

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

LARA MANZI PORTUGAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO LÍQUIDO
CONCENTRADO DE *Camellia sinensis* Kuntze**

GOIÂNIA
2021

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE
GRADUAÇÃO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio do Repositório Institucional (RI/UFG), regulamentado pela Resolução CEPEC nº 1204/2014, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo dos Trabalhos de Conclusão dos Cursos de Graduação disponibilizado no RI/UFG é de responsabilidade exclusiva dos autores. Ao encaminhar(em) o produto final, o(s) autor(a)(es)(as) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCCG):

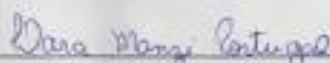
Nome completo da autora: Lara Manzi Portugal

Título do trabalho: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO LÍQUIDO CONCENTRADO DE *Camellia sinensis* Kuntze

2. Informações de acesso ao documento:

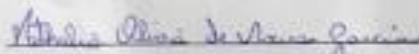
Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Independente da concordância com a disponibilização eletrônica, é imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF do TCCG.



Assinatura(s) do(a)(s) autor(a)(es)(as)

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 21 /05 /2021

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(a)(s) autor(a)(es)(as) e ao(a) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo do TCCG. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro.

² As assinaturas devem ser originais sendo assinadas no próprio documento. Imagens coladas não serão aceitas.

LARA MANZI PORTUGAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO LÍQUIDO
CONCENTRADO DE *Camellia sinensis* Kuntze**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de
Farmácia da Universidade Federal de
Goiás, como requisito para a
conclusão do curso de Farmácia.
Área de concentração: Farmácia

Orientadora: MSc. Nathália Olívia de
Sousa Garcia

GOIÂNIA

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Manzi Portugal, Lara
Obtenção e caracterização do extrato líquido concentrado de *Camellia sinensis* Kuntze [manuscrito] / Lara Manzi Portugal. - 2021.
LIV , 54 f.: il.

Orientador: Prof. Nathália Olívia de Sousa Garcia ; co-orientador Edemilson Cardoso da Conceição .
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Farmácia, Goiânia, 2021.
Bibliografia.

1. Chá verde. 2. *Camellia sinensis*. 3. Antioxidante. 4. Compostos fenólicos. 5. Produto natural. I. Garcia , Nathália Olívia de Sousa , orient. II. Título.

CDU 615.1

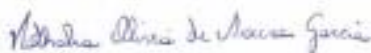
Lara Manzi Portugal

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO LÍQUIDO CONCENTRADO DE
Camellia sinensis Kuntze

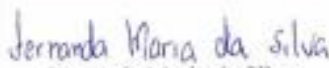
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para a
obtenção de grau de Bacharel em Farmácia à
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de
Goiás

Data da aprovação: 21/ 05/ 2021

Membros da Banca:


Nathália Olívia de Sousa Garcia
Farmacêutica Mestre
Universidade Federal de Goiás


Nathalia Ferreira Souza
Farmacêutica
Universidade Federal de Goiás


Fernanda Maria da Silva
Farmacêutica
Universidade Federal de Goiás

Dedicatória

Dedico este trabalho a toda minha família e amigos que sempre estiveram ao meu lado, e por todo amor, carinho e cuidado comigo, além de toda ajuda e suporte que me deram para finalizar este projeto.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar forças, por sempre estar comigo, iluminar meu caminho durante essa caminhada e por nunca ter me desamparado nos meus momentos de fraqueza.

Aos meus pais, Pedro e Adriana, por acreditarem em mim e me incentivarem a nunca desistir e seguir em frente.

A Universidade Federal de Goiás, a Faculdade de Farmácia, principalmente ao Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) e ao Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Bioprodutos (PD&I de Bioprodutos) pela infraestrutura disponibilizada para a realização do trabalho.

RESUMO

A espécie *Camellia sinensis*, popularmente conhecida como chá verde, chá da Índia ou “green tea”, pertence à família Theaceae. As folhas de *C. sinensis* possuem cerca de 30% de compostos fenólicos dentre os quais os flavonóides são os principais componentes químicos terapêuticos dessa classe com potencial antioxidante, atuando como sequestradores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação. Os principais componentes presentes na espécie *C. sinensis* possuem capacidade quimioprotetora, anticarcinogênica, antiinflamatória, antioxidante, agente fotoprotetor, agente adstringente, agente regenerador e eficaz no tratamento de olheiras. O objetivo do presente trabalho foi a produção do extrato líquido concentrado de *C. sinensis* e avaliação do seu potencial antioxidante. Foi realizada a caracterização da *C. sinensis* por meio da determinação da granulometria dos pós, índice de intumescência, cinzas totais, teor de voláteis e doseamento de fenóis totais da droga vegetal. No extrato líquido também foi realizada análise do teor de sólidos, teor de fenóis totais, flavonoides totais e análise do poder antioxidante do extrato através dos métodos de captura do radical DPPH e ABTS. Na caracterização da droga vegetal, o pó foi classificado como moderadamente grosso a partir da determinação granulométrica das partículas e obteve-se índice de intumescência de $3,36 \pm 0,05$ para água e $1,9 \pm 0,1$ para etanol 50% (v/v) como agente intumescedor. O teor de cinzas totais, compostos voláteis e fenóis totais do pó foi de $5,11\% \pm 0,005$, $5,14\% \pm 0,14$, e $0,221\% \pm 0,13$, respectivamente. O extrato hidroalcoólico apresentou teor de sólidos de $6,29\% \pm 0,1$, teor de fenóis totais de $4,82\% \pm 0,002$ (m/v), e teor de flavonóides de $0,95\% \pm 0,1$ (m/v). As análises do potencial antioxidante do extrato demonstraram IC₅₀ de 0,129 mg/mL na captura do radical DPPH e 388,47 µM trolox/g no método de captura do radical ABTS. Devido a capacidade antioxidante do extrato do chá verde, o seu uso vem sendo cada vez mais explorado para aplicação cosmética pois, além de ser de fácil obtenção, é um antioxidante natural muito benéfico, sendo uma opção como substituto dos ativos sintéticos.

Palavras-Chave: Chá verde, *Camellia sinensis*, Antioxidante, Compostos fenólicos, Produto natural.

ABSTRACT

The species *Camellia sinensis*, popularly known as green tea, Indian tea or "green tea", belongs to the family Theaceae. The leaves of *C. sinensis* have about 30% of phenolic compounds, among which flavonoids are the main therapeutic chemical components of this class with antioxidant potential, acting as free radical scavengers, metal chelators and lipoperoxidation inhibitors. The main components present in the species *C. sinensis* have chemoprotective, anticarcinogenic, anti-inflammatory, antioxidant, photoprotective, astringent, regenerating and also effective in the treatment of dark circles. The aim of the present work was the production of the liquid extract of *Camellia sinensis* and evaluation of its antioxidant potential. The characterization of *C. sinensis* was carried out by determining the granulometry of the powders, swelling index, total ash, volatile content and total phenol dosage of the plant drug. In the liquid extract, analysis of the content of solids, content of total phenols, flavonoids, and analysis of the antioxidant power of the extract through the methods of capture of the radical DPPH and ABTS was also carried out. In the characterization of the vegetable drug, the determination of the granulometry defined the powder as coarse moderation and an intumescence index of 3.36 ± 0.05 was obtained for water and 1.9 ± 0.1 for ethanol 50% (v/v) as a swelling agent. The content of total ash, volatile compounds and total phenols of the powder was $5.11\% \pm 0.005$, $5.14\% \pm 0.14$, and $0.221\% \pm 0.13$, respectively. The hydroalcoholic extract had a solids content of $6.29\% \pm 0.1$, a total phenol content of $4.82\% \pm 0.002$ (m / v), and a flavonoid content of $0.95\% \pm 0.1$ (m / v). The analysis of the extract's antioxidant potential showed an IC₅₀ of 0.129 mg / mL in the capture of the DPPH radical and 388.47 μ M trolox / g in the ABTS radical capture method. Due to the antioxidant capacity of green tea extract, its use has been increasingly explored for cosmetic application because, in addition to being easy to obtain, it is a very beneficial natural antioxidant, being an option as a substitute for synthetic assets.

Keywords: Green tea, *Camellia sinensis*, Antioxidant, Phenolic compounds, Natural product.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Árvore de <i>Camellia sinensis</i> | 14 |
| Figura 2: Estrutura dos compostos fenólicos | 16 |
| Figura 3: Estrutura molecular das catequinas presentes no chá verde | 18 |
| Figura 4: Principais classes de flavonóides | 19 |
| Figura 5: Amostra a granel do chá verde obtida para experimentos | 28 |
| Figura 6: Amostra de <i>Camellia sinensis</i> em embalagem | 28 |
| Figura 7: Amostra em agitador eletromagnético de peneiras | 29 |
| Figura 8: Histograma de distribuição granulométrica do pó de <i>Camellia sinensis</i> .. | 30 |
| Figura 9: Amostra em contato com o solvente durante o repouso | 31 |
| Figura 10: Amostra sendo incinerada em mufla | 32 |
| Figura 11: Amostras incineradas dentro do cadinho | 32 |
| Figura 12: Gráfico da curva padrão de ácido gálico do pó de <i>Camellia sinensis</i> | 33 |
| Figura 13: Extrato sendo produzido em percolador | 35 |
| Figura 14: Droga vegetal em percolador com solução hidroalcoólica 50% | 35 |
| Figura 15: Extrato de <i>Camellia sinensis</i> em rotaevaporador | 36 |
| Figura 16: Gráfico da curva padrão de ácido gálico do extrato de chá verde | 38 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Diluições para os ensaios de captura do radical DPPH | 26 |
|--|----|

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 12 |
| 1.1 <i>Camellia sinensis</i> L. | 14 |
| 1.2 Compostos fenólicos | 16 |
| 1.3 Cosmético multifuncional / natural | 19 |
| 2. OBJETIVOS | 21 |
| 2.1 Objetivo geral | 21 |
| 2.2 Objetivos específicos | 21 |
| 3. METODOLOGIA | 22 |
| 3.1 Caracterização do material | 22 |
| 3.1.1 Coleta e preparo..... | 22 |
| 3.1.2 Determinação da Granulometria dos pós..... | 22 |
| 3.1.3 Determinação do índice de intumescência..... | 22 |
| 3.1.4 Determinação de cinzas totais | 23 |
| 3.1.5 Determinação do teor de voláteis | 23 |
| 3.1.6 Doseamento de fenois totais da droga vegetal | 23 |
| 3.2 Obtenção e caracterização do extrato líquido de <i>Camellia sinensis</i> | 24 |
| 3.2.1 Produção do extrato líquido concentrado | 24 |
| 3.2.2 Determinação do teor de sólidos | 24 |
| 3.2.3 Determinação do teor de fenóis totais no extrato líquido | 25 |
| 3.2.4 Determinação do teor de flavonoides no extrato líquido | 25 |
| 3.3 Determinação do potencial antioxidante do extrato de <i>Camellia sinensis</i> | 26 |
| 3.3.1 Captura do Radical Livre DPPH | 26 |
| 3.3.2 Captura do Radical Livre ABTS | 27 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 27 |
| 4.1 Caracterização do material vegetal | 27 |
| 4.1.1 Determinação da granulometria dos pós | 28 |
| 4.1.2 Determinação do índice de intumescência | 30 |
| 4.1.3 Determinação de cinzas totais | 31 |
| 4.1.4 Determinação do teor de voláteis | 32 |
| 4.1.5 Doseamento de fenóis totais da droga vegetal | 33 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2 Obtenção e caracterização do extrato líquido de <i>Camellia sinensis</i> | 34 |
| 4.2.1 Determinação do teor de sólidos | 36 |
| 4.2.2 Determinação do teor de fenóis totais | 37 |
| 4.2.3 Determinação do teor de flavonoides totais | 39 |
| 4.3 Determinação do potencial antioxidante do extrato de <i>Camellia sinensis</i> | 40 |
| 4.3.1 Captura do Radical Livre DPPH | 40 |
| 4.3.2 Captura do Radical Livre ABTS | 41 |
| 5. CONCLUSÃO | 43 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento cutâneo é um processo complexo e multifatorial que leva à alterações funcionais e estéticas da pele ao longo da vida sendo dividido em dois tipos: o intrínseco, ou cronológico, determinado por fatores genéticos, e o extrínseco, ou fotoenvelhecimento, decorrente da exposição a fatores ambientais (SATHLER, 2018).

