



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

ARIELLY SAMARA SANTOS BATISTA

**FORMULAÇÃO DE DENTIFRÍCIO CONTENDO EXTRATO DE
BETERRABA MICROENCAPSULADO**

**CUITÉ-PB
2019**

ARIELLY SAMARA SANTOS BATISTA

**FORMULAÇÃO DE DENTIFRÍCIO CONTENDO EXTRATO DE BETERRABA
MICROENCAPSULADO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana de Souza Alencar Falcão

**CUITÉ-PB
2019**

B333f Batista, Arielly Samara Santos.

Formulação de dentitrício contendo extrato de beterraba microencapsulado. / Arielly Samara Santos Batista. - Cuité, 2019.
45 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2019.

"Orientação: Prof. Dra. Juliana de Souza Alencar Falcão".

Referências.

1. Emulsão seca por adsorção. 2. Espectrofotometria UV/VIS. 3. Controle de qualidade. I. Falcão, Juliana de Souza Alencar. II. Título.

CDU 633.63

ARIELLY SAMARA SANTOS BATISTA

**FORMULAÇÃO DE DENTIFRÍCIO CONTENDO EXTRATO DE BETERRABA
MICROENCAPSULADO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 25 de novembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Juliana de Souza Alencar Falcão
(Orientadora)

Prof^a Dr^a Francinalva Dantas de Medeiros

Prof^a Dr^a Maria Emília da Silva Menezes

A minha tia Neco Soares, a qual nunca mediu esforços para me proporcionar o melhor e sempre esteve ao meu lado diante de todas as situações, me protegendo e cuidando de mim. Toda a minha gratidão e todas as minhas conquistas, a senhora eu dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por me mostrar o caminho certo a escolher, por me proteger onde quer que eu esteja e principalmente, por me ensinar que tudo na vida acontece no tempo certo e que nada é impossível quando se acredita e tem fé. Agradeço por nunca ter permitido que eu desistisse diante de situações difíceis e por se fazer sempre presente em minha vida. Por tudo, sou grata a ti, Senhor!

A minha mãe, Maria do Socorro Santos Marques (*in memoriam*), que mesmo não estando presente fisicamente sei que lá de cima está cuidando de mim, e está orgulhosa pela pessoa que me tornei e por cada conquista minha.

Ao meu pai, Hamilton Soares Batista, por toda preocupação e proteção, por tudo que já fez por mim e principalmente, por ser esse pai amigo e que torce sempre pela minha felicidade.

Em um parágrafo todo especial, agradeço a pessoa mais importante pra mim, minha tia/mãe, Necy Soares. Agradeço por sempre ter cuidado tão bem de mim, por ter ocupado o lugar de mãe em minha vida. Por todo sacrifício durante todos esses anos, por nunca ter deixado faltar nada. Agradeço por ser uma mãe protetora, por ser meu apoio, minha base e meu conforto diante das situações difíceis. Por tudo o que sou e tudo que já conquistei até hoje, todo meu amor e gratidão a ti.

Agradeço ao meu marido, namorado e amigo, Leinildo Lopes, pela paciência e apoio durante todos esses anos. Por estar sempre presente, por me incentivar a crescer cada vez mais e por sempre acreditar no meu potencial quando nem eu mesma acreditava. Por caminhar e crescer ao meu lado, por todo amor e cuidado comigo. Por tudo que já fez e faz até hoje por mim. Por ser meu abrigo e refúgio durante as tempestades, e por vibrar a cada conquista minha. Te amo!

A toda minha família, meus tios, em especial ao meu tio Ademar Silva, aos meus irmãos, Junielly Soares e Ademar Júnior, por toda proteção de irmãos mais velhos, todo apoio amor, incentivo e dedicação a mim. Aos meus irmãos mais novos, Anderson, Netinho e Ana Clara por todo amor e carinho.

A minha irmã, Junielly Soares e meu cunhado Wanderley Dantas por toda força e conselhos, por todo amor e cuidado comigo. E mais do que nunca, agradeço pela oportunidade única de ser titia, que Murilo com muita saúde e encha nossas vidas de alegria.

A todos que fazem parte da turma XVI, e todos os amigos que a faculdade me presenteou, em especial Rafaella Alves, Yanne Medeiros, Mirla Dantas, Italo Batista, Ricardo Igor, Maria Medeiros, Luana Sayury, Fernando Sousa, Renata Araújo, Marlow's Vinicius, Hendi Vasconcelos, Zeferino André, Carlos Alencar, Camila Soares, Bruna Maia, Firmino Neto, Genilson Amorim, Matheus Merson e Rafaely Oliveira por toda ajuda, por todos os momentos de descontração compartilhados, por tornarem os dias mais leves e descontraídos.

E não poderia deixar de reservar um espaço para aquela que desde o início esteve comigo, um anjo que Deus colocou em minha vida. Agradeço a Rafaella Alves por ter estado ao meu lado desde o início, por todos os momentos bons e ruins compartilhados, por ter tornado meus dias mais fáceis e leves. Por se fazer presente mesmo estando longe, por cada conselho, puxão de orelha, cada palavra de conforto. Obrigada por ser luz em meu caminho, por essa energia positiva, por ser amor em forma de pessoa. Por todos os sorrisos que arrancou de mim mesmo diante de situações difíceis, por me dar forças e me mostrar todos os dias o quão sou capaz de superar os obstáculos da vida. Por mais que eu escreva, não sou capaz de agradecer por tudo que já fez por mim. Te amo, amiga!

A minha orientadora, professora Dra. Juliana de Alencar Falcão, por todo aprendizado compartilhado, por ser fonte de inspiração para todas as pessoas que estão a sua volta. Por toda energia positiva, e por ter acreditado em mim. À Senhora toda a minha admiração e respeito. Gratidão sempre.

A todos os meus professores por todo conhecimento compartilhado, por toda dedicação e incentivo. Por contribuírem no meu crescimento profissional e pessoal.

E por fim, a todos aqueles que de forma direta ou indiretamente fizeram parte da minha trajetória e contribuíram para meu crescimento.

Meu muito obrigada a todos!

A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos.

(Charlie Chaplin)

RESUMO

Dentifrícios, em termos gerais, são produtos voltados à higienização e assepsia bucal, são considerados excelentes veículos para incorporação de diversos ativos que oferecem benefícios para fins especiais como antiplaca, anticárie, anticálcio, clareador e antisséptico. Mas apesar da variedade desses produtos, há uma escassez no mercado quando se trata de formulações com propriedades antioxidantes para tratamentos de afecções. Nos últimos anos, a busca por produtos naturais vem aumentando gradativamente, o que tem motivado a pesquisa no desenvolvimento desses produtos. Frente a isso, a beterraba vem ganhando cada vez mais destaque quanto ao seu potencial antioxidante, estudos recentes associam essa propriedade às betalaínas presentes em sua composição, no entanto o emprego desta se limita frente a sua instabilidade. Diante disso, este trabalho objetivou desenvolver um dentifrício contendo extrato de beterraba microencapsulado em sistema de emulsão seca por adsorção, realizando controle de qualidade a partir de análises organolépticas e físico-químicas, comparando-as com dentifrícios comerciais; analisou-se a viabilidade da microencapsulação do extrato e viabilidade de incorporação deste nas formulações por meio de doseamentos em espectrofotômetro UV/VIS. Nas análises de controle de qualidade organolépticas e físico-químicas, F1 e F2 se mostraram dentro dos padrões estabelecidos para dentifrícios, e valores próximos aos comerciais. Com esse estudo observou-se que a técnica de emulsão seca por adsorção é uma alternativa viável para microencapsulação do extrato de beterraba; além disso, foi possível a incorporação desse sistema em um dentifrício, o que torna esse produto inovador, de baixo custo e fácil obtenção. Para tanto, como perspectiva, novas análises devem ser realizadas para avaliar atividade antioxidante do extrato e controle de qualidade quanto a sua estabilidade.

Palavras-chave: Emulsão Seca por Adsorção, Espectrofotometria UV/VIS, Controle de Qualidade.

ABSTRACT

Toothpaste, in general terms, are products aimed at oral hygiene and asepsis, are considered excellent vehicles for incorporation of various assets that offer special purpose benefits such as antiplatelet, anti-caries, anti-calculus, whitening and antiseptic. But despite the variety of these products, there is a shortage on the market when it comes to formulations with antioxidant properties for disease treatments. In recent years, the search for natural products has been increasing gradually, which has motivated the research in the development of these products. In view of this, the beet has been gaining more prominence regarding its antioxidant potential, recent studies associate this property to the betalains present in its composition, however its use is limited due to its instability. Therefore, this work aimed to develop a dentifrice containing microencapsulated beet extract in adsorption dry emulsion system, performing quality control from organoleptic and physicochemical analyzes, comparing them with commercial dentifrices; The viability of the microencapsulation of the extract and the viability of its incorporation in the formulations were analyzed by UV / VIS spectrophotometer. In the organoleptic and physicochemical quality control analyzes, F1 and F2 were within the established standards for dentifrices, and values close to the commercial ones. With this study it was observed that the adsorption dry emulsion technique is a viable alternative for beet extract microencapsulation; In addition, it was possible to incorporate this system into a toothpaste, which makes this product innovative, low cost and easy to obtain. Therefore, as a perspective, new analyzes should be performed to evaluate the antioxidant activity of the extract and quality control regarding its stability.

