

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

**AMANDA JUSTUS MUNHOZ
LARISSA SOARES COELHO ROCHA**

**DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO DE ÁGUA MICELAR
COM EXTRATO DE *Galdieria sulphuraria***

PONTA GROSSA

2021

**AMANDA JUSTUS MUNHOZ
LARISSA SOARES COELHO ROCHA**

**DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO DE ÁGUA MICELAR
COM EXTRATO DE *Galdieria sulphuraria***

**Development of a micelar water formulation with extract from *Galdieria
sulphuraria***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Cristine Novak
Sydney

PONTA GROSSA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Ponta Grossa
Curso de Engenharia Química



TERMO DE APROVAÇÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC

DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO DE ÁGUA MICELAR COM EXTRATO DE *GALDIERIA SULPHURARIA*

Por

Amanda Justus Munhoz

Larissa Soares Coelho Rocha

Monografia apresentada às 14 horas 00 min. do dia 3 de dezembro de 2021 como requisito parcial, para conclusão do Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação e conferidas, bem como achadas conforme, as alterações indicadas pela Banca Examinadora, o trabalho de conclusão de curso foi considerado APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. ^a Dr. ^a Maria Carolina De Oliveira Ribeiro	Membro
Prof. Dr. Eduardo Bittencourt Sydney	Membro
Prof. ^a Dr. ^a Alessandra Cristine Novak Sydney	Orientador
Prof. ^a Dr. ^a Juliana De Paula Martins	Professor(a) responsável TCCII

AGRADECIMENTOS

Aos nossos colegas de curso que nos apoiaram ao longo de todo o processo de graduação. A nossa orientadora Alessandra Cristine Novak, que apoiou nosso trabalho e ofereceu todo o suporte necessário. À Larissa Oliveira, estagiária do laboratório de Bioprocessos, cuja ajuda foi essencial para tirar este trabalho do papel.

Aos nossos mestres.

A nossa família.

RESUMO

MUNHOZ, Amanda Justus; ROCHA, Larissa Soares Coelho. **Desenvolvimento de uma formulação de água micelar com extrato de *Galdieria sulphuraria***. 2021. 94 pg. Trabalho de Conclusão de Curso – Departamento de Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2021.

O Brasil é um dos maiores consumidores de cosméticos do mundo. Isso ocorre principalmente devido tendência do brasileiro de buscar cada vez mais produtos que melhorem sua qualidade de vida. Para isso, frequentemente são incorporados extratos antioxidantes nas formulações cosméticas. Nesse contexto a microalga extremófila *Galdieria sulphuraria* destaca-se, pois produz uma quantidade alta de compostos antioxidantes, além de outras substâncias. Apesar de promissoras, as aplicações cosméticas com os biocompostos da microalga *G. sulphuraria* são pouco estudadas. A água micelar é um cosmético para pessoas com rotina agitada pois garante a limpeza facial de forma prática, é multifuncional e não agressiva. Esse trabalho estudou a aplicação do extrato hidrofílico da *G. sulphuraria* em formulações de água micelar. Inicialmente a microalga foi cultivada em meio Allen e foram obtidos os extratos a partir de extração por ultrassom e secagem em estufa. Em seguida, o extrato foi incorporado em uma formulação de água micelar monofásica. O protótipo foi submetido aos testes de estabilidade sob diferentes condições e se mostrou estável.

Palavras-chave: Estabilidade Cosmética. Antioxidante. Extrato *Galdieria sulphuraria*.

ABSTRACT

MUNHOZ, Amanda Justus; ROCHA, Larissa Soares Coelho. **Development of a micellar water formulation with extract of *Galdieria sulphuraria***. 2021. 94 p. Work of Conclusion Course (Graduation in Chemical Engineering) - Federal Technology University - Paraná. Ponta Grossa, 2021.

Brazil is one of the biggest cosmetics consumers in the world. This is mainly due to the tendency of Brazilians to seek more and more products that improve their quality of life. For this, antioxidant extracts are often incorporated in cosmetic formulations. In this context, the extremophile microalgae *Galdieria sulphuraria* stands out, as it produces a high amount of antioxidant compounds, besides other substances. Although promising, cosmetic applications with biocompounds from the microalgae *G. sulphuraria* are poorly studied. Micellar water is a cosmetic for people with a busy routine because it ensures facial cleansing in a practical way, it is multifunctional and non-aggressive. This work studied the application of the hydrophilic extract of *G. sulphuraria* in micellar water formulations. Initially, the microalgae was cultivated in *Allen medium* and the extracts were obtained from ultrasound extraction and drying in an oven. Then, the extract was incorporated into a monophasic micellar water formulation. The prototype was subjected to stability tests under different conditions and proved to be stable.

Palavras-chave: Cosmetic Stability. Antioxidant. *Galdieria sulphuraria* Extract.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática da estrutura da epiderme	18
Figura 2 - Comportamento das moléculas de surfactante entre as fases fluida e gasosa em função da tensão superficial.....	26
Figura 3 - Alinhamento das moléculas de surfactante presentes na água micelar com o algodão	30
Figura 4 - <i>Galdieria sulphuraria</i>	32
Figura 5 - Aplicações da <i>Galdieria sulphuraria</i>	34
Figura 6 - Forma radicalar (1) DPPH* e forma não radicalar (2) hidrazina	39
Figura 7 - Mecanismo de reação entre o DPPH* e o antioxidante através da transferência do átomo de hidrogênio	39
Figura 8 - Sequência de realização dos testes de estabilidade	44
Figura 9 – Montagem do sistema de aeração no Erlenmeyer	47
Figura 10 – Metodologia de obtenção dos extratos	48
Figura 11 - Cuba Ultrassônica Schuter L300	49
Figura 12 - Turbidímetro APCControl AP2000.....	55
Figura 13 - Cultivo em Crescimento	56
Figura 14 – Fundo do Erlenmeyer com a biomassa cultivada	56
Figura 15 – Lâmina microscópio da <i>Galdieria shulphuraria</i> cultivada	56
Figura 16 – Tubos Falcon com meio de cultivo contendo biomassa para centrifugação.....	57
Figura 17 - Meio de cultivo e biomassa centrifugados	58
Figura 18 – Placa de Petri para secagem da biomassa	58
Figura 19 – Tubo Falcon contendo extrato aquoso e biomassa extraída	58
Figura 20 – Tubo Falcon contendo extrato aquoso centrifugado	59
Figura 21 – Extrato aquoso	59
Figura 22 – Fase A do branco e do protótipo	60
Figura 23 - Fase A sob aquecimento e agitação constante.....	61
Figura 24 - União da fase A e B.....	62
Figura 25 - Amostras para testes de estabilidade acelerada.....	62
Figura 26 - Amostras para testes de estabilidade preliminar.....	62

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação da <i>Galdieria sulphuraria</i>	32
Quadro 2 - Aspectos usualmente avaliados nos Testes de Estabilidade	42
Quadro 3 - Condições de armazenagem sugeridas para os testes de estabilidade.....	43
Quadro 4 - Condições dos Testes de Estabilidade Preliminar	53
Quadro 5 - Condições dos Testes de Estabilidade Acelerada	54
Quadro 6 - Antes e depois: Testes de estabilidade preliminar em Temperatura 85°C	63
Quadro 7 - Antes e depois: Testes de estabilidade preliminar em Temperatura - 5°C	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do Meio de Cultivo.....	47
Tabela 2 - Formulação Original Symrise Água Micelar	50
Tabela 3 - Formulação da Água Micelar contendo extrato da <i>G. sulphuraria</i>	51
Tabela 4 – Especificação da massa dos ingredientes da formulação a ser pesada: Branco e Protótipo.....	52
Tabela 5 - Massas pesadas para preparo da fase A.....	60
Tabela 6 - Massas pesadas para o preparo da fase B.....	61
Tabela 7 - Resultados do Ensaio de Estabilidade Preliminar em Temperatura 85°C	64
Tabela 8 - Resultados do Ensaio de Estabilidade Preliminar em Temperatura - 5°C	65
Tabela 9 - Resultados do teste de estabilidade acelerada em temperatura 25°C (ambiente)	66
Tabela 10 - Resultados do teste de estabilidade em presença de luz natural ...	67
Tabela 11 - Teste de estabilidade acelerada em temperatura 5°C	68
Tabela 12 - Resultado do teste de estabilidade acelerada em temperatura 30°C	69
Tabela 13 - Resultado do teste de estabilidade acelerada na ausência de luz ..	70
Tabela 14 - Resultados do teste de estabilidade acelerada armazenamento em automóvel	71

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Variação de pH durante Testes de Estabilidade Acelerada	72
Gráfico 2 - Variação de Turbidez durante Testes de Estabilidade Acelerada	73

LISTA DE ABREVIATURAS

a.C.	Antes de Cristo
Cód. Civ.	Código Civil
CO	Conhecimento Organizacional

LISTA DE SIGLAS

ABIPTI	Associação Brasileira das Instituições de Pesquisa Tecnológica
BSC	Balanced Scorecard
CH	Capital Humano
CMC	Concentração Micelar Crítica
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
NMF	Natural Moisturizing Factor ou Fator de Hidratação Natural
RL	Radicais Livres
qsp	Quantidade Suficiente Para

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 PELE HUMANA	17
3.1.1 Penetração de ativos na pele	20
3.2 SURFACTANTES	23
3.2.1 Classificação dos surfactantes	23
3.2.2 Micelas	25
3.2.3 Principais Usos dos Surfactantes	27
3.2.4 Surfactantes e danos causados a pele	27
3.3 ÁGUA MICELAR	29
3.4 <i>GALDIERIA SULPHURARIA</i>	31
3.4.1 Classificação da <i>Galdieria sulphuraria</i>	31
3.4.2 Bioprodutos da <i>Galdieria sulphuraria</i>	33
3.4.3 Toxicidade da <i>Galdieria sulphuraria</i>	35
3.5 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES	36
3.6 ESTABILIDADE DE COSMÉTICOS	40
3.6.1 Testes de Estabilidade	41
4 METODOLOGIA	46
4.1 CLASSIFICAÇÃO DA PESQUISA	46
4.2 CULTIVO DA <i>GALDIERIA SULPHURARIA</i>	46
4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO	48
4.4 DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO	49
4.4.1 Perfil do produto	49
4.4.2 Definição da Formulação	50
4.4.3 Desenvolvimento do protótipo	52
4.5 TESTES DE ESTABILIDADE	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1 CULTIVO DA <i>GALDIERIA SULPHURARIA</i>	55
5.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO	57
5.3 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E PROTOTIPAÇÃO	60
5.3.1 PREPARO DA FASE A	60
5.3.2 PREPARO DA FASE B	61
5.3.3 UNIÃO DAS FASES E AJUSTE DE PH	61
5.4 TESTES DE ESTABILIDADE	62
5.4.1 TESTES DE ESTABILIDADE PRELIMINAR	63

5.4.2 TESTES DE ESTABILIDADE ACELERADA.....	65
5.4.2.1 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA AMBIENTE ..	65
5.4.2.2 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA EM PRESENÇA DE LUZ NATURAL.....	66
5.4.2.3 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 5°C	67
5.4.2.4 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 30°C	68
5.4.2.5 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA NA AUSÊNCIA DE LUZ	69
5.4.2.6 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA ARMAZENAMENTO EM AUTOMÓVEL.....	70
6 CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS.....	74
APÊNDICE A	83
LINHA DO TEMPO TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 25°C (AMBIENTE)	83
APÊNDICE B	85
LINHA DO TEMPO TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA LUZ	85
APÊNDICE C	87
LINHA DO TEMPO TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 5°C	87
APÊNDICE D	89
LINHA DO TEMPO TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA CARRO	89
APÊNDICE E	91
LINHA DO TEMPO TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 30°C	91
APÊNDICE F.....	93
LINHA DO TEMPO TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA ESCURO.....	93

1 INTRODUÇÃO

A indústria de cosméticos é um segmento da manufatura de químicos, que compreende os processos destinados à elaboração de produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (HPPC). Os HPPC são definidos pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA) como aqueles que são constituídos por substâncias naturais ou sintéticas, exclusivamente para uso externo na pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, objetivando a limpeza, perfume, alteração da aparência, correção de odores corporais, proteção ou manutenção das partes do corpo humano citadas.

Os cosméticos destacam-se mundialmente pelo interesse e participação do consumidor, que passou a usá-los frequentemente. Como consta no Panorama do Setor de HPPC (2021) da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), o Brasil é o quarto consumidor mundial de cosméticos, representando 4,9% do consumo total, terceiro mercado global em lançamentos de produtos por ano. No ranking mundial o Brasil possui a oitava posição no que diz respeito ao consumo de produtos para a pele. Devido à grande aceitação e amplo espaço de mercado diversas pesquisas científicas são voltadas para o desenvolvimento ou aperfeiçoamento de formulações cosméticas.