Com o envelhecimento da população e o conhecimento atual dos efeitos nocivos da radiação ultravioleta sobre a pele, as pessoas têm buscado cada vez mais formulações que retardem ou atenuem o fotoenvelhecimento cutâneo, desta forma, procuram cosméticos que agregem em uma única embalagem várias funções, com o intuito de aplicar diferentes produtos. Os cosméticos multifuncionais surgem como uma alternativa, neste contexto, oferecendo benefícios como proteção solar, hidratação, ação antioxidante, dentre outras aplicações, em um mesmo produto (SATHLER, 2018).

Atualmente, apenas o uso de protetor solar não é mais considerado suficiente na prevenção e/ou tratamento do fotoenvelhecimento, portanto, vem se buscando associar os protetores solares com antioxidantes (RABE et al., 2006). A indústria cosmética vem utilizando vários ativos que combatem, controlam ou postergam o envelhecimento cutâneo, a partir de compostos que possuem a capacidade antioxidante como mecanismo de ação (FRIES, 2010). Os compostos antioxidantes conferem um grau de fotoproteção e anticarcinogênese pela captura de espécies reativas de oxigênio (ERO's) geradas pelo metabolismo celular e pela exposição direta à radiação ultravioleta (UV), além de bloquear as vias inflamatórias induzidas por UV (RESZKO et al., 2009).

Os compostos fenólicos formam o maior grupo de antioxidantes extraídos de vegetais (SCOTTI, 2007) e sua ação antioxidante é devido às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na neutralização de radicais livres (DEGASPARI, 2004). Os compostos fenólicos são encontrados geralmente em todo o reino vegetal, no entanto podem estar localizados em maior concentração em algumas espécies. Os compostos fenólicos estão divididos em dois grandes grupos: os flavonóides e derivados e os ácidos fenólicos e cumarinas (SOARES, 2002). Os antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de

radicais livres e algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI *et al.*, 1992), agindo tanto na etapa de iniciação, inibindo a formação de radicais livres, como na propagação do processo oxidativo, que pode ser evitado através da modificação das condições ambientais ou pela utilização de substâncias antioxidantes com a propriedade de impedir ou diminuir o desencadeamento das reações oxidativas (SOARES, 2002).

As folhas de *C. sinensis* possuem cerca de 30% de compostos fenólicos, principalmente as epicatequinas (PRADO *et al.*, 2005). Os principais componentes químicos terapêuticos desta espécie pertencem ao grupo dos flavonoides, sendo potentes antioxidantes, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação (PONTES, 2010). Na área cosmética e dermatológica, as principais aplicações do chá verde são em cremes e loções usando o extrato aquoso das folhas, no combate aos sinais de envelhecimento da pele e inflamações (SPONCHIADO, 2013).

A alta concentração de flavonóides torna o chá verde um potente antioxidante, podendo ser aplicado em formulações cosméticas como um agente antienvhecimento, devido à inibição dos radicais livres, potencializar a ação dos filtros solares na proteção da pele através da sinergia entre os compostos, uma vez que a radiação UVA gera radicais livres, ou como um agente antioxidante para o produto, protegendo a formulação cosmética contra a oxidação de ingredientes lipídicos (AGUIAR, 2020).

O extrato de *C. sinensis* é uma opção promissora pois, por ser um extrato vegetal torna o produto um fitocosmético natural, que é um tipo de produto muito procurado nos últimos anos no mercado, além de possuir várias propriedades benéficas, como ação antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênica e agente fotoprotetor, que o torna um cosmético multifuncional.

A padronização dos extratos vegetais leva a uma maior concentração, estabilidade e facilidade de padronização dos princípios ativos, assim como facilidade de transporte, menor espaço necessário para o armazenamento do produto e menores riscos de contaminação microbiana, vantagens essas que aumentam o valor agregado do produto (SOUZA, 2007). A padronização envolve o doseamento das substâncias químicas relacionadas aos efeitos terapêuticos. Na

maioria das vezes, este doseamento é feito para uma ou mais substâncias que ocorrem na espécie vegetal de maneira mais expressiva em quantidade ou em potência farmacológica (RODRIGUES, 2007).

1.1 *Camellia sinensis* L.

A *C. sinensis*, popularmente conhecida como chá verde, chá da Índia ou “green tea” (PRADO et al., 2005), pertence à família Theaceae, gênero *Camellia* e espécie *Sinensis* (SÁ et al., 2007). Quatro variedades de chás são originados dessa planta: o branco, o verde, o oolong e o preto, sendo popularmente consumidos no mundo por suas propriedades e sabor (FIQUEIREDO et al., 2014). Originária do sudeste asiático (China e Índia) e introduzida no Japão no início do séc. IX, a espécie *C. sinensis* é cultivada em mais de 30 países em todo o mundo há mais de 50 anos (MIYAZAKI, 2008).

Figura 1: Árvore de *Camellia sinensis*



Fonte: (SOUSA, 2016).

É uma planta do tipo arbustiva com cultivo em estacas. As folhas são simples, alternadas, com margem serreada e de textura coriácea. As flores são brancas, pequenas e com quatro a cinco pétalas (SÁ et al., 2007). As folhas do chá verde contêm de 15 a 20% de proteínas, 5% de glicídios, 1 a 4% de ácido ascórbico, vitaminas do complexo B, sais minerais, cafeína, teofilina e 30% de proantocianidinas (CAVALCANTI et al., 2007).

As folhas frescas da *C. sinensis* possuem uma grande quantidade de flavonóides conhecidos como catequinas. As principais catequinas presentes no chá verde são epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG) e

epigallocatequina gallato (EGCG) (CARPENEDO, 2009). Estudos mostram que o consumo de catequinas pode reduzir o peso corporal devido à sua ação sobre o sistema nervoso simpático (SNS), aumentando o gasto de energia e promovendo a oxidação de gorduras. A cafeína também influencia na atividade do SNS e pode agir sinergicamente com as catequinas nesta ação. Outras possíveis alterações são a diminuição do apetite, aumento da regulação das enzimas envolvidas na oxidação de gordura hepática e a diminuição da absorção de nutrientes (LUCAS, 2016).

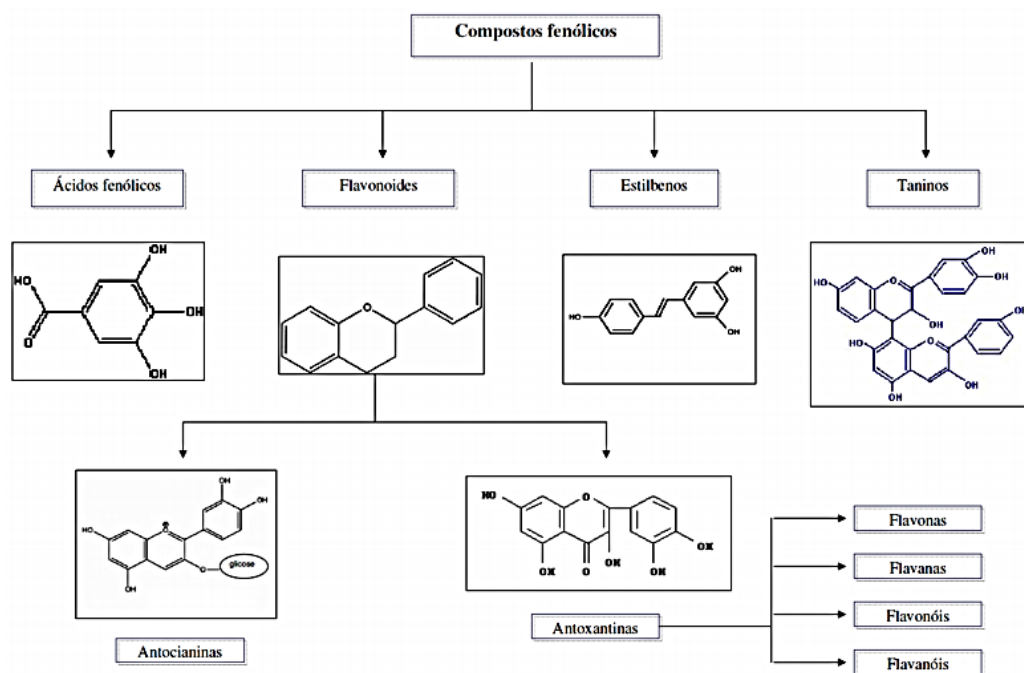
A epigallocatequina é capaz de reduzir a gordura corporal através do aumento da capacidade de absorção lipídica, dos triglicerídeos e do colesterol, da promoção da oxidação lipídica e excreção de lipídeos com um melhor desempenho no gasto calórico e aumento das concentrações de HDL (CARPENEDO, 2009). Estudos com cultura de células humanas tem demonstrado que os componentes do chá verde e a cafeína aumentam a oxidação lipídica e a termogênese, promovendo, dessa forma, aumento no gasto energético, provavelmente devido ao efeito sinérgico entre as moléculas (LUCAS, 2016).

Estudos mostram que os principais componentes presentes na espécie *C. sinensis* possuem capacidade quimioprotetora; anticarcinogênica; antiinflamatória (OLIVEIRA, 2010); antioxidante, combatendo os radicais livres responsáveis pelo envelhecimento precoce da pele; agente fotoprotetor, atuando contra os raios ultravioletas do tipo B (UVB) diminuindo os riscos de câncer de pele; agente adstringente, promovendo a limpeza e equilíbrio da pele e dos cabelos oleosos; agente regenerador, revitalizando a pele e os cabelos; melhora a circulação sanguínea e também eficaz no tratamento de olheiras (MIYAZAKI, 2008). Na área cosmética e dermatológica, as principais aplicações do chá verde são em cremes e loções usando o extrato aquoso das folhas, no combate aos sinais de envelhecimento da pele e inflamações (SPONCHIADO, 2013). Sua ação antioxidante contra os radicais livres, tem importância maior nos processos patológicos como lesão tecidual, envelhecimento celular e carcinogênese (OLIVEIRA, 2010).