Keywords: Adsorption Dry Emulsion, UV / VIS Spectrophotometry, Quality Control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas básicas de betacianinas, betaxantinas e seu precursor comum, o ácido betalâmico e suas variações de cores	21
Figura 2 - Representação estrutural da Betanina	21
Figura 3 - Comparação macroscópica entre os extratos: A- Extrato seco de beterraba comercial degradado; B- Extrato líquido de beterraba obtido após trituração	31
Figura 4 - Etapas de preparação do sistema DAE: A- óleo de rícino e estearato de cálcio; B- adição da sílica hidrofílica; C- incorporação do extrato de beterraba; D- formulação final sem tamisar	35
Figura 5 - Tamisação do sistema DAE : A- DAE/EB não tamisada; B- DAE/EB tamisada (mesh 48)	35
Figura 6 - Base da formulação do dentifrício.....	38
Figura 7 - Formulação final do dentifrício com extrato de beterraba incorporado: F1- Incorporação do extrato microencapsulado; F2- incorporação direta do extrato sem microencapsular	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração dos componentes para síntese da DAE	27
Tabela 2 - Composição dos dentifrícios F1 e F2	28
Tabela 3 - Mortalidade média de <i>Artêmia salina</i> frente a concentrações de extrato de beterraba em t = 24 h de exposição	34
Tabela 4 - Concentração do extrato de beterraba nos sistemas DAE	36
Tabela 5 - Comparação entre valores de pH dos dentifrícios F1 e F2 e dentifrício comercial	39
Tabela 6 – Comparação dos valores de espalhabilidade de F1 e F2	40
Tabela 7 - Concentração do extrato de beterraba em F1 e F2	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Varredura da solução aquosa contendo o extrato de beterraba. Em destaque região de maior absorbância	32
Gráfico 2 - Curva de calibração para o extrato de beterraba em pH 7,0	33

LISTA DE EQUAÇÃO

Equação 2 - Cálculo da espalhabilidade da amostra	29
--	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS/ SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CL50 - Concentração Letal cinquenta

cm – Centímetros

DAE - Emulsão seca por adsorção

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

d - diâmetro

DP- Desvio Padrão

EB – Extrato de beterraba

Ei – espalhabilidade

F1 – Formulação com extrato de beterraba microencapsulado

F2 – Formulação com extrato sem microencapsulamento

g – Grama

h – Hora

MFP - monofluorofosfato de sódio

µg/mL – Micrograma por mililitros

mg/mL – Miligrama por mililitros

NaF - fluoreto de sódio

nm – nanômetro

pH – Potencial hidrogeniônico

t – temperatura

UFMG-CES - Universidade Federal de Campina Grande- Centro de Educação e Saúde

µm - micrômetro

UV/VIS – Ultravioleta visível

W – Watt

LISTAS DE SÍMBOLOS

π - 3,14

λ_{max} - comprimento de onda máximo

$^{\circ}\text{C}$ - graus celsius

% - porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
3.1 Dentifrício	20
3.2 Beterrabas	20
3.2.1 Propriedades antioxidantes.....	21
3.2.2 Propriedades físico-químicas e estabilidade.....	22
3.3 Sistemas microparticulados	22
3.3.1 Emulsão seca por adsorção (DAE)	23
3.4 Controle de qualidade	23
3.5 Avaliação toxicológica frente à Artemia salina.....	24
4 MATERIAL E MÉTODO	25
4.1 Local da pesquisa.....	25
4.2 Reagentes	25
4.3 Equipamentos	25
4.4 Obtenção do extrato	25
4.4.1 Toxicidade do extrato frente à Artemia salina.....	26
4.5 Formulação de sistema microparticulado	26
4.5.1 Síntese de estearato de cálcio	26
4.5.2 Emulsão seca por adsorção (DAE)	27
4.6 Formulação de dentifrício	27
4.7 Doseamento por espectrofotometria UV/VIS.....	28
4.8 Controle de qualidade	29
4.8.1 Análise organoléptica	29
4.8.2 Análises físico-químicas.....	29
4.8.2.1 pH	29
4.8.2.2 Espalhabilidade	29

4.8.2.3 Viscosidade.....	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1 Análise dos extratos de beterraba	31
5.1.1 Varredura espectro UV/Visível	32
5.1.2 Curva de calibração.....	33
5.1.3 Doseamento do extrato	33
5.1.4 Avaliação da toxicidade frente <i>Artêmia salina</i>	33
5.2 Sistema microparticulado	34
5.3 Desenvolvimento dos dentifrícios	37
5.4 Análise organoléptica do dentifrício.....	37
5.5 Controle de qualidade físico-químico do dentifrício	39
5.5.1 pH.....	39
5.5.2 Espalhabilidade e viscosidade.....	39
5.5.3Doseamento do dentifrício	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

Dentifrícios são considerados produtos destinados à limpeza dos dentes, conservação das gengivas e assepsia bucal, na grande maioria se apresentam na forma de cremes e géis. Desempenham um papel fundamental na prática da boa higiene e promoção da saúde bucal, além de excelentes veículos para introdução de novos agentes que oferecem benefícios para fins especiais como antiplaca, anticárie, anticálculo, clareador e antisséptico (BOUASSIDA et al., 2017).

São muitas as variedades de dentifrícios disponíveis no mercado para diversas finalidades, porém, formulações com propriedades antioxidantes destinadas a afecções são escassas (MARTINS et al., 2012). A periodontite, por exemplo, está associada ao estresse oxidativo e a diminuição da capacidade antioxidante, o que sugere a associação com antioxidantes no tratamento a fim de reduzir a destruição periodontal (SAULIN et al., 2018; TRIVEDI; LAL, 2017).

Os antioxidantes são substâncias capazes de atrasar ou inibir a ação de oxidação, responsáveis, portanto, pelo combate ao estresse oxidativo impedindo que este possa causar danos celulares, levando a alterações funcionais e ao desenvolvimento de diversas doenças. Isso é possível graças a sua capacidade de doar elétrons, sequestrando e inativando os radicais livres de maneira eficiente (CORDEIRO et al., 2018).

Estes são classificados como sistema enzimático, composto pelas enzimas produzidas no organismo, e não enzimático, sendo este, vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais (PANZIERA et al., 2011; CORDEIRO et al., 2018).

Entre as inúmeras substâncias não enzimáticas a classe das betalaínas, pigmento encontrado principalmente na beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.), vem se destacando não somente pelo seu potencial tintorial, como também por sua atividade antioxidante, através da capacidade de neutralizar agentes oxidantes por meio de grupamentos doadores de elétrons presentes em sua estrutura molecular (SOBCZYK, 2018).

No entanto, a baixa estabilidade é considerada um fator limitante para utilização desse pigmento. Betalaínas, assim como outros pigmentos naturais, apresentam uma menor estabilidade a qual é afetada por fatores endógenos, como a ação de enzimas, além de fatores externos como a temperatura, luz, variações de pH e oxigênio (SANTOS, 2017).

Frente a isso, a microencapsulação se mostra como uma excelente alternativa a fim de promover uma maior estabilidade, por esta se tratar de um processo no qual o composto ativo será coberto por um revestimento ou cápsula da dimensão de micrômetro, permitindo uma

proteção e liberação de forma controlada após um estímulo, tais como agitação, temperatura, pH e hidratação (GONÇALVES, 2018).

A técnica de Emulsão seca por adsorção (DAE) é um dos métodos para formulação de sistemas microparticulados. Esta consiste na obtenção de um pó de fluxo livre com tamanhos de partícula variando de 100 a 1000 μm (CHAMBIN et al., 2000). E suas vantagens se destacam quanto facilidade na fabricação, melhor comodidade no armazenamento, melhor precisão na administração e garante maior estabilidade física em comparação com emulsões líquidas convencionais (TAN et al., 2009).

Mediante as propriedades antioxidantes das betalaínas presentes nas beterrabas, como descrito na literatura e na possibilidade de associar metodologias que otimizem a estabilidade destas, surge o interesse na realização deste projeto com foco no desenvolvimento de um dentifrício microencapsulado.

Para tanto, a presente proposta inovadora objetiva-se promover a formulação de um dentifrício contendo extrato de beterraba microencapsulado obtido pela técnica de emulsão seca por adsorção, realizar bioensaio de toxicidade com *Artemia salina* e controles de qualidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um dentifrício contendo extrato de beterraba microencapsulado obtido pela técnica de emulsão seca por adsorção.

