

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE

Marcela Mota

ÓLEO OZONIZADO DE *Euterpe oleracea* MART. COMO INSUMO COSMÉTICO
PARA OS CUIDADOS LABIAIS: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Juiz de Fora

2023

Marcela Mota

ÓLEO OZONIZADO DE *Euterpe oleracea* MART. COMO INSUMO COSMÉTICO
PARA OS CUIDADOS LABIAIS: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Saúde, da Universidade Federal de Juiz de Fora,
como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Nádia Rezende Barbosa Raposo

Juiz de Fora

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Mota, Marcela.

Óleo ozonizado de Euterpe oleracea MART. como insumo cosmético para os cuidados labiais: caracterização e atividades biológicas / Marcela Mota. -- 2023.

89 p.

Orientadora: Nádya Rezende Barbosa Raposo

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2023.

1. Óleo de açai. 2. ozonização. 3. clean beauty. I. Rezende Barbosa Raposo, Nádya , orient. II. Título.

Marcela Mota

ÓLEO OZONIZADO DE *Euterpe oleracea* MART. COMO INSUMO COSMÉTICO
PARA OS CUIDADOS LABIAIS: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Saúde, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Saúde.

Aprovada em: 19/09/2023

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Nádia Rezende Barbosa Raposo

Prof. Dr. Henrique Duque de Miranda Chaves Netto

Prof^ª. Dr^ª. Roberta Passos do Espírito Santo

Dr^ª. Hanny Reis Mockdeci

Dr^ª. Laura de Andrade Junqueira

Juiz de Fora, 06 / 09 / 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Nadia Rezende Barbosa Raposo, Professor(a)**, em 19/09/2023, às 17:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Roberta Passos do Espírito Santo, Professor(a)**, em 19/09/2023, às 17:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Hanny Reis Mockdeci Gonçalves, Usuário Externo**, em 19/09/2023, às 17:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Henrique Duque de Miranda Chaves Netto, Professor(a)**, em 19/09/2023, às 18:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Laura de Andrade Junqueira, Usuário Externo**, em 19/09/2023, às 20:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcela Mota, Servidor(a)**, em 20/09/2023, às 14:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1458003** e o código CRC **7D1E0623**.

RESUMO

O mercado de cosméticos é um ramo em constante expansão, cujo investimento em tecnologia e matérias-primas inovadoras cresce exponencialmente, sendo que os consumidores desses produtos vêm se mostrando cada vez mais preocupados com a saúde e a sustentabilidade. Dessa maneira, surgiram tendências como a beleza limpa, movimento onde é priorizado o consumo de produtos com formulações naturais, orgânicas ou veganas, de forma a reduzir ou eliminar o uso de substâncias potencialmente nocivas ao organismo. Nesse contexto, a utilização de óleos vegetais para fins terapêuticos e cosméticos vem sendo cada vez mais difundida, devido às suas propriedades antioxidantes, emolientes, hidratantes e reparadoras. Como forma de potencializar algumas propriedades biológicas e mantendo o conceito de beleza limpa, o processo de ozonização de alguns óleos surge como uma estratégia capaz de propiciar funções antissépticas, anti-inflamatórias e cicatrizantes, devido à ação de subprodutos formados a partir da ozonólise, mostrando que sua incorporação a formulações cosméticas seria uma estratégia promissora. Dessa maneira, o presente estudo investigou as propriedades do óleo ozonizado de *Euterpe oleracea* (açai) incorporado em uma formulação de bálsamo (hidratante) labial. Para isso, o processo de ozonização do óleo foi estabelecido por meio de um gerador de ozônio medicinal. O óleo refinado e o óleo ozonizado foram caracterizados físico-quimicamente e avaliados quanto às atividades biológicas. O óleo ozonizado foi incorporado em uma formulação de uso tópico para os cuidados labiais. Constatou-se que o processo de ozonização do óleo de açai ocorreu, visto pelo aumento dos índices de peróxido e acidez, assim como pela diminuição do índice de iodo, indicando que houve mudança na estrutura do óleo por meio da quebra de suas ligações insaturadas, comprovada por meio da ressonância magnética nuclear (RMN). Também se verificou um aumento na densidade e viscosidade em relação ao óleo refinado. Não foi observada atividade antimicrobiana e antioxidante proeminentes. Em relação ao bálsamo labial, os resultados dos testes de caracterização foram comparados aos do hidratante de referência, onde a amostra em teste apresentou pH adequado, e se mostrou resistente ao estresse térmico, pontos de fusão e de gota dentro do padrão, boa espalhabilidade e maior oclusividade. Os resultados indicam que a formulação em teste apresentou boas características, tendo seu potencial hidratante potencializado por meio da ação do óleo.

Palavras-chave: *Euterpe oleracea*; óleo de açai; *clean beauty*; ozonização; bálsamo labial.

ABSTRACT

The cosmetics market is a constantly expanding industry that invests heavily in technology and innovative raw materials. Consumers of these products are increasingly concerned about health and sustainability. As a result, trends such as clean beauty had merged, emphasizing the consumption of products with natural, organic, or vegan formulations to reduce or eliminate potentially harmful substances. Vegetable oils have gained popularity for therapeutic and cosmetic purposes due to their antioxidant, emollient, moisturizing, and repairing properties. In line with the concept of clean beauty, the ozonation process of certain oils has emerged as a strategy to provide antiseptic, anti-inflammatory, and healing functions through the formation of by-products from ozonolysis. This study investigates the properties of ozonated *Euterpe oleracea* (açai) oil incorporated into a lip balm formulation with moisturizing properties. The ozonation process of the oil was carried out using a medical ozone generator. The physicochemical characteristics of the refined and ozonated oils were analyzed, and their biological activities were evaluated. The ozonated oil was then incorporated into a lip balm formulation for lip care. The results indicated that ozonation caused changes in the structure of the açai oil, as evidenced by the increase in peroxide and acidity indexes and the decrease in the iodine index. These changes were further confirmed through nuclear magnetic resonance (NMR) analysis, which revealed the breaking of unsaturated bonds in the oil. The refined oil exhibited increases in density and viscosity. However, no significant antimicrobial or antioxidant activity was observed. In terms of the lip balm formulation, the characterization tests demonstrated that the sample had an appropriate pH, was resistant to thermal stress, and exhibited melting and drop points within the standard range. It also showed good spreadability and greater occlusiveness compared to the reference moisturizer. These results indicate that the test formulation possesses favorable characteristics, and its moisturizing potential is enhanced through the action of the ozonated oil.

Keywords: *Euterpe oleracea*; açai oil; ozonization; *clean beauty*; lip balm.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais estruturas e camadas da pele.....	15
Figura 2. Anatomia dos lábios.....	19
Figura 3. Impacto Socioeconômico do setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC)	23
Figura 4. Palmeira <i>Euterpe oleraceae</i> Mart. e seus frutos.....	27
Figura 5. Estrutura química dos ácidos linoleico, palmítico e oleico.....	32
Figura 6. Processo de formação do ozônio.....	34
Figura 7. Processo de Ozonização do óleo de açaí.....	41
Figura 8. Aparato montado para determinação do ponto de gota do bálsamo labial.....	57
Figura 9. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) nas amostras de óleo pré-ozonização (REFINADO); pós-ozonização e pós- ozonização com extração por refluxo.....	61
Figura 10. Hidratante (bálsamo) labial.....	68
Figura 11. Fita indicadora de pH.....	70
Figura 12. Avaliação da espalhabilidade das amostras.....	73

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1. Determinação dos Índices de Iodo esperados por quantidade de amostra.....	42
Tabela 2. Caracterização físico-química dos óleos de açaí refinado e Ozonizado.....	57
Tabela 3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos de interesse.....	62
Tabela 4. Determinação da ação antimicrobiana dos fármacos de referência.....	63
Tabela 5. Características físicas dos bálsamos labiais após teste do aquecimento	68
Tabela 6. Determinação do ponto de fusão dos bálsamos labiais de interesse.....	70
Tabela 7. Análise colorimétrica dos bálsamos labiais.....	71
Tabela 8. Determinação do fator de oclusividade das amostras de interesse.....	72
Quadro 1. Cepas de referência, utilizadas no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida/Fungicida Mínima (CBM/CFM) e classificadas pela coloração de Gram.....	47
Quadro 2. Pontos de fusão dos componentes do bálsamo labial	51
Quadro 3. Componentes da formulação do bálsamo labial desenvolvido.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro
¹³ C	Carbono 13
¹ H	Hidrogênio 1
A1	Amostra 1
A2	Amostra 2
ABIPHEC	Associação Brasileira da Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
AN	Ágar N-utriente
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	do inglês “ <i>American Type Culture Collection</i> ”
CAT	Catalase
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
CFM	Conselho Federal de Medicina
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	do inglês “ <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> ”
cm	Centímetros
cm ²	Centímetros cúbicos
D	Densidade
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
F	Fator de Oclusão
Fe	Ferro
g	Gramma
GPx	Glutathiona Peroxidase

HPPC	Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
I _a	Índice de Acidez
I _i	Índice de Iodo
I _p	Índice de Peróxido
kgf	Kilograma-força
KOH	Hidróxido de Potássio
L	Litro
M	Mol
m/L	Mol por litro
mEq	Miliequivalentes
MHA	Mueller-Hinton Agar
MHz	Megahertz
min	Minuto
mL	Mililitro
Mn	Manganês
mPa	Milipascal
NaCl	Cloreto de Sódio
nº	Número
O	Oxigênio atômico
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
p/v	Parte por volume
PA	Para análise
PF	Ponto de Fusão
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RUV	Raios ultra-violeta
SECEX	Secretaria de Comércio Exterior
SF	Sem formulação

SOD	Superóxido dismutase
SR	Solução reagente
SUS	Sistema Único de Saúde
TA	Temperatura Ambiente
TMS	Tetrametilsilano
TSA	do inglês " <i>Tryptic Soy Agar</i> "
TSB	do inglês " <i>Tryptic Soy Broth</i> "
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFF	Universidade Federal Fluminense
UV	Ultravioleta
v/v	Volume por volume
Zn	Zinco
δ	Delta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1. ESTRUTURA DA PELE.....	17
2.1.1 LÁBIOS	20
2.2. HIDRATANTES LABIAIS.....	21
2.3. SETOR DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS (HPPC).....	22
2.4. COSMÉTICOS NATURAIS.....	25
2.5. AÇAÍ (<i>Euterpe oleracea</i> Mart)	27
2.5.1 Açaí e suas propriedades.....	29
2.5.2. Óleo vegetal de açaí.....	31
2.6. OZÔNIO E SUAS APLICAÇÕES.....	34
2.6.1. História, características e regulamentação.....	34
2.6.2. Óleos ozonizados e suas aplicações.....	37
3. OBJETIVOS	40
3.1. GERAL	40
3.2. ESPECÍFICOS	40
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1. AMOSTRA VEGETAL.....	41
4.2. PROCESSO DE OZONIZAÇÃO	41
4.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE AÇAÍ REFINADO E OZONIZADO.....	42
4.3.1. Índice de peróxido (I_p).....	42
4.3.2. Índice de iodo (I_i).....	43
4.3.3. Índice de acidez (I_a).....	44
4.3.4. Densidade relativa	45
4.3.5. Viscosidade.....	46
4.3.6. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	46
4.3.7. Atividade antimicrobiana dos óleos	47
4.3.7.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM); Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	47
4.3.8. Atividade antioxidante	49
4.4. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO	50
4.4.1. Composição qualitativa e quantitativa do produto.....	50

4.4.2. Avaliação organoléptica	51
4.4.3. Controle de qualidade físico-químico	51
4.4.3.1. <i>Determinação do pH</i>	51
4.4.3.2. <i>Teste do aquecimento</i>	52
4.4.3.3. <i>Ponto de fusão</i>	52
4.4.3.4. <i>Colorimetria</i>	52
4.4.3.5. <i>Peso médio</i>	53
4.4.3.6. <i>Espalhabilidade</i>	54
4.4.3.7. <i>Oclusividade</i>	54
4.4.3.8. <i>Ponto de gota</i>	55
4.4.3.9. <i>Avaliação da estabilidade</i>	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1. CARACTERIZAÇÃO E OZONIZAÇÃO DO ÓLEO VEGETAL	57
5.1.1. <i>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	59
5.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	62
5.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	65
5.4. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E TESTES FÍSICO-QUÍMICOS DE CONTROLE DE QUALIDADE	66
5.4.1 <i>Avaliação Organoléptica</i>	68
5.4.2 <i>Determinação do pH da amostra</i>	68
5.4.3 <i>Características do bálsamo labial no teste de aquecimento</i>	69
5.4.4 <i>Determinação do ponto de fusão</i>	70
5.4.5 <i>Análise de cor</i>	70
5.4.6. <i>Determinação do peso médio (g) das amostras</i>	71
5.4.7. <i>Determinação da espalhabilidade das amostras</i>	72
5.4.8. <i>Determinação do fator de oclusividade das amostras</i>	73
5.4.9. <i>Determinação do ponto de gota</i>	73
6. CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	76

1. INTRODUÇÃO

O interesse por produtos do gênero da beleza e cuidados com a pele data de civilizações antigas, e persiste fortemente até os dias atuais (CHIARI, 2012; ABIHPEC, 2022). Ao longo dos anos, o interesse da população por maquiagens, produtos de higiene pessoal, cosméticos para cabelos e tratamentos rejuvenescedores cresce proporcionalmente à exigência de seus consumidores, sendo que a utilização desses produtos está diretamente relacionada à autoestima e ao bem-estar do indivíduo (FLORÊNCIO; DE CAMPOS, 2019).

No entanto, além do apelo estético, outras questões vêm sendo priorizadas, como saúde e sustentabilidade, e essa mentalidade de consumo consciente levou ao surgimento de conceitos e tendências do mercado cosmético, como o *clean beauty* (beleza limpa) (SANTORO, 2022). Tal abordagem prioriza o desenvolvimento de cosméticos naturais, orgânicos ou veganos, que podem ser utilizados em várias partes do corpo, como pele, cabelo, unhas, dentes e lábios. Esses produtos têm como objetivo limpar, perfumar, proteger e hidratar, enquanto se busca evitar compostos prejudiciais à saúde e ao meio ambiente (FLOR; MAZIN; FERREIRA, 2019; ZUCCO, 2020). Nesse sentido, o Brasil possui uma vantagem significativa no uso de matérias-primas naturais, devido à diversidade de espécies vegetais em sua flora (BORTOLUZZI *et al.*, 2022).

Dentre os produtos da biodiversidade brasileira, principalmente os derivados da região Amazônica, o açaí desperta o interesse tanto da indústria alimentícia quanto cosmética, fato que deve ser atribuído às suas propriedades nutritivas (FERREIRA; ROGEZ; HERMAN, 2018), hidratantes e antioxidantes (CEDRIN; BARROS; NASCIMENTO, 2018). Diante disso, a extração da polpa e do óleo do açaí tem sido amplamente utilizada para esses fins (DE CASTRO *et al.*, 2021).

Seu fruto é conhecido por suas propriedades nutricionais, importantes para a manutenção da saúde, com alto valor energético, com uma polpa rica em ácidos graxos insaturados, além de ser uma fonte considerável de minerais (manganês, ferro, zinco), vitaminas, fibras solúveis e antocianinas. Devido a essa composição, o açaí é considerado um superalimento (DOS SANTOS *et al.*, 2008; ROGEZ, 2000; YAMAGUCHI *et al.*, 2015).

O óleo refinado, extraído a partir de sua polpa, possui uma composição predominante de ácidos graxos insaturados, os quais podem assumir uma função de

proteção da barreira epitelial, com ação emoliente e hidratante. Além disso, compostos fenólicos também estão presentes, agregando propriedades antioxidantes (SILVA et al., 2022). Nesse contexto, a ozonização surge com uma estratégia capaz de adicionar propriedades antimicrobianas em óleos vegetais, além de possibilitar um aumento na permeação de compostos ativos presentes nesses óleos através da barreira cutânea (CARDOSO et al., 2021; PRADO et al., 2018).

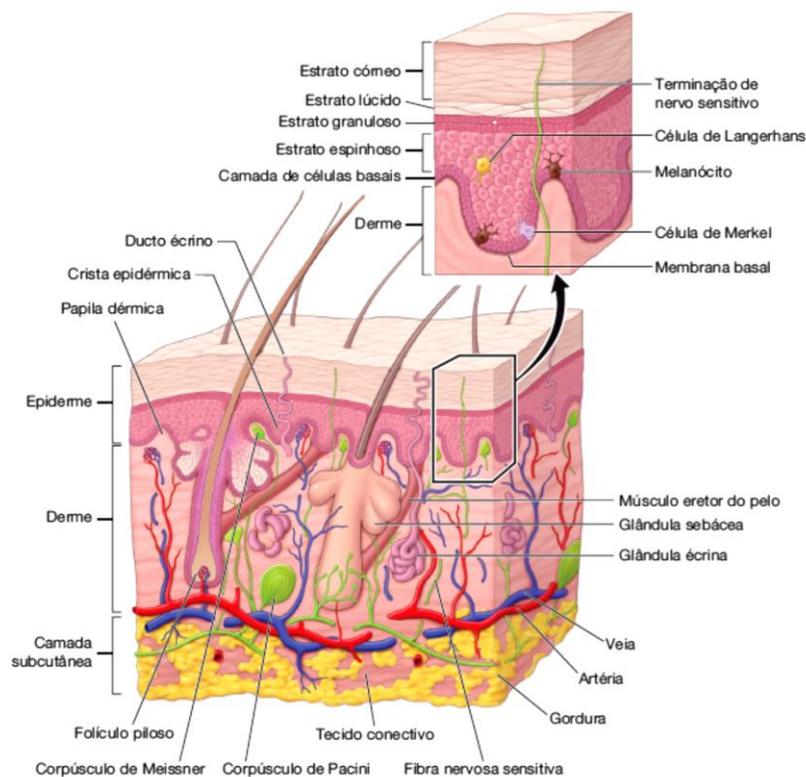
Tendo em vista a ação promissora do óleo de açaí e os possíveis benefícios do processo de ozonização, o objetivo desse trabalho foi avaliar a possibilidade de ozonização do mesmo, com sua incorporação em um bálsamo labial, e avaliação de suas propriedades emolientes, hidratantes, antimicrobianas e antioxidantes.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ESTRUTURA DA PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano, responsável por recobrir a superfície do corpo, exercendo múltiplas funções, como proteção, percepção sensorial, termorregulação, defesa imunológica, síntese de vitamina D e manutenção da homeostase hidroeletrolítica. Apresenta resistência, flexibilidade, plasticidade, impermeabilidade relativa e elevada capacidade de autorregeneração. É constituída por três camadas histológicas superpostas: epiderme, derme e hipoderme (Figura 1) (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; LOWE e ANDERSON, 2015; OVALLE e NAHIRNEY, 2008).

Figura 1: Principais estruturas e camadas da pele.



Fonte: JUNQUEIRA e CARNEIRO (2013).

A epiderme é a camada mais delgada e externa da pele, avascular, formada por um epitélio estratificado pavimentoso, disposto em quatro ou cinco camadas, a saber: i. estrato basal ou germinativo, com elevada atividade mitótica, onde encontram-se os queratinócitos, melanócitos, células táteis e de Langerhans; ii.

estrato espinhoso também composto por queratinócitos; iii. estrato granuloso onde há terminações nervosas livres; iii. estrato córneo, formado por células mortas, e camada lúcida - uma camada extra presente nas regiões palmoplantares e nos lábios (FEINGOLD e ELIAS, 2014; GORDON, 2013; SHARMA; DOGIPARTHI; DHURAT, 2019).

Estas camadas são caracterizadas pelas diferentes etapas de diferenciação mitótica e queratinização, e contribuem para a regeneração do estrato córneo. As células proliferam-se na camada basal, e diferenciam-se ao migrar para a superfície. A última diferenciação ocorre no estrato córneo, transformando-se em células mortas repletas de queratina (MONTEIRO-RIVIERE, 2020).

Os queratinócitos correspondem às células produtoras de queratina, uma proteína estrutural resistente e impermeável que compõe a camada córnea. Os melanócitos são os responsáveis pela síntese de melanina, a qual confere cor à pele e protege o material genético da radiação ultravioleta (UV) (JEONG, 2020). Já as células de Langerhans compõem o sistema imune como apresentadoras de antígenos que rompem a camada córnea, apresentando-os aos linfócitos T da derme (LOWE e ANDERSON, 2015; HOVAV, 2018).