1.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ou polifenóis são um vasto grupo de fitoquímicos que se caracterizam por possuírem, pelo menos, um anel aromático ao qual se encontra ligado, a um ou mais grupamentos hidroxilas. A sua estrutura pode variar entre uma simples molécula fenólica a polímeros complexos de elevado peso molecular. A maioria destes compostos ocorre naturalmente conjugados a mono ou oligossacarídeos, ligados a um ou mais grupos fenólicos, podendo também ocorrer como derivados funcionais, como ésteres ou metilésteres (NEVES, 2015). Esses compostos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação (SILVA, 2010).

Figura 2: Estrutura dos compostos fenólicos.



Fonte: (JANIKUES, 2013).

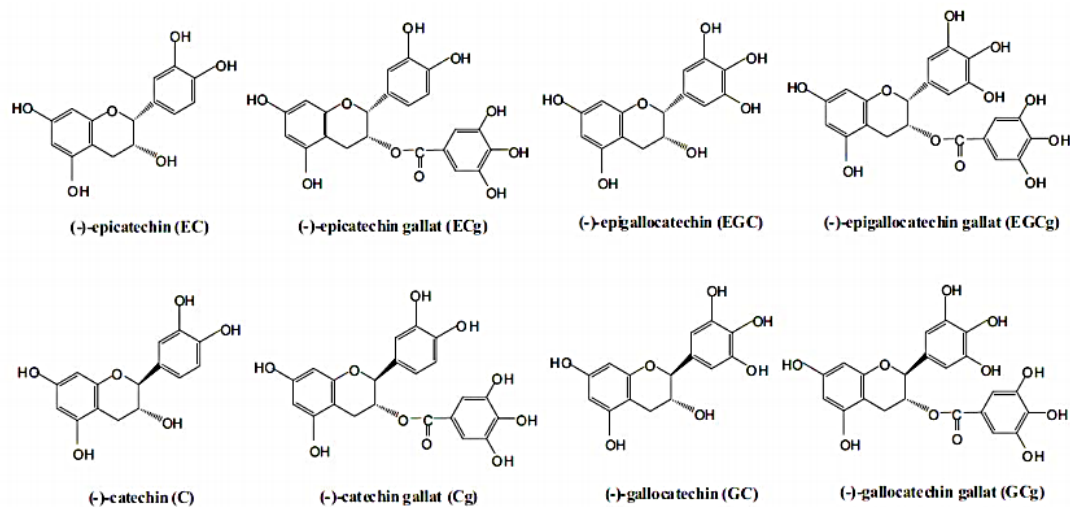
Estes compostos são produzidos pela maioria das plantas como parte integrante da sua estrutura, os quais desempenham funções diversas, tais como funções estruturais nos tecidos de sustentação ou proteção, participando em estratégias de defesa contra ataques dos herbívoros e de agentes patogênicos, radiação ultravioleta (UV) e oxidação das biomoléculas (NEVES, 2015). Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos, ou produtos do metabolismo

secundário, normalmente derivado de reações de defesa das plantas contra agressões do ambiente (SILVA, 2010). Estas suas funções devem-se essencialmente à sua capacidade antioxidante, ou seja, à sua capacidade de agir como agentes redutores, doadores de prótons e sequestradores de radicais livres (NEVES,2015).

Os antioxidantes são substâncias que diminuem ou bloqueiam as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres, impedindo a propagação dos radicais na cadeia carbônica, desfazendo a peroxidação lipídica de ácidos graxos, podendo diminuir ou evitar o envelhecimento da pele (FIQUEIREDO, 2014). Os compostos fenólicos formam o maior grupo de antioxidantes extraídos de vegetais. São compostos polares e encontram-se nos vegetais sob a forma de polímeros, na qual destacam-se os taninos e as ligninas (SCOTTI, 2007). Um de seus principais mecanismos de ação antioxidante é devido a sua capacidade de sequestrar radicais livres. Diversos estudos evidenciam a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos e para promover um efeito satisfatório na ação antienvhecimento, a formulação cosmética deve ser estável e promover a efetiva liberação do composto ativo na pele (FIQUEIREDO, 2014).

O chá verde tem em sua composição diversas classes de compostos fenólicos, como flavonóis e ácido fenólicos, sendo que os principais presentes no chá verde são os monômeros de catequinas. As catequinas do chá verde incluem, por exemplo, a catequina (C), a galocatequina (GC), a epicatequina (EC), a epigalocatequina (EGC), a epicatequina galato (ECG) e a epigalocatequina galato (EGCG). A EGCG corresponde a mais abundante catequina do chá verde (50 - 60%) (SENGER, 2010).

Figura 3: Estrutura molecular das catequinas presentes no chá verde.

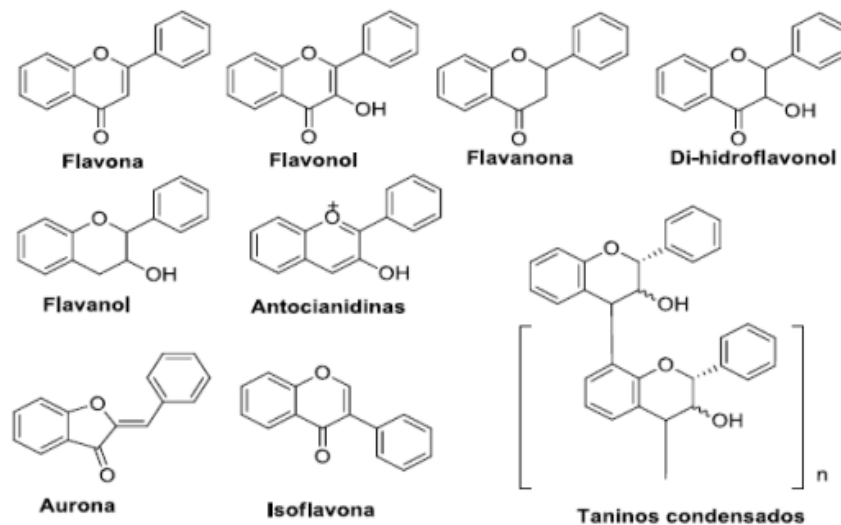


Fonte: (SOUSA, 2016).

A propriedade de óxido-redução dos compostos fenólicos permite desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres. Em geral, existem duas categorias básicas de antioxidantes: os naturais e os sintéticos. O interesse crescente em encontrar antioxidantes naturais para substituir os sintéticos se deve ao fato de estes estarem sendo restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese, bem como pela comprovação de diversos outros males. (DEGASPARI, 2004). Portanto, os compostos fenólicos naturais oriundos de origem vegetal podem ser divididos em flavonóides e não flavonóides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais e possuem estrutura diferente (DEGASPARI, 2004).

A estrutura básica dos flavonoides consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis. Variações do anel fenólico padrão resultam em importantes classes de flavonoides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavonóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas (HENRIQUE, 2017). Os flavonoides possuem ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e fotoprotetora (BALOGH, 2011). A estrutura dos flavonoides favorece o sequestro de radicais, sendo antioxidantes mais eficientes que as vitaminas C e E. A atividade de sequestro de radicais livres está diretamente ligada ao potencial de oxidação dos flavonoides e das espécies a serem sequestradas, sendo que quanto menor o potencial de oxidação do flavonoide, maior a sua atividade como sequestrador de radicais livres (YOSHIDA, 2017).

Figura 4: Principais classes de flavonóides.



Fonte: Urzedo (2020).

Na área cosmética os flavonoides são usados através da adição de extratos vegetais ricos com estes compostos. Os flavonoides vão atuar capturando e neutralizando espécies oxidantes, podem atuar também diretamente na formação de radicais livres, além de inibirem enzimas envolvidas na geração de EROs (espécies reativas de oxigênio) (BALOGH, 2011).

1.3 Cosmético multifuncional / natural

Segundo a RDC n° 211, de 14 de julho de 2005, produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado.

Os cosméticos podem ser definidos como produtos de grau 1 e grau 2. Os produtos de grau 1, são produtos de higiene pessoal cosméticos e perfumes que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares, cuja comprovação não seja inicialmente necessária e não requeiram informações detalhadas quanto ao seu modo de usar e suas restrições de uso, devido às características intrínsecas do produto. Os produtos de grau 2, produtos de higiene

peçoal, cosméticos e perfumes que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso (ANVISA, 2005).

A RDC n° 30, de 1 de julho de 2012, diz que produtos multifuncionais podem ser definidos como qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, cujo benefício de proteção contra a radiação UV não é a finalidade principal, mas um benefício adicional do produto. Portanto, os cosméticos multifuncionais tem capacidade de desempenhar mais de uma função simultaneamente. Existem quatro tipos diferentes de multifuncionalidade, a primeira é a multifuncionalidade orientada pelo desempenho, onde o produto realiza duas ou mais funções separadas; o segundo é a multifuncionalidade de ingredientes, no qual o ingrediente exerce mais de uma função; o terceiro é a multifuncionalidade situacional, que é quando um produto pode ser usado em múltiplas situações; e por último temos a multifuncionalidade dos apelos publicitários, onde as empresas descrevem benefícios múltiplos para um produto (SATHLER, 2018).

Os fitocosméticos são potenciais produtos com capacidade multifuncional. Por definição eles são cosmético que contém ativos de origem vegetal, seja um extrato, óleo fixo ou óleo essencial, cuja ação define a finalidade do produto (ISAAC, 2008).

Os cosméticos naturais têm em sua fórmula 5% de matéria-prima certificada como orgânica e os outros 95% da formulação podem ser compostos por matérias-primas não certificadas, desde que sejam 100% naturais (MIRANDA, 2018). Existem diferenças significativas entre cosméticos naturais e cosméticos com ingredientes naturais em sua formulação. Isto quer dizer que não basta haver um ingrediente natural na fórmula para fazer do cosmético um produto natural. Para que os cosméticos sejam considerados naturais, devem seguir rígidos padrões em componentes (SEBRAE, 2008), como citado anteriormente. Portanto, os cosméticos com ingredientes naturais em sua formulação vão ter o uso de conservantes e outros ingredientes químicos, o que viabiliza a venda destes produtos, pois sem a presença deles o tempo de validade se tornaria muito curto.

Os metabólitos vegetais com potenciais aplicações cosméticas incluem compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides, cumarinas, entre outros (MORAIS, 2019). Devido a diversidade de compostos presentes em um único extrato sua

aplicação em cosméticos o torna um fitocosmético multifuncional. Para a produção de extratos a partir de matéria prima vegetal, pode-se considerar a padronização como uma condição em que a eficácia do produto é garantida através da constância do teor de metabólitos secundários. A padronização de extratos produzidos a partir de plantas medicinais visa o estabelecimento de parâmetros de controle de qualidade para a matéria prima vegetal (SOUZA, 2007), garantindo com isso qualidade, pureza e doseamento de compostos presente no extrato.