2.2 Objetivos específicos

- Formular sistema microparticulado com e sem extrato de beterraba através da técnica de emulsão seca por adsorção (DAE);
- formular o dentifrício com e sem extrato de beterraba microencapsulado;
- avaliar a toxicidade do extrato de beterraba frente a *Artemia salina*;
- realizar controle de qualidade através de análise organoléptica, e análises físico-químicas: pH, espalhabilidade e viscosidade;
- dosear por espectrofotometria o extrato de beterraba, as micropartículas de extrato de beterraba e o dentifrício com extrato de beterraba microencapsulado.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Dentifrício

Dentifrícios são considerados produtos destinados à limpeza dos dentes, conservação das gengivas e assepsia bucal, e na grande maioria se apresentam na forma de creme e géis. Desempenham um papel fundamental na prática da boa higiene e promoção da saúde bucal, além de excelentes veículos para introdução de novos agentes que oferecem benefícios terapêuticos e cosméticos (HOFFMAN, 2008).

De acordo com a ANVISA (2015) nas disposições da RDC n. 7 de 10 de fevereiro de 2015, os dentifrícios são classificados na categoria de produtos de higiene, sendo atribuído a este grau de risco 1 ou 2 dependendo da finalidade a qual se destina.

O mercado dispõe de uma variedade de dentifrícios com incorporação de diversas substâncias, porém, produtos à base de fluoreto de sódio (NaF) e monofluorofosfato de sódio (MFP) são os mais vendidos devido a fácil obtenção e baixo custo, além do seu importante papel terapêutico no controle do desenvolvimento da cárie dental (MARTINS et al., 2012).

Apesar da variedade de dentifrícios disponíveis, são escassas formulações destinadas a problemas que necessitam de tratamento antioxidante (MARTINS et al., 2012). De acordo com Trivedi e Lal (2017), a periodontite em nível mais avançado está associada ao estresse oxidativo e a diminuição da capacidade antioxidante, e que, portanto, a associação com antioxidantes pode ajudar a reduzir a destruição periodontal. Semelhante a ideia anterior, Saulin et al. (2018) sugerem a relevância de associar essas substâncias na terapia farmacológica em pacientes que sofrem de periodontite em estágios iniciais da doença.

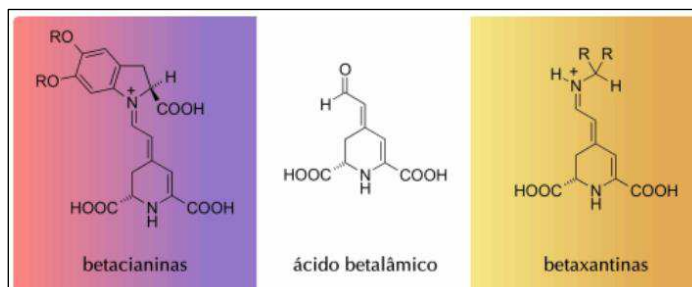
Uma crescente interesse tem surgido pelo uso de produtos naturais, o que tem motivado o desenvolvimento de pesquisa de métodos que promovem uma maior estabilidade frente a incorporação desses ativos nas formulações (LEITE; BRETAS; CAMPOS, 2014).

3.2 Beterrabas

A beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.), pertencente à família *Quenopodiácea*, é uma hortaliça bastante consumida no Brasil, fonte de sais minerais, ferro e açúcar (EMBRAPA, 2010). Vem sendo estudada quanto a sua capacidade antioxidante, a qual atribuem ao seu corante natural, betalaínas, classificadas em: betacianinas, com comprimento de onda máximo próximo à 540 nm, responsável por conferir a cor vermelho-violeta à beterraba; e betaxantinas, com máximo de absorção entre 460 e 480 nm, apresentando uma coloração amarelo-laranja também presentes na beterraba vermelha só que em menor proporção que as

betacianinas (MIGUEL, 2018). A figura 1 mostra as variações de cores dos grupos da betalaína.

Figura 1. Estruturas básicas de betacianinas, betaxantinas e seu precursor comum, o ácido betalâmico e suas variações de cores.



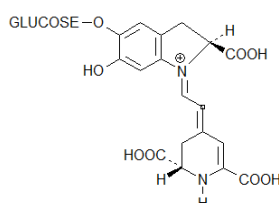
Fonte: GONÇALVES et al., 2012.

3.2.1 Propriedades antioxidantes

A utilização das betalaínas vem se mostrando cada vez mais crescente na indústria farmacêutica, alimentar e cosmética. Sua propriedade tintorial tem sido empregada na preparação de produtos alimentícios, na indústria têxtil, cosméticos, produtos farmacêuticos, biossensor químico, também como marcadores proteicos fluoróforos e marcadores para transformação genética (CELLI; BROOKS, 2017).

Porém, seu potencial antioxidante vem ganhando ainda mais destaque tornando-se bastante promissor para diversas áreas. A capacidade antioxidante das betalaínas está intimamente ligada a sua estrutura, tendo em vista a presença grupamentos doadores de elétrons, que são capazes de neutralizar agentes oxidantes. A betanina (Figura 2) contém um grupo fenólico e uma amina cíclica, ambos bons doadores de elétron fazendo com que ela possa neutralizar agentes oxidantes (MARTINS, 2012).

Figura 2. Representação estrutural da Betanina.



Fonte: MARTINS, 2012.

De acordo com Clifford et al. (2015) um dos maiores interesses no emprego da betanina presente na beterraba é o fato desta poder desempenhar funções de proteção e auxílio

em patologias clínicas resultantes de estresse oxidativo e inflamação crônica. Um ponto importante segundo Souza (2012), quando se trata da ingestão diária de betalaínas não há um limite superior recomendado, tendo em vista estas não apresentarem efeitos tóxicos ao corpo humano.

3.2.2 Propriedades físico-químicas e estabilidade

Betalaínas são alcaloides coloridos, atóxicos e solúveis em água, sua estabilidade está intimamente ligada a fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a mesma, onde as betacianinas são descritas como mais estáveis comparadas com as betaxantinas (MIGUEL, 2018).

Quanto a estabilidade frente ao pH, as betalaínas são estáveis e não há alteração de cor em uma variação de pH entre 3 e 7. Abaixo do pH 3, a cor da betanina altera para violeta e acima de pH 7 a cor passa para azul. Acima de pH 10 a betanina é degradada originando como produto incolor o ácido betalâmico amarelo e ciclodopa5-O-glicosídeo, porém essa reação é reversível e o pigmento pode ser parcialmente regenerado pelo aquecimento moderado a pH ótimo de 4-5 (KAIMAINEN, 2014).

A temperatura é outro fator importante que interfere na estabilidade das betalaínas, visto em elevadas temperaturas a estabilidade do pigmento diminui, o que requer maior cuidado durante o processamento e armazenamento da mesma. Além disso, outros fatores afetam essa estabilidade, incluindo calor, oxigênio, luz, e ação de enzimas (NGMWONGLUMLERT; DEVAHASTIN; CHIEWCHAN, 2017).

A instabilidade destes corantes naturais origina prazos de validade curtos, o que sugere aplicar metodologias que promovam uma otimização da estabilidade, entre as técnicas, uma das opções é a microencapsulação do bioativo natural (GONÇALVES, 2018).

3.3 Sistemas microparticulados

Micropartículas são sistemas que apresentam diâmetro na ordem de micrômetros (1 a 1000 μm) as quais são classificadas de acordo com o seu tamanho em nanopartículas (10–1000 nm) ou micropartículas (maiores que 1 μm), e com base na sua organização, classificam-se em microcápsulas, sendo este sistemas reservatórios onde o material ativo se encontra no núcleo protegido por uma membrana encapsulante e microesferas no qual o material ativo está disperso por toda a matriz polimérica de forma homogênea (STULZER, 2008; COSTA, 2011).

Diante da instabilidade dos pigmentos naturais, surge a necessidade de buscar meio que otimizem o uso dessas substâncias sem a sua degradação, dessa forma o termo microencapsulação vem ganhando cada vez mais destaque, pois trata-se de um processo no qual um composto ativo, é coberto por um revestimento ou cápsula da dimensão do micrômetro e é libertado de forma controlada, ou seja, após um estímulo, tal como a temperatura ou o pH, que permite garantir uma maior estabilidade ao pigmento, como exemplo as betalaínas (GONÇALVES, 2018).

As vantagens dos sistemas microparticulados são variadas, entre elas pode-se destacar a proteção do pigmento à degradação, modificação das propriedades físicas, libertação controlada do pigmento da microcápsula, diluição do pigmento, separação dos pigmentos uns dos outros e evitar as reações ou interações desvantajosas entre eles ou entre outros compostos, além do baixo custo e eficiência do processo (KAIMAINEN, 2014).