Subjacente à epiderme, encontra-se a derme, que é um tecido conjuntivo constituído por uma grande variedade de tipos celulares (fibroblastos, histiócitos, mastócitos e células sanguíneas) e por uma abundante matriz extracelular, com fibras de colágeno e elastina que conferem resistência e elasticidade à pele, bem como acomodam vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e anexos epidérmicos (folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas) (BOHJANEM, 2017; JUNQUEIRA; CARNEIRO. 2017; SAMPAIO; RIVITTI, 2018).

Sob a derme, encontra-se a hipoderme, um misto de tecido conjuntivo frouxo e adiposo com funções de suporte e conexão entre a derme e a fáscia muscular, além de isolamento térmico, reserva calórica e proteção contra traumas, atuando assim como amortecedor (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; BUCKLEY, 2021).

Os anexos cutâneos são originados na epiderme, e são: glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículo piloso e unhas. A abertura dos folículos pilossebáceos (pêlo + glândula sebácea) e das glândulas sudoríparas na pele formam os orifícios conhecidos como poros. Tais estruturas são derivadas do ectoderma e fixam-se na derme. Na pele podem ser encontrados dois tipos de glândulas sudoríparas, as apócrinas e as écrinas. As glândulas apócrinas são

estruturas tubulares e conectadas ao folículo piloso, compondo principalmente a pele das axilas, região anogenital, aréolas, canal auditivo externo e pálpebras e, sob estímulo hormonal, secretam material viscoso, leitoso e sem cheiro. Enquanto as glândulas écrinas são distribuídas em praticamente todo o corpo, mas principalmente nas palmas das mãos, sola dos pés, rosto e axilas. Elas possuem um ducto linear espiral cilíndrico e são controladas pelo sistema nervoso colinérgico, secretando suor – uma solução hipotônica, inodora e pobre em material orgânico, com função excretora e de regulação da temperatura corporal (LOWE e ANDERSON, 2015; DA SILVA; DINIZ, 2021).

Já as glândulas sebáceas são holócrinas e associadas ao folículo piloso, com exceção nos lábios, mamilos e aréolas. Encontram-se em grandes concentrações no couro cabeludo, face, tórax e ombros, e estão ausentes nas palmas das mãos e sola dos pés. Suas atividades estão sob influência dos hormônios andrógenos gonadais e adrenais. A secreção sebácea é composta, principalmente, por triglicerídeos, ceras, esqualeno, ácidos graxos e ésteres de colesterol com caráter hidrofóbico, atuando como lubrificante e hidratante (DA SILVA; DINIZ, 2021; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

O folículo piloso consiste numa invaginação da epiderme, formando o bulbo capilar de onde se originam os pelos e cabelos. A formação destas estruturas se dá por um processo similar ao que ocorre na pele, em que as células na base do folículo dividem-se e se diferenciam produzindo queratina dura (a haste dos cabelos ou pelos), sendo divididas em três partes: cutícula, córtex e medula (KALAFKA *et al.*, 2017).

As unhas não têm função aparente nos humanos ou, talvez, atuem como proteção das extremidades dos dedos. São compostas por queratina dura oriunda da divisão e diferenciação de células situadas na base das unhas, presentes na epiderme (TORTORA; DERRICKSON, 2016; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2020).

Os lábios correspondem às extremidades da mucosa que reveste a boca, possuindo um tecido epitelial mais fino que de outras regiões do corpo, e apesar de sua grande capacidade de autorregeneração, os lábios estão sujeitos a mudanças, pois sofrem ação constante de fatores externos e internos (TAMURA; YASUMORI; YAMAMOTO, 2020).

2.1.1 LÁBIOS

Os lábios correspondem a uma região muito importante e proeminente da face, e suas características estão relacionadas à herança genética de cada indivíduo. Com relação à sua estrutura, sua superfície externa é formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado (MADEIRA, 2012). Esta corresponde a uma camada extremamente fina, composta pela epiderme e mesoderme, e muito vascularizada. Sua área interna é mais úmida, contendo glândulas salivares menores, sendo revestida pela mucosa labial; já a parte externa é composta pela região rosada, ou semi-mucosa, seguida pela porção cutânea, constituída pela pele e seus anexos. É desprovida de folículos e glândulas sebáceas (Figura 2), portanto não possuem o mesmo revestimento lipídico que outras partes do corpo apresentam, e por ser uma área fina e sensível, a perda de água para o ambiente é grande (BALLARIN, 2018; BRAZ; SAKUMA, 2017).

Figura 2. Anatomia dos lábios.



Fonte: Histologia Interativa (Universidade de São Paulo, 2023).

Sendo assim, a interação desses diversos fatores, como condições climáticas adversas; exposição solar excessiva; hidratação inadequada; além de condições

como a queilite angular (DA ROSA et al., 2015), caracterizada por fissuras nos cantos da boca, associados à cronologia, têm potencial para influenciar na integridade e no grau de hidratação (KRUTMANN et al., 2017; CHOI, 2016). Como uma forma de solucionar essas questões, foram desenvolvidas formulações cosméticas, como os hidratantes labiais, os quais são capazes de promover hidratação, melhora da textura e aspecto da pele.

2.2. HIDRATANTES LABIAIS

Os hidratantes labiais desempenham um papel crucial na manutenção da saúde, integridade e beleza dos lábios. Possuem em sua composição, ingredientes capazes de prevenir o ressecamento e descamação, e dentre eles, podem ser citados óleos vegetais (como o óleo de copaíba, buriti e jojoba), os quais possuem propriedades emolientes e hidratantes (PIRES, 2017; MICHALUN; DINARDO, 2016), e ceras (como as de carnaúba e abelha) que formam uma camada protetora sobre a pele, protegendo-a da ação de fatores externos e da perda de água transepidérmica (VAUGHN et al., 2018).

Além desses componentes, ingredientes como petrolato e vaselina também são adicionados, criando uma barreira oclusiva. No entanto, com a preocupação atual dos usuários em priorizar produtos de origem natural, que agridam menos o organismo e o ambiente, esses compostos vêm sendo substituídos ou eliminados (TAMURA et al., 2021). Em muitos casos, os hidratantes também podem conter ingredientes adicionais, como antioxidantes, vitamina E e protetores solares, para proteger os lábios dos danos causados pelo sol e retardar o envelhecimento da região.

Com relação à estrutura, vale destacar que os hidratantes labiais se apresentam de diferentes formas e texturas, normalmente devido às diferentes proporções de cada composto ativo presente nas formulações, proporcionando aos indivíduos a flexibilidade de escolher o produto que melhor atende às suas preferências e necessidades específicas (ARQUETTE et al., 1998; BONO et al., 2006). Como exemplos, podemos citar os bálsamos labiais, que consistem em um tipo de formulação popular e comum entre os usuários, a qual contém geralmente misturas de ceras, manteigas e outros ingredientes hidratantes, que formam uma barreira mais densa sobre a pele (DOOLEY, 2007); cremes labiais, que possuem

uma textura mais emoliente e suave, com ingredientes hidratantes como o óleo de coco e manteigas, como a de karité, proporcionando uma sensação suave, porém com grande capacidade de hidratação; géis labiais, ao quais possuem uma formulação não gordurosa, normalmente composta por ativos hidratantes à base de água, como o ácido hialurônico, com textura mais leve, formando uma camada mais fina e refrescante nos lábios (RIBEIRO, 2010); e óleos labiais, cuja formulação é à base de óleos naturais, como os de jojoba, semente de uva, amêndoas e coco, e possuem uma textura leve e rapidamente absorvível, que garante hidratação profunda aos lábios (GONÇALVES, 2022).

Essa variedade de formulações atende às necessidades de seus consumidores, que irão optar pela textura e tipo de composto ativo que mais lhe agradam. Além disso, a facilidade e praticidade em carregar esse tipo de produto faz com eles sejam muito consumidos, se tornando ideais para uso diário (PICCININ & ZITO, 2021). Ainda nesse contexto, a conscientização das pessoas para os cuidados com a pele, além da priorização por produtos mais naturais fez com que o mercado desse setor se expandisse, impulsionando o desenvolvimento de hidratantes labiais mais sofisticados e eficazes (FARIAS, 2007).

Dessa maneira, empresas do setor têm investido em pesquisas voltadas para o desenvolvimento de formulações inovadoras, seguras, naturais e eficazes.

2.3. SETOR DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS (HPPC)

A indústria de cosméticos consiste em uma área que se encontra em constante expansão, porém esse interesse por produtos do gênero da beleza e cuidados com a pele datam de civilizações antigas, como as do Antigo Egito, Grécia e Roma. Os registros indicam a utilização de produtos cosméticos da época para diversos fins, desde óleos e essências que eram usadas em banhos, tinturas para cabelos, até o uso para embelezamento. Há relatos históricos por exemplo dos egípcios utilizando uma mistura contendo algumas substâncias com cor para passar nos olhos, como forma de tradição religiosa, e também a utilização de outros produtos, tais como leite, mel e gorduras animais e vegetais no preparo de cremes, como forma de hidratação e proteção da pele devido ao clima árido da região (GALEMBECK; CSORDAS, 2011; CHIARI *et al.*, 2012).

Com o passar dos anos e das gerações, mais precisamente a partir do século XX, a indústria de cosméticos se instaura, e começam a ser produzidos inúmeros produtos, como batons, xampus, sabonetes, cremes para o rosto e corpo, desodorantes, laquês e tinturas de cabelo contendo menos aditivos químicos. As empresas de cosméticos foram se expandindo cada vez mais, à medida que o mercado consumidor desses produtos aumentou, incentivando assim o desenvolvimento de pesquisas na área (FARIAS, 2007). O interesse da população por maquiagens, produtos de higiene pessoal, cosméticos para cabelos e tratamentos rejuvenescedores cresce proporcionalmente à exigência de seus consumidores, e o consumo de produtos desse setor está diretamente relacionado à autoestima e bem-estar dos indivíduos (BATTIE; VERSCHOORE, 2011).

De acordo com dados de 2014 da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIPHEC), foi observado um crescimento grande das empresas do ramo de cosmetologia no Brasil, com cerca de 1600 empresas na área, mesmo com a economia do país mais estagnada no período. O segmento da beleza corresponde a um setor em constante expansão, tendo garantido ao mercado consumidor brasileiro o 4º lugar no *ranking* de Mercado Consumidor Mundial no período de 2021-2022, e um crescimento de 3,5% de faturamento do setor, no mesmo período (ABIPHEC, 2014; ABIPHEC, 2023). Este é um setor considerado empreendedor, pois gerou cerca de 5,6 milhões de oportunidades de trabalho, refletindo num aumento de 9,6% na geração de empregos diretos em 2022, *versus* 2021, o equivalente a 13.400 empregos diretos na indústria (ABIHPEC, ABEVD, ABF e PNAD-IBGE (maio/2022)). As elevadas capacidades de geração de renda (multiplicador de massa salarial) e de arrecadação (vista no multiplicador de impostos) do setor podem ser vistas na Figura 3.

Figura 3: Impacto socioeconômico do setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos na Economia Brasileira (HPPC).



Fonte: Tabelas de Recursos e Usos do Sistema de Contas Nacionais de 2015, apud ABIHPEC (2023).

A indústria de HPPC mobiliza e promove o desenvolvimento do Brasil. Nosso país é 2º Mercado no *ranking* global de países que mais lançam produtos anualmente, ficando atrás somente dos EUA, segundo as análises da ABIHPEC com base nos dados da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX/Ministério da Economia), 2022/Painel Dados de Mercado, 2022.

Dessa maneira, as indústrias vêm buscando desenvolver tecnologias cada vez mais inovadoras, para satisfazer o interesse de seus consumidores, e garantindo também uma eficácia maior dos produtos (CAMPOS et al., 2015; RAJ et al., 2012; BALLOUSSIER, 2023).

O processo de desenvolvimento de cosméticos deve obedecer a critérios de qualidade e estabilidade, onde são monitoradas as propriedades biológicas, físicas, químicas e organolépticas dos produtos (LADEIRA et al., 2021). Sendo assim, diversas variáveis devem ser consideradas, para garantir a estabilidade e eficácia do produto final, onde estão incluídas condições extrínsecas, tais como o acondicionamento, condições de temperatura, umidade e transporte; e intrínsecas, respeitando-se as características dos compostos utilizados, e sua interação com os materiais no acondicionamento (DAHER et al., 2014; PATIL et al., 2018).

Os cosméticos no Brasil, de acordo com as normas regulatórias da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), compreendem os produtos de uso pessoal e perfumes, constituídos por insumos naturais ou sintéticos, que podem ser usados em diversas superfícies externas do corpo, como pele, cabelos, lábios, órgãos genitais externos, dentes e mucosas da cavidade oral, tendo por premissa perfumar, modificar aspecto e cheiro, limpar e manter em bom estado. Esses produtos são classificados em dois graus, sendo eles (BRASIL, 2017): *grau 1*, cujos

produtos apresentam propriedades básicas elementares, que não requerem informação detalhada quanto ao modo de usar, e restrições de uso devido às características intrínsecas do produto; e *grau 2*, com produtos que contêm indicações específicas, cujas características exijam comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como modo e restrições de uso.

Nesse contexto, produtos para pele que apresentem apenas função de hidratação se enquadram na classificação de grau 1, enquanto os que apresentam outras propriedades, como função fotoprotetora ou anti-envelhecimento, classificam-se como grau 2 (BRASIL, 2015).

Os cosméticos convencionais apresentam em sua composição substâncias conservantes que, apesar de necessárias para manter a estabilidade da formulação, podem ser potencialmente nocivas ao organismo, provocando reações de hipersensibilidade, dermatites de contato, eritema, dentre outras. Conforme relatado em alguns estudos, esses conservantes presentes nas formulações, como os parabenos, podem ter associação com o desenvolvimento de tumores de mama (CASSAROTTI; LUBI, 2018; NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2022).

À medida que o interesse do mercado consumidor de cosméticos aumenta exponencialmente, a tecnologia avança, e também a preocupação com a saúde e o interesse da população por produtos cosméticos e cosmecêuticos que utilizem matérias-primas naturais. Dessa forma, a partir de uma mentalidade voltada para o consumo consciente, surgiu um apelo maior do consumidor por produtos livres de compostos tóxicos, que possam ter potencial para agredir a pele, provocar alergias ou doenças, e que também não afetem negativamente o meio ambiente (FLOR; MAZIN; FERREIRA, 2019; TOZZO; BERTONCELLO; BENDER, 2016).

2.4. COSMÉTICOS NATURAIS

A busca pela juventude, autoestima e beleza são questões abordadas desde os primórdios, onde o uso de cosméticos pode contribuir para a melhoria desses fatores, se tornando um hábito comum e muito difundido entre as pessoas. Embora o apelo estético ainda seja o fator principal no uso desses produtos, atualmente, o mercado consumidor vem priorizando outras questões, e se tornando cada vez mais exigente e preocupado com a saúde e sustentabilidade. Dessa maneira, as empresas se veem na obrigação de buscar estratégias que agridam menos a saúde

e o meio ambiente, visando a redução da utilização de plásticos, diminuição do uso de matérias-primas potencialmente nocivas ao organismo, priorizando a reciclagem de produtos, além da eliminação dos testes em animais, já que existem outras alternativas atualmente (MALDONADO; SILVA, 2015). Tal mentalidade estimulou o surgimento de conceitos e tendências do mercado cosmético, como o *Green Beauty* (“beleza verde”) e o *Clean Beauty* (“beleza limpa”), onde predominam o desenvolvimento de cosméticos naturais, orgânicos ou veganos, que podem ser utilizados na pele, cabelo, unhas, dentes e lábios, com o intuito de limpar, perfumar, proteger e hidratar (DOS ANJOS; DE OLIVEIRA, 2020).

Com relação à sua composição, os “cosméticos verdes” devem possuir matérias-primas majoritariamente naturais, que sejam derivadas de plantas e animais, e possam substituir os produtos sintéticos de forma segura, sem perder suas propriedades e sua forma de ação. Já o termo *Clean Beauty* não tem uma definição específica, mas incorpora tudo que já foi citado em relação a uma produção mais sustentável de cosméticos, priorizando formulações que não contenham substâncias que causem comprovadamente algum dano à saúde. Dessa maneira, o foco dessa tendência não é necessariamente priorizar ingredientes veganos ou naturais, pois nem tudo que é natural pode ser considerado seguro, mas sim deixar de usar as substâncias que podem ser potencialmente nocivas ao organismo (FLOR; MAZIN; FERREIRA, 2019; GREER, 2020; KLASCHKA, 2016).

Esse movimento é uma tendência mundial em crescimento, e especialmente no Brasil vem ganhando força, pois o mercado consumidor brasileiro está valorizando cada vez mais essas questões. No entanto, ainda existem inúmeros desafios a serem enfrentados, pois não há uma regulação específica no Brasil e em outros países, que certifique efetivamente esses conceitos, nem uma fiscalização mais rígida das empresas, sendo que cada uma delas pode estabelecer seu regulamento próprio. Porém, mesmo com essa falta de padronização, algumas normas devem ser seguidas desde a fabricação até o envase, como forma de assegurar a segurança e confiabilidade no produto final (MALDONADO; SILVA, 2015; GREER, 2020).

Nesse sentido, seguindo essa linha de utilização de matérias-primas naturais, o Brasil possui uma grande vantagem, devido à variedade de espécies vegetais que compõem a sua flora. Sendo assim, os produtos provenientes de sua biodiversidade vêm ganhando destaque, atendendo ao apelo do mercado nacional e mundial para a

produção de fitocosméticos, que são produtos que contém ingredientes ativos de origem vegetal (GLENIA, 2004; FERREIRA; SOUSA; WASTOWSKI, 2020; ZUCCO; DE SOUSA; DO CARMO, 2020).

Dessa forma, dentre os diversos frutos constituintes da biodiversidade amazônica, o açaí desperta o interesse comercial tanto na indústria alimentícia quanto na cosmética, devido a suas propriedades nutritivas, hidratantes e antioxidantes, e a extração da sua polpa e também do seu óleo vem sendo bastante utilizado para esses fins (MERTENS-TALCOTT et al., 2008).

2.5. AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart)

As palmeiras do gênero *Euterpe*, da família *Arecaceae*, são espécies de plantas tropicais encontradas naturalmente em toda a bacia Amazônica, em áreas de terra firme e planícies de inundação. Do ponto de vista econômico, duas espécies se destacam para extração e consumo de seus frutos e do palmito, que são a *Euterpe oleracea* e *Euterpe edulis*, diferenciando-se entre si pelo tipo de caule que possuem, e as regiões em que podem ser encontradas. São predominantes nos estados do Amazonas, Pará, Amapá, Maranhão, e em regiões de Mata Atlântica, sendo que o Pará é responsável por cerca de 92% de toda a produção brasileira (NOGUEIRA et al., 2006; TREVISAN et al., 2015). O Brasil corresponde ao maior produtor, consumidor e exportador do fruto do açaizeiro, sendo que de acordo com dados de 2018, foram estimadas cerca de 1,3 milhões de toneladas para consumo e exportação (IBGE, 2019).

As palmeiras apresentam porte arbóreo (Figura 4) e estipes lisos e delgados que podem atingir uma altura de 10 a 35 metros, e aproximadamente 14 cm de diâmetro. A partir do estipe principal, podem ser emitidos diversos outros, formando assim as touceiras. A espécie floresce o ano todo, porém tem predominância nos meses mais chuvosos, normalmente de setembro a janeiro.

Seus frutos, denominados de açaí, são drupas globosas e arredondadas, de aproximadamente 2 cm de diâmetro, de coloração esverdeada antes de amadurecerem, e violeta a roxo escuro após sua maturação (NASCIMENTO et al., 2008; YAMAGUCHI et al., 2015).

Figura 4: Palmeira *Euterpe oleraceae* Mart. e seus frutos (açai).



Fonte: Forest e Kim Starr (2011).

Devido ao seu valor nutricional, o consumo de seus frutos e do palmito sempre foi comum entre as populações ribeirinhas e locais, sendo a população do estado do Pará seu principal mercado consumidor. No entanto, com o passar dos anos, à medida que suas propriedades nutricionais, energéticas e antioxidantes foram sendo cada vez mais abordadas e conhecidas, houve uma difusão, valorização e expansão do seu consumo não só pelo país, mas também mundialmente (WILK; MCDONELL, 2020). Apesar desses números não serem tão expressivos quanto para o consumo local, mostra uma tendência de crescimento, tanto para o mercado alimentício, quanto para a utilização de seus subprodutos, tais como o óleo do fruto do açai no mercado cosmético, devido às suas propriedades hidratantes, emolientes e antioxidantes (TAVARES; HOMMA; MENEZES, 2016; BEZERRA; FREITAS-SILVA; DAMASCENO, 2016).

