

UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LAIARA TORRES

**DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO COM A MACROALGA  
*Kappaphycus alvarezii* E SUA EFETIVIDADE NA HIDRATAÇÃO DA PELE**

Ribeirão Preto - SP

2024

LAIARA TORRES

DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO COM A MACROALGA  
*Kappaphycus alvarezii* E SUA EFETIVIDADE NA HIDRATAÇÃO DA PELE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia aplicada à Saúde

Orientador: Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins

Ribeirão Preto - SP

2024

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E A DIVULGAÇÃO INTEGRAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO TRADICIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE A FONTE SEJA DEVIDAMENTE CITADA.

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento  
Técnico da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

TORRES, Laiara, 1992-

T689d      Desenvolvimento de produto cosmético com a macroalga  
*Kappaphycus alvarezii* e sua efetividade na hidratação da pele. /  
Laiara Torres. - Ribeirão Preto, 2024.  
121 f.: il. color.

Orientador: Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Ribeirão Preto,  
UNAERP, Biotecnologia, 2024.

1. Algas marinhas. 2. Carragena. 3. Cosméticos. 4.  
Hidratação. II. Título.

CDD 660.6

LAIARA TORRES

DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO COM A MACROALGA  
*Kappaphycus alvarezii* E SUA EFETIVIDADE NA HIDRATAÇÃO DA PELE

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia da Universidade de Ribeirão  
Preto para obtenção do Título de Mestre  
em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia aplicada à Saúde

Data da defesa: 18 de dezembro de 2024.

Resultado: Aprovada

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



MOZART DE AZEVEDO MARINS

Data: 21/01/2025 10:08:25-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins  
Presidente/UNAERP

Documento assinado digitalmente



SILVIA HELENA TALEB CONTINI

Data: 20/12/2024 10:18:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Silvia Helena Taleb Contini  
UNAERP

Profa. Dra. Gislaine Ricci Leonardi  
UNICAMP

À Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada. À minha família, em especial aos meus pais Márcia e Sérgio, minha avó, meus padrinhos e tios que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando em todas as decisões profissionais e pessoais, permitindo que essa jornada fosse possível de ser realizada e concluída. Aos queridos amigos, que estiveram torcendo para o meu sucesso.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, primeiramente, pelo dom da vida e por me proporcionar chegar até aqui.

À minha família, em especial aos meus pais Márcia e Sérgio, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões, me dando apoio e incentivo para que eu concluísse meus objetivos. Aos meus tios, também padrinhos, Ana Cláudia e Júnior, à minha avó Joana, que estiveram sempre presentes em minha vida, torcendo por mim e ao meu querido avô Wagner (*in memoriam*), que mesmo não mais presente neste plano, sei que acompanha meus passos e torce por mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mozart Marins, muito obrigada pela oportunidade de desenvolver esse projeto, obrigada pela confiança, por acreditar em mim e na realização desse trabalho. Obrigada pelos ensinamentos, experiências, por toda a ajuda e pela oportunidade de poder fazer parte do Grupo de Genética Molecular e Bioinformática (GMB).

À empresa Algastech pela disponibilidade e fornecimento da espécie da alga em estudo.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana da Silva Coppede por toda a ajuda na realização dos experimentos e pareceres dos relatórios.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Helena Taleb Contini, pela disponibilidade e ajuda nas análises realizadas com GC-CMS e identificação de compostos.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bruna Altoé Adorno que me ajudou na preparação das formulações e me recebeu no Estágio Docência.

Aos médicos colaboradores dessa pesquisa, obrigada pela disponibilidade e ajuda na realização dos estudos *ex vivo* e *in vivo* em humanos.

Aos meus colegas de trabalho e laboratório do Grupo GMB, pelo compartilhamento de aprendizados, experiências e toda a ajuda. Agradeço pelos bons momentos que ficarão na memória.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Fonseca Vianna Lopez, pela disponibilidade e parceria em ceder o laboratório de pesquisa Centro de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica (NanoTop) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP/SP para a realização de alguns experimentos, e à Mestra Bianca Aparecida Martin por toda a paciência, ajuda e suporte na

realização dos ensaios de propriedades mecânicas, força bioadesiva e ensaio *in vivo*, além de me esclarecer muitas dúvidas.

À Universidade Ribeirão Preto e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP que me proporcionaram escolher um curso de grande qualificação, oferecendo ferramentas necessárias para construção do meu conhecimento.

Ao CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado (Processo nº 88887.716284/2022-00).

A todos, muito obrigada.

*“Todas as coisas boas deste mundo começaram com um sonho. Então, agarre-se ao seu.”*

(Wonka, o filme)

## RESUMO

Torres, L. **Desenvolvimento de produto cosmético com a macroalga *Kappaphycus alvarezii* e sua efetividade na hidratação da pele.** 2024. Dissertação de Qualificação (Mestrado). Biotecnologia Aplicada à Saúde- Universidade de Ribeirão Preto, 2024.

O potencial biotecnológico das algas marinhas é amplamente reconhecido em função de serem uma fonte rica em minerais como cálcio, ferro e iodo, além de proteínas, carboidratos, vitaminas, fitoesteróis e compostos fenólicos. A sua biomassa é utilizada na fabricação de produtos alimentícios, ração animal, biocombustíveis, cosméticos, emulsificantes, gelificantes, estabilizadores, biofertilizantes e bioestimulantes. Extratos ou substâncias isoladas de algas marinhas apresentam diversas atividades biológicas para o tratamento do câncer, diabetes e obesidade, fazendo que sejam também empregadas na indústria farmacêutica. A espécie *Kappaphycus alvarezii* é uma das algas mais cultivadas no mundo, sendo utilizada como espessante, emulsificante, gelificante e estabilizante em alimentos e formulações cosméticas. Possui também propriedade hidratante por meio da presença de um polissacarídeo sulfatado, a carragena, de grande importância comercial e industrial, podendo ser utilizada como uma excelente opção em produtos cosméticos. O presente projeto tem como objetivo inicial preparar e caracterizar uma formulação de sérum contendo gel fluido da alga *K. alvarezii*, explorar as propriedades dessa alga e avaliar sua ação hidratante na pele. Foram realizados ensaios antioxidantes dos extratos preparados em meio hidroetanólico e os resultados foram promissores quanto à redução do radical DPPH. Os extratos liofilizados de algas frescas demonstraram bons resultados em relação à atividade antioxidante. Os extratos liofilizados de algas frescas demonstraram bons resultados em relação à atividade antioxidante. As formulações de sérums apresentaram comportamento reológico do tipo pseudoplástico e tixotrópico, compatível com as finalidades propostas. Além disso, não houve maiores diferenças significativas entre as formulações nas propriedades de elasticidade e coesividade. Os resultados do estudo *in vivo* a curto prazo mostraram que, após 2 horas de aplicação, a formulação de sérum teste (sérum A) apresentou um efeito hidratante mais acentuado que a formulação sérum controle (sérum AH), com aumento significativo no grau de hidratação na região da palma das mãos. Dessa forma, o produto cosmético desenvolvido com a alga *Kappaphycus alvarezii* apresenta-se eficaz na hidratação da pele.

Palavras - chaves: Algas marinhas, carragena, cosméticos, hidratação.

## ABSTRACT

Torres, L. **Development of a cosmetic product with the macroalgae *Kappaphycus alvarezii* and its effectiveness in hydrating the skin.** 2024. Dissertação de Qualificação (Mestrado). Biotecnologia Aplicada à Saúde - Universidade de Ribeirão Preto, 2024.

The biotechnological potential of seaweed is widely recognized as a rich source of minerals such as calcium, iron and iodine, as well as proteins, carbohydrates, vitamins, phytosterols and phenolic compounds. Its biomass is used in the manufacture of food products, animal feed, biofuels, cosmetics, emulsifiers, gelling agents, stabilizers, biofertilizers and biostimulants. Extracts or isolated substances from seaweed have several biological activities for the treatment of cancer, diabetes and obesity, which is why they are also used in the pharmaceutical industry. The species *Kappaphycus alvarezii* is one of the most cultivated seaweeds in the world, and is used as a thickener, emulsifier, gelling agent and stabilizer in food and cosmetic formulations. It also has moisturizing properties through the presence of a sulfated polysaccharide, carrageenan, which is of great commercial and industrial importance and can be used as an excellent option in cosmetic products. The initial objective of this project was to prepare and characterize a serum formulation containing a fluid gel of the algae *K. alvarezii*, to explore the properties of this algae and to evaluate its moisturizing action on the skin. Antioxidant assays were performed on the extracts prepared in a hydroethanolic medium and the results were promising regarding the reduction of the DPPH radical. The lyophilized extracts of fresh algae demonstrated good results regarding the antioxidant activity. The serum formulations presented pseudoplastic and thixotropic rheological behavior, compatible with the proposed purposes. In addition, there were no major significant differences between the formulations in the properties of elasticity and cohesiveness. The results of the short-term in vivo study showed that, after 2 hours of application, the test serum formulation (serum A) presented a more pronounced moisturizing effect than the control serum formulation (serum AH), with a significant increase in the degree of hydration in the palm region. Thus, the cosmetic product developed with the algae *Kappaphycus alvarezii* is effective in moisturizing the skin.

**Keywords:** Seaweed, carrageenan, cosmetics, hydration.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática da anatomia da pele humana organizada em três camadas: epiderme, derme e hipoderme e seus componentes. ....	19
<b>Figura 2.</b> Representação da estrutura da epiderme com ampliação do estrato córneo, mostrando a composição estrutural do estrato córneo.....	20
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática dos diferentes mecanismos de hidratação da pele: (A) umectação, (B) oclusão e (C) hidratação ativa. ....	25
<b>Figura 4.</b> Compostos com atividade antioxidante presentes em espécies de algas marinhas.....	27
<b>Figura 5.</b> Ranking do mercado consumidor de produtos HPPC no mundo, com destaque para o Brasil, no ano de 2023.....	29
<b>Figura 6.</b> Esquema de pirâmide dos mercados de produtos de algas marinhas. ....	32
<b>Figura 7.</b> Alga fresca da espécie <i>K. alvarezii</i> .....	33
<b>Figura 8.</b> Espécie <i>K. alvarezii</i> em suas variações de tonalidades: vermelha (A), amarela (B), parda (C) e verde (D).....	34
<b>Figura 9.</b> Método de cultivo de <i>K. alvarezii</i> em estruturas fixas e flutuantes. ....	35
<b>Figura 10.</b> Estrutura básica das carragenas. ....	37
<b>Figura 11.</b> Estruturas químicas dos tipos de carragenas (iota, kappa e lambda). ....	38
<b>Figura 12.</b> Representação esquemática da gelificação das carragenas. Forma de novelos aleatórios, dupla hélice e estrutura quaternária. ....	39
<b>Figura 13.</b> Fórmula estrutural do radical DPPH. ....	46
<b>Figura 14.</b> Equação da reação do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), de coloração púrpura, sendo reduzido a 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH-H), de coloração amarela. ....	47
<b>Figura 15.</b> Representação esquemática do preparo da formulação do sérum A.....	52
<b>Figura 16.</b> Representação esquemática do preparo das formulações séruns B e C. ....	53
<b>Figura 17.</b> Representação esquemática do preparo da formulação do sérum controle (AH).....	54
<b>Figura 18.</b> Representação esquemática do ensaio da avaliação reológica das formulações séruns e obtenção da viscosidade.....	56
<b>Figura 19.</b> Esquema representativo do ensaio para a determinação das propriedades mecânicas. ....	58
<b>Figura 20.</b> Esquema representativo do ensaio de determinação da força bioadesiva. ....	59

<b>Figura 21.</b> Representação da região das mãos demarcada para avaliação da hidratação.....	65
<b>Figura 22.</b> Cromatogramas das amostras do extrato de <i>K. alvarezii</i> obtidos por CG/MS. Cromatogramas das frações (A) extrato bruto (Ka1 e Ka2) e (B) éter etílico (Ka3 e Ka4). .....	69
<b>Figura 23.</b> Atividade antioxidante das diferentes concentrações 0,625 a 10 mg.mL <sup>-1</sup> do extrato de algas frescas de <i>K. alvarezii</i> . .....	71
<b>Figura 24.</b> Atividade antioxidante das diferentes concentrações 0,625 a 10 mg.mL <sup>-1</sup> do extrato de algas secas de <i>K. alvarezii</i> . .....	72
<b>Figura 25.</b> Gráfico comparando a atividade antioxidante dos extratos de <i>K. alvarezii</i> produzidos de algas frescas e secas. ....	73
<b>Figura 26. a)</b> Gráfico da porcentagem de DPPH remanescente referente ao extrato hidroetanólico de alga fresca de <i>K. alvarezii</i> versus suas concentrações; <b>b)</b> Gráfico da porcentagem de DPPH remanescente referente ao extrato hidroetanólico de alga seca de <i>K. alvarezii</i> . .....	74
<b>Figura 27.</b> Efeito das diferentes concentrações 0,5% e 1% na atividade antioxidante das formulações de séruns com extrato de algas frescas de <i>K. alvarezii</i> . .....	75
<b>Figura 28.</b> Efeito das diferentes concentrações 5, 10, e 20 mg.mL <sup>-1</sup> do extrato de <i>K. alvarezii</i> na viabilidade celular. ....	76
<b>Figura 29.</b> Porcentagem de fluorescência do gel de <i>K. alvarezii</i> e os respectivos controles.....	78
<b>Figura 30.</b> Foto dos Séruns: <b>A-</b> Sérum AH no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento; <b>B-</b> Sérum A no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento; <b>C-</b> Sérum B no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento; <b>D-</b> Sérum C no tempo basal (T0) e após 60.....	79
<b>Figura 31.</b> Curva de fluxo (tensão de cisalhamento vs. taxa de cisalhamento) dos séruns. Os séruns foram armazenados à temperatura ambiente, avaliados 3 dias após o preparo (T0), após 30 (T30) e 60 (T60) dias. A curva de fluxo do sérum AH está indicada em (A); a curva de fluxo do sérum A está indicada em (B), a curva de fluxo do sérum B está indicada em (C) e a curva de fluxo do sérum C está indicada em (D). As setas indicam a direção da taxa de cisalhamento. ....	80
<b>Figura 32.</b> Propriedades mecânicas do sérum controle (Sérum AH) e dos séruns formulados à base de <i>K. alvarezii</i> (Sérum A, B e C). ....	86
<b>Figura 33.</b> Força e trabalho de bioadesão do sérum formulado à base de <i>K. alvarezii</i> (A) e sérum controle (AH). .....	88
<b>Figura 34.</b> Fluxograma da seleção de participantes para o estudo in vivo. ....	89
<b>Figura 35.</b> Avaliação sensorial em relação aos parâmetros de espalhabilidade, hidratação e absorção dos séruns do grupo controle e teste. ....	92
<b>Figura 36.</b> Avaliação visual dos parâmetros de aspecto do produto, fluidez e melhora na aparência da pele dos séruns do grupo controle e teste. ....	93

**Figura 37.** Hidratação cutânea da palma (A) e dorso da mão (B) no tempo zero (basal) e após 10, 30 e 60 minutos da aplicação dos sérums controle (sérum AH) e teste (sérum A).....96

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição química do fator natural de hidratação.....	23
<b>Tabela 2.</b> Características de géis elaborados com hidrocoloide.....	36
<b>Tabela 3.</b> Composição da formulação sérum A. ....	51
<b>Tabela 4.</b> Composição das formulações dos sérums B e C. ....	52
<b>Tabela 5.</b> Composição do Sérum AH.....	53
<b>Tabela 6.</b> Substâncias presentes na alga <i>K. alvarezii</i> identificadas por CG/MS com base na similaridade dos espectros teóricos encontrados no banco de dados do sistema NIST 62 lib. ....	67
<b>Tabela 7.</b> Valores de IC50 de cada amostra.....	74
<b>Tabela 8.</b> Área de Histerese dos Sérums e Viscosidade Aparente (Pa.s) (60s).....	82
<b>Tabela 9.</b> Valores de pH das formulações medidos por um período de 60 dias. ....	84
<b>Tabela 10.</b> Dados sociodemográficos coletados dos participantes.....	90
<b>Tabela 11.</b> Tipo de pele e frequência do uso de produtos hidratantes nas mãos com base nas respostas dos participantes do estudo.....	90
<b>Tabela 12.</b> Grau de hidratação (UA) da pele antes da aplicação dos sérums. ....	94
<b>Tabela 13.</b> Condições dos participantes em relação à uso de medicamento quimioterápico, exposição solar e procedimentos.....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

( <i>ι</i> )	iota
( <i>κ</i> )	kappa
( <i>λ</i> )	lambda
ABIHPEC	Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosmético
AH	Ácido hialurônico
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CAT	Catalase
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CET	Cetrimida
DPPH	2,2 Difenil-1-picrihidrazil
DPPH-H	2,2 Difenil-1-picrihidrazina
ERO	Espécie reativa de oxigênio
EtOH	Etanol
FCFRP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
FE	Fração éter etílico
FNH	Fator Natural de Hidratação
g	gramas
GC-MS	Chromatography with Mass Spectrometry detection
GPx	Glutathione peroxidase
h	horas
HPPC	Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes
HS-SPME	Headspace Solid Phase Microextraction
<i>K.</i>	<i>Kappaphycus</i>
MAC	Ágar MacConkey
MAS	Ágar sal manitol
mg	Miligrama
mg. mL <sup>-1</sup>	Miligrama por mililitro
min	minuto

mL	Mililitro
mm	Milímetros
mM	Mili-molar
mm. s <sup>-1</sup>	Milímetro por segundo
MTT	3-(4,5 Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
nm	Nanômetro
NMF	<i>Natural Moisturizing Factor</i>
°C	Graus Celsius
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB	Polidimetilsiloxano divinilbenzeno
pH	Potencial hidrogeniônico
PTFE	Politetrafluoretileno
rpm	rotação por minuto
s	segundo
s <sup>-1</sup>	por segundo
SAB	Ágar Sabouraud
SC	Sérum controle
SOD	Superóxido dismutase
ST	Sérum teste
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TSA	Ágar triptona - soja (Tryptic Soy Ágar)
TSB	Caldo triptona - soja (Tryptic Soy Broth)
u	Massa atômica
UA	Unidades arbitrárias
UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto
USP	Universidade de São Paulo
µg.mL <sup>-1</sup>	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
µm	Micrômetro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
1.1 PELE .....	19
1.1.1 Anatomia da pele humana .....	19
1.1.2 Hidratação da pele.....	22
1.1.3 Antioxidantes para proteção da pele.....	25
1.2 COSMÉTICOS.....	27
1.2.1 Mercado consumidor de cosméticos no Brasil.....	29
1.2.2 Sérums.....	30
1.3 ALGAS MARINHAS .....	31
1.3.1 Algas vermelhas.....	32
1.4 <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	32
1.4.1 Cultivo da <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	34
1.4.2 Carragena.....	35
<b>2 HIPÓTESE</b> .....	<b>40</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>41</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	41
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>42</b>
4.1 MATERIAL VEGETAL.....	42
4.1.1 Preparo do extrato liofilizado de <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	42
4.1.2 Preparo do gel de <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	43
4.2 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRESENTES NO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA ALGA <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	43
4.2.1 Análise do extrato bruto de <i>K. alvarezii</i> por HS-SPME-CG-MS.....	43
4.2.1.1 Análise utilizando a fibra PDMS (Ka <sub>1</sub> ).....	43
4.2.1.2 Análise utilizando a fibra PDMS/DVB (Ka <sub>2</sub> ).....	44
4.2.2 Fracionamento do extrato de <i>K. alvarezii</i> .....	44
4.2.2.1 Análise da fração éter etílico de <i>K. alvarezii</i> (FE) utilizando coluna capilar VF- 5 ms.....	45
4.2.2.2 Análise da fração éter etílico de <i>K. alvarezii</i> (FE) utilizando coluna capilar CPWAX.....	45

4.3 MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL) .....	46
<b>4.3.1 Atividade antioxidante do extrato de <i>K. alvarezii</i>.....</b>	<b>47</b>
<b>4.3.2 Atividade antioxidante das formulações de sérums.....</b>	<b>47</b>
<b>4.3.3 Determinação da atividade antioxidante.....</b>	<b>48</b>
4.4 TESTE <i>in vitro</i> EM CULTURA DE CÉLULAS .....	49
<b>4.4.1 Linhagem celular .....</b>	<b>49</b>
<b>4.4.2 Ensaio de viabilidade celular .....</b>	<b>49</b>
<b>4.4.3 Citotoxicidade CellTox™ Green.....</b>	<b>50</b>
4.5 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS .....	50
<b>4.5.1 Desenvolvimento da formulação do sérum à base gel de <i>Kappaphycus alvarezii</i>.....</b>	<b>51</b>
<b>4.5.2 Desenvolvimento da formulação do sérum à base gel de <i>Kappaphycus alvarezii</i> incorporada com extrato hidroetanólico.....</b>	<b>52</b>
<b>4.5.3 Desenvolvimento da formulação do sérum com ácido hialurônico.....</b>	<b>53</b>
4.6 TESTE DE ESTABILIDADE.....	54
<b>4.6.1 Características organolépticas .....</b>	<b>55</b>
<b>4.6.2 Avaliação reológica.....</b>	<b>55</b>
<b>4.6.3 pH .....</b>	<b>56</b>
<b>4.6.4 Ensaio microbiológico .....</b>	<b>56</b>
4.7 DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	57
4.8 DETERMINAÇÃO DA FORÇA BIOADESIVA .....	57
<b>4.8.1 Local do estudo.....</b>	<b>59</b>
<b>4.8.2 Participantes que concederão as peles da cirurgia plástica.....</b>	<b>60</b>
4.8.2.1 Riscos e Descofortos.....	60
4.8.2.2 Benefícios.....	60
4.8.2.3 Confidencialidade.....	60
4.8.2.4 Tamanho amostral.....	61
4.9 AVALIAÇÃO <i>IN VIVO</i> DA HIDRATAÇÃO CUTÂNEA.....	61
<b>4.9.1 Local do estudo.....</b>	<b>61</b>
<b>4.9.2 Tipo de estudo.....</b>	<b>61</b>
<b>4.9.3 População do estudo.....</b>	<b>62</b>
<b>4.9.4 Protocolo.....</b>	<b>62</b>

<b>4.9.5 Tamanho amostral.....</b>	<b>64</b>
<b>4.9.6 Instrumentos utilizados no ensaio.....</b>	<b>64</b>
4.9.6.1 Coleta de dados.....	64
4.9.6.2 Avaliação da hidratação da pele.....	64
<b>4.9.7 Riscos.....</b>	<b>65</b>
<b>4.9.8 Benefícios.....</b>	<b>66</b>
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS NOS ESTUDOS <i>IN VIVO</i> .....	66
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
5.1 PREPARO DOS EXTRATOS.....	67
5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS DO EXTRATO BRUTO DE <i>K. alvarezii</i> .....	67
5.3 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	70
<b>5.3.1 Atividade antioxidante dos extratos .....</b>	<b>70</b>
<b>5.3.2 Atividade antioxidante das formulações de sérums .....</b>	<b>74</b>
5.4 AVALIAÇÃO DOS TESTES <i>in vitro</i> EM CULTURA DE CÉLULAS .....	76
<b>5.4.1 Avaliação da segurança do extrato de <i>K. alvarezii</i> pela viabilidade celular.....</b>	<b>76</b>
<b>5.4.2 Citotoxicidade do gel fluido de <i>K. alvarezii</i>.....</b>	<b>77</b>
5.5 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS SÉRUNS.....	78
<b>5.5.1 Avaliação das características organolépticas dos sérums .....</b>	<b>79</b>
<b>5.5.2 Avaliação do comportamento reológico dos sérums .....</b>	<b>79</b>
<b>5.5.3 pH das formulações .....</b>	<b>83</b>
<b>5.5.4 Avaliação do ensaio microbiológico .....</b>	<b>84</b>
5.6 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS .....	86
5.7 AVALIAÇÃO DA FORÇA DE BIOADESÃO.....	87
5.8 ANÁLISE DA AVALIAÇÃO <i>IN VIVO</i> DA HIDRATAÇÃO CUTÂNEA.....	88
<b>5.8.1 Características dos participantes do estudo.....</b>	<b>89</b>
<b>5.8.2 Avaliação da hidratação da pele dos participantes com a aplicação dos sérums.....</b>	<b>93</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>98</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>99</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>107</b>
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre de Esclarecimento (TCLE).....	107

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre de Esclarecimento (TCLE).....	111
APÊNDICE C - QUESTIONÁRIO DE COLETA DE DADOS PARA UTILIZAÇÃO DE SÉRUM.....	114
APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO COM PARTICIPANTES SOBRE CARACTERÍSTICA E SENSORIAL DO SÉRUM HIDRATANTE APLICADO.....	116
<b>ANEXOS.....</b>	<b>118</b>
ANEXO A - Declaração da Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	118
ANEXO B - Resolução Nº 58, de 24 de fevereiro de 2023.....	119

# 1 INTRODUÇÃO

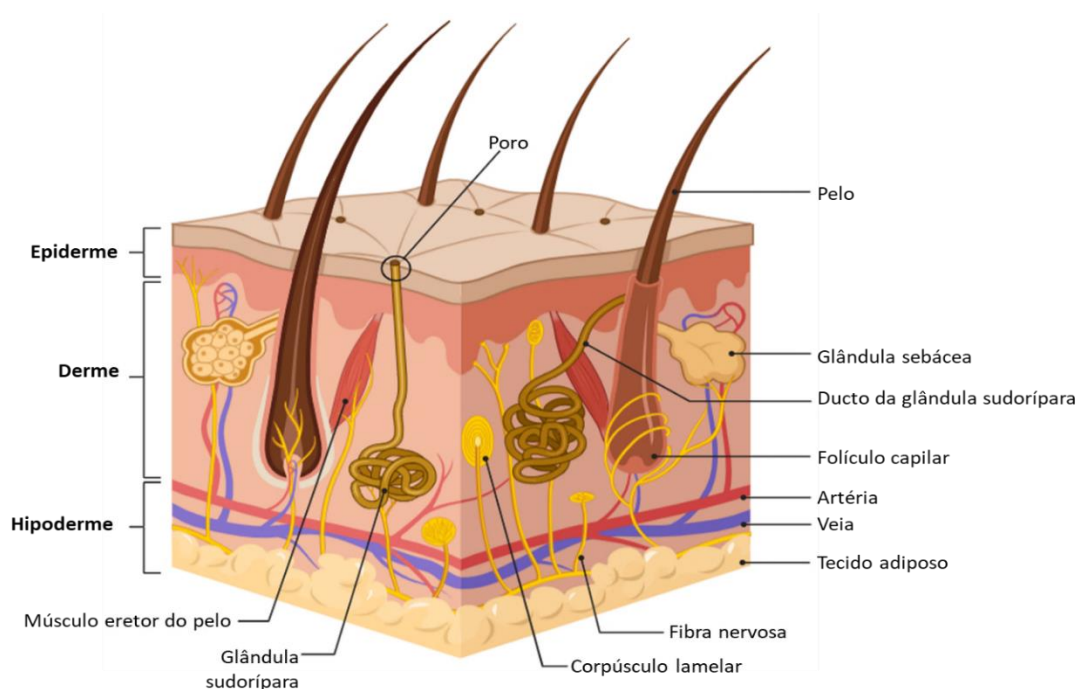
## 1.1 PELE

### 1.1.1 Anatomia da pele humana

A pele humana é o maior órgão do corpo humano. Ela possui uma área que se estende de 1,5 a 2 m<sup>2</sup>, aproximadamente, e sua principal função é estabelecer uma barreira protetora contra agentes externos (Kolimi *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2014). Também exerce funções como controle de homeostase, absorção e secreção de líquidos, metabolismo de vitamina D e proteção contra a perda de água e outras substâncias (Liu *et al.*, 2014; Menon, 2002), além de ser classificada em tipos, como pele normal, seca, oleosa e mista; e fototipos, do I ao VI, abrangendo a pele muito clara à negra (Harris, 2016).

A pele pode ser dividida em três camadas: epiderme (tecido mais externo), derme (tecido conectivo) e hipoderme (camada mais profunda) (Figura 1).

**Figura 1.** Representação esquemática da anatomia da pele humana organizada em três camadas: epiderme, derme e hipoderme e seus componentes.

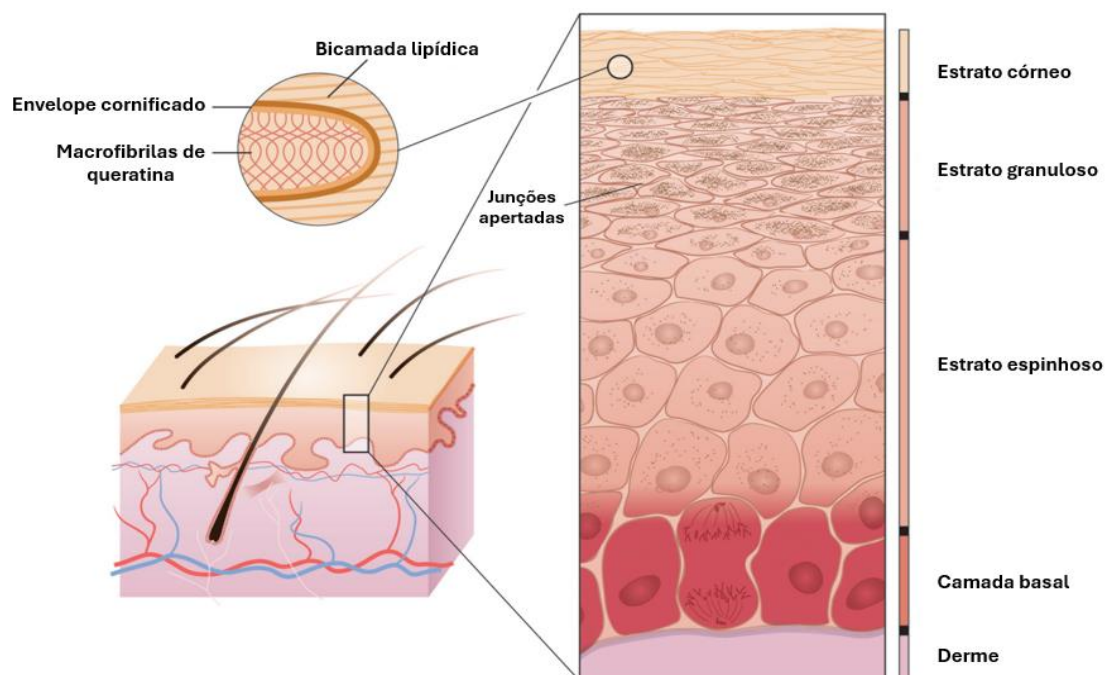


Fonte: Leikeim (2022).