Produtos de limpeza de pele são responsáveis pela remoção de impurezas, sebo, células mortas esfoliadas e microrganismos. Essa remoção é essencial para a manutenção de uma pele saudável. Os principais agentes responsáveis por esta limpeza são os surfactantes, compostos orgânicos que possuem grupos polares e apolares. A partir de uma dada concentração os surfactantes, através de um processo de auto-organização, formam estruturas chamadas micelas. Essas estruturas são capazes de aprisionar a sujeira não solúvel em água (CORAZZA, M.; et al).

Água micelar é a nova aposta do mercado quando o assunto é produtos de limpeza, possui tanto a capacidade de limpar como de demaquilar. Atualmente existem dois tipos de populares de água micelar: monofásica e bifásica (CARLI, 2017).

Apesar da grande importância dos surfactantes essas substâncias são capazes de causar danos para a pele como irritação e desnaturação de proteínas. Peles sensíveis podem ser duramente danificadas quando expostas a certas formulações. Isso ocorre devido a interação das moléculas de surfactante com os lipídios e proteínas presentes no estrato córneo. Além disso, os surfactantes podem

permanecer na pele mesmo após a lavagem, levando a exposição crônica (ANTHAPADMANABHAN et al., 2004).

A água micelar é conhecida por promover a limpeza sem agredir a pele, isto ocorre pois em sua composição são utilizados surfactantes suaves e são adicionadas outras substâncias para diminuir os danos que podem ser causados. No entanto, alguns produtos considerados adequados para peles sensíveis que estão disponíveis no mercado atualmente apresentam efeitos irritantes consideráveis. Apesar de não existir nenhum consenso internacional a respeito dos critérios para considerar um produto de limpeza de pele suave ou não é crescente a necessidade de desenvolvimento de produtos verdadeiramente suaves e que busquem diminuir os danos causados a pele (CORAZZA et al., 2010; CASTRO).

Fries e Frasson (2011) apontam que a área de cosmetologia se preocupa constantemente em utilizar antioxidantes eficazes nas formulações de cosméticos, devido a busca pela qualidade de vida durante o envelhecimento. A *Galdieria sulphuraria* é uma potencial candidata para aplicação cosmética devido aos compostos bioativos produzidos, tais como ácidos graxos, proteínas, polifenóis, polissacarídeos, vitaminas e minerais, tocoferóis e antioxidantes. O extrato de biomassa da *Galdieria sulphuraria* contém ficocianina e glutathione, substâncias com alto poder antioxidante. Sua produção em escala industrial tem potencial, pois as condições extremas de crescimento evitam possíveis contaminações (SYDNEY et al., 2019).

Além dos bioativos citados anteriormente, Bimonte et al (2016) realizou estudos sobre a potencialidade do extrato da *Galdieria sulphuraria* em formulações cosméticas direcionadas para pele oleosa, no qual obtiveram-se resultados que comprovaram a eficácia do extrato.

Visto isso, deseja-se descobrir: os extratos de *Galdieria sulphuraria* são indicados para aplicação em formulações cosméticas de água micelar?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter uma formulação estável de água micelar com extrato de *Galdieria sulphuraria*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cultivar *Galdieria sulphuraria* em meio estritamente heterotrófico;
- Obter os extratos hidrofílico da *Galdieria sulphuraria* a partir da extração por ultrassom;
- Desenvolver uma formulação de água micelar com os extratos obtidos;
- Avaliar a estabilidade da formulação pelos testes de estabilidade preliminar e acelerada.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PELE HUMANA

A pele é o maior órgão do corpo humano e ocupa uma área média de 2m² (LEONARDI et al., 2005). Atua como a principal barreira entre o corpo humano e o ambiente externo, prevenindo a entrada de substâncias químicas, microorganismos e evitando a perda de fluidos corporais e calor (ROBINSON, 2014). De acordo com Carlson (2019) as principais funções da pele são:

- Proteção mecânica combinada com flexibilidade;
- Regulação térmica;
- Funções sensoriais - dor, toque, vibração, temperatura e pressão;
- Proteção contra raios UV;
- Síntese de vitamina D;
- Proteção imunológica;
- Retenção de fluidos;
- Excreção de sais;
- Sinalização emocional;
- Atração sexual;
- Auto reparo.

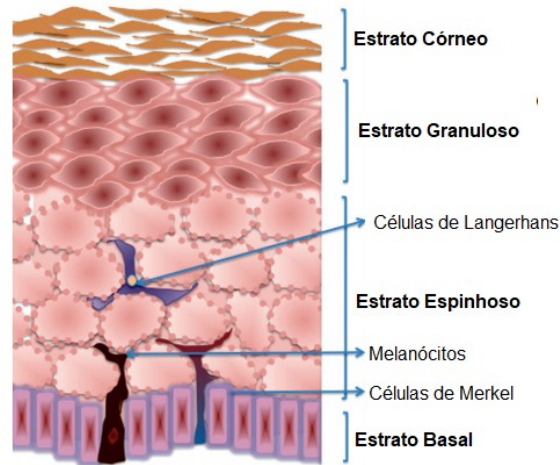
Por meio da pele somos capazes de demonstrar de forma consciente ou não boa parte das nossas emoções, seja através de deformações da pele por conta da ação dos músculos faciais, rubor de vergonha ou raiva como resultado da vasculatura subjacente da pele, resposta ao perigo mediante a vasoconstrição da pele, sudorese, piloereção, etc (CARLSON, 2019).

A estrutura da pele não é homogênea ao longo do corpo e varia de acordo com as necessidades da região que recobre (CARLSON, 2019). A estrutura básica da pele dos mamíferos é dividida em três regiões distintas principais: epiderme, derme e hipoderme (ROBINSON, 2014).

A epiderme é a camada mais externa da pele formada por epitélio pavimentoso estratificado. Na pele fina podem ser identificadas quatro camadas na epiderme, conforme mostrado na figura 1. Já na pele grossa (palmas das mãos, plantas dos pés, etc) mais uma camada pode ser encontrada, o estrato lúcido. As

células da epiderme formam um sistema dinâmico pois se encontram em constante renovação, desde sua junção com a derme até a superfície cutânea (LEONARDI et al., 2005).

Figura 1 - Representação esquemática da estrutura da epiderme



Fonte: Adaptada de Honari e Maibach (2014)

Os queratinócitos compõem de forma majoritária a epiderme, são células responsáveis pela síntese da queratina e sofrem processos de divisão, maturação e diferenciação. Essas células são geradas no estrato basal e à medida que se diferenciam formam as outras três camadas da epiderme. A cada 28 dias as células da epiderme são totalmente renovadas pois é o tempo necessário para que o todo o processo de migração das células até o estrato córneo ocorra (SILVA, 2006; HONARI e MAIBACH, 2014).

Na camada basal estão localizadas as células-tronco da pele que dão origem aos queratinócitos (MARKS e MILLER, 2019). A existência das camadas da epiderme se deve a um comportamento comum entre as células-tronco: em seu processo de divisão celular considerando duas células filhas, uma delas mantém suas características de célula-tronco enquanto a outra se move e realiza diversos processos de divisão celular. À medida que essas divisões ocorrem as células se tornam cada vez mais especializadas. Em relação a epiderme a especialização consiste sobretudo na produção de queratina (CARLSON, 2019). Conforme se movimentam ao longo das camadas da epiderme essas células ganham superfície, são gradualmente alteradas em relação a sua forma e composição química e quando atingem o extrato córneo já não possuem mais núcleo (LEONARDI et al., 2005).

O estrato espinhoso possui pontes intercelulares que se estendem entre os queratinócitos para mantê-los unidos e que são visíveis com microscopia de luz. Também é o local em que se inicia o processo de queratinização (MARKS e MILLER, 2019). Tanto no estrato espinhoso como no granuloso as células se tornam mais achatadas, unidas e coesas. Desta forma conferem resistência a epiderme (LOCILENTO, 2012).

O estrato granuloso é composto por células granulares que apresentam grânulos querato-hialinos e grânulos lamelares. Os grânulos querato-hialinos possuem duas proteínas, a prolifragrina e involucrina, ambas desempenham um importante papel na formação do estrato córneo. A polifragrina é precursora da filagrina que é responsável pela formação da matriz para as células do estrato córneo por meio do agregamento e alinhamento dos filamentos de queratina em feixes paralelos e altamente comprimidos. A involucrina atua na formação do envelope que recobre as células do estrato córneo. Os grânulos lamelares contêm polissacarídeos, glicoproteínas e lipídeos que são extrudados no espaço intracelular e utilizados para manter as células do estrato córneo juntas. Enzimas degradativas responsáveis pela destruição celular de núcleo e organelas também podem estar presentes nos grânulos lamelares (BOHJANEN, 2017; MARKS e MILLER, 2019).

A camada mais externa da epiderme é o estrato córneo e serve como a principal barreira da pele. As células do estrato córneo são grandes, possuem formato achatado e poliédrico, muito ricas em queratina, não possuem núcleo e nenhuma organela. O modelo teórico "tijolo e argamassa" é comumente utilizado para ilustrar a sua estrutura. Os tijolos representam os queratinócitos, envelopes queratinizados. A argamassa corresponde a membrana lipídica intercelular que mantém os queratinócitos juntos (MARKS e MILLER, 2019). O estrato córneo apresenta espessura similar à de uma folha de papel e os lipídeos presentes na sua composição formam estruturas lamelares intercelulares capazes de reter água, mantendo a superfície da pele com aspecto saudável e macia (LEONARDI et al., 2005).

Outras células presentes na epiderme e que desempenham um importante papel na manutenção da nossa qualidade de vida são os melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Os melanócitos se encontram na camada basal e sua principal função é a produção de melanina que é responsável pela pigmentação da pele e fornece uma camada de proteção natural aos raios solares. As células de Merkel também estão presentes no estrato basal, possuem terminações nervosas

ligadas a fibra nervosa do sistema nervoso central e conferem as funções sensoriais a pele. Já as células de Langerhans estão presentes nos estratos intermediários da epiderme e atuam no sistema imunológico apresentando substâncias estranhas ao organismo para células de defesa como macrófagos e linfócitos (LEONARDI et al., 2005).

A derme, segunda camada da pele, se origina do embrião endoderme, é o maior componente da pele e recobre os órgãos internos do corpo como um envelope forte e flexível. Abriga estruturas nervosas, vasculares e uma série de células como os fibroblastos, macrófagos, mastócitos e células imunes circulantes (CARLSON, 2019; ROBINSON, 2014). Os fibroblastos são células capazes de sintetizar todos os componentes da derme, deixando-os disponíveis no espaço extracelular (WOODLEY, 2017). A derme é responsável pela elasticidade, flexibilidade e resistência a tração da pele, sendo capaz de proteger o corpo de ferimentos mecânicos, conter água e auxiliar no controle de temperatura. Também é de extrema importância no processo de cicatrização de feridas (HONARI e MAIBACH, 2014).

A hipoderme é a última camada da pele e confere a ela movimento sobre os tecidos subjacentes. Atua como amortecedor de traumas mecânicos, desempenha um importante papel na manutenção da temperatura corporal e consiste em um reservatório metabólico (CARLSON, 2019). É composta por adipócitos agrupados em lóbulos separados por tecido conjuntivo, possui artérias e arteríolas responsáveis pela nutrição do tecido hipodérmico. A espessura da hipoderme varia de acordo com o local, estado nutricional e sexo (CELLENO e TAMBURI, 2009).

Os adipócitos são células que guardam uma imensa quantidade de lipídeos em um único glóbulo localizado no citoplasma, ele se torna tão grande que o núcleo da célula passa a ocupar uma posição periférica (CELLENO e TAMBURI, 2009).

3.1.1 Penetração de ativos na pele

A pele é uma barreira eficaz entre o organismo e o meio externo, porém substâncias suficientemente pequenas são capazes de penetrar até o estrato córneo. Este processo de penetração ou adsorção cutânea, envolvendo apenas a epiderme, ocorre em produtos que apresentam ação local ou tópica, como as formulações cosméticas e dermatológicas (ALVES, 2015; PETRY et al., 2017).

A adsorção cutânea ocorre por meio da difusão do ativo através da epiderme ou através dos apêndices da pele. Os apêndices compreendem estruturas como os folículos capilares e glândulas sudoríparas, representam apenas uma pequena porção da superfície da pele. Desta forma, a entrada dos ativos ocorre predominantemente por meio da epiderme, atravessando o estrato córneo, e pode ocorrer de duas principais formas: intracelular e intercelular. Na rota intercelular a penetração do ativo ocorre por meio da sua permeação nos espaços entre os queratinócitos, presentes na epiderme. Já na rota intracelular o ativo permeia através dos queratinócitos. Devido ao maior grau de dificuldade da rota intracelular, onde os ativos precisam atravessar os queratinócitos e depois se difundir entre os lipídios, o meio intercelular é o maior determinante na penetração cutânea (LEONARDI et al., 2005).