2.5.1 Açaí e suas propriedades

O açaí apresenta propriedades nutricionais importantes para a manutenção da saúde, e devido à sua composição rica em ácidos graxos insaturados, tais como o ácido oleico e linoleico, sua polpa tem valor energético alto, além de uma quantidade considerável de minerais (Mn, Fe, Zn), vitaminas, fibras solúveis e antocianinas, sendo considerado por muitos um superalimento (DOS SANTOS et al., 2008; ROGEZ, 2000; YAMAGUCHI et al., 2015). Considerando os diversos compostos presentes em seu fruto, estudos demonstraram sua capacidade em proteger contra doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, através de sua ação antioxidante, anti-inflamatória e até mesmo anticarcinogênica (FERREIRA; ROGEZ; HERMAN, 2018; YAMAGUCHI et al., 2015).

Por meio de análises, observou-se que as propriedades do fruto podem variar de acordo com o estado de maturação deles, assim como o tipo de região de cultivo, condições climáticas, tipo de solo, incidência de luz solar e época da colheita, influenciando assim no teor e concentração dos compostos bioativos, e consequentemente na composição nutricional dos frutos (GORDON et al., 2012).

Sua ação antioxidante é característica importante, e se deve principalmente à ação de compostos fenólicos como as antocianinas. Estas consistem em pigmentos vegetais, que conferem a cor arroxeada ao fruto, estando presentes também em amoras, uvas pretas, jabuticaba, repolho roxo, cebola roxa, e também no caule, raiz e folhas de algumas plantas (BERACA SABARÁ, 2007; DA SILVA, 2015).

Os compostos fenólicos estão largamente distribuídos no reino vegetal, e constituem um dos maiores grupos de substâncias produzidas a partir do metabolismo secundário das plantas em resposta a agentes externos e condições de estresse, tais como infecções, lesões, ataques fúngicos e radiação ultra-violeta (RUV). A produção desses compostos é essencial para a adaptação e sobrevivência das plantas em diversos ambientes (NICHOLSON, 2009). Essas substâncias são componentes importantes da dieta humana, e além do açaí, estão presentes também em frutas cítricas como limão e laranja, assim como na maçã, uva, mamão e em outros alimentos como repolho roxo, brócolis, tomate, cebola, alho, e bebidas como vinho e café. Apresentam inúmeros benefícios para a saúde, e uma alimentação rica nesses compostos com propriedades antioxidantes, antiagregantes, anticancerígenas e anti-inflamatórias pode influenciar na prevenção de doenças

cardíacas, diabetes, cânceres, e doenças neurodegenerativas (NICHOLSON, 2009; RUIVO et al., 2015; HASLER, 2004; OLCHIK et al., 2017; CHEN et al., 2019; VU et al., 2012). As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos são muito importantes, pois previnem o estresse oxidativo através da neutralização de radicais livres.

As espécies reativas de oxigênio consistem em moléculas instáveis, produzidas naturalmente pelo organismo em pequenas quantidades, devido ao metabolismo celular. Possuem em sua estrutura ao menos um elétron não pareado, e por sua alta instabilidade, podem atuar como aceptores ou doadores de elétrons, a fim de se estabilizarem (HALLIWELL, 2012; CAROCHO et al., 2018). Essas moléculas apresentam uma dualidade em relação a seus efeitos no organismo, pois são importantes para a ativação do sistema imunológico inato, geração de energia e para a regulação do metabolismo, porém também estão diretamente relacionadas ao estresse oxidativo e danos celulares (RAHAL, 2014; MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA et al., 2018).

Como forma de combater esses metabólitos reativos que são produzidos continuamente, a fim de evitar os efeitos danosos às células, o organismo dispõe de mecanismos de defesa antioxidante (KOMANDURI et al., 2019). No entanto, quando o balanço entre a remoção das espécies reativas por agentes antioxidantes é desfavorável, temos o que chamamos de estresse oxidativo (SIES et al., 2017).

Os compostos antioxidantes, que irão atuar no combate ao estresse oxidativo, podem ser solúveis em água ou lipossolúveis; enzimáticos ou não-enzimáticos; e podem atuar de formas variadas no organismo, eliminando ou reduzindo a formação das espécies reativas, sendo diferenciados de acordo com sua função: i. varredura das espécies reativas; ii. inibição da formação de compostos oxidantes; iii. estimulação da produção de antioxidantes endógenos (BREWER, 2011).

Como mecanismos inibidores do estresse oxidativo e da formação de radicais livres produzidos pelo organismo, existe a primeira linha de defesa, que corresponde ao sistema enzimático, onde estão compreendidas as enzimas antioxidantes endógenas, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationala peroxidase (GPx), que atuam inibindo a oxidação, e evitando assim que se acumulem as espécies reativas de oxigênio (AGUILAR et al., 2016; NOGUCHI; NIKI, 2019). No entanto, estas moléculas ainda não são suficientes para combater a totalidade dos produtos reativos formados pela oxidação, sendo necessária a ação

do sistema não-enzimático, que é composto por substâncias que são ingeridas através da dieta e que possuem atividade antioxidante (MICHNIAK-KOHN et al., 2017; SIMAS et al., 2019).

Dessa maneira, o açaí vem ganhando atenção não só da indústria alimentícia, mas também da cosmética e farmacêutica, devido ao seu alto teor lipídico e suas propriedades antioxidantes que podem trazer benefícios ao organismo humano. Dessa maneira, além da ingestão do alimento, outra forma de aproveitamento do fruto que vem ganhando destaque é através da extração do óleo a partir da polpa, rica em ácidos graxos insaturados (FUNASAKI et al., 2016; LIRA et al., 2021).

2.5.2. Óleo vegetal de açaí

Desde os primórdios que o potencial terapêutico das plantas e extratos vegetais vem sendo abordado, para diversas finalidades. Com o passar dos anos, o investimento em pesquisas nessa área foi aumentando cada vez mais, considerando também a grande biodiversidade do país e um maior interesse do mercado consumidor, levando assim a uma expansão de produtos contendo compostos naturais, especialmente nas áreas farmacêutica e cosmética (LORENCINI et al., 2014; COSTA et al., 2019).

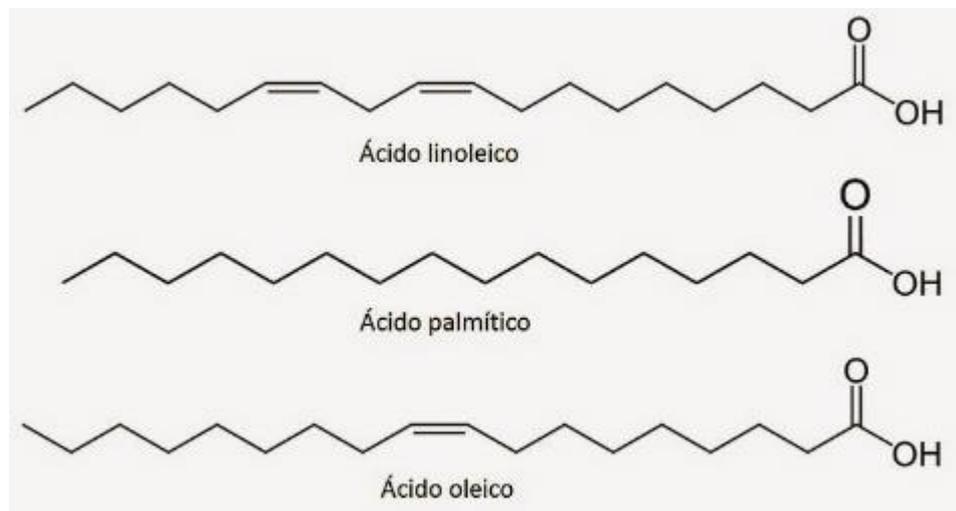
Os óleos vegetais são constituintes naturais, extraídos de frutos, sementes, cascas, raízes e folhas, compostos majoritariamente por triglicerídeos, e diferem-se entre si de acordo com características em sua estrutura, tais como saturação; número de átomos de carbono que compõem a cadeia carbônica e a geometria dessas ligações de carbono. Como forma de avaliação, deve-se considerar o tamanho da cadeia carbônica, que normalmente é extenso, mas se difere entre si de acordo com o tipo de ácido graxo analisado. Já a análise de acordo com o grau de saturação é determinada através da ligação entre as moléculas de carbono. Se a ligação for simples, o ácido graxo é considerado saturado; caso tenha uma ligação dupla, ele é insaturado, e se tiver 3 ligações ou mais, ele é poli-insaturado. Outra forma de diferenciação é em relação à ramificação, a qual pode estar presente ou não na cadeia carbônica, ocorrendo através de anéis de carboxila ou hidroxila (CONSTANTINO, 2005; FERREIRA et al., 2012). Com relação às propriedades físico-químicas, estas dependem da composição de seus ácidos graxos, onde para

determinar a qualidade deles são realizados testes específicos (ABDULKARIM, 2007).

O interesse da indústria cosmética para a utilização desses compostos em formulações para uso tópico vem crescendo cada vez mais, pelo fato desses óleos apresentarem ácidos graxos semelhantes aos da epiderme, com baixa toxicidade, e devido ao conhecimento de suas propriedades, que podem proporcionar emoliência, nutrição e ação antioxidante, garantindo assim proteção, hidratação e revitalização da pele quando adicionados a produtos cosméticos (ARRUDA, 2008). Dessa forma, dentro das diversas espécies que vêm ganhando atenção, destaca-se o fruto do açaí e o óleo extraído de sua polpa.

Estudos sobre a composição de ácidos graxos nas polpas de açaí indicam uma porcentagem predominante dos insaturados, como os ácidos oleico e linoleico, e porcentagens mais reduzidas dos ácidos poli-insaturados e saturados, como o ácido palmítico (NOVELLO; FRANCESCHINI; QUINTILIANO, 2008). Essa concentração pode variar de acordo com o método de análise e de extração desses óleos, porém, os valores se mantem aproximados na maioria dos estudos da espécie (NASCIMENTO et al., 2008; PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012). Esses ácidos graxos são responsáveis por desempenhar diversas funções, formando uma barreira protetora que além de promover hidratação e regeneração da barreira cutânea, evita a perda de água transepidermal (TEWL) (do termo em inglês – *transepidermal water loss*) quando associados a cosméticos. Dos ácidos graxos constituintes no óleo de açaí (Figura 5), podem ser citados (LAUTENSCHLÄGER, 2009): i. ácido linoleico: componente importante da barreira da pele e glândulas sebáceas e atua contra processos de ressecamento, descamação e proteção da pele, influenciando também na acne; ii. ácido palmítico: exerce função importante contra a ação de agentes externos, integrando a barreira epitelial juntamente com outros componentes; iii. ácido oleico: confere uma boa espalhabilidade quando aplicados, apresentando função fluidificadora da barreira epitelial, e garantindo assim que os compostos ativos penetrem mais facilmente na pele (LAUTENSCHLÄGER, 2009).

Figura 5: Estrutura química dos ácidos linoleico, palmítico e oleico.



Fonte: Adaptado de Wolfgang Shaefer (2005).

Além desses compostos presentes no óleo, outras substâncias importantes que despertam o interesse da indústria cosmética são os compostos fenólicos e antocianinas, pois além de promoverem benefícios à saúde e no combate ao envelhecimento cutâneo, podem ser usadas como corantes e conservantes, exercendo também ação antimicrobiana (OLIVEIRA, 2018; PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012; NOVELLO, 2011; PAZMIÑO-DURÁN et al., 2001). Pelo fato de apresentarem uma boa biocompatibilidade com a pele, e baixa toxicidade, o óleo de açaí vem sendo bastante utilizado em formulações cosméticas tais como emulsões, cremes, pomadas e hidratantes labiais vem sendo cada vez mais difundida.

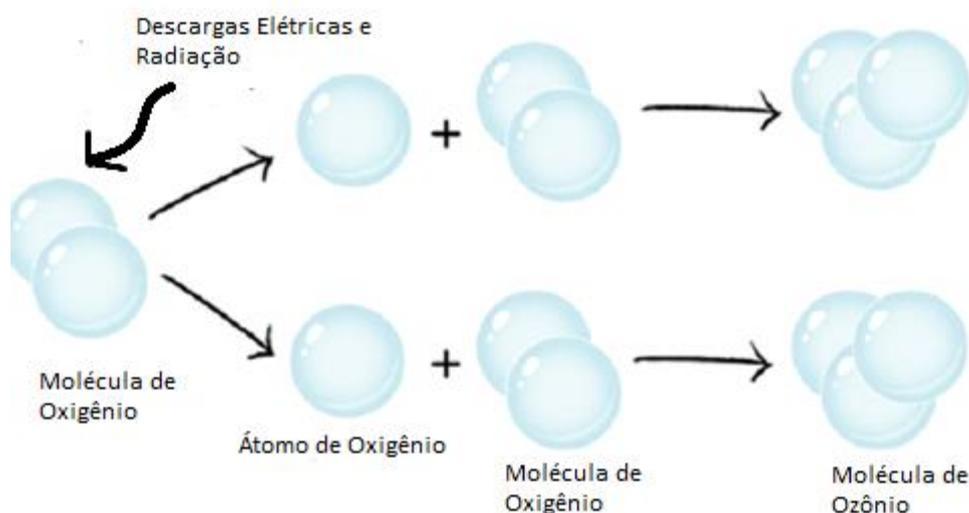
O óleo vegetal refinado já apresenta uma boa ação quando adicionado às formulações, porém, o processo de ozonização de alguns óleos vêm sendo abordada como forma de facilitar a penetração dos compostos ativos de maneira mais profunda na barreira cutânea, aumentando assim a ação deles, além de conservar melhor o produto através da ação antimicrobiana exercida pelos subprodutos do ozônio, tendo a possibilidade de reduzir a adição de conservantes, e seguindo assim a tendência do mercado de cosméticos naturais (RODRIGUES; PIMENTEL; OLIVEIRA, 2015; LYRIO et al., 2011).

2.6. OZÔNIO E SUAS APLICAÇÕES

2.6.1. História, características e regulamentação

O ozônio (O_3) é um gás encontrado naturalmente na atmosfera, formado através de reações fotoquímicas, sendo um componente importante da camada estratosférica, atuando como uma barreira protetora contra a radiação ultravioleta (UV), correspondendo assim a um fator crucial para a proteção e preservação da vida na Terra (HÄNNINEN, 2019). Esse processo ocorre a partir de descargas elétricas provenientes da radiação, onde a molécula de oxigênio (O_2) é quebrada, fazendo com que o oxigênio atômico (O) fique livre, e possa se unir às moléculas de O_2 que estiverem livres, formando assim sua constituição triatômica (O_3) (Figura 6). Sua constituição triatômica, faz com que seja uma molécula extremamente instável, podendo retornar a oxigênio (O_2). Possui uma meia-vida de aproximadamente 40 minutos a $20^\circ C$, sendo que esta pode aumentar, dependendo dos meios em que ele será adicionado, tais como água e óleo, e a temperatura. Com relação ao estado físico, em sua forma gasosa, gerada a partir do oxigênio normal e de alta pureza, se apresenta como um gás incolor, que se decompõe dependendo da temperatura, fluxo, volume e pressão utilizados (DI PAOLO; BOCCI; GAGGIOTTI, et al., 2004).

Figura 6: Processo de formação do ozônio



Fonte: adaptado da revista Animal Business Brasil, 2021.

De acordo com a história, a primeira percepção desse gás se deu em 1785, por intermédio do médico holandês Van Marum, ao observar que um odor intenso e bem característico era exalado quando centelhas passavam próximas à sua máquina eletrostática (MARTINS et al., 2012). Posteriormente, em meados do século XIX, o químico Christian Friedrich Schönbein constatou que esse cheiro forte, que pode ser detectado até mesmo em concentrações baixas, era liberado sistematicamente após o oxigênio sofrer uma descarga elétrica (RICE et al., 1981). Posteriormente, confirmou-se que esse odor era proveniente da liberação de um gás, quando acontecia a adição de uma molécula de O ao O₂, gerando assim uma estrutura triatômica (O₃). Devido à detecção desse cheiro característico, ele o denominou de “Ozon”, oriundo da palavra grega “Ozein”, que significa “aquilo que cheira” (DE NOVAIS, 2008; SILVA et al., 2011).

Após sua descoberta, suas propriedades começaram a ser analisadas, onde foi constatado seu potencial altamente oxidante, perdendo apenas para o radical hidroxila, através de sua capacidade em clivar ligações duplas de carbono (>C=C<), podendo reagir com diversas classes de compostos orgânicos e inorgânicos (BOCCI, 2002). Dessa maneira, seu efeito bactericida foi observado através da oxidação do material biológico de microrganismos, em estudos com *Salmonella typhirium*, *Vibrio collerae* e *Bacillus antracis*, constatando que seu poder desinfetante pode chegar a ser 3.500 vezes maior do que o cloro (MEHLMAN; BOREK, 1987). Diante disso, a partir de 1893 o ozônio começou a ser utilizado como um potente desinfetante de água para consumo humano e tratamento de efluentes.

Ainda de acordo com suas propriedades antimicrobianas, durante a Primeira Guerra Mundial esse gás também foi utilizado para tratamento de gangrenas e feridas infectadas de soldados alemães e ingleses, e com isso, sua aplicação médica foi sendo cada vez mais difundida (STOKER, 1902; HOFFMAN, 1999; FRAISE et al., 2012). Diante dessas propriedades, no Brasil, a partir do ano de 1983, o gás começou a ser usado com finalidade de tratamento de efluentes, agente branqueador, esterilizante de ambientes, roupas e materiais odontológicos e médicos (CHIATONNE et al., 2008).

A partir dessas análises, como forma de confirmar a ação do ozônio, pesquisadores e profissionais da saúde como Hans Wolff e Erwin Payr se dedicaram ao estudo mais aprofundado sobre esse gás e suas possibilidades de aplicação de forma segura, e após obter dados mais robustos sobre o tema, o compilado de

resultados foi publicado em livros como a “Medicina do Ozônio” e no tratado “Ozone Treatment in Surgery”, sendo este último um marco importante para a utilização do ozônio no pré e pós-operatório de pacientes (VIEBAHN-HAENSLER, 2005). Assim, seu uso foi sendo cada vez mais difundido e expandido para diferentes áreas, dando origem à Ozonioterapia, que consiste na aplicação de O_3 para diversos fins farmacêuticos e terapêuticos complementares, e à medida que os estudos na área vão sendo realizados, mais podemos observar a consolidação dessa terapia (MANI et al., 2014; ALLORTO, 2019). Apesar de esse gás ser naturalmente produzido no ambiente, as quantidades são bem pequenas, sendo assim, após a descoberta de sua estrutura química, ele passou a ser sintetizado por intermédio de métodos artificiais (SILVA, 2011; KUNZ et al., 1999).

O ozônio medicinal, comumente utilizado, consiste em uma mistura de oxigênio e ozônio na sua forma pura, em uma proporção de 95% a 99,5% de O_2 e 0,05% a 5% de O_3 (AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008). Estudos têm demonstrado um efeito imunomodulador, anti-inflamatório e antioxidante, além de sua capacidade em melhorar a oxigenação sanguínea e tecidual, podendo reagir com diversos compostos (POST et al., 2021). Seu uso vem sendo disseminado tanto para aplicação terapêutica em humanos, quanto em animais, sendo bastante utilizado na área odontológica e médica para tratamento de doenças periodontais, canais radiculares, combate a infecções e inflamações, abscessos cutâneos e odontológicos (SPOZITO, 2019), úlceras diabetogênicas, queimaduras e escaras de decúbitos, melhorando a oxigenação dos locais tratados e acelerando assim o reparo tecidual, além de outras aplicações que vêm sendo abordadas (AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008; TRAINA, 2008; NESI, 2018). Essas propriedades têm sido comprovadas através de diversos estudos científicos, e sua atividade anti-inflamatória, antisséptica, cicatrizante e reparadora já é aproveitada em países como Cuba, Alemanha, Itália, França e Suíça, e no Brasil se encontra também em expansão (CORSALINI et al., 2018; BOCCI, 1999).