A epiderme (Figura 2) é a primeira camada da pele, um epitélio em contínua renovação e de espessura variável (Lemos *et al.*, 2018). Sua principal função é proteger a pele, atuando como uma barreira protetora física, química e microbiana (Baroni *et al.*, 2012; Harris, 2016). Pode ser dividida em duas subcamadas: epiderme viável, que contém células nucleadas; e o estrato córneo, camada anucleada queratinizada (Borges *et al.*, 2017).

A epiderme viável é formada pelo estrato germinativo (camada basal), estrato espinhoso e estrato granuloso (Borges *et al.*, 2017). Em regiões onde a pele é mais espessa, como palma das mãos e planta dos pés está presente o estrato lúcido, uma camada intermediária entre o estrato córneo e o estrato granuloso (Figura 2). As células que compõem a epiderme viável, os queratinócitos, diferenciam-se de uma camada a outra e se queratinizam até formarem os corneócitos, células que compõem o estrato córneo (Baroni *et al.*, 2012), portanto, a queratinização das células é o início da maturação do estrato córneo (Harris, 2016). Os melanócitos, as células de Merkel e as células de Langerhans também estão presentes na epiderme viável (McGrath; Uitto, 2024).

**Figura 2.** Representação da estrutura da epiderme com ampliação do estrato córneo, mostrando a composição estrutural do estrato córneo.



Fonte: Segre (2006).

O estrato córneo é a camada mais externa da epiderme (Figura 2). Pode ser definido como um mosaico hexagonal de várias camadas, composto por intercalações dos corneócitos (“tijolos” hidrofílicos) e lipídios lamelares intercelulares (“cimento” hidrofóbico”) (Harris, 2016; Kolimi *et al.*, 2023). Sua função é de proteger do atrito, lesões mecânicas e neutralizar a perda de água e sais da pele, sendo responsável por manter a hidratação da pele, formando uma barreira de proteção natural contra a perda de água cutânea (Baroni *et al.*, 2012). Os corneócitos são células anucleadas e integradas por filamentos de queratina, esses filamentos são envoltos por um envelope proteico denominado de filagrina, formam um envelope cornificado que envolve os corneócitos. Cerca de 20% do estrato córneo é composto por água, uma parte significativa da qual está associada às moléculas higroscópicas ou compostos hidrossolúveis, chamados de fator de hidratação natural (FHN) ou *natural moisturizing factor* (NMF), componentes capazes de reter água, bem como os lipídios presentes na pele (Verdier-Sévrain; Bonté, 2007).

A derme é constituída por tecido conjuntivo, estando localizada abaixo da epiderme, é parcialmente responsável pela termorregulação, defesa imunológica e pelo suporte da rede vascular (Harris, 2016). Apresenta vasos sanguíneos e linfáticos onde permeiam as fibras de colágeno e elastina que compõem essa camada dando à pele tonicidade e elasticidade. O colágeno, produzido pelos fibroblastos, forma uma grande massa da matriz extracelular e representa cerca de 70 a 80% do peso seco da derme (Lemos *et al.*, 2018; Harris, 2016). A rede de elastina é responsável pela elasticidade e representa cerca de 2 a 4% da matriz extracelular. Anexos cutâneos, como glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas écrinas e apócrinas, além dos nervos que estão incorporados na derme. Também estão abrigadas as células do sistema imunológico, como linfócitos e macrófagos (Lemos *et al.*, 2018; Moser *et al.*, 2001). É dividida em duas camadas: derme papilar e reticular.

A hipoderme, camada mais profunda da pele, composta por tecido adiposo, é responsável por armazenar energia, funcionando como depósito nutricional, conferir proteção contra choques mecânicos (Chu, 2008), e ainda, está relacionada a função endócrina. Na hipoderme há dois principais tipos de células, os adipócitos e os fibroblastos. Os adipócitos são responsáveis pelo depósito de lipídios, enquanto os

fibroblastos são responsáveis pela produção de colágeno, elastina, ácido hialurônico, glicoproteínas e proteoglicanas (Harris, 2016).

### **1.1.2 Hidratação da pele**

Com o passar do tempo a pele vai envelhecendo e com isso, a renovação celular torna-se mais lenta, ocorre a diminuição da produção de colágeno e elastina, perda da capacidade de recuperação da ação dos radicais livres e diminuição no processo de hidratação da pele (Fries; Frasson, 2010).

A saúde da pele é influenciada pelo equilíbrio entre a renovação celular cutânea e o nível adequado de hidratação. A quantidade de água no estrato córneo e os lipídios da superfície da pele mantêm um equilíbrio essencial para sua aparência e função. Esses componentes, juntamente com as substâncias de retenção de umidade do filme hidrolipídico, atuam como uma barreira protetora contra o ambiente (Sator; Schmidt; Hönigsmann, 2003). Uma pele hidratada se apresenta suave ao toque, macia e uniforme, enquanto a pele desidratada se dá pelo baixo conteúdo de água na superfície cutânea, representando um estado temporário em que a pele pode se encontrar, diferente da pele seca que se caracteriza pela produção insuficiente de sebo (Maluf, 2021).

A manutenção do nível de hidratação da pele é atribuída à presença de lipídios secretados pelas glândulas sebáceas, à matriz lipídica intercelular, ao NMF, à presença de corneócitos ligados aos corneodesmosomos (Rawlings; Matts, 2005; Ribeiro, 2010). Quando esses lipídios são distribuídos sobre a camada córnea, eles formam um filme lipofílico composto por ácidos graxos, triglicerídeos, esqualeno e ceras, que dificulta a evaporação da água (Ribeiro, 2010). Essa formação é responsável pela propriedade de barreira da pele, que previne a perda de água do interior. Além disso, durante a formação da camada córnea, os corneócitos produzem e secretam para os espaços intercorneocitários uma quantidade de lipídios composta por ceramidas, colesterol e ácidos graxos. Estes lipídios se organizam em forma de lamelas que conectam os corneócitos, essas lamelas apresentam alternâncias de domínios lipofílicos e hidrofílicos, sendo que os hidrofílicos são capazes de ligar a água na camada córnea e assim, formar

uma barreira firme e eficaz contra a perda transepidérmica de água (TEWL) (Verdier-Sévrain; Bonté, 2007).

O NMF é formado por moléculas solúveis em água, de baixo peso molecular, e contribui para a hidratação do estrato córneo (Rawlings; Harding, 2004). Por possuir várias substâncias osmoticamente ativas, o NMF age como uma “esponja”, retendo água na camada córnea, e promovendo a manutenção da hidratação dentro do corneócito (Ribeiro, 2010). Os componentes higroscópicos do NMF atuam como eficientes agentes umectantes e estão presentes em concentrações elevadas nos corneócitos, representando de 20 a 30% do estrato córneo. A maior parte do NMF é composta por aminoácidos e seus derivados, como o ácido pirrolidona carboxílico (PCA) e o ácido urocânico, e outros componentes, como o ácido láctico, citrato e açúcares. Também constituem o NMF os lactatos e ureia, que se encontram externos aos corneócitos (Rawlings; Harding, 2004; Verdier-Sévrain; Bonté, 2007). A composição química do fator natural de hidratação é demonstrada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição química do fator natural de hidratação.

<b>Componentes</b>	<b>Composição (%)</b>
Aminoácidos livres	40
Ácido pirrolidona carboxílico	12
Lactato	12
Açúcares	8,5
Ureia	7
Cloreto	6
Sódio	5
Potássio	4
Amônia, ácido úrico, glucosamina, creatina	1,5
Cálcio	1,5
Magnésio	1,5
Fosfato	0,5
Citrato	0,5

Fonte: Rawlings; Harding (2004).

A hidratação por via tópica permite melhorar e manter o conteúdo de água, e seu mecanismo envolve a aplicação de produtos diretamente na pele. Cremes, loções, e sérums podem conter compostos propícios de permeação pela interação com o estrato

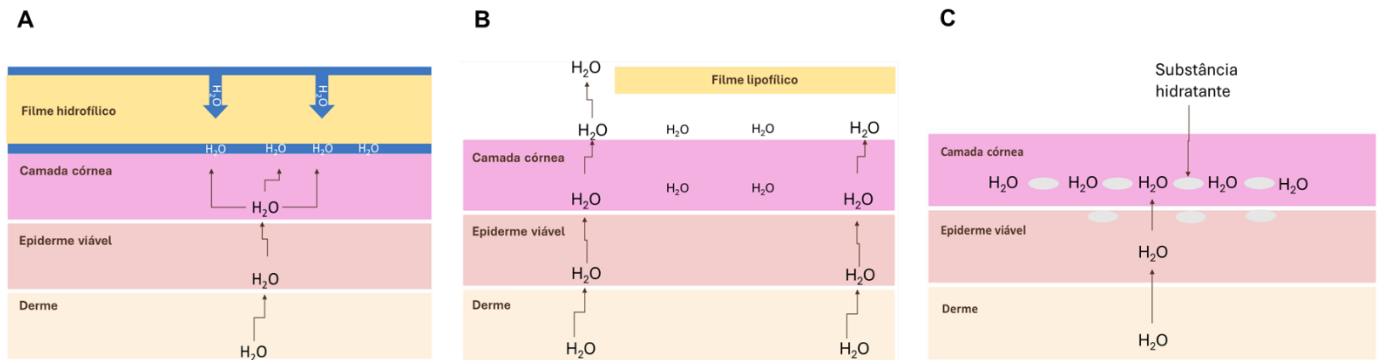
córneo (Amaral; Souza, 2019), dessa forma, produtos cosméticos podem atuar por meio de alguns mecanismos como umectação, oclusão e hidratação ativa.

No mecanismo de umectação (Figura 3A), os umectantes possuem a capacidade de atrair e reter água na pele, promovendo hidratação de dentro para fora e de fora para dentro (Hawlings; Canestrari; Dobkowski, 2004), ou seja, a retenção de água ocorre da formulação, da atmosfera e da água perdida pela camada córnea mais superficialmente (Gournay *et al.*, 2003). Existem alguns agentes conhecidos por suas propriedades umectantes, tais como os hidrolisados de proteínas animais e vegetais (Barba *et al.*, 2008), como a queratina; os polissacarídeos, incluindo o ácido hialurônico e alguns derivados de algas; além de vários glicóis, que possuem a capacidade de formar pontes de hidrogênio com a água (Ribeiro, 2010).

Cosméticos que agem pelo mecanismo de oclusão (Figura 3B) formam uma camada superficial que impedem a evaporação superficial de água, conhecida como perda transepidermica de água (Haroun, 2003; Flynn *et al.*, 2001). Isso resulta na retenção de água entre o filme graxo, lipofílico, do cosmético e a camada córnea da pele. Quanto mais afinidade a substância lipofílica tiver aos componentes da secreção sebácea, melhor é a ação. Alguns dos ativos que funcionam por oclusão incluem óleos vegetais, que são ricos em triglicerídeos de ácidos graxos insaturados; gorduras animais, que também são ricas em triglicerídeos; e o óleos minerais (Ribeiro, 2010).

Por fim, na hidratação ativa ou umectação ativa (Figura 3C), os ativos permeiam a camada córnea e retém água por toda a sua extensão, diminuindo a perda transepidermal de água, diferentemente do mecanismo de umectação, em que a maioria das substâncias não permeiam a camada córnea por conta do peso molecular (Ribeiro, 2010).

**Figura 3.** Representação esquemática dos diferentes mecanismos de hidratação da pele: (A) umectação, (B) oclusão e (C) hidratação ativa.



Fonte: Adaptado de Ribeiro (2010).

### 1.1.3 Antioxidantes para proteção da pele

As células da pele enfrentam uma batalha constante contra os radicais livres. Essas moléculas são caracterizadas por elétrons altamente instáveis e reativos e podem ser geradas como subprodutos do metabolismo celular ou em resposta à fatores exógenos, como poluição ambiental, ingestão de alimentos com resíduos de pesticidas ou aditivos químicos, exposição à radiação ultravioleta, uso de cigarro e álcool, estresse e até mesmo atividades físicas intensas (Michalak, 2022; Signorini, 2017).

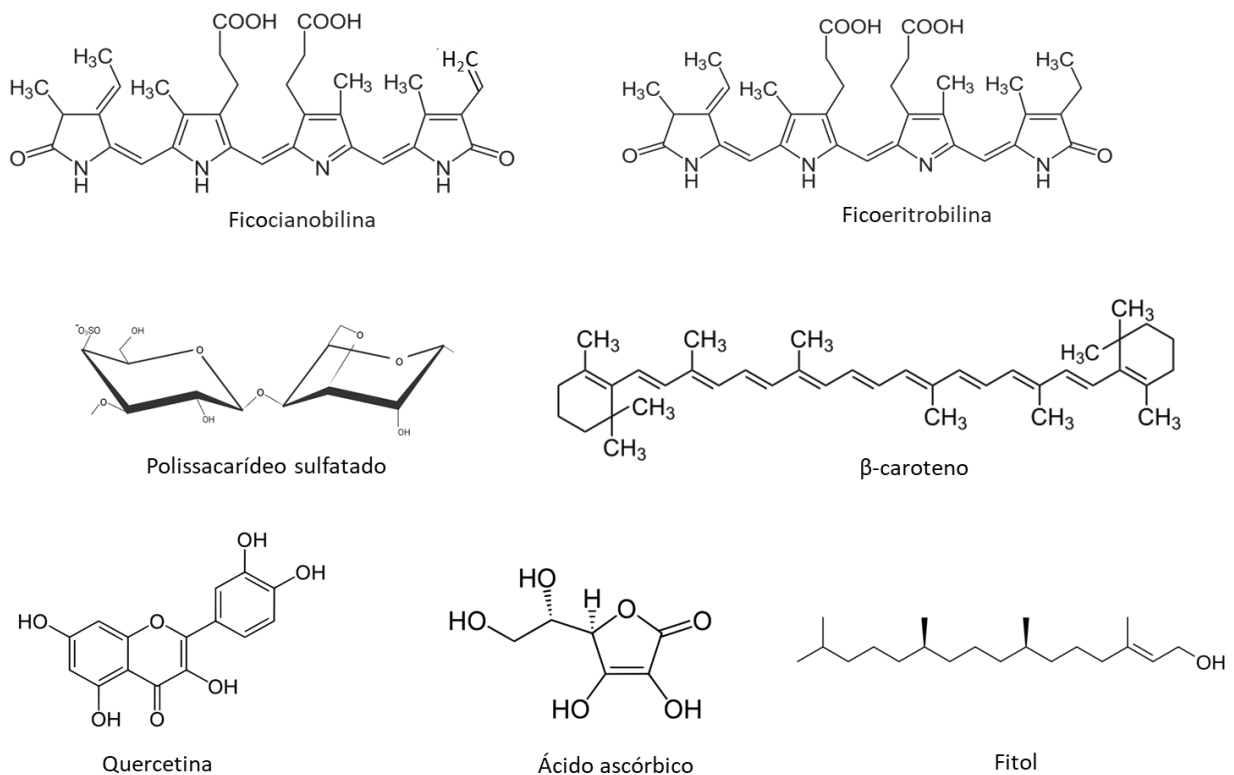
Os antioxidantes desempenham um papel fundamental na proteção da pele. Esses compostos podem eliminar o dano molecular causado por espécies reativas geradas pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas e restaurar a estrutura celular, agindo na prevenção e reparação da pele (Bianchi; Antunes, 1999). Podem ser classificados de acordo com sua estrutura química, solubilidade, podem ser solúveis em água (hidrofílicos) ou em gordura (lipofílicos), e a cinética das reações. Além disso, antioxidantes podem ser enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) (Michalak, 2022); e não-enzimáticos, como glutathione (GSH), carotenoides, compostos fenólicos, vitamina C (ácido ascórbico) e vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) (Michalak, 2022; Sies; Stahl, 1995).

Durante o estresse oxidativo, as espécies reativas de oxigênio (ERO), caracterizadas por superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) e radical hidroxila ( $\cdot HO$ ) são geradas em grandes quantidades (Gonçalves; Da

Silva; 2010), e embora a pele possua mecanismos de defesa contra radicais livres, quando em excesso, e na ausência de mecanismos antioxidantes eficazes, essas espécies podem danificar a pele de várias maneiras, incluindo a destruição dos componentes lipídicos do sebo e das ceramidas que compõem o cimento intercelular do estrato córneo, bem como pela oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados dos fosfolipídios presentes na membrana celular e contribuição para a degradação dos melanócitos, resultando em lesão oxidativa de lipídios, proteínas e DNA; inflamações cutâneas; câncer de pele, como melanoma e envelhecimento prematuro da pele (Michalak, 2022).

Diante disso, muitos ativos antioxidantes foram sendo estudados como forma de amenizar ou eliminar os danos causados pelas espécies reativas. Em formulações cosméticas, as preocupações quanto à segurança de antioxidantes químicos sintéticos têm impulsionado a busca por alternativas e o uso de compostos naturais com propriedades antioxidantes. Em pesquisas realizadas, foi possível verificar que, algas marinhas podem ser consideradas uma fonte de compostos antioxidantes naturais, com propriedades antirradicais e redutoras comprovadas (López-Hortas *et al.*, 2021). Ensaio de variados métodos antioxidantes foram realizados com algumas espécies de algas marinhas e demonstraram respostas satisfatórias quanto a sua atividade antioxidante (Rocha *et al.*, 2007). Compostos como, carotenoides, ácido ascórbico, quercetina, ficobilinas, fitol, polissacarídeo sulfatado, entre outros (Figura 4) apresentaram potencial antioxidante e estão presentes em algumas espécies de algas marinhas (Kanatt, 2023; Murugan<sup>a</sup> *et al.*, 2023; Desai; Kumar, 2023).

**Figura 4.** Compostos com atividade antioxidante presentes em espécies de algas marinhas.



Fonte: Autoria própria.

## 1.2 COSMÉTICOS

Os cuidados com a saúde e a higiene pessoal remontam às primeiras civilizações humanas, onde há relatos do uso de cosméticos que datam mais de 10.000 anos a.C. Acredita-se que os egípcios foram os pioneiros no uso de cosméticos, desenvolvendo produtos tanto para embelezamento quanto para proteção da pele, além de práticas de higiene que influenciaram culturas ao longo da história (Chaudhri; Jain, 2009).

A palavra “cosmético” deriva da palavra grega *kosmetikós*, que significa “o que serve para ornamentar” (Galembeck; Csordas, s.d). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas para uso externo nas diversas partes do corpo humano – pele, lábios, sistema capilar, unhas, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral – com o objetivo exclusivo ou

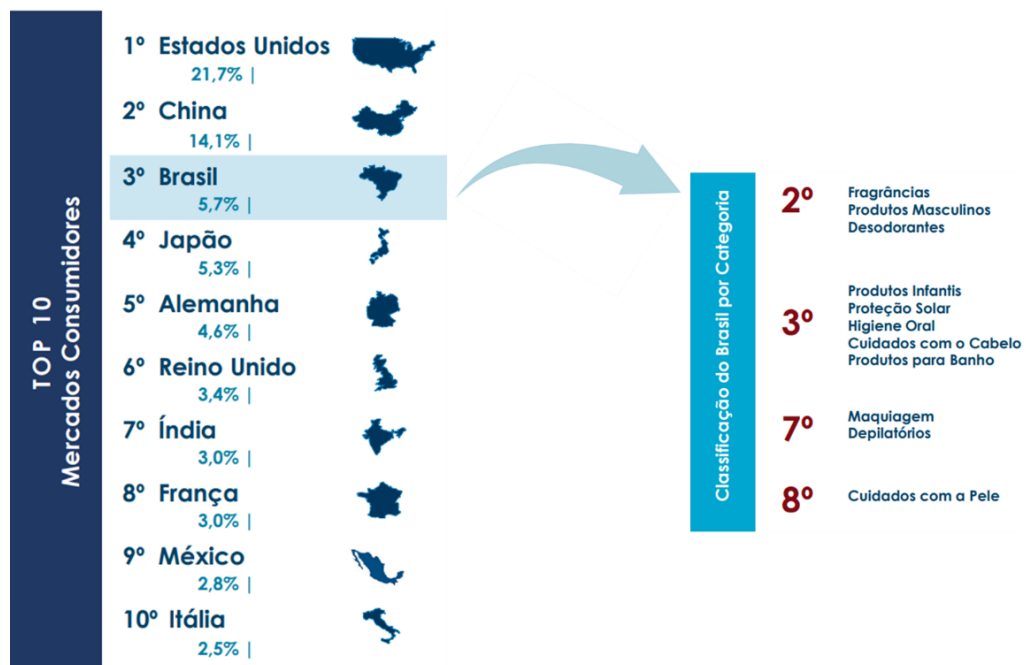
principal de limpar, perfumar, alterar a aparência e ou corrigir odores corporais e ou proteger ou manter em bom estado (Anvisa, 2022, Art.3º).

Com o crescimento do mercado da beleza, a variedade de produtos, linhas de tratamentos e ativos de alta tecnologia expandiu significativamente, trazendo consigo o surgimento de variados termos, como “cosméticos multifuncionais” que, atualmente, cedeu espaço para os chamados “cosmecêuticos” ou “dermocosméticos”, além dos nutricosméticos. Os cosmecêuticos são classificados como produtos que oferecem uma combinação de benefícios de um cosmético com um produto farmacêutico, enquanto os nutricosméticos são produtos de administração oral, formulados e comercializados com o propósito específico de promover a beleza, visando melhorar a saúde da pele, cabelos e unhas "de dentro para fora" (Rebello, 2017). Apesar de serem usados para fins comerciais, os termos “cosmecêutico” e “nutricosmético” não possuem uma regulamentação específica. A regulamentação de produtos no Brasil é conduzida pela Anvisa, que define as normas e critérios para a fabricação, comercialização e uso de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, com o objetivo de garantir a segurança e a eficácia para os consumidores. Além disso, a Anvisa estabelece requisitos de rotulagem, boas práticas de fabricação e a necessidade de autorização prévia para a comercialização de certos produtos (Aun; Henrique, 2023). Assim sendo, a Anvisa classifica produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfume em grau 1 ou 2. Produtos de grau 1 caracterizam-se por possuírem propriedades básicas ou elementares, as quais não exigem comprovação prévia de eficácia e não necessitam de informações detalhadas sobre seu modo de uso, restrições e cuidados, enquanto produtos de grau 2 abrangem produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes que possuem indicações específicas, cujas características demandam comprovação de segurança e/ou eficácia, além de informações detalhadas sobre modo, restrições de uso e cuidados (Anvisa, 2022).

### 1.2.1 Mercado consumidor de cosméticos no Brasil

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), o Brasil é o 3º maior mercado consumidor de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes (HPPC) do mundo e o 3º mercado no *ranking* mundial de países que mais lançam produtos anualmente, com destaque para a categoria de fragrâncias, produtos masculinos e desodorantes, como produtos mais consumidos (Abihpec, 2024) (Figura 5). Atualmente, o panorama não se restringe apenas ao consumo feminino de cosméticos, mas também envolve uma crescente participação masculina. O uso de cosméticos tanto por mulheres quanto por homens, tem se tornado uma prática cada vez mais comum e diversificada. Tradicionalmente associados ao público feminino, os produtos de beleza e cuidados pessoais expandiram seu alcance, e hoje o mercado masculino apresenta um crescimento significativo. Essa mudança reflete um comportamento mais consciente em relação ao autocuidado e à valorização da aparência, independentemente do gênero, destacando o papel dos cosméticos na promoção do bem-estar e da confiança pessoal (Caldeira; Isaac, 2020).

**Figura 5.** *Ranking* do mercado consumidor de produtos HPPC no mundo, com destaque para o Brasil, no ano de 2023.



Fonte: Adaptado de ABIHPEC (2024).

### 1.2.2 Sérums

Atualmente, com a diversidade de ingredientes, permite-se o desenvolvimento de formulações tópicas com maiores benefícios para os consumidores. Nesse cenário, utiliza-se de maneira adequada uma variedade de formas cosméticas, visando atender a um público cada vez mais exigente e ávido por inovações. A definição da forma cosmética, como cremes, géis, loções ou sérums é feita logo no início do processo de concepção do produto, uma vez que influencia diretamente a eficácia, a aplicação e a experiência do usuário, tornando-se um fator chave no desenvolvimento de novos cosméticos (Campos; Mercúrio, 2014).

Com a inovação do mercado e novas tecnologias, produtos cosméticos focados em tratamentos para a pele ganharam destaque, como por exemplo, o sérum. Uma forma cosmética que pode ser caracterizada com textura fluida, não oleosa, podendo apresentar uma alta concentração de ativos na formulação e aplicação para diversas finalidades (Rebello, 2017). Sérums à base de ácido hialurônico, por exemplo, são utilizados para hidratação, ajudando na retenção de umidade da pele; sérums antioxidantes são utilizados para reduzir manchas e combater os danos causados pelos radicais livres. Para tratar rugas e linhas finas, os sérums com retinol são bem recomendados, pois estimulam a renovação celular e aumentam a produção de colágeno. Cada tipo de sérum oferece um benefício específico, permitindo personalizar uma rotina de cuidados para atender às necessidades individuais de cada pele.

De modo geral, os sérums possuem fácil absorção e podem ser aplicados com manobras de massagem na região da pele selecionada para a aplicação.

### 1.3 ALGAS MARINHAS

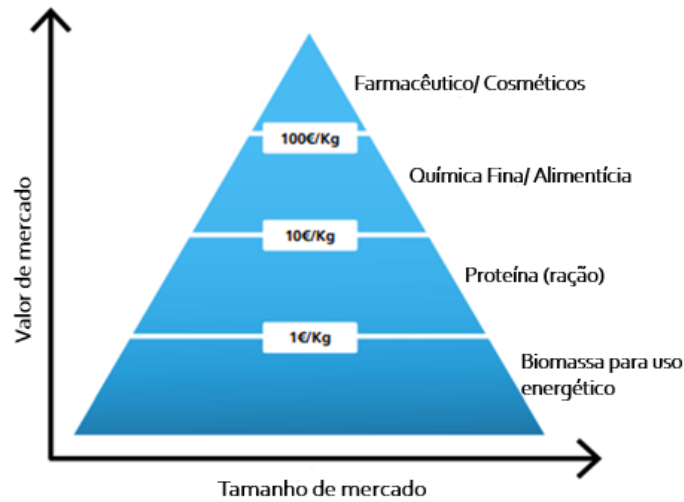
As algas marinhas, também chamadas de macroalgas marinhas, são organismos eucarióticos fotossintéticos multicelulares (Kalasariya *et al.*, 2021), que possuem o potencial de produzir inúmeros compostos, dentre eles, os metabólitos primários, como proteínas, aminoácidos, ácidos graxos e polissacarídeos; metabólitos secundários, como compostos fenólicos e os pigmentos (Kalasariya *et al.*, 2021; García-Poza *et al.*, 2020).

Presente nas áreas nutracêuticas, farmacêuticas e cosméticas, as algas marinhas mostraram atividades antidiabéticas, anticancerígenas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antienvelhecimento, entre outras, potencialmente favoráveis ao corpo e à pele (García-Poza *et al.*, 2020). Essas algas podem ser classificadas em três grupos com base nos pigmentos fotossintéticos: algas verdes ou clorófitas (Chlorophyta), algas vermelhas ou rodófitas (Rhodophyta) e algas marrons ou cromófitas (Ochrophyta), sendo as algas marrons pertencentes ao reino Chromista, e as algas verdes e vermelhas pertencentes ao reino Plantae (Kalasariya *et al.*, 2021; Bicudo; Menezes, 2010).

Os polissacarídeos presentes nas macroalgas são compostos de grande relevância, com atividades biológicas benéficas também para a pele (Kalasariya *et al.*, 2021). Há variados tipos de polissacarídeos encontrados em algas marinhas: em algas marrons encontram-se os alginatos, os fucoidanos e os laminaranos; em algas verdes as ulvanas e em algas vermelhas encontram-se o ágar e a carragena, os compostos mais explorados nesse tipo de alga. Em suma, os polissacarídeos possuem propriedades biofuncionais e são específicos para cada tipo de alga (López-Hortas *et al.*, 2021).

As algas marinhas possuem propriedades funcionais e inúmeros benefícios que impulsionam o mercado comercial de algas. Seu mercado é segmentado por tipo de produto (algas vermelhas, marrons e verdes); aplicação (alimentos, bebidas, produtos farmacêuticos, cosméticos, biofertilizantes e biocombustíveis); e geografia (América do Norte, América do Sul, Europa, Ásia, Oriente Médio e África). Atualmente, a Ásia-Pacífico tem o maior mercado de algas marinhas comerciais. Em 2023, o tamanho do mercado foi estimado em US\$ 17,65 bilhões, com estimativas de US\$ 19,09 bilhões para o ano de 2024, podendo atingir US\$ 28,29 bilhões em 2029. (Mordor Intelligence, 2024). A Figura 6 mostra o esquema de pirâmide do tamanho e valor de mercado de produtos de algas marinhas relacionado ao segmento industrial.

**Figura 6.** Esquema de pirâmide dos mercados de produtos de algas marinhas.



Fonte: Hurtado (2022).

### 1.3.1 Algas vermelhas

A *Kappaphycus alvarezii* pertence ao grupo das algas vermelhas. Elas correspondem ao maior grupo de algas marinhas, possuindo cerca de 6000 espécies distintas presentes em regiões equatoriais e com mais de 1600 compostos, retratando a maior parte de compostos bioativos (Carpena *et al.*, 2022). A coloração dessas algas é devido a presença da combinação dos pigmentos clorofila *a* e *d*, carotenoides e ficobilinas (Carpena *et al.*, 2022), como corantes naturais, sua utilização se estende da indústria alimentícia, sendo usados em refrigerantes e goma de mascar, por exemplo, à indústria cosmética, muito utilizados em batons e delineadores (García-Poza *et al.*, 2020).