Portanto, este estudo tem como objetivo desenvolver um extrato líquido concentrado de *C. sinensis* e avaliar sua atividade antioxidante, determinando a concentração de compostos fenólicos com a finalidade de evidenciar sua potencial aplicação em cosméticos multifuncionais como um ativo cosmético com ação antioxidante e fotoprotetora, retardando assim o envelhecimento cutâneo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produção do extrato líquido de *Camellia sinensis* e avaliação do seu potencial antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

- Processar e caracterizar o material vegetal
- Obter e caracterizar o extrato de *Camellia sinensis*
- Determinar os fenóis e flavonoides totais da amostra
- Determinar o potencial antioxidante do extrato de *Camellia sinensis*

3. METODOLOGIA

3.1 Caracterização do material

3.1.1 Coleta e preparo

A amostra de *C. sinensis* foi adquirida na Empresa Nativa produtos naturais, em Goiânia-GO, na forma rasurada. A amostra foi processada no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN), em moinho de facas, e posteriormente acondicionada em embalagens plásticas ao abrigo de luz e umidade.

3.1.2 Determinação da granulometria dos pós

A determinação da granulometria foi realizada de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª Edição (2019). Foram usados tamises de abertura de 710, 355, 250, 180, 106 mm/μm. Os tamises foram pesados vazios em balança analítica, em seguida pesou-se 25 g da droga vegetal de *C. sinensis* e transferiu-se para o tamis superior. O jogo de tamises foi submetido a vibrações em velocidade padronizada nível 5 por 15 minutos em tamisador vibratório (Bertel®). Após o término, os tamises foram pesados novamente. A análise foi realizada em triplicata e o resultado expresso em % (m/m) da média de droga vegetal presente em cada tamis (BRASIL,2019).

3.1.3 Determinação do índice de intumescência

O índice de intumescência é a medida do volume que a droga vegetal de interesse ocupa após o contato com o solvente. Uma amostra de 1 g do material vegetal foi colocada em uma proveta de 25 mL com escala de 0,2 mL e tampa esmerilhada. O volume ocupado pelo pó foi medido antes da adição do solvente. Em seguida, foram adicionados 25 mL de água destilada, agitando-se a proveta a cada 10 min, durante 1h. Após repouso de 3 h, à temperatura ambiente, foi verificado o volume final ocupado pelo material vegetal (BRASIL, 2019). Foi realizado o mesmo teste utilizando etanol como solvente. O índice de intumescência foi realizado em triplicata e calculado em mL.

3.1.4 Determinação de cinzas totais

Pesou-se 3 g da droga vegetal de *C. sinensis*, transferiu-se a amostra para um cadinho previamente calcinado (600°C) e pesado. Incinerou-se a amostra, aumentando a temperatura gradativamente, iniciando a 200 °C por 30 minutos, depois a 400 °C por 60 minutos e por último a 600°C por 90 minutos. Ao finalizar, a amostra foi transferida para um dessecador, e após atingir a temperatura ambiente, foi pesada. A análise foi realizada em triplicata e o resultado expresso em % (m/m) da média de droga vegetal presente em cada tamis (BRASIL, 2019).

3.1.5 Determinação do teor de voláteis

O teor de voláteis foi realizado em uma balança com aquecimento por lâmpada de halogênio (Ohaus® modelo MB35). Para isso, colocou-se 1 g da droga vegetal pulverizada no prato da balança e iniciou-se o processo. O teor de voláteis foi apresentado no display digital do aparelho em aproximadamente 10 minutos. O experimento foi realizado em triplicata, calculou-se a média e desvio padrão e o resultado expresso em % (BRASIL, 2019).

3.1.6 Doseamento de fenóis totais na droga vegetal

A análise foi realizada pelo método de Folin Ciocalteu (FC), adaptado por Agbor, Patrick, Donelly (2014). Preparou-se a solução padrão de ácido gálico a 0,6 mg/mL, a solução aquosa a 7% de carbonato de sódio e a solução de Folin Ciocalteu 1:10 v/v. Para o preparo da curva padrão, retirou-se alíquotas de 200 µL, 400 µL, 600 µL, 800 µL, 1000 µL do padrão de ácido gálico 0,6 mg/mL e completou-se o volume para 2 mL de água, gerando as concentrações de 0,06 mg/ mL, 0,12 mg/ mL, 0,18 mg/ mL, 0,24 mg/ mL, 0,3 mg/ mL, respectivamente.

Em tubos de ensaio, adicionou-se 100 µL de cada concentração obtida a partir da solução de ácido gálico, acrescentou-se 2 mL do reagente FC, agitou-se e aguardou 5 minutos. Acrescentou-se 2 mL da solução de carbonato de sódio e completou-se o volume para 5 mL com água destilada. Após manter os tubos, por 2 horas, em ambiente escuro, a leitura das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 760 nm. Para o preparo do branco, substituiu-se a solução padrão por água.

Para o doseamento foram pesados 0,25 g da droga vegetal de *C. sinensis*, transferiu-se para um balão de 25 mL e completou o volume com solução hidroetanólica a 50 %. O balão foi transferido para o banho ultrassom no qual foi submetido à extração por 30 minutos. Após filtrar o extrato obtido, pipetou-se 50 µL da amostra e adicionou-se 500 µL do solvente extrator. A leitura da absorvância foi realizada em triplicata.

3.2 Obtenção e caracterização do extrato líquido de *Camellia sinensis*

3.2.1 Produção do extrato líquido concentrado

Para a produção do extrato líquido de *Camellia sinensis*, a droga vegetal obtida após a moagem foi submetida ao processo extrativo de percolação, conforme a Farmacopéia Brasileira 2ª ed. (1989), utilizando como solvente a solução hidroalcolica a 50% (v/v).

Pesou-se 1 Kg do material vegetal que foi transferido para o percolador de aço inox e adicionou-se 6 L da solução hidroalcolica a 50% (v/v), deixando macerar (maceração estática) por 24 horas antes do início da percolação. Ao final da maceração o conteúdo foi percolado e, após 10 viragens, o extrato foi recolhido em um recipiente de vidro, fazendo o processo de extração por esgotamento.

O extrato obtido foi concentrado através de rotaevaporador, resultando na total evaporação do álcool etílico. Após a concentração, o extrato foi armazenado em freezer a - 20 °C.

3.2.2 Determinação do teor de sólidos

Foi determinado o teor de sólidos do extrato por meio da utilização de uma balança com lâmpada de halogênio (Ohaus® modelo MB35), pesando-se 1 g do extrato na balança e acionando-se ao dispositivo de aquecimento. Os ensaios foram realizados em triplicata (BRASIL,2019). Como o equipamento gera o valor do teor de voláteis, o cálculo para o teor de sólidos no extrato foi realizado de acordo com a equação 1:

$$\text{Teor de sólidos (\%)} = 100 - \text{Teor de voláteis} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

Teor de voláteis = Valor gerado pelo equipamento.

3.2.3 Determinação do teor de fenóis totais no extrato líquido

A análise foi realizado pelo método de Folin Ciocalteu (FC), adaptado por Agbor, Patrick, Donelly (2014). Preparou-se a solução padrão de ácido gálico a 0,6 mg/mL, a solução aquosa a 7% de carbonato de sódio e a solução de Folin Ciocalteu 1:10 v/v. Para o preparo da curva padrão, retirou-se alíquotas de 200 µL ,

400 µL, 600 µL, 800 µL, 1000 µL do padrão de ácido gálico 0,6 mg/mL e completou-se o volume para 2 mL de água, gerando as concentrações de 0,06 mg/ mL, 0,12 mg/ mL, 0,18 mg/ mL, 0,24 mg/ mL, 0,3 mg/ mL, respectivamente.

Em tubos de ensaio adicionou-se 100 µL de cada concentração obtida a partir da solução de ácido gálico e acrescentou-se 2 mL do reagente FC, agitou-se e aguardou 5 minutos. Acrescentou-se 2 mL da solução de carbonato de sódio e completou-se o volume para 5 mL com água destilada. Após 2 horas em ambiente escuro, as leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 760 nm. Para o preparo do branco, substituiu-se a solução padrão por água.

A amostra foi preparada, em triplicata, pipetando-se 100 µL do extrato que posteriormente foi diluído utilizando-se água destilada em balão de 10 mL.

3.2.4 Determinação do teor de flavonoides no extrato líquido

O doseamento de flavonoides foi realizado de acordo com o método proposto por Rolim *et al.* (2005) com modificações, expresso em rotina. Para o preparo da curva padrão foram pesados 10 mg de rutina e transferidos para um balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com a solução de etanol:ácido acético 0,02M (99:1). Alíquotas de 200, 400, 600, 800 e 1000 µL foram retiradas e transferidas para tubos de ensaio e completou-se o volume para 2 mL com a solução de etanol:ácido acético 0,02M. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (λ 361nm), em triplicata.

Para a análise da amostra, pipetou-se 50 µL do extrato de *Camellia sinensis* e diluiu-se em balão de 10 mL com solução de etanol:ácido acético 0,02M. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (361nm), em triplicata.

3.3 Determinação do potencial antioxidante do extrato líquido de *Camellia sinensis*

A atividade antioxidante do extrato de *C. sinensis* foi avaliada utilizando metodologias descritas nos Comunicados Técnicos 127 e 128 da Embrapa Agroindústria Tropical (MAPA, 2006) com adaptações. Os ensaios foram realizados com o extrato líquido de *C. sinensis*.

3.3.1 Captura do Radical Livre DPPH

O método utilizando DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) tem como princípio a captura do radical livre DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra resultando assim em uma diminuição da absorvância a medida que estes complexos são formados. A curva padrão é construída a partir da solução de DPPH.

Preparo da amostra: 25 μL do extrato foi adicionado em balão volumétrico de 10 mL e o volume completado com metanol. Agitou-se o balão e em seguida a amostra foi filtrada utilizando Millex.

Preparo da solução de DPPH (6mM): 2,4 mg de DPPH foi dissolvido em 100 mL de metanol e protegido da luz.

A solução padrão de DPPH foi diluída em diferentes concentrações do extrato, dependendo do ensaio (tabela 1). Os tubos foram homogeneizados e após 20 minutos foram realizadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro (515 nm). Utilizou-se álcool metílico para calibrar o espectrofotômetro (RUFINO et al., 2007).

Tabela 1 - Diluições para os ensaios de captura do radical DPPH.

| Tubo de ensaio | Solução de DPPH (mL) | Álcool metílico (μL) | Extrato (μL) |
|----------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| 1 | 3,9 | 80 | 20 |
| 2 | 3,9 | 60 | 40 |
| 3 | 3,9 | 40 | 60 |
| 4 | 3,9 | 20 | 80 |
| 5 | 3,9 | - | 100 |
| Controle | 3,9 | 100 | - |

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média das repetições.