Apesar dos protocolos serem seguros quando respeitadas as concentrações e a forma de aplicação, a manipulação do gás deve ser feita com muita cautela, pois ele é tóxico para as vias aéreas, mesmo que esteja em baixas concentrações, podendo levar o indivíduo a desenvolver problemas respiratórios, e até mesmo à morte. Outra questão se dá devido ao seu poder altamente oxidante, exigindo assim materiais adequados e resistentes para sua manipulação e armazenamento, tais

como silicones e teflon (NAKAO et al., 2009). Sendo assim, diante das diversas possibilidades para utilização desse gás, e como forma de garantir uma maior segurança e padronização das formas de uso, dosagens e áreas para aplicação, estabeleceu-se um consenso denominado “Declaração de Madrid” (DECLARAÇÃO DE MADRID, 2010). Nele constam protocolos bem definidos, baseados nos resultados de pesquisas já existentes nessa área, porém, mesmo que a utilização do ozônio não seja tão recente, e sua ação benéfica em diversas áreas já seja conhecida, ainda é necessária uma maior regulamentação para seu uso.

No que diz respeito a essa questão, no Brasil, existe uma portaria do Ministério da Saúde (Portaria nº 702, 21 de março de 2018) que inclui novas práticas da Ozonioterapia na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no âmbito do SUS, porém os Conselhos Federais de cada área deliberam a regulamentação e os fins para os quais a Ozonioterapia será aplicada. Por exemplo, enquanto o Conselho Federal de Medicina (CFM) libera essa terapia apenas em caráter experimental, os Conselhos Federais de Odontologia, Biomedicina, Farmácia, Medicina Veterinária e Fisioterapia permitem sua utilização para fins antimicrobianos, esterilizantes e de reparação tecidual, além da sua utilização para fins estéticos, conforme suas resoluções próprias (LIMA; FELIX; CARDOSO, 2021; ABOZ, 2021).

Além da aplicação terapêutica direta, o ozônio também vem sendo empregado na produção de óleos ozonizados, que podem ser incorporados a formulações cosméticas, ou aplicados diretamente para uso tópico. Esse método, além de garantir uma maior estabilidade do gás através da produção de formas mais estáveis para seu armazenamento, como os ozonídeos, também permite uma maior facilidade de manipulação, sendo uma alternativa vantajosa e mais econômica (ANZOLIN, 2019).

2.6.2. Óleos ozonizados e suas aplicações

Considerando que a reação de ozonólise consiste em uma reação limpa e reprodutível tanto a nível medicinal, odontológico e laboratorial, quanto a nível industrial, o processo de ozonização do óleo é normalmente feito por intermédio de um gerador médico, que utiliza a descarga de corona (LOPES, 2016). Esses aparelhos utilizam oxigênio medicinal comprimido, onde por meio de uma diferença

de potencial entre os eletrodos, geram descargas elétricas que irão quebrar as duplas ligações da molécula de O_2 , e dessa maneira, esses átomos que foram quebrados irão se ligar com outras moléculas de O_2 presentes no mesmo meio, formando assim a molécula de O_3 (PEKÁREK, 2020). O ozônio, por sua vez, irá reagir com os triacilglicerídeos insaturados do óleo, o que irá gerar uma clivagem oxidativa de suas duplas ligações, formando assim compostos como peróxidos, ozonídeos, ácidos carboxílicos e cetonas (BABLON et al., 2019). Esse processo é capaz de aumentar a durabilidade dos óleos, que se mantidos sob condições adequadas de temperatura, sob refrigeração, pode ter uma durabilidade de até mais de um ano (SCHWARTZ et al., 2010; OLIVEIRA; WOSCH, 2012). De acordo com a literatura científica, os óleos ozonizados, como os de oliva e girassol possuem diversas propriedades, provenientes da ação dos subprodutos do ozônio, podendo ser utilizados para inúmeras funcionalidades. Dessa maneira, podem servir como alternativa terapêutica para o tratamento de feridas cutâneas e queimaduras, exercendo um efeito cicatrizante e regenerador nos locais aplicados (ANZOLIN; SILVEIRA-KAROSS; BERTOL, 2020), além da ação bactericida e antifúngica, possibilitando sua atuação contra micoses e infecções de pele (TASDEMIR et al., 2019; SAFWAT et al., 2018). Com relação às suas propriedades cicatrizantes, esse efeito se deve à capacidade do ozônio em aumentar a flexibilidade dos eritrócitos, facilitando assim a passagem deles através dos vasos sanguíneos. Dessa maneira, os tecidos conseguem ter um maior aporte de oxigênio, com consequente redução da agregação plaquetária, estimulando o estresse oxidativo e a produção de espécies de oxigênio reativo (ERO's), as quais irão provocar uma maior mobilidade das células sanguíneas no local, com ativação de neutrófilos e fatores de crescimento celular, estimulando o crescimento dos tecidos de granulação, e consequentemente modulando o metabolismo celular e o sistema imunológico, de forma a influenciar na reparação tecidual (HAYASHI, 2018). Além dessa propriedade, a ação bactericida do ozônio se deve por intermédio dos ozonídeos e hidroperóxidos, produzidos a partir da ozonólise, os quais atuam oxidando o citoplasma e os constituintes da parede e membrana celulares dos microrganismos, tais como aminoácidos, glicoproteínas e glicopeptídeos, alterando assim a permeabilidade das bactérias, e contribuindo para a lise delas. Além do efeito bactericida, os subprodutos do ozônio também apresentam capacidade fungicida e

antiviral, no entanto, para que essa ação seja eficaz, a concentração de ozônio e de seus subprodutos durante o processo é importante (SILVA et al., 2011).

Para que o processo de ozonização seja satisfatório, e suas atividades biológicas sejam alcançadas, é importante observar as características físico-químicas dos óleos vegetais, sendo que estes devem apresentar uma maior concentração de ácidos graxos insaturados, tais como o oleico e linoleico, sendo os óleos de oliva, coco e girassol os mais comumente utilizados para esse fim (GIULIANI et al., 2018; RENSI et al., 2014; GEORGIEV et al., 2015).

Dessa maneira, observando suas propriedades, e as diversas possibilidades de utilização e aplicação do ozônio, o mercado de cosméticos vem buscando a inovação de seus produtos, optando muitas vezes por insumos naturais e compostos ativos que garantam além dos benefícios estéticos, propriedades terapêuticas (OLIVEIRA; LIMA; DAMASCENO, 2022; UGAZIO et al., 2020).

Sendo assim, esses cosméticos à base de óleos ozonizados, além dos benefícios já conhecidos, seguem a tendência do *Clean Beauty*, que por sua definição, são produtos cosméticos que possuem formulação livre de agentes com potencial nocivo ao organismo, reduzindo assim as chances de algum usuário desenvolver alergia ou outros problemas de saúde. Dessa maneira, o desenvolvimento de um bálsamo (hidratante) labial, formulado com produtos naturais e óleo ozonizado, seria capaz de atender à necessidade do consumidor mais exigente, que se preocupa além da sua necessidade pessoal.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Desenvolver uma formulação tópica inovadora para os cuidados com os lábios, por meio da incorporação de óleo ozonizado de açaí.

3.2. ESPECÍFICOS

- Estabelecer um protocolo de ozonização para o óleo de açaí;
- Realizar a caracterização físico-química dos óleos refinado e ozonizado de açaí;
- Avaliar as atividades antimicrobiana e antioxidante dos óleos refinado e ozonizado de açaí;
- Desenvolver farmacotecnicamente o bálsamo labial contendo óleo ozonizado de açaí;
- Executar testes de controle de qualidade físico-químico e microbiológico, bem como análise de estabilidade do bálsamo labial de uso tópico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

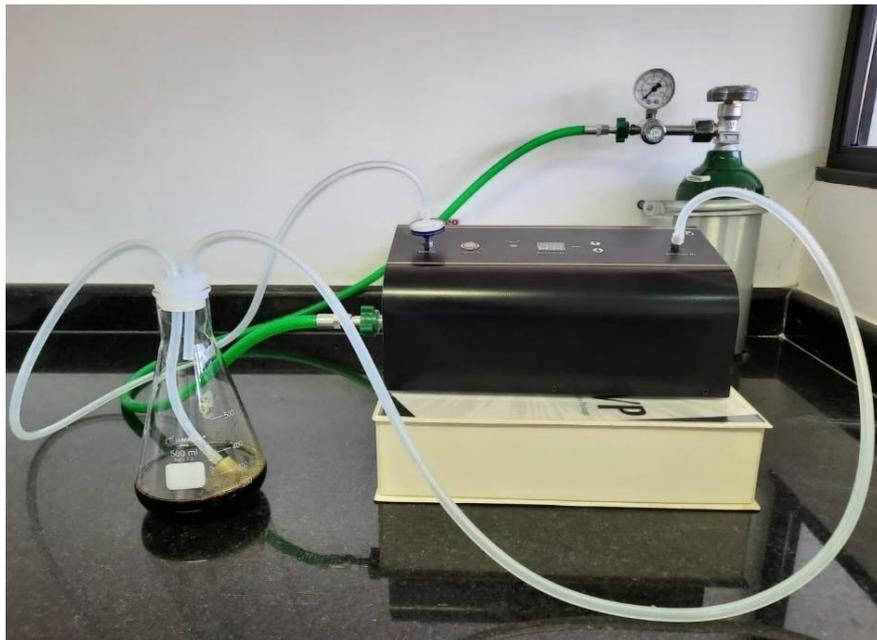
4.1. AMOSTRA VEGETAL

O óleo utilizado no estudo foi obtido do fruto de açaí refinado (CAS número 861902-11-6, Rain Forest 04410) adquirido comercialmente da empresa (Beraca Ingredientes Naturais AS, Brasil), o qual apresenta uma composição graxa de ácido palmítico (10-25%); ácido palmitoleico ($\leq 5\%$); ácido esteárico ($\leq 5\%$); ácido oleico (35-70%); ácido linoleico (5-25%) (Beraca Ingredientes Naturais AS, Brasil).

4.2. PROCESSO DE OZONIZAÇÃO

Uma alíquota de 150 mL de óleo de açaí foi submetida à ozonização por meio de um gerador digital de ozônio (O₃ Easy, Ozônio Line Indústria de Geradores de Ozônio, Brasil), sob a razão de fluxo de 250 mL/minuto \pm 50 mL/minuto; pressão de oxigênio de 3,5 kgf/cm² \pm 0,5 kgf/cm², injetando-se uma concentração de 70 μ g/mL de O₃, durante 4 horas (Figura 7). Após esse processo de ozonização, o óleo foi armazenado em frasco âmbar, protegido da luz e acondicionado em geladeira.

Figura 7: Processo de ozonização do óleo de açaí.



Fonte: a autora (2023).

4.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE AÇAÍ REFINADO E OZONIZADO

Com o intuito de determinar a qualidade do óleo e as concentrações dos subprodutos obtidos a partir do processo de ozonização, foi feita sua caracterização por meio de titulação, na qual foi avaliado o índice de peróxido conforme descrito por Zanardi e colaboradores (2008), e os índices de iodo e de acidez, de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (ANVISA, 2019). Ensaio em branco foi realizado em cada análise, sob as mesmas condições, porém sem a amostra.

4.3.1. Índice de peróxido (I_P)

O método utilizado para a determinação do índice de peróxidos foi retirado da Declaração de Madrid, disponibilizada pelo *International Scientific Committee of Ozone Therapy (3rd Edition)*, e sugeridas por Zanardi e colaboradores (2008), onde a extração por refluxo seria mais fidedigna ao limite de detecção dos peróxidos (através do aumento da temperatura e do tempo de reação). A metodologia foi adaptada também da Farmacopeia Brasileira (6ª Edição).

Dessa forma, o I_P foi analisado nos óleos de açaí refinado e no ozonizado. Para tal, foram pesados 0,5 g de cada amostra em um balão de fundo chato de 250 mL e, posteriormente, foi feita uma mistura de ácido acético glacial (B' Herzog, Varejo de Produtos Químicos Ltda, Brasil) e clorofórmio PA (Cromato Produtos Químicos Ltda, Brasil) nas quantidades de 24mL e 16mL, respectivamente. Foram adicionados 10 mL dessa mistura no balão contendo a amostra, sob agitação, até sua dissolução. Transcorrido este tempo, adicionou-se 1 ml de solução saturada de iodeto de potássio PA (Reagen, Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Brasil) (14g de iodeto de potássio em 8ml de água destilada), agitando vigorosamente durante 1 minuto. Em seguida, a solução foi colocada sob refluxo, em um balão de vidro de fundo redondo, onde foi acoplado um condensador, e este aparato foi colocado sob uma manta aquecedora na temperatura de aproximadamente 45 graus, durante 30 minutos. Após esse processo, aguardou-se a solução chegar à temperatura ambiente, aferida por intermédio de um termômetro, e assim foram adicionados 25 mL de água destilada, misturando bem. A titulação foi realizada com tiosulfato de sódio anidro P.A. (Vetec Química Fina Ltda, Brasil) 0,1 Mol/L, lentamente, e sob agitação constante, até que a coloração amarelada ficasse mais clara.

Posteriormente, foi preparada uma solução de amido (0,5g de amido em 50mL de água, dissolvidos sob aquecimento) acrescentando 1 ml dela à mistura, e o meio reacional assumiu uma coloração azul. A titulação continuou até que a cor desaparecesse. O índice de peróxido foi calculado a partir da Equação 1. O ensaio foi realizado em duplicatas.

$$PV = \frac{1000 \cdot (V_1 - V_0) \cdot c \cdot Fc}{m} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

PV = valor de peróxido (mEq/kg)

V_1 = consumo de 0,01 Mol/L ou 0,1 Mol/L da solução de tiosulfato de sódio no teste principal

V_2 = consumo de 0,01 Mol/L ou 0,1 Mol/L da solução de tiosulfato de sódio no teste do branco

c = concentração molar da solução de tiosulfato de sódio

Fc = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio

m = massa da amostra (em gramas)

4.3.2. Índice de iodo (I_i)

O índice de iodo (I_i) foi utilizado para determinar o teor de ácidos graxos insaturados em óleos e gorduras, sendo esses índices esperados de acordo com a quantidade de amostra, conforme observado na Tabela 1.

Tabela 1: Determinação dos Índices de Iodo esperados por quantidade de amostra

Índice Esperado I _i	Quantidade de amostra (g)
Inferior a 20	1,0
20-60	0,5-0,25
60-100	0,25-0,15
Superior a 100	0,15-0,10

Fonte: Farmacopeia Brasileira (6ª Edição).

Para isso, em um erlenmeyer de 250 mL, rinsado com ácido acético glacial, foram adicionados 5 g de amostra (óleo refinado ou ozonizado). Esta foi dissolvida em 15 mL de clorofórmio (Cromato Produtos Químicos Ltda, Brasil) e foram

acrescentados 25 mL de solução de brometo de iodo SR (13,2g de iodo dissolvidos em ácido acético glacial, completando o volume para 1000 mL com o mesmo solvente). O teor de iodo em 20 mL dessa solução foi determinado mediante titulação com tiossulfato de sódio 0,1M SV. Ao restante da solução de iodo (980 mL), foi adicionada quantidade de bromo equivalente ao iodo determinado. Em seguida, o recipiente foi mantido ao abrigo da luz, sob agitação frequente (manualmente), durante 30 minutos, à temperatura ambiente. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de solução de iodeto de potássio (Reagen, Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Brasil) a 10% (p/v) e 100 mL de água destilada. A solução foi titulada com tiossulfato de sódio 0,1 M (Vetec Química Fina Ltda, Brasil), até que a coloração amarelada quase desaparecesse. Nesse momento, foram adicionados 5 ml de solução de amido, e a titulação continuou, lentamente e com agitação manual, vigorosa e frequente, até que a solução perdesse a coloração. Para o cálculo do índice de iodo, usou-se a Equação 2. O ensaio foi realizado em duplicata.

$$I_i = 1,269 (n_2 - n_1) \cdot F_c / m \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

I_i = índice de iodo

n_2 = consumo de 0,01 Mol/L ou 0,1 Mol/L da solução de tiossulfato de sódio no teste do branco

n_1 = consumo de 0,01 Mol/L ou 0,1 Mol/L da solução de tiossulfato de sódio no teste principal

m = massa da amostra (gramas)

F_c = fator de correção do titulante

4.3.3. Índice de acidez (I_A)

O índice de acidez (I_A) expressa a quantidade de hidróxido de potássio (KOH) (Vetec Química Fina Ltda, Brasil) necessária para neutralizar os ácidos graxos livres em 1g de amostra, indicando o grau de hidrólise dos triglicerídeos. Para esse procedimento, foram pesados 10g da amostra, em triplicata, e colocados em Erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente, foi adicionada uma mistura de álcool etílico 96% (Vetec Química Fina, Brasil) e éter etílico (Vetec Química Fina, Brasil) para análise (PA) na proporção de 1:1 volume/volume. Essa solução foi neutralizada previamente com hidróxido de potássio (Vetec Química Fina, Brasil) 0,1 M, e como

indicador, utilizou-se 0,5 mL de solução de fenolftaleína SI (Riedel-de Haen Ag Seelze-Hannover, Alemanha) (0,1g de fenolftaleína dissolvida em 100g de álcool etílico a 80% v/v). Após a completa solubilização da amostra, ela foi titulada com solução de hidróxido de potássio 0,1M (Vetec Química Fina, Brasil), até o aparecimento da coloração rosa pálida, que deve ser persistente por no mínimo 15 segundos. Para o cálculo do I_A , usou-se a Equação 3.

$$I_A = \frac{5,610n}{m} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

I_A = índice de acidez

n = volume (mL) de hidróxido de potássio 0,1 M gasto na titulação;

m = massa de amostra (em gramas).

4.3.4. Densidade relativa

A densidade relativa é definida como a relação entre a densidade absoluta da amostra e a densidade absoluta de outra substância padrão (geralmente, água).

Para esta análise, pesou-se o picnômetro seco e sem amostra, em uma balança analítica, para obter o peso do mesmo. O peso da amostra foi obtido através da diferença de massa do picnômetro cheio (com óleo ou água) e vazio. A área externa do picnômetro foi limpa com acetona para tirar o excesso de óleo que escorre para a superfície externa pela expansão do óleo. A densidade relativa foi calculada por meio da razão entre a massa da amostra líquida e a massa de água (Equação 4):

$$D = m/M \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde:

D = densidade relativa,

m = massa da amostra líquida (g)

M = massa de água destilada (g)

4.3.5. Viscosidade

Para avaliação da viscosidade, aproximadamente 100 ml das amostras de óleo refinado e ozonizado foram colocados em um recipiente de vidro, e deixados em temperatura ambiente. Para análise, utilizou-se o viscosímetro Q860 M21 (QUIMIS Aparelhos Científicos, Brasil), escolhendo-se o spindle nº 4 (para viscosidade alta), que consiste em um rotor. Este foi mergulhado nas amostras, de forma a ficar submerso, sob uma rotação de 40 rpm, durante 5 minutos. A leitura foi exibida na tela do aparelho, e foi medida em milipascal (mPa.S).

4.3.6. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Na reação de ozonização, com o intuito de se identificar grupos funcionais envolvidos, o óleo vegetal (tanto refinado quanto ozonizado) foi caracterizado de forma qualitativa e quantitativa por meio da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C (Barison et al., 2010) e por infravermelho (CHRISTY; EGEBERG, 2006). Foi possível, através dessa técnica, propor a composição, expressa por meio de porcentagem, de acordo com deslocamento químico característico de cada ácido graxo no triglicerídeo.

As análises foram realizadas utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) (Sigma Aldrich, EUA) como solvente; os espectros foram obtidos em um espectrômetro (BRUKER AVANCE III 500 MHz), e os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados em partes por milhão (ppm) em relação ao sinal do tetrametilsilano (TMS), que é utilizado como padrão de referência, pois tem um deslocamento químico baixo. Para obtenção dos espectros, entre 5 e 10 mg de amostra de óleo foi solubilizada em 500 μL de CDCl_3 e transferida para tubos de RMN de 5 mm. Os espectros de ^1H e ^{13}C RMN foram obtidos à temperatura ambiente. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos através do aparelho Bruker Alpha, utilizando disco de cloreto de sódio (NaCl). As frequências de absorção foram expressas em cm^{-1} na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} .

4.3.7. Atividade antimicrobiana dos óleos

Com o intuito de se determinar se os óleos em questão exibiam atividade antimicrobiana, foram testadas 3 amostras: óleo refinado; óleo ozonizado OZ1 (primeira ozonização) e óleo ozonizado OZ2 (após 1 mês de ozonização, para verificar a estabilidade), em 3 espécies de microrganismos de referência, provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC), adquiridas a partir da Fundação André Tosello (Quadro1). As cepas foram identificadas por métodos microbiológicos e bioquímicos segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003).

Quadro 1: Cepas de referência, utilizadas no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida/Fungicida Mínima (CBM/CFM) e classificadas pela coloração de Gram.