De forma resumida dois principais fatores que afetam a penetração dos ativos na pele são: características do estrato córneo e o veículo responsável por carregar o ativo. De acordo com a Comissão da Indústria Cosmética do CRF-PR (2019) esses fatores podem ser listados de forma mais detalhada conforme mostrado abaixo.

- Região Anatômica: A espessura do estrato córneo varia de acordo com a região do corpo e quanto mais fino mais permeável ele é.
- Condições da Pele e Doenças: Doenças que causam alteração da composição dos lipídeos e proteínas do estrato córneo ou que alteram o processo de diferenciação da epiderme são capazes de afetar de forma significativa a função de barreira da pele.
- Idade: o processo de envelhecimento da pele a torna mais sensível e frágil e o processo de penetração é facilitado. De forma semelhante crianças recém-nascidas possuem barreiras cutâneas pouco desenvolvidas e a penetração de ativos também ocorre de forma potencializada. Ambos os grupos estão sujeitos a intoxicação sistêmica devido a facilidade de penetração.
- Metabolismo Cutâneo: por ser um tecido bioquimicamente ativo e possuir diversas enzimas a epiderme é capaz de metabolizar alguns ativos, diminuindo a sua disponibilidade. No entanto, a capacidade de metabolização dos ativos pela epiderme logo após a sua liberação é muito limitada a apenas certas substâncias altamente sensíveis são metabolizadas.

- Descamação: processos de descamação anormais que correspondem a mais de uma camada da epiderme por dia podem gerar aumento ou diminuição da penetração de substâncias na pele.
- Irritação Cutânea e Sensibilização: um fenômeno fisiológico da função de barreira da pele que é quase sempre seguido por uma resposta inflamatória. Se o ativo for irritante, este efeito pode ser potencializado no local inflamado. A sensibilização é outro grande problema, o qual muitas vezes é identificado somente após testes em larga faixa da população.
- Fatores Relacionados ao Ativo e à Formulação: características como lipofilicidade, tamanho e carga da molécula, grau de ionização, coeficiente de partição óleo e água e degradação enzimática influenciam diretamente na capacidade de penetração dos ativos. No que diz respeito a formulação as principais características que influenciam são a solubilidade e concentração do ativo, composição óleo e água, pH, tamanho de partícula e presença de promotores de absorção.

O veículo utilizado influencia diretamente na liberação e penetração dos ativos, ele deve primeiramente liberar a substância para que depois ela penetre na pele. Devido à complexidade do processo de absorção cutânea apontar de forma teórica qual veículo permite maior penetração de ativos é uma tarefa muito difícil. Para tal é necessário a realização de testes e investigação prática (LEONARDI et al., 2005).

Os promotores de absorção consistem em substâncias que interagem com o estrato córneo e alteram reversivelmente a sua resistência natural, facilitando a sua penetração de ativos na pele. Alguns exemplos são o dimetilsulfóxido (DMSO), ácido láctico, ácido salicílico, surfactantes, ureia e solventes orgânicos como etanol, metanol e acetona. Apesar de seus benefícios para as formulações, proporcionando um maior fluxo de ativos, muitas dessas substâncias podem gerar danos a pele (LEONARDI et al., 2005).

Os surfactantes são amplamente utilizados como agentes promotores de absorção cutânea, devido a sua capacidade de solubilizar substâncias lipofílicas apresentam tendência de solubilizar os lipídios do estrato córneo. Geralmente uma relação entre o potencial irritante e a capacidade de promover a penetração cutânea pode ser estabelecida. Os tensoativos aniônicos, que possuem o maior potencial irritante, apresentam o maior efeito promotor de penetração cutânea enquanto os não-

iônicos e menos agressivos apresentam os menores efeitos (WILLIAMS e BARRY, 2004).

Outro modo de aumentar a penetração do ativo é através do aumento da sua concentração. No entanto, este método apresenta uma série de limitações, podendo ser de cunho financeiro, de segurança (toxicidade), etc. Também é possível aplicar métodos físicos como como o ultrassom, corrente galvânica, hidratação do estrato córneo, etc (LEONARDI et al., 2005).

3.2 SURFACTANTES

Os sabonetes são surfactantes naturais e foram os precursores dos surfactantes sintéticos. Os primeiros registros de uso dos sabonetes datam de dois mil e quinhentos a.C pela civilização suméria. Pesquisas para o desenvolvimento de surfactantes por meio de rotas químicas começaram a ser desenvolvidas durante a primeira e segunda guerra mundial devido à falta de óleos animais e vegetais. Em 1830 Dumas e Peligot sintetizaram o primeiro surfactante sintético, chamado de lauril sulfato de sódio, muito utilizado até os dias atuais (LÓPEZ-MAHÍA et al., 2005; CAI e HAKKINEN, 2014)

No início os surfactantes sintéticos eram produzidos a partir do petróleo e atualmente são feitos de uma grande variedade substâncias conhecidas como petroquímicos, derivados do petróleo, e oleoquímicos, derivados de gorduras e óleos (LÓPEZ-MAHÍA et al., 2005).

De acordo com Corazza et al. (2010) um surfactante pode ser definido como uma molécula anfipática que apresenta grupos polares e apolares. O grupo polar é hidrofílico, ou seja, possui afinidade com a água e é chamado de cabeça. Já o grupo apolar é hidrofóbico, não possui afinidade com a água e é chamado de cauda.

3.2.1 Classificação dos surfactantes

A classificação mais utilizada dos surfactantes se baseia na natureza do seu grupo hidrofílico. De acordo com Myers (2006) a classificação pode ser feita conforme mostrado abaixo:

- Surfactantes Aniônicos

O grupo hidrofílico é carregado negativamente e os subgrupos mais importantes são os sabões, sulfonatos, sulfatos e fosfatos. É o tipo de surfactante mais consumido em todo o mundo, somando de 70% a 75% do consumo mundial (MYERS, 2006).

Possuem o maior poder de limpeza, boas propriedades umectantes, excelentes características de espuma e moderadas propriedades desinfetantes. Apresentam o maior potencial irritante para a pele e devido ao seu baixo custo são muito utilizados em produtos de limpeza (CORAZZA et al., 2010).

- Surfactantes Catiônicos

O grupo hidrofílico é carregado positivamente como os sais de amônio quaternários. Passaram a apresentar grande importância comercial devido a suas propriedades desinfetantes. Atuam como antissépticos para produtos cosméticos, como fungicidas e germicidas. Também são utilizados como condicionadores de cabelos e em muitas outras aplicações químicas. Apresentam um menor poder detergente que os aniônicos. O seu potencial de irritação da pele é aproximadamente igual ao dos surfactantes aniônicos (CORAZZA et al., 2010).

- Surfactantes Não-iônicos

O grupo hidrofílico não possui carga, mas apresenta solubilidade em água devido a presença de grupos com alta polaridade. As principais vantagens de utilizar esse tipo de surfactante são a sua baixa sensibilidade a presença de eletrólitos e a baixa influência do pH da solução (MYERS, 2006).

Apresentam baixo poder de limpeza e formação de espuma, são os mais gentis para a pele e também os mais caros (CORAZZA et al., 2010). Devido à sua natureza suave são muito empregados em produtos que requerem contato biológico, como os que buscam não irritar os olhos (MYERS, 2006).

- Surfactantes Anfóteros

Podem possuir características de surfactantes catiônicos ou aniônicos dependendo do pH da solução em que se encontram. Em condições ácidas a molécula adquire carga positiva e se comporta como um surfactante catiônico. Já em condições alcalinas a carga da molécula se torna negativa e se comporta como um surfactante aniônico. O ponto isoelétrico é atingido em um

determinado pH onde a molécula se torna neutra e passa a apresentar propriedades muito similares aos surfactantes não-iônicos (TADROS, 2005).

Devido a toxicidade e efeitos negativos que os surfactantes sintéticos químicos podem apresentar uma nova vertente vem sido muito estudada, os biosurfactantes. São definidos como qualquer produto ou sistema biológico que apresente as propriedades tensoativas associadas aos surfactantes. Seu uso apresenta grandes vantagens como biodegradabilidade, menores impactos ambientais e compatibilidade com produtos químicos e biológicos. Tais características proporcionam o desenvolvimento de novas formulações e produtos *'eco friendly'*, que em tradução literal significa *'amigos do meio ambiente'* (GUTNICK e BACH, 2017).

3.2.2 Micelas

De acordo com Corazza et al. (2010) os surfactantes quando estão em concentrações baixas e em contato com a água permanecem na superfície e projetam suas caudas hidrofóbicas para fora, buscando permanecer o mais afastado possível das moléculas de água. À medida que a concentração de surfactante vai aumentando são formadas estruturas chamadas de micelas.

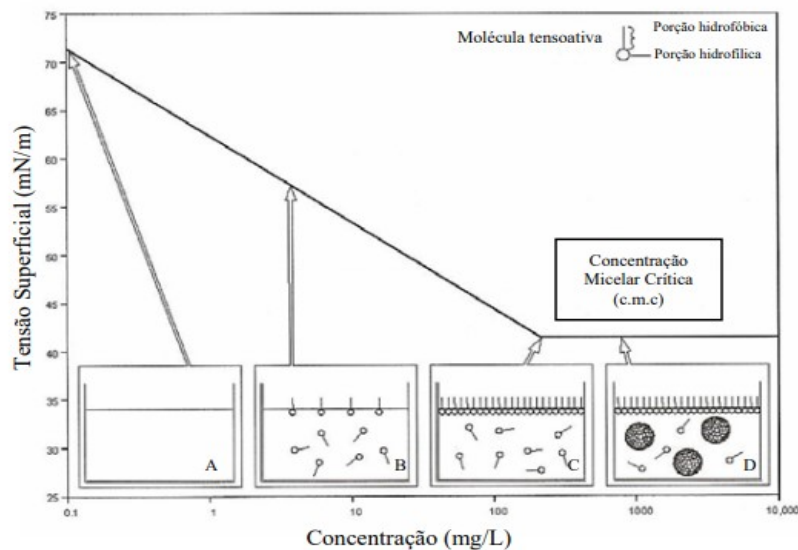
Zhang (2014) afirma que as micelas são agregados formados por interações não covalentes entre moléculas individuais de surfactantes, onde as cabeças hidrofílicas permanecem na superfície externa buscando maximizar o contato com as moléculas de água. Já as caudas hidrofóbicas se reúnem no interior do agregado para minimizar o contato desfavorável com as moléculas de água. As micelas podem ser esféricas ou possuir formatos irregulares (TEOTIA, SAMI e KUMAR, 2015).

As soluções micelares de surfactantes não-iônicos e anfóteros podem apresentar separação de fases acima de uma dada temperatura conhecida como ponto de nuvem. Passada essa temperatura a solução se torna turva e são formadas duas fases, uma rica em surfactantes e outra pobre. Esse fenômeno ocorre devido a diferenças de densidade e vem sendo explorado para o desenvolvimento de técnicas de extração, purificação e pré-concentração de uma série de analitos (HINZE e PRAMAURO, 1993).

A concentração micelar crítica ou CMC é a concentração mínima de surfactante para que ocorra a formação espontânea das micelas (CORAZZA et al., 2010). Sua determinação é muito importante já que se trata de um dos parâmetros mais utilizados para a determinação da eficiência de um surfactante, geralmente quando menor a CMC maior é a eficiência (MULLIGAN, 2005). Cada surfactante a uma dada temperatura e concentração de eletrólitos apresenta uma CMC. A técnica mais comum para a sua determinação é feita através da medida da tensão superficial (TADROS, 2005).

As moléculas presentes em um líquido exercem forças intermoleculares coesivas umas sobre as outras, as moléculas presentes na superfície não possuem moléculas acima delas e por essa razão apresentam uma força atrativa maior sobre as suas vizinhas mais próximas. A tensão superficial corresponde a este aumento das forças atrativas na superfície. À medida que a concentração de surfactante vai aumentando ocorre uma diminuição da tensão superficial. Quando a superfície se torna saturada e atinge-se a CMC os monômeros, moléculas de surfactantes não agregadas, passam a se organizar para formar as micelas. Quando a CMC é atingida a tensão superficial passa a ser praticamente constante. A Figura 2 ilustra esse comportamento (SANTOS et al., 2007).

Figura 2 - Comportamento das moléculas de surfactante entre as fases fluida e gasosa em função da tensão superficial.



Fonte: SANTOS et al. (2007)

3.2.3 Principais Usos dos Surfactantes

Devido a diminuição da tensão superficial e das forças de coesão na superfície da água, causada pela adição de surfactantes, é possível remover sujeira, detritos e resíduos de forma emulsionada (CORAZZA et al., 2010). Materiais orgânicos com baixa solubilidade podem ser solubilizado nas micelas, produzindo soluções com um conteúdo apolar substancial (MYERS, 2006).