### 1.4 *Kappaphycus alvarezii*

A *K. alvarezii* se origina de países asiáticos, mais especificamente do sudeste asiático (Limaco, 2018; Neves, 2018). Essa espécie (Figura 7) cresce em uma temperatura entre 20 e 32 °C, é de habitat versátil e preferencialmente encontra-se em águas rasas, claras e limpas (Hargreaves, 2013). Em sua morfologia, o talo é multiaxial parenquimatoso e bem ramificado, a medula é formada por células grandes e arredondadas, as paredes celulares são grossas e com variantes referentes às

colorações, apresentando tonalidades no vermelho, amarelo, castanho e até verde (Limaco, 2018; Hargreaves, 2013) (Figura 8), o que deixa claro que sua classificação como alga vermelha (Rhodophyta) não tem a ver com a sua cor (Barba, 2024).

**Figura 7.** Alga fresca da espécie *K. alvarezii*.



Fonte: Algastech (2024).

A *K. alvarezii* é também fonte de minerais como potássio, sódio, magnésio cálcio, zinco e ferro (Wanyonyi *et al.*, 2017; Fayaz *et al.*, 2005), vitaminas A ( $\beta$ -caroteno, B3 (niacina) e C (ácido ascórbico) (Rajasulochana; Krishnamoorthy; Dhamotharan, 2013), rica em fibras, carboidratos, proteínas e ácidos graxos (Fayaz *et al.*, 2005), além de possuir uma série de fenóis bioativos como os bromofenóis (Cherian; Vennila; sharan, 2019) e flavonoides (Papitha, 2020), com atividade anticancerígena para o câncer de mama (Chang; Okechukwu; Teo, 2017; Baskararaj *et al.*, 2020), atividade anti-inflamatória contra mucosite induzida por quimioterapia (Zhang<sup>a</sup> *et al.*, 2022; Zhang<sup>b</sup> *et al.*, 2022) e atividade antibacteriana (Cherian; Vennila; Sharan, 2019). Esta grande variedade de metabólitos bioativos denota o seu potencial para triagem de produtos naturais ou seus derivados com atividade terapêutica, frequentemente diferentes daqueles encontrados em organismos terrestres, e desta forma com potencial inovador para o desenvolvimento de produtos para aplicação em diversas áreas. Entretanto, a biomassa obtida em cultivos comerciais tem sido pouco explorada para esta finalidade e o foco na obtenção de carragena (Rupert *et al.*, 2022) e bioestimulantes (Karthikeyan;

Shanmugam, 2017) pode estar deixando uma grande quantidade de biomassa subvalorizada.

**Figura 8.** Espécie *K. alvarezii* em suas variações de tonalidades: vermelha (A), amarela (B), parda (C) e verde (D).



Fonte: Algastech (2024).

#### 1.4.1 Cultivo da *Kappaphycus alvarezii*

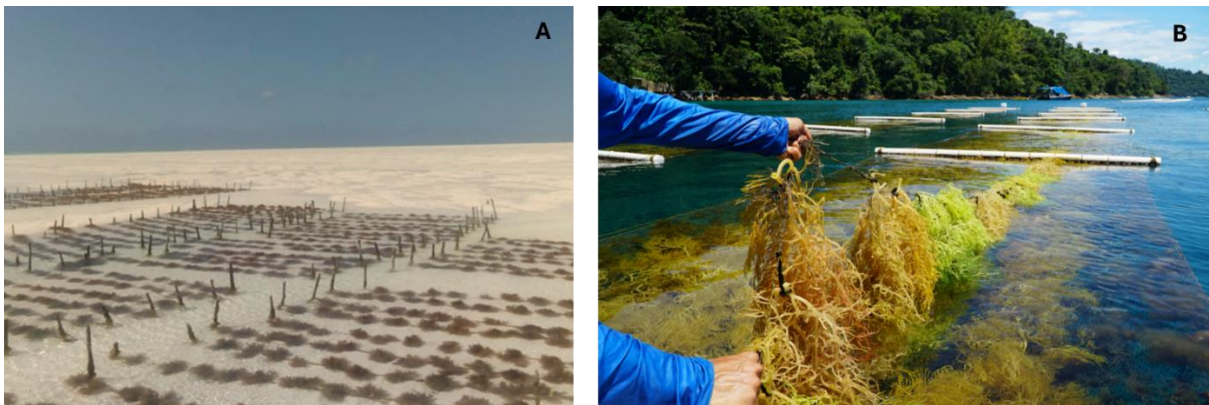
A *K. alvarezii* chegou na América em 1994 (Barba, 2024). Seu cultivo comercial teve origem nas Filipinas na década de 1960 e, desde então, países como África do Sul, Fiji, Havai, Indonésia, Japão, Kiribati e Tanzânia cultivam essa espécie em escala industrial (Papitha *et al.*, 2020).

Segundos dados da FAO (2020), em 2018, a *K. alvarezii* foi a sexta alga mais produzida mundialmente, com mais de 1,5 milhões de toneladas, sendo que a extração de carragena pode ser considerada como um impulsionador do aumento da produção de algas marinhas.

No Brasil, em 1995, visando atender à crescente demanda do mercado em carragena, a espécie foi inicialmente introduzida em Ubatuba, São Paulo, e logo depois, em 1998, o cultivo da *K. alvarezii* foi introduzido na Ilha Grande, litoral sul do Estado do Rio de Janeiro, com a finalidade para estudos de ecologia e cultivo experimental. Em 2002, se iniciou o primeiro cultivo em grande escala e, em 2021, por intermédio do IBAMA, obteve a primeira concessão de área específica para o cultivo de *K. alvarezii* (Sepulveda, 2022) que hoje se estende pelo Rio de Janeiro, em regiões como Paraty Mirim. Recentemente, o cultivo da alga foi autorizado nos estados de São Paulo e Santa Catarina, com andamento para estendê-lo à região Nordeste (Barba, 2024).

O método de cultivo das macroalgas, especificamente o da *K. alvarezii* pode variar. O mais tradicional é o cultivo em estruturas fixas (Figura 9A), onde como o nome sugere, as algas permanecem de forma fixas em estruturas. No entanto, atualmente, há uma preferência crescente pelo uso de estruturas flutuantes, pois este método reduz o impacto da turbulência da água sobre as algas (Figura 9B) (Algastech, 2024).

**Figura 9.** Método de cultivo de *K. alvarezii* em estruturas fixas e flutuantes.



Fonte: Algastech (2024).

No Brasil, existem órgãos responsáveis pela autorização do cultivo de algas marinhas: Marinha do Brasil, Ministério da Pesca e Agricultura, Prefeitura e Secretaria do Patrimônio da União (Barba, 2024). Para a instalação do cultivo da alga, alguns parâmetros devem ser seguidos, como: temperatura da água do mar acima de 20°C durante todo o ano; zonas protegidas do embate de ondas fortes; salinidade acima de 25 ppt; profundidade máxima de 20 metros e áreas livres do tráfego de embarcações e turismo (Sepulveda, 2022).

#### 1.4.2 Carragena

A carragena possui a capacidade de formar géis elásticos em soluções aquosas e essa propriedade a coloca entre os principais hidrocoloides utilizados nas indústrias, onde desempenham papéis essenciais em uma variedade de aplicações, incluindo a estabilização de emulsões, espessamento de produtos alimentícios e a melhoria da textura e consistência de produtos (Lima *et al.*, 2013).

Os hidrocoloides podem ser classificados como polissacarídeos, polímeros de cadeias longas e de elevado peso molecular, que se dispersam em água, desempenhando papel fundamental na alteração das propriedades físicas de sistemas aquosos, são utilizados em uma variedade de setores industriais e para uma gama de funções (Almeida, 2016). A maioria dos géis hidrocoloides podem ser caracterizados como viscoelásticos e termorreversíveis, como um líquido viscoso que após resfriamento se apresentam como um gel, mantendo mobilidade, e permanecendo estáveis às temperaturas relativamente altas (BeMiller, 2008; Carvalho, 2000). Neste contexto, uma das características mecânicas do gel está em sua habilidade de se deformar plasticamente, permitindo certa mobilidade sem comprometer sua integridade estrutural. Essa propriedade é crucial para a funcionalidade do gel em aplicações diversas, uma vez que viabiliza a adaptação do material a diferentes condições, mantendo sua coesão sem que ocorra ruptura (Carvalho, 2000). As propriedades dos géis formados a partir dos hidrocoloides podem conter variações nas características, como exemplificado na Tabela 2.

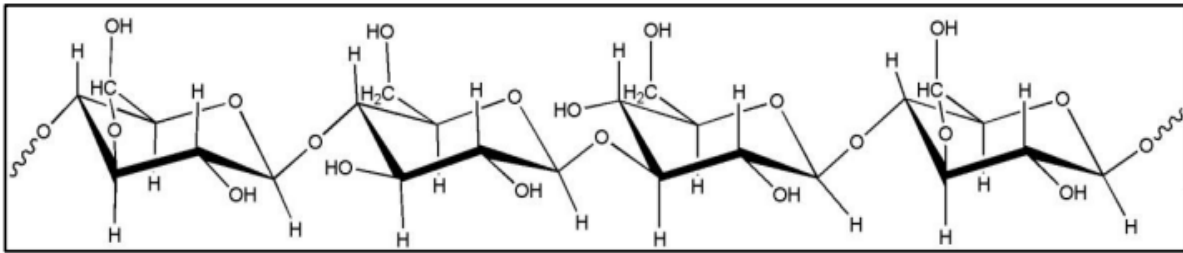
**Tabela 2.** Características de géis elaborados com hidrocoloide.

<b>Característica</b>	<b>Tipos</b>
Textura	Frágil, elástico, plástico, emborrachado, resistente.
Força do gel	Rígido, firme, macio, mole, espalhável, derramável.
Grau de sinérese	Alto ou pode não conter sinérese.
Reversibilidade	Reversível através de aquecimento, resfriamento ou cisalhamento irreversível.

Fonte: Adaptado de BeMiller (2008).

A carragena encontrada na *K. alvarezii*, localiza-se na parede celular das algas e é formada por unidades alternadas de D-galactopinanose ou D-galactose e 3,6-anidro-D-galactose ligadas em  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) e  $\beta$  (1  $\rightarrow$  3) (Figura 10). Há diferentes tipos de carragenas e os tipos são definidos por meio da posição do grupo éster sulfato em carbono (Carpena *et al.*, 2022; García-Poza *et al.*, 2020; Rupert *et al.*, 2022).

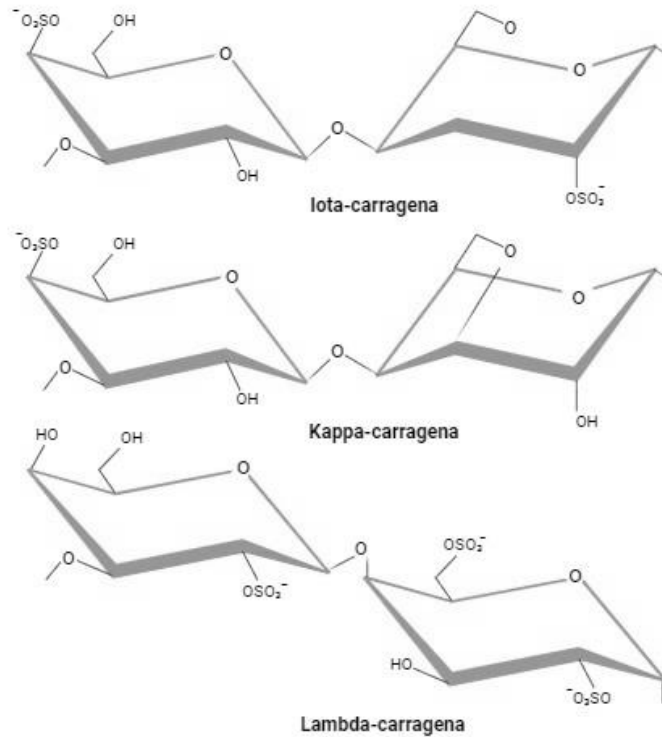
**Figura 10.** Estrutura básica das carragenas.



Fonte: Hargreaves (2013).

A maior parte da carragena utilizada industrialmente é obtida da aquicultura de *K. alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), contribuindo com mais de 90% da produção total. A carragena possui um amplo uso na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética, gráfica e têxtil (Rupert *et al.*, 2022). Segundo Pangestuti, Shin e Kim (2021, p.10) 20% da produção de carragena é utilizada em produtos farmacêuticos e cosméticos, isto ocorre por suas propriedades emulsificantes, espessantes, estabilizantes de sistemas e gelificantes. A carragena também possui capacidade de reter água e formar filmes, podendo ser utilizada como hidratante (Dolorosa *et al.*, 2020). Além destas aplicações, as carragenas também são exploradas como agentes antioxidante, antibacteriano, antiviral, antitumoral, anticoagulante, anti-hiperlipidêmico e imunomodulador (Jesus Raposo; Morais; Morais, 2015). As carragenas podem ser divididas em três principais tipos: iota ( $\iota$ )-, lambda ( $\lambda$ )- e kappa ( $\kappa$ )-carragena. A Figura 11 apresenta as estruturas químicas dos tipos de carragenas.

**Figura 11.** Estruturas químicas dos tipos de carragenas (iota, kappa e lambda).



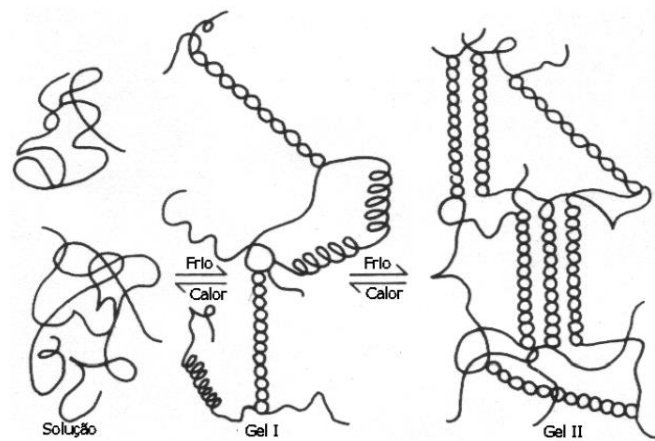
Fonte: Autoria própria.

As carragenas são solúveis em água quente, acima da temperatura de fusão do gel que se encontra entre 40 e 70 °C. Os diferentes tipos de carragenas apresentam propriedades espessantes e gelificantes distintos. A kappa-carragena origina géis firmes e quebradiços com sinérese, e exibe baixa viscosidade nos sistemas em que é aplicada. A iota-carragena interage com íons de cálcio, originando géis macios e elásticos, sem sinérese e com boa resistência à ciclos de congelamento e descongelamento. Já a lambda-carragena é solúvel em água e não forma géis, somente atribui alta viscosidade nos sistemas em que é aplicada (Webber, 2010).

Os géis de carragena apresentam-se comumente como translúcidos e inodoros, sendo que suas incorporações normalmente não alteram o sabor e a coloração dos produtos. Em relação ao processo de gelificação (Figura 12) sugere-se que, em temperaturas elevadas, as carragenas se mantêm na forma de novelos aleatórios e, ao resfriarem, adotam uma conformação em dupla hélice. Esse fenômeno resulta na formação de pequenos domínios independentes, envolvendo um número limitado de

cadeias por meio de associação intermolecular. No entanto, quando cátions são incorporados, diferentes domínios possibilitam a ligação cruzada das hélices a longas distâncias, formando uma rede coesiva e uma estrutura quaternária. Essa estrutura contribui para as propriedades reológicas, mecânicas e de textura dos géis (Lima *et al.*, 2013; Genu, 2001).

**Figura 12.** Representação esquemática da gelificação das carragenas. Forma de novelos aleatórios, dupla hélice e estrutura quaternária.



Fonte: Genu® (2001).

## 2 HIPÓTESE

Considerando as diversas atividades biológicas da espécie *Kappaphycus alvarezii*, a presente Dissertação avaliou a seguinte hipótese: a macroalga *K. alvarezii* possui ação antioxidante, além de poder auxiliar na hidratação do estrato córneo pela presença da carragena.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo geral desenvolver e caracterizar uma formulação cosmética de sérum, utilizando a macroalga *Kappaphycus alvarezii* e investigar sua efetividade na hidratação da pele.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar as formulações de sérums à base de gel fluido da *K. alvarezii* e a formulação controle;
- Avaliar, *in vitro*, a citotoxicidade do extrato em gel fluido da *K. alvarezii*;
- Avaliar, *in vitro*, a viabilidade celular na presença do extrato hidroetanólico de *K. alvarezii*;
- Identificar os componentes presentes no extrato da alga;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato hidroetanólico de *K. alvarezii* e da formulação contendo o extrato;
- Avaliar as características organolépticas e reológicas das formulações em função do tempo de armazenamento;
- Determinar e avaliar as propriedades mecânicas e bioadesivas das formulações;
- Avaliar em ensaio *in vivo*, em humanos, a influência da formulação contendo gel da *K. alvarezii* no efeito hidratação na pele.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

Os extratos e o géis foram produzidos utilizando amostras de algas obtidas de fazendas marinhas de *Kappaphycus alvarezii*, localizadas na cidade de Paraty, Rio de Janeiro (23°13'39.6" S 44°37'25.6" O), com amostras separadas para produção de exsiccatas. As amostras foram identificadas e registradas no herbário do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo sob o número de identificação SPF - Algae 58673 e cedidas pela empresa Algastech®.

#### 4.1.1 Preparo do extrato liofilizado de *Kappaphycus alvarezii*

A produção dos extratos a partir do material vegetal da *K. alvarezii* foi realizada pelo método de maceração. Este método extrativo consiste em uma técnica na qual parte do material vegetal utilizado e o líquido extrator, solvente, são colocados em um recipiente fechado, durante um período prolongado, sob agitação ocasional e em temperatura ambiente (Groeler, 2020). O método possibilita a extração das substâncias ativas presentes na matéria-prima, como por exemplo, os metabólitos secundários. Foram preparadas amostras de extratos com algas frescas e secas:

- Preparo do extrato com algas frescas: foram seguidas as seguintes etapas: (1) as algas *in natura* lavadas e já tratadas foram trituradas com nitrogênio líquido; (2) 10 g da alga triturada foi diluída em solução hidroetanólica (5:95); (3) a amostra foi submetida ao processo de maceração por 72 h sob agitação em shaker; (4) a amostra foi filtrada e rotaevaporada. (5) após o processo de evaporação rotativa, a amostra foi liofilizada para obtenção do extrato em pó e armazenada em frasco protegido da luz à 3 °C.
- Preparo do extrato com algas secas: as algas já fornecidas secas (passaram por processo de secagem sob exposição solar), foram trituradas em moinho de facas, para uma melhor granulometria e diluídas em solução hidroetanólica (5:95). Os demais processos seguiram o mesmo procedimento do preparo do extrato com algas frescas.

#### 4.1.2 Preparo do gel de *Kappaphycus alvarezii*

Para a preparação do gel, a alga seca já triturada foi pesada e adicionada em água autoclavada. A mistura foi agitada e aquecida em agitador magnético, com aquecimento a cerca de 75 °C para a formação do gel e então, foi realizada a filtração.

### 4.2 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRESENTES NO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA ALGA *Kappaphycus alvarezii*

#### 4.2.1 Análise do extrato bruto de *K. alvarezii* por HS-SPME-GC-MS

Foram realizadas análises da composição química do extrato bruto de *K. alvarezii*, através da técnica de HS-SPME-GC-MS, utilizando duas fibras de SPME Supelco (Supelco park, Bellefonte, PA, EUA) de polaridades diferentes, polidimetilsiloxano/ divinilbenzeno (PDMS/DVB) com polaridade média e polidimetilsiloxano (PDMS) com polaridade baixa. Para tanto, antes de iniciar as análises, ambas as fibras foram condicionadas de acordo com o manual de instrução do fabricante (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

##### 4.2.1.1 Análise utilizando a fibra PDMS (Ka<sub>1</sub>)

Para a análise utilizando a fibra PDMS (Ka<sub>1</sub>), 1 g do extrato bruto de *K. alvarezii* foi adicionado em um vial para headspace, selado com tampa de aço inoxidável com septo de politetrafluoretileno (PTFE)/silicone, com a exposição da fibra no headspace em 60°C (15 minutos) e tempo de dessorção de 6 minutos. Para a análise cromatográfica, utilizou-se aparelho Varian 3900 com detector seletivo de massa, modelo Saturn 2100T. As condições de análise foram: coluna capilar: 5%-phenyl-95%-dimethylpolysiloxane Varian Factor Four (VF-5 ms; Varian, Middelburg, The Netherlands), Temperatura do injetor: 250 °C; Temperatura do detector: 180 °C; Impacto de Elétrons: 70 eV; Gás de arraste: He; Fluxo: 1,0 mL/min; Split: 1/20; Programa de Temperatura: 60°C (3 minutos);

60 °C – 240°C, 3°C/minuto. A análise foi realizada em modo SCAN, com intervalo de aquisição de massas de 40-650 m/z.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 lib.). Foram identificados os compostos que apresentaram probabilidade igual ou maior a 90%.

#### 4.2.1.2 Análise utilizando a fibra PDMS/DVB (Ka<sub>2</sub>)

Para a análise utilizando a fibra PDMS/DVB (**Ka<sub>2</sub>**), 1 g do extrato bruto de *K. alvarezii* foi adicionado em um vial para headspace, selado com tampa de aço inoxidável com septo de politetrafluoretileno (PTFE)/silicone, com a exposição da fibra no headspace em 60°C (15 minuto) e tempo de dessorção de 6 minutos. Para a análise cromatográfica, utilizou-se aparelho Varian 3900 com detector seletivo de massa, modelo Saturn 2100T. As condições de análise foram: coluna capilar: 5%-phenyl-95%-dimethylpolysiloxane Varian FactorFour (VF-5 ms; Varian, Middelburg, The Netherlands); Temperatura do injetor: 250 °C; Temperatura do detector: 300 °C; Impacto de elétrons: 70 eV; Gás de arraste: He; Fluxo: 1,0 mL/min; Split: 1/20; Programa de temperatura: 70°C (2 minutos); 70 °C – 200°C, 3°C/minuto. A análise foi realizada em modo SCAN, com intervalo de aquisição de massas de 40-650 m/z.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 lib.). Foram identificados os compostos que apresentaram probabilidade igual ou maior a 90%.

#### 4.2.2 Fracionamento do extrato bruto de *K. alvarezii*

Além das análises em HS-SPME-GC-MS, o extrato bruto de *K. alvarezii* também foi submetido ao processo de extração com éter etílico, resultando na formação de um sobrenadante de cor amarelo escuro e um precipitado branco (insolúvel em acetato de etila, metanol e água). O sobrenadante, contendo éter etílico, foi evaporado, ressuspendido em acetato de etila e hexano, e analisado por GC-MS em diferentes condições cromatográficas, conforme descrito a seguir.

#### 4.2.2.1 Análise da fração éter etílico de *K. alvarezii* (**FE**), utilizando coluna capilar VF-5 ms

A análise de **FE** foi realizada usando um sistema Varian 3900 GC/MS/MS equipado com um split/splitless. As separações foram realizadas em uma coluna capilar VF-5 ms (Varian FactorFour; Varian, Middelburg, Holanda) (30 m, 0,25 mm, 0,25  $\mu\text{m}$ ). A temperatura do forno da coluna foi programada nas seguintes condições: temperatura inicial de 60 °C (hold 1 minuto) para 200 °C a uma taxa de 25 °C  $\text{min}^{-1}$ , finalizando com aumento de temperatura para 290 °C a uma taxa de 10 °C  $\text{min}^{-1}$ . 1  $\mu\text{L}$  de uma solução de 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  em hexano foi injetado no modo splitless. A temperatura do injetor, transferline e do detector foram de 250 °C, 260 °C e 250 °C, respectivamente. Hélio foi usado como gás de arraste com uma vazão constante de 1,0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . O espectrômetro de massa (MS) funcionou no modo de impacto de elétrons (EI) a uma energia de elétrons de 70 eV. Os espectros de massa foram adquiridos na faixa de 40-650 unidade de massa atômica (u).

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 lib.). Foram identificados os compostos que apresentaram probabilidade igual ou maior a 90%.

#### 4.2.2.2 Análise da fração éter etílico de *K. alvarezii* (**FE**), utilizando coluna capilar CPWAX

A análise de **FE** foi realizada usando um sistema Varian 3900 GC/MS/MS equipado com um split/splitless. As separações foram realizadas em uma coluna capilar CPWAX (30 m, 0,25 mm, 0,25  $\mu\text{m}$ ). A temperatura do forno da coluna foi programada para aumentar de uma temperatura inicial de 60 °C para 240 °C a uma taxa de 3 °C  $\text{min}^{-1}$  e mantida a 240 °C por 5 min. 1  $\mu\text{L}$  de uma solução de 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  em acetato de etila foi injetado no modo split 1:20. A temperatura do injetor, da transferline e do detector foram de 250 °C, 210 °C e 180 °C, respectivamente. Hélio foi usado como gás de arraste com uma vazão constante de 1,0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . O espectrômetro de massa (MS) funcionou

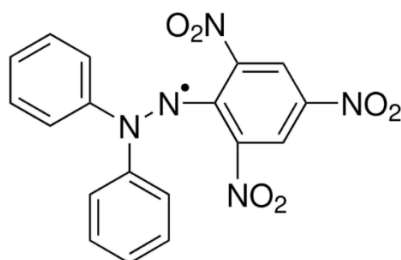
no modo de impacto de elétrons (EI) a uma energia de elétrons de 70 eV. Os espectros de massa foram adquiridos na faixa de 40-650 unidade de massa atômica (u).

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 lib.). Foram identificados os compostos que apresentaram probabilidade igual ou maior a 90%.

#### 4.3 MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL)

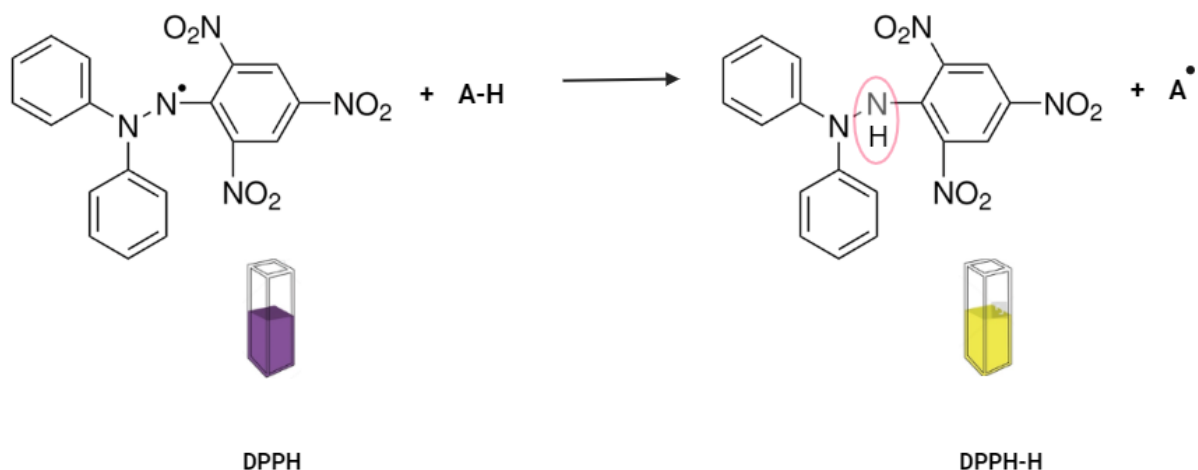
Os ensaios da atividade antioxidante dos extratos etanólicos *K. alvarezii* e das formulações sérums foram realizados utilizando a técnica baseada na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (Figura 13). A atividade sequestrante de radicais DPPH foi determinada seguindo a metodologia descrita por Brand Williams, Cuvelier, Berset (1995) com algumas adaptações. A equação da reação do DPPH quando reduzido pode ser demonstrada na Figura 14.

**Figura 13.** Fórmula estrutural do radical DPPH.



Fonte: Sigma-Aldrich® (2024).

**Figura 14.** Equação da reação do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), de coloração púrpura, sendo reduzido a 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH-H), de coloração amarela.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.3.1 Atividade antioxidante do extrato de *K. alvarezii*

O ensaio foi realizado com as amostras de extratos de alga fresca e seca liofilizadas. Os extratos foram analisados nas concentrações de 0,625; 1,25; 2,5; 5 e 10 mg.mL<sup>-1</sup>. À alíquota de 3 mL, nas diferentes concentrações, foi adicionado 1 mL de solução metanólica recém preparada de DPPH (0,3 mM). No controle (C) foram adicionados 3 mL de metanol e 1 mL de solução de DPPH (Sigma-Aldrich®). As soluções foram incubadas no escuro, sob temperatura ambiente e por 30 min. Decorrido o tempo, as soluções foram analisadas em espectrofotômetro e a absorbância foi determinada à 517 nm. Foi utilizado metanol como branco para a calibração do espectrofotômetro. O ensaio foi executado em triplicata e ao abrigo da luz.

#### 4.3.2 Atividade antioxidante das formulações de sérums

Para o ensaio, 3 g dos sérums foram diluídos em 12 mL de metanol e adicionado 4 mL de solução metanólica recém preparada de DPPH (0,3 mM). No controle (C), foi adicionado 12 mL de metanol e 4 mL de solução de DPPH. O ensaio foi realizado seguindo os mesmos parâmetros citados anteriormente e em triplicata.