3.3.2 Captura do Radical Livre ABTS

Para o preparo do radical ABTS, foram adicionados solução estoque de ABTS e solução de persulfato de potássio 140 mM, que foram mantidas no escuro por 16 h. A curva padrão de trolox foi preparada com concentrações de 100 μM , 500 μM , 1.000 μM , 1.500 μM e 2.000 μM . Foram adicionados 30 μL de trolox de cada

concentrações descrita acima, e 3 mL da solução do radical ABTS. Esperou-se 6 min após a agitação e fez-se a leitura da absorbância 734 nm em triplicata.

Preparou-se em tubos de ensaio, 5 diluições diferentes, em triplicata. Transferiu-se 30 μ L, 40 μ L, 50 μ L, 60 μ L e 70 μ L da amostra preparada para um balão de 10 mL e completou-se o volume. De cada concentração retirou-se 30 μ L e adicionou-se 3 mL de ABTS, homogeneizar e esperar 6 minutos para leitura (RUFINO et al., 2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do material vegetal

A caracterização do material avalia se a amostra esta conforme os parâmetros de cinzas totais, índice de intumescência, voláteis, granulometria, fenóis, flavonoides e teor de antioxidantes determinados na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019) e se apresenta contaminação ou adulterações que podem alterar seus resultados. O material vegetal foi adquirido à granel (Figura 5) onde pode-se observar que o material encontrava-se seco, triturado e a parte utilizada da planta são as folhas (Figura 6).

Figura 5: Amostra a granel do chá verde obtida para experimentos.



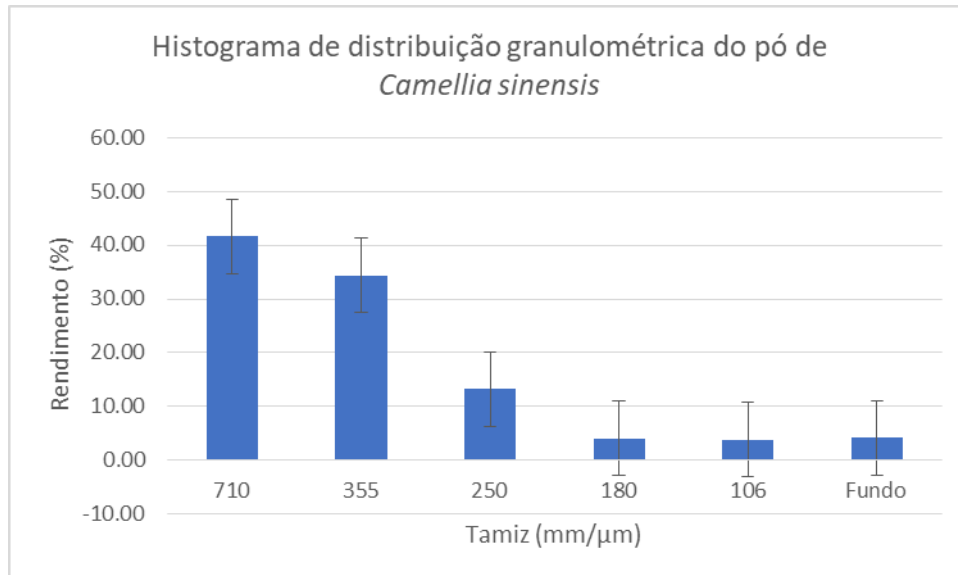
Fonte: próprio autor.

Figura 7: Amostra em agitador eletromagnético de peneiras.



Fonte: próprio autor.

Figura 8. Histograma de distribuição granulométrica do pó de *Camellia sinensis*.



Fonte: Próprio autor.

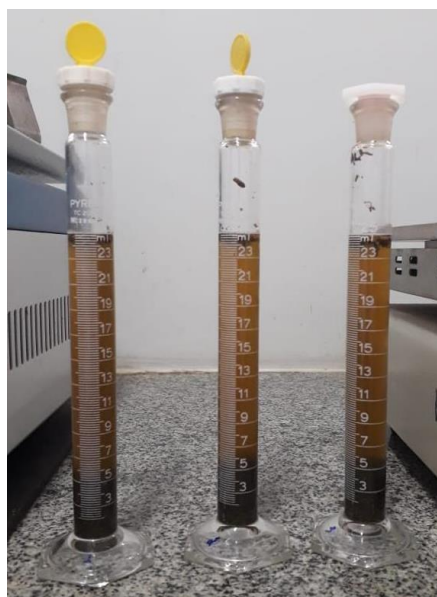
4.1.2 Determinação do índice de intumescência

A determinação do índice de intumescimento é um método que indica a quantidade de polissacarídeos presentes em um insumo farmacêutico ativo de origem natural. A avaliação é realizada a partir do leitura do volume (mL) ocupado

por 1 g da droga após intumescimento em solução aquosa por três horas (SIMÕES et al., 2017), ou seja, calcula a expansão da droga vegetal causada pelo intumescimento após contato com o solvente (Figura 9). O valor encontrado foi de $3,36 \pm 0,05$ para a amostra, utilizando-se a água como agente intumescedor. Para o uso de etanol 50% como agente intumescedor, foi encontrado um valor de $1,9 \pm 0,1$. A diferença nos valores obtidos se deve a taxa de intumescimento que a célula vegetal sofre, e pode influenciar na quantidade de compostos que são extraídos da droga vegetal, pois quanto mais intumescer a amostra, maior a quantidade de compostos liberados. Misturas hidroalcoólicas são polares o que favorece a extração dos compostos do chá verde. Solventes pouco polares, permitem recuperar as agliconas livres pouco polares como flavonas, flavonóis, flavanonas, di-hidroflavonóis, isoflavonas e outras agliconas com alto grau de metilação, e aumentando a polaridade do solvente, extraem-se agliconas poli-hidroxiladas, flavonas e flavonóis mais polares, auronas, chalconas e flavonoides glicosilados (SIMÕES et al., 2017).

O índice de intumescência influencia na preparação dos percoladores, fornecendo um indicativo de intumescimento do pó quando em contato com o solvente, permitindo perceber o volume extra de solvente que deve ser adicionado durante o produção do extrato (COUTO, 2009; POSER, 2004).

Figura 9: Amostra em contato com o solvente durante o repouso.



Fonte: próprio autor.

4.1.3 Determinação de cinzas totais

O teor de cinzas totais visa estabelecer a quantidade de substância residual não volátil no processo de incineração (Figura 10). Esta metodologia permite verificar constituintes inorgânicos não voláteis na amostra, como por exemplo, os elementos essenciais para a formação do vegetal, além de mostrar possíveis contaminações por impurezas inorgânicas, como metais e sílica (VIGO, 2004). O teor de cinzas totais determinado na amostra de *C. sinensis* foi de $5,11 \% \pm 0,005$ (Figura 11). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da portaria nº 519/98 (revogada pela RDC 277/05) estabelece que o teor máximo de cinzas totais em amostras de chá verde deve ser de 8 %. De acordo com o resultado obtido, o valor encontrado neste estudo respeita os limites preconizados pela legislação. No estudo de Silva (2013), o teor de cinzas totais encontrado nas amostras de *C. sinensis* analisadas variou de 4,59 a 7,04%.

Figura 10: Amostra sendo incinerada em mufla.



Fonte: próprio autor.

Figura 11: Amostras incineradas dentro do cadinho.



Fonte: próprio autor.

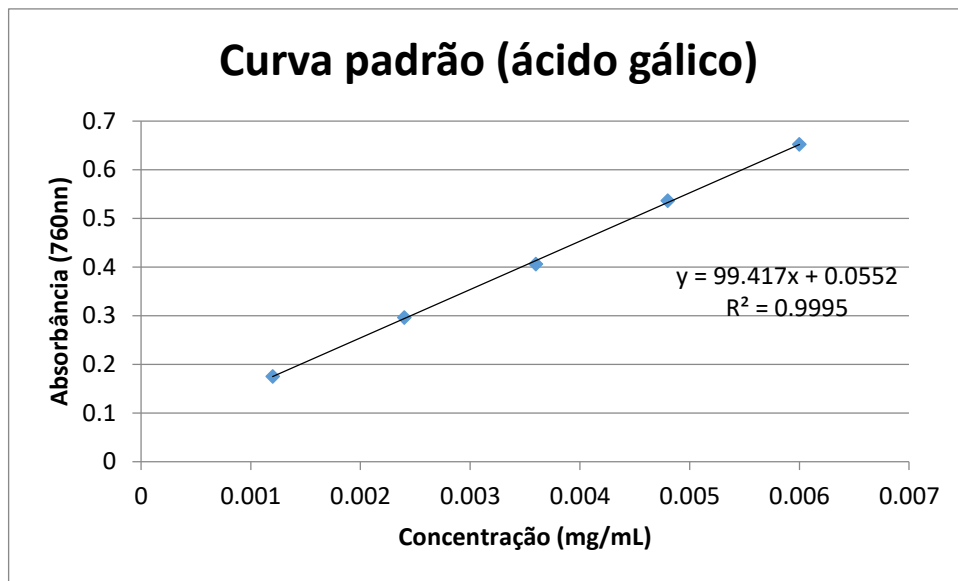
4.1.4 Determinação do teor de voláteis

O valor obtido para umidade residual da droga vegetal foi de $5,14\% \pm 0,14$. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da RDC 277/05, o teor máximo de umidade permitido para o chá verde é de 12 %. No estudo feito por Firmino (2011) em amostras de chá verde a granel, a umidade variou de 4,42 a 10,66%. A presença de quantidade excessiva de água em drogas vegetais propicia o desenvolvimento de microorganismos, insetos, a hidrólise e a atividade enzimática com consequente deterioração dos constituintes da droga vegetal. Portanto, o baixo conteúdo de umidade indica que houve eficiência durante o processo de secagem e que o material é estável (COUTO, 2009).

4.1.5 Doseamento de fenois totais da droga vegetal

A curva padrão, equação da reta e o coeficiente de correlação linear obtidos através da leitura das soluções do padrão de ácido gálico estão representadas na figura 12. Foi obtido a seguinte equação da reta $y = 99.417x + 0.0552$ e valor de $R^2 = 0.9995$.

Figura 12: Gráfico da curva padrão de ácido gálico do pó de *Camellia sinensis*.



Fonte: próprio autor.

Concentração de fenóis totais pelo método de Folin Ciocalteu, utilizando ácido gálico como padrão foi de $0,002 \pm 0,013$ mg/mL, correspondendo a um teor de fenóis de $0,221 \pm 0,13$ % (m/v). No estudo de Oliveira (2019) usando o ácido gálico como padrão foram encontrados valores de 12,71, 21,14 e 10,56 mg de EAG/g de chá, Saracine (2017) encontrou valores de 125,53 mg EAG/ g no extrato aquoso e Sousa (2016) para a análise do extrato líquido de chá verde, usando ácido gálico como padrão, encontrou concentrações de fenóis totais de 6,52 mg EAG/ mL.