Os surfactantes vêm sendo utilizados cada vez mais nas formulações de produtos, dados dos EUA indicam que os surfactantes aniônicos representam entre 43% e 67% dos ingredientes ativos nas formulações de uso doméstico, de cuidados pessoais e industriais (EFFENDY e MAIBACH, 1996).

De acordo com Corazza et al. (2010) os principais efeitos dos surfactantes são:

- Capacidade de limpeza, removendo a sujeira da pele e cabelos;
- Formação de espuma;
- É capaz de aumentar o contato entre o produto e sujeira devido a diminuição da tensão superficial;
- É um emulsificante e se acumula nas interfaces de dois líquidos imiscíveis, permitindo a formação de emulsões;
- Consegue aumentar a solubilidade de substâncias insolúveis em soluções.

Produtos cosméticos são geralmente emulsões, cremes, suspensões, etc. Sendo assim, muitos surfactantes são empregados. Nas formulações cosméticas busca-se utilizar surfactantes que não causem alergias, não danifiquem e não sensibilizem a pele. Os principais surfactantes sintéticos utilizados são os carboxilatos, éter sulfatos, sulfatos, sulfonatos, aminas quaternárias, betainas e sarcosinatos (TADROS, 2005).

3.2.4 Surfactantes e danos causados a pele

Apesar de remover a sujeira os surfactantes também são capazes de causar danos a pele. Alguns efeitos observados são ressecamento, danos a barreira, irritação e coceira. A extensão dos danos depende da natureza do surfactante e das condições

de limpeza (ANANTHAPADMANABHAN et al., 2004).

O mecanismo pelo qual os surfactantes geram irritações na pele ainda não é completamente conhecido e entendido, mas geralmente é associado a desnaturação de proteínas, remoção de lipídeos, inibição da proliferação celular e exposição a químicos (KAWASAKI et al., 2014).

Durante muito tempo acreditou-se que apenas os monômeros, moléculas não agregadas de surfactantes, eram capazes de penetrar na pele devido ao seu tamanho diminuto em relação as micelas. Apesar de acima da CMC os danos observados serem menores pesquisas recentes mostram que após exposição contínua da pele danos como irritação e ruptura de barreira aumentam com o aumento da concentração de surfactante, mesmo estando acima da CMC. Estudos tem mostrado que o potencial irritante está associado com o tamanho das micelas que os surfactantes formam. Isto ocorre pois quanto menor é o tamanho da micela mais facilitada é a sua penetração no estrato córneo, gerando maior irritação (SEWERYN, 2018).

Praticamente todas as formulações de produtos de limpeza de pele utilizam concentrações de surfactantes bem acima da CMC e nessas condições qualquer contato com esses produtos pode causar remoção dos lipídios presentes no estrato córneo. Abaixo da CMC o surfactante é capaz de enfraquecer a bicamada lipídica, afetando de forma negativa a propriedade de barreira da pele. Estudos mostram que os ácidos graxos são os principais removidos durante a limpeza devido a ação dos surfactantes, podendo aumentar da rigidez do estrato córneo. Os demais lipídios são removidos por meio do processo de esfoliação natural da pele (MUKHERJEE; CHANDRASHEKAR; GAIKWAD, 2015).

De modo geral podemos dizer que a interação existente entre os surfactantes e as proteínas presentes no estrato córneo são capazes de gerar danos a hidratação e viscoelasticidade da pele. Os surfactantes são capazes de se ligar as proteínas presentes no estrato córneo levando a um inchaço e super-hidratação das células que são capazes de facilitar a penetração de produtos na pele, podendo levar a respostas bioquímicas como coceira e irritação. A ligação dos surfactantes as proteínas geram uma redução da capacidade das mesmas de se ligar e reter água, geralmente após a lavagem a pele se torna mais seca (ANANTHAPADMANABHAN et al., 2004).

Estudos demonstram que a tendência dos surfactantes de gerar dano e desnaturação das proteínas está relacionado com as interações eletroestáticas existentes entre as proteínas e os agregados de surfactante. Isso explica a ordem de

potencial de irritação dos surfactantes, já que os aniônicos são capazes de estabelecer interações eletroestáticas fortes com as proteínas, seguidos pelos anfóteros e sendo os menos irritantes os aniônicos (ANANTHAPADMANABHAN et al., 2004; SEWERYN, 2018).

A síntese do fator de hidratação natural da pele, conjunto de substâncias hidrofílicas e higroscópicas, é regulada no fundo do estrato córneo. Quando o nível de hidratação da pele está baixo a sua síntese é aumentada para amplificar a capacidade de retenção de água da pele, elevando a hidratação a níveis adequados. Devido a lixiviação dos componentes hidrofílicos de hidratação natural da pele, após a sua limpeza, ocorre a diminuição do fator de hidratação natural da pele (NMF – *Natural Moisturizing Factor*), contribuindo para o seu ressecamento e perda de viscoelasticidade (MUKHERJEE; CHANDRASHEKAR; GAIKWAD, 2015).

As interações dos surfactantes com o estrato córneo são responsáveis por gerar danos a propriedade de barreira da pele, permitindo que os surfactantes penetrem em camadas mais profundas da epiderme, onde células vivas como os queratinócitos estão presentes. Os surfactantes se ligam ao citoplasma dos queratinócitos comprometendo a atividade dessas células e também podem causar danos a proteínas que constroem outras células vivas.

3.3 ÁGUA MICELAR

A água micelar é um produto para limpeza facial desenvolvido na França, onde já é utilizada há décadas. Acredita-se que o seu desenvolvimento se deu devido à grande dureza da água parisiense, não sendo adequada para a limpeza facial. Para contornar este problema especialistas desenvolveram a água micelar que não precisa de enxague para limpar e remover sujeira e maquiagem do rosto. Se antes a água micelar era conhecida e usada apenas pelas parisienses recentemente passou a ter grande popularidade mundial (GARNIER, 2019).

Por ser um líquido de limpeza que não necessita de enxague e atuar tanto como removedor de maquiagem e limpador facial a água micelar é extremamente indicada para pessoas que possuem uma rotina agitada e se encontram sempre em movimento (L'OREAL, 2019). As formulações de água micelar são desenvolvidas para

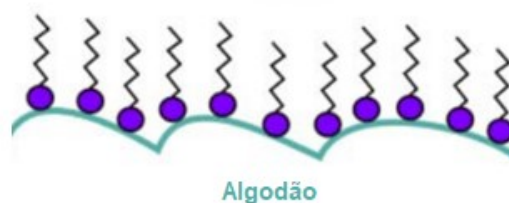
que atuem como uma maneira das mulheres limparem a pele sem afetá-la negativamente (GARNIER, 2019).

Os principais ingredientes de qualquer água micelar são água, surfactantes, hidratantes e fragrância (CASTRO, 2019). Quando temos uma certa quantidade de surfactante em água, acima da CMC, micelas são formadas. Elas agem como ímãs de sujeira e substâncias oleosas (MICHELLE, 2015; L'OREAL, 2019). Algumas marcas utilizam substâncias oleosas em suas formulações, essas substâncias em solução se depositam no interior das micelas, onde o meio é lipofílico (MICHELLE, 2015).

Atualmente no mercado existem dois tipos de água micelar: monofásica e bifásica. A monofásica é composta basicamente por água, surfactantes e conservantes. É indicada para limpeza suave e remoção de maquiagens a base d'água. Já a composição básica da bifásica consiste em água, um composto lipídico volátil, surfactantes e conservantes. Apresenta uma maior capacidade de limpeza e consegue remover maquiagem a base de óleo devido a maior carga de substâncias hidrofóbicas presente na formulação (CARLI, 2015).

A aplicação deve ser feita com auxílio do algodão para permitir o contato do produto com a pele e a remoção da sujeira e maquiagem. O algodão apresenta características hidrofílicas assim como a cabeça dos surfactantes. Devido a essa afinidade, ao entrar em contato com o algodão as moléculas de surfactantes deixam de se organizar na forma de micelas e passam a se alinhar com a superfície do algodão, deixando a cauda que possui afinidade com a sujeira exposta para entrar em contato com a pele (CASTRO, 2019). A Figura 3 ilustra essa configuração.

Figura 3 - Alinhamento das moléculas de surfactante presentes na água micelar com o algodão



Fonte: Adaptada de CASTRO

3.4 GALDIERIA SULPHURARIA

Alga é um termo genérico que define um grupo heterogêneo de organismos unicelulares (microalgas) e multicelulares (macroalgas). Elas podem ter tamanhos variados, desde microscópicos, gigantes ou intermediários. Também podem possuir diversas cores, como verde, amarelo, vermelho, violeta, azul e marrom. Seus habitats são diversificados, sendo encontradas nos ecossistemas terrestres, aquáticos e aéreos (GALLO, 2019).

O termo microalga não remete a uma classificação taxonômica, porém engloba toda a variedade dos organismos unicelulares que são autótrofos, heterótrofos e mixotróficos. A classificação taxonômica das microalgas leva em consideração principalmente sua composição de pigmentos, entre outras características tais como estrutura celular básica, ciclo de vida, material armazenado e tipos de moléculas (GAINARD et al., 2019).

As microalgas pertencentes ao filo Rhodophyta, mais conhecidas como microalgas vermelhas, estão em crescente interesse de pesquisa, devido aos compostos valiosos obtidos a partir das mesmas (GAINARD et al., 2019). Além disso, como destacado por Sydney et al. (2019), as microalgas extremófilas são potenciais candidatas para aplicações industriais por virtude de suas condições de crescimento que evitam contaminações.

3.4.1 Classificação da *Galdieria sulphuraria*

A microalga *Galdieria sulphuraria* é capaz de crescer em ambientes ácidos (0-4 pH) e com altas temperaturas (até 56°C), sendo considerada extremófila e possui capacidade de produção de biomoléculas, por isso tem sido crescente o interesse em pesquisas desse microrganismo (SYDNEY et al., 2019). A classificação da *G. sulphuraria* contida na base de dados AlgaeBase está na Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação da *Galdieria sulphuraria*

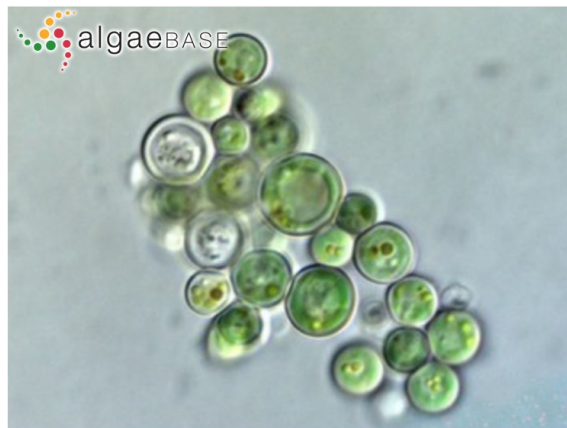
Domínio	Eucariota
Reino, sub-reino	Plantae, Biliphyta
Filo, subfilo	Rhodophyta, <u>Cyanidiophytina</u>
Classe	<u>Cyanidiophyceae</u>
Ordem	<u>Cyanidiales</u>
Família	Galdieriaceae
Gênero	Galdieria
Espécie	<i>Galdieria sulphuraria</i>

Fonte: Algae Base

Esta classificação taxonômica foi proposta por Yoon et al. (2006), a qual definiu que o filo Rhodophyta tem dois subfilos, Cyanidiophytina e Rhodophytina. No subfilo Cyanidiophytina há a única classe Cyanidiophyceae, onde há a ordem Cyanidiales com duas famílias, Galdieriaceae e Cyanidiaceae. Na família Galdieriaceae há apenas um gênero, *Galdieria*, o qual foram identificadas cinco espécies.

Como descrito na pesquisa de Yoon et al. (2006), o subfilo Cyanidiophytina têm como principal característica os habitats extremófilos de valores baixos de altas temperaturas. Além de serem unicelulares, de formatos esféricos ou elípticos, com parede celular espessa ou inexistente, heterótrofos facultativos ou autotróficos obrigatórios e se reproduzem por divisão celular ou formação de esporos.

As espécies do gênero *Galdieria* possuem as habilidades particulares de metabolismo flexível, crescendo fotoautotroficamente, heterotroficamente ou mixotroficamente, versatilidade na utilização de fontes de carbono para o crescimento heterotrófico, alta resistência a ambientes extremófilos e a metais (ČÍŽKOVÁ; VÍTOVÁ; ZACHLEDER, 2019). Dentre as espécies do gênero *Galdieria*, uma delas é a *Galdieria sulphuraria* (Figura 4).