### 4.3.3 Determinação da atividade antioxidante

Para a determinação da porcentagem da atividade antioxidante, inicialmente foi calculado a porcentagem de radical DPPH remanescente na solução a partir da razão entre as absorbâncias da amostra e as absorbâncias da solução controle. A equação utilizada para o cálculo foi:

$$\% \text{ DPPH}_{\text{remanescente}} = \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \times 100$$

A porcentagem de redução do DPPH foi obtida pela diferença entre a porcentagem total de radical no início da reação (100%) e o percentual de radical remanescente. A equação utilizada para o cálculo foi:

$$\% \text{ Redução de DPPH} = 100 - \% \text{ DPPH}_{\text{remanescente}}$$

Com os valores obtidos do percentual de DPPH remanescente foram calculados os valores das médias das triplicatas e os gráficos do % DPPH remanescente *versus* concentração em mg.mL<sup>-1</sup> foram construídos. O cálculo dos valores de IC<sub>50</sub> foi obtido através da equação da reta, em que corresponde a capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres presentes na solução (Gois *et al.*, 2022), ou seja, a concentração de extrato que inibe o processo oxidativo em 50%, sendo que quanto menor, maior será sua atividade antioxidante. Os valores são apresentados em mg.mL<sup>-1</sup> e a equação utilizada foi:

$$IC_{50} = \frac{50 - \text{Intercepção do eixo } y}{\text{Inclinação da reta}}$$

## 4.4 TESTE *in vitro* EM CULTURA DE CÉLULAS

### 4.4.1 Linhagem celular

O cultivo da linhagem celular HaCaT, células de queratinócitos humanos, foi realizado no laboratório de cultura de células da Unidade de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto sob responsabilidade do Prof. Dr. Mozart Marins. As células foram adquiridas pela Cell Lines Services GmbH (Eppenheim, Alemanha) e cultivadas em meio de cultura RPMI-1640 (Sigma-Aldrich®, St Louis, MO, EUA), suplementado com 10% de soro bovino (Cultilab, Campinas, SP) e antibióticos penicilina ( $10.000 \text{ U.mL}^{-1}$ ), estreptomicina ( $10.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), canamicina ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), ciprofloxacino ( $50 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e anfotericina B ( $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). A linhagem foi incubada a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  e mantida em atmosfera umidificada a 5% de  $\text{CO}_2$ .

### 4.4.2 Ensaio de viabilidade celular

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT utilizando o corante vital tetrazólio MTT 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio para análise de segurança *in vitro* do extrato hidroetanólico liofilizado de algas frescas.

As concentrações do extrato avaliadas na viabilidade celular foram 5,10 e 20  $\text{mg.mL}^{-1}$ . As placas foram incubadas em estufa a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  com 5% de  $\text{CO}_2$  durante 24 horas. Após esse período, o meio de cultura foi removido e substituído por meio contendo extrato hidroetanólico de *K. alvarezii* para tratamento por mais 24 horas. As células foram expostas às três concentrações diferentes do extrato hidroetanólico de *K. alvarezii* citadas anteriormente. Após o tratamento, o meio com o extrato hidroetanólico foi descartado e adicionado novo meio fresco junto com 20  $\mu\text{L}$  de solução de MTT ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) (Sigma-Aldrich). As placas foram novamente incubadas em estufa por 3 horas e, em seguida, centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  para sedimentação dos cristais de formazan. O sobrenadante foi descartado e os cristais precipitados foram solubilizados em 150  $\mu\text{L}$  de DMSO, com nova incubação a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por um período de 1 hora para garantir a completa dissolução dos cristais. Os extratos foram diluídos em meio de cultura e etanol, ao controle foi adicionado meio de cultura e 10  $\mu\text{L}$  de etanol. A leitura do teste foi

realizada em leitora de microplacas (Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Microplate Photometer) no comprimento de onda de 550 nm.

#### 4.4.3 Citotoxicidade CellTox™ Green

Para o ensaio de citotoxicidade também foram utilizadas as células da linhagem HaCaT adquiridas pela Cell Lines Services GmbH (Eppenheim, Alemanha).

O plaqueamento foi realizado em placas opacas de 96 poços contendo  $1 \times 10^4$  células/poço e então, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas para as células aderirem. No dia seguinte ao plaqueamento das células, o meio de cultura foi removido e os poços da placa lavados com solução salina (Hanks). Nas placas, foram adicionados às células o gel fluido de *K. alvarezii* (composto teste), diluído em meio e em concentração de 1,5% (com e sem conservante), concentração aproximada utilizada na formulação. Foram preparados os grupos controle negativo (CN) e positivo (CP). As placas foram incubadas e mantidas em estufa à 37 °C por um período de exposição de 24h. O gel da alga foi avaliado quanto ao seu efeito tóxico sobre determinadas células. Esse teste baseia-se no uso de um corante de cianina que é excluído de células viáveis, mas preferencialmente cora o DNA das células mortas (Promega Corporation, 2024).

Após as 24h, o reagente verde celltox foi preparado, e em um eppendorf foi pipetado o Assay buffer e o reagente na proporção 1:500, homogeneizados em vórtex e então, foi adicionado 20 µL dessa solução em cada poço. No controle positivo, foi adicionado o reagente lise na proporção 1:25 e 30 minutos antes da leitura. As placas foram agitadas em agitador orbital por 1 min a 700 rpm e após, mantidas em temperatura ambiente por 15 minutos e protegidas da luz. A leitura do teste foi realizada em leitora de microplacas (Glomax® Discover, Promega Corporation, EUA) em um comprimento de onda de 550 nm.

#### 4.5 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

Foram preparados 3 sérums à base de gel fluido de *Kappaphycus alvarezii*: formulação sem adição de extrato hidroetanólico liofilizado da alga (sérum A), formulação

incorporada com 0,5% (sérum B) e formulação incorporada com 1% de extrato hidroetanólico liofilizado de alga fresca (sérum C). Além disso, foi preparada uma formulação à base de Amigel® (Goma *Slecrotium*) com adição de ativo contendo ácido hialurônico, sendo usada como controle para alguns ensaios (sérum AH).

#### 4.5.1 Desenvolvimento da formulação do sérum à base gel de *Kappaphycus alvarezii*

Para o preparo dessa formulação (sérum A), foi utilizado a alga *K. alvarezii*, sem adição de extrato hidroetanólico na formulação. A composição do sérum está representada na Tabela 3.

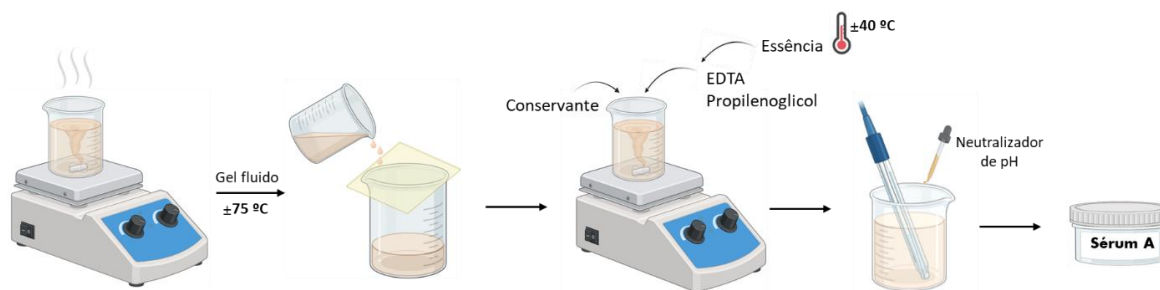
**Tabela 3.** Composição da formulação sérum A.

Componentes	% Concentração
Água destilada	q.s.p
Propilenoglicol	2
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	1,5
Fenoxietanol e Etilhexilglicerina*	1
EDTA dissódico	0,1
Fragrância	q.s
Aminometil propanol	q.s (pH=5,0)

O sérum contendo o gel da *K. alvarezii* foi preparado sob agitação e aquecimento. Depois de preparado e filtrado o gel, foram adicionados os componentes: EDTA, propilenoglicol e o conservante (ProTeg SL, Biovital, Brasil)\* já pesados. Com a temperatura abaixo de 40 °C, foi adicionado a fragrância (Bamboo MM hidrossolúvel, ATR Essências, Brasil) e a mistura foi submetida novamente à agitação mecânica por 1 minuto em 100 rpm. O pH foi medido e ajustado com aminometil propanol. A representação do preparo encontra-se na Figura 15.

O sérum foi formulado em capela de fluxo laminar vertical esterilizado com todos os materiais autoclavados.

**Figura 15.** Representação esquemática do preparo da formulação do sérum A.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.5.2 Desenvolvimento da formulação do sérum à base gel de *Kappaphycus alvarezii* incorporada com extrato hidroetanólico

Foram preparadas 2 séruns à base gel de *K. alvarezii* incorporadas com: 0,5% (sérum B) e 1% (sérum C) de extrato hidroetanólico de alga. As composições das formulações estão dispostas na Tabela 4.

**Tabela 4.** Composição das formulações dos séruns B e C.

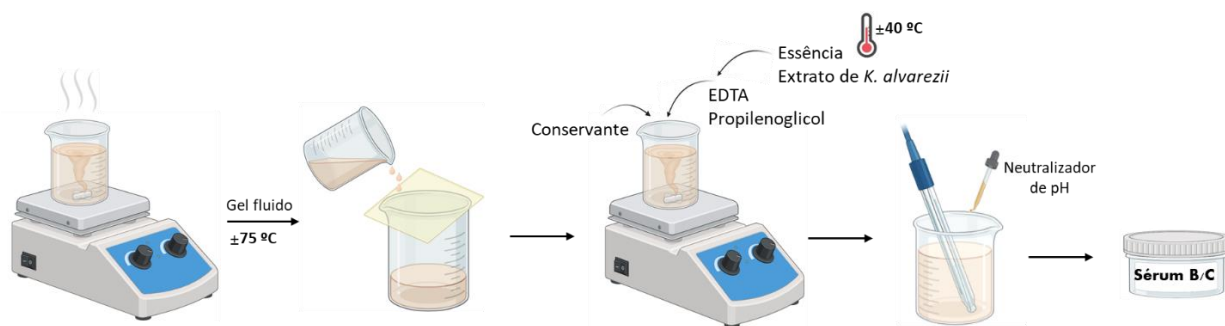
Componentes	% Concentração	
	Sérum B	Sérum C
Água destilada	q.s.p	q.s.p
Propilenoglicol	2	2
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	1,5	1,5
Fenoxietanol e Etilhexilglicerina*	1	1
Extrato de <i>K. alvarezii</i>	0,5	1
EDTA dissódico	0,1	0,1
Fragrância	q.s	q.s
Aminometil propanol	q.s (pH=5,0)	q.s (pH=5,0)

Os séruns contendo o gel da *K. alvarezii* foram preparados sob agitação e aquecimento. Depois de preparado o gel, foram adicionados os componentes: EDTA, propilenoglicol e o conservante (ProTeg SL, Biovital, Brasil)\*, já pesados. Com a temperatura abaixo de 40 °C, foi adicionado à formulação o extrato de *K. alvarezii* e a fragrância (Bamboo MM hidrossolúvel, ATR Essências, Brasil), a mistura foi submetida

novamente à agitação mecânica por 1 minuto em 100 rpm. O pH dos sérums foi medido e ajustado com aminometil propanol. A representação do preparo encontra-se na Figura 16.

Os sérums foram preparados em capela de fluxo laminar vertical esterilizado com todos os materiais autoclavados.

**Figura 16.** Representação esquemática do preparo das formulações sérums B e C.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.5.3 Desenvolvimento da formulação do sérum com ácido hialurônico (AH)

Foi preparada a formulação do sérum com ácido hialurônico (AH), sérum AH, em que o polímero utilizado como base foi o Amigel® (Goma *Sclerotium*). A composição do sérum que foi preparado está representada na Tabela 5.

**Tabela 5.** Composição do Sérum AH.

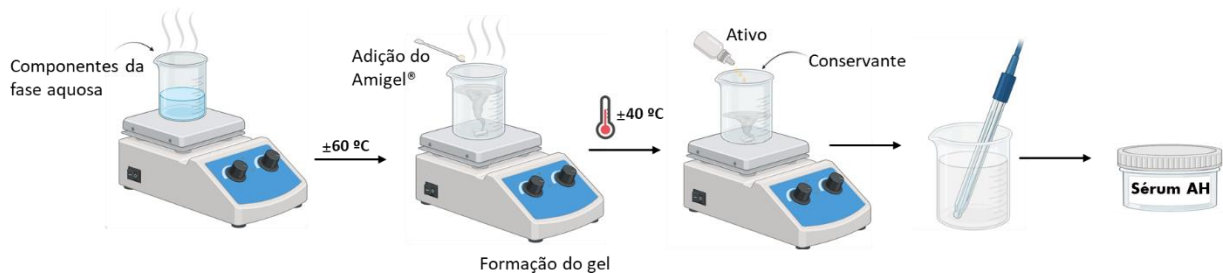
Componentes	% Concentração
Água destilada	q.s.p
Ácido hialurônico	2
Propilenoglicol	2
Goma <i>Sclerotium</i>	1,5
Fenoxietanol e Etilhexilglicerina*	1
EDTA dissódico	0,1

O sérum contendo ácido hialurônico foi preparado sob agitação e aquecimento. Os componentes da fase aquosa (EDTA, propilenoglicol e água) foram adicionados e

aquecidos até aproximadamente 60 °C. Com a temperatura atingida, foi adicionado o polímero Goma *Sclerotium* (Amigel®, Pharma Special, Brasil) sob agitação até a formação do gel. Com a temperatura abaixo de 40 °C, foi adicionado o ativo de ácido hialurônico fracionado (Hyaxel®, Biotec, Brasil). A mistura foi submetida novamente à agitação mecânica por 1 minuto em 100 rpm e o conservante (ProTeg SL, Biovital, Brasil)\* foi adicionado. A representação do preparo encontra-se na Figura 17.

O sêrum foi formulado em capela de fluxo laminar vertical esterilizado com todos os materiais autoclavados.

**Figura 17.** Representação esquemática do preparo da formulação do sêrum controle (AH).



Fonte: Autoria própria.

#### 4.6 TESTE DE ESTABILIDADE

A estabilidade das formulações foi avaliada seguindo as orientações expostas no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Anvisa, 2004) e complementado com metodologias da Farmacopeia Brasileira (Anvisa, 2019). As formulações foram armazenadas à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), por um período de 60 dias. Foram avaliadas as características organolépticas (aspecto, cor e odor), viscosidade, comportamento reológico, características microbiológicas e pH. As análises estatísticas para avaliação reológica, viscosidade e pH foram realizadas no software *GraphPad Prism 9.0* (GraphPad Software, USA), por meio dos testes de ANOVA seguidos de post-hoc de Tukey.

#### 4.6.1 Características organolépticas

Aspecto, cor e odor das formulações foram analisados e classificados seguindo critérios do Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Anvisa, 2004):

- Aspecto: (N) **normal, sem alteração**; (LS) **levemente separado**, (LP) **levemente precipitado** ou (LT) **levemente turvo**; (S) **separado**, (P) **precipitado** ou (T) **turvo**.
- Cor e odor: (N) **normal, sem alteração**; (LM) **levemente modificada**; (M) **modificada**; (IM) **intensamente modificada**.

#### 4.6.2 Avaliação reológica

A avaliação reológica foi realizada em reômetro (Brookfield, R/S plus Rheometer, USA) com sistema de medição cone-placa (40 mm), *gap* de 100  $\mu\text{m}$  (0,1 mm) e spindle P50. Os testes foram realizados à temperatura ambiente, 25 °C, e em triplicata. O equipamento foi calibrado e cerca de 2 g de cada um dos sérums formulados foram aplicados à placa e mantidos durante 60 s. As curvas de fluxo foram obtidas com taxa de cisalhamento ( $\tau$  [Pa]) de 1 a 121  $\text{s}^{-1}$  e intervalo de 30 s. Para o cálculo das áreas de histerese foi utilizado o programa *Origin 6.1*. As integrais de cada curva, ascendente e descendente foram geradas, e dos valores da curva ascendente foram subtraídos os valores da curva descendente.

Os ensaios para a avaliação reológica dos sérums foram realizados em colaboração com o laboratório Centro de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica (NanoTop) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP RP e a representação encontra-se na Figura 18.

A viscosidade também foi medida em reômetro, no mesmo sistema de medição, *gap* e spindle utilizado na avaliação reológica, e os valores de viscosidade dos sérums foram obtidos pela média das triplicatas.

**Figura 18.** Representação esquemática do ensaio da avaliação reológica das formulações sérums e obtenção da viscosidade.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.6.3 pH

O pH dos sérums formulados foi medido com o uso do pHmetro (GEHAKA PG1800). Os valores de pH dos sérums foram obtidos pela média das triplicatas. Para uma necessária correção de pH, foi utilizado o reagente aminometil propanol.

#### 4.6.4 Ensaio microbiológico

Os ensaios microbiológicos foram realizados seguindo metodologias da Farmacopeia Brasileira para produtos não estéreis, embora a forma cosmética sêrum não esteja listada em compêndios oficiais. Os ensaios estão descritos, como métodos gerais de contagem em placas de microrganismos aeróbios e fungos e microrganismos patogênicos, como *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

Inicialmente, foram preparados os meios de cultura: *Ágar caseína-soja* (TSA), *Ágar sal manitol* (MAS), *Ágar cetrimida* (CET), *Ágar Sabouraud* (SAB), *Caldo caseína-soja* (TSB), além do *Caldo e Ágar MacConkey* (MAC). Após a preparação, foram distribuídos entre placas de Petri volumes de 20 mL de cada meio, permitindo que solidificassem. No procedimento de contagem adotado, alíquota de 10 g ou mL de cada amostra de sêrum foram transferidas para 90 mL do Caldo caseína-soja estéril. Foram realizadas diluições 1:10; 1:100 e 1:1000, empregando o mesmo diluente.

Para a contagem de microrganismos aeróbios viáveis e de fungos totais foram empregados, respectivamente, meios Ágar caseína-soja e Ágar Sabouraud-dextrose. Adicionou-se à superfície de cada meio de cultura 0,1 mL das amostras das diluições nas placas contendo Ágar caseína-soja e Ágar Sabouraud-dextrose. As placas foram incubadas a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 72 horas e a  $22,5 \pm 2,5$  °C durante 7 dias.

Para a detecção de microrganismos patogênicos, foram utilizados os meios Ágar sal manitol, Ágar cetrimida e Ágar MacConkey. Inicialmente, 10 g ou 10 mL de cada amostra de sêrum foram transferidos para 90 mL de Caldo caseína-soja (caldo de enriquecimento), sendo incubados a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 24 horas. Após a incubação, 0,1 mL das soluções enriquecidas foi adicionado às placas contendo Ágar sal manitol e Ágar cetrimida, que foram incubadas a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 72 horas, e 1 mL foi transferido para 100 mL de Caldo MacConkey e incubado em banho-maria a 43 °C por 24 horas, em seguida, as sementeiras foram realizadas em placas de Ágar MacConkey, que foram incubadas a  $32,5 \pm 2,5$  °C por 24 horas. Esses meios seletivos foram utilizados para a identificação de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *E. coli* respectivamente.

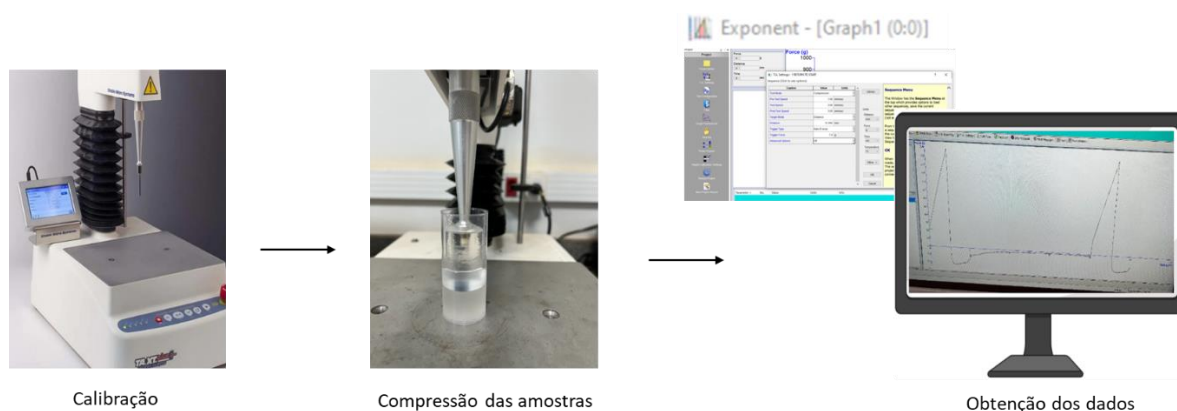
O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama ou mL das amostras foi determinado com base na média aritmética das contagens obtidas em cada meio de cultura.

#### 4.7 DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS

As propriedades mecânicas foram determinadas por meio de um analisador de textura (Stable Micro Systems Ltd., TA-XT Texture Analyser). As amostras foram então comprimidas duas vezes com uma prova analítica de policarbonato (10 mm de diâmetro), com velocidade de  $2 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , profundidade de 2 cm e tempo de 15 s entre o final da primeira e o início da segunda compressão. Foi possível determinar compressibilidade (capacidade de reduzir quando aplicada uma força), coesividade (capacidade do material não dissociar ou separar), dureza (força máxima necessária para atingir uma determinada deformação do material) e elasticidade (forma com que o produto retorna à sua condição inicial após uma compressão parcial) (Figura 19). Os resultados foram

produzidos com o auxílio do software *Exponent* e as análises estatísticas foram geradas a partir do software *GraphPad Prism 9.0* (GraphPad Software, USA), por meio dos testes de ANOVA e post-hoc de Tukey.

**Figura 19.** Esquema representativo do ensaio para a determinação das propriedades mecânicas.



Fonte: Autoria própria.

Os testes foram realizados em colaboração com o laboratório Centro de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica (NanoTop) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP/SP e em triplicata.

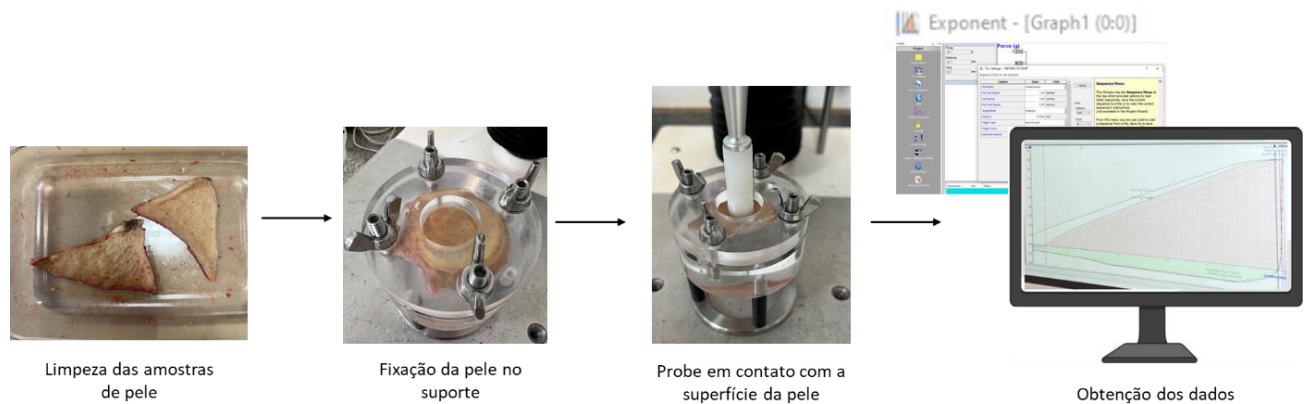
#### 4.8 DETERMINAÇÃO DA FORÇA BIOADESIVA

Para analisar a força bioadesiva também foi utilizado o analisador de textura. E para a análise, foram coletadas amostras de pele humana de abdômen ou mama obtidas a partir de cirurgia plástica realizadas na Clínica Lotus, localizada na cidade de Ribeirão Preto, SP.

As amostras de pele, após removidas do paciente em cirurgia plástica, foram levadas imediatamente para o laboratório NanoTop da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP/SP e limpas, com a remoção do tecido adiposo. Posteriormente, as peles ainda frescas, foram colocadas no suporte do equipamento e o sêrum foi fixado no dispositivo probe conectado ao equipamento analisador de textura (Stable Micro Systems Ltd., TA. XT Texture Analyser). Em seguida, o dispositivo probe foi movimentado para baixo até encontrar a superfície da pele, mantendo contato com

força de 0,5 N por 3 min. Após esse período, o acessório foi movimentado para cima com uma velocidade constante de  $1 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ , com auxílio do software *Exponent* foram determinados a força necessária para destacar o sêrum da pele e o trabalho de bioadesão (área sob a curva de força vs. distância) (Figura 20). Foram testados dois sêruns: o sêrum à base de Amigel® e com ácido hialurônico (sêrum AH) e o sêrum com gel fluido de *K. alvarezii* (sêrum A). O ensaio foi realizado em triplicata e os gráficos com os resultados foram gerados a partir do software *Graph Prism 9.0* (GraphPad Software, USA).

**Figura 20.** Esquema representativo do ensaio de determinação da força bioadesiva.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.8.1 Local do estudo

O ensaio foi realizado em colaboração com o Laboratório Centro de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica (NanoTop) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP/SP, sob coordenação da pesquisadora responsável pelo teste, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Fonseca Vianna Lopez. O protocolo para o ensaio *ex vivo* somente foi iniciado após a aprovação dos CEPs (Anexo A). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP) (CAAE 82038424.5.0000.5498 – Anexo A) e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), instituição coparticipante (CAAE 82038424.5.3001.5403).

## **4.8.2 Participantes que concederão as peles da cirurgia plástica**

### **4.8.2.1 Riscos e Desconfortos**

O risco ou desconforto maior que o paciente poderia apresentar é em relação a cirurgia plástica e que foi realizada pelo médico cirurgião. Os pesquisadores apenas receberam as peles que seriam necessariamente descartadas em lixo hospitalar e que, no entanto, foram cedidas para a pesquisa. Ao final do experimento, sob responsabilidade do (a) pesquisador (a), todo conteúdo de pele coletado e utilizado foi descartado em lixo hospitalar e incinerado.

Caso o paciente desistisse da doação dessa pele, ele poderia entrar em contato com os pesquisadores. Entretanto, para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos relativos ao protocolo da pesquisa, o paciente poderia entrar em contato com o CEP-UNAERP ou qualquer um dos pesquisadores membros.

### **4.8.2.2 Benefícios**

As informações obtidas a partir de um sistema humano *ex vivo* oferecem mais detalhes sobre a análise celular, molecular e caracterização do que um modelo animal *ex vivo*, por exemplo, e que no caso, não pode mais ser utilizado como apresentado no documento em Anexo B. Além disso, os benefícios da pesquisa foram de forma indireta, contribuindo assim para o desenvolvimento de formulações mais eficazes para a aplicação na pele.

### **4.8.2.3 Confidencialidade**

Todas as informações coletadas nesse estudo foram estritamente confidenciais, não foi feito registro de áudio na coleta de dados e o nome do paciente não foi divulgado. Apenas o cirurgião plástico, Dr. Endrigo Piva Pontelli, proprietário da Clínica Lotus e médico colaborador dessa pesquisa, e os membros da pesquisa tinham conhecimento dos dados, assegurando assim a sua privacidade. Os dados obtidos durante a pesquisa são confidenciais e não foram usados para outros fins.

#### 4.8.2.4 Tamanho amostral

Para a realização dos estudos com peles humanas foram necessários 2 pacientes submetidos às cirurgias plásticas de mama. Todas as peles desses pacientes foram utilizadas para realização dos estudos de força de bioadesão. Essa quantidade de pacientes se fez necessária, uma vez que, o tamanho das amostras de pele retiradas, dependendo do paciente não são suficientes para a realização do estudo de força de bioadesão. Além disso, as análises das amostras dos séruns foram realizadas em triplicatas.

### 4.9 AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA HIDRATAÇÃO CUTÂNEA

Esse estudo foi realizado com participantes sob orientação e supervisão da Dr.<sup>a</sup> Heloisa da Rocha Picado Copesco, médica dermatologista e docente da Universidade de Ribeirão Preto. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP) (CAAE 82038424.5.0000.5498 – Anexo A) e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) (CAAE 82038424.5.3001.5403). O protocolo em humanos somente foi iniciado após a aprovação dos referidos CEPs. Foram realizadas as análises da hidratação da pele pelo método em que avalia o conteúdo aquoso do estrato córneo.

#### **4.9.1 Local do estudo**

O estudo foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Unidade de Biotecnologia, localizado na Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP).

#### **4.9.2 Tipo de estudo**

Tratou-se de um ensaio randomizado triplo cego, onde a médica, participantes e pesquisador não sabiam qual sérum cada participantes estava usando. Uma das pesquisadoras membro foi a responsável pelo envase e rotulagem dos séruns, para garantir o sigilo das formulações. Os resultados foram analisados comparando os dados

dos resultados obtidos antes (tempo 0) e após 10, 30 e 60 minutos da utilização das formulações de sérums.

#### **4.9.3 População do estudo**

Após a aplicação de questionário (Apêndice C) foram recrutados participantes que atendiam aos critérios de inclusão citados a seguir:

- Indivíduos com idades entre 18 e 60 anos;
- Sexo feminino ou masculino;
- Mulheres não grávidas;
- Capacidade de comunicação verbal e entendimento;
- Gozar de boa saúde;
- Possuir interesse em participar da pesquisa.

Como critérios de exclusão foram estabelecidos:

- O abandono do estudo;
- Possuir alergia aos componentes presentes nas formulações;
- Possuir hiperidrose palmar;
- Possuir alguma patologia aparente nas mãos que possa interferir no estudo;
- Estar fazendo uso de algum produto hidratante na área experimental dois dias antes do início do estudo e no dia do estudo.

#### **4.9.4 Protocolo**

Após a aplicação do questionário para coleta de dados (Apêndice C) sob supervisão da médica dermatologista, os participantes que atenderam aos critérios de inclusão foram convidados a participarem do estudo. Os participantes receberam o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Apêndice A) e junto, as informações sobre a pesquisa para decidirem se iriam ou não participar. Após a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os participantes que aceitaram participar da

pesquisa, assinaram o documento que foi emitido em duas vias de mesmo conteúdo: uma permaneceu com o responsável pela pesquisa e a outra com o participante.