Coloração de Gram	Cepas de referência
Gram-positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Gram-negativas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Levedura	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231

Fonte: a autora (2023).

4.3.7.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM); Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para se determinar a CIM, CBM e CFM, foi utilizado o protocolo M27-A do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2002) para a cultura das bactérias e da levedura. Essas culturas dos microrganismos utilizados no estudo foram realizadas no laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular (LABiEMol), da Universidade Federal Fluminense (UFF).

Foi realizada a análise quantitativa da atividade antibacteriana e antifúngica dos materiais de interesse (óleo refinado; óleo ozonizado 1; óleo ozonizado 2) através do teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) e a respectiva comparação com os controles positivos (ciprofloxacino e vancomicina para as bactérias e itraconazol para as leveduras).

As culturas de microrganismos foram mantidas a 4°C em ágar nutriente (AN). As amostras foram recuperadas em caldo Mueller-Hinton (MH) para bactérias e caldo Caseína Soja (TSA) para levedura, e incubadas sem agitação durante 24 horas a 36°C. Posteriormente, os inóculos foram repicados em placas de ágar *Tryptic Soy Agar* (TSA) para bactérias e ágar *Sabouraud Dextrose* (SDA) para leveduras. Foram preparadas suspensões de cultura, diluídas em solução salina 0,85% utilizando a escala de 0,5 de MacFarland com auxílio de espectrofotômetro (Multiskan Go-1510, Termo Fisher Scientific-EUA), até a obtenção de aproximadamente 5×10^5 Unidades Formadoras de Colônia (UFC.mL⁻¹) para bactérias e $2,0 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ para levedura. A suspensão de bactérias foi padronizada em 625 nm para a faixa de absorvância de 0,08 a 0,13; a levedura foi padronizada em 530 nm para a faixa de absorvância de 0,08 a 0,1. Uma alíquota de 100 µL dessa diluição foi adicionada aos poços de teste da microplaca (CLSI, 2012).

A solução estoque do óleo foi preparada na concentração de 30720 µg/ml para que, após diluição de 20 vezes, de forma que atingisse a concentração inicial de 1536 µg/mL, e os cálculos foram realizados baseados no componente majoritário (aldeído) presente na análise do óleo refinado por RMN (68,42%). O preparo da solução foi feito nas seguintes proporções: 44,91 µL do óleo; 18,5 µL de tween; 18,5 µL de DMSO e 918,09 µL de meio. Foi utilizado um volume de DMSO+tween equivalente a 83% do volume de óleo pipetado para solubilização. Foram testadas 12 concentrações a partir de diluições seriadas na placa, e essa faixa de concentrações foi de 1536 a 0,75 µg/mL.

Para a realização dos ensaios microbiológicos, foram utilizadas microplacas estéreis de 96 poços, às quais foram adicionados 100 µL das diluições dos compostos na faixa de 1536 a 0,75 µg/mL para o ensaio com bactérias; 1536 a 12 µg/mL para o ensaio com *C. albicans* e 100 µL de caldo Mueller-Hinton inoculado com o número de UFCs adequados do microrganismo. O controle negativo consistiu de 100 µL do mesmo meio de cultura inoculado e quantidade suficiente de meio não inoculado para perfazer 200 µL. O controle de esterilidade foi preparado pela adição de 200 µL de meio não inoculado. Os fármacos vancomicina e ciprofloxacino foram utilizados como controle positivo nas concentrações de 0,008 a 32 µg/mL e itraconazol de 0,016 a 32 µg/mL. As microplacas, tanto para fungos quanto para

bactérias foram incubadas a 35 ± 2 °C de 24h a 48h em estufa bacteriológica (NT522, Novatécnica Equipamentos para Laboratório, Brasil).

A CIM foi estabelecida como a menor concentração na qual não foi verificada presença de turvação do meio de cultura. Os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{g/mL}$.

A partir dos poços do ensaio de determinação da CIM, nos quais não se evidenciou crescimento bacteriano ou fúngico, foi retirada alíquota de 10 μL , a qual foi adicionada a 200 μL de caldo *Tryptic Soy* (TSB) em placas de 96 poços estéreis. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica, a 35 °C durante 24 horas. A CBM e a CFM foi estabelecida como a menor concentração na qual não foi verificada presença de turvação do meio de cultura.

4.3.8. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos óleos vegetais de açaí (refinado e ozonizado) foi avaliada pelo método de sequestro de espécies reativas de oxigênio, através da redução do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH; *Sigma Aldrich Chemistry*, EUA), descrito por Sreejayan e Rao (1996), com modificações. Uma solução de DPPH foi preparada na concentração de 0,05 mM por meio da pesagem de 1 mg de DPPH, o qual foi solubilizado em 50 mL de etanol absoluto (99,5%) para análise (PA) (Cromato Produtos Químicos LTDA, Brasil).

Realizou-se a solubilização de 10 μL das amostras (óleos vegetais) em etanol absoluto (99,5%) para análise (PA), almejando soluções-estoques iniciais de 250 $\mu\text{g/mL}$, a partir das quais sucessivas diluições foram feitas na proporção de 1:2 (v/v), utilizando de etanol absoluto para análise como diluente. Em microplacas de 96 poços, alíquotas de 50 μL de cada uma das diferentes concentrações das substâncias foram adicionadas a 150 μL da solução de DPPH. Ao término do processo, foram obtidas, nas placas, concentrações-teste nas faixas de 0,122 a 250 $\mu\text{g/mL}$. Para cada uma das concentrações, o branco da amostra foi preparado com 150 μL de etanol absoluto e 50 μL da solução-teste, com a finalidade de excluir possível interferência proveniente da coloração da amostra.

As microplacas foram agitadas em agitador magnético, para que ocorresse a homogeneização das substâncias. Em seguida, elas foram deixadas em repouso, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, por 30 minutos. Passado esse período, a

leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro (Multiskan Go-1510, Termo Fisher Scientific) no comprimento de onda fixo de 510 nm. O ácido L-ascórbico (*Sigma Aldrich Chemistry*, EUA) foi utilizado como controle positivo. Quanto menor a absorvância maior a atividade antioxidante frente ao DPPH. A atividade antioxidante de todas as concentrações para cada substância foi calculada através da Equação 5:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{controle}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \text{ (Eq. 5)}$$

Sendo: A_{amostra} = o valor da absorvância da solução contendo a amostra mais o DPPH; A_{controle} = equivale ao valor da absorvância mais o etanol; e A_{DPPH} : equivale à solução etanólica de DPPH.

4.4. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO

4.4.1. Composição qualitativa e quantitativa do produto

Testes preliminares com formulações variadas foram realizados até se obter a melhor formulação, a qual foi armazenada na embalagem plástica de *lipstick*, protegida da luz e do calor. Para esta formulação, a composição qualitativa e quantitativa do bálsamo labial incluiu o uso de cera de carnaúba (3,26g); cera de abelha (1g); manteiga de cupuaçu (3,69g); manteiga de tucumã (1,3g) e óleo de açaí (0,75g). Todos os insumos (Quadro 2) foram pesados em balança analítica (Shimadzu Corporation AX200, Japão), fundidos em chapa aquecedora, em ordem decrescente dos seus pontos de fusão, sendo que o óleo foi acrescentado por último e com a temperatura um pouco mais baixa, abaixo de 40 graus, para evitar a degradação de possíveis constituintes ativos. Após a fusão e mistura completa dos ingredientes, o conteúdo foi transferido para a embalagem, o qual foi deixado 24 horas em repouso para total endurecimento. Os testes propostos nesta tese foram realizados apenas com a formulação otimizada.

Quadro 2 – Pontos de fusão dos componentes do bálsamo labial.

COMPONENTES DA FORMULAÇÃO		
Ingrediente	Ponto de fusão (°C)	Peso (g)
cera de carnaúba	75-78	3,26
cera de abelha	54-59	1,0
manteiga de cupuaçu	31-33	3,69
manteiga de tucumã	29-30	1,3
óleo de açaí ozonizado	não se aplica	0,75

Fonte: a autora (2023).

4.4.2. Avaliação organoléptica

As características organolépticas determinam os parâmetros de aceitação do produto pelo consumidor. De um modo geral, avaliam-se: aspecto, cor e odor (BRASIL, 2004). As amostras foram analisadas visualmente a olho nu, contra um fundo branco, com o intuito de verificar alterações. Essa observação foi feita imediatamente após a confecção do bálsamo labial, e consecutivamente durante 30 dias após sua produção, sendo mantidas em temperatura ambiente.

4.4.3. Controle de qualidade físico-químico

Os seguintes ensaios foram realizados, utilizando-se método da Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019) e/ou testes já descritos em na literatura científica, e em termos de comparação com outro produto, foi utilizado o hidratante labial da NIVEA®, pois é uma empresa já bastante consolidada, e que segue os testes de padrão de qualidade solicitados pela agência reguladora.

4.4.3.1. Determinação do pH

O pH da amostra (*bálsamo labial*) foi determinado com auxílio de uma fita indicadora (Macherey-Nagel, pH-fix 0-14, Alemanha), que foi mergulhada na amostra fundida. Após um minuto, a coloração indicada na fita foi comparada à

escala padrão, para a obtenção do pH da formulação. Este procedimento foi realizado em triplicata e também para o bálsamo labial da NIVEA®.

4.4.3.2. *Teste do aquecimento*

A fim de verificar se a formulação passaria pelo teste de estresse térmico e resistiriam sem deformação da bala, após sua confecção, triplicatas independentes da amostra foram mantidas em temperatura ambiente durante 24 horas, para que atingissem a completa cristalização e organização da sua estrutura. Após esse período, os bálsamos labiais foram expostos (colocados para fora da embalagem) e acondicionados em estufa, sob a temperatura de 55 °C, durante 24 horas. Os mesmos foram apoiados em um suporte, na posição vertical, e abaixo deles foi colocada uma folha de papel para verificar se houve amolecimento ou derretimento da amostra sobre ela. A embalagem da amostra do bálsamo labial padrão (NIVEA®) também foi colocada em estufa para a realização do teste.

4.4.3.3. *Ponto de fusão*

O ponto de fusão (PF) é realizado com o intuito de se verificar o momento em que um produto passa do estado sólido para o líquido. Sendo assim, essa análise da amostra foi feita por meio de um aparelho digital de ponto de fusão (MQAPF – 302 – *Microquímica Equipamentos Ltda*). Uma quantidade de aproximadamente 0,5g da amostra teste e outra do padrão são colocadas sobre a placa de aquecimento do aparelho, e este é aquecido até atingir 10 °C abaixo do ponto de fusão esperado (como o *bálsamo labial* é constituído por uma mistura de ceras e manteigas, foi considerado o ingrediente que possuía maior PF). Em seguida, a temperatura foi aumentada a uma velocidade de 1 °C ± 0,5°C/minuto, até a completa fusão.

4.4.3.4. *Colorimetria*

A análise da colorimetria foi realizada em comparação com o padrão, através de espectrocolorímetro (Chroma Meter CR-400, EUA), onde a calibração do aparelho foi feita com os padrões de claro e escuro, e a formulação, em triplicata, foi submetida à avaliação de cor. Para isso, as amostras foram aquecidas até sua

completa fusão, transferidas para uma placa de Petri de vidro, e após sua solidificação, as leituras foram feitas em três diferentes pontos, escolhidos de forma aleatória.

O equipamento utilizado expressa a cor em um sistema de coordenadas tridimensional $L^* a^* b^*$, classificada como um espaço de cor, que tem como objetivo, expressar a cor de um objeto por meio de números. Esse sistema é recomendado pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (1981), organização que é considerada autoridade na ciência de luz e cor.

Nesse espaço de cor, a medida de luminosidade da amostra no eixo vertical claro-escuro é representada pelo L^* , sendo $L^*=0$ totalmente preto, e $L^*=100$ totalmente branco. O a^* e b^* são coordenadas cromáticas, em que o valor de a^* determina a posição no eixo vermelho-verde, onde os valores mais positivos indicam tonalidades avermelhadas, e os negativos as esverdeadas. O b^* determina a posição no eixo azul-amarelo, onde quanto mais positivo mais azuladas, e quanto mais negativo, mais próximas do amarelo (TRUJILLO et al., 1996; GOSHIYAMA, 2019).

4.4.3.5. *Peso médio*

Este parâmetro identifica se houve uma padronização na quantidade de amostra adicionada na embalagem, mesmo que de forma manual. Para a realização do teste do peso médio foram pesadas dez embalagens de bálsamo labial vazias. As embalagens (frasco batom *lipstick*) escolhidas para serem utilizadas para o produto desenvolvido são de polietileno de alta densidade, na cor branca e com tampa de pressão, com capacidade de 4,5g cada. As mesmas foram pesadas vazias em balança analítica, sendo determinado o peso médio delas nessas condições. Em seguida, pesou-se quantidade de matéria prima suficiente para a produção de dez bálsamos labiais. Após a fusão de todos componentes, iniciou-se o processo de envase com o auxílio de uma pipeta volumétrica. Para isso foi padronizado o volume de 4,2 mL, pois esse era o volume que enchia completamente a embalagem e ainda formava o menisco externo à embalagem. Posteriormente, as formulações foram deixadas solidificar por 24 horas, para em seguida serem pesadas novamente. A diferença de peso entre a embalagem contendo a formulação, e a embalagem vazia

foi feita para as dez amostras. Os resultados foram expressos por meio da média, desvio padrão e coeficiente de variação.

4.4.3.6. *Espalhabilidade*

Este experimento foi realizado de acordo com os parâmetros propostos por Fernandes e colaboradores (2013), com algumas modificações. Assim sendo, 0,036 g da formulação em teste e do bálsamo labial referência (NIVEA®) foram pesadas e aplicadas, em temperatura ambiente, sobre uma placa vidro incolor, e espalhada manual e repetidamente, com auxílio de uma dedeira de látex. Dessa forma, observaram-se visualmente as características da película formada, considerando-se critérios como: uniformidade, presença de fragmentos, a opacidade da película e, adicionalmente, a dificuldade na espalhabilidade. Foram classificadas como:

BOM- aplicação uniforme/ boa espalhabilidade/ não deixa grumos;

INTERMEDIÁRIO- aplicação razoável/ espalhabilidade mediana/ deixa alguns grumos;

RUIM- aplicação difícil/ espalhabilidade ruim/ muitos grumos.

4.4.3.7. *Oclusividade*

O teste para determinação do fator de oclusividade, recomendado por Wissing & Müller (2002) e Teeranachaideekul e colaboradores (2008), é realizado para verificar a capacidade dos hidratantes labiais de formar uma película oclusiva, como forma de evitar a perda de água para o ambiente, conferindo hidratação aos lábios. Para isso, foram considerados os pesos de água dos copos tampados com o papel de filtro, os quais continham: as triplicatas da amostra em teste; o bálsamo labial usado como padrão de referência, e também o copo sem formulação aplicada (SF), para controle positivo.

A determinação do efeito oclusivo do *bálsamo labial* foi realizada empregando copos de plástico (de 180 mL e diâmetro de 7,2 centímetros) preenchidos com 135 mL de água destilada. Uma alíquota da formulação-teste foi espalhada homogeneamente (13,3 mg/cm²) com auxílio de uma dedeira de látex, em um papel de filtro, que posteriormente foi utilizado para cobrir os copos. Cinco sistemas foram

montados, a saber: três para a formulação inovadora, um para uma amostra de *bálsamo labial* referência e uma para o branco (no qual nenhuma amostra foi aplicada). Esses copos com água e papel filtro foram inicialmente pesados, mantidos em estufa a 40 °C por 6, 24 e 48 horas após o início do teste. O fator de oclusão (F) para cada produto foi calculado de acordo com a seguinte Equação 6:

$$F = \frac{A-B}{A} \times 100 \text{ (Eq. 6)}$$

Sendo que: “A” representa a perda de água sem a amostra (branco); “B” é a perda de água do copo com a amostra.

4.4.3.8. Ponto de gota

A determinação do ponto de gota é efetuada com o intuito de verificar a temperatura em que a amostra passará do estado sólido para o líquido. Dessa forma, de acordo com Sarruf (2013) as amostras foram aquecida até sua completa fusão, e o bulbo de um termômetro (-10°C a 110°C) foi mergulhado nessa mistura e rapidamente retirado, de modo que uma película fina e sólida tenha sido formada em volta dele. Em seguida, o termômetro foi colocado em um tubo de ensaio vazio, e este aparato foi colocado em um béquer grande contendo água, que ficou sob uma manta aquecedora e com agitação magnética, em placa aquecedora IKA® C-MAG HS 7, na máxima velocidade do equipamento, até ocorrer o desprendimento da primeira gota do bulbo. A temperatura do momento do desprendimento foi registrada como ponto de gota (Figura 8).



Figura 8. Aparato montado para determinação do ponto de gota do bálsamo labial.

Fonte: a autora (2023).

4.4.3.9. Avaliação da estabilidade

Os parâmetros organolépticos cor, odor, aspecto e sensação ao toque do bálsamo labial foram observados semanalmente a olho nu, assim como também foram determinados alguns padrões físico-químicos, tais como o pH, através do uso de fita indicadora, e espalhabilidade da amostra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO E OZONIZAÇÃO DO ÓLEO VEGETAL

O óleo de açaí amazônico apresenta propriedades sensoriais únicas e os seus potenciais benefícios à saúde, pode ser considerado um subproduto valioso. Tem sido muito procurado por diversos segmentos industriais (alimentício, cosmético e farmacêutico), tanto nacional quanto internacionalmente (PACHECO-PALENCIA, MERTENS-TALCOTT & TALCOTT, 2008).

As propriedades conhecidas do fruto do açaí são observadas também em seu óleo, que em sua forma refinada já apresenta benefícios antioxidantes, anti-inflamatórios e hidratantes, exercendo potencial cicatrizante e de regeneração da barreira cutânea conforme citado por diversos autores (PETRUK et al., 2017; CEDRIM et al., 2018; LIRA et al., 2021). No entanto, como uma forma de potencializar essas propriedades, o processo de ozonização surge como uma estratégia inovadora, que possa intensificar a absorção de compostos ativos através da pele, além da possibilidade de adição de outras propriedades ao óleo, pelo fato de ser um composto altamente oxidante, onde os subprodutos da ozonização, como peróxidos, hidroperóxidos, ozonídeos e cetonas, são capazes de exercer uma ação antimicrobiana de amplo espectro, devido ao seu alto poder oxidante (TRAVAGLI; ZANARDI; BOCCI, 2009; SILVA et al., 2021).

Os resultados de caracterização físico-química (viscosidade, densidade relativa, índices de peróxidos, iodo e acidez) dos óleos vegetais de açaí refinado e ozonizado encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Caracterização físico-química dos óleos de açaí refinado e ozonizado.

Óleo	Viscosidade (mPa.S)	Densidade relativa (g/cm ³)	Índice de peróxidos (mEq/Kg)	Índice de iodo (g I ₂ /100g)	Índice de acidez (mEq KOH/g)
Refinado	116,3	0,9170	86,74 ± 0,18	80,36 ± 0,17	4,56 ± 0,04
Ozonizado (réplica 1)	241,9	0,9402	634,23 ± 0,73	76,81 ± 0,17	8,62 ± 0,01
Ozonizado (réplica 2)	275,4	0,9292	867,47 ± 1,88	71,73 ± 0,56	11,28 ± 0,11

Índices de Peróxido, Acidez e Iodo *p>0,001 (teste t Student). Fonte: a autora (2023).

A ozonização gera uma mudança na estrutura química dos óleos, a qual pode ser identificada por meio de testes de titulação, como os que são utilizados para detecção dos índices de peróxido, acidez e iodo, que indicam seu grau de saturação. Sendo assim, após a injeção de 70 µg/mL de O₃ em 150mL de óleo, foi observado um aumento significativo na viscosidade e nos índices de peróxido e acidez das duplicatas realizadas, em comparação ao óleo refinado, corroborando com a literatura (RADZIMIERSKA-KAŻMIERCZAK, 2021). Travagli e colaboradores (2010) indicaram que quanto maior o tempo de exposição do óleo ao ozônio, maior seria sua viscosidade. Esse marcador, assim como a densidade, índice de peróxidos e acidez, indicam a presença de subprodutos com alto poder oxidativo, e o aumento desses valores ocorrem devido à decomposição de compostos peroxílicos. O índice de peróxido (IP) é um método bastante utilizado para determinar o estado de oxidação de óleos e gorduras, pois peróxidos e hidroperóxidos são os primeiros componentes a serem formados após a quebra de ligações insaturadas, processo que acontece após a ozonização, sendo expresso em miliequivalentes (mEq) de oxigênio ativo (ANVISA, 2019).