Figura 4 - *Galdieria sulphuraria*

Fonte: AlgaeBase

A *G. sulphuraria* é unicelular, esférica e sua reprodução é exclusivamente assexuada por formação de esporos. É encontrada em diversas partes do mundo: Nápoles (Itália), Califórnia, Parque Nacional de Yellowstone, Java (Indonésia) e Rússia (ČÍŽKOVÁ; VÍTOVÁ; ZACHLEDER, 2019). Os ambientes são caracterizados por possuírem águas quentes, sulfurosas, salgadas, extremamente ácidas e carregadas de metais pesados, como arsênico, mercúrio e cádmio (YONG, 2013).

Pela sua classificação, espera-se que a microalga tenha cor vermelha, pois pertence ao filo Rhodophyta. Contudo, como Yong (2013) explica na matéria escrita a National Geographic, que ela adquire cores diferentes conforme seu modo de crescimento. A cor varia de verde, amarelo e azulada dependendo dos substratos e luz disponíveis.

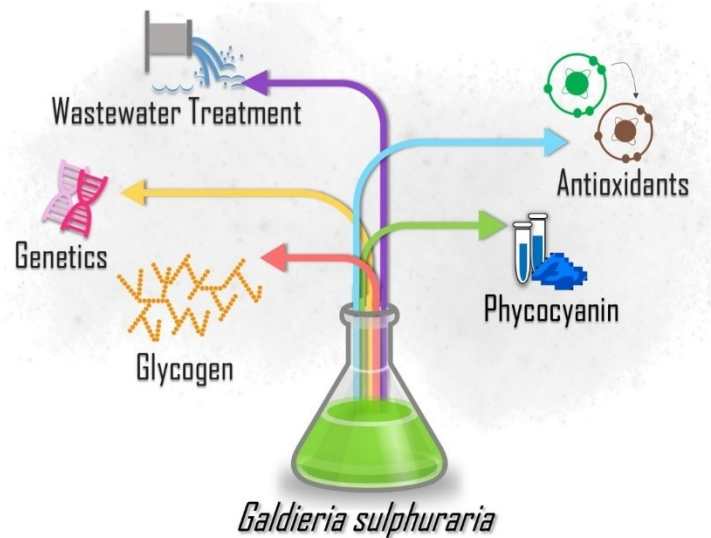
A resistência da *G. sulphuraria* é explicada na pesquisa de Schonknecht et al. (2013), que sequenciou seu genoma e concluiu que a facilidade na adaptação ambiental provém da transferência de genes de bactérias e arqueias, conhecidas por sobreviverem sob condições extremas. Na sua pesquisa também citou a possibilidade de crescimento em mais de cinquenta fontes de carbono.

Sydney (2019) ressalta a importância de estudos nessa espécie, pois ela é uma ligação evolutiva entre as plantas e cianobactérias. Estudos potenciais da microalga são relacionados à produção em larga escala da sua biomassa, conhecimento de bioprodutos, manipulação e transferência genética para outros microrganismos, já que a *G. sulphuraria* apresenta várias características interessantes para o mercado.

3.4.2 Bioprodutos da *Galdieria sulphuraria*

Os bioprodutos provenientes da microalga *G. sulphuraria* possuem alto valor agregado, portanto podem ser uma maneira de contornar as barreiras para utilização da microalga industrialmente. As biomoléculas produzidas compreendem pigmentos, ácidos gordos, proteínas, polifenóis, polissacarídeos, vitaminas e minerais, tocoferóis e outros antioxidantes (SYDNEY et al., 2019). A Figura 5 mostra algumas das aplicações possíveis da microalga devido a suas características.

Figura 5 - Aplicações da *Galdieria sulphuraria*



Fonte: SYDNEY et al. (2019)

Cultivos mixotróficos da *G. sulphuraria* acumulam cadeias de glicogênio pequenas e altamente ramificadas, promissoras na indústria de alimentos e rações. Também é conhecido o poder antioxidante do seu extrato, no entanto ele é pouco explorado, sendo uma lacuna observada nas pesquisas, principalmente com relação às aplicações cosméticas (SYDNEY et al., 2019).

Extratos naturais antioxidantes têm sido muito utilizados em formulações cosméticas e favorecem as propriedades de cura e prevenção contra o envelhecimento precoce, possuem baixa toxicidade em relação aos antioxidantes sintéticos e aumentam a qualidade do produto (SILVA, 2016).

O extrato de *G. sulphuraria* tem alto poder antioxidante. Existem pesquisas buscando investigar as substâncias que têm essas propriedades, sendo que já foi comprovada a composição alta de glutathione e ficocianina (BOTTONE et al. 2018; CARFAGNA et al., 2014). É consolidado no meio científico o conhecimento de que a glutathione tem alto poder antioxidante, devido a propriedade de transformação ou eliminação de compostos químicos estranhos ao organismo humano (xenobióticos) e na defesa celular contra o estresse oxidativo (HUBER et al. 2008). Pesquisas que estudam a produção de glutathione constataram que culturas heterotróficas de *G. sulphuraria* contém teores altos dessa substância, sendo muito maiores que quando comparados com outras microalgas (BOTTONE et al., 2018).

A ficocianina é pertencente ao grupo de moléculas das ficobiliproteínas, caracterizadas por serem coloridas e solúveis em água. Sua atividade antioxidante

está relacionada com uma parcela da molécula, a ficocianobilina, que possui uma estrutura semelhante a bilirrubina, um antioxidante natural (ERIKSEN, 2008; FORMIGHERI, 2017). Além disso, Formigheri (2017) destaca que a ficocianina tem capacidade na varredura de radicais livres hidroxila, alcóxil e ânion superóxido. Os pesquisadores comprovaram que crescimentos heterotróficos da *G. sulphuraria* na ausência de luz possuem alto teor de ficocianina (ERIKSEN, 2008; BOTTONE et al., 2018).

Porém em poucas pesquisas foi constatada a caracterização de compostos fenólicos em extratos de *G. sulphuraria*. Os compostos fenólicos são um grupo de antioxidantes muito importantes. Suas propriedades antioxidantes relacionam-se com a capacidade de impedir a oxidação dos lipídios por eliminação direta de espécies reativas de oxigênio. As microalgas são conhecidas por produzirem compostos bioativos, porém há pouca exploração na investigação de compostos fenólicos, embora sua existência tenha sido constatada (ZIMMERMAN et al., 2019).

Vale destacar que além das moléculas citadas anteriormente, Bimonte et al. (2016) obteve um extrato hidrossolúvel de *Galdieria sulphuraria* e foi comprovado potencialidade em regular a produção de sebo. Conduziu-se testes em humanos e avaliação da enzima de produção do sebo 5- α Reductase. Tais testes comprovaram que o extrato foi capaz de reduzir a produção de sebo. Portanto se mostra um ingrediente interessante para formulações cosméticas com intuito de reduzir a oleosidade da pele.

Assim reconhece-se que a *G. sulphuraria* tem grande potencial para aplicações cosméticas, visto que as microalgas produzem compostos bioativos interessantes para essa indústria, principalmente os antioxidantes.

3.4.3 Toxicidade da *Galdieria sulphuraria*

Toda substância química é um agente tóxico de acordo com sua dose e condições de exposição, portanto se vê necessário o estudo da toxicologia visando a comprovação científica da segurança do mesmo (JÚNIOR, 2010). No Brasil há um documento oficial com relação à segurança de produtos cosméticos, que é o Guia de Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos publicado pela ANVISA.

No guia é enfatizado que antes de lançar um produto no mercado, deve ser feita a avaliação de segurança, baseada no risco que oferece. Um risco é a

probabilidade de ocorrência de irritação, sensibilização, sensações de desconforto e efeito sistêmico (passagem de algum ingrediente para corrente sanguínea). O conhecimento do risco associado está intimamente ligado com a toxicidade dos ingredientes da fórmula. A natureza físico-química e a metodologia de avaliação utilizada são pertinentes para os dados toxicológicos (ANVISA, 2012).

Ao analisar a segurança dos ingredientes deve-se levar em consideração o tipo de produto que o ingrediente será incorporado, método, quantidade, frequência e local de aplicação, concentração do ingrediente no produto, duração do contato e tipo do consumidor (FRAZÃO, 2017).

Lhullier, Horta e Falkenberg (2006) apontam que “compostos bioativos são quase sempre tóxicos em altas doses”. Nas fases de desenvolvimento de um produto ou pesquisa de bioativos, em que estão sendo feitos extratos sob condições diferentes, é interessante utilizar uma metodologia de avaliação da letalidade em organismos animais menos complexos, pois é possível monitorar de forma simples e rápida a ação desses extratos (LHULLIER; HORTA; FALKENBERG, 2006).

Neste contexto, considera-se muito importante a avaliação da toxicidade da *G. sulphuraria*. Alguns trabalhos publicados indicam possível aplicação da microalga em nutrição humana, devido ao seu alto teor de proteínas e outros macronutrientes (ČÍŽKOVÁ; VÍTOVÁ; ZACHLEDER, 2019).

Gallo (2019) aponta que as microalgas têm alto potencial para nutrição humana e ressalta que já existem produtos no mercado contendo microalgas com esse propósito. Athané et al. (2020) conduziu testes de toxicidade repetida por noventa dias por ingestão oral em ratos do extrato da *Galdieria sulphuraria* e não exerceu qualquer efeito adverso notável de significância toxicológica indicando que esta microalga tem grande potencial de ser utilizada para nutrição e outras aplicações que tenham contato com humanos.

3.5 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES

O oxigênio é altamente reativo e pode ser reduzido para formar agentes químicos reativos. Esse processo de formação de agentes químicos reativos, conhecidos como Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), é feito pela transferência de elétrons ou absorção de energia a partir do oxigênio. As ERO são moléculas que

possuem no último orbital um elétron desemparelhado e são chamadas de Radicais Livres (RL), caracterizados pela alta instabilidade e reatividade (SILVA, 2016). A maioria dos radicais livres são derivados do oxigênio molecular, sendo que alguns deles são o ânion radical superóxido, radical hidroxila, peroxila e o óxido nítrico (FRIES; FRASSON, 2011).

As ERO participam de vários processos fisiológicos na sinalização celular e são muito importantes em respostas biológicas, porém altas concentrações desse tipo de molécula podem ser perniciosas para o organismo (OGA; CAMARGO; BITISTUZZO, 2008). Estas são produzidas constantemente, porém o desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres do organismo são associados aos danos prejudiciais para os constituintes da célula (SILVA, 2016; OGA; CAMARGO; BITISTUZZO, 2008).

Há a situação em que o desequilíbrio entre antioxidantes e oxidantes é caracterizada pela predominância em oxidantes, definida como estresse oxidativo. Oga, Camargo e Bitistuzzo (2008) afirmam que “a diminuição de defesa antioxidante ou o aumento da geração de espécies oxidantes, radicalares ou não, pode resultar em lesões oxidativas em macromoléculas e diversas estruturas celulares que, se não forem reparadas, alterarão a funcionalidade de células, tecidos e órgãos”. Os antioxidantes têm o papel de fornecer esse equilíbrio e são responsáveis pelo bloqueio ou redução do estresse oxidativo. Em resumo são um grupo de substâncias que quando estão em concentrações ideais inibem o processo de oxidação (SILVA, 2016).

Uma das classificações utilizadas para os antioxidantes é relacionada com o tipo de sistema de defesa. As reações radicalares ocorrem em três etapas, iniciação, propagação e término. As substâncias do sistema de defesa primário impedem a geração das espécies reativas ou retém-nas, impedindo a iniciação da reação. São elas as enzimas antioxidantes, quelantes e proteínas (transferrina e ceruloplasmina) e substâncias não enzimáticas (urato, ascorbato, albumina, bilirrubina e carotenóides). As do sistema de defesa secundário bloqueiam a etapa de propagação roubando radicais intermediários (peroxil e alcóxil) e pode-se citar os tocoferóis, tocotrienóis, flavonóides e antioxidantes sintéticos. No sistema terciário há o reparo do DNA removendo as lesões oxidativas (OGA; CAMARGO; BITISTUZZO, 2008).

Os oxidantes reagem com o DNA, RNA, proteínas e outras substâncias suscetíveis a oxidação causando envelhecimento precoce e instalação de doenças degenerativas (como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras) (SILVA,

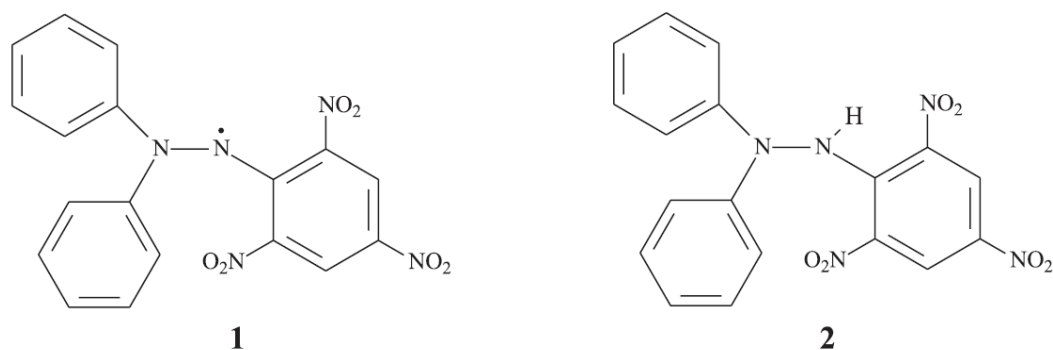
2016). Fries e Frasson (2011) ressaltam que provavelmente as manifestações do envelhecimento precoce mais visíveis estão relacionadas com a pele, resultando no aparecimento de rugas, aspereza, falta de pigmentação e flacidez cutânea. Esse resultado incomoda esteticamente uma parcela crescente da população que busca o rejuvenescimento. Portanto, é de grande importância para a indústria cosmética o estudo de formulações com ativos antioxidantes (RODRIGUES; SANTOS, 2018).