Após a seleção dos participantes da pesquisa, foram realizadas as medições que avaliaram o conteúdo aquoso do estrato córneo, sendo possível a avaliação do nível de hidratação da superfície da pele. Os participantes foram divididos em dois grupos: um grupo recebeu o sérum à base de alga *Kappaphycus alvarezii*, sérum teste (A), e o outro o sérum à base de Amigel® (Goma *Slecrotium*) contendo ácido hialurônico, sérum controle (AH). A escolha do sérum aplicada nos participantes foi selecionada de maneira aleatória por uma das pesquisadoras membro.

Com a supervisão e participação da médica dermatologista, primeiramente, cada participante realizou a limpeza e higienização das mãos com água e sabonete neutro. Após a higienização, foi aplicado cerca de 10 a 15 gotas do sérum teste ou sérum controle, no dorso e palmas das mãos de modo que, o participante espalhe o produto em movimentos circulares até completa absorção. Após esse procedimento foram realizadas as medições da seguinte forma: o aparelho foi ligado e em seguida foi selecionado a escala de medição (barra, digital, curva ou tabela numérica). A sonda do *Corneometer*® CM 825 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Alemanha) foi posicionada perpendicularmente sobre a pele da área selecionada (primeiramente palma das mãos e depois dorso), exercendo ligeira pressão para acionar a mola. Após a sonda tocar a pele, ouviu-se um “bip” e o valor do resultado da medição apareceu no monitor. Foram realizadas medições antes (basal), após 10, 30 e 60 minutos da aplicação dos séruns para as análises. Após a realização do ensaio, foi aplicado um questionário final para fins de pesquisa sobre características e sensorial do produto aplicado (Anexo D).

O estudo foi dividido em três partes: aplicação de questionário para coleta de dados, detalhamentos de informações sobre a pesquisa junto ao Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e medições que avaliaram quanto ao nível de hidratação da superfície da pele.

#### 4.9.5 Tamanho amostral

O planejamento amostral foi baseado em trabalhos da literatura da área cosmética, em que se aplicam estudos *in vivo* em humanos com teste de cosméticos hidratantes.

#### 4.9.6 Instrumentos utilizados no ensaio

##### 4.9.6.1 Coleta de dados

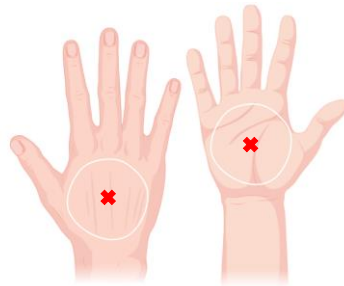
Todos os participantes da pesquisa foram recrutados no estudo mediante o preenchimento de questionário (Apêndice C) para critérios de inclusão, exclusão e coleta de dados. Aspectos físicos, absorção, bem como as opiniões sobre as características dos sérums também foram avaliados por meio de questionário (Apêndice D). Os questionários foram desenvolvidos pela própria pesquisadora com a orientação da médica dermatologista.

##### 4.9.6.2 Avaliação da hidratação da pele

Para avaliar a hidratação da pele, com auxílio de um sabonete líquido neutro e água, a região a ser analisada foi lavada cuidadosamente antes da análise, para padronizar as leituras. A avaliação foi realizada em uma área do dorso e palmas das mãos (Figura 21), padronizadas e com o auxílio do equipamento *Corneometer*<sup>®</sup> CM 825. As condições de temperatura ambiente e de umidade foram seguidas, 20 °C e 40-60%, respectivamente, conforme o manual de operação do equipamento (Manual de Operação Instrumentos Combinados *Corneometer*<sup>®</sup>/*Sebumeter*<sup>®</sup>/*Skin-pH-Meter*<sup>®</sup>) e o software para Windows, para eliminar possíveis interferências.

A hidratação da área da pele em teste foi avaliada nos tempos 0 (basal), 10, 30 e 60 minutos, e a média e o desvio padrão das medidas foram calculadas. A hidratação da pele foi medida, baseando-se na medida de capacitância da superfície da pele. A medição foi expressa em unidades arbitrárias, que indicam o grau de hidratação e possuem uma variação teórica de 0 a 120 UA.

**Figura 21.** Representação da região das mãos demarcada para avaliação da hidratação.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.9.7 Riscos

De acordo com o Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), um cosmético pode ter a probabilidade de ocorrência de uma das reações descritas abaixo:

- **Irritação:** Processo inflamatório que ocorre na área de contato com o produto, podendo ocorrer após a primeira aplicação (irritação primária) ou com a continuidade do uso (irritação acumulada). É determinada por um dano tecidual agudo ou crônico de intensidade variada. É dependente da concentração dos ingredientes no produto, da formulação como um todo, quantidade aplicada, frequência e modo de aplicação;
- **Sensibilização:** Processo inflamatório que envolve mecanismo imunológico, do tipo celular, com tempo de contato variável, de alguns dias ou mesmo alguns anos, até que o organismo reconheça um ou mais ingredientes como alergênicos. Em geral, é uma resposta que não ocorre nas primeiras aplicações, a não ser que o indivíduo já se encontre sensibilizado a um dos ingredientes do produto, podendo aparecer em outra área, diferente da área de aplicação. O processo alérgico pode decorrer tanto em função dos ingredientes isolados, quanto da interação entre eles no produto, formando novo componente. As respostas de irritação e sensibilização do ponto de vista clínico são semelhantes, caracterizadas pela ocorrência de um ou mais dos seguintes sinais clínicos: eritema, edema, pápula e pústula. Diferenciam-se pelo fato de a irritação ser dose dependente, enquanto a sensibilização não: o indivíduo uma vez sensibilizado desenvolverá a reação a toda exposição ao(s) ingrediente(s);

- Sensações de desconforto: são reações comuns a cosméticos, caracterizadas por sintomas subclínicos que podem sinalizar uma irritação: ardência, prurido/coceira, dor, pinicação.

O ensaio todo foi realizado sob supervisão da médica dermatologista e colaboradora da pesquisa. As formulações de sérums aplicadas passaram por testes pré-clínicos e possuem em suas composições componentes conhecidos e já testados.

#### **4.9.8 Benefícios**

Ao longo da pesquisa, os participantes foram orientados por profissionais capacitados e especialistas, receberam informações valiosas sobre cuidados com a pele e utilizaram dos benefícios dos componentes das formulações que sugerem auxiliar na hidratação da pele, uma vez que cosméticos com ação hidratante podem fortalecer a barreira de proteção da pele, auxiliar na prevenção do ressecamento, descamação, coceira, aspereza, sensibilidade cutânea e ajudar na prevenção dos sinais de envelhecimento.

Os participantes não dispuseram a nenhum tipo de despesa ao autorizar sua participação na pesquisa, entretanto ao participar, contribuíram com os resultados do estudo.

#### **4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS NOS ESTUDOS *IN VIVO***

Os dados foram tabulados e expressos em média  $\pm$  E.P.M (erro padrão da média). Na análise quantitativa dos dados, foram aplicados variância ANOVA seguido de post-hoc de Tukey e teste de Fischer para avaliar a significância estatística dos resultados, utilizando o software *GraphPrism 9.0* (GraphPad Software, EUA). Foram considerados significativos valores de  $p$  menores do que 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PREPARO DOS EXTRATOS

Os extratos hidroetanólicos produzidos apresentaram uma média de rendimento em torno de  $2,42 \pm 0,3\%$  e  $2,67 \pm 0,1\%$  para as amostras de algas frescas e secas, respectivamente. Vale ressaltar que, durante os processos utilizados para a obtenção do extrato há perdas e conforme o método utilizado, o rendimento baixo já era esperado.

Os extratos de algas frescas apresentaram uma característica de pó fino e de coloração verde escuro, enquanto os extratos de algas secas apresentaram característica de pó fino de coloração verde claro acinzentado, acredita-se que a cor do extrato varia de acordo com a coloração da alga utilizada.

### 5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS DO EXTRATO BRUTO DE *K. alvarezii*

A Tabela 6 apresenta o conjunto de substâncias identificadas por CG/MS nas frações do extrato bruto e éter etílico do extrato de *Kappaphycus alvarezii*. Essas identificações foram realizadas com base nos cromatogramas apresentados na Figura 22, utilizando a análise de similaridade com espectros teóricos disponíveis no banco de dados do sistema NIST 62 lib.

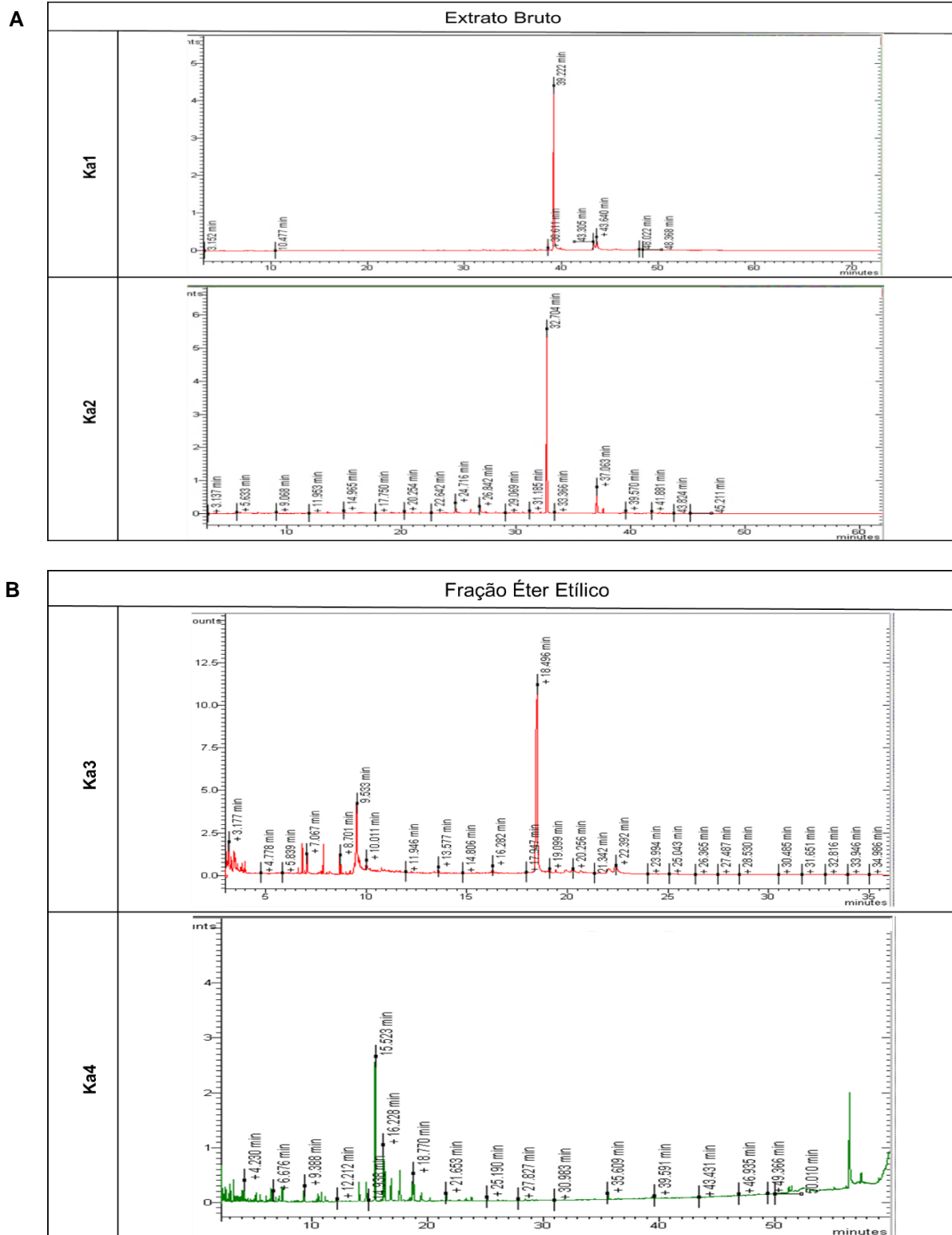
**Tabela 6.** Substâncias presentes na alga *K. alvarezii* identificadas por CG/MS com base na similaridade dos espectros teóricos encontrados no banco de dados do sistema NIST 62 lib.

Nº	Componentes	Tempo de retenção (min)	Banco de dados	Fórmula molecular	Classificação	Fração (extrato)		Condições			
						Extrato bruto	Éter etílico	Fibra	Coluna		
								PDMS	PDMS/DVB	VF-5 ms	CPWAX
1	Octadecane	39,22	NIST 62 (lib.)	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	Hidrocarboneto	x		x			

2	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- ou Hexahydrofarnesyl acetone	43,31	NIST 62 (lib.)	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	Cetona alifática	x	x
3	1-(3- Methylenecyclopentyl) ethanone	3,67	NIST 62 (lib.)	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	Cetona alifática	x	x
4	Hexanoic acid ou Caproic acid	5,64	NIST 62 (lib.)	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Ácido Graxo	x	x
5	Furan, 2-pentyl- ou 2- Amylfuran	5,88	NIST 62 (lib.)	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	Aromático heterocíclico	x	x
6	Trans-2-octenal	7,45	NIST 62 (lib.)	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	Aldeído	x	x
7	Phenol, 2-amino-4- methoxy	13,51	NIST 62 (lib.)	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	Composto fenólico	x	x
8	3-Ethoxy-3-methyl-2- butanone	20,25	NIST 62 (lib.)	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	Cetona alifática	x	x
9	Hexahydropseudoionone	20,94	NIST 62 (lib.)	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O	Cetona alifática	x	x
10	Dihydroactinidiolide (DHA)	24,71	NIST 62 (lib.)	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	Éster cíclico	x	x
11	Phytol	27,35	NIST 62 (lib.)	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	Álcool diterpeno	x	x
12	3-Oxo-β-ionone	30,19	NIST 62 (lib.)	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	Cetona alicíclica	x	x
13	Octadecane	32,65	NIST 62 (lib.)	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	Hidrocarboneto	x	x
14	Tetrahydroionone	37,07	NIST 62 (lib.)	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O	Cetona alifática	x	x
15	p-Benzoquinone, 2,6-di- tert-butyl	6,62	NIST 62 (lib.)	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	Alquilbenzoquinona	x	x
16	I-(+)Ascorbic acid 2,6- dihexadecanoate	9,53	NIST 62 (lib.)	C <sub>38</sub> H <sub>68</sub> O <sub>8</sub>	Ácido Graxo	x	x
17	9-Octadecenoide acid ou Oleic acid	10,01	NIST 62 (lib.)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Ácido Graxo	x	x
18	Cholesta-4,6-dien-3-ol	16,29	NIST 62 (lib.)	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O	Esteróide	x	x
19	Cholesterol	18,49	NIST 62 (lib.)	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O	Esteróide	x	x
20	3-Penten-2-one	2,6	NIST 62 (lib.)	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O	Cetona alifática	x	x
21	3-Hexen-2-one	3,29	NIST 62 (lib.)	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	Cetona alifática	x	x
22	2,3-Dimethyl-1-buten-3-ol	4,24	NIST 62 (lib.)	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	Álcool	x	x
23	2-Methyl-2- cyclopentenone	9,38	NIST 62 (lib.)	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	Cetona alifática	x	x
24	3-Methyl-2- cyclopentenone	14,13	NIST 62 (lib.)	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	Cetona alifática	x	x
25	Oxalic acid, cyclohexyl-n- alkyl-ester	15,5	NIST 62 (lib.)	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	Ácido Graxo	x	x
26	Octadecane	21,66	NIST 62 (lib.)	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	Hidrocarboneto	x	x
27	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- ou Hexahydrofarnesyl acetone	35,62	NIST 62 (lib.)	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	Cetona alifática	x	x

Obs.: A nomenclatura atribuída pelos registros do banco de dados foi mantida para a identificação dos compostos.

**Figura 22.** Cromatogramas das amostras do extrato de *K. alvarezii* obtidos por CG/MS. Cromatogramas das frações (A) extrato bruto (Ka1 e Ka2) e (B) éter etílico (Ka3 e Ka4).



Na amostra preparada do extrato hidroetanólico da alga *K. alvarezii* foram identificados 27 compostos (Tabela 6). Entre eles, destacam-se os ácidos graxos, como o ácido oleico e o ácido L-ascórbico dihexadecanoato, além do fitol, todos com relevância em formulações cosméticas (Islam *et al.*, 2015). O fitol, presente em praticamente todos os organismos fotossintetizantes, incluindo algas, plantas e cianobactérias (Alves, 2022), demonstra grande potencial anti-inflamatório, antioxidante antimicrobiano e antifúngico (Mendonça, 2020).

De maneira semelhante, ácido L-ascórbico dihexadecanoato, derivado do ácido ascórbico, apresenta atividade antioxidante e microbicida (Coelho, 2023). Já os óleos vegetais, compostos lipofílicos e não polares de estrutura complexa, são amplamente utilizados em cosméticos devido às suas propriedades hidratantes, condicionantes e formadoras de filme, como o ácido oleico (Reis, 2022).

Dada sua composição lipídica, a alga *K. alvarezii* mostra-se promissora como fonte de ácidos graxos essenciais e antioxidantes, contribuindo para a reposição lipídica e a proteção da pele.

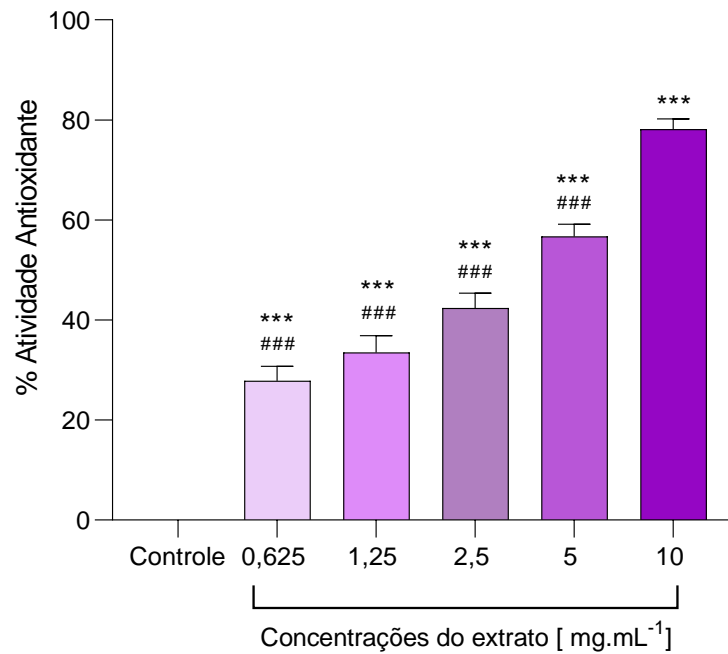
### 5.3 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### 5.3.1 Atividade antioxidante dos extratos

Os extratos foram avaliados quanto ao potencial antioxidante e as concentrações analisadas apresentaram os seguintes resultados: 27,8% (0,625 mg.mL<sup>-1</sup>); 33,5% (1,25 mg.mL<sup>-1</sup>); 42,4% (2,5 mg.mL<sup>-1</sup>); 56,7% (5,0 mg.mL<sup>-1</sup>) e 78,1% (10 mg.mL<sup>-1</sup>) para o extrato preparado de algas frescas e 10,2% (0,625 mg.mL<sup>-1</sup>); 14,6% (1,25 mg.mL<sup>-1</sup>); 19,9% (2,5 mg.mL<sup>-1</sup>); 34,5% (5,0 mg.mL<sup>-1</sup>) e 49,8% (10 mg.mL<sup>-1</sup>) para o extrato preparado de alga seca.

A análise estatística realizada indicou que houve diferença dos efeitos causados entre as concentrações do extrato de algas frescas de *K. alvarezii* sobre o fator oxidativo. Todas as concentrações apresentaram diferença significativa comparado ao controle. Além disso, a concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> apresentou maior efeito antioxidante quando comparadas às concentrações de 0,625; 1,25; 2,5 e 5,0 mg.mL<sup>-1</sup>, como mostrado na Figura 23.

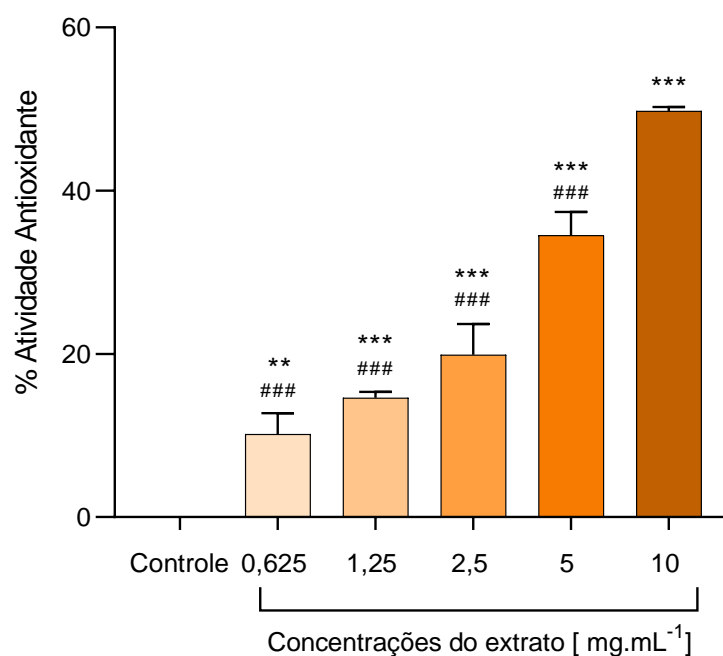
**Figura 23.** Atividade antioxidante das diferentes concentrações 0,625 a 10 mg.mL<sup>-1</sup> do extrato de algas frescas de *K. alvarezii*.



Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao grupo controle; ### $p < 0,001$  comparado à concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup>, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

De acordo com a Figura 24, houve também uma diferença dos efeitos causados entre as concentrações do extrato de algas secas de *K. alvarezii* sobre o fator oxidativo. Todas as concentrações apresentaram diferença significativa comparado ao controle. Além disso, a concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> apresentou diferença significativa quando comparada às demais concentrações, além de ter demonstrado maior efeito antioxidante.

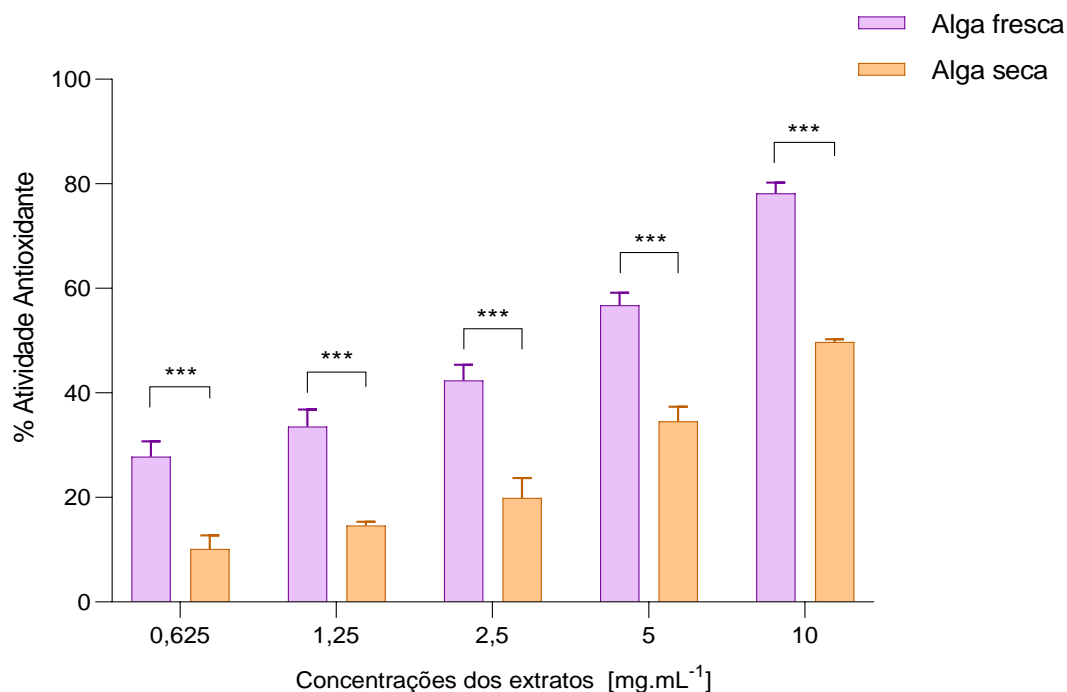
**Figura 24.** Atividade antioxidante das diferentes concentrações 0,625 a 10 mg.mL<sup>-1</sup> do extrato de algas secas de *K. alvarezii*.



Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao grupo controle; ### $p < 0,001$  comparado à concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup>, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A análise da atividade antioxidante do extrato de *K. alvarezii* pelo método do DPPH revelou atividade pela capacidade de sequestrar o radical livre DPPH nos extratos hidroetanólicos, porém, um ponto interessante a ser observado é que os extratos preparados das algas frescas apresentaram uma melhor atividade antioxidante quando comparados aos extratos preparados de algas secas (Figura 25). Sugere-se que, os extratos obtidos de algas frescas possuam uma maior presença de compostos bioativos, como ácido ascórbico e compostos fenólicos (Fayaz *et al.*, 2005), associados à capacidade antioxidante.

**Figura 25.** Gráfico comparando a atividade antioxidante dos extratos de *K. alvarezii* produzidos de algas frescas e secas.

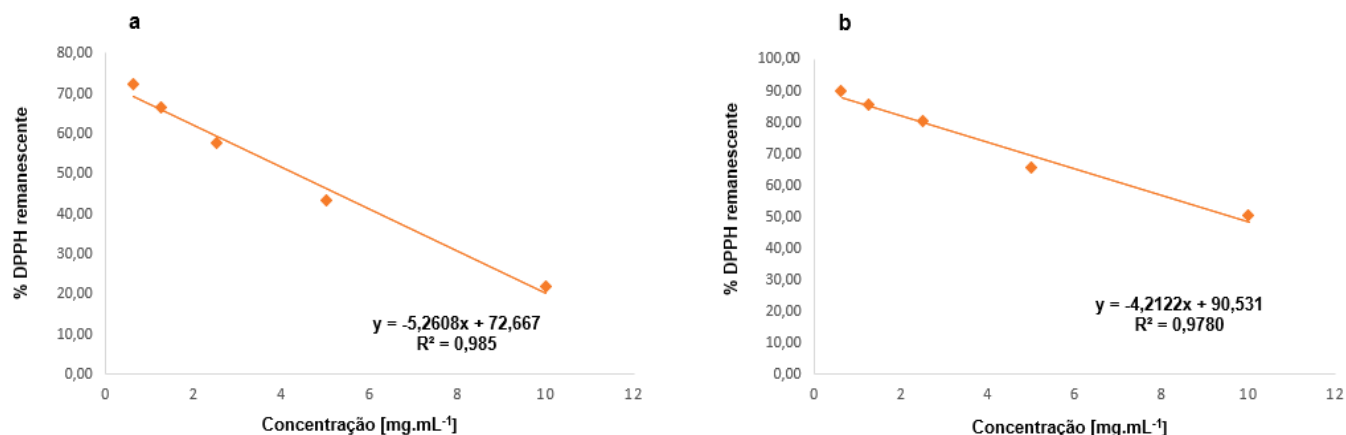


Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os extratos utilizados foram de algas frescas e secas. Diferença significativa entre as concentrações dos extratos de algas frescas comparado às concentrações dos extratos de algas secas  $***p<0,001$ , de acordo com 2way ANOVA seguido do teste post-hoc de Sídak ( $p<0,05$ ).

As concentrações de 5 e 10 mg.mL<sup>-1</sup> foram as que obtiveram melhores percentuais de redução do DPPH. Na presença de compostos com capacidade antioxidante, o 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), de coloração púrpura, é então reduzido a 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH-H) e apresenta uma coloração amarelada, quanto mais o radical DPPH for reduzido à DPPH-H, menor será o valor da absorbância.

A partir dos valores de DPPH remanescente obtidos, foram construídos os gráficos que demonstram a porcentagem de DPPH remanescente *versus* concentrações em mg.mL<sup>-1</sup>, representados nas Figuras de 26a e 26b para os extratos hidroetanólicos de algas frescas e secas, respectivamente.

**Figura 26.** a) Gráfico da porcentagem de DPPH remanescente referente ao extrato hidroetanólico de alga fresca de *K. alvarezii* versus suas concentrações; b) Gráfico da porcentagem de DPPH remanescente referente ao extrato hidroetanólico de alga seca de *K. alvarezii*.



Através da equação da reta expressa na Figura 26, foi possível obter os valores de IC<sub>50</sub> de cada amostra, substituindo o “y” da equação por 50. Na Tabela 7 estão apresentados os valores de IC<sub>50</sub> de cada amostra.

**Tabela 7.** Valores de IC<sub>50</sub> de cada amostra.

Amostra	IC <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )
Alga fresca (EtOH)	4,31
Alga seca (EtOH)	9,62

Os valores de IC<sub>50</sub> se demonstraram menores para os extratos preparados com algas frescas. A concentração do extrato hidroetanólico com algas frescas que inibe o processo oxidativo em 50% foi considerada satisfatória, confirmando que esses extratos possuem uma maior atividade antioxidante quando comparados aos extratos preparados de algas secas.

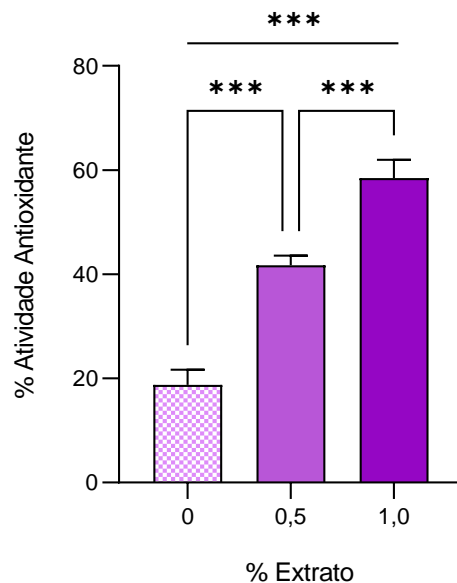
### 5.3.2 Atividade antioxidante das formulações de sérums

Como apresentado nos resultados anteriores, o extrato obtido de algas frescas demonstrou melhor desempenho na redução do DPPH, indicando uma maior atividade

antioxidante em comparação ao extrato produzido de algas secas. Dessa forma, foram desenvolvidas formulações de sérums incorporando o extrato de algas frescas, que mostraram um potencial antioxidante significativo. A formulação controle, sem extrato, também apresentou atividade antioxidante, já que a alga contém carragena, um polissacarídeo sulfatado também conhecido por sua ação antioxidante (Murugan<sup>b</sup> *et al.*, 2023). As concentrações de extrato de 0,5% e 1,0% resultaram em atividades antioxidantes de 41,5% e 58,5%, respectivamente, enquanto a formulação sem extrato obteve 18,7% de atividade antioxidante.