Sousa (2016) avaliou no seu estudo que a temperatura influencia na concentração de compostos fenólicos. Temperaturas mais altas, preferencialmente acima de 80 °C, levam à uma diminuição na concentração dos compostos fenólicos, e em temperaturas menores que 45 °C, os valores de absorbância encontrados foram nulos.

Terefe et al. (2015) e Perva-Uzunalic et al. (2006) avaliaram o comportamento dos compostos fenólicos em temperaturas superiores a 80 °C e em ambos os trabalhos teve diminuição da concentração, portanto os trabalhos afirmam que essa diminuição da concentração está relacionada com a decomposição ou degradação dos compostos fenólicos. Kumar et al. (2012) e Sousa (2016) observaram que o tempo de aproximadamente 60 min foi a melhor extração e estabilização da concentração de compostos fenólicos. No presente trabalho a extração de fenólicos

da droga vegetal ocorreu em banho ultrassom por 30 min, em uma temperatura por volta de 35 °C, o que justifica o valor de fenóis mais baixo que foi obtido.

4.2 Obtenção e caracterização do extrato líquido de *Camellia sinensis*

O extrato foi preparado em percolador de inox (Figura 13), onde foram adicionados 6 L do solvente em 1000 g do material vegetal, no qual foi macerado durante 24h (Figura 14) e posteriormente percolado (Figura 14). Os 4,8 L de extrato líquido de *C. sinensis* foram concentrados em rotaevaporador (Figura 15) para obtenção do extrato líquido concentrado. Ao final, foram produzidos 3,5 L de extrato líquido de *C. sinensis*. A percolação usada no estudo é indicada para a extração de substâncias termossensíveis farmacologicamente ativas e presentes em baixos teores na droga vegetal, vai ocorrer o arraste dos metabólitos de interesse pela passagem contínua do líquido extrator no interior do percolador, levando ao esgotamento do material (SIMÕES, 2017).

Figura 13: Extrato sendo produzido em percolador.



Fonte: próprio autor.

Figura 14 : Droga vegetal em percolador com solução hidroalcolica 50%.



Fonte: próprio autor.

Figura 15: Extrato de *Camellia sinensis* em rotaevaporador.



Fonte: próprio autor.

4.2.1 Determinação do teor de sólidos

O teor de sólidos é calculado reduzindo de 100 o valor obtido do teor de voláteis do extrato. O teor de sólidos obtido na análise do extrato líquido concentrado de *C. sinensis* foi de $6,29 \pm 0,1$ %. Para a determinação da umidade, considerou-se o teor de sólidos totais (resíduo seco) presentes no produto e isolados por meio de evaporação, em balança de lâmpada de halogênio, até a remoção total da umidade.

As preparações concentradas dos extratos de plantas secas apresentam-se com consistência diversificada. Os extratos podem ser classificados em extratos fluído, mole e seco. Os extratos líquidos são classificados a partir da concentração que apresentam, uma parte do extrato corresponde a uma parte em massa ou volume do vegetal seco (RODRIGUES, 2016) , ou seja, são aqueles em que cada mL contém os ativos solúveis presentes em 1 g da droga que lhe deu origem, correspondendo a uma concentração de 100 %. Geralmente são usados os processos extrativos que levam ao esgotamento da droga (FONSECA, 2005), e os teores do metabólitos secundários e resíduos secos devem estar previamente padronizados (RODRIGUES, 2016).

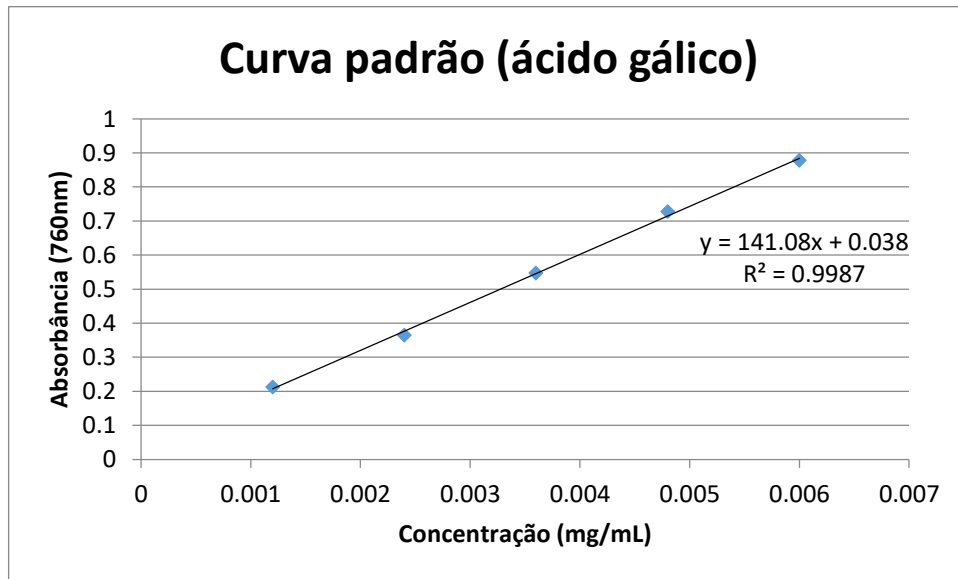
Os extratos secos são obtidos a partir da evaporação total do solvente, mínimo de 95% de resíduos sólido em massa (RODRIGUES, 2016). O extrato seco é determinado gravimetricamente por meio da evaporação da água ou perda da umidade do produto após secagem em estufa, na temperatura e tempo adequados. A temperatura empregada nesta avaliação depende do produto a ser seco bem como de suas características (composição) (GALLINA, 2009). A evaporação parcial do solvente, com mínimo de 70% de resíduos secos em proporção peso/peso, caracteriza os extratos moles (RODRIGUES, 2016). Os extratos moles e secos dependem da quantidade residual de umidade presente no extrato, e portanto da concentração atingida durante a evaporação (FONSECA, 2005).

Desta forma, o extrato de *C. sinensis* produzido é classificado como extrato líquido, devido ao teor de sólidos ser inferior à 70%.

4.2.2 Determinação do teor de fenóis totais do extrato de chá verde

A curva padrão, equação da reta e o coeficiente de correlação linear obtidos através da leitura das soluções do padrão de ácido gálico estão representadas na figura 16. Foi obtido a equação da reta $y = 141.08x + 0.038$ e valor de $R^2 = 0.9987$.

Figura 16: Gráfico da curva padrão de ácido gálico do extrato de chá verde.



Fonte: próprio autor.

A concentração de compostos fenólicos presentes no extrato líquido de *C. sinensis* foi de $0,003 \pm 0,001$ mg/mL e seu teor de $4,82 \% \pm 0,002$ (m/v). Encontraram-se 1216 mg EAG/L de compostos fenólicos no extrato de Atoui et al. (2005). Já no estudo de Zielinski (2014) o teor de compostos fenólicos do chá da *C. Sinensis* foi de 1034,48 mg EAG/L, e no estudo de Zielinski (2015) o teor fenóis totais obtidos do chá da *C. sinensis* foi de 1460,61 mg EAG/L. O total de compostos fenólicos no extrato de *C. sinensis* no estudo de Macena (2020) variou de 14,36; 78,4 e 129 μ g EAG/mL.

O aumento do teor de compostos fenólicos está relacionado ao tamanho das partículas que vai influenciar no processo de extração pois quanto menor a partícula, maior a área de superfície exposta. (PEREIRA, 2014; PEREIRA et al, 2009). Portanto a diferença no tamanho das partículas dos diferentes estudos leva a essa variação nos resultados. Outro fator que altera os valores é o armazenamento inadequado e umidade, que podem ocasionar a diminuição dos princípios ativos e

da capacidade antioxidante do produto. Este, se ficar armazenado durante um longo período de tempo pode ter alterações significativas no seu teor de metabólitos secundários, como os compostos fenólicos (OLIVEIRA, 2019). Estes fatores podem justificar o resultado desse estudo, pois a amostra apresentou baixo teor de compostos fenólicos, o que pode ser devido a forma de armazenamento no local que foi adquirido o material, que ficava em potes para venda à granel, que não eram bem vedados.

Outros fatores que justificam a variação dos resultados dos compostos fenólicos para os chás são as diferenças observadas no clima e solo, tempo de colheita, estágio de desenvolvimento, parte da planta usada, tempo e forma de processo e método de extração (GORJANOVIC et al., 2012). Alberti et al. (2014) no seu estudo verificou que a condição do processo, assim como o tipo de solvente e a concentração influenciam significativamente nos níveis de compostos extraídos.

4.2.3 Determinação do teor de flavonoides totais

Flavonoides são metabólitos secundários sintetizados pelas plantas e que pertencem também ao grupo dos compostos fenólicos (REIS, 2019). A quantidade de flavonoides é fortemente influenciada por fatores extrínsecos, como estação do ano, incidência de radiação UV, clima, composição do solo, preparo e processamento do alimento (HUBER, 2008). Para Guimarães (2011), a quantidade de compostos como os flavonóides pode variar de acordo com o histórico da planta, ou seja, se a forma de cultivo for propícia ao maior desenvolvimento destes compostos e sua colheita for antecipada, o extrato da folha do chá será mais eficaz na sua atividade antioxidante.

Os resultados foram obtidos usando o método de Rolim et al. (2005), com a rotina como padrão. Foi encontrado uma concentração de $0,0095 \pm 0,001$ % mg/mL correspondente à um teor de $0,95 \pm 0,1$ % (m/v). No estudo de Firmino (2015) a análise de flavonóides com equivalente de epicatequina obteve valores de 2,39 a 13,31 mg/g de erva seca, em amostras de chá verde à granel, e no estudo de Reis (2019) que analisou três amostras de chás em sachê de *C. sinensis* obteve para o padrão de quercitina valores de flavonóides de 1,52; 1,76 e 1,57 mg/g.

O chá verde apresenta compostos que são considerados potentes oxidantes, os principais são os flavonóides, como a quercetina, miricetina e kaempferol, se

destacando com maior importância a presença de flavonóis com 3% e as catequinas com 30% (URZEDO, 2020). Reis (2019) observou em seus resultados que as mesmas espécies vegetais podem apresentar diferentes composições químicas e conseqüentemente atividades antioxidantes distintas quando são obtidas de diferentes marcas comerciais de chás e de diferentes tipos de processamento.

Os flavonoides fazem parte do maior grupo dentre os polifenóis e representam um dos mais importantes de origem vegetal se encontrando geralmente em folhas, flores, raízes e frutos das plantas, podendo ainda apresentar diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra (FLAMBÓ, 2013). Os flavonoides são também importantes em virtude de suas atividades biológicas. O chá verde que não contém a presença desses compostos pode indicar que houve falhas no cultivo, coleta, secagem, processamento ou armazenamento do produto. Assim, a detecção desses compostos é um dos parâmetros necessários para avaliar a qualidade do produto, pois o chá que não tem presença de flavonoides não traz benefícios à saúde dos usuários, além de serem considerados produtos de baixa qualidade (NASCIMENTO, 2010).