Outro marcador importante para a caracterização do óleo é o índice de iodo, onde foi observada uma redução dele em comparação ao óleo refinado, pois são indicativos de que aconteceu uma redução das ligações insaturadas presentes no meio, através da quebra das duplas cadeias lipídicas do óleo refinado, sendo esses índices importantes para determinar se o processo de ozonização realmente

ocorreu. Esses dados corroboram com outros trabalhos, como o de Georgiev e colaboradores (2015), e Radzimierska-Kazmierczak (2021), que identificaram os mesmos padrões no óleo de oliva ozonizado.

No processo de ozonização, a densidade do óleo também muda significativamente, devido à quebra das ligações insaturadas dos ácidos graxos. Sendo assim, a densidade do óleo pré ozonização (refinado) e pós ozonização (réplicas 1 e 2) foi determinada, e os valores indicaram que houve um leve aumento no óleo ozonizado em comparação ao refinado, devido à mudança na sua estrutura. Sendo que esse é um parâmetro importante a se considerar em formulações cosméticas, pois pode influenciar diretamente em fatores a serem determinados, tais como oclusividade e espalhabilidade (RADZIMIERSKA-KAZMIERCZAK, 2021).

Sabe-se que para garantir a eficiência do processo de ozonização, alguns fatores devem ser considerados, tais como: o tipo de gerador de ozônio a ser utilizado; tempo de exposição, e a forma como ele será aplicado. Alguns autores também já apontaram outro fator que é capaz de influenciar, tal como a utilização de O₂ medicinal, que pode conter uma concentração alta de nitrogênio, gerando subprodutos nitrados potencialmente tóxicos (NAPOLITANO et al., 2004). Dessa forma, a quantidade de ozônio injetada no óleo influencia diretamente na sua atividade biológica, pois a concentração de seus subprodutos é determinante para seus alcançar esses benefícios, conforme citado por Diaz e colaboradores (2006).

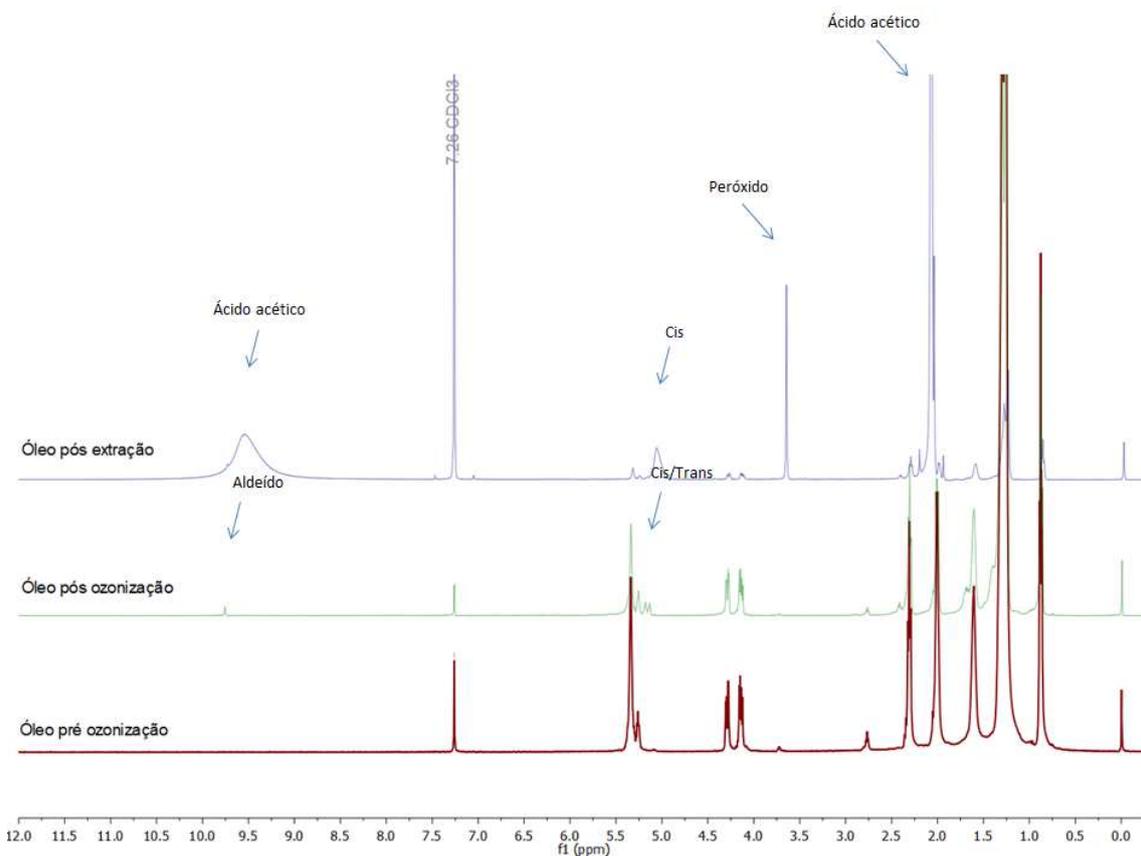
5.1.1. *Ressonância Magnética Nuclear (RMN)*

Com relação à análise da composição de óleos vegetais, o método de RMN de ¹H auxilia na identificação do perfil de ácidos graxos saturados e insaturados, além dos compostos provenientes de sua degradação, tais como peróxidos, entre outros (ALEXANDRI et al., 2017).

Dessa forma, foi feita a análise dos óleos pré-ozonização (refinado), pós ozonização e pós-ozonização com extração por refluxo, através do método de RMN. Os sinais emitidos confirmam os indícios de que realmente ocorreu o processo de ozonização, conforme observado através dos testes de titulação, onde pode-se observar que houveram mudanças na estrutura do óleo. Na análise de RMN, observa-se a presença de sinais *cis* e *trans*, e sinal de aldeído nas amostras do óleo ozonizado, além de sinais de peróxido no óleo ozonizado com extração por refluxo,

corroborando com a literatura (TRAVAGLI; ZANARDI; BOCCI, 2009; SILVA et al., 2021). No entanto, no óleo pós-extração houve uma sobreposição de sinais, que pode ser atribuída ao ácido acético que estava presente na solução, mas mesmo assim, houve indício da presença de aldeído.

Figura 9. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) nas amostras de óleo pré-ozonização (refinado); pós-ozonização e pós ozonização com extração por refluxo.



Fonte: a autora (2023).

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) se baseia na interação da matéria com a radiação eletromagnética, através da absorção e reemissão dessa radiação pelo núcleo dos átomos presentes em uma amostra. É uma técnica utilizada para identificação e quantificação de estruturas de carbono-hidrogênio de compostos orgânicos. Alguns núcleos atômicos possuem

propriedades de Spin e momento magnético, onde podem ser levados a um deslocamento de seus níveis de energia quando expostos a um campo magnético intenso, como a descarga de corona. Ao sofrerem relaxamento e retornarem ao seu estado de origem, esses spins irão emitir sinais eletromagnéticos, onde o espectrômetro de RMN irá registrar a frequência do sinal versus a intensidade (RUIZ BENITEZ, 2020). A intensidade desse sinal é determinada por meio da medição da área sob um sinal, o qual é representado pela integral, sendo esse sinal diretamente proporcional aos núcleos que o constituem (BARDING; SALDITOS; LARIVE, 2012).

Consiste em uma técnica analítica qualitativa e quantitativa, com aplicações nas áreas médica (LOPES, 2015), farmacêutica (FERREIRA, 2014), química (TEIXEIRA, 2017), na indústria de alimentos (SANTANA, 2017), entre outras, com o intuito de elucidar a estrutura de compostos sintéticos e naturais. Sua utilização tornou-se uma ferramenta importante para a análise de diversos materiais, sem provocar alterações na estrutura deles (DONOSO, 2013), conforme pode ser observado no trabalho de Terskikh e colaboradores (2005), que utilizaram a espectroscopia de RMN para identificar a composição de ácidos graxos em sementes, de uma forma não destrutiva.

Conforme já observado, a oxidação dos óleos gera mudanças em sua estrutura. Nesse sentido, o trabalho de Knothe (2006) corrobora com tal constatação, tendo analisado a estabilidade do biodiesel após exposição ao oxigênio. De acordo com o autor, confirmou-se que o tempo de exposição e o tamanho da superfície de contato com o gás afetam sua composição graxa, aumentando assim o grau de insaturação e viscosidade do óleo.

De forma mais detalhada, no presente trabalho, comparando os espectros das amostras do óleo de açaí pós ozonização, observou-se um aumento dos sinais de ^1H , e a presença de isômeros *cis* e *trans* ozonídicos, além de aldeídos [sinal em δ 5,13 ppm (*trans*) – 0,38/ sinal em δ 5,08 ppm (*cis*) – 0,43/ sinal em δ 9,75 ppm (aldeído) – 0,13], os quais foram determinados por meio da integral desses sinais. Confirmou-se também a ocorrência do processo de ozonização por meio da análise de RMN ^{13}C , que apresentou sinal a 104 ppm referente ao carbono do anel de 1,2,4-trioxolano (TIĞLI AYDIN; KAZANCI, 2018).

Comparando-se as amostras pós ozonização e pós extração por refluxo, constatou-se que estas apresentaram informações semelhantes obtidas pelo RMN

de ^1H . Também na análise, observou-se um sinal em 9,54 ppm que pode ser atribuído, sem precisão, ao aldeído ou OH do ácido acético.

Outra observação é o aparecimento do sinal em 3,64 ppm que pode ser atribuído, mas também sem precisão, a hidrogênio de carbonos próximo ao oxigênio de peróxidos. Porém a multiplicidade desse sinal não está bem definida, assim como o fato do espectro de ^{13}C não apresentar uma boa relação sinal ruído, e estes podem ser justificados pela amostra estar diluída (GEORGIEV et al., 2013).

5.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os microrganismos foram selecionados de forma a verificar se o óleo poderia exercer ação antimicrobiana em espectros variados, como na bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, e que é comumente encontrada na microbiota da pele; na bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, e na levedura *Candida albicans*.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada por meio do método de microdiluição em ágar, utilizando microrganismos de referência como *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, e fármacos com ação já determinadas contra esses microrganismos servindo como controles positivos. Dessa maneira, foi avaliado se o óleo de açaí (refinado e ozonizado) poderia desempenhar alguma atividade antimicrobiana. No entanto, observou-se que mesmo na maior concentração utilizada, tanto o óleo refinado quanto o ozonizado não inibiram o crescimento dos microrganismos testados (Tabela 4).

Tabela 4: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos de interesse.

COMPOSTO	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
Óleo refinado	CIM > 1536	CIM > 1536	CIM > 1536
Óleo ozonizado	CIM > 1536	CIM > 1536	CIM > 1536
Vancomicina	CIM = 32	-	-
Ciprofloxacino	-	CIM = 0,5	-
Itraconazol	-	-	CIM = 0,125

Resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$.

Fonte: a autora (2023).

Os resultados da ação antimicrobiana dos fármacos de referência foram obtidos a partir do método de microdiluição em caldo, e podem ser verificados na Tabela 5.

Tabela 5: Determinação da ação antimicrobiana dos fármacos de referência.

FÁRMACO	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
Vancomicina	32,0 (bacteriostático)	-	-
Ciprofloxacino	-	1,0 (bactericida)	-
Itraconazol	-	-	32,0 (fungistático)

Resultados expressos em µg/mL.

Fonte: a autora (2023).

Travagli e colaboradores (2009) e Kumar e colaboradores (2016) já observaram a ação antimicrobiana de óleos ozonizados, atribuindo essa atividade à produção de moléculas como os ozonídeos, liberação de peróxidos e outros subprodutos provenientes da ozonólise, os quais são capazes de danificar estruturas celulares de microrganismos, como membranas, citoplasma e enzimas. Esse efeito biocida dos óleos é importante, visto que os microrganismos não desenvolveram ainda um mecanismo que os protegesse da ação do O₃, dessa forma pode ser usado como uma alternativa para tratamento de infecções com bactérias multirresistentes (DE OLIVEIRA et al., 2017; VAROL; BIRDANE; KELES, 2018).

Considerando esse efeito, Lu e colaboradores (2018) observaram uma melhora significativa quando aplicado óleo de camélia ozonizado sob lesões provenientes de dermatite atópica, infectadas por *S. aureus*, indicando um efeito potencialmente inibidor da colonização bacteriana. Corroborando com esses resultados, o trabalho de Palacios e Rubiano (2016) também comprovou a ação antibacteriana de óleos ozonizados perante diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, indicando uma inibição do crescimento bacteriano de 99,10%.

Ainda nesse sentido, Elshinawy e colaboradores (2018) demonstraram que o óleo de oliva ozonizado apresentou um potencial antimicrobiano alto, capaz de

reduzir a adesão celular de microrganismos, diminuindo conseqüentemente a formação de biofilmes. Da mesma maneira, o trabalho de Radzimierska-Kaźmierczak (2021) utilizou óleo de oliva ozonizado na concentração de 0,04 mol de O₃ em 100ml de óleo, e observou uma inibição do crescimento das bactérias *S. aureus*, *P.aeruginosa* e *C. albicans*.

Sabe-se que essa ação é alcançada quando há uma concentração maior de peróxidos e outros compostos oxigenados. Sendo assim, o valor desse índice é diretamente proporcional ao grau de insaturação dos óleos, e o tempo de ozonização é determinante para a quebra dessas ligações insaturadas, conforme observado no trabalho de Moureu e colaboradores (2015). O tipo de microrganismo também pode influenciar nessa ação, conforme citado no por Skalska e colaboradores (2008), que demonstraram uma sensibilidade diferente de algumas espécies ao óleo ozonizado de girassol. Por exemplo, bactérias gram-negativas como a *E. coli* e o fungo *C. albicans* foram mais resistentes à ação do óleo ozonizado do que a bactéria Gram-positiva *B. subtilis*, sugerindo que a estrutura da parede celular desses microrganismos pode influenciar nesse processo, levando a crer que bactérias Gram-positivas são mais susceptíveis, no entanto já foram observados casos contrários.

Com o processo de ozonização, esperava-se que o óleo de açaí apresentasse propriedades antimicrobianas, estando de acordo com a ozonização de outros óleos, conforme citado na literatura. Isso seria um fato importante também para garantir uma maior estabilidade ao produto final (bálsamo labial), reduzindo a adição de conservantes em sua formulação, e contribuindo também para manutenção da integridade labial e proteção contra possíveis microrganismos invasores (ARQUETTE, 1998). No entanto, na concentração utilizada de 70 µg/mL de O₃, obtida por meio de um aparelho medicinal, apesar de ter sido obtido um índice de peróxido de $867,47 \pm 1,88$, estando esse valor dentro do nível médio determinado pela Declaração de Madrid, não foi possível observar atividade antimicrobiana.

Sendo assim, acredita-se que a concentração de ozônio injetada no óleo de açaí, e a formação dos subprodutos provenientes da ozonólise, os quais são responsáveis pelas atividades biocidas do óleo, não atingiram valores suficientes para desempenharem tal ação nos microrganismos utilizados como referência, mesmo nas maiores concentrações. E talvez, se tivesse sido utilizado um aparelho

industrial, índices maiores poderiam ter sido atingidos, e possivelmente seriam eficazes contra os microrganismos testados.

5.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

No presente estudo, tanto o óleo de açaí refinado quanto o ozonizado, não apresentaram ação antioxidante dose-dependente, impossibilitando o cálculo da concentração efetiva de 50% (CE₅₀), que corresponde à concentração necessária para consumir 50% dos radicais livres presentes no DPPH. No trabalho em questão, a atividade antioxidante do óleo de açaí refinado ficou numa faixa compreendida entre 9,1 a 17,6%, e do óleo ozonizado ficou na faixa de 8,8 a 18,5%, o que normalmente é uma faixa comum para óleos vegetais, devido ao seu perfil lipídico e estrutura química.

A capacidade antioxidante do fruto vem sendo investigada por diversos autores, pois se considerando os componentes presentes na constituição do açaí, destacam-se os compostos fenólicos como as antocianinas e carotenoides, que além de serem pigmentos naturais que adicionam cor aos alimentos, possuem propriedades antioxidantes que podem estar associadas à prevenção de doenças e envelhecimento (YAHIA, 2011). Conforme citado por DEGASPARI (2002), a ação antioxidante no fruto do açaí foi superior (500mg/100g do fruto) à de outros frutos que sabidamente possuem uma concentração alta desses compostos, tais como a amora (345mg/100g); uva preta (356,96mg/100g) e morango (15-35mg/100g). O papel antioxidante das antocianinas na prevenção e combate ao envelhecimento cutâneo também vem sendo investigado pela indústria de cosméticos, para avaliar se os benefícios que são observados por meio da sua ingestão também podem ser aproveitados por intermédio da sua incorporação em formulações cosméticas mais sustentáveis (ARCT et al, 2002; SCOTTI et al., 2007).

Apesar de seu potencial promissor, diversos estudos apontam que fatores como temperaturas elevadas, pH ácido, luminosidade excessiva e meios aquosos podem interferir na estabilidade dos compostos fenólicos, acelerando assim sua degradação (AHMED; SHIVHARE; RAGHAVAN, 2004; LAURO; FRANCIS, 2000; LIMA, 2005).

Existem diferentes métodos para avaliar a atividade antioxidante de compostos, devido à diversidade de radicais livres e suas formas de atuação. Como forma de determinar a atividade antioxidante proveniente desses compostos no óleo de açaí refinado e ozonizado, foi utilizado o método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila). O DPPH é um radical livre estável, que apresenta um elétron desemparelhado deslocalizado pela molécula, e o ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical. Apesar de autores como Tuberoso e colaboradores (2006), e Valavanidis e colaboradores (2004) apontarem o ensaio do DPPH como um dos melhores para avaliação da atividade antioxidante de óleos, a polaridade dos solventes utilizados pode influenciar diretamente nesses resultados, afetando a transferência de elétrons e a doação de átomos de hidrogênio (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

Sendo assim, alguns autores recomendam que mais de um ensaio seja realizado para confirmar tal atividade, de forma que o mesmo solvente deve ser utilizado para todos eles. Porém, devido às dificuldades de obtenção de reagentes, e execução da metodologia, não foi possível optar por outra alternativa. Dessa maneira, a escolha do método mais adequado é imprescindível, pois o tipo de teste pode influenciar nos resultados obtidos e na análise de determinadas substâncias, fato que pode ter ocorrido no trabalho em questão. Outro ponto importante a ser destacado é em relação à região que esses radicais livres serão produzidos, e o tipo de sequestrador do radical hidroxil que será utilizado. Por exemplo, a vitamina C reage bem a radicais hidrofílicos, porém não tanto em radicais lipofílicos, fato que também pode contribuir para uma reatividade não tão alta em termos quantitativos para óleos vegetais (NIKI, 2002).

5.4. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E TESTES FÍSICO-QUÍMICOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Com relação aos componentes utilizados no desenvolvimento do bálsamo labial, foi feita uma mistura de ceras e manteigas, já bastante utilizadas em formulações desse tipo, em proporções adequadas, contendo cera de carnaúba (3,26g); cera de abelha (1g); manteiga de cupuaçu (3,69g); manteiga de tucumã (1,3g) e óleo de açaí (0,75g), de forma a garantir uma boa consistência e emoliência, e permitindo a incorporação do óleo de açaí ozonizado (Figura 10). O processo

seguiu a tendência do conceito de beleza limpa (do inglês *clean beauty*), no qual o menor número de ingredientes foi empregado na criação da formulação, sendo que todos eles eram de origem natural e o óleo de açaí era orgânico.

Figura 10. Hidratante (bálsamo) labial.



Fonte: a autora (2023).

A utilização de óleos vegetais diversos, advindos de diferentes espécies de plantas, que contenham propriedades hidratantes, podendo esses insumos serem incorporados a hidratantes labiais, tais como o óleo de mamona e de açaí, já foram indicados na literatura científica (SANGO, 2016; LIMA, 2014). Como exemplo, também pode ser citado o óleo de alfazema, que além das propriedades hidratantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, apresentou um efeito de regeneração tecidual, conforme mencionado por Michalun & Dinardo (2016). Com relação ao óleo de açaí, foi observado que ele apresentou uma penetração rápida através do estrato córneo, garantindo assim a hidratação do local, não provocando irritações à pele (ARAÚJO et al., 2014; GONÇALVES et al., 2022).

Dessa maneira, comprovou-se que é possível desenvolver um produto cosmético seguindo a linha do conceito *clean beauty*, contendo o óleo de açaí adicionado, que contenha uma boa consistência e que seja aprovado nos testes de controle de qualidade especificados (Quadro 3).