Houve uma diferença significativa no efeito antioxidante das diferentes concentrações do extrato nas formulações. As concentrações de 0,5% e 1% demonstraram maior atividade antioxidante em relação à formulação sem extrato, com significância estatística de  $p < 0,001$ , conforme ilustrado na Figura 27.

**Figura 27.** Efeito das diferentes concentrações 0,5% e 1% na atividade antioxidante das formulações de sérums com extrato de algas frescas de *K. alvarezii*.



Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \*\*\* $p < 0,001$  entre os grupos, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

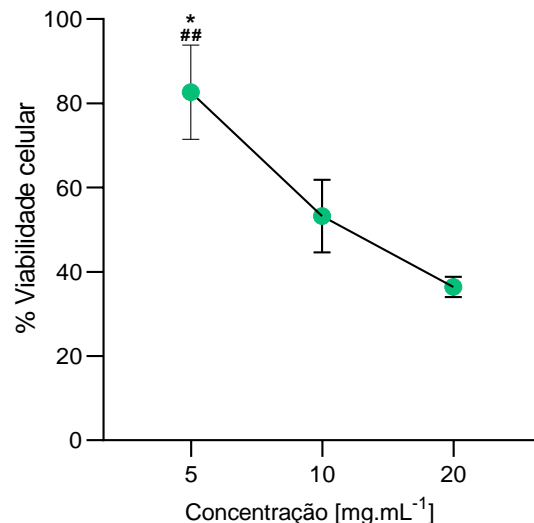
## 5.4 AVALIAÇÃO DOS TESTES *IN VITRO* EM CULTURA DE CÉLULAS

### 5.4.1 Avaliação da segurança do extrato de *K. alvarezii* pela viabilidade celular

As células HaCaT foram submetidas a uma análise de viabilidade celular utilizando o MTT como corante vital, com um tempo de contato de 24 horas. A amostra de extrato de *Kappaphycus alvarezii* apresentou aproximadamente 83% de viabilidade celular na concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup> (0,5%), enquanto na concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> (1%) a viabilidade foi superior a 50%. Também foi testada uma concentração superior às utilizadas nos séruns, e a concentração de 20 mg.mL<sup>-1</sup> (2%) resultou em uma viabilidade celular inferior a 40%, sendo considerada inviável para uso.

A análise estatística revelou uma diferença significativa entre as concentrações testadas, com a viabilidade celular sendo maior na concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup> (0,5%) em comparação às concentrações de 10 mg/mL (1%) e 20 mg.mL<sup>-1</sup>, conforme mostrado na Figura 28.

**Figura 28.** Efeito das diferentes concentrações 5, 10, e 20 mg.mL<sup>-1</sup> do extrato de *K. alvarezii* na viabilidade celular.



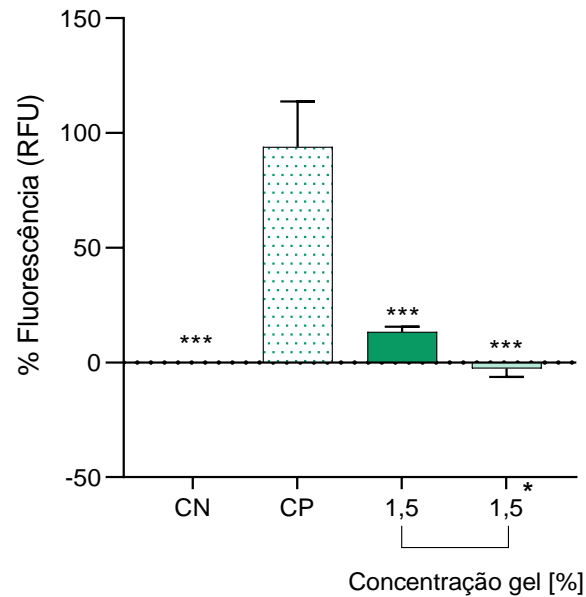
Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \* $p < 0,05$  comparado com a concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> e ## $p < 0,01$  comparado com a concentração de 20 mg.mL<sup>-1</sup>, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Portanto, nas condições apresentadas deste ensaio, a amostra do extrato de *K. alvarezii* foi considerada inicialmente segura para uso em formulações cosméticas na concentração de 0,5% e possivelmente também, na concentração de 1%.

#### **5.4.2 Citotoxicidade do gel fluido de *K. alvarezii***

A amostra do gel fluido de *K. alvarezii* na concentração de 1,5%, concentração usada na formulação, apresentou uma porcentagem de fluorescência de 13,3% e valor negativo com a presença do conservante, em contrapartida ao controle positivo que apresentou 93,9%, visto que quanto maior a porcentagem de fluorescência, maior a morte celular. Houve diferença significativa no efeito do extrato em gel presente na formulação à concentração de 1,5%, apresentou-se menor morte celular comparado ao grupo controle positivo e valor não significativo em relação ao gel com a presença do conservante, visto que na formulação há o presente conservante testado nesse ensaio, sugerindo que a alga presente na formulação do sêrum não apresenta riscos significativos de citotoxicidade, como mostrado na Figura 29.

**Figura 29.** Porcentagem de fluorescência do gel de *K. alvarezii* e os respectivos controles.



Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). \*Presença do gel fluido com conservante. Diferença significativa \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao grupo controle positivo (CP), de acordo com one-way ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 5.5 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS SÉRUNS

Os sérums são veículos de textura leve e fluida, com capacidade de rápida absorção e podem ser formulados para terem diversas ações na pele.

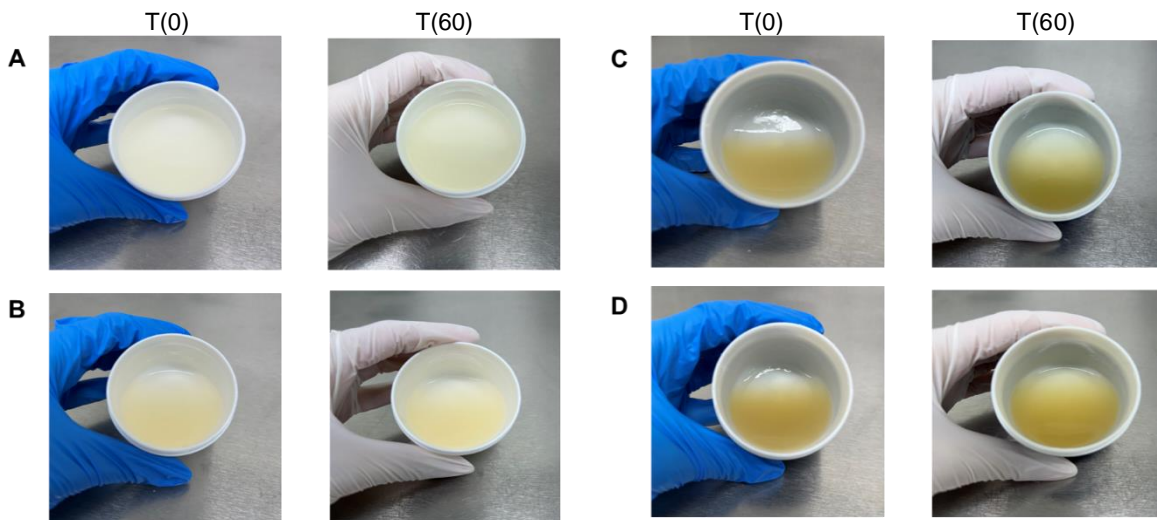
Os sérums A, B e C foram formulados à base de géis da alga *K. alvarezii*, preparados sob aquecimento. Além disso, foi preparada uma formulação controle à base de Goma *Slecrotium* com adição de ativo contendo ácido hialurônico (sérum AH), esse ácido é considerado um polissacarídeo, polímero natural, que pode ser encontrado em estruturas do corpo humano e de animais e confere à pele hidratação e sustentação (Martin, 2019).

Inicialmente todos os sérums apresentaram-se com característica fluida, homogênea e de coloração específica.

### 5.5.1 Avaliação das características organolépticas dos sérums

Armazenados por 60 dias em temperatura ambiente, os sérums à base de géis da alga e o sêrum à base contendo ácido hialurônico não apresentaram modificações aparentes significativas no aspecto, cor e odor, sendo, portanto, classificados como: N (normal), sem alteração como mostrado na Figura 30.

**Figura 30.** Foto dos Sérums: **A-** Sêrum AH no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento; **B-** Sêrum A no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento; **C-** Sêrum B no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento; **D-** Sêrum C no tempo basal (T0) e após 60 dias de armazenamento.

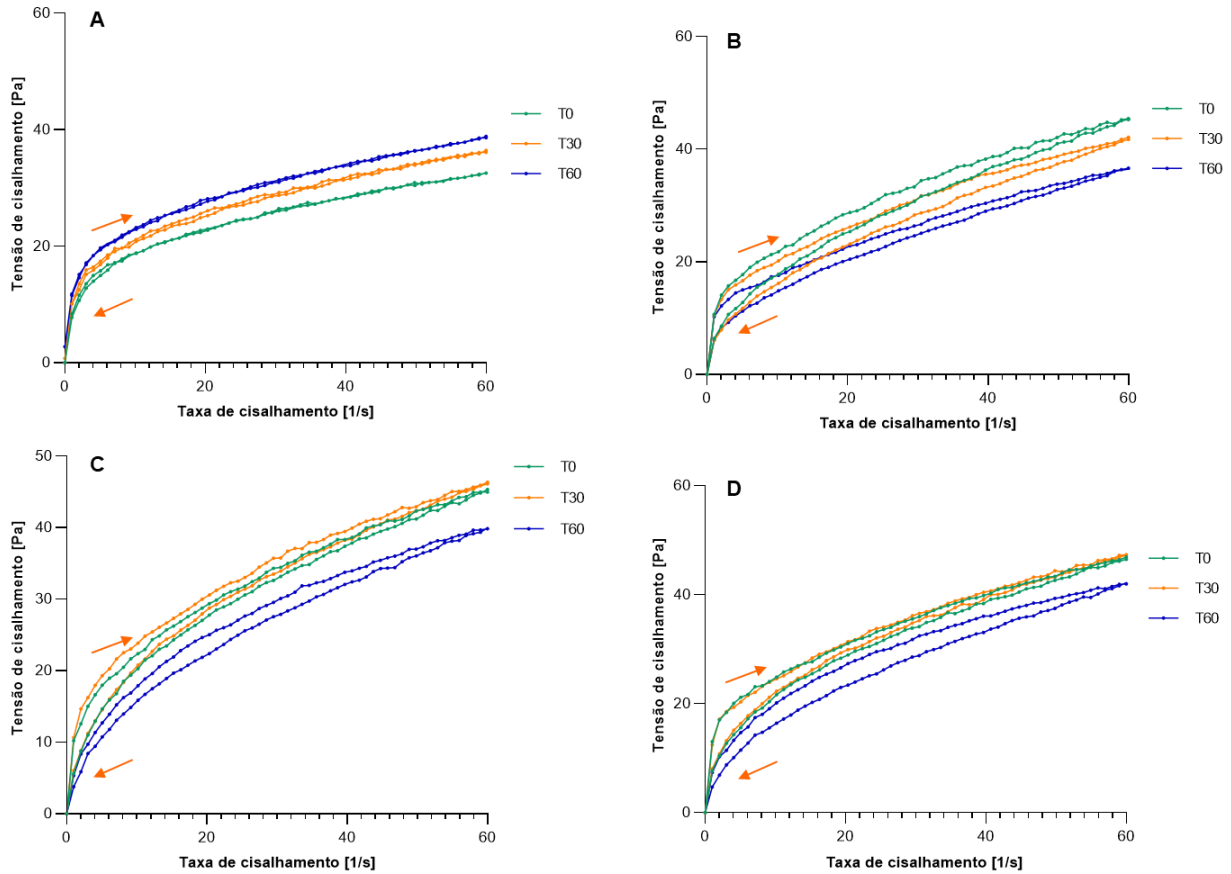


### 5.5.2 Avaliação do comportamento reológico dos sérums

Os fluidos podem ser considerados newtonianos, cuja viscosidade é constante com o aumento da taxa de cisalhamento, e não-newtonianos, cuja viscosidade depende da taxa de cisalhamento, a tensão cisalhante não é diretamente proporcional à taxa de deformação (Galindo, 2013).

Na Figura 31 pode-se observar o perfil reológico dos sérums em função do tempo de armazenamento e à temperatura ambiente. Inicialmente foi realizada a avaliação reológica do tempo inicial (T0), após 30 dias foi realizada a avaliação do tempo (T30) e decorridos 60 dias foi realizada a avaliação do tempo (T60) das três formulações.

**Figura 31.** Curva de fluxo (tensão de cisalhamento vs. taxa de cisalhamento) dos séruns. Os séruns foram armazenados à temperatura ambiente, avaliados 3 dias após o preparo (T0), após 30 (T30) e 60 (T60) dias. A curva de fluxo do sérum AH está indicada em (A); a curva de fluxo do sérum A está indicada em (B), a curva de fluxo do sérum B está indicada em (C) e a curva de fluxo do sérum C está indicada em (D). As setas indicam a direção da taxa de cisalhamento.



O comportamento reológico das formulações indica que todos os séruns apresentaram comportamento reológico não-newtoniano do tipo pseudoplásticos, ou seja, caracterizam-se pelo decréscimo da viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento aplicada, enquanto a viscosidade aumenta à medida que a taxa cisalhante diminui (Calixto, 2013). A curva ascendente permite a classificação do comportamento de fluxo em newtoniano e não-newtoniano, por sua vez, a curva descendente possibilita a identificação de materiais com comportamento tixotrópico ou reopético (Scharamm, 2006). Nesse caso, foi possível observar que os séruns formulados com gel fluido da alga apresentaram maior área de histerese quando comparados ao sérum formulado com ácido hialurônico. A área de histerese é

caracterizada pela área calculada entre as curvas ascendente e descendente. A tixotropia indica a habilidade que o material leva para se reestruturar e recuperar sua estrutura inicial depois que a taxa de cisalhamento for diminuída, uma vez aplicado na pele, o produto deve recuperar sua estrutura inicial para evitar que escorra, sendo, portanto, fundamental a presença do comportamento tixotrópico (Zambon, 2011).

Na Tabela 8, encontra-se a área de histerese e viscosidade das formulações.

**Tabela 8.** Área de Histerese dos Sérums e Viscosidade Aparente (Pa.s) (60s).

Tempo (dias)	Sérum AH		Sérum A		Sérum B		Sérum C	
	Área de Histerese	Viscosidade (Pa.s)	Área de Histerese	Viscosidade (Pa.s)	Área de Histerese	Viscosidade (Pa.s)	Área de Histerese	Viscosidade (Pa.s)
0	3,20±5,34	0,54±0,007	161,35±9,44	0,76±0,015	105,66±27,92	0,75±0,008	126,10±8,99	0,78±0,039
30	_*	0,60±0,003***	160,23±7,57	0,70±0,009**	116,79±21,18	0,77±0,019	98,78±37,30	0,79±0,011
60	_*	0,64±0,008***###	115,17±11,5*###	0,61±0,010***###	104,79±15,39	0,66±0,017***###	164,81±11,60#	0,70±0,009*##

Valores expressos como média ± DP. \_\*Não há área de histerese. Diferença significativa na área de histerese \*\*p<0,01 comparado ao T0; #p<0,05 comparado ao T30. Diferença significativa na viscosidade \*p<0,05; \*\*p<0,01 e \*\*\*p<0,001 comparado ao T0; ##p<0,01 e ###p<0,001 comparado ao T30.

A viscosidade dos sérums foi determinada em condições em que foi definida a tendência de gelificação, uma vez que os sérums são analisados em seu estado final e, portanto, depois que há formação do gel. A viscosidade de géis de carragena depende da concentração, temperatura e tipo de carragena e pode ser obtida em conjunto com a taxa de cisalhamento (Nikaedo; Amaral; Penna, 2004). Tanto a formulação de sérum AH quanto o sérum A mostraram diferenças estatísticas nos tempos T30 (após 30 dias) e T60 (após 60 dias). Observou-se que as formulações de sérums contendo os extratos não apresentaram alterações significativas no tempo T30 em comparação ao T0 (inicial), o que sugere que as amostras permaneceram praticamente estáveis. Os dados podem ser encontrados na Tabela 8, mencionada anteriormente.

A Tabela 8 mostra que a área de histerese média dos sérums A e C apresentou alterações estatisticamente significativas apenas no tempo T60 (após 60 dias), enquanto o sérum B não apresentou nenhuma alteração relevante, indicando uma boa estabilidade da formulação ao longo do período analisado. A formulação do sérum controle (AH), apresentou menor área de histerese comparado a todos os sérums contendo gel da alga, ou seja, menor tixotropia. Porém, vale destacar que, o ácido hialurônico também possui características viscoelásticas, ou seja, tem a capacidade de retornar ao seu formato original após uma deformação. (Martin, 2019). Ainda, observa-se que os sérums formulados com os extratos (sérum B e C) apresentaram, de maneira geral, uma ligeira redução na área de histerese em comparação ao sérum formulado sem a adição de extrato (sérum A), podendo sugerir que a adição do extrato pode reduzir o tempo necessário para que a estrutura da formulação se reestruture.

De modo geral, os sérums formulados com o gel da alga não apresentaram diferenças significativas na viscosidade e área de histerese entre si, destacando que ambos demonstraram comportamentos tixotrópicos, assim como o sérum controle.

### **5.5.3 pH das formulações**

Na Tabela 9 encontram-se os valores medidos de pH em relação às formulações de sérums com gel fluido de *K. alvarezii* e do sérum controle.

**Tabela 9.** Valores de pH das formulações medidos por um período de 60 dias.

Formulações	pH		
	T0	T30	T60
Sérum AH (controle)	5,03±0,003a	5,05±0,006a	5,05±0,006a
Sérum A	5,19±0,006b	5,20±0,006b	5,19±0,006b
Sérum B	5,23±0,006c	5,24±0,006c	5,23±0,010c
Sérum C	5,22±0,006d	5,21±0,006d	5,20±0,010d

Valores expressos como média ± DP. Letras iguais indicam semelhança estatística.

A pele apresenta pH levemente ácido, em uma faixa de 4,6 - 5,8 (Leonardi; Gaspar; Campos, 2002), isso se deve ao fato do qual o pH é desenvolvido pelo manto ácido da pele, que forma uma barreira protetora contra fatores externos que possam desequilibrar a flora natural da pele. Diante disso, analisando os valores de pH estabelecidos na Tabela 7, foi possível observar que as formulações se encontraram dentro da faixa ideal para o pH da pele, apresentaram-se praticamente constantes por um período de 60 dias, e sem alterações significativas. Não foi necessário o ajuste de pH da formulação sérum AH, diferente dos sérums A, B e C que sofreram ajustes no pH no tempo inicial (T0).

#### 5.5.4 Avaliação do ensaio microbiológico

Segundo a RDC nº 752/22, os parâmetros para controle microbiológico de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes classificados como "Tipo I" são: contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios, não mais que  $10^2$  UFC/g ou mL, sendo o limite máximo igual a  $5 \times 10^2$  UFC/g ou mL; ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1 g ou 1 mL; ausência de *Staphylococcus aureus* em 1g ou 1 mL; ausência de Coliformes totais e fecais em 1g ou 1 mL. Para cosméticos classificados como "Tipo II" são: contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios, não mais que  $10^3$  UFC/g ou mL, sendo o limite máximo igual a  $5 \times 10^3$  UFC/g ou mL; ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1 g ou 1 mL; ausência de *Staphylococcus aureus* em 1 g ou 1 ml; ausência de Coliformes totais e fecais em 1 g ou 1 mL (Anvisa, 2022).

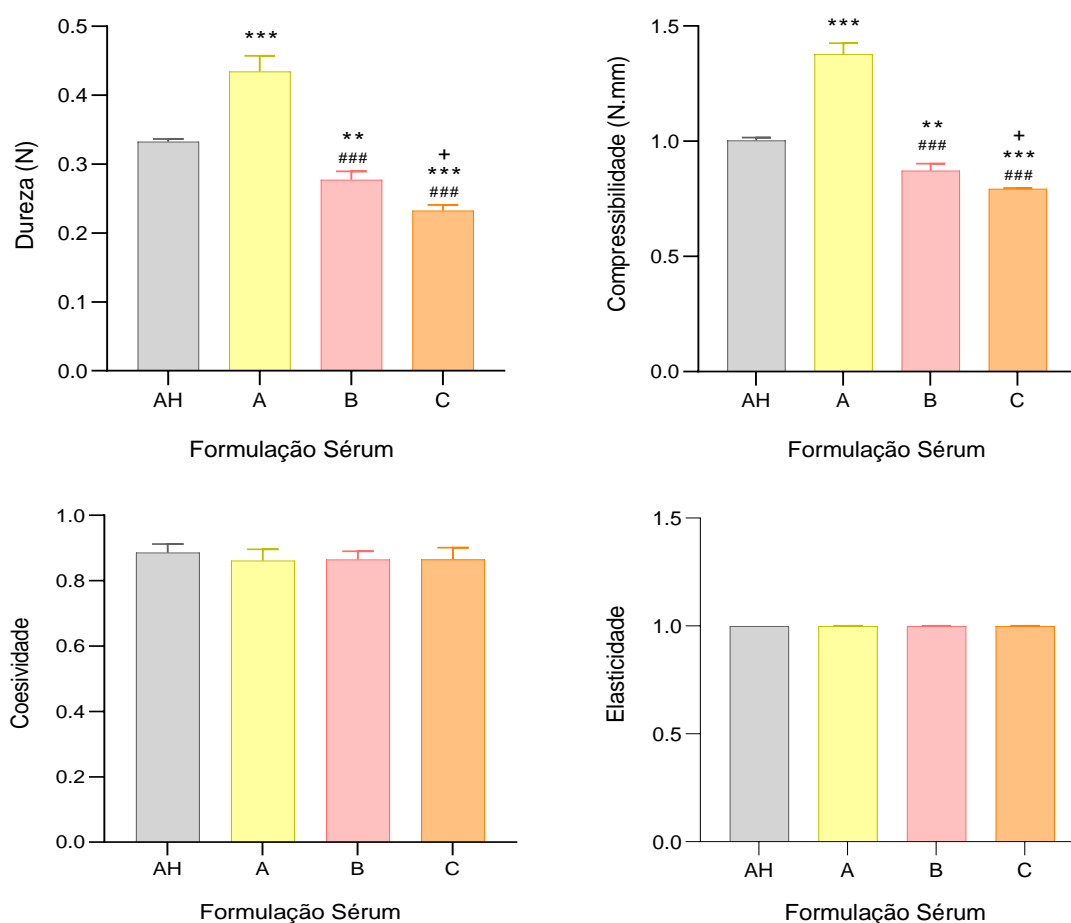
Foram realizados ensaios microbiológicos com os sérums contendo o gel da alga e o sérum controle para verificar a presença ou ausência de contaminação. Conforme os resultados da análise, não foram detectadas contaminações por *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Quanto aos microrganismos mesófilos, seguindo os parâmetros de contagem descritos na Farmacopeia Brasileira, se as placas de todas as diluições não apresentarem colônias, a contagem deve ser registrada como inferior a uma vez o fator da menor diluição correspondente. Assim, os resultados foram expressos como menor que 10 UFC/g ou mL, atendendo aos limites estabelecidos para microrganismos em cosméticos de tipos I e II.

## 5.6 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS

Os resultados para uma avaliação das propriedades mecânicas estão apresentados na Figuras 32.

**Figura 32.** Propriedades mecânicas do sêrum controle (Sêrum AH) e dos sêrums formulados à base de *K. alvarezii* (Sêrum A, B e C).



Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao sêrum controle (sêrum AH); ### $p < 0,001$  comparado ao sêrum A; + $p < 0,05$  comparado ao sêrum B, de acordo com one-way ANOVA seguido de post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A análise das propriedades mecânicas (dureza, coesividade, compressibilidade e elasticidade) de uma formulação é importante para quantificar a eficácia do produto cosmético na pele.

Na Figura 32, é possível observar diferenças nas propriedades de dureza e compressibilidade entre os sêrums. Todos os sêrums apresentaram diferenças

significativas em comparação ao s rum controle (AH). No entanto, os s rums formulados   base em gel de *K. alvarezii* contendo extrato hidroetanólico, s rums B e C, exibiram menor dureza e compressibilidade. Levando em consideração que a dureza se refere à capacidade máxima de um material resistir à deformação causada pela compressão, enquanto a compressibilidade representa o trabalho necessário para comprimir a formulação (Prado, 2013), pode indicar que os s rums B e C possuem maior facilidade de aplicação e espalhabilidade. O s rum A apresentou propriedades de dureza e compressibilidade significativamente diferentes em relação aos s rums B e C, apesar de sua formulação base serem semelhantes, sugerindo que a adição dos extratos na formulação possivelmente influenciou nessas propriedades. Quanto   coesividade, as formulações não apresentaram diferença significativa, o que sugere que tanto o s rum controle quanto os s rums   base de *K. alvarezii* possuem boa aderência à pele, isso está ligado à adesão da formulação ao substrato biológico, o que, por sua vez, contribui para um maior tempo de retenção da formulação dos s rums no local de aplicação.

Além disso, as formulações apresentaram similaridade na propriedade de elasticidade, sugerindo que as formulações com algas têm tambm capacidade elástica e de reestruturação, semelhante   formulação contendo ácido hialurônico.

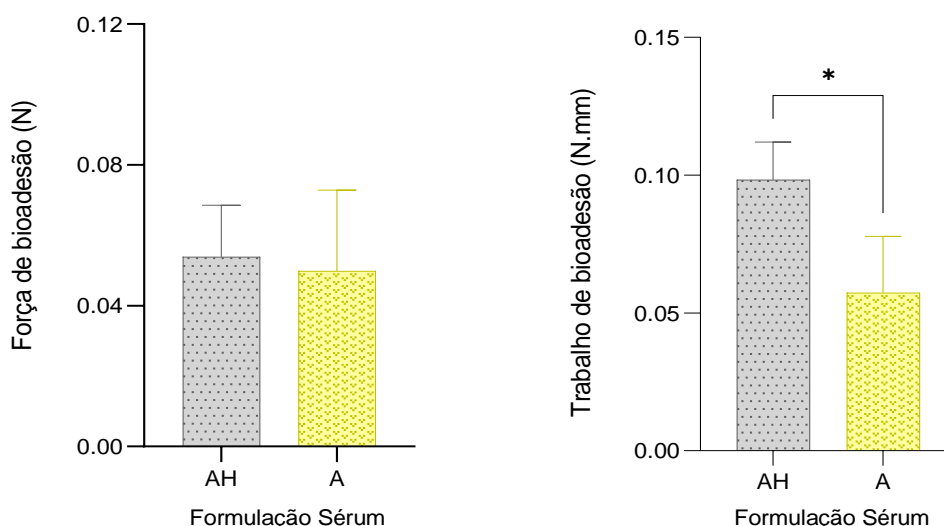
## 5.7 AVALIAÇÃO DA FORÇA DE BIOADESÃO

A bioadesão está relacionada à condição pelo qual dois materiais, sendo pelo menos um de origem biológica, permanecem juntos por um período prolongado devido à ação de forças interfaciais, como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e força de Van der Waals. Essa propriedade apresenta uma vantagem significativa, pois os sistemas bioadesivos podem prolongar o tempo de permanência do produto na área de aplicação, reduzindo a frequência de aplicação (Prado, 2013; Calixto, 2013; Carvalho *et al.*, 2013).

Para a realização do ensaio, foram escolhidos apenas dois s rums, o s rum AH, como s rum controle, e o s rum A (sem extrato), como s rum teste, para avaliarmos, assim como no ensaio *in vivo*, apenas o s rum   base do gel da alga, devido a não apresentar maiores interferências na bioadesão da formulação com alga, já que como sugerido nos resultados de propriedades mecânicas, a presença do extrato hidroetanólico na formulação pode influenciar na propriedade.

A força e o trabalho de bioadesão dos sérums controle e o formulado à base de alga, sérum A, encontra-se na Figura 33.

**Figura 33.** Força e trabalho de bioadesão do sérum formulado à base de *K. alvarezii* (A) e sérum controle (AH).



Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \* $p < 0,05$  comparado ao grupo controle (sérum AH), de acordo com t- test ( $p < 0,05$ ).

As formulações de sérum não apresentaram diferenças significativas em relação à força bioadesiva. Contudo, ainda foi possível observar uma ligeira diminuição na força de bioadesão do sérum formulado com a alga quando comparado ao sérum controle. Conseqüentemente, o trabalho de bioadesão, ou seja, a energia necessária para destacar a formulação de sérum A da pele, demonstrou ser significativamente menor quando comparado com o sérum controle.

## 5.8 ANÁLISE DA AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA HIDRATAÇÃO CUTÂNEA

O estudo foi realizado visando avaliar a influência da alga *Kappaphycus alvarezii* na hidratação da pele. A alga foi adicionada à formulação em uma concentração de 1,5%, seguindo a mesma concentração utilizada do polímero para a formulação utilizada como controle. Foram escolhidos para o ensaio dois sérums: A e AH.