3.3.1 Emulsão seca por adsorção

Trata-se de uma técnica para a formulação de emulsões secas, a qual consiste em uma dispersão organizada de partículas hidrofílicas e hidrofóbicas, cuja estrutura é iniciada com uma emulsão água em óleo. As duas fases da emulsão vão ser estabilizadas por dois adsorventes em pó, obtendo-se no final um pó de fluxo livre, com tamanhos de partícula variando de 100 a 1000 μm (CHAMBIN et al., 2000).

Estas emulsões secas são de interesse por causa de seu processo de fabricação sem solvente orgânico, sua estabilidade em comparação com as outras emulsões e seu efeito de liberação controlada (KAUR; CHAND; KAMAL, 2013).

Tan et al. (2009) em seus estudos destacam as principais vantagens dessa técnica como melhoria da estabilidade física, facilidade na fabricação, melhor comodidade no armazenamento e melhor precisão na administração em comparação com as emulsões líquidas convencionais.

3.4 Controle de qualidade

Controle de qualidade de modo geral é definido como um conjunto de práticas, as quais se destinam verificar e assegurar a qualidade do produto final (BRASIL, 2008).

De acordo com o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos, alguns ensaios específicos são sugeridos para controle de qualidade de determinadas formulações. Para dentifrícios, especificamente, sugere-se, dentre análise organoléptica, pH, viscosidade, como também a espalhabilidade (BRASIL, 2008).

3.5 Avaliação toxicológica frente à *Artemia salina*

Ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade geral e, portanto, é considerado um importante bioensaio preliminar no estudo de compostos com atividade biológica, objetivando garantir segurança à saúde humana. Para tanto, uma das espécies que tem sido utilizada nesses bioensaios é a *Artemia salina*, espécie de crustáceo marinho (BEDNARCZUK et al., 2010).

Esses testes além de minimizar a utilização e o sofrimento de animais são vantajosos por ser de baixo custo, rápido, não exigir técnicas assépticas, além de requerer apenas pequena quantidade da amostra, o que o torna prático e reprodutível (CRUZ; BARBOSA; PINTO, 2004; VICTAL et al., 2014).

As larvas náuplios é o principal estágio de vida desses microcrustáceos, é utilizado em testes de toxicidade aguda devido seu tempo de nascimento de 24-48 horas, permitindo determinar a concentração média letal da substância frente a contagem de larvas vivas e mortas após contato com a amostra. O uso da *Artemia salina* permite testes toxicológicos rápidos, fáceis e econômicos pela sua facilidade em ser adquirido, além do grande número de larvas náuplios após a eclosão de um ovo (HIROTA et al., 2012).

A técnica é baseada na metodologia utilizada por Meyer et al. (1982), e tem sido amplamente utilizado em laboratórios de pesquisa para determinação da toxicidade de extratos, frações e compostos isolados de plantas. Por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório e de ampla distribuição, a utilização da *A. salina* se apresenta como um método alternativo para a determinação da toxicidade considerando o alto custo e o sofrimento causado aos animais experimentais durante testes *in vivo* utilizando roedores (PIMENTEL et al., 2011; HIROTA et al., 2012). Além disso, estudos encontrados na literatura têm apresentado correlações entre a toxicidade geral com o microcrustáceo e citotoxicidade em cepas de células humanas de tumores sólidos (CANSIAN et al., 2017).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada na Farmácia Escola Manoel Casado de Almeida da Universidade Federal de Campina Grande, campus Centro de Educação e Saúde localizado na cidade de Cuité (UFCG-CES). Quanto a análise toxicológica do extrato de beterraba frente a *Artemia salina*, foi realizada no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da UFCG-CES Cuité.

4.2 Reagentes

Ácido esteárico (DINÂMICA), água destilada, álcool etílico P.A (DINÂMICA), álcool metílico P.A. (DINÂMICA), hidroxietilcelulose (DINÂMICA), cloreto de cálcio (ISO FAR), extrato comercial de beterraba B-35-WS-P - betalaínas (CHR HANSEN), óleo de rícino (TERRA MAR), óxido de cálcio (DINÂMICA), sílica hidrofílica (Aerosil 380 EVONIK), sílica hidrofóbica (Aerosil R974 EVONIK), glicerina, lauril sulfato de sódio, metilparabeno, carbonato de cálcio, essência de menta (CODOSSAL), sal marinho (Marinex[®]).

4.3 Equipamentos

Agitador magnético (Thelga), balança analítica (Bioprecisa FA-2104N), balança semi-analítica (Bioprecisa, JH2102), espectrofotômetro UV/VIS (Centauro SP2000UV), fitas de pH; pHmetro (Hanna, pH 21); viscosímetro (Quimis, modelo Q-860A21), cubetas de vidro, espátulas, placa de vidro, bastões de vidro, pistilo, gral, galeria para tubos de ensaio; luminária com lâmpada de 40W; vidrarias diversas.

4.4 Obtenção do extrato

Inicialmente o extrato de beterraba a ser utilizado no desenvolvimento das formulações foi adquirido comercialmente na forma de extrato seco, mantido na embalagem original ao abrigo da luz e temperatura ambiente até o início da pesquisa. Ao abrir a embalagem foi observado que o extrato se apresentava em estado de degradação.

Diante disso, optou-se pela obtenção do extrato de beterraba por meio da centrífuga de frutas tipo *juicer*, na qual a beterraba foi triturada, obtendo-se um líquido concentrado, uma alternativa encontrada sem que houvesse a utilização de quaisquer solventes, em um curto

período de tempo e sem aquecimento. Foi armazenado em frasco opaco, mantido em geladeira e posteriormente filtrado em papel filtro.

4.4.1 Toxicidade do extrato frente à *Artemia salina*

O bioensaio com *Artemia salina* foi baseado na técnica descrita por Meyer et al. (1982). As larvas foram utilizadas na forma de náuplio para avaliação da atividade toxicológica.

Para realização dos ensaios com *Artemia salina*, os cistos foram mantidos em uma incubadora, onde foi adicionada água salina artificial preparada pela solubilização de 38 g de sal marinho (Marinex[®]) em 1 litro de água destilada. O recipiente permaneceu sob iluminação através de uma lâmpada incandescente (40 W).

Os cistos foram incubados durante 24 horas em um dos lados do recipiente. A parte do sistema contendo os cistos foi recoberta com papel alumínio, para que as larvas, após a eclosão dos cistos, fossem atraídas pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória, após isso, foram coletadas com auxílio de uma pipeta de *Pasteur* e colocadas em tubos de ensaio, um total de 10 náuplios, no qual foram adicionadas a amostra de extrato de beterraba solubilizada em solução salina, nas seguintes concentrações: 2000; 2500; 3000; 3500; 4000 ppm. A análise foi realizada em triplicata após 24 horas, realizando-se a contagem dos mortos.

4.5 Formulação de sistema microparticulado

4.5.1 Síntese de estearato de cálcio

Para preparo do sistema microparticulado fez-se necessário, inicialmente, a obtenção do estearato de cálcio, o qual foi sintetizado utilizando ácido esteárico e óxido de cálcio seguindo a metodologia de Baerlocher (2017). Foi calculado a quantidade de ácido esteárico e óxido de cálcio necessário para obtenção de 30 g de estearato de cálcio. Em um recipiente adequado, colocou-se o ácido esteárico e o óxido de cálcio previamente pesados, em seguida foram levados ao aquecimento em uma temperatura entre 110°C e 120°C, os dois componentes reagiram entre si formando estearato de cálcio e água, esta última por sua vez evaporou, restando apenas o estearato de cálcio. Por fim, o produto final foi coletado, pulverizado e armazenado em embalagem adequada.

4.5.2 Emulsão seca por adsorção

Após a síntese do estearato de cálcio, a DAE foi preparada seguindo a metodologia descrita por Chambin et al. (2000). Primeiramente, a sílica hidrofílica foi misturada na fase lipídica (Óleo de rícino e estearato de cálcio). Em seguida o extrato de beterraba líquido foi incorporado a uma concentração de 20,1%, sendo este valor descrito na metodologia para a água, nesse caso, houve a substituição completa da água pelo extrato.

Na última fase, adicionou-se lentamente a sílica hidrofóbica, ocasionando uma mudança na forma da emulsão, passando de consistência cremosa a uma pasta e depois a um pó de fluxo livre, esse por sua vez, foi submetido ao tamis em Mesh 48 durante 10 minutos para separação das frações. As formulações foram armazenadas e protegidas da luz.

A concentração de cada componente empregado na preparação do sistema está apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Concentração dos componentes para síntese da DAE

Componentes	Concentração (%)
Óleo de rícino	40,2%
Estearato de cálcio	13,4%
Sílica hidrofílica (380)	7,8%
Extrato de beterraba	20,1%
Sílica hidrofóbica (974)	18,5%

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

4.6 Formulação de dentifrício

A formulação do dentifrício foi iniciada com teste de bancada a fim de determinar os componentes e as concentrações adequadas para obtenção de uma formulação semelhante as comerciais. Após obtenção da formulação base, foi incorporado o extrato de beterraba.