Quadro 3 – Componentes da formulação do bálsamo labial desenvolvido.

Ingrediente	Concentração utilizada (%)
cera de carnaúba	32,6
cera de abelha	10
manteiga de cupuaçu	36,9
manteiga de tucumã	13
óleo de açaí ozonizado	7,5

Fonte: a autora (2023).

5.4.1 Avaliação Organoléptica

Dentro dos critérios estabelecidos para avaliação organoléptica, foi observado que o bálsamo labial apresentou parâmetros de cor, odor e aspecto favoráveis, e se manteve estável após 30 dias de sua confecção.

5.4.2 Determinação do pH da amostra

Através de uma fita indicadora, o pH da amostra foi determinado de acordo com a coloração apresentada no índice, ficando na faixa de 5, estando de acordo com outros trabalhos, como o de Galembeck & Csordas, 2011, que indicaram o pH de cosméticos labiais entre 5 a 6. Foi compatível também com o pH da saliva, que é em torno de 5 (SOUZA; FERREIRA, 2010), estando de acordo com o pH do hidratante labial de referência (Figura 11).



Figura 11: Fita indicadora de pH

Legenda: A. pH=5 do bálsamo labial padrão (NIVEA®)/ B. pH=5 do bálsamo labial desenvolvido.

5.4.3 Características do bálsamo labial no teste de aquecimento

Após 24 horas, sob a temperatura de 55 °C, observou-se que as triplicatas do bálsamo labial mantiveram sua integridade física em estufa, persistindo assim com as mesmas características de quando estavam em temperatura ambiente (TA), e o mesmo foi observado para o bálsamo labial escolhido como padrão (NIVEA®) (Tabela 6).

Tabela 6: Características físicas dos bálsamos labiais após teste do aquecimento.

FORMULAÇÃO	ESTUFA (55 °C)	Temperatura ambiente
Bálsamo teste (réplica 1)	Bala Íntegra	Bala Íntegra
Bálsamo teste (réplica 2)	Bala Íntegra	Bala Íntegra
Bálsamo teste (réplica 3)	Bala Íntegra	Bala Íntegra
Bálsamo padrão (NIVEA®)	Bala Íntegra	Bala Íntegra

Fonte: a autora (2023).

O teste de aquecimento é importante para determinar se a amostra irá resistir a variações de temperatura sem derreter ou apresentar deformidades e rachaduras, mantendo sua facilidade de aplicação tanto no calor quanto no frio, sendo um teste super importante para os padrões de controle de qualidade, conforme citado por SOARES e colaboradores (2019).

5.4.4 Determinação do ponto de fusão

De acordo com Fernandes e colaboradores (2013), o ponto de fusão de batons deve estar compreendido entre 65 e 75°C. Sendo assim, o teste constatou que a formulação em estudo apresentou um resultado aproximado, na faixa de 63 °C – 70 °C, sendo que o bálsamo labial padrão ficou bem abaixo disso, na faixa de 50 °C – 55 °C (Tabela 7).

Tabela 7: Determinação do ponto de fusão dos bálsamos labiais de interesse.

PONTO DE FUSÃO	INÍCIO	FIM
Bálsamo teste	63°C	70°C
Bálsamo padrão (NIVEA®)	50°C	55°C

Fonte: a autora (2023).

Esse tipo de teste é importante para se determinar a facilidade de aplicação, espalhabilidade e emoliência do produto ao entrar em contato com os lábios, sendo um fator importante para que o hidratante seja bem aceito pelos consumidores em geral. Outra questão importante que foi analisada por intermédio desse teste, é se o produto resistiria a temperaturas mais elevadas, por exemplo, se mantido dentro da bolsa de uma pessoa ou mesmo guardado num carro exposto ao sol, e o hidratante em estudo apresentou resultado satisfatório. Essa característica termoplástica dos batons é de suma importância, pois ele deve deslizar bem ao contato com a pele, mas não pode mudar muito suas características físicas em temperatura ambiente um pouco mais elevada.

5.4.5 Análise de cor

Os resultados de colorimetria foram obtidos através da média dos valores das triplicatas independentes, conforme indicado na Tabela 8:

Tabela 8: Análise colorimétrica dos bálsamos labiais.

FORMULAÇÃO	L*	a*	b*
Bálsamo teste (réplica 1)	74,17	-3,28	16,38
Bálsamo teste (réplica 2)	75,98	-3,29	15,94
Bálsamo teste (réplica 3)	75,09	-3,34	16,55
Bálsamo padrão (NIVEA®)	61,05	-0,74	-1,88

Fonte: a autora (2023).

A análise de colorimetria é de extrema importância em termos de controle de qualidade do produto, e além da indústria de cosméticos, é muito utilizada na indústria têxtil, de design, médica e de alimentos (SINGH et al., 2020).

Os resultados apontam que o bálsamo teste apresentou o mesmo padrão de cor nas triplicatas analisadas, fato importante para produção em escala comercial. Com relação à análise de brilho (L*), o produto em questão apresentou um brilho maior, se comparado ao hidratante da NIVEA®. E pelo fato de não ter sido adicionado nenhum corante à formulação, seguindo a tendência do *Clean Beauty*, os valores dos eixos (a*) e (b*) indicaram um tom mais esverdeado e amarelado, no entanto, apesar de ter essa coloração, ela não transfere para os lábios quando o hidratante é aplicado. O óleo possui uma coloração verde-escuro, proveniente da presença de clorofila, e os métodos de extração do óleo devem preservar o pigmento, que está associado à conservação de suas propriedades (FERREIRA; ROGEZ; HERMAN, 2018).

5.4.6. Determinação do peso médio (g) das amostras

Como forma de garantir a padronização no preenchimento das embalagens com a formulação, obteve-se um peso médio de 4,83 g \pm 0,05. Foi verificado que a variação de peso entre cada uma delas não se mostrou expressiva, demonstrando que mesmo em um preenchimento manual das embalagens, essa padronização se manteve.

5.4.7. Determinação da espalhabilidade das amostras

Com o intuito de analisar visualmente as características reológicas dos hidratantes labiais, as placas de vidro contendo as amostras espalhadas em diversas direções foram avaliadas (Figura 12), sendo que todas elas se encontravam em temperatura ambiente. De acordo com o critério de classificação estabelecido por Fernandes e colaboradores (2013), tanto o bálsamo labial em teste quanto o padrão tiveram boa espalhabilidade, aplicação uniforme e sem formação de grumos (BOM). Essa classificação é importante para avaliar como será a aplicação do hidratante nos lábios, de forma que seja uma aplicação fácil, confortável ao toque e uniforme. Apesar da película formada pela formulação em teste ter apresentando um aspecto um pouco mais oclusivo do que a usada como controle.

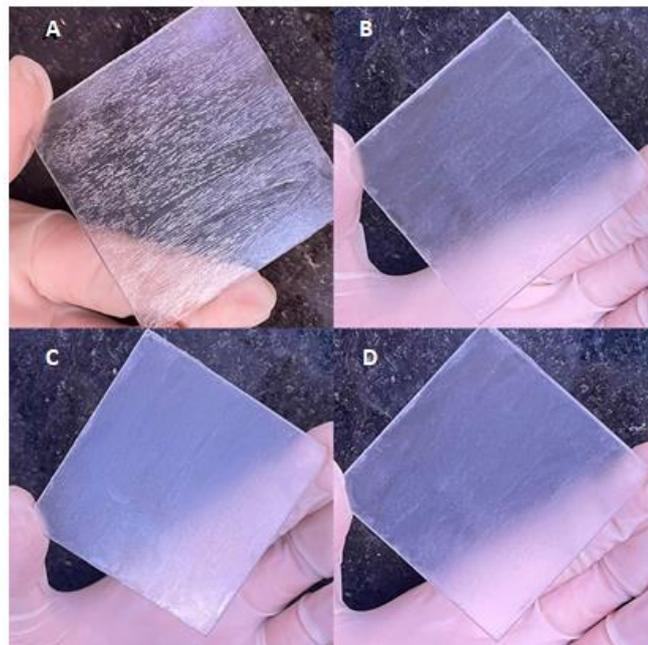


Figura 12: Avaliação da espalhabilidade das amostras.

Legenda: A) bálsamo labial de referência (NIVEA®)/ B) bálsamo labial teste (réplica 1)/ C) bálsamo labial teste (réplica 2)/ D) bálsamo labial teste (réplica 3). Fonte: a autora (2023).

5.4.8. Determinação do fator de oclusividade das amostras

Os valores relativos à perda de água após 48 horas indicaram que a formulação em teste apresentou um bom efeito oclusivo em comparação ao bálsamo labial de referência (NIVEA®) (Tabela 9). Conforme citado por Michalun & Dinardo (2016), sabe-se que diversos componentes, tais como óleos, manteigas e ceras, presentes nos hidratantes labiais podem garantir essa oclusividade, e esses valores são influenciados de acordo com a mistura utilizada, e suas proporções. De acordo com os insumos utilizados na formulação em teste, as ceras de carnaúba e de abelha, as manteigas de cupuaçu e tucumã, acrescidas do óleo ozonizado de açaí apresentaram uma boa combinação de ingredientes, de forma a aumentar a oclusividade do produto, garantindo a ele uma maior hidratação aos lábios, evitando assim a perda de água transepidérmica.

Tabela 9: Determinação do fator de oclusividade das amostras de interesse.

PESO DO COPO (g)					
Tempo (horas)	Bálsamo labial teste (réplica 1)	Bálsamo labial teste (réplica 2)	Bálsamo labial teste (réplica 3)	Bálsamo padrão (NIVEA®)	S/F
0	135,0596	135,1063	135,7099	136,0321	136,5203
6	134,6160	134,7428	135,3448	135,3299	133,3667
24	132,6859	133,1222	133,7076	133,6615	120,2169
48	130,6759	131,5984	131,8902	129,7883	108,1600
Perda de água	4,3837	3,5079	3,8197	6,2438	28,3603

SF = copo sem formulação aplicada. Fonte: a autora (2023).

5.4.9. Determinação do ponto de gota

O ponto de gota do bálsamo labial teste foi 75°C, estando esse valor compreendido na faixa recomendada por Gouveia (1993) e Fernandes e colaboradores (2013), que é de 65°C a 75°C.

O ponto de gota é um teste de fácil execução, muito utilizado com o intuito de se caracterizar termicamente materiais como gorduras, ceras e óleos, indicando a temperatura exata de quando a gota de uma substância derretida se desprende.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, foi possível estabelecer condições analíticas para o uso da estratégia de ozonização do óleo vegetal de açaí, permitindo também a sua incorporação em um bálsamo (hidratante) labial. Este foi desenvolvido a partir de uma mistura de ceras e manteigas, criando um produto cosmético contendo poucos ingredientes naturais, seguindo a tendência do *Clean Beauty*, o que demonstra o caráter inovador deste projeto.

Vale ressaltar neste projeto o cuidado na utilização sustentável de ativos da flora nacional, o que valoriza nossa biodiversidade, considerando o emprego de insumos fornecidos às empresas por comunidades locais, o que mobiliza a cadeia de suprimentos, alavancando a geração de empregos e propiciando a responsabilidade sócio-ambiental.

Para fins de avaliação das propriedades do óleo, tanto refinado quanto ozonizado, foram realizados testes de caracterização, com intuito identificar sua estrutura e seus componentes majoritários, além de testes microbiológicos e de atividade antioxidante. Após esse processo, e com a incorporação do óleo ozonizado para desenvolvimento do bálsamo labial, diversos testes físico-químicos, para fins de caracterização do produto e controle de qualidade foram realizados com o intuito de avaliar a estabilidade do produto, bem como suas propriedades. Dessa maneira, foi constatado que o bálsamo em questão se manteve dentro dos padrões de qualidade e estabilidade desejáveis/aceitáveis, além disso, apresentou um alto poder de hidratação e emoliência, sendo um produto passível de comercialização e que atende ao atributo de beleza limpa.

Por fim, a criação de um produto de qualidade, contendo ingredientes naturais, além de ajudar a proporcionar bem-estar e fortalecer a autoestima do usuário, atende ao público mais exigente e preocupado com a sustentabilidade.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. A. *et al.* Antimicrobial activity of coconut oil and its derivative (lauric acid) on some selected clinical isolates. **Int. J. Med. Sci. Clin. Invent**, v. 4, n. 8, p. 3173-3177, 2017.
- ABDULKARIM, S. M. *et al.* Frying quality and stability of high-oleic *Moringa oleifera* seed oil in comparison with other vegetable oils. **Food chemistry**, v. 105, n. 4, p. 1382-1389, 2007.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 7, de 10 de fevereiro de 2015. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. **Diário Oficial da União** Nº 29, Seção 1, Pág. 39, de 11 de fevereiro de 2015. Governo Federal.
- AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; RAGHAVAN, G. S. V. Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 6, p. 525-528, 2004.
- ALEXANDRI, E. *et al.* High resolution NMR spectroscopy as a structural and analytical tool for unsaturated lipids in solution. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1663, 2017.
- AL-JUMAILY, Rakad M. Kh *et al.* Anticancer Activity of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds oil against cell lines. **Iraqi journal of science**, v. 54, n. 4, p. 1003-1009, 2013.
- ALLORTO, N. Oxygen-ozone therapy: an extra weapon for the general practitioners and their patients. **Ozone Therapy**, v. 4, n. 2, 2019.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Farmacopéia Brasileira**, volume 1. 6ª Ed. Brasília, 2019.
- ANZOLIN, A. P. *et al.* Óleo ozonizado via tópica na doença articular degenerativa; **Tese de Doutorado**; 2019.
- ARCT, J. *et al.* Common cosmetic hydrophilic ingredients as penetration modifiers of flavonoids. **International journal of cosmetic science**, v. 24, n. 6, p. 357-366, 2002.

- ARRUDA, A. C. Cosméticos um caminho para a valorização da Biodiversidade Amazônica. **Revista T & C Amazônia**, v. 6, n. 14, p. 23-34, 2008.
- AZARPAZHOOH, A.; LIMEBACK, H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. **Journal of dentistry**, v. 36, n. 2, p. 104-116, 2008.
- BABLON, G. et al. Practical application of ozone: principles and case studies. In: **Ozone in Water Treatment**. Routledge, p. 133-316; 2019.
- BALLARIN, A. Escultura Labial B3D: A Harmonização da Face, Sorriso e Lábios. **CARBONE, A. MDM-Harmonização Orofacial**, 2018.
- BALLOUSSIER, P. *et al.* Inovação no setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos: estudo do caso Natura. **Ciência & Trópico**, v. 47, n. 1, 2023.
- BARDING, G. A.; SALDITOS, R.; LARIVE, C. K. Quantitative NMR for bioanalysis and metabolomics. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 404, p. 1165-1179, 2012.
- BATTIE, C.; VERSCHOORE, M. Dermatology, cosmetic and well-being. In: **Annales de dermatologie et de vénéréologie**. p. 294-301; 2011.
- BEZERRA, V. S.; FREITAS-SILVA, O.; DAMASCENO, L. F. Açai: produção de frutos, mercado e consumo. In: **Jornada Científica da Embrapa**, Amapá, v.2, p.19, 2016.
- BIN-JUMAH, M. *et al.* Application of Carotenoids in Cosmetics. In: **Carotenoids: Structure and Function in the Human Body**. Springer, Cham, 2021. p. 747-756.
- BOCCI, V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine?. **British journal of biomedical science**, v. 56, n. 4, p. 270, 1999.
- BOCCI, V.; Oxygen Ozone Therapy: A critical Evaluation. **Kluwer Academia Publishers: Dordrecht**, The Netherlands, 2002.
- BOHJANEN, K. Estrutura e funções da pele. **Dermatologia Clínica**. Seção I Bases para, 2017.
- BORTOLUZZI, M.; DA SILVA, F.; GARCIA, B.M.; NETO, J.F.R. Serviços ecossistêmicos fornecidos pela biodiversidade brasileira. **Encontro Internacional de Gestão, Desenvolvimento e Inovação (EIGEDIN)** 6, no. 1, 2022.

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011.

BUCKLEY, D. Structure and Function of the Skin. In: **Textbook of Primary Care Dermatology**. Springer, Cham, p. 17-19; 2021.

CA, A. O. C. S. 5a-40 and Cd 18-90. 1998. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**.

CASSAROTTI, A.L. de S.; LUBI, N. C. Malefícios decorrentes do uso de produtos contendo parabenos; **Tese de Doutorado**; 2018.

CEDRIM, P. C. A. S.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, T. G. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

CHIARI, B. G. et al. Estudo da segurança de cosméticos: presente e futuro. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, 2012.

CHIATTONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R.C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, 2009.

COLZATO, M. *et al.* Análise comparativa dos espectros de ¹H RMN de óleos comestíveis oxidados; **Tese de Doutorado**; 2008.

COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE. **Commission internationale de l'éclairage**. Commission internationale de l'éclairage, 1981.

CONSTANTINO, M. G. Química Orgânica. 1ª ed., Rio de Janeiro: **LCT**, 2005.

CORSALINI, M. *et al.* Evaluation of prosthetic quality and masticatory efficiency in patients with total removable prosthesis: study of 12 cases. **ORAL & Implantology**, v. 11, n. 4, 2018

COSTA, G. M. D.'A. *et al.* Application of design of experiments in the development of cosmetic formulation based on natural ingredients. **International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients**, v. 6, n. 1, p. 4-4, 2019.

DA ROSA, A. P. B. et al. Tratamento de queilite angular: relato de caso clínico. **Revista Dental Press de Estética**, v. 12, n. 3, 2015.

DA SILVA, L. R et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

DA SILVA, F. G.; DINIZ, G. P. **Anatomia e fisiologia humana**. Difusão Editora, 2021.

DE CASTRO, R. C. *et al.* Extração e análise de propriedades físico-químicas do óleo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e24610817358-e24610817358, 2021.

DECLARAÇÃO DE MADRI. Abordagem terapêutica para a utilização de Ozônio. International scientific Committee of Ozonotherapy, 2010.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, 2004.

DE NOVAIS, V. L. D. Ozônio: aliado e inimigo. **Scipione**, 2008.

DE OLIVEIRA, P. *et al.* Ozonolysis of neem oil: preparation and characterization of potent antibacterial agents against multidrug resistant bacterial strains. **RSC advances**, v. 7, n. 55, p. 34356-34365, 2017.

DONATO-TRANCOSO, A.; MONTE-ALTO-COSTA, A.; ROMANA-SOUZA, B.. Olive oil-induced reduction of oxidative damage and inflammation promotes wound healing of pressure ulcers in mice. **Journal of dermatological science**, v. 83, n. 1, p. 60-69, 2016.

DONOSO, J.P. A. Datas e personagens na História da Espectroscopia. 2013. Apresentação de palestra em slides – Universidade de São Paulo - **Instituto de Física de São Carlos** - IFSC – 2013.

DOS ANJOS, F. B.; DE OLIVEIRA, S. D. Cosméticos sustentáveis: quais fatores influenciam o consumo destes produtos? **International Journal of Business Marketing**, v. 5, n. 1, p. 36-54, 2020.

DOS SANTOS, G.M. *et al.* Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

DÍAZ, M. F. *et al.* Study of ozonated sunflower oil using ¹H NMR and microbiological analysis. **Ozone: Science and Engineering**, v. 28, n. 1, p. 59-63, 2006.

DI PAOLO, N.; BOCCI, V.; GAGGIOTTI, E. Ozone therapy. **The International journal of artificial organs**, v. 27, n. 3, p. 168-175, 2004.

ELSHINAWY, M. I. et al. Synergistic effect of newly introduced root canal medicaments; ozonated olive oil and chitosan nanoparticles, against persistent endodontic pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1371, 2018.

FARIAS, A. P. G. Os consumidores de baixa renda: A comunicação no setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos. São Bernardo dos Campos, São Paulo: **Universidade Metodista de São Paulo**, 2007.

FERNANDES, A. R. et al. Stability evaluation of organic Bálamo labial. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, p. 293-299, 2013.

FERREIRA, A. M. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da escola de enfermagem**; São Paulo; vol.46; n.3; p. 752-760; 2012.

FERREIRA, V. S. et al. Estudo da estrutura cristalina do fármaco lamivudina e seus derivados através de RMN no estado sólido e cálculos teóricos. **Dissertação de Mestrado**; 2014.

FERREIRA, E. S.; ROGEZ, H. L. G.; HERMAN, C. A. N. P. Effect of the combination of enzymatic preparations on the aqueous extraction yield of the oil from the pulp of *Euterpe oleracea* fruit. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 35, p. 1193-1201, 2018.