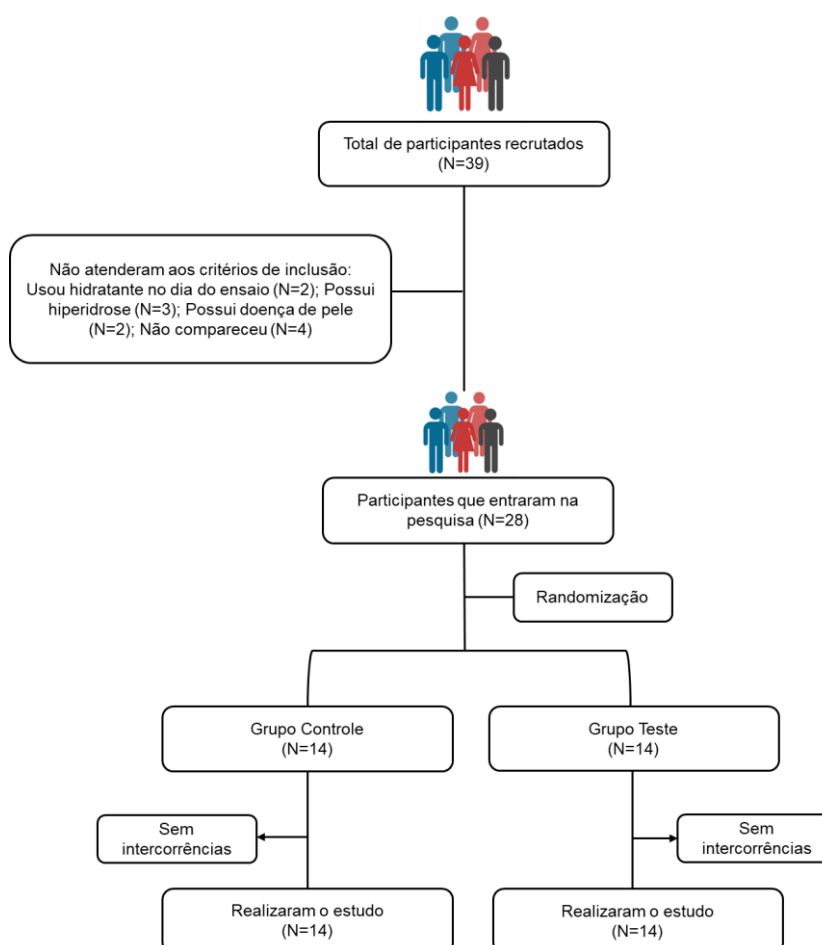
Os estudos realizados mostraram que essa alga também possui potencial antioxidante (Figuras 23 e 24). Para que não houvesse maiores interferências na

análise principal do estudo que é a avaliação da influência do gel da alga na pele, foi selecionado para o ensaio, além do s erum controle (s erum AH), o s erum teste (s erum A) somente com o gel fluido da alga e sem a presença do extrato hidroetanólico.

### 5.8.1 Características dos participantes do estudo

Foram recrutados 39 participantes. No entanto, a partir das análises das respostas do questionário aplicado (Apêndice C), 11 participantes selecionados não foram incluídos devido a relatos de doença de pele, hiperidrose palmar, uso de hidratante no dia do ensaio e não comparecimento à pesquisa (Figura 34). Os 28 participantes incluídos no estudo foram então randomizados e distribuídos em dois grupos com 14 participantes cada: grupo controle (s erum AH) e grupo teste (s erum A).

**Figura 34.** Fluxograma da seleo de participantes para o estudo *in vivo*.



O estudo foi concluído com 14 participantes no grupo controle (50%) e 14 participantes no grupo teste (50%), sem que houvesse nenhuma intercorrência durante a pesquisa.

Os dados sociodemográficos dos 28 participantes que foram incluídos no estudo estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Dados sociodemográficos coletados dos participantes.

Participantes	Grupo Controle (n=14)	Frequência (%)	Grupo Teste (n=14)	Frequência (%)	Valor P
<b>Sexo</b>					
Feminino	11	78,6	12	85,7	P>0,999*
Masculino	3	21,4	2	14,3	
<b>Raça</b>					
Branca	14	100	13	92,9	P>0,999*
Parda	0	0	1	7,1	
<b>Faixa Etária</b>					
18-30	7	50	4	28,6	P=0,097*
31-40	5	35,7	3	21,4	
41-50	0	0	5	35,7	
51-60	2	14,3	2	14,3	

\*Valor-P calculado pelo teste Exato de Fisher ( $p<0,05$ ), sem diferença significativa.

A média de idade dos participantes selecionados para o estudo foi de 36,1 anos (DP=11,81), variando entre 18 e 60 anos. Em relação ao sexo, no geral, 82% dos participantes eram do sexo feminino e 18% do sexo masculino (Tabela 9).

A maioria dos participantes que participaram do estudo foi, portanto, do sexo feminino, de raça branca e faixa etária entre 18 e 30 anos. Além do sexo, raça e idade, foram levados em consideração o tipo de pele e a frequência do uso de produtos hidratantes na região das mãos com base nas respostas dos participantes (Tabela 11).

**Tabela 11.** Tipo de pele e frequência do uso de produtos hidratantes nas mãos com base nas respostas dos participantes do estudo.

Participantes	Grupo Controle (n=14)	Frequência (%)	Grupo Teste (n=14)	Frequência (%)	Valor P
<b>Tipo de pele das mãos</b>					
Normal	10	71,4	8	57,1	P=0,695*
Seca	4	28,6	6	42,9	

**Frequência do uso de produtos hidratantes nas mãos**

Diariamente	5	35,7	5	35,7	P=0,871*
De vez em quando	7	50,0	6	42,9	
Nunca	2	14,3	3	21,4	

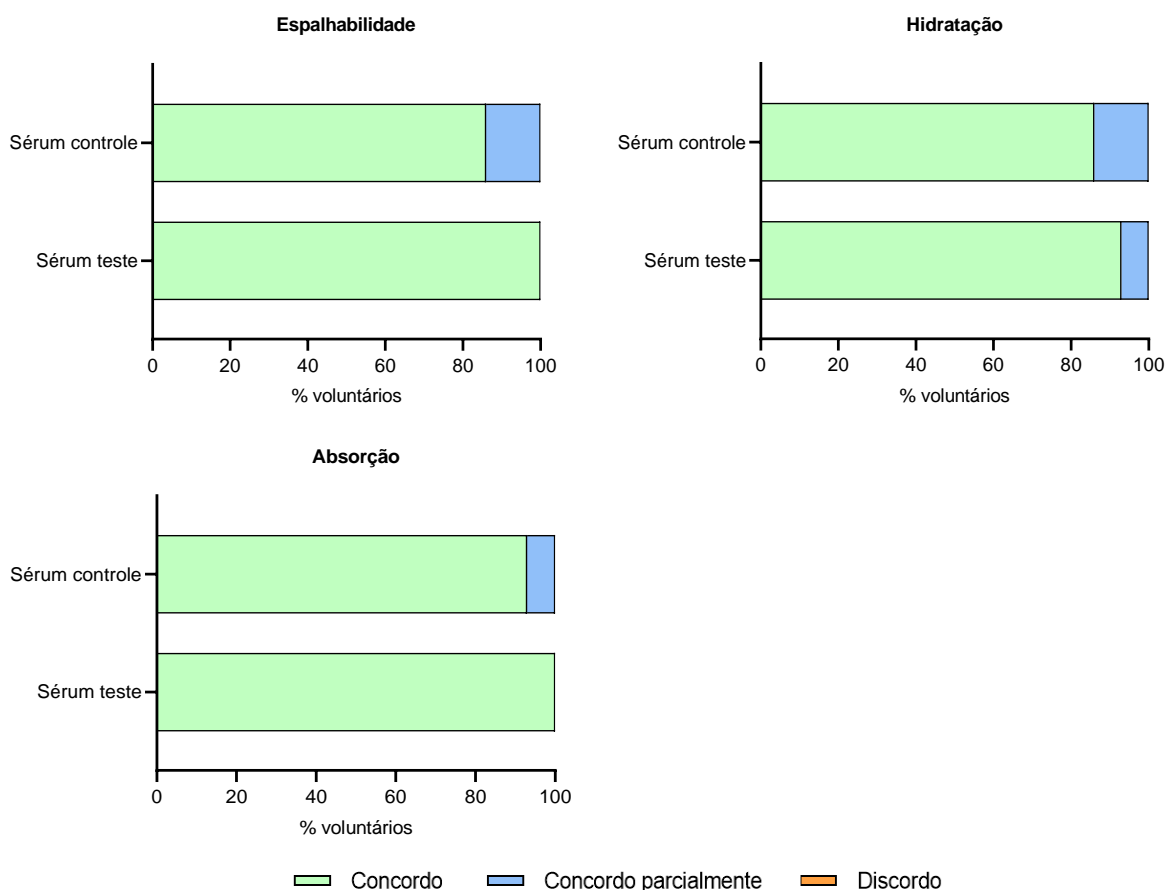
\*Valor-P calculado pelo teste Exato de Fisher ( $p < 0,05$ ), sem diferença significativa.

Com base nas respostas fornecidas pelos participantes da pesquisa, observou-se que a maioria dos participantes, tanto do grupo controle, quanto do grupo teste, quando perguntado “descreva o seu tipo de pele da região das mãos” responderam predominantemente como pele do tipo normal. Em relação à frequência de uso de produtos hidratantes na região das mãos, a maioria relatou utilizá-los "de vez em quando" (Tabela 11), resposta que se alinha com uma pesquisa realizada em 2015 (Martins, 2015), onde demonstrou que produtos específicos para mãos e pés geralmente apresentam menor frequência de uso pela população.

Além do questionário de coleta de dado (Apêndice C), foi aplicado no final da pesquisa um questionário sobre característica e sensorial dos produtos cosméticos, sérums (Apêndice D), o que permitiu questionar os participantes sobre características visuais, como aspecto do produto, fluidez e melhora na aparência da pele, e características sensoriais, como espalhabilidade, hidratação e absorção, além de ter conhecimento sobre a aceitação do produto.

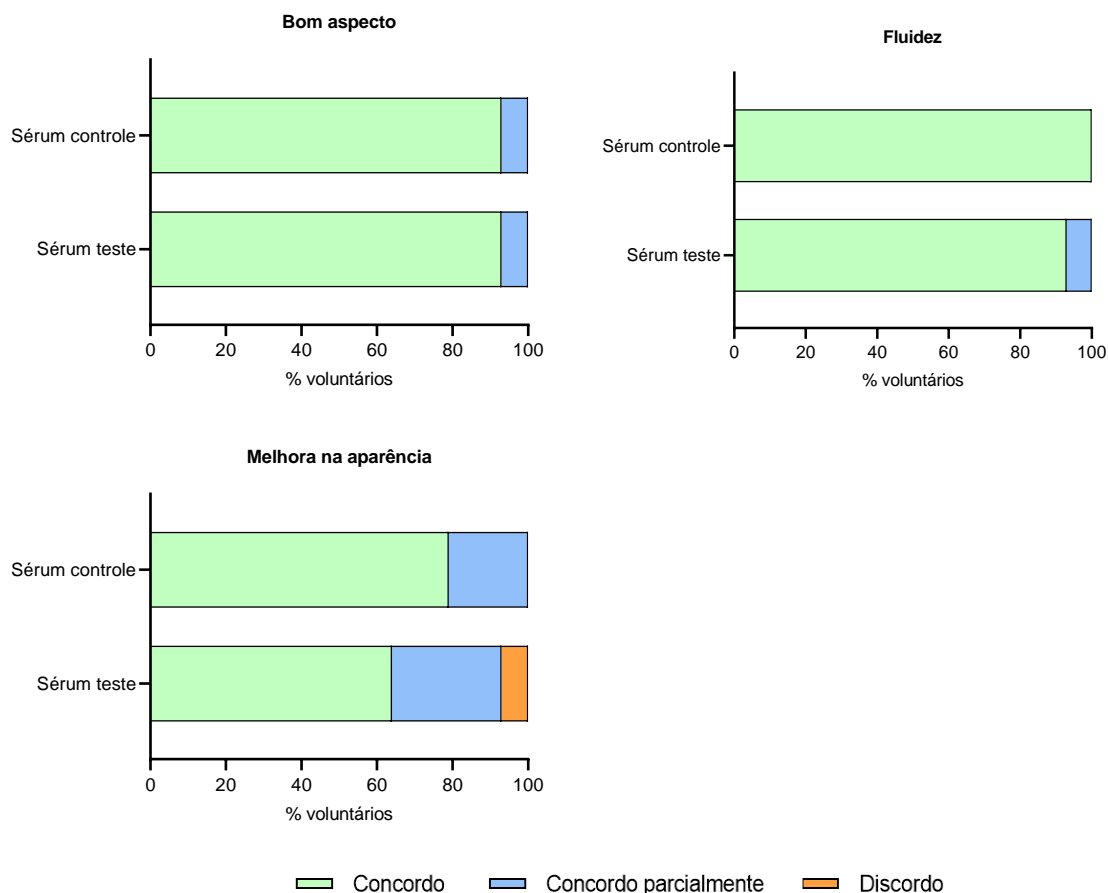
Sabe-se que as propriedades mecânicas, reológicas e bioadesivas de uma formulação influenciam na avaliação das características de um produto (Jones; Woolfson; Brown, 1997). Embora, os estudos de propriedades mecânicas (Figura 32) e força bioadesiva (Figura 33) tenham demonstrado que, ambos os sérums utilizados no grupo controle e no grupo teste possuam aspectos semelhantes, para uma melhor comparação e assertividade de ambos os produtos cosméticos formulados, os aspectos questionados foram avaliados e tratados separadamente para cada grupo, conforme apresentado nas Figuras 35 e 36.

**Figura 35.** Avaliação sensorial em relação aos parâmetros de espalhabilidade, hidratação e absorção dos séruns do grupo controle e teste.



Após a aplicação dos séruns, foi possível identificar uma pequena diferença quanto ao parâmetro hidratação, sendo avaliado que, o sérum teste proporciona uma melhor sensação de hidratação na pele em comparação ao sérum controle. Nos parâmetros de espalhabilidade e absorção, observou-se que 86% e 93%, respectivamente, dos participantes do grupo controle, concordaram com as afirmações “o produto cosmético apresentou boa espalhabilidade” e “o produto cosmético absorveu rapidamente na pele”, em contrapartida aos participantes do grupo teste que concordaram 100% com as afirmações.

**Figura 36.** Avaliação visual dos parâmetros de aspecto do produto, fluidez e melhora na aparência da pele dos séruns do grupo controle e teste.



No entanto, não foi observada uma diferença significativa no parâmetro de “bom aspecto” entre os produtos cosméticos avaliados. Quanto à fluidez dos séruns, 93% dos participantes do grupo teste concordaram com a afirmação “o produto cosmético apresenta boa fluidez” ao avaliar o sérum teste. Já no parâmetro “melhora na aparência da pele”, identificou-se uma diferença com o sérum controle, sendo considerada ligeiramente melhor ao sérum teste nesse aspecto.

### 5.8.2 Avaliação da hidratação da pele dos participantes com a aplicação dos séruns

Inicialmente, foi medida a hidratação da pele, antes da aplicação dos séruns, baseando-se na medida da capacitância da superfície da pele, expressa em UA e

calculadas as médias dos valores obtidos para a palma e dorso das mãos dos participantes dos grupos controle e teste, conforme indicado na Tabela 12.

**Tabela 12.** Grau de hidratação (UA) da pele antes da aplicação dos séruns.

Participantes	Região da mão		Participantes	Região da mão	
	Palma	Dorso		Palma	Dorso
Grupo Controle (n=14)	47,3	45,9	Grupo Teste (n=14)	47,3	28,7
	39,5	41,4		31,1	44,4
	30,7	43,2		42,4	42,8
	44,6	58,4		29,2	52,9
	30,4	45,2		38,2	36,2
	25,4	29,6		25,4	43,6
	46,8	49,1		31,3	41,2
	58,4	52,8		40,3	48,6
	26,6	42,9		31,4	39,4
	68,3	46,4		31,0	41,7
	41,4	46,7		36,3	43,2
	47,9	37,2		44,4	50,7
	36,9	46,1		21,6	28,8
	52,7	38,4		26,4	48,6
<b>Média</b>	42,6	44,5	<b>Média</b>	32,9	42,2

Em relação a pele das mãos, há diferenças significativas entre o dorso e a palma. O dorso é fino, com pouco tecido adiposo e poucos pelos, enquanto a palma é mais grossa, rica em tecido adiposo, possui glândulas sudoríparas écrinas, mas não tem pelos e carece de glândulas sebáceas. Essas características, somadas a um pH menos ácido, enfraquecem o manto ácido protetor e comprometem a camada hidrolipídica, reduzindo a capacidade de retenção de umidade. Conseqüentemente, as mãos ficam mais suscetíveis à desidratação e ressecamento (Eucerin®, s.d.).

Considera-se que valores inferiores a 40 UA indicam pele muito seca, enquanto valores entre 40 e 55 UA indicam pele seca. Valores superiores a 55 UA indicam uma pele com hidratação normal (Duarte, 2013). Dessa forma, considerando os valores do grau de hidratação, verificou-se que, nos tempos basais (antes da aplicação do sérum), o grupo controle apresentou uma média de 42,6 UA (DP=12,3) e 44,5 UA (DP=6,9) na palma e no dorso da mão, respectivamente, indicando pele seca em ambas as regiões. No grupo teste, a média foi de 32,9 UA (DP=6,6) na palma da mão, indicando pele muito seca, e 42,2 UA (DP=7,2) no dorso, indicando pele seca. Esses resultados, apresentados na Tabela 12, acabam contrastando com a declaração dos participantes (Tabela 11) sobre o seu tipo de pele na região das mãos,

uma vez que 71,4% do grupo controle e 57,1% do grupo teste declararam ter pele normal.

É importante destacar que esses níveis de hidratação podem estar diretamente relacionados a fatores que interferem no filme hidrolipídico da pele. Características individuais, como idade, gênero e a região do corpo, também exercem influência. Quanto mais equilibrado estiver o filme hidrolipídico, maior será o teor de água na pele, aproximando-se de uma condição de hidratação adequada (Manual de Operação, 2009).

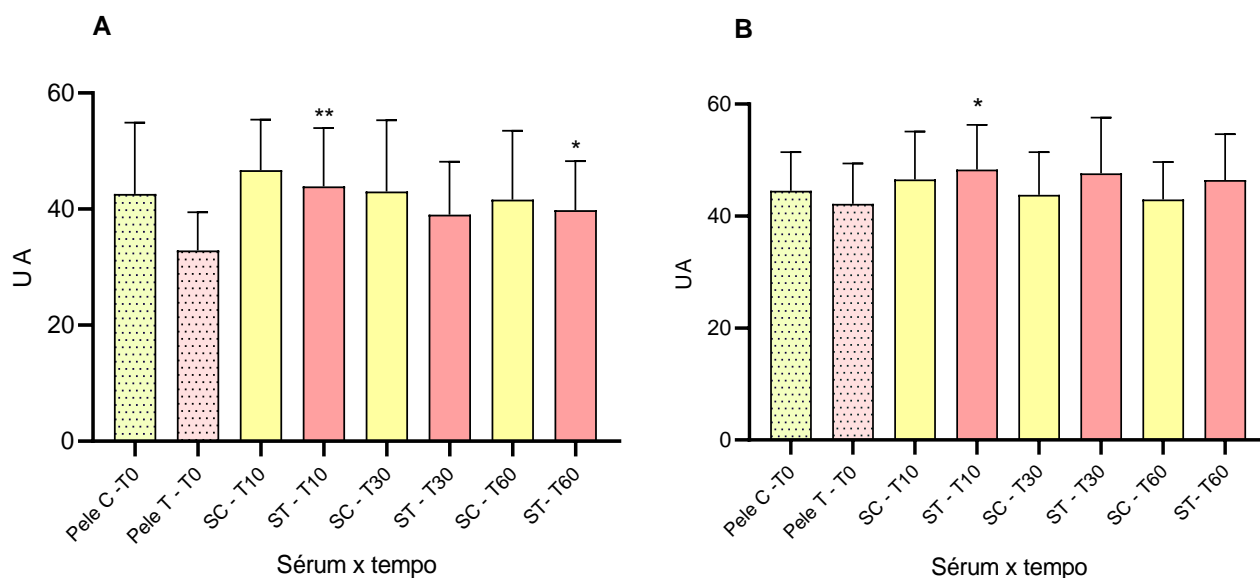
Em um dos questionários aplicados (Apêndice C), os participantes foram questionados sobre exposição diária à radiação solar, uso de medicamentos quimioterápicos tópicos e tratamentos para lesões pré-cancerígenas e cancerígenas nas mãos. Nenhum participante relatou estar em tratamento para lesões ou fazendo uso de medicamentos quimioterápicos. No entanto, em relação à exposição solar, 39,3% dos participantes responderam “sim”, conforme apresentado na Tabela 13. Além disso, alguns participantes chegaram a mencionar o uso de luvas devido ao trabalho e, ocasionalmente, o uso de álcool em gel, destacando-se como um fator influente na condição da pele.

**Tabela 13.** Condições dos participantes em relação à uso de medicamento quimioterápico, exposição solar e procedimentos.

<b>Condição</b>	<b>Participantes</b>	<b>Frequência (%)</b>
<b>Exposição à radiação solar diariamente</b>		
Sim	11	39,3
Não	17	60,7
<b>Fez uso de medicamento quimioterápico tópico</b>		
Sim	0	0
Não	28	100
<b>Já realizou tratamento para lesões pré-cancerígenas e cancerígenas nas mãos</b>		
Sim	0	0
Não	28	100

Na Figura 37, observa-se o efeito dos sérums sobre a pele da palma e do dorso das mãos em relação ao nível de hidratação, após 10, 30 e 60 minutos da aplicação, comparado ao tempo basal (antes da aplicação) dos grupos controle e teste.

**Figura 37.** Hidratação cutânea da palma (A) e dorso da mão (B) no tempo zero (basal) e após 10, 30 e 60 minutos da aplicação dos séruns controle (sérum AH) e teste (sérum A).



Pele C-T0: basal grupo controle; Pele T-T0: basal grupo teste; SC: formulação sérum controle (AH); ST: formulação sérum teste (A). Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Diferença significativa \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  comparado ao respectivo valor basal do grupo teste (Pele T-T0), de acordo com one-way ANOVA seguido de post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

De acordo com os resultados apresentados, após 2 horas da aplicação da formulação SC, é possível observar um ligeiro aumento no grau de hidratação da pele após 10 minutos, porém não foi observado um aumento significativo em relação ao valor basal. Por outro lado, a formulação ST levou a um aumento significativo no grau de hidratação tanto na palma quanto no dorso da mão após 10 minutos de aplicação, enquanto, após 2 horas, esse efeito significativo foi observado apenas na palma. Além disso, mesmo de forma não significativa ( $p > 0,05$ ), a formulação ST demonstrou um aumento do grau de hidratação na região do dorso quando comparada à SC.

Esses resultados sugerem que os componentes presentes na alga em estudo podem potencializar a retenção do conteúdo de água na superfície cutânea mais ligeiramente, contribuindo para a hidratação. Ainda, a região das mãos possui uma característica intrínseca, pois possui uma menor quantidade de lipídios e uma reduzida capacidade de fixar umidade em comparação com outras partes do corpo. Isso pode explicar a oscilação no grau de hidratação observada entre os tempos analisados. Para um melhor resultado, entende-se que, o uso dos séruns deveria ser

prolongado, considerando que, como ocorre com a maioria dos produtos, a eficácia tende a aumentar com maior tempo de uso.

## 6 CONCLUSÃO

Os extratos liofilizados de algas frescas demonstraram bons resultados em relação à atividade antioxidante. As formulações de sérums apresentaram comportamento reológico do tipo pseudoplástico e tixotrópico, compatível com as finalidades propostas. Além disso, não houve maiores diferenças significativas entre as formulações nas propriedades de elasticidade e coesividade. Os resultados do estudo *in vivo* a curto prazo mostraram que, após 2 horas de aplicação, a formulação de sérum teste (sérum A) apresentou um efeito hidratante mais acentuado que a formulação sérum controle (sérum AH), com aumento significativo no grau de hidratação na região da palma das mãos. Dessa forma, o produto cosmético desenvolvido com a alga *Kappaphycus alvarezii* apresenta-se eficaz na hidratação da pele.

## 7 REFERÊNCIAS

ABIHPEC. A Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Panorama do setor, set., 2024.

ADAMS, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*, (4th ed.), Allured Publishing Corporation, Carol Stream.

ALGAS TECH. Macroalgas: A espécie *Kappaphycus alvarezii* – Cultivo e Aplicações (2024).

ALMEIDA, P. F. *Aplicação de gelatina obtida de subproduto animal como substituto parcial de gordura em spread de chocolate*. Tese de Doutorado. Faculdades de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. (2016).

ALVES, J. M. L. Fitol: revisão bibliográfica e síntese de derivados. 2022. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.

AMARAL, KARINA F.V.; SOUZA, RAFAELA B.A. A Importância da Hidratação Cutânea para melhor tratamento das Disfunções Estéticas. Ver. Mult. Psic. V. 13, n. 48, p. 763-771, 2019.

ANVISA. Resolução Diretoria do Colegiado – RDC nº 630, de 10 de março de 2022.

ANVISA. Resolução Diretoria do Colegiado – RDC nº 752, de 19 de setembro de 2022.

AUN, N.R.; HENRIQUE, A.L.B. *Dermocosméticos e dermomakes: cosmético ou medicamento?* Migalhas On line. 2023.

BARBA, C.; MÉNDEZ, S.; RODDICK-LANZILOTTA, A.; KELLY, R.; PARRA, J.L.; CODERCH, L. (2008). Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool. *Skin Res. Technol.*, 14: 243-248.

BARBA, P. L. Un alga asiática que viajó de Venezuela a Brasil, ¿el próximo gran estimulante de cultivos? *El País*, 2024.

BARONI, ADONE *et al.* Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatology*, v. 30, p. 257-262, 2012.

BASKARARAJ, S. *et al.* Formulation and characterization of folate receptor-targeted PEGylated liposome encapsulating bioactive compounds from *Kappaphycus alvarezii* for cancer therapy. *Biotech*, (2020).

BEMILLER, JAMES N. (2008). *Gluten-Free Cereal Products and Beverages // Hydrocolloids*, p. 203–215.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. Nutr. Scielo Brasil*, (1999).

- BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M. Introdução: *As algas do Brasil*. In: FORZZA, R.C., org., et al. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Catálogo de plantas e fungos do Brasil (online). Rio de Janeiro, 2010. p. 1-13. vol. 1.
- BORGES, A.A. et al. *Caracterização histomorfológica do sistema tegumentar auricular de cateto* (Pecari tajacu Linnaeus, 1758). Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA – Mossoró, RN. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.69, n.4, p.948-954, 2017.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2004). Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. 1ª ed., v. 1. Brasília.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2019). Farmacopéia Brasileira. 6ª ed., v.1. Brasília.
- CALDEIRA, L. R.; ISAAC, V. L. B. A Influência dos Cosméticos no Bem-estar e na Autoestima. *Cosmetics and Toiletries Brasil*, v. 32, 2020.
- CALIXTO G. M. F. *Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos contendo peptídeo análogo à adesina do Streptococcus mutans*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Araraquara, 2013.
- CAMPOS, P. M. B. G. M; MERCÚRIO, D. G. Formas Cosméticas ( Série Fundamentos da Cosmetologia). *Cosmetics and Toiletries Brasil*, v. 25, 2014.
- CARPENA, M. et al. Biological properties and potential of compounds extracted from red seaweeds. *Phytochem Rev* (2022).
- CARVALHO FC, CALIXTO G, HATAKEYAMA IN, LUZ GM, GREMIÃO MP, CHORILLI M. Rheological, mechanical, and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm* 2013, 39(11):1750-7.
- CARVALHO, A. J. F. *Caracterização de Géis Termorreversíveis de SEBS*. USP, Instituto de Química, 2000.
- CHANG, V.S.; OKECHUKWU, P.N; TEO, S.S. The properties of red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) and its effect on mammary carcinogenesis. *Biomed Pharmacother*, 2017. p. 296-301.
- CHERIAN, C.; VENNILA, J.; SHARAN, L. *Marine Bromophenols as an effective inhibitor of virulent proteins (Peptidyl Arginine Deiminase, Gingipain R and Hemagglutinin A) in Porphyromas gingivalis*. Archives of Oral Biology, 2019.
- CHU, DH. Development and Structure of Skin. In: Wolff K, Goldsmith L, Katz S, Gilchrest BA, Gilchrest B, Paller A, et al. Editors. Fitzpatrick’s Dermatology in *General Medicine*, 7th ed, V.1. New York: The MacGraw-Hill Companies.Inc; p. 57-72, 2008.
- COELHO, C. F. *Atividade antimicrobiana de extratos biológicos provenientes de actinomicetos de diferentes biomas brasileiros*. Trabalho de Conclusão de Curso,

Bacharel em Ciências Ambientais ao Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema, 2023.

DESAI, P. S.; KUMAR, M. S. Marine antioxidants and their role in improving skin. *Marine Antioxidants*, Academic Press, p. 327-339, 2023.

DOLOROSA, M.T. et al. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*, 2020.

DUARTE, Y. M. B. Métodos biofísicos não invasivos para avaliação da eficácia de cosméticos. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. Dissertação de Mestrado, 2013.

Eucerin®. Entendendo a pele – Em partes diferentes do corpo. Website, s.d.  
FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The state of world fisheries and aquaculture: Sustainability in Action*. Rome, 2020.

FAYAZ, M., et al., Chemical Composition, Iron Bioavailability, and Antioxidant Activity of *Kappaphycus alvarezzi* (Doty). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p. 792-797, 2005.

FLYNN, T.C.; PETROS, J.; CLARK, R. E.; VIEHMAN, G. E. Dry skin and moisturizers. *Clin. Dermatol.* v.19, p. 387-392, 2001.

FRIES, A.T.; FRASSON, A. P. Z. *Avaliação da Atividade Antioxidante de Cosméticos Anti- Idade*. Revista Contexto & Saúde, Ijuí, v. 10, n. 19, 2010.

GALEMBECK F, CSORDAS Y. *Cosméticos: a química da beleza*. On-line. S.d.  
GALINDO, M. S. V. *Desenvolvimento de uma Metodologia para Determinação da Viscosidade de Solos*. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. 2013.

GARCÍA-POZA, S.; LEANDRO, A.; COTAS, C.; COTAS, J.; MARQUES, J.C.; PEREIRA, L.; GONÇALVES, A.M.M. The Evolution Road of Seaweed Aquaculture: Cultivation Technologies and the Industry 4.0. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17, 6528.