Para fins de comparação e avaliar a efetividade do sistema DAE duas formulações de dentifrício foram desenvolvidas modificando apenas a técnica de incorporação do extrato. A primeira consistiu na incorporação do extrato de beterraba microencapsulado em sistema DAE, representada como formulação 1 (F1). A segunda técnica consistiu na incorporação direta do extrato sem microencapsulação, formulação 2 (F2), nesse caso foi necessário adicionar as sílicas na mesma proporção usadas na microencapsulação do extrato em F1.

Na tabela 2 está representada a composição dos dentifrícios F1 e F2, com as respectivas funções e quantidades de cada componente.

Tabela 2. Composição dos dentifrícios F1 e F2.

Componentes	Função	Quantidade (g)	
		F1	F2
Carbonato de cálcio	Abrasivo	17,5	17,5
Sorbitol	Umectante / Flavorizante	12,5	12,5
Glicerina	Umectante	10,0	10,0
Lauril éter sulfato de sódio (27%)	Detergente	2,5	2,5
Mentol	Essência	0,25	0,25
DAE/EB (mesh 48)	Princípio ativo	2,5	-
Extrato de beterraba		-	0,50
Sílica (974)		-	1,70
Sílica (380)	Adsorvente/ abrasivo	-	0,80
Natrosol (HEC)	Polímero	1,0	1,0
Metilparabeno (Nipagin)	Conservante	0,10	0,10
Água	Veículo	qsp 50	qsp 50

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

4.7 Doseamento por espectrofotometria UV/VIS

Seguindo a metodologia de Grangeiro Júnior (2016), inicialmente foi realizado uma varredura para determinar o comprimento de onda de maior absorção do extrato de beterraba a partir de solução aquosa de concentração de 2mg/mL na faixa de 330 a 600 nm em espectrofotômetro UV/VIS, a água destilada foi usada para obter o zero. Uma vez encontrado o comprimento de onda de maior absorção, foi fixado e usado para a construção da curva de calibração.

A curva de calibração para o extrato de beterraba foi estabelecida através de espectrofotometria ultravioleta no comprimento de onda de 535 nm através de testes realizados em triplicata onde foi obtido o valor médio das absorbâncias medidas nas concentrações determinadas (2; 4; 6; 8 e 10 g/mL).

A partir dessa curva uma equação da reta foi obtida, com a qual realizou o doseamento do extrato microencapsulado em sistema DAE e dos dentifrícios formulados a partir da leitura das absorvâncias em cubetas de vidro no comprimento de onda de 535 nm.

4.8 Controle de qualidade

4.8.1 Análise organoléptica

O extrato de beterraba e as formulações dos dentifrícios foram submetidos à análises organolépticas, avaliando o aspecto, cor e odor da amostra, classificando-as seguindo os seguintes critérios: normal, sem alteração; levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo; separado, precipitado ou turvo (BRASIL, 2008). Para o extrato de beterraba não houve comparação com uma amostra padrão, o mesmo foi avaliado quanto a sua estabilidade por meio de doseamento em espectrofotômetro, quanto aos dentifrícios, estes foram comparados com dentifrício comercial.

4.8.2 Análises físico-químicas

4.8.2.1 pH

O pH dos extratos foi verificado em pHmetro, sendo as análises realizadas em triplicatas sob temperatura ambiente (25° C), inserindo os eletrodos nas amostras.

4.8.2.2 Espalhabilidade

Em um suporte foi posicionado um papel milimetrado, e sob ele uma placa de vidro (20 cm x 20 cm). Em seguida 1g (um grama) da amostra foi colocada no centro da placa. Sob a amostra foi colocada a primeira placa de vidro de peso pré-determinado. Após 1 minuto, calculou-se a superfície abrangida através da medição do diâmetro em duas posições opostas, com posterior cálculo do diâmetro médio. A espalhabilidade (E_i), determinada a 25°C, foi calculada através da equação 1 abaixo:

Equação 1. Cálculo da espalhabilidade da amostra.

$$E_i = \frac{d^2 \times \pi}{4}$$

Onde:

E_i = espalhabilidade da amostra para peso i (mm^2);

d = diâmetro médio (mm);

$$\pi = 3,14.$$

No final, os valores da espalhabilidade em função dos pesos adicionados é determinado através de 3 medições, calculando-se a média entre elas. A espalhabilidade máxima foi considerada como o ponto no qual a adição do peso não ocasionou alterações significativas nos valores da espalhabilidade (KNORST, 1991).

4.8.2.3 Viscosidade

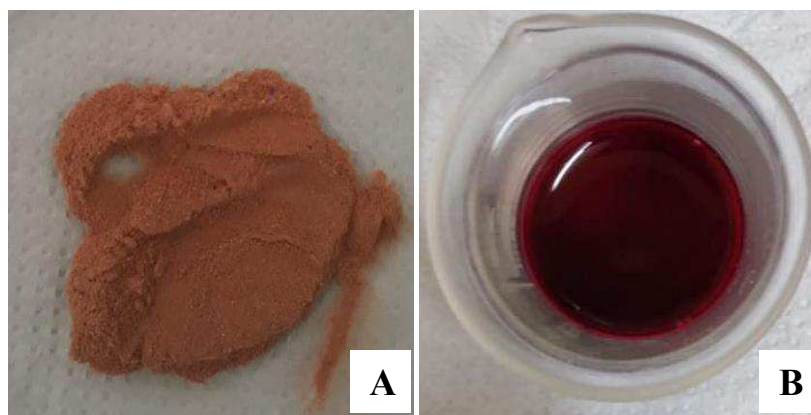
Para determinação da viscosidade dos dentifrícios, foi utilizado um Viscosímetro Rotativo Análogo Quimis, modelo Q-860A21, para o qual selecionou o fuso (spindle) e a velocidade adequada. Dessa forma, mergulhou-se o spindle verticalmente no centro da amostra em temperatura ambiente até o sulco da haste do spindle, e nivelou-se o aparelho. Verificada a ausência de bolhas, procedeu-se a leitura da viscosidade de acordo com o procedimento operacional do aparelho (BRASIL, 2008).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise dos extratos de beterraba

O extrato seco adquirido comercialmente se apresentava macroscopicamente homogêneo, pH 5, porém com coloração alaranjada e odor não característico da beterraba, o que sugere uma possível degradação levando em consideração a alteração da cor e odor. Após doseamento em espectrofotômetro foi possível confirmar sua degradação pelas baixas concentrações obtidas, figura 3A.

Figura 3. Comparação macroscópica entre os extratos: A- Extrato seco de beterraba comercial degradado; B- Extrato líquido de beterraba obtido após trituração.



Fonte: Autoria própria, 2019.

O extrato líquido obtido após trituração em processador, figura 3B, apresentou vantagens quanto à obtenção, por se tratar de uma técnica rápida, prática e sem o uso de aquecimento, o que pode ser considerado um ponto positivo uma vez que, de acordo com Bastos et al. (2014) o aumento da temperatura diminui o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das betalaínas, corante natural da beterraba com potencial antioxidante.

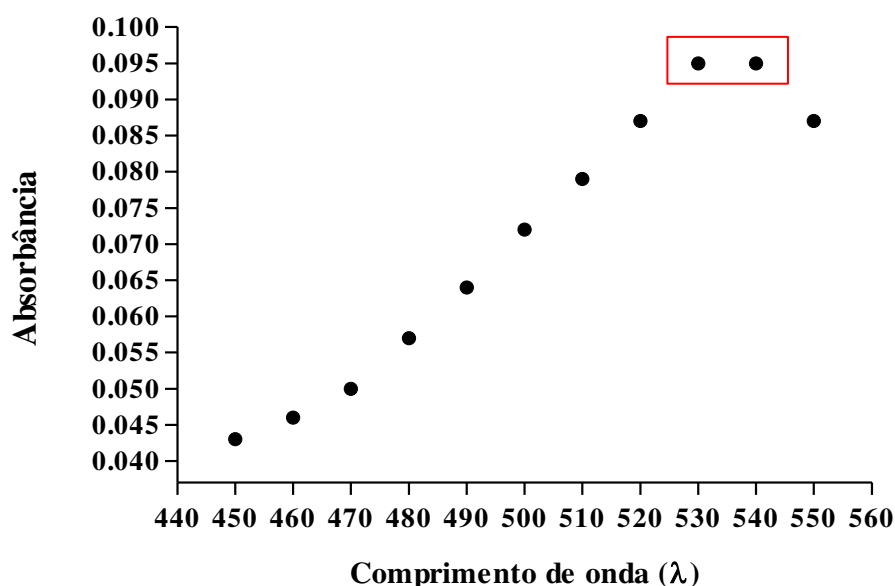
Esses resultados corroboram com os estudos de Grangeiro Júnior (2016) tendo em vista que o emprego de altas temperaturas foi responsável pela degradação dos extratos analisados em sua pesquisa, o mesmo obteve melhores resultados utilizando solvente com ponto de ebulição baixo, a fim de que a evaporação ocorresse em temperatura ambiente sem o uso de aquecimento.