4.3 Determinação do potencial antioxidante do extrato de *Camellia sinensis*

4.3.1 Captura do Radical Livre DPPH

O DPPH é um radical livre estável que é muito usado para avaliar a atividade antioxidante de extratos e substâncias puras. O seu efeito de antioxidante no sequestro do DPPH se deve a capacidade doadora de hidrogênio destas substâncias as quais são geralmente compostos fenólicos (CHAVES, 2010). A medida da capacidade sequestrante determinada pelo método DPPH se baseia no princípio de que o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) sendo um radical estável de coloração violeta, aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável, sendo reduzido na presença de um antioxidante e tornando-se amarelo, ou seja, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de cor. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 517nm, que vai desaparecendo à medida que é reduzido pelo hidrogênio doado por um antioxidante (TIVERON, 2010).

As substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o radical estável DPPH, convertendo-o em 2,2-difenil-1-picril-hidrazina. Um extrato vai apresentar alto potencial de sequestro de radicais livres quando possuir baixo valor de IC₅₀, inibindo assim a oxidação em 50% do radical (MENEZES FILHO, 2018).

A concentração de chá verde capaz de inibir 50% do radical DPPH (IC₅₀) foi 0,129 ± 0,003 mg/mL. No estudo de Saracini (2017) que analisou o sencha (sinônimo de chá verde), o resultado obtido foi IC₅₀ de 0,45 mg/mL. Estes dados mostram que o chá verde utilizado no presente estudo foi quase 3,5 vezes mais potente que o relatado por Saracini (2017), sendo necessário menor quantidade de amostra para inibir o radical. Os valores de antioxidante no chá verde podem variar dependendo da parte usada. O caule não contém as mesmas substâncias presentes nas folhas, podendo reduzir o potencial antioxidante desses chás em comparação ao chá da folha da planta (NIERI, 2020). A amostra obtida que foi usada no experimento tinha presença das folhas, mas também de um pouco de galhos no meio, o que gerou um valor mais baixo.

4.3.2 Captura do Radical Livre ABTS

O princípio do método consiste em monitorar o decaimento do radical produzido pela oxidação do ABTS, causado pela adição de uma amostra contendo antioxidantes. O ABTS absorve na faixa de 600 - 750 nm e pode ser facilmente determinado por espectrofotometria. A quantidade de ABTS consumida está relacionada à reação com antioxidantes presentes na amostra (RIBEIRO, 2007). Estes antioxidantes vão capturar o cátion 2,2- azinobis-[3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico] (ABTS⁺), que tem coloração azul esverdeado, e quando em contato com persulfato de potássio e o antioxidante, ocorre a redução do ABTS⁺ a ABTS promovendo a perda da coloração (SUCUPIRA et al., 2012).

O valor obtido para a análise do chá verde nesse estudo foi de 388,47 ± 1,21 µM trolox/g. No estudo de Saracini (2017) que analisou o sencha (sinônimo de chá verde) foi encontrado o valor de 1556,32 µM trolox/g, e no estudo de Alves (2010) foi encontrado o valor de 714,03 µmol trolox/g na análise do chá verde. Os métodos de análise são os mesmos para o presente estudo e o de Alves (2010), que usaram o método de Rufino et al. (2007) e portanto, tiveram valores mais próximos. Já Saracine (2017) usou o método de Renaud et al. (1998) e com isso o valor da

análise foi diferente do encontrado no presente estudo, obteve-se um valor mais alto.

Compostos antioxidantes são definidos com substâncias que quando presentes em baixas concentrações em relação à um substrato oxidável, retarda ou inibe expressivamente a oxidação do referido substrato. Substâncias fenólicas são reconhecidamente detentoras de pronunciada atividade antioxidante, atuando como sequestradores de radicais livres (PRESSUTO, 2009). Agem como agentes doadores de hidrogênio reduzindo e têm um potencial de quelação de metais (ATOUI, 2005).

Os compostos fenólicos mais presentes são os flavonóides, conhecidos como catequinas. Possuem capacidade antioxidante atribuída ao poder redutor do grupo hidroxila aromático, que reduzem radicais livres reativos e produzem o radical fenoxila estabilizado por ressonância. A capacidade antioxidante destes compostos é influenciada pelo número e posição dos grupos OH, assim como pelas posições de glicosilação (CERQUEIRA, 2007).

As concentrações de fenóis e flavonóides determinadas para as amostras avaliadas foram inferiores aos encontrados por outros autores. No entanto, o potencial antioxidante pela captura do radical ABTS e DPPH, mostrou que o extrato do chá verde do presente estudo tem um potencial antioxidante, e que é necessário menor quantidade deste para inibir o radical. O extrato de chá verde apresentou baixos valores de fenóis e flavonóides, porém teve uma boa atividade antioxidante, sendo uma opção de ativo cosmético com função multifuncional, devido a sua capacidade de inibir os radicais, e por ser um ativo natural que irá garantir ao produto cosmético atividade antioxidante e anti-idade.

5. CONCLUSÃO

Atualmente os consumidores estão a procura de produtos mais práticos, sustentáveis, que atendam várias demandas e que sejam naturais. Os fitocosméticos multifuncionais estão surgindo para atender esta demanda do mercado. O chá verde, possui uma gama de benefícios como ação quimioprotetora, anticarcinogênica, antiinflamatória, antioxidante, agente fotoprotetor, agente

adstringente, agente regenerador, melhora a circulação sanguínea e também eficaz no tratamento de olheiras, sendo sua utilização em produtos cosméticos bem promissora. O uso do seu extrato como antioxidante vem sendo muito estudado pois, além de ser um extrato de fácil obtenção, possui muitos benefícios, como ação antioxidante e fotoprotetora. Estudos tem demonstrado que devido a suspeita de atividade como carcinogênese, o uso dos antioxidantes sintéticos vem diminuindo, portanto o uso dos antioxidantes naturais vem crescendo. As análises do chá verde e do extrato líquido produzido a partir do chá verde mostrou que ele tem um poder antioxidante. Diversos fatores influenciam na concentração dos compostos fenólicos como, temperatura, local de cultivo, colheita, composição mineral do solo, disponibilidade hídrica, exposição à luz ultravioleta, parte morfológica da planta utilizada, bem como o seu estágio de desenvolvimento, além do armazenamento, solvente usado e metodologia de extração. No entanto, apesar da concentração ter sido baixa neste estudo, ainda assim demonstrou grande potencial antioxidante.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR G. A.; VINSON, J. A. Folin Ciocalteu reagente for phenolic assay. **International Journal of Food , Nutrion and Dietetics**. 2014.

AGUIAR, M. A.; NOVELLI, P. H. G. S. DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO COSMÉTICA ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA À BASE DE CURCUMINA. Laboratório de Bioquímica. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ). **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.12, 2020.

ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; MAFRA, L. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151-158, 2014.

ALVES, A. P. C.; SIMÃO, A. A.; FREIRE, J. M.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D. **Atividade antioxidante e compostos fenólicos em chás de**

Camellia sinensis. Departamento de Química/Universidade Federal de Lavras. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). Minas Gerais, 2010.

ANVISA. **RDC n° 30**, de 1 de julho de 2012. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2012.

ANVISA. **RDC n° 211**, de 14 de julho de 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2005.

ANVISA. **RDC n° 277**, de 22 de setembro de 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2005.

ARARUNA, S. M. **Desenvolvimento e Padronização (HPLC-DAD) do extrato seco por spray-dryer de *Amburana cearensis* a. c. smith (CUMARU)**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. 2008.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27-36, 2005.

BALOGH, T. S. **Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. 2011.

BHATTACHARYYA, N.; SETH, S.; TUDU, B.; TAMULY, P.; JANA, A.; GHOSH, D.; BANDYOPADHYAY, R.; BHUYAND, M.; SABHAPANDIT, S. **Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose**. *Sensors and Actuators* , v. 122, p. 627-634, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 2. ed. Brasília: Anvisa, V.1, 1989.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: Anvisa, V.1, 2019.

CARPENEDO, F. B.; FREITAS, K.; LIBERALI, R.; COUTINHO, V. F. O uso do chá verde no tratamento do emagrecimento – revisão sistemática. **REVISTA BRASILEIRA DE OBESIDADE, NUTRIÇÃO E EMAGRECIMENTO**. São Paulo v.3, n.18, p.492-497, Nov/Dez. 2009.

CAVALCANTI, A. S. S.; ROSA, J. A. B.; LIMA, M. S. C. S.; SILVA, A. G. **O uso do chá verde, *Camellia sinensis* L. (Theaceae) em produtos tópicos – uma revisão**. ESFA. p.76-84, 2007.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quím. Nova**. 30(2): 441- 449, 2007.

CHAVES, M. H.; CITO, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; COSTA, D. A.; OLIVEIRA, C. A. A.; COSTA, A. F. C.; BRITO JUNIOR, F. E. M. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy** 20(1): 106-112, Jan./Mar. 2010.

COUTO, R. O.; VARGAS, A. B.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. **Caracterização Físico-Química do pó das folhas de *Eugenia Dysenterica* DC. (Myrtaceae)**. Revista Eletrônica de Farmácia, v.4, n. 3, p. 59-69, 2009.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos**. Visão Acadêmica, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, Jan.-Jun./2004.

FIGUEIREDO, B. K.; MARTINI, P. C.; MICHELIN, D. C. Desenvolvimento e estabilidade preliminar de um fitocosmético contendo extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) (L.) Kuntze (Theaceae). **Rev. Bras. Farm.** V.95, n.2, p.770 – 788, 2014.

FIRMINO, L. A. **Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas em salvador-bahia**. Dissertação apresentada ao programa de pós graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia. UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. 2011.

FIRMINO, L. A.; MIRANDA, M. P. S. Polifenóis totais e flavonoides em amostras de chá verde (*Camellia sinensis* L.) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-BA. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.3, p.436-443, 2015.

FLAMBÓ, P. L. A. F. D. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana**. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2013.

FONSECA, S. G. C. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. 2005.

FRIES, A.T.; FRASSON, A.P.Z. Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos anti-idade. **Revista Contexto & Saúde**. v. 10, n. 19, p. 17-23, 2010.

GALLINA, D. A.; ROGALSKY, A. D.; ALVES, A. T. S. **Comparação de métodos para determinação do extrato seco total em doce de leite pastoso**. Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes", Set/Out, nº 370, 64: 10-13, 2009.

GUIMARÃES, R. D. **Ação antioxidante in vitro e in vivo da *Camelia sinensis* nas formas de chá verde, chá preto e chá branco**. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras. Pós graduação. 63 p. Lavras- Minas Gerais, 2011.

GORJANOVIC, S.; KOMES, D.; PASTOR, F.; BELSCAK-CVITANOVIC, A.; PEZO L.; HECIMOCIV, I.; SUZNJEVIC, D. Antioxidant capacity of teas and herbal infusions: Polarographic assessment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9573- 9580, 2012.

HENRIQUE, A. S.; LOPES, G. C. **A biodiversidade e a indústria de cosméticos: o uso dos flavonoides contra o envelhecimento cutâneo**. Revista UNINGÁ. Vol.29, n.2, p. 58 - 63, 2017.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Flavonóis e flavonas: Fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos**. Alim. Nutr. Araraquara v.19, n.1, p. 97-108, jan./mar. 2008.