GENU® Ltd., 2001. Carrageenan. GENU, the Copenhagen Pectin Factory, Ltd.

GISLAINE RICCI LEONARDI, G.R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. *An. Bras. Dermatol.* 77 (5). Scielo Brasil, 2002.

GOIS, C.M.D et al. Avaliação da atividade antioxidante do extrato de *Hibiscus Sabdariffa* *in vitro* para a formulação de sérum antiaging. *e-Acadêmica*, v.3, n.3, 2022.

GOURNAY, A.; NAVARRO, S.; MATHIEU, J.; RIVIÈRE, M. Retenção de água pelo estrato córneo. *Cosmet. Toiletr.*, v.15, n.2, p. 70-73, 2003.

GROELER, E. K. Estudo de Processos de extração de Cumarina em *Mikania glomerata* (GUACO). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFP. Dissertação de Mestrado, 2020.

HARGREAVES, P. I. *Produção de etanol a partir de Kappaphycus alvarezii - Biocombustível de terceira geração*. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Escola de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro, p. 20-33, 2013.

HAROUN, M. T. Dry in the elderly. *Geriat. Aging*. v. 6, n. 6, p. 41-44, 2003.

HARRIS, M. I. N. C. *Pele: do nascimento à maturidade*. São Paulo, 2016.

HURTADO, A.Q. 2022. Genetic resources for farmed seaweeds – Thematic background study. Rome. FAO.

ISLAM, Md Torequl et al. Phytol in a pharma-medico-stance. *Chemico-Biological Interactions*, [s. l.], v. 240, p. 60–73, 2015.

JAIN, N.; CHAUDHRI, S. K. (2009). *História dos cosméticos*. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 3(3), 164.

JESUS RAPOSO, M. F.; MORAIS, A. M; MORAIS, R. M. S. C., Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Mar. Drugs*, p. 2967-3028, 2015.

JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; BROWN, A. D. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. *International Journal of Pharmaceutics* 1997, v.151, p.223–233.

KALASARIYA, H.S.; YADAV, V.K.; YADAV, K.K.; TIRTH, V.; ALGAHTANI, A.; ISLAM, S.; GUPTA, N.; JEON, B. H. Seaweed-Based Molecules and Their Potential Biological Activities: An Eco-Sustainable Cosmetics. *Molecules*, 2021: 26(17):5313.

KANATT, S.R. Antioxidants from the red algae *Kappaphycus alvarezii*. *Marine Antioxidants*, Academic Press, p. 457-472, 2023.

KARTHIKEYAN, K.; SHANMUGAM, M. The effect of potassium-rich biostimulant from seaweed *Kappaphycus alvarezii* on yield and quality of cane and cane juice of sugarcane var. Co 86032 under plantation and ratoon crops. *Journal of Appl Phycol* 2017: 3245-3252.

KOLIMI, P.; NARALA, S.; YOUSSEF, A. A. A.; NYAVANANDI, D.; DUDHIPALA, N. A. Systemic review on development of mesoporous nanoparticles as a vehicle for transdermal drug delivery. *Nanotheranostics* 2023; 7(1):70-89.

LEIKEIM, A. *Vascularization Strategies for full-thickness skin equivalents to model melanoma progression*. Doctoral thesis for a doctoral degree at the Graduate School of Life Sciences Julius-Maximilian-Universität Würzburg, 2021.

LEMOS, C.N.; PEREIRA, F.; DALMOLIN, L.F.; CAMILA, C.; RAMOS, D.N.; LOPEZ, R. F.V. (2018). Nanoparticles influence in skin penetration of drugs: *in vitro* and *in vivo* characterization. In: *Nanostructures for the Engineering of Cells, Tissues and Organs* (ed. A.M. Grumezescu), 187 – 248. *William Andrew Publishing*.

LIMACO, I. A. *Tolerância de Kappaphycus alvarezii frente a variações de salinidade, luz e temperatura em laboratório*. Trabalho de Conclusão de Curso da Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2018.

LIU X., KRUGER P., MAIBACH H., COLDITZ P.B., ROBERTS M.S. Using skin for drug delivery and diagnosis in the critically ill. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014; 77:40–9.

LIU, JK. Natural Products in Cosmetics. *Nat. Prod. Bioprospect.* 12, 40 (2022).

LIU, L. et al. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microb Cell Fact.* 2011 Nov 16;10:99.

LÓPEZ-HORTAS, L.; FLÓREZ-FERNÁNDEZ, N.; TORRES, M.D.; FERREIRA-ANTA, T.; CASAS, M.P.; BALBOA, E.M.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. Applying Seaweed Compounds in Cosmetics, Cosmeceuticals and Nutricosmetics. *Mar. Drugs* 2021, 19, 552.

MACHALAK, M. Plant-Derived Antioxidants: Significance in Skin Health and the Ageing Process. *Internacional J. Mol. Ciência.* 2022.

MALUF, L. Pele seca ou desidratada? Website. 2021.

MANUAL DE OPERAÇÃO. Instrumentos Combinados Corneometer® /Sebumeter® /Skin-pH-Meter® e o software para Windows. TECNOTESTS Produtos e Serviços Ltda. São Paulo, Brasil, 2009.

MARTIN, A.A. *Interações físico-químicas de sistemas contendo ácido hialurônico e galactomananas e a aplicação como um bioativo*. Tese de Doutorado em Química. Universidade Federal do Paraná, 2019.

MARTINS, J. *Como impulsionar o uso de cosméticos para as mãos e pés no Brasil*. Intel Group Ltd, 2015.

MCGRATH, J.A. AND UITTO, J. (2024). Structure and Function of the Skin. In *Rook's Textbook of Dermatology* (eds J. Barker, C. Griffiths, T. Bleiker, R. Simpson and W. Hussain).

MENDONÇA, G. A. *O potencial terapêutico do fitol: uma revisão bibliográfica*. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité- PB, 2020.

MENON, G. K. New insights into skin structure: scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54:S3–17.

MICHALAK, M. Antioxidantes derivados de plantas: importância na saúde da pele e no processo de envelhecimento. *Int. J. Mol. Sci.* 2022 , 23 , 585.

MORDOR INTELLIGENCE. *Tamanho do mercado comercial de algas marinhas e análise de participação – Tendências e previsões de crescimento (2023 – 2028)*, 2024.

MOSER, K; KRIWET, K.; KALIA, Y.N.; GUY, R.H., 2001. Enhanced skin permeation of a lipophilic drug using supersaturated formulations, *J Control. Release*, 73 (2), p. 245-253.

MURUGAN, A.; BANU, T; DURAIKANNU, S.L.; MUNISAMY, S.; VANNAMUTHU, K.; SIVAKUMAR, S. Fabrication and characterization of *Kappaphycus alvarezii* biomass based thin-film and its applications, *Food and Humanity*, V. 1, p.589-598, 2023.<sup>a</sup>

MURUGAN, S. S.; ANIL, S.; VENKATESAN, J. SEONG, G. H. Antioxidant properties of marine-derived polysaccharides and metal nanoparticles. *Marine Antioxidants*, 2023.<sup>b</sup>

NEVES, F. A. S. *Análise do potencial de micropropagação de Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Gigartinales) utilizando fitorreguladores e substâncias bloqueadoras das fibras do fuso*. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica. Dissertação do Curso da Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas – PPGBFAP, p.19-21. Florianópolis, 2018.

NIKAEDO, P. H. L.; AMARAL, F. F.; PENNA, A. L. B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado protéico de soro e misturas de gomas carragena e guar. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* p. 40, 2004.

PANGESTUTI, R.; SHIN, K.H.; KIM, S.K. *Anti-Photoaging and Potential Skin Health Benefits of Seaweeds*. *Mar. Drugs*, 2021.

PAPITHA, R. et al. In vitro Antioxidant and Cytotoxic Capacity of *Kappaphycus alvarezii* Successive Extracts. *Current Science*, 2020.

PRADO, A. H. *Desenvolvimento e caracterização de sistemas líquido cristalinos para incorporação de p-metoxicinamato de octila*. Trabalho de Conclusão de Curso Graduação em Farmácia-Bioquímica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Araraquara, 2013.

RAJASULOCHANA, P.; KRISHNAMOORTHY, P.; DHAMOTHARAN, R. *Experimental studies to determine various vitamins available in Kappaphycus alvarezii*. 2013.

RAWLINGS, A. V., & HARDING, C. R. (2004). *Moisturization and skin barrier function*. *Dermatologic Therapy*, 17(s1): 43–48.

RAWLINGS, A.V.; CANESTRARI, D.A.; E. DOBKOWSKI, B. (2004), Tecnologia de hidratante versus desempenho clínico. *Dermatologic Therapy*, 17: 49-56.

RAWLINGS, A.V.; MATTS, P. J. Stratum corneum at the molecular level: an update in relation to dry skin cycle. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 1099-1110.

REBELLO, T. *Guia de produtos cosméticos*. 12.ed.rev.ampl. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2017.

REIS, Y. L. dos. *Caracterização de óleos vegetais com potencial uso cosmético*. 2022. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2022.

RIBEIRO, C. *Cosmetologia aplicada a Dermoestética*. 2ª Ed, Pharmabooks Editora, 2010.

ROCHA, F. D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA, V. L. (2007). Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. *Revista Brasileira De Farmacognosia-brazilian Journal of Pharmacognosy – Rev. Bras. Farmacogn* 17 (4).

RUPERT R., RODRIGUES K.F., THIEN V.Y., YONG WTL. Carrageenan From *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae): Metabolism, Structure, Production, and Application. *Front Plant Sci*. 2022; 13:859635.

SATOR, P.-G., SCHMIDT, J. B., & HÖNIGSMANN, H. Comparison of epidermal hydration and skin surface lipids in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2003; **48**: 352–358.

SCHRAMM, G. *Reologia e Reometria: Fundamentos Teóricos e Práticos*. 2 ed. São Paulo: Artliber, 2006.

SEGRE, J. A. (2006). Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. *J Clin Invest.* ; 116(5) :1150-1158.

SEPULVEDA, M. *Maricultura da macroalga Kappaphycus alvarezii como suporte ao desenvolvimento socioeconômico no litoral do estado do Rio de Janeiro*. Aquaculture Brasil. 2022.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda 1995, v.62, n.6, p. 1315S-1321S.

SIGNORINI, J. L; SIGNORINI, S, L. *Atividades Físicas e Radicais Livres. Aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos*. (2017).

VERDIER-SÉVRAIN, S., & BONTÉ, F. (2007). Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *J Cosmet Dermat* 2007; **6**: 72–85.

WANYONYI, S. et al., *Kappaphycus alvarezii as a Food Supplement Prevents Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats*. *Nutrients*, 2017.

WEBBER, V. *Extração e Caracterização de Carragenana obtida de Kappaphycus alvarezii*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina-Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. 2010.

ZAMBON, A. P. L. B. Influência da associação de filtros solares sobre a estabilidade, liberação, permeação e retenção cutânea do p-metoxicinamato de octila em formulações fotoprotetoras. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2011.

ZHANG, Q. et al. *Kappaphycus alvarezii* Compound Powder Prevents Chemotherapy-Induced Intestinal Mucositis in BALB/c Mice. *Nutrition and Cancer*, 2022: p. 1-12.<sup>a</sup>

ZHANG, Q. et al. Sun-Dried and Air-Dried *Kappaphycus alvarezii* Attenuates 5-Fluorouracil-Induced Intestinal Mucositis in Mice. *Nutrition and Cancer*, p. 2113-2121, 2022.<sup>b</sup>

## APÊNDICE

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE)

### UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO – UNAERP

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (a) senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, o pesquisador responsável pelo estudo e a equipe desta pesquisa estarão disponíveis para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo. Esse estudo tem como objetivo investigar a ação da alga marinha *Kappaphycus alvarezii* na hidratação da pele através de uma formulação cosmética de sérum, contendo o gel fluido da macroalga.

O (a) senhor (a) receberá as informações detalhadas sobre a pesquisa para que decida se irá ou não participar. Após a leitura completa deste termo, caso o senhor (a) aceite participar da pesquisa, deverá assinar o documento que será emitido em duas vias de mesmo conteúdo: uma permanecerá com o responsável pela pesquisa e a outra com o senhor (a). Serão realizadas as medições do **conteúdo aquoso do estrato córneo, sendo possível a avaliação do nível de hidratação na superfície da pele**. Os participantes serão divididos em dois grupos. Um grupo receberá a o sérum à base de alga *Kappaphycus alvarezii* (sérum teste) e o outro o sérum à base de Amigel® (Goma *Slecrotium*) contendo ácido hialurônico (sérum controle). A escolha do sérum a ser aplicada no participante será selecionada de maneira aleatória por uma das pesquisadoras membro, e apenas ela estará ciente qual sérum será aplicado em você. Com a supervisão e participação da médica dermatologista, primeiramente cada participante realizará a limpeza e higienização das mãos com água e sabonete neutro. Após a higienização, será aplicado cerca de 10 a 15 gotas do sérum teste ou sérum controle no dorso e palmas das mãos de modo que, o participante espalhe o

sérum massageando em movimentos circulares até completa absorção. Após esse procedimento, serão realizadas as medições da seguinte forma: o aparelho será ligado e em seguida será selecionado a escala de medição (barra, digital, curva ou tabela numérica), a sonda do Corneometer® será posicionada perpendicularmente sobre a pele da área que será medida (primeiramente palma das mãos e depois dorso), exercendo ligeira pressão para acionar a mola. Após a sonda tocar a pele se ouvirá um “bip” e o valor do resultado da medida aparecerá no monitor. Para as próximas medições, será seguido o mesmo procedimento. Serão realizadas medições antes (basal), após 10, 30 e 60 minutos da aplicação das formulações para as análises. Trata-se de um estudo randomizado às cegas, onde o participante não saberá qual sérum usará. Ao final do ensaio, será entregue ao participante um questionário final para fins de pesquisa sobre as características e sensorial do produto aplicado.

Eu \_\_\_\_\_,  
telefone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ abaixo assinado, tendo sido devidamente esclarecido sobre todas as condições que constam do documento “ESCLARECIMENTOS AO SUJEITO DA PESQUISA”, de que trata o Projeto de Pesquisa intitulado “**Desenvolvimento de produto cosmético com macroalga *Kappaphycus alvarezii* e sua efetividade na hidratação da pele**” que tem como pesquisador responsável o Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins, portador do RG: 28028924-SSP-SP e a pesquisadora auxiliar Laiara Torres, portadora do RG: 49.370.502-8-SSP-SP, e podem ser encontrados no seguinte endereço: Avenida Costábile Romano, 220 - Departamento de Biotecnologia, Grupo de Genética Molecular e Bioinformática, Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP, Ribeirão Preto, SP, ou pelo telefone Tel: (16) 3603-6706 ou pelos e-mails: [mmarins@unaerp.br](mailto:mmarins@unaerp.br); [laiara.torres@sou.unaerp.edu.br](mailto:laiara.torres@sou.unaerp.edu.br). O estudo será realizado com o acompanhamento da médica dermatologista colaboradora, Dra. Heloisa da Rocha Picado Copesco, portadora do CPF 213.970.288-31, CRM 154.822, podendo ser encontrada pelo e-mail: [heloisapicado@gmail.com](mailto:heloisapicado@gmail.com). Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos relativos a este protocolo de pesquisa, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto, Unaerp, no endereço Avenida Costábile Romano, 220, Ribeirão Preto/SP, pelo telefone (16) 3603-7709, em dias úteis, das 14h00 às 18h00 ou pelo e-mail:

[cetica@unaerp.br](mailto:cetica@unaerp.br). Caso não queira mais participar deste estudo, basta entrar em contato com os pesquisadores no endereço e/ou telefones informados acima.

Especialmente no que diz respeito ao objetivo de pesquisa aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e aos benefícios, a forma de ressarcimento no caso de eventuais despesas, bem como a forma de indenização por danos decorrentes da pesquisa, declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram assegurados, a seguir relacionados:

- 1) A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações relacionadas com a pesquisa a que serei submetido;
- 2) Ao longo da pesquisa, os participantes serão orientados por profissionais capacitados e especialistas, recebendo informações valiosas sobre cuidados com a pele e utilizando dos benefícios dos componentes das formulações que sugerem auxiliar na hidratação da pele;
- 3) A liberdade de retirar o meu consentimento e deixar de participar do estudo, a qualquer momento, sem que isso traga prejuízo à continuidade do estudo;
- 4) Não haverá nenhum custo para a sua inclusão na pesquisa, e o cosmético utilizado durante o período do estudo será disponibilizado gratuitamente. Não haverá também qualquer remuneração financeira relacionada à sua participação;
- 5) A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada a minha privacidade;
- 6) O compromisso de que me será prestada informação atualizada durante o estudo, ainda que possa afetar a minha vontade de continuar nele participando;
- 7) O compromisso de que serei devidamente acompanhado e assistido durante todo o período de minha participação no projeto, bem como de que será garantida a continuidade, após a conclusão dos trabalhos da pesquisa;
- 8) O ressarcimento de eventuais despesas decorrentes da minha participação no projeto vai ser promovido por recursos adquiridos pelo (a) pesquisador (a);
- 9) Que o ressarcimento de eventuais despesas, bem como indenização, a título de cobertura material, para reparação de danos imediatos ou tardios, decorrentes de minha participação na pesquisa, serão feitos pelo pesquisador; não cabendo a Universidade de Ribeirão Preto, qualquer responsabilidade quantos aos referidos pagamentos;

10) A garantia de suspender a participação do participante na pesquisa em qualquer momento ou por acaso a formulação do sêrum possa provocar alguma reação alérgica;

11) O ensaio todo será realizado sob supervisão da médica dermatologista e colaboradora da pesquisa Dra. Heloisa da Rocha Picado Copesco , os procedimentos de pesquisa seguem o que foi estabelecido nas Resoluções nº 466/12 e 510/2016 do CNS e os participantes receberão a assistência conforme estabelecido nessas resoluções.

Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade em participar do referido projeto.

Ribeirão Preto, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
(Assinatura do Participante)

\_\_\_\_\_  
(Assinatura do Pesquisador Responsável)

Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins

\_\_\_\_\_  
(Assinatura da Pesquisadora Auxiliar)

Laiara Torres

## APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE)

**UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO - UNAERP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado (a) para participar de uma pesquisa vinculada à Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), em colaboração com o cirurgião plástico Dr. Endrigo Piva Pontelli, proprietário da Clínica Lotus, cujo título é **“Desenvolvimento de produto cosmético com macroalga *Kappaphycus alvarezii* e sua efetividade na hidratação da pele”**. Ressalto que você tem total liberdade para aceitar ou recusar a participação, sem nenhum prejuízo.

Esse estudo tem como objetivo verificar a força necessária para destacar a formulação cosmética de sérum, contendo o gel fluido da macroalga *K. alvarezii* da superfície da pele. As avaliações serão realizadas usando a sua pele que será removida na cirurgia plástica. Ao invés de ser descartada, a pele removida será utilizada no ensaio. As amostras de pele imediatamente serão limpas e preparadas para o ensaio no mesmo dia do recebimento. O sérum será fixado em um dispositivo de nome probe conectado a um equipamento, o analisador de textura, e as amostras de pele limpas serão colocadas no suporte do equipamento. Em seguida, o dispositivo probe será movimentado para baixo até encontrar a superfície da pele, mantendo contato com uma força de 0,5 N por 3 min. Após esse período, o acessório será movimentado para cima com velocidade constante de 1 mm.min<sup>-1</sup>, e com auxílio do software *Exponent* será determinada a força necessária para destacar o sérum da pele e o trabalho de bioadesão (área sob a curva de força vs. distância). O ensaio será realizado com o sérum teste (à base de alga *Kappaphycus alvarezii*) e o sérum controle (à base de Amigel<sup>®</sup> com ácido hialurônico).

O ensaio será realizado em colaboração com o Laboratório Centro de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica (NanoTop) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP/SP, sob coordenação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Fonseca Vianna Lopez, colaboradora e pesquisadora responsável pelo teste.

Ao decidir participar e assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), você receberá uma via do TLCE assinado e rubricado em todas as páginas pelos pesquisadores responsável, auxiliar e colaboradora da pesquisa. Sendo assim, gostaríamos de pedir sua autorização para coletar amostras de sua pele que será removida na cirurgia plástica pelo Dr. Endrigo Piva Pontelli. A pele cedida para pesquisa será coletada durante a sua cirurgia plástica por profissionais da Clínica Lotus e manipulada por profissionais habilitados no Laboratório de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP/SP - Av. Do Café, s/n, CEP 14040-903 - Monte Alegre - Telefone: (16) 3315-4202. Esse fragmento de pele cedido para pesquisa, é o mesmo fragmento que o médico iria retirar sem a pesquisa, portanto a única mudança é que, ao invés da enfermeira descartar a pele imediatamente em lixo hospitalar, ela irá nos entregar para que possamos utilizá-la em nossa pesquisa. Ao final do experimento, sob responsabilidade do (a) pesquisador (a), todo conteúdo de pele coletado que foi utilizado será descartado em lixo hospitalar e incinerado. Gostaríamos de esclarecer que não haverá custo para a sua inclusão na pesquisa e qualquer remuneração financeira relacionada à sua participação. Será assegurado o ressarcimento de eventuais despesas e indenização no caso de eventuais danos decorrentes da sua participação, mesmo que indiretamente. Todos os dados coletados de pacientes nesse estudo serão estritamente confidenciais, não será feito registro de áudio na coleta de dados e a sua identidade será mantida em sigilo. Porém, os resultados da pesquisa serão utilizados em trabalhos científicos publicados ou apresentados oralmente em congressos e palestras sem revelar sua identidade. Os dados obtidos durante a pesquisa são confidenciais e não serão usados para outros fins. Além disso, os benefícios da pesquisa serão de forma indireta, contribuindo assim para o desenvolvimento de formulações mais eficazes para a aplicação na pele.

O pesquisador responsável e a pesquisadora auxiliar são: Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins, portador do CPF:091.634.328-62 ; Laiara Torres, portadora do CPF: 407.279.158-00 e a colaboradora e pesquisadora responsável pelo teste, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Fonseca Vianna Lopez, portadora do CPF: 249.259.568-41, podem ser encontrados nos seguintes endereços: Avenida Costábile Romano, 2201, Bairro Ribeirânia, Departamento de Biotecnologia - Laboratório de Biociências, Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP, Ribeirão Preto, SP; Avenida do Café, s/n, Campus Universitário, Bairro Monte Alegre, Laboratório de Inovação em Sistemas

Nanoestruturados e Administração Tópica - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto, SP, ou pelos telefones (16) 3603-6706; (16) 33154202, ou e-mails: [mmarins@unaerp.br](mailto:mmarins@unaerp.br); [laiara.torres@sou.unaerp.edu.br](mailto:laiara.torres@sou.unaerp.edu.br); [rvianna@fcrp.usp.br](mailto:rvianna@fcrp.usp.br). Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos relativos a este protocolo de pesquisa, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto, Unaerp, no endereço Avenida Costábile Romano, 220, Ribeirão Preto/SP, pelo telefone (16) 3603-7709, em dias úteis, das 14h00 às 18h00 ou pelo e-mail: [cetica@unaerp.br](mailto:cetica@unaerp.br). Caso não queira mais participar deste estudo, basta entrar em contato com os pesquisadores no endereço e/ou telefones informados acima.

Eu (nome do participante), \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, telefone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_, compreendi o estudo do qual fui convidado a participar. Neste sentido, decidi por minha própria vontade participar deste estudo e sei que posso retirar-me do mesmo em qualquer momento.

Ribeirão Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
(Assinatura do Participante)

\_\_\_\_\_  
(Assinatura do Pesquisador Responsável)

Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins

\_\_\_\_\_  
(Assinatura da Pesquisadora Auxiliar)

Laiara Torres

\_\_\_\_\_  
(Assinatura da Colaboradora e Pesquisadora Responsável pelo Teste)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Fonseca Vianna Lopez

APÊNDICE C - **QUESTIONÁRIO DE COLETA DE DADOS PARA UTILIZAÇÃO DE SÉRUM**

Data da avaliação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Gênero: ( )F ( )M

Gravidez: ( ) Sim ( ) Não

Raça/cor: ( ) Branca ( ) Preta ( ) Parda ( ) Amarela ( ) Indígena

**CONHECIMENTOS SOBRE SUA PELE**

**1. Descreva seu tipo pele da região das mãos:**

- Normal
- Seca
- Sensível

**2. Possui hiperidrose palmar?**

- Sim
- Não

**3. Com que frequência utiliza produtos hidratantes nas mãos?**

- Diariamente
- Dias alternados
- Durante à noite
- Durante o dia (manhã e tarde)
- De vez em quando
- Nunca

**4. Você se expõe à radiação solar diariamente?**

- Sim
- Não

**5. Possui alguma doença de pele ou irritações nas mãos? Se sim, qual/quais?**

- Sim
  - Não
-

**6. Possui alguma patologia? Se sim, qual/quais?**

Sim  Não

---

**7. Já realizou procedimento de crioterapia ou cauterização química nas mãos?**

Sim  Não

**8. Já precisou realizar tratamento para lesões pré-cancerígenas e cancerígenas nas mãos?**

Sim  Não

**9. Já fez uso de medicamento quimioterápico tópico, como Efurix®?**

Sim  Não

**10. Possui alergia a alguns dos componentes abaixo? Se sim, qual/quais?**

Não  Não sei  Sim:

- Gel fluido de *Kappaphycus alvarezii*
- Propilenoglicol
- Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)
- Fenoxietanol, Etilglicerina
- Aminometil propanol
- Fragrância
- Amigel®
- Ácido hialurônico

APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO COM PARTICIPANTES SOBRE CARACTERÍSTICA E SENSORIAL DO SÉRUM HIDRATANTE APLICADO

Nome do participante: \_\_\_\_\_

**1. O produto cosmético possui um bom aspecto (aparência).**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**2. O produto cosmético apresentou boa espalhabilidade.**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**3. O produto cosmético apresenta uma boa fluidez.**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**4. O odor do produto cosmético é suave e agradável.**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**5. O produto cosmético absorveu na pele.**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**6. Sua pele ficou mais hidratada após a aplicação do produto cosmético.**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**7. Houve melhora na aparência da sua pele após a aplicação do produto cosmético.**

- Concordo
- Concordo parcialmente
- Discordo

**8. Se esse produto estivesse a venda no mercado, você compraria?**

- Sim
- Não

## ANEXO

### ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



Ribeirão Preto, 31 de janeiro de 2025.

### DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto de pesquisa intitulado “**DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO COM A MACROALGA *Kappaphycus alvarezii* E SUA EFETIVIDADE NA HIDRATAÇÃO DA PELE**”, registrado na Plataforma Brasil com o CAAE 82038424.5.0000.5498 foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto/UNAERP e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/FCFRP-USP em 06 de dezembro de 2024.

Atenciosamente,



Documento assinado digitalmente  
ADRIANA APARECIDA LOPES  
Data: 31/01/2025 15:29:17-0300  
Verifique em <https://validar.jb.gov.br>

*Prof.ª Dr.ª Adriana A. Lopes*  
**Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos – CEP/Unaerp**

Av. Costabile Romano, 2201 – Bairro Ribeirânia – Ribeirão Preto-SP - CEP. 14096-900  
Fone: (16) 3603-7709 – email: [cetica@unaerp.br](mailto:cetica@unaerp.br)

## ANEXO B - Resolução Nº 58, de 24 de fevereiro de 2023

02/08/2024, 01:25

RESOLUÇÃO Nº 58, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2023 - RESOLUÇÃO Nº 58, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2023 - DOU - Imprensa Nacional

**DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO**

Publicado em 01/03/2023 | Edição: 41 | Seção 1 | Página: 8

Órgão: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação/Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

**RESOLUÇÃO Nº 58, DE 24 DE FEVEREIRO DE 2023**

Dispõe sobre a proibição do uso de animais vertebrados, exceto seres humanos, em pesquisa científica, desenvolvimento e controle de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes que utilizem em suas formulações ingredientes ou compostos com segurança e eficácia já comprovadas cientificamente e dá outras providências.

O CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, no uso das atribuições que lhe confere os incisos I, III e IV do artigo 5º da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e conforme a decisão tomada em sua 12ª Reunião Extraordinária, resolve:

Art. 1º Fica proibido no País o uso de animais vertebrados, exceto seres humanos, em pesquisa científica e no desenvolvimento e controle da qualidade de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes que utilizem em suas formulações ingredientes ou compostos com segurança e eficácia já comprovadas cientificamente.

Art. 2º É obrigatório no País o uso de métodos alternativos reconhecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal em pesquisa científica, no desenvolvimento e controle da qualidade de produtos de higiene pessoal, cosméticos ou perfumes que utilizem em suas formulações ingredientes ou compostos cuja segurança ou eficácia não tenham sido comprovadas cientificamente, ressalvadas as competências de outros entes e órgãos públicos com função regulatória.

§ 1º Os métodos alternativos validados nacional ou internacionalmente, porém ainda não reconhecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, poderão ser utilizados em pesquisa científica, no desenvolvimento e controle da qualidade de produtos de higiene pessoal, cosméticos ou perfumes que utilizem em suas formulações ingredientes ou compostos cuja segurança ou eficácia não tenham sido comprovadas cientificamente, sem prejuízo da competência prevista no inciso III do art. 5º da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008.

§ 2º A possibilidade prevista no § 1º deste artigo não dispensa a necessidade de observância de normas especiais editadas por outros entes e órgãos públicos com competência regulatória.

Art. 3º Para os efeitos desta Resolução Normativa, considera-se:

I - produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes: a definição contida na Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - RDC nº 07, de 10 de fevereiro de 2015, e suas atualizações, ou no ato que vier a substituí-la; e

II - método alternativo reconhecido: a definição contida na Resolução Normativa CONCEA nº 54, de 10 de janeiro de 2022, e suas atualizações, ou no ato que vier a substituí-la.

Art. 4º O Coordenador do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal decidirá sobre as dúvidas na interpretação desta Resolução Normativa, ad referendum do CONCEA.

Art. 5º Esta Resolução Normativa entra em vigor em 1º de março de 2023.

**LUCIANA SANTOS**

Este conteúdo não substitui o publicado na versão certificada.