O envelhecimento cutâneo pode ser classificado como intrínseco e extrínseco. O primeiro é natural, relacionado com o fator genético. O segundo é causado por exposição à radiação solar, poluição, consumo excessivo de álcool e tabaco e má alimentação, que causam danos à pele e formação de RL (RODRIGUES; SANTOS, 2018). Com o passar do tempo e a exposição excessiva às condições citadas anteriormente, a capacidade de recuperação do organismo contra a ação dos radicais livres diminui. Os queratinócitos epidérmicos perdem as propriedades de adesão, induzindo o afinamento e ressecamento da epiderme. Os fibroblastos da derme, que geram o colágeno e elastina, também são atacados, o que leva ao desenvolvimento de rugas, manchas, perda da luminosidade, elasticidade e firmeza cutânea, flacidez, aumento do ressecamento da pele e em casos extremos até o desenvolvimento de câncer de pele (FRIES; FRASSON, 2011).

Com intuito de diminuição das agressões causadas pelos RL, o organismo utiliza de defesas antioxidantes endógenas a partir principalmente das enzimas antioxidantes ou exógenas pela alimentação e aplicação de cosméticos dermatológicos. O crescente interesse da população em cosméticos para este fim possibilitou a comunidade científica e industrial a descoberta de vários ativos antioxidantes e ao desenvolvimento e comercialização de cosméticos antienvhecimento (FRIES; FRASSON, 2011).

Para mensurar a atividade antioxidante são utilizados métodos como inibição da quimioluminescência e o sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH*). O mais utilizado, pela rapidez e praticidade, é o método DPPH (FRIES; FRASSON, 2011). Este método é caracterizado pela utilização do DPPH*, que é um radical livre orgânico bastante estável na ausência de luz (OLIVEIRA, 2015). A Figura 6 representa a estrutura do RL DPPH* e da hidrazina que é a forma não radicalar.

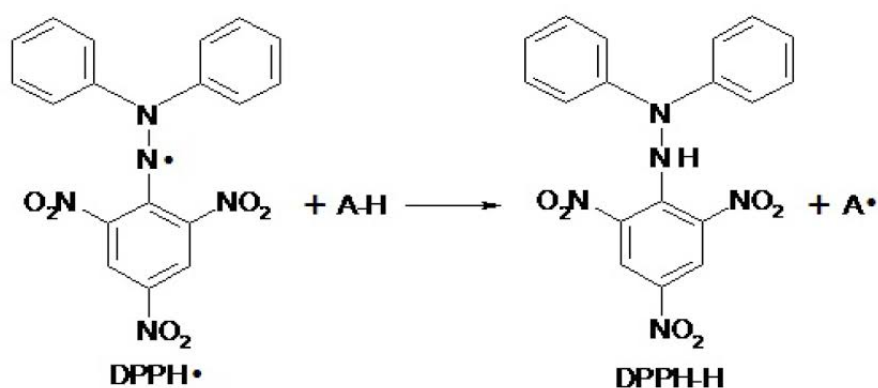
Figura 6 - Forma radicalar (1) DPPH* e forma não radicalar (2) hidrazina



Fonte: ALVES et al. (2010)

A estabilidade da molécula é devido a sua estrutura química, que possui três anéis aromáticos. Esses anéis possibilitam o efeito de ressonância, importante para estabilizar o elétron livre. A localização desse elétron confere ao DPPH* a cor púrpura ou violeta, caracterizada pela absorção entre 515 a 520 nm. Um dos mecanismos de reação que caracteriza o método está na Figura 7.

Figura 7 - Mecanismo de reação entre o DPPH* e o antioxidante através da transferência do átomo de hidrogênio



Fonte: OLIVEIRA (2015)

Existem dois mecanismos que ocorrem ao determinar a capacidade antioxidante, que sempre resultam na neutralização ou redução do radical a hidrazina (DPPH-H). O primeiro baseia-se na transferência de elétrons e o segundo na transferência de um átomo de hidrogênio (OLIVEIRA, 2015). Alves et al. (2010) explica que “quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido”.

Oliveira (2015) aponta que o principal mecanismo de reação é a transferência de hidrogênio e que o método sofre muitas modificações ou adaptações, como diferentes solventes do DPPH*, concentrações iniciais de DPPH*, alíquotas, tempos

de reação e absorbâncias. A mudança de cor é monitorada por um espectrofotômetro UV/visível para determinar a capacidade antioxidante e este deve ser realizado sempre na ausência de luz, pois este fator interfere diretamente na reação do DPPH* (OLIVEIRA, 2015; ALVES et al., 2010).

3.6 ESTABILIDADE DE COSMÉTICOS

O principal documento oficial no Brasil para orientar sobre testes de estabilidade de cosméticos é o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (2004) publicado pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária e este tópico está todo baseado no mesmo. Neste guia é definido que “estudos de estabilidade têm por objetivo avaliar a capacidade de um produto de manter suas características organolépticas, físico-químicas, microbiológicas, de segurança e eficácia”.

A modificação das condições de um produto ao longo do teste pode não ser um motivo de reprovação, pois o mesmo pode estar nos limites estabelecidos ao longo de todo o processo. Estes estudos são importantes, pois contribuem no desenvolvimento e aperfeiçoamento das formulações e materiais de acondicionamento, estimação do prazo de validade, fornecimento de informações sobre sua estabilidade, confiabilidade e segurança.

Para o entendimento da estabilidade de um produto, é necessário também compreender os fatores que a afetam. São eles todas as variáveis envolvidas na formulação, processo de fabricação, material de condicionamento, condições ambientais e de transporte. Os fatores podem ser classificados em extrínsecos que são os externos e intrínsecos que são os internos, relacionados com a própria formulação.

Alguns dos fatores extrínsecos são: tempo, temperatura, luz, oxigênio, umidade, material de acondicionamento, microrganismos e vibração. Os efeitos dessas variáveis podem ser danosos para o cosmético. O tempo leva ao envelhecimento do produto, alterando características organolépticas, físico-químicas, microbiológicas e toxicológicas. Altas temperaturas aceleram reações físico-químicas e químicas, mudando a atividade de componentes, viscosidade, aspecto, cor e odor. As baixas temperaturas geralmente aceleram a turvação, precipitação e cristalização.

A luz e o oxigênio formam radicais livres que desencadeiam reações de óxido-redução, sendo necessário realizar o armazenamento adequado do produto. A umidade altera fisicamente o produto, principalmente os de forma sólida, ocasionado o amolecimento, deixando-o pegajoso, modificando o peso ou volume e até favorecendo contaminações microbiológicas. Os materiais de condicionamento afetam diversas características na estabilidade, tal que é necessário realizar testes de compatibilidade entre o produto e o material. Os microrganismos devem ser avaliados, visto que a segurança para o consumidor é inevitável, principalmente em formulações que contenham muita água, pois essas são mais suscetíveis a contaminação. A vibração é uma variável presente principalmente no transporte e afeta a estabilidade separando fases de emulsões, compactação de suspensões ou alterando a viscosidade, além alterar a temperatura do produto.

Fatores intrínsecos são aqueles da própria formulação, a interação entre os ingredientes entre si ou com o material de acondicionamento, que podem gerar incompatibilidades indesejadas. Essas incompatibilidades podem ser físicas e químicas. As incompatibilidades físicas afetam o aspecto físico da formulação, constatadas por precipitação, separação de fases, cristalização, formação de gretas, entre outros. Já as químicas compreendem o pH, reações de oxido-redução e hidrólise, interação entre ingredientes da formulação ou entre os ingredientes e o material de acondicionamento. Podem ocorrer efeitos negativos para o produto que estão relacionados com as incompatibilidades químicas destacadas.

O pH afeta a estabilidade dos ingredientes, eficácia e segurança. As reações de óxido-redução inibem a atividade de substâncias ativas ou alteram características organolépticas e físicas. As reações de hidrólise são comuns em formulações com muita água e as substâncias mais sensíveis são os ésteres e as amidas. As interações entre ingredientes da formulação levam a reações químicas indesejáveis, inibindo ou alterando a atividade da fórmula. As interações entre ingredientes e material de acondicionamento alteram fisicamente ou quimicamente os componentes interagidos.

3.6.1 Testes de Estabilidade

Os testes de estabilidade devem ser realizados durante o desenvolvimento de uma formulação, validação de processos ou equipamentos novos, mudanças

significativas no processo, nas matérias-primas ou no material de acondicionamento utilizado. Esses testes devem ser feitos sob condições que acelerem as mudanças negativas comentadas anteriormente, para que sejam obtidas as informações de estabilidade.

Os fatores que afetam a estabilidade são aqueles que podem ser avaliados durante os testes de estabilidade, tal que comumente são divididos em organolépticos, físico-químicos e microbiológicos. O Quadro 2 reúne os tipos de avaliações e as características usualmente avaliadas.

Quadro 2 - Aspectos usualmente avaliados nos Testes de Estabilidade

Avaliação	Características
Organoléptica	Aspecto, cor, odor, sabor e sensação ao tato
Físico-Química	Valor de pH, materiais voláteis, teor de água, viscosidade, tamanho de partícula, centrifugação, densidade, granulometria, condutividade elétrica, umidade e teor de ativo
Microbiológica	Teste de desafio do sistema conservante e contagem microbiana

Fonte: ANVISA (2004)

Esses parâmetros geralmente são definidos pelo formulador e dependem dos ingredientes utilizados. Outro ponto extremamente importante é a manutenção da funcionalidade e segurança do produto.

O acondicionamento recomendado para os testes é um frasco de vidro neutro, exceto em casos de incompatibilidade da fórmula com o vidro. As condições de armazenagem aplicadas durante os testes simulam uma situação crítica (estresse) ou condições usuais na zona climática em que o produto será vendido, produzido ou transportado, tal que as mais frequentes estão no Quadro 3.

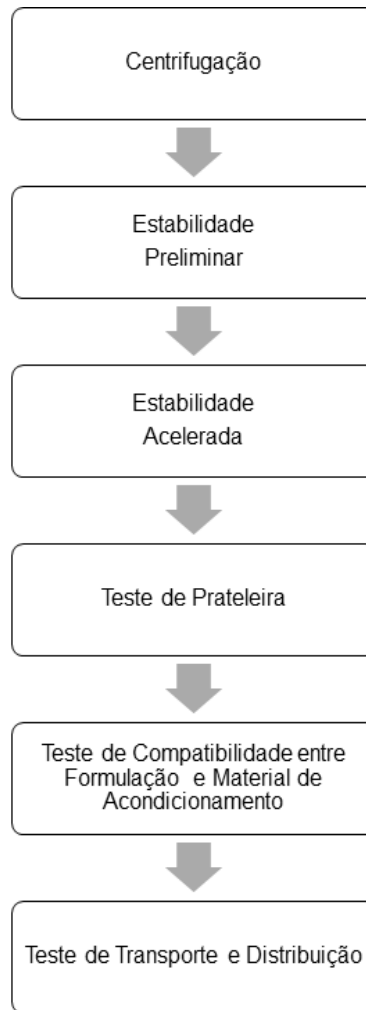
Quadro 3 - Condições de armazenagem sugeridas para os testes de estabilidade

Condição	Limites
Temperatura ambiente	Em torno de 25°C
Temperatura elevada	Estufa: T= 37 ± 2°C Estufa: T= 40 ± 2°C Estufa: T= 45 ± 2°C Estufa: T= 50 ± 2°C
Temperatura baixa	Geladeira: T= 5 ± 2°C Freezer: T= -5 ± 2°C Freezer: T= -10 ± 2°C
Exposição à radiação luminosa	Luz solar Lâmpadas de xenônio Outras lâmpadas que apresentam espectro semelhante ao sol Luz ultravioleta
Ciclos de congelamento e descongelamento	Ciclos de 24h à temperatura ambiente e 24h a -5 ± 2°C. Ciclos de 24h a 40 ± 2°C e 24h a 4 ± 2°C. Ciclos de 24h a 45 ± 2°C e 24h a -5 ± 2°C. Ciclos de 24h a 50 ± 2°C e 24h a -5 ± 2°C. Número de ciclos é variável

Fonte: ANVISA (2004)

A decisão de qual condição utilizar é do avaliador, por uma análise crítica de quais busca. Essas condições são fornecidas a partir de aquecimentos em estufas, resfriamentos em refrigeradores, congelamentos em freezers, exposições à radiação luminosa do sol ou de lâmpadas especiais, ciclos de congelamento e descongelamento ou resfriamento e aquecimento.