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

JANIKUES, A. G. P. R.; LEAL, V. O.; MOREIRA, N. X.; SILVA, A. A. M.; MAFRA, D. Compostos fenólicos: possíveis aplicações na doença renal crônica. **Nutrire: rev. Sociedade Bras. Alimento e Nutrição**. São Paulo, v. 38, n. 3, p. 322-337, dez. 2013.

KUMAR, A.; THAKUR, B. K. Selective extractions of (–) Epigallocatechin gallate from green tea leaves using two-stage infusion coupled with membrane separation. **FOOD BIOPROCESS TECHNOL**, v 5, p 2568- 2577, 2012.

LUCAS, R. R.; PEREIRA, F. F.; JUNIOR, A. F. S.; CAVALCANTI, B. C.; NOBRE-JUNIOR, H. V.; SILVA, G. S.; MAGALHAES, H. I.F. **Fitoterápicos aplicados à obesidade**. Demetra: alimentação, nutrição e saúde; 473-492. 2016.

MACENA, T. F. S.; BOYARSKI, D. R. S.; BARBOSA, D. R. R.; CLEMENTE, R. C. **Quantificação de compostos fenólicos, poder oxidante e teor de açúcares em produtos comerciais a base de *Camellia sinensis* L.** Demetra. Science and food technology. Universidade Federal do Tocantins, Curso de Nutrição. Palmas, 2020.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico Online 126: **Metodologia Científica para Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. ISSN 1679-6535. Fortaleza, Ceará, 2006.

MENEZES FILHO, A. C. P.; OLIVEIRA FILHO, J. G.; CHRISTOFOLI, M.; CASTRO, C. F. S. **Atividade Antioxidante, Conteúdo de Fenólicos Totais, Carotenoides e Provitamina A em Extratos Vegetais do Cerrado Goiano**. UNICIÊNCIAS, v. 22, n. 1, p. 28-32, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PORTARIA N º 519**, DE 26 DE JUNHO DE 1998. Secretaria de Vigilância em Saúde. 1998.

MIRANDA, I. J.; SILVA, J. H.; MULLER, S. D. **Cosméticos orgânicos e naturais: análise do perfil dos profissionais atuantes em estabelecimentos comerciais e da rotulagem**. UNISUL, 2018.

MIYAZAKI, S. F. **Utilização do Chá Verde em Cosméticos**. Cadernos de Prospecção. v.1, n.1, p.10-13, 2008.

MORAIS, A. L. L. **Desenvolvimento de formulação hidratante vegana contendo extratos de *Calendula officinalis* e *Matricaria chamomilla***. Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

NASCIMENTO, F. S.; TAVEIRA, C. C. **Avaliação da qualidade de amostras de *Camellia sinensis* (L.) kuntze (chá-verde) comercializadas no Distrito Federal – Brasil**. Anuário da produção de iniciação científica discente, Vol. 13, N. 17, 2010.

NIERI, V.; SOUZA, J. S.; CHAUD, M. V.; GROTTTO, D. Efeito protetivo de formulação de cristal líquido liotrópico na oxidação do chá verde. **Brazilian. Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 14529-14538, Março, 2020.

NEVES, P. D. O. **Importância dos compostos fenólicos dos frutos na promoção da saúde**. Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. 2015.

OLIVEIRA, N. C.; MENDES, D. R. G. **As propriedades da *Camellia sinensis* (chá verde)**. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade Sena Aires. 2010.

OLIVEIRA, L. F. et al. **Determinação de fenólicos totais em amostras de chá verde (*Camellia sinensis* (L.) kuntze) comercializados na cidade de João Pessoa- PB**. Anais IV CONAPESC. Campina Grande: Editora Realize, 2019.

PEREIRA, V. P.; KNOR, F. J.; VELLOSA, J. C. R.; BELTRAME, F. L. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.3, p.490-498, 2014.

PEREIRA, A. V., et al. **Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis*(L)Kuntze, Theaceae.** ActaScientiarum. Health Sciences, Maringá, v. 31,n.02, p.119-124, 2009.

PERVA-UZUNALIC, A.. SKERGET, M.; KNEZ, Z.; WEINREICH, B.; OTTO, F.; GRUNER, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): extraction efficiency of major catechins and caffeine. **FOOD CHEMISTRY**, v 96, p 597 – 605, 2006.

PONTES, S.; RODRIGUES, M. L. F. **Chá verde e cosméticos antienvhecimento: usos e perspectivas.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnólogo Superior em Imagem Pessoal e Estética) – Universidade Tuiuti do Paraná – 2010.

POSER, G. L. V. P. Polissacarídeos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2004.

PRADO, C. C.; ALENCAR, R. G.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Avaliação do teor de polifenóis da *Camellia sinensis* (chá verde). **Revista Eletrônica de Farmácia.** Suplemento, Vol 2, p.164-167, 2005.

PESSUTO, M.B. et al. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Quim. Nova.** 32 (2): 412-416, 2009.

RABE, J.H.; MAMELAK, A.J.; MCELGUNN, P.J.; MORISON, W.L.; SAUDER, D.N. Photoaging: mechanism and repair. **Journal of the American Academy Dermatology.** v. 55, p.1-19, 2006.

REIS, D. P.; CAMPOS, R. LIMA, C. P. Determinação de compostos fenólicos e avaliação do poder redutor de infusões de amostras de chá de *Camelia sinensis*. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 2, n. 5, p. 4824-4836, sep./out. 2019.

RENAUD, S. C., GUEGUEN, R., SHENKER, J., D HOUTAUD, A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. **Epidemiology**, v.9, p.184-188, 1998.

RESZKO, A. E.; BERSON, D.; LUPO, M. P. Cosmeceuticals: Practical Applications. **Dermatologic Clinics**, v.27, p.401-416, 2009.

RIBEIRO, E. T. S. et al. **Emprego de técnicas de extração a alta e baixa pressão para obtenção de polifenóis antioxidantes do subproduto agroindustrial de maçã**. 2007.

RODRIGUES, C. M. **Caracterização quali e quantitativa de metabólitos secundários em extratos vegetais**. Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2007.

RODRIGUES, F. A.; PIMENTA, V. S. C.; BRAGA, K. M. S.; ARAUJO, E. G. **Obtenção de extratos de plantas do cerrado**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 870, 2016.

ROLIM, A. et al. Validation assay for total flavonoids, as rutin equivalents, from *Trichilia catigua* A. Juss (Meliaceae) and *Ptychopetalum olacoides* Benth (Olacaceae) commercial extract. **Journal of AOAC International**, v.88, n.4, p.1015-9, 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMENEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema b-caroteno/ácido linoleico**. Fortaleza: Embrapa, 2007. (Comunicado Técnico).

SÁ, R. S.; TURELLA, T. K.; BETTEGA, J. M. P. R. **Os efeitos dos polifenóis: catequinas e flavonóides da *Camellia sinensis* no envelhecimento cutâneo e no metabolismo dos lipídeos.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Curso Cosmetologia e Estética)- Universidade do Vale do Itajaí – 2007.

SARACINE, J. **Desenvolvimento de frozen yogurt contendo *Camellia sinensis*.** Universidade Tecnológica Federal Do Parana. Toledo, 2017.

SATHLER, N. S. **Cosméticos multifuncionais: aspectos históricos, características e uma proposta de formulação.** Universidade Federal de Ouro Preto. 2018.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; GAMBOA, I. C.; BOLZANI, V. S.; VELASCO, M. V. R.; MENEZES, C. M. S.; FERREIRA, E. I. **Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 43(2), 153-166, 2007.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Cosméticos à base de produtos naturais.** ESTUDOS DE MERCADO SEBRAE/ESPM, 2008.

SENGER, A. E. V.; SCHWANKE, C. H. A.; GOTTLIEB, M. G. V. **Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis.** Scientia Medica (Porto Alegre); volume 20, número 4, p. 292-300, 2010.

SHAHIDI, F., JANITHA, P.K., WANASUNDARA, P.D. **Phenolic antioxidants.** CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SILVA, B. C.; SILVA, F. S.; MICHELIN, D. C. Avaliação da qualidade de amostras de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae) comercializadas no município de Araras – SP. **Rev de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada** , 34(2):245-250. 2013.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. Ed. Porto Alegre, Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p. 498-517, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOARES, S. E. **Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Rev. de Nutrição , Campinas, 15(1):71-81, jan./abr., 2002.

SOUSA, L. S. **Extração e purificação dos compostos fenólicos presentes nas folhas de *Camellia sinensis***. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia. 2016.

SOUZA, C.R.F. **Produção de extratos secos padronizados de plantas medicinais brasileiras: estudo da viabilidade técnica e econômica do processo em leite de jorro**. Tese. PPG-FCFRP/USP, Ribeirão Preto, SP, 2007.

SPONCHIADO, R. M.; JUNIOR, I. M.; BARANCELLI, M.; HAAS, S. E. **Influência da adição de extrato de chá-verde sobre a estabilidade e efeito fotoprotetor de emulsões fps 15**. Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 2013.

SUCUPIRA, N. R. et al. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos**. Unopar Científica. Ciências biológicas e da saúde, Londrina, p. 263-269, 2012.

TEREFE, N. S.; DELON, A.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. Blueberry polyphenol oxidase: characterization and the kinetics of thermal and high pressure activation and inactivation. **FOOD CHEMISTRY**, v 188, p 193-200, 2015.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil.** Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2010.

URZEDO, N. D. R. **O chá verde e suas propriedades: uma breve revisão bibliográfica abrangendo os anos de 2000 a 2020.** Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em bacharelado em Química Industrial da Universidade Federal de Uberlândia. 2020.

VIEIRA, C. F. S.; ZUNIGA, A. D. G.; OGAWA, T. A. B. **Obtenção e caracterização físico-química do extrato hidrossolúvel de amêndoa de baru.** Revista bras. Technol. Agroindustr., Ponta Grossa, v. 14, n. 01: p. 3104-3121, jan./jun. 2020.

VIGO, C.L.S. et al. Caracterização farmacognóstica comparativa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Hebanthe paniculata* Martius - Amaranthaceae Kuntze. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.6, n.2, p.7-19, 2004.

YOSHIDA, L. C. T. **Fotoprotetores bioativos multifuncionais contendo rutina, octil dimetil PABA e avobenzona: caracterização físico-química, funcional e eficácia clínica.** Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. 2017.

ZEFERINO, L. B.; SARAIVA, S. H.; SILVA, L. C.; TEIXEIRA, L. J. Q.; LUCIA, S. M. D. **Efeito da concentração de sólidos solúveis do extrato de café conilon no índice de refração, na densidade e na viscosidade do extrato.** Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, N.11, 2010.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I. et al. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food research international.** Elsevier , 2014.

ZIELINSKI, A. A. F. et al. **Modelling the extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity os mixtures of green, white and black teas (*Camellia sinensis* L. Kuntze).** Association of food Scientist and Technologists. Índia, 2015.