Quanto a análise macroscópica do extrato utilizado no desenvolvimento das formulações, este se apresentou líquido, homogêneo, de cor vermelho/roxo intenso, odor completamente característico da beterraba e um pH de 6,3.

5.1.1 Varredura espectro UV/Visível

Após obtenção do extrato de beterraba utilizando a técnica alternativa mencionada anteriormente, uma varredura em espectroscopia UV-visível foi realizada. A partir desta foi possível descobrir o comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) de absorção da amostra de interesse. O gráfico 1 mostra todos os comprimentos de onda analisados e suas respectivas absorbâncias para uma concentração de 2mg/mL da solução aquosa contendo o extrato de beterraba.

Gráfico 1. Varredura da solução aquosa contendo o extrato de beterraba.
Em destaque região de maior absorbância.



Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

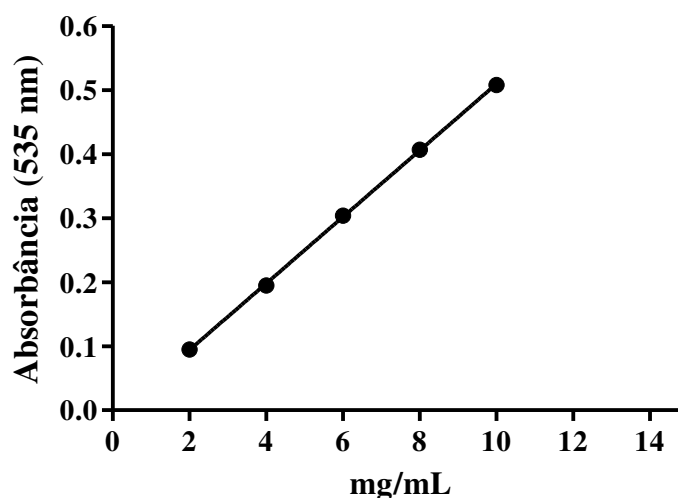
Conforme mostrado no gráfico 1 o valor de $\lambda_{\text{máx}}$ encontrado foi entre 530 e 540 nm, nesse intervalo obteve-se uma absorbância máxima no comprimento de onda de 535 nm. Nessa mesma faixa, Grangeiro Júnior (2016) evidenciou em seus estudos o comprimento de onda máximo para a betalaína, o que nos sugere que os valores obtidos durante a varredura, como mostrado no gráfico 1, está associado ao corante. Para tanto, isso pode ser justificado, uma vez que, de acordo com Kluge e Preczenhak (2016) a coloração da beterraba é decorrente da presença do alto teor de betalaína, sendo este seu principal composto funcional.

Diante desse resultado o comprimento de onda de 535 nm foi adotado para a realização das leituras e controle das formulações desenvolvidas.

5.1.2 Curva de calibração

No gráfico 2 está representada a curva de calibração do extrato de beterraba, obtida a partir da leitura de uma solução aquosa contendo o extrato à 10 mg/mL, em pH 7,0, a qual foi diluída em mais 4 concentrações: 2; 4; 6 e 8 mg/mL. As absorbâncias foram medidas em função da diluição.

Gráfico 2. Curva de calibração para o extrato de beterraba em pH 7,0.



Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

A partir desta curva obteve-se a seguinte equação da reta: $y = 0,0521x - 0,0107$ e $r^2 = 0,9998$, com a qual foi realizada os doseamentos das formulações.

5.1.3 Doseamento do extrato

A partir do doseamento seguindo a curva de calibração ($\text{abs} = 0,0521x - 0,0107$), obteve-se o valor da concentração do extrato de beterraba na diluição de 6 mg/mL e comprimento de onda de 535 nm, apresentando absorbância de $0,305 \pm 0,00047$ e concentração de 5,648 mg/mL. Com base nessa concentração e a partir da equação da reta obtida foi possível avaliar a viabilidade do sistema microparticulado e dos cremes dentais desenvolvidos frente à incorporação do extrato de beterraba.

5.1.4 Avaliação da toxicidade frente *Artêmia salina*

O extrato de beterraba foi submetido a testes de toxicidade frente a *Artêmia salina*, uma vez que este será empregado em um produto cosmético, e por se tratar de um dentifrício

há chances de ser ingerido. De acordo com a ANVISA (2012), em seu Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos preconiza a realização de ensaios de toxicidade como parâmetro para segurança do produto. Os resultados relacionados à toxicidade do extrato de beterraba estão apresentados na tabela 6.

Tabela 3. Mortalidade média de *Artêmia salina* frente a concentrações de extrato de beterraba em t = 24 h de exposição.

Concentração (µg/mL)	Média de náuplios mortos (%) ± desvio padrão
2000	0,0 ± 0.0
2500	0,0 ± 0.0
3000	0,0 ± 0.0
3500	0,1 ± 0.0
4000	0,2 ± 0.0

Fonte: dados da pesquisa, 2019.

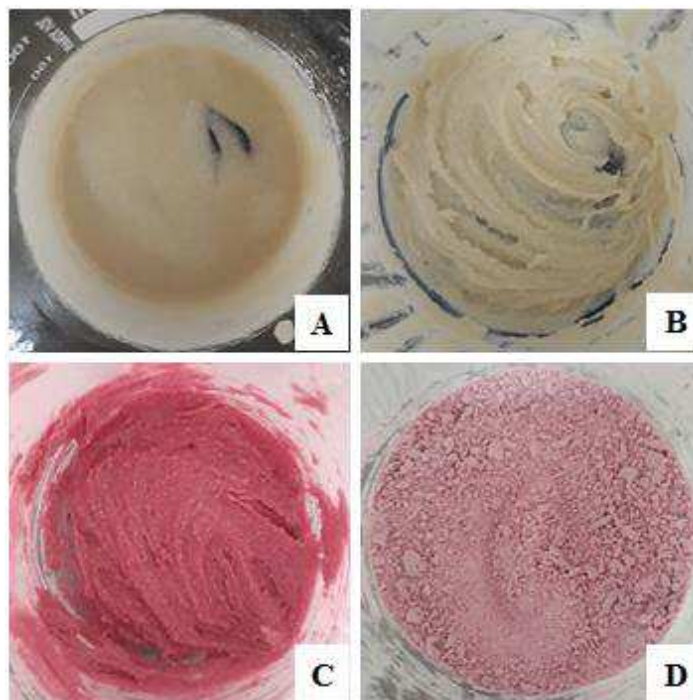
Com base nos resultados mostrados na tabela acima, o extrato de beterraba (*Beta vulgaris* L.) possui uma Concentração Letal Média (CL50) bem acima de 4000 ppm, não apresentando caráter tóxico em nenhuma das concentrações frente a *Artemia salina*. De acordo com Meyer et al. (1982) uma substância é classificada tóxica quando a CL50 é menor que 1000 µg.mL⁻¹ e não tóxica quando a CL50 for maior que 1000 µg.mL⁻¹.

O que corrobora com os estudos de Souza (2012), o qual afirma que não há um limite superior recomendado, tendo em vista estas não apresentarem efeitos tóxicos ao corpo humano.

5.2 Sistema microparticulado

Seguindo a metodologia descrita por Chambin et al. (2000), o sistema de Emulsão seca por adsorção foi sintetizado, obtendo-se no final um pó de fluxo livre como mostrado na figura 4.

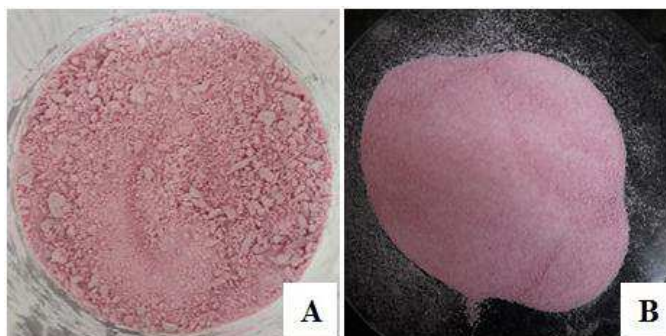
Figura 4. Etapas de preparação do sistema DAE: A- óleo de rícino e estearato de cálcio; B- adição da sílica hidrofílica; C- incorporação do extrato de beterraba; D- formulação final sem tamisar.



Fonte: Autoria própria, 2019.

Para uma melhor uniformidade e incorporação na formulação do dentifrício, o sistema DAE com o extrato de beterraba incorporado (DAE/EB) foi submetido à tamisação em peneira de 48 mesh por um período de 10 minutos. Dessa forma duas frações foram obtidas, a primeira a qual ficou retida na malha se apresentou como um pó de maior granulometria (DAE/EB não tamisada), a segunda fração atravessou a malha e se apresentou como um pó de fluxo livre com partículas de tamanho reduzido (DAE/EB tamisado em mesh 48), representado na figura 5.