A recomendação para a sequência de realização dos testes de estabilidade está na Figura 8, sendo que alguns testes podem ser realizados em paralelo com outros.

Figura 8 - Sequência de realização dos testes de estabilidade

Fonte: Adaptado de ANVISA (2004)

Primeiramente o produto é submetido ao teste de centrifugação, a 3000 rpm durante 30 minutos, tal que deve permanecer estável e o contrário indica a necessidade de reformulação.

O Teste de Estabilidade Preliminar objetiva o auxílio e orientação sobre a escolha das formulações e não pode ser utilizado para estimar a vida útil do produto. Consta em um teste na fase inicial do desenvolvimento do produto com diferentes formulações com durações reduzidas e sob condições extremas de temperatura, visando acelerar possíveis reações para identificação das características do produto. A duração geralmente é de 15 dias.

O Teste de Estabilidade Acelerada tem como objetivo o fornecimento de informações com intuito de prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil, e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento. É realizado durante a fase de desenvolvimento ou início da produção e as condições geralmente

são menos agressivas comparadas ao teste anterior. Uma das informações que podem ser estimadas é o prazo de validade.

Como um dos objetivos é a avaliação da compatibilidade entre a formulação e a embalagem final, é aconselhado fazer o Teste de Compatibilidade entre Formulação e Material de Acondicionamento em paralelo. Podem ser avaliados diversos materiais para a embalagem final, como celulósico, metálico, plástico, vidro ou pressurizado, o qual são avaliados fenômenos de absorção, migração, corrosão ou outros indesejados.

A duração média do teste de estabilidade é de 90 dias, contudo dependendo do tipo de produto pode durar de 6 meses a 1 ano. Recomenda-se que o avaliador verifique a situação das amostras no tempo 0, 24 horas, sétimo, décimo quinto, trigésimo, sexagésimo e nonagésimo dias.

O Teste de Prateleira proposita a validação dos limites de estabilidade da fórmula e comprovação do prazo de validade estimado no Teste de Estabilidade Acelerada. O produto é submetido as suas condições normais de armazenamento, que é geralmente a temperatura ambiente, pelo período de tempo de validade que foi estimado.

O Teste de Transporte e Distribuição tem como finalidade a predição do comportamento do produto na cadeia logística, incluindo o manuseio e o transporte. Esse teste deve ser realizado pois as condições que o produto e a embalagem sofrem podem levar a resultados indesejados pelo consumidor. Para isso pode ser feito um ensaio real ou simulado, primeiramente com a embalagem e secundamente com o conjunto embalagem e produto. São avaliadas como as condições de estresse, que são vibração, temperatura, umidade, pressão, impacto e outras, afetam a embalagem e o produto.

Finalmente, após a realização de todos os testes que o formulador viu necessário, é preciso interpretar se o produto final é ou não estável. Para essa avaliação é feito uma comparação com uma amostra-padrão ou produtos considerados referência, submetidos as mesmas condições.

4 METODOLOGIA

4.1 CLASSIFICAÇÃO DA PESQUISA

Do ponto de vista de sua natureza esta pesquisa é de aplicação, visando a utilização do extrato da microalga *G. sulphuraria* em uma água micelar cuja formulação seja adequada para peles sensíveis. Já do ponto de vista de seus objetivos esta pesquisa pode ser classificada como exploratória, pois busca comprovar a hipótese de que o extrato da microalga apresenta características favoráveis para ser utilizada como ativo de uma água micelar. Esta hipótese foi construída devido ao alto conteúdo antioxidante do extrato e a partir da premissa que o mercado busca formulações cada vez menos agressivas e mais naturais.

Os procedimentos técnicos adotados estão listados abaixo:

- Documental: Foi feito o levantamento de formulações de água micelar disponíveis no mercado para análise de componentes, tendências e servir como norte para o trabalho.
- Experimental: Envolveu o desenvolvimento de uma nova formulação de água micelar e testes de estabilidade sob condições controladas.

4.2 CULTIVO DA *GALDIERIA SULPHURARIA*

A metodologia de cultivo da *G. sulphuraria* proposta neste trabalho foi uma adaptação de Zimmerman et al. (2019) e Oliveira et al. (2020). Preparou-se o meio de cultivo Allen por método de pesagem seguindo as composições do meio de cultivo da Tabela 1. A quantidade de meio a ser preparada foi pensada de modo a ocupar 50% da capacidade máxima do Erlenmeyer (6L). Adicionou-se a glicose a 10g/L no meio. O meio de cultivo foi transferido para um Erlenmeyer cujo foi feito o crescimento da microalga e ajustado o pH para valores menores que 4 utilizando um pHmetro para monitoramento com solução de Ácido Clorídrico ou Hidróxido de Sódio.

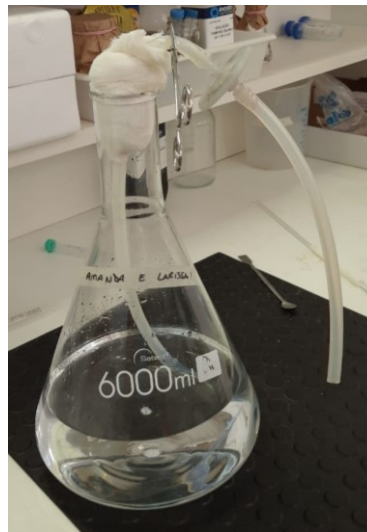
Tabela 1 - Composição do Meio de Cultivo

Fórmula	Nome	Quantidade
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Sulfato de Amônio	1,32 g/L
KH_2PO_4	Fosfato monopotássico	0,27 g/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de Magnésio	0,25 g/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Cloreto de Cálcio	0,074 g/L
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de Ferro (2)	0,011 g/L
Glicose	Dextrose	10 g/L
Solução de micronutrientes (2mL/L)	-	2 mL/L

Fonte: *Allen medium* (s.d.).

Montou-se o sistema de aeração no Erlenmeyer (Figura 9), composto por tubo transparente rígido, tampão de algodão e filtro de ar. Uma ponteira foi acoplada no tubo em contato com o meio para aerar o cultivo, o erlenmeyer foi vedado com tampão de algodão e foi colocado um filtro para evitar contaminações. Autoclavou-se o conjunto (meio, Erlenmeyer e sistema de aeração) utilizando uma pinça para evitar danificar o filtro de ar, proveta e ponteira da micropipeta sob temperatura de 121°C e pressão constante de 1 atm por 15 min.

Figura 9 – Montagem do sistema de aeração no Erlenmeyer



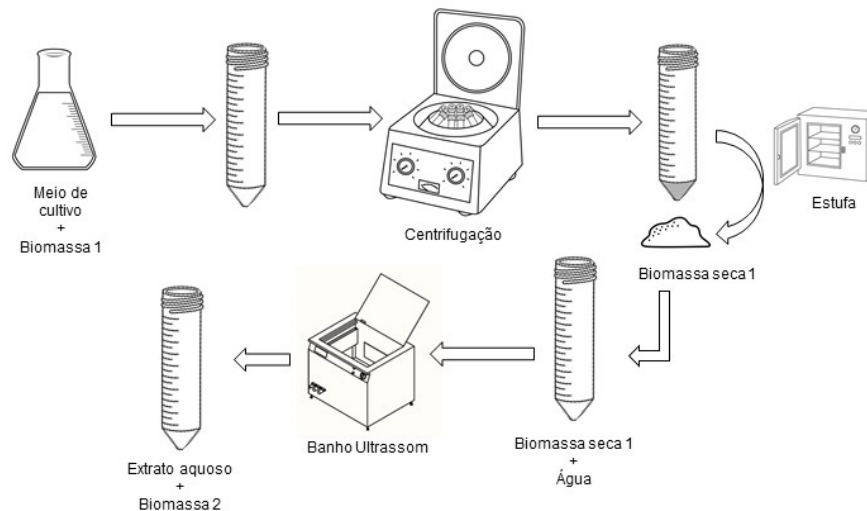
Fonte: Autoria própria

Em seguida os objetos autoclavados foram levados para a capela de fluxo laminar e o meio foi complementado com a solução de micronutrientes utilizando 2mL/L de meio e inoculada a *Galdieria sulphuraria* seguindo a proporção de 5% (v/v). O Erlenmeyer foi envelopado com papel kraft visando tornar o crescimento estritamente heterotrófico. Após envelopamento a *G. sulphuraria* foi incubada uma câmara BOD com fotoperíodo a uma temperatura de 45°C e com aeração feita com bomba de aquário por 15 dias.

4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO

A metodologia de secagem e extração do presente trabalho é uma adaptação de Zimmerman et al. (2019) e Sakurai et al. (2016). A Figura 9 mostra um fluxograma operacional de como foi feita a obtenção do extrato aquoso.

Figura 10 – Metodologia de obtenção dos extratos



Fonte: Autoria própria

Essa etapa se iniciou logo após a finalização da cultura da microalga. Primeiramente o Meio de cultivo + Biomassa 1 (células intactas de *G. sulphuraria*) foram transferidos para tubos Falcon e levados a centrifugação a 10000 rpm por 20 min e 4°C. Esta operação tem o intuito de separar a Biomassa 1 do Meio de cultivo (sobrenadante). Após a separação, a Biomassa 1 foi submetida a uma operação de secagem em estufa, visando reduzir o conteúdo úmido, a 60°C por 48 horas obtendo a Biomassa seca 1.

Dissolveu-se a Biomassa seca 1 em solução aquosa com a proporção de 1g biomassa/10mL (equivalente a 0,1 g/mL) e foi submetida a extração por banho de ultrassom na Cuba Ultrassônica Schuter L300 representada na Figura 10 a 60°C por 30 min. Ao finalizar a operação de extração, foi obtido o Extrato aquoso + Biomassa 2 (células de *G. sulphuraria* após extração aquosa). Este foi centrifugado a 10000 rpm por 20 min e 4°C a fim de separar o líquido da biomassa que passou por extração. O líquido obtido foi o Extrato de base aquosa e deve ser armazenado envelopado com papel kraft no freezer. A Biomassa 2 pode ser descartada visto que a extração foi concluída.

Figura 11 - Cuba Ultrassônica Schuster L300



Fonte: Autoria própria

4.4 DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO

O objetivo desta etapa foi definir a formulação de água micelar na qual foi introduzido o extrato hidrofílico da *G. sulphuraria* como ativo. No processo de desenvolvimento de um produto convertemos uma ideia em um produto real que atende às necessidades de mercado e que seja economicamente viável. O processo de desenvolvimento se assemelha a um funil, onde a cada etapa observa-se que o projeto final se torna mais enxuto e o grau de incerteza diminui. No entanto, à medida que o projeto se afunila os custos de eventuais mudanças se tornam cada vez maiores (SLACK et al.; CLARK E WHEELRIGHT, 1992).

Após a geração de ideias é necessário estabelecer um perfil para o produto, com parâmetros que abrangem fatores estéticos, de desempenho e de propaganda, pois afetam diretamente a sua formulação. Com o perfil pronto parte-se para a etapa de desenvolvimento da formulação, onde compreendemos os mecanismos de ação dos componentes das fórmulas e selecionamos uma lista inicial de matérias primas. Após a definição da formulação parte-se para o desenvolvimento de protótipo e em seguida para o teste em humanos (CLEPF; MARTINELLI; CAMPOS, 2002).

4.4.1 Perfil do produto

Os principais atributos almejados para a água micelar que neste trabalho foram:

- Possuir ativo natural que corresponde aos extrato hidrofílicos da *G. sulphuraria*;
- Ser rica em antioxidantes;
- Remover a sujeira da pele;
- Não precisar lavar o rosto após o uso, sendo um produto prático para pessoas que estão sempre em movimento;
- Ser estável.

4.4.2 Definição da Formulação

A formulação proposta por Machado, Suzuki e Silva (2017, p.76) no Guia para Aulas Práticas – Manual de Inovação em Cosmetologia foi definida como a formulação base (Tabela 2).

