais em roedores.** 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

SILVA, G. F. **Estudo do potencial biotecnológico de *Aniba canelilla* (H.B.K) Mez para obtenção de cosméticos.** 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2012.

SILVA, G. F. **Pesquisa e desenvolvimento de cosméticos a partir de ativos vegetais da Amazônia.** 2016. 170 f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

SILVA, V. A. **Atividades antimicrobiana, citotóxica e genotóxica do óleo essencial de *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) e do linalol**. 2015. 124 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais) - Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

SOARES, M. P. M. **Avaliação da eficiência de sabonetes com tricosan sobre suspensões bacterianas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* aplicadas sobre a superfície das mãos de voluntários**. 2013. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**. 3<sup>rd</sup> ed. New York: W.H. Freeman, 1995. 887p.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos Essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. R.; COSTA, A. M. **Projeto potencialidades regionais, estudo de viabilidade econômica**. Superintendência da Zona Franca de Manaus–Suframa, v. 3, 2003.

RIOS, M. N. D. S.; PASTORE JÚNIOR, F. **Plantas da Amazônia: 450 espécies de uso geral**. 2011.

VEGGI, P. C. **Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

VILALBA, L. B. P. **Uma proposta de ensino contextualizado através da fabricação do sabão como tema gerador**. 2018. 22 f. Monografia (Graduação em Química) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2018.

VITORINO, J. G. S. **Avaliação de aspectos físico-químicos, de rotulagem e da eficácia antibacteriana de sabonetes líquidos antissépticos**. 2018. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Paranaense, Mato Grosso, 2018.

VITTI, ANDREA M. SILVEIRA; BRITO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos Florestais**, v. 17, p. 1-26, 2003.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E), 2010.