Figura 5. Tamisação do sistema DAE : A- DAE/EB não tamisada; B- DAE/EB tamisada (mesh 48).



Fonte: Autoria própria, 2019.

Ao final foi realizado doseamento dos dois sistemas microparticulados a partir de uma solução aquosa de concentração de 6mg/mL, cuja leitura foi realizada no comprimento de onda de 535 nm, conforme tabela 4.

Antes de iniciar a leitura, as soluções contendo o sistema DAE foram submetidas a agitação mecânica em agitador magnético por 30 minutos, com objetivo de ocorrer a liberação do ativo do sistema microencapsulado, seguida da centrifugação para que não houvesse interferência durante a leitura. O tempo de 30 minutos foi determinado, uma vez que, de acordo com Grangeiro Júnior (2016), em seus estudos com extratos de beterraba, observou uma maior liberação do ativo no sistema DAE nos primeiros 20 minutos, logo após, iniciou um aumento lento da concentração na solução.

Tabela 4. Concentração do extrato de beterraba nos sistemas DAE.

Amostra em solução aquosa [6 mg/mL]	Absorbância (535 nm)	Concentração (mg/mL)
Extrato de beterraba	0,305	5,648
DAE placebo	0,013	0,044
DAE/EB não tamizada	0,264	4,861
DAE/EB tamizada mesh 48	0,234	4,285

Fonte: Autoria própria, 2019.

A partir dos dados apresentados acima pode-se observar a viabilidade da técnica frente a microencapsulação do extrato de beterraba, uma vez que, o mesmo foi efetivamente adsorvido no sistema e facilmente liberado em meio aquoso, o que pode ser considerado uma vantagem quanto ao seu emprego em dentifrícios, levando em consideração o modo de uso do produto. Além disso, com base no valor obtido na leitura do DAE placebo pode-se descartar a possibilidade de interferência do próprio sistema no doseamento do ativo.

Grangeiro (2016) em seus estudos observou que no tempo entre 20 e 40 minutos a liberação do ativo microencapsulado em sistema DAE foi de 70,02%, um valor superior comparado a técnica de coacervação complexa na qual, nesse intervalo de tempo, obteve uma liberação de 37,52% do ativo. O que poderia justificar a diferença entre a concentração do extrato e as concentrações de ambos os sistemas DAE/EB, tendo em vista que estes últimos foram submetidos a agitação em um intervalo de 30 minutos, havendo, portanto, a possibilidade de não ter ocorrido a liberação de 100% do ativo adsorvido.

Uma outra justificativa seria a própria degradação do extrato de beterraba devido a alta instabilidade de seus componentes (KAIMAINEN, 2014), porém, nesse momento, o resultado obtido das concentrações do extrato microencapsulado, no tempo de 24 horas, é satisfatório.

Quanto a diferença de concentração entre a DAE/EB não tamizada e a DAE/EB tamizada (mesh 48) pode ser explicada pelo fato da primeira possuir um pó com uma maior granulometria e consequentemente uma maior área de contato superficial, dessa forma durante a agitação facilitou a formação de poros com o maior contendo com a água levando a liberação do ativo.

De acordo com Chambin (2002), a liberação do ativo adsorvido na DAE é controlada pela solubilidade do princípio ativo encapsulado, a forma como este está distribuído na partícula, o tamanho das partículas, a difusão através de poros formados na estrutura da DAE e o contanto com o meio o qual a partícula é submetida.

5.3 Desenvolvimento dos dentifrícios

Os dentifrícios foram desenvolvidos baseando-se nos cremes dentais disponíveis no mercado. A base das formulações foi obtida a partir de componentes cuja principal finalidade está associada a limpeza, uma vez que apenas o extrato de beterraba foi incorporado como ativo.

De acordo com Bouassida et al. (2017) os dentifrícios no geral apresentam em suas formulações componentes básicos em comum. Cada um deles possuem funções específicas as quais garantem os efeitos cosméticos e preventivo-terapêuticos desejados, como os abrasivos, detergentes, umectantes e flavorizantes. Os demais componentes são importantes do ponto de vista farmacotécnico para garantir os aspectos físicos da formulação, como os agentes aglutinantes, umectantes, os quais impedem a desidratação e o endurecimento do dentifrício dentro da embalagem, e os conservantes, sendo utilizados para preservar a formulação em termos do crescimento de microrganismos.

5.4 Análise organoléptica do dentifrício

Após o desenvolvimento da base e formulação final do dentifrício ambos passaram por uma análise macroscópica avaliando-se o aspecto, cor, odor e sabor. Na figura 6 está representada a base da formulação do dentifrício sem a incorporação do ativo.

Figura 6. Base da formulação do dentifrício.

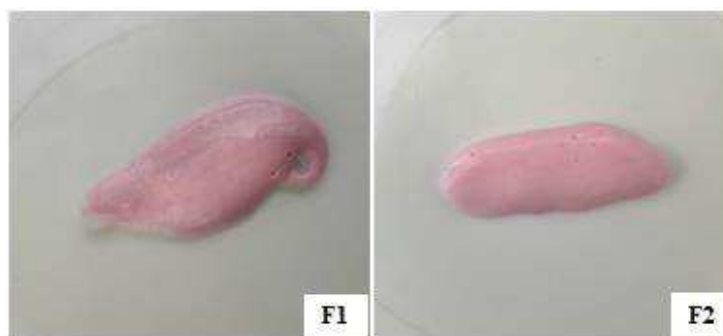


Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Como representado na figura acima, macroscopicamente, a base da formulação se apresentou como uma pasta branca opaca, homogênea, odor característico de menta e sabor doce resultante do sorbitol presente na composição. Características bem semelhantes aos dentifrícios comerciais.

Após a incorporação do extrato de beterraba algumas alterações puderam ser observadas quanto ao aspecto em ambas as formulações, como mostrado na figura 7. Em F1 e F2 nota-se a alteração de cor do branco para o rosa, resultante da incorporação do extrato de beterraba, ambas se apresentaram homogêneas, com leve odor de beterraba, mas com prevalência marcante do mentol. No entanto, pode-se notar que se diferenciam entre si quanto à consistência, uma vez que F1 se apresenta mais viscosa, enquanto F2 apresenta um aspecto mais fluído. Essa diferença pode estar relacionada à técnica usada na incorporação do ativo em cada uma das formulações.

Figura 7. Formulação final do dentifrício com extrato de beterraba incorporado: F1- Incorporação do extrato microencapsulado; F2- incorporação direta do extrato sem microencapsular.



Fonte: Dados da pesquisa.

Essas informações obtidas a partir da análise macroscópica são imprescindíveis para analisar a qualidade de qualquer produto em desenvolvimento. A ANVISA (2008) ressalta a importância desta análise, uma vez que esta é capaz de fornecer parâmetros que permitem

avaliar, de imediato, o estado em que se encontra sua amostra, permitindo assim o reconhecimento primário do produto.

5.5 Controle de qualidade físico-químico do dentifrício

Assim como todos os produtos cosméticos desenvolvidos, os dentifrícios necessitam de ensaios que assegurem sua qualidade e segurança, a fim de que seja possível observar sua estabilidade e conseqüentemente sua efetividade. Para tanto, os tópicos a seguir mostram os resultados obtidos a partir de ensaios físico-químicos dos dentifrícios no tempo zero.

5.5.1 pH

Os dentifrícios foram submetidos a análise de pH no tempo zero e comparados ao produto já disponível no mercado, os resultados encontram-se na tabela 5.

Tabela 5. Comparação entre valores de pH dos dentifrícios F1 e F2 e dentifrício comercial.

Amostras	pH $\pm$ desvio padrão
Dentifrício comercial	8,76 $\pm$ 0,02
F1	7,13 $\pm$ 0,04
F2	7,35 $\pm$ 0,04

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Com base nos resultados apresentados na tabela 4, os valores de pH entre as formulações desenvolvidas se mantiveram na faixa do neutro, e próximos do valor encontrado no dentifrício comercial, o que pode ser considerado um ponto positivo em relação a estabilidade da cor do extrato de beterraba incorporado, tendo em vista que, de acordo com Kaimainen (2014) as betalaínas são estáveis em uma variação de pH entre 3,0 7,0.

Dentre os parâmetros de controle de qualidade o pH é um dos mais importantes a serem avaliados em dentifrícios, uma vez que este está diretamente relacionado a estabilidade do produto. De acordo com o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), baseando-se na Organização Internacional de Normalização 11.609 de junho de 2017, preconiza que os dentifrícios devem estar dentro de uma faixa, considerada de segurança, que vai de 4,5 a 10,5.

5.5.2 Espalhabilidade e viscosidade

A tabela 6 apresenta os valores da espalhabilidade obtidas para a formulação 1 e 2.