Tabela 2 - Formulação Original Symrise Água Micelar

FASE	NOMENCLATURA INCI	NOME COMERCIAL	FUNÇÃO NA FORMUÇÃ	% m/m
A	Aqua	Água Deionizada	Veículo	qsp
	Disodium EDTA	Versene Na2	Sequestrante	0,05
	Hydroxyacetophenone	SymSave® H	Multifuncional	0,50
B	Water (Aqua), Pentylene Glycol, Sodium Lauryl Sulfoacetate, Sdoium Oleoyl Sarcosinate, Sodium Chloride, Sodium Oleate	SymSol® PF-3	Tensoativo aniônico/ Solubilizante	3,00
	Trideceth-9, PEG-5 Isononanoate ,Water (Aqua)	SymMollient® W/S	Emoliente	2,00
	Caprylyl Glycol	Hydrolite® CG	Multifuncional	0,30
	Parfum	Fragrância (386445)	Fragrância	0,30
C	Citric Acid	Ácido Cítrico (Solução aquosa 30%)	Regulador de pH	0,02

Fonte: Machado, Suzuki e Silva (2017, p.76)

A modificação na formulação original se dá no acréscimo do extrato da *G. sulphuraria* na concentração final de 2,5 % m/m que foi escolhido baseando-se na quantidade de extrato obtido, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 3 - Formulação da Água Micelar contendo extrato da *G. sulphuraria*

FASE	NOMENCLATURA INCI	NOME COMERCIAL	FUNÇÃO NA FORMULAÇÃO	% m/m
A	Aqua	Água Deionizada	Veículo	qsp
	Disodium EDTA	Versene Na2	Sequestrante	0,05
	Hydroxyacetophenone	SymSave® H	Multifuncional	0,50
	Extrato de <i>G. sulphuraria</i>	-	Ativo	2,5
	Water (Aqua), Pentylene Glycol, Sodium Lauryl Sulfoacetate, Sdoium Oleoyl Sarcosinate, Sodium Chloride, Sodium Oleate	SymSol® PF-3	Tensoativo aniônico/ Solubilizante	3,00
B	Trideceth-9, PEG-5 Isononanoate ,Water (Aqua)	SymMollient® W/S	Emoliente	2,00
	Caprylyl Glycol	Hydrolite® CG	Multifuncional	0,30
	Parfum	Fragrância (386445)	Fragrância	0,30
C	Citric Acid	Ácido Cítrico (Solução aquosa 30%)	Regulador de pH	0,02

Fonte: Adaptado de Machado, Suzuki e Silva (2017, p.76)

O EDTA consiste em um agente quelante, capaz de capturar íons metálicos que podem afetar a estabilidade dos produtos cosméticos. É capaz de evitar a precipitação de íons como cálcio e magnésio, garantindo qualidade e conservação dos produtos cosméticos (L'ORÉAL, 2021).

SymSave® H (hidroxiacetofenona) é um ingrediente cosmético que atua como conservante, anti-irritante e antioxidante. Demonstra-se excelente estabilidade em um amplo range de pH e temperaturas. Além disso, se mostra estável em emulsões. É uma ótima opção para produtos de massa devido ao seu valor de mercado acessível (VIGON INTERNATIONAL, 2015).

SymSol® PF-3 trata-se de um blend que garante a formação de micelas a uma concentração micelar crítica muito baixa, garantindo a remoção da sujeira e oleosidade da pele sem necessidade de enxague do rosto, já que a presença da baixa concentração de tensoativos não irá agredir a pele (Machado et al., 2017, p.76).

SymMollient® W/S garante um sensorial extremamente agradável durante e após o uso e confe propriedades calmantes para a pele. Trata-se de um éster hidrossolúvel que interage com os receptores PAR-2 da pele inibindo a sensação de coceira (Machado et al., 2017, p.76).

Hydrolite® CG é um ingrediente multifuncional que irá proporcionar proteção microbiológica ao produto (Machado et al., 2017, p.76).

4.4.3 Desenvolvimento do protótipo

Após definida a formulação partimos para a prototipação. Para realizar todos os testes de estabilidade uma quantidade segura de água micelar a ser produzida é de 200 g. Para o preparo tanto do branco (protótipo sem o ativo – *extrato de G. sulphuraria*) como do protótipo de água micelar, as quantidades discriminadas na Tabela 5 foram pesadas.

Tabela 4 – Especificação da massa dos ingredientes da formulação a ser pesada: Branco e Protótipo.

Fase	Nome comercial	% m/m	Quantidade pesada (g) Protótipo	Quantidade pesada (g) Branco
A	Água Deionizada	qsp	177,66	187,66
	Versene Na2 - Disodium EDTA	0,05	0,10	0,10
	SymSave® H	0,50	1,00	1,00
	Extrato de <i>G. sulphuraria</i>	2,5	10,00	0,00
B	SymSol® PF-3	3,00	6,00	6,00
	SymMollient® W/S	2,00	4,00	4,00
	Hydrolite® CG	0,30	0,60	0,60
	Fragrância (386445)	0,30	0,60	0,60
C	Ácido Cítrico (Solução aquosa 30%)	0,02	0,04	0,04
Massa final			200 g	200 g

Fonte: Adaptado de Machado, Suzuki e Silva (2017, p.76)

Tanto para o protótipo como para o branco a técnica de preparo consiste em (Machado et al., 2017, p.76):

1. Em um béquer adicionar os itens da fase A e aquecer sob agitação até 50°C. Reserve.
2. Em outro béquer adicionar os itens da fase B e homogeneizar.
3. Verter lentamente a fase A, em temperatura ambiente, na fase B sob agitação constante.
4. Adicionar a fase C para ajustar o pH entre 5,50 - 6,50.

4.5 TESTES DE ESTABILIDADE

Com o protótipo montado os testes de estabilidade são realizados para garantir que a formulação é estável. Esses testes foram feitos baseando-se no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA (2004). Os testes foram realizados de forma não destrutiva devido à quantidade de amostras disponíveis. Na formulação desenvolvida e no branco (formulação base sem o extrato incorporado) foram feitos os Testes de Estabilidade Preliminar visando entender o comportamento da formulação sob condições extremas.

As amostras foram submetidas a condição de temperatura 85°C e temperatura -5°C e encontram-se no Quadro 4. As amostras e o branco foram colocados em recipientes plásticos transparentes completados com aproximadamente três quartos do volume total para prevenção de possíveis trocas gasosas.

Quadro 4 - Condições dos Testes de Estabilidade Preliminar

Teste	Condição
Temperatura -5°C	-5°C ± 2°C
Temperatura 85°C	85°C ± 2°C

Fonte: Autoria própria

Também foram realizados os Testes de Estabilidade Acelerada seguindo as diretrizes propostas pela ANVISA (2004) com algumas adaptações. Foram submetidas a cinco condições diferentes por 120 dias, como descrito no Quadro 5.

Quadro 5 - Condições dos Testes de Estabilidade Acelerada

Nome da condição	Especificação da condição
Temperatura 25°C (Ambiente)	T = 25°C (aproximadamente)
Temperatura 5°C	Geladeira: T = 5°C ± 2°C
Temperatura 30°C	Estufa: 30°C ± 2°C
Luz	Exposição a luz natural 24 horas/dia
Ausência de luz	Enrolado em papel kraft 24 horas/dia
Variações de temperatura, movimento e vibração (Carro)	Manutenção das amostras em automóvel

Fonte: Autoria própria

A condição carro objetiva simular como se comporta a estabilidade da amostra em variações de temperatura, movimento e vibração, sendo que esta foi uma das condições reais que o produto sofrerá mediante compra do consumidor. Foram avaliados: cor, odor, pH, temperatura e turbidez (no primeiro e último dia). Os parâmetros organolépticos e físico-químicos foram avaliados nos tempos 0, 15°, 30°, 45°, 60°, 75° e 90°, 105°, 120° dias.

O aspecto, cor e odor da amostra analisada foram comparados com o padrão e avaliados segundo a escala do Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA:

- Normal, sem alteração;
- Levemente modificado;
- Modificado;
- Intensamente modificado.

O pH e a temperatura foram medidos com pHmetro. A turbidez foi medida utilizando o turbidímetro APControl AP2000 (Figura 11) nos tempos final e inicial pois a quantidade de amostra era limitada.

Figura 12 - Turbidímetro APControl AP2000



Fonte: Autoria própria

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CULTIVO DA *GALDIERIA SULPHURARIA*

O cultivo cresceu por 15 dias e obtivemos biomassa demonstrada na Figura 14. Após todos os cultivos foi feita uma lâmina no microscópio para verificar a saúde do cultivo (Figura 15). Os outros recipientes foram guardados em seus locais e as vidrarias usadas foram lavadas. O cultivo foi feito mais vezes utilizando o cultivo mãe e objetivando obter biomassa suficiente para produção do extrato. Ao final do processo obtivemos 12,177 g de biomassa seca.

Figura 13 - Cultivo em Crescimento



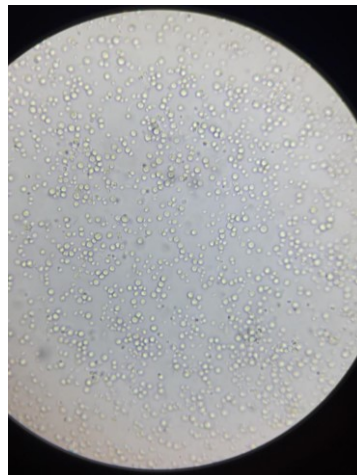
Fonte: Autoria própria

Figura 14 – Fundo do Erlenmeyer com a biomassa cultivada



Fonte: Autoria própria

Figura 15 – Lâmina microscópio da *Galdieria shulphuraria* cultivada



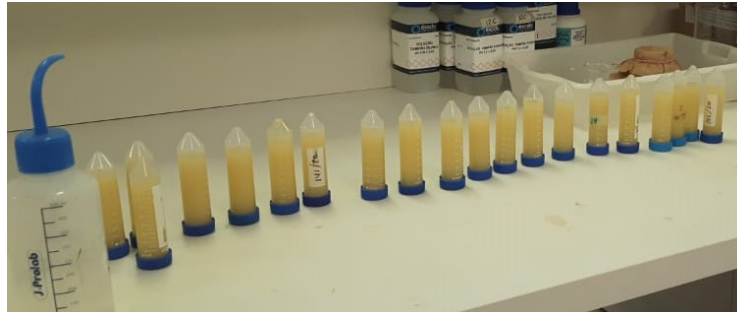
Fonte: Autoria própria

Como os processos foram todos feitos com elevado cuidado, obtivemos uma biomassa em boa quantidade e livre de contaminações. Como o foco do trabalho não era o estudo do melhor meio de cultivo e sim da estabilidade da *Galdieria sulphuraria* na formulação da água micelar, não foram feitos estudos envolvendo a composição do meio de cultivo, porém reforça-se que existe uma grande importância acerca deste tema e em possíveis futuros trabalhos recomenda-se que seja feito um estudo aprofundado caso sejam feitos testes na pele humana.

5.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO

A obtenção do extrato iniciou a partir do momento que obtivemos quantidade necessária de biomassa seca. O extrato foi utilizado para a formulação da água micelar que foi usada nos testes de estabilidade. O início desse processo se deu pela transferência total do meio de cultivo contendo a biomassa em tubos Falcon (Figura 16) e sua centrifugação sempre equilibrando a massa nos pares de tubos usando uma balança analítica e papel kraft.

Figura 16 – Tubos Falcon com meio de cultivo contendo biomassa para centrifugação



Fonte: Autoria própria

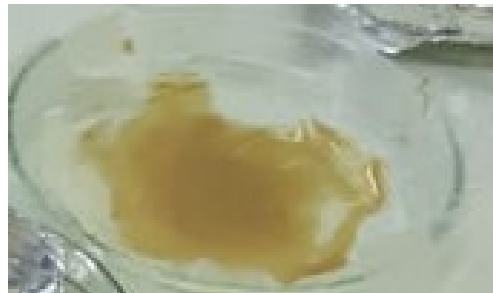
O meio de cultivo (sobrenadante) e biomassa molhada obtidos encontra-se na Figura 17. O sobrenadante (meio) foi descartado e a biomassa molhada foi espalhada em pedaços de saco plásticos para facilitar a retirada da biomassa seca colocados em cima de vidros de relógio (Figura 18).

Figura 17 - Meio de cultivo e biomassa centrifugados



Fonte: Autoria própria

Figura 18 – Placa de Petri para secagem da biomassa



Fonte: Autoria própria

Após secagem da biomassa, água destilada foi adicionada com micropipeta nos tubos Falcon seguindo proporção definida no item 5.3 de 10 mL de água para cada 1 grama de biomassa seca e submetido a extração por ultrassom. Ao final do processo obtivemos o extrato aquoso com resíduos de biomassa extraída conforme demonstrado na Figura 21.

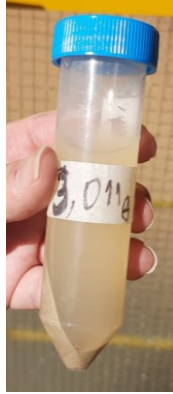
Figura 19 – Tubo Falcon contendo extrato aquoso e biomassa extraída



Fonte: Autoria própria

Para finalizar foi feito novamente uma centrifugação para obter o extrato aquoso sem resíduos