FERREIRA, B. R.; SOUSA, L. C. A.; WASTOWSKI, I. J. USO DE COSMÉTICOS SUSTENTÁVEIS NAS CLÍNICAS DE ESTÉTICA. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 1, n. 3, p. 87-87, 2020.

FLOR, J.; MAZIN, M. R.; FERREIRA, L. A. Cosméticos naturais, orgânicos e veganos. **Cosmetics & Toiletries**, v. 31, p. 31-36, 2019.

FLORENCIO, J. A.; DE CAMPOS, R. R. Estratégias Competitivas na Indústria de Cosméticos. **Revista Interface Tecnológica**, v. 16, n. 1, p. 653-666, 2019.

FRAISE, A. P.; MAILLARD, J.-Y.; SATTAR, S. (Ed.). Russell, Hugo and Ayliffe's principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. **John Wiley & Sons**, 2012.

FUNASAKI, M. *et al.* Amazon rainforest cosmetics: chemical approach for quality control. **Química Nova**, v. 39, p. 194-209, 2016.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. Cosméticos: a química da beleza. **Coordenação central de educação a distância**, v. 1, p. 38-4, 2011.

GEORGIEV, V. *et al.* Study on the stoichiometry and reaction products of extra virgin olive oil ozonation. **Bulg. Chem. Commun**, v. 45, p. 203-207, 2013.

GEORGIEV, V. F. *et al.* Study of ozonated olive oil: monitoring of the ozone absorption and analysis of the obtained functional groups. **Ozone: Science & Engineering**, v. 37, n. 1, p. 55-61, 2015.

GIULIANI, G. *et al.* Microbiological aspects of ozone: bactericidal activity and antibiotic/antimicrobial resistance in bacterial strains treated with ozone. **Ozone therapy**, v. 3, n. 3, 2018.

GLENIA, F. Responsabilidade Social atrai Mercado Externo. **Jornal O Estado de São Paulo**. 2004.

GONÇALVES, T. F. Obtenção, avaliação da estabilidade e atividade cicatrizante de glosses labiais com a incorporação de óleo de café verde ou extrato de casca de banana verde. **Trabalho de Conclusão de Curso**; 2022.

GONÇALVES, H. P. C. *et al.* Estudo da Conversão do Óleo de Mamona (*Ricinus communis* L) em Polímeros uma Revisão. **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 15, n. 1, p. 30-37, 2022.

GOUVEA, M.C.B.L.F. Desenvolvimento de base de batons. **Cosmet. Toiletries** (Portuguese edition), v.5, n.2, p.49-56, 1993.

GORDON, A. *et al.* Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food chemistry**, v. 133, n. 2, p. 256-263, 2012.

GOSHIYAMA, A.M. Avaliação das propriedades das fibras capilares tratadas com alisante ácido com diferentes valores de pH; **Tese de Doutorado**; Universidade de São Paulo; 2019.

GREER, M. Clean Beauty não é Green Beauty. Então o que é? **COSMETIC INNOVATION**, 2020.

HÄNNINEN, K. Contribution of excited ozone and oxygen molecules to the formation of the stratospheric ozone layer. **Environment and Ecology Research**, v. 7, n. 3, p. 121-134, 2019.

HOFFMAN, P. N. Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. **Journal of Clinical Pathology**, v. 52, n. 12, p. 933, 1999.

HOVAV, A.H. Mucosal and skin Langerhans cells–nurture calls. **Trends in immunology**, v. 39, n. 10, p. 788-800, 2018.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção da extração vegetal e da silvicultura. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura>. Acesso em 11 out. 2019.

JEONG, D. *et al.* The role of autophagy in skin fibroblasts, keratinocytes, melanocytes, and epidermal stem cells. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 140, n. 9, p. 1691-1697, 2020.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. Histologia básica: texto e atlas. 13. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2017.

KADU, M.; VISHWASRAO, S.; SINGH, S. Review on natural lip balm. **International Journal of Research in Cosmetic Science**;5(1):1-7; 2015.

KLASCHKA, U. Are natural compounds used in personal care products toxic for the aquatic environment?. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 4, p. 13-20, 2016.

KNOTHE, G. Analyzing biodiesel: standards and other methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006.

KUNZ, A.; FREIRE, R. S.; ROWEDLER, J. J. R; Mansilla, H.; Rodriguez, J. Rurán, N. **Quim. Nova**, v. 22, p. 425, 1999.

KUSRINI, E., *et al.* Formulation and characterization of lip balm made from beeswax, almond oil, virgin coconut oil and honey. **AIP Conference Proceedings**. Vol. 2255. No. 1. AIP Publishing; 2020.

LADEIRA, G. D. A. *et al.* A importância dos estudos de pré-formulação na estabilidade dos produtos cosméticos. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 12, p. 1074-1085, 2021.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. Ozone in Water Treatment: Application and Engineering. [s.l.] **Routledge**, 2019.

LAURO, G. J.; FRANCIS, J. Natural food colorants: science and technology. **CRC press**, 2000.

LAUTENSCHLÄGER, H. Vegetable oils. **Kosmetik International**, [s.l.], v. 1, p. 16-18, 2009.

LEDEA-LOZANO, O. E., *et al.* Characterization of different ozonized sunflower oils I. Chemical changes during ozonization; **Grasas y Aceites** 70 (4): e329; 2019.

LIMA, W. S. Obtenção e estudo da estabilidade preliminar de formulações de gloss labial contendo açaí (*Euterpe oleracea*). 41 f. **Monografia** (Graduação em Farmácia). Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas-TO, 2014.

LIMA, V. L.; MELO, E.; LIMA, D. Efeito da luz e da Temperatura de Congelamento sobre a Estabilidade das Antocianinas da Pitanga Roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, 2005.

LIMA, M. J. A; FELIX, E. P.; CARDOSO, A. A. APLICAÇÕES E IMPLICAÇÕES DO OZÔNIO NA INDÚSTRIA, AMBIENTE E SAÚDE. **Química Nova**, v. 44, p. 1151-1158, 2021.

LIRA, G. B. *et al.* Processos de extração e usos industriais de óleos de andiroba e açaí: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e229101220227-e229101220227, 2021.

LOPES, T. I. B. *et al.* Aplicações de ressonância magnética nuclear no estudo: da cirurgia bariátrica, da produção de etanol e da distribuição regiões pecífica de triacilglicerídeos. 2015. **Tese de Doutorado** – Universidade Estadual de Campinas – 2015.

LOPES, M. S. Remoção do fármaco Ácido Mefenâmico em água via oxidação por cloro e por ozônio; **Trabalho de Conclusão de Curso**; 2016.

LORENCINI, M. *et al.* Active ingredients against human epidermal aging. **Ageing Research Reviews**, v. 15, p. 100-115, 2014.

LU, J. *et al.* Effect of ozone on *Staphylococcus aureus* colonization in patients with atopic dermatitis. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central South University*. **Medical Sciences**, v. 43, n. 2, p. 157-162, 2018.

LYRIO, E. S. *et al.* Recursos vegetais em biocosméticos: conceito inovador de beleza, saúde e sustentabilidade. **Natureza on line**, v. 9, n. 1, p. 47-55, 2011.

MADEIRA, M. Músculos da face. In: **Anatomia da face**. 8ª edição. São Paulo: Editora Sarvier; Cap. 4; p. 69-75; 2012.

MALDONADO, T. V; SILVA, J. C. G. Parem os testes! Percepções sobre o comportamento e motivação de consumo de consumidores de produtos cruelty free. In: **XI Congresso Nacional de Excelência em Gestão**. 2015.

MARTINS, A. *et al.* Bactericidal effect of high frequency generator in *Staphylococcus aureus* culture. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 19, p. 153-157, 2012.

MEHLMAN, M. A.; BOREK, C. Toxicity and biochemical mechanisms of ozone. **Environmental research**, v. 42, n. 1, p. 36-53, 1987.

MERTENS-TALCOTT, S. U. *et al.* Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7796-7802, 2008.

MICHALUN, M.V.; DINARDO, J.C. Milady dicionário de ingredientes para cosmética e cuidados da pele: Tradução da 4ª edição norte-americana. 2ª edição. São Paulo: **Cengage Learning Brasil**; 2016.

MOREIRA, J.R.; SIMAO, L.M.B. Marketing verde—o perfil do consumidor verde. In: XXX Jornadas Luso-Espanholas de Gestão Científica: cooperação transfronteiriça. Desenvolvimento e coesão territorial. **Livro de resumos**. Instituto Politécnico de Bragança, p. 139; 2020.

MONTEIRO-RIVIERE, N. A. Comparative anatomy, physiology, and biochemistry of mammalian skin. **Dermal and ocular toxicology**, p. 3-71, 2020.

MOUREU, S. *et al.* Ozonation of sunflower oils: Impact of experimental conditions on the composition and the antibacterial activity of ozonized oils. **Chemistry and physics of lipids**; v. 186; p. 79-85; 2015.

NAKAGAMI, I.A.; PINTO, L.P. Beleza sustentável: ativos naturais na formulação de cosméticos orgânicos. **Research, Society and Development**. Jan 1;9(2):e88922064-; 2020.

NAKAO, A.; SUGIMOTO, R.; BILLIAR, T. R. AND KENNETH R. MCCURRY. Therapeutic antioxidant medical gas, Review article; In: **J. Clin . Biochem. Nutr.**; p. 1-13; 2009.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. Antiperspirants/Deodorants and Breast Cancer. Disponível em:

<https://www.cancer.gov/aboutcancer/causesprevention/risk/myths/antiperspirants-fact-sheet>. Acessado em: 20/04/2022.

NASCIMENTO, R. J. S. *et al.* Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**; v. 30; p. 498-502; 2008.

NASCIMENTO-JÚNIOR, B. J. Anatomia humana sistemática básica. 2020.

NESI, A. K. Ozonioterapia: o uso do ozônio na odontologia. 2018.

NIKI, E. Antioxidant activity: are we measuring it correctly?. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 18, n. 6, p. 524-525, 2002.

NOGUEIRA, O.L.; FIGUERÊDO, F.J.C.; MULLER, A.A. Sistema de Produção do Açaí. Embrapa Amazônia Oriental; **Sistemas de Produção**, n.4, Belém, PA, 2006.

NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. A importância dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus**, v. 2, n. 1, 2008.

NOVELLO, A. A. Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis Martius*) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE^{-/-}; **Ciência da Nutrição**; 2011.

OLIVEIRA, A.R.M; WOSCH, C. L. Ozonólise: a busca por um mecanismo. **Química Nova**, v. 35, p. 1482-1485, 2012.

OLIVEIRA M., A.; LIMA, H. K. F.; DAMASCENO, C. A. Ozonioterapia como aliado em tratamento estético no rejuvenescimento da pele. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e44211730141-e44211730141, 2022.

OLIVEIRA, T. M. Desenvolvimento de emulsão cosmética contendo óleo vegetal extraído da *Euterpe Oleracea*–açaí; **Dissertação de Mestrado**; 2018.

- PALACIOS, J.A.; RUBIANO, F. M.. Valoración microbiológica de un aceite ozonizado® antibacterial y reparador mediante prueba de eficacia antimicrobiana. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 50, n. 4, 2016.
- PAZMIÑO-DURÁN, E. A. *et al.* Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 75, n. 2, p. 211-216, 2001.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food research international**, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.
- PETRUK, G. *et al.* Malvidin and cyanidin derivatives from açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) counteract UV-A-induced oxidative stress in immortalized fibroblasts. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 172, p. 42-51, 2017.
- PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do açai. **International journal of nutrology**, v. 5, n. 01, p. 015-020, 2012.
- POST, B., *et al.* Ação Antimicrobiana e Imunomoduladora da Ozonioterapia; **Trabalho de Conclusão de Curso**; 2021.
- PRADO, F. M. *et al.* Effect of Ozonization on Physicochemical Properties of Vegetable Oils. **Food Science and Technology**, v. 3, n. 38, p. 399-404; 2018.
- PRIEST, D. Novo ingrediente ativo para a pele. **Cosmet Toilet**, v. 18, n. 1, p. 62-5, 2006.
- RADZIMIERSKA-KAŻMIERCZAK, M. *et al.* Olive Oil with Ozone-Modified Properties and Its Application. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3074, 2021.
- Regulamentação da Ozonioterapia no Brasil. **Aboz**, 2021. Disponível em: aboz.org.br. Acesso em 16/09/2022.
- RENSI, A. M. V. *et al.* Avaliação do efeito de óleos ozonizados de girassol e coco no controle *Propionibacterium acnes*. In: **XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**. 2014.
- RICE, R. G.; ROBSON, C. M.; MILLER, G. W.; HILL, A. B. Uses of ozone in drinking water treatment. **Journal of the American Water Works Association**, v.73, p.44-47, 1981.

- RODRIGUES, F.; PIMENTEL, F. B.; OLIVEIRA, M. B. P.P. Olive by-products: Challenge application in cosmetic industry. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 116-124, 2015.
- ROGEZ, H. Açai: preparo, composição e melhoramento da conservação. **EDUFPA**; Belém-PA, p. 312; 2000.
- RUIZ BENITEZ, M. L. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear. 2020.
- SAFWAT, O. *et al.* Microbiological evaluation of ozone on dentinal lesions in young permanent molars using the stepwise excavation. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 42, n. 1, p. 11-20, 2018.
- SANGO, D.; BINDER, D. Lip Care Product Formulation Strategies. **Handbook of Formulating Dermal Applications: A Definitive Practical Guide**, p. 511-537, 2016.
- SANTANA, M. J. O uso da ressonância magnética nuclear na análise do perfil químico de sucos de uva do tipo integral e néctar. 2017. 150 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Goiás - 2017.
- SAMPAIO, S.A.P.; RIVITTI, E.A. Dermatologia. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2018.
- SANTORO, C. Sustainability and transparency in the cosmetic industry: the clean beauty movement and consumers' consciousness; 2022.
- SARRUF, F.D. Influência da manteiga de karitê (*Butyrospermum parkii*), do dióxido de titânio e do p-metoxicinamato de octila sobre parâmetros físicos e eficácia in vitro de fotoprotetores labiais moldados. **Tese de Doutorado**; Universidade de São Paulo; 2013.
- SHARMA, A.; DOGIPARTHI, S. N.; DHURAT, R. Structure and Function of Skin. **IADVL's Concise Textbook of Dermatology**, p. 5, 2019.
- SCHWARTZ, A. *et al.* Madrid declaration on ozone therapy. **Faculdade do Centro Oeste Paulista. Madrid**. Disponível em: <https://www.aboz.org.br/biblioteca/madrid-declaration-on-ozone-therapy-/210>, 2010.
- SCOTTI, L. *et al.* Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 153-166, 2007.

- SILVA, S. B.; LUVIELMO, M. M.; GEYER, M. C.; PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, v.32, p.659-682, 2011.
- SILVA, K. H. G. *et al.* Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do ozônio gasoso e do óleo ozonizado. **Revista Master-Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 6, n. 11, p. 179-189, 2021.
- SINGH, R. *et al.* Progress and challenges in the detection of residual pesticides using nanotechnology based colorimetric techniques. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 26, p. e00086, 2020.
- SKALSKA, K. *et al.* Germicidal properties of ozonated sunflower oil. **Ozone: Science & Engineering**, v. 31, n. 3, p. 232-237, 2009.
- SOARES, M. C. *et al.* Produção de cosméticos: um estudo de caso sobre a fabricação de batons. **Monografia**. 2019.
- SOUZA, V. B.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 3, 2010.
- SPOZITO, P. A ação do ozônio no tratamento de doenças periodontais. **Revista Brasileira de Odontologia**; 76, p.32.; 2019.
- SREEJAYAN, N.; RAO, M. N. Free radical scavenging activity of curcuminoids. **Arzneimittel-forschung**, v. 46, n. 2, p. 169-171, 1996.
- STOKER, G. OZONE IN CHRONIC MIDDLE-EAR DEAFNESS. **The Lancet**, v. 160, n. 4131, p. 1187-1188, 1902.
- TAMURA, E.; YASUMORI, H.; YAMAMOTO, T. The efficacy of a highly occlusive formulation for dry lips. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 42, n. 1, p. 46-52, 2020.
- TAVARES, G. D. S.; HOMMA, A.; MENEZES, A. J. E. A. Açafí: fruta amazônica conquista mercado nacional e externo. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, p. 24., 2016.
- TASDEMIR, Z. *et al.* The effects of ozone therapy on periodontal therapy: A randomized placebo-controlled clinical trial. **Oral diseases**, v. 25, n. 4, p. 1195-1202, 2019.

TASSINARY, J. Raciocínio clínico aplicado à estética facial. **Ed. Estética experts**. p. 32-42, 2019.

TEIXEIRA, M. L. Investigação da estabilidade química de compostos orgânicos hipervalentes de telúrio em meio orgânico-aquoso empregando ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{125}Te . 2017. 107 f. **Dissertação** - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química - 2017.

TERSKIKH, V. V. et al. In vivo ^{13}C NMR metabolite profiling: potential for understanding and assessing conifer seed quality. **Journal of experimental botany**, v. 56, n. 418, p. 2253-2265, 2005.

TİĞLI AYDIN, R. S.; KAZANCI, F. Synthesis and characterization of ozonated oil nanoemulsions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 95, n. 11, p. 1385-1398, 2018.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano-: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. Artmed Editora, 2016.

TOZZO, M.; BERTONCELLO, L.; BENDER, S. Biocosmético ou cosmético orgânico: revisão de literatura. **Revista Thêma et Scientia**, v. 2, n. 1, p. 122-130, 2016.

TRAINA, A. A. **Efeitos biológicos do ozônio diluído em água na reparação tecidual de feridas dérmicas em ratos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2008.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; BOCCI, V. Topical applications of ozone and ozonated oils as anti-infective agents: an insight into the patent claims. **Recent patents on anti-infective drug discovery**, v. 4, n. 2, p. 130-142, 2009.

TREVISAN, A. C. D. *et al.* Market for Amazonian açai (*Euterpe oleraceae*) stimulates pulp production from Atlantic Forest juçara berries (*Euterpe edulis*). **Agroecology and Sustainable Food Systems**, v. 39, n. 7, p. 762-781, 2015.

TRUJILLO, O.; VANEZIS, P.; CERMIGNANI, M. Photometric assessment of skin colour and lightness using a tristimulus colorimeter: reliability of inter and intra-investigator observations in healthy adult volunteers. **Forensic science international**, v. 81, n. 1, p. 1-10, 1996.

- UGAZIO, E.; TULLIO, V.; BINELLO, A.; TAGLIAPIETRA, S. et al. Ozonated oils as antimicrobial systems in topical applications. Their characterization, current applications, and advances in improved delivery techniques. **Molecules**; 25(2):334; 2020.
- VARMA, S. R. et al. In vitro anti-inflammatory and skin protective properties of Virgin coconut oil. **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 9, n. 1, p. 5-14, 2019.
- VAROL, K.; BIRDANE, F. M.; KELES, I. Effect of ozonated olive oil on experimentally induced skin infection by *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* in rats. 2018.
- VAUGHN, A.R. et al. Natural Oils for Skin-Barrier Repair: Ancient Compounds Now Backed by Modern Science. **Am J Clin Dermatol.**; 2018.
- VIEBAHN-HAENSLER, R. Milestones of medical ozone. **Rev Soc Esp Dolor**, v. 12, n. Supl II, p. 3-9, 2005.
- YAMAGUCHI, K. K. et al. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food chemistry**, v. 179, p. 137-151, 2015.
- WEISS, C.; HAMAD, F.; FRANÇA, A. J. V. B. V. Produtos cosméticos orgânicos: Definições e conceitos. Universidade Vale do Itajaí. 2011.
- WILK, R.; MCDONELL, E. (Ed.). **Critical Approaches to Superfoods**. Bloomsbury Publishing, 2020.
- YAHIA, E. M. (Ed.). **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: fundamental issues**. Elsevier, 2011.
- ZAHMATKESH, M.; MANESH, M. J; BABASHAHABI, R. Effect of Olea ointment and Acetate Mafenide on burn wounds—A randomized clinical trial. **Iranian journal of nursing and midwifery research**, v. 20, n. 5, p. 599, 2015.
- ZANARDI, I. et al. Physico-chemical characterization of sesame oil derivatives. **Lipids**, v. 43, n. 9, p. 877-886, 2008.
- ZUCCO, A.; DE SOUSA, F. S.; DO CARMO ROMEIRO, M. Cosméticos naturais: uma opção de inovação sustentável nas empresas. **Brazilian Journal of Business**, v. 2, n. 3, p. 2684-2701, 2020.