Tabela 6. Comparação entre os valores de espalhabilidade de F1 e F2

Adição de placas	Espalhabilidade das Amostras	
	F1	F2
Placa 1	12,56	20,01
Placa 2	13,51	24,17
Placa 3	14,51	25,05
Placa 4	14,51	25,05
Placa 5	14,51	25,05
Placa 6	14,51	25,05

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Com base na tabela acima, a F1 apresentou uma espalhabilidade inferior a F2, essa diferença é visualmente notada na análise organoléptica.

Quanto a viscosidade, não foi possível realizar a leitura no viscosímetro, uma vez que o aparelho não realizou a leitura tendo em vista alta viscosidade das amostras.

A espalhabilidade e a viscosidade são inversamente proporcionais, e são consideradas uma das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica, pois está intimamente relacionada com a aplicação destas formulações no local (Knorst, 1991).

5.5.3 Doseamento do dentifrício

Utilizando a mesma técnica do doseamento dos sistemas DAE/EB, antes de iniciar a leitura, as soluções contendo a formulação placebo (base do dentifrício sem o extrato), F1 e F2 foram submetidas a agitação mecânica em agitador magnético por 30 minutos, seguida da centrifugação para evitar interferência durante a leitura.

A tabela 7 apresenta a concentração do extrato de beterraba presente nas formulações dos dentifrícios desenvolvidos, F1 e F2 no tempo zero.

Tabela 7. Concentração do extrato de beterraba em F1 e F2.

Amostra em solução aquosa (6mg/mL)	Absorbância (535 nm)	Concentração (mg/mL)
Formulação placebo	0,012	0,024
F1	0,223	4,075
F2	0,227	4,151

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

A partir dos valores mostrados na tabela acima, com base na concentração obtida na leitura da formulação placebo pode-se descartar a possibilidade de interferência dos componentes do dentifrício no doseamento do ativo.

Baseando-se nas técnicas empregadas na incorporação do extrato em ambas as formulações, pode-se observar que o sistema DAE permite uma liberação rápida do ativo, uma vez que F1, a qual o extrato encontrava-se adsorvido no sistema e F2, onde o extrato se encontrava livre na formulação, obtiveram praticamente a mesma concentração no intervalo de tempo de 30 minutos (tempo de agitação).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esse estudo observou-se que a técnica de Emulsão seca por adsorção é viável para microencapsulação do extrato de beterraba.

Além disso, foi possível a incorporação desse sistema em um dentifrício, o que torna esse produto inovador, de baixo custo e fácil obtenção. O mesmo apresentou resultados satisfatórios em relação aos valores obtidos nos doseamentos, e quanto às análises de controle de qualidade, observando que as amostras analisadas se encontraram dentro dos padrões dos dentifrícios comerciais.

Quanto a análise frente à *Artemia salina*, constatou que o extrato de beterraba não apresenta toxicidade, o que torna a amostra viável para esse tipo de formulação.

Para tanto, como perspectiva, novas análises devem ser realizadas para avaliar atividade antioxidante do extrato através do método de DPPH e controle de qualidade quanto a estabilidade das formulações para se ter um resultado da efetividade do sistema de microencapsulação.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - **RDC Nº 07**, 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. 2015. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867685/RDC_07_2015_.pdf/. Acesso em: 05 de ago. 2019.
- ANVISA. **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**. 2º Ed., 2012.
- BAERLOCHER. **Baerlocher Special additives: Metallic stearates**. Unterschleissheim, Alemanha, 2017.
- BASTOS, B. M. et al. **AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA DE BETALAÍNAS EXTRAÍDAS DE *Beta vulgaris* L.** In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis/SC, Brasil, 2014.
- BEDNARCZUK, V. O. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 44, 2010.
- BOUASSIDA, M. et al. Potential application of *Bacillus subtilis* SPB1 lipopeptides in toothpaste. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n.4, p. 425-433, 2017.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos/ Uma abordagem sobre os Ensaio Físicos e Químicos**. 2ª edição, revista – Brasília: ANVISA, 2008.
- CANSIAN, R. L. et al. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, 2017.
- CELLI, G. B.; BROOKS, M. S. L. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins – A current review. **Food Research International**, v. 3, n. 3, p. 501-509, 2017.
- CHAMBIN, O. et al. Dry adsorbed emulsion: characterization of an intricate physicochemical structure. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 8. P. 992-999, 2000.
- CHAMBIN, O. et al. DRY ADSORBED EMULSION: 2. DISSOLUTION BEHAVIOUR OF AN INTRICATE FORMULATION. **International Journal of Pharmaceutics**, V. 235, Pg. 169-178, 2002.
- CLIFFORD, T. et al. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, v. 7, n. 4, p. 2801-2822, 2015.
- CORDEIRO, S. A. et al. Combate aos radicais livres através da alimentação. **International Journal of Nutrology**, v.11, p. 1-31, 2018.
- COSTA, S. C. **Desenvolvimento e caracterização de micropartículas de xilana pela técnica de reticulação polimérica interfacial usando trimetafosfato de sódio**. 2011. 45f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Curso Superior de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa, 2011.

CRUZ, A. S.; BARBOSA, M. L.; PINTO, T. J. A. Testes *in vitro* como alternativa aos testes *in vivo*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 1, p. 1-9, 2004.

EMBRAPA. SEBRAE. **Catálogo brasileiro de hortaliças saiba como plantar e aproveitar 50 das espécies mais comercializadas no país**. Brasília (DF), 2010.

GONÇALVES, B.S.G. **Pigmentos Naturais de Origem Vegetal: Betalaínas**. 2018, 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade ALGARVE, Faro, 2018.

GONÇALVES, L.C.P. et al. A Comparative Study of the Purification of Betanin. **Food Chemistry**, v. 131, n.1, p. 231-238, 2012.

GRANGEIRO JR, E.A. **Comparação de diferentes técnicas de microencapsulação contendo betalaínas e avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH**. 2016. 67f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité-PB, 2016.

HIROTA, B. C.K. et al. Avaliação de toxicidade *in vitro*: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia salina*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 13, n. 2, 2012.

HOFFMAN, C. H. **Dentifrícios em periodontia**. 2008. 52f. Monografia (Especialização em Periodontia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

KAIMAINEN M. **Stability of natural colorants of plant origin**. PhD thesis (Food Chemistry and Food Development), Department of Biochemistry Turku, Finland, 2014.

Khairnar, M. R. et al. Efficacy of herbal toothpastes on salivary pH and salivary glucose - A preliminary study. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 8, n. 1, p. 03-06, 2017.

KLUGE, R. A.; PRECZENHAK, A. P. Betalaínas em beterraba minimamente processada: perdas e formas de preservação. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, vol. 17, n. 2, p. 175-192, 2016.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (LAM) dc. compositae (Marcela)**. 257f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.

LEITE, I. S. S; BRETAS, L. P.; CAMPOS, C. N. Analysis of the pH variation of three calcium hydroxide-based pastes, when associated with CMCP, chlorhexidine and Aloe vera. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 6, n. único, p. 22-28, 2014.

MARTINS, M. C. P. **Partição de clorofila e betalaína utilizando sistemas aquosos bifásicos**. 80f. Tese (Doctor Scientiae) – Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.

MARTINS, R. S. et al. Composition, active ingredients and clinical indications of dentifrices: a literature review between 1989 and 2011. **Journal Health Science Institute**, v. 30, n. 3, p. 287-291, 2012.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MIGUEL M. G. Betalains in some species of the Amaranthaceae family: A review. **Antioxidants (Basel)**, switzerland, v. 7, n. 4, 2018.

NGMWONGLUMLERT L.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N. Natural colorants: pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 15, p. 243-259, 2017.

PANZIERA, F. B. et al. Avaliação da ingestão de minerais antioxidantes em idosos. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, vol.14, p. 49-58, 2011.

PIMENTEL, M. F. et al. O uso de *Artemia sp.* como organismo teste para avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011.

SANTOS, C. D. **Extração, clarificação e estabilização de betalaína proveniente de talos de beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*)**. 175f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

SAULIN, M. P. et. al. Influence Of The Local And Systemic Oxidative Stress On Periodontitis: Role Of Antioxidant Therapy. **Serbian Journal of Experimental and Clinical**,. vol. 19, n. 4, 2018.

SOBCZYK, A. E. **Influência do HTST na estabilidade de betalaínas provenientes do bulbo da beterraba vermelha**. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2018.

SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. 65f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), UEZO- Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, 2012.

STULZER, H. K. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas microparticulados de liberação modificada a base de quitosana contendo o antiviral aciclovir**. 268f . Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

TAN, A. et al. Silica-lipid Hybrid (SLH) Microcapsules: A Novel Oral Delivery System for Poorly Soluble Drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 134, p. 62-70, 2009.

TRIVEDI, S.; LAL, N. J. Antioxidant enzymes in periodontitis. **J. Oral Biol. Craniofac. Res.**, v. 7, n.1, p. 54-57, 2017.

VICTAL, J. C. et al. Métodos alternativos *in vitro* e *in silico*: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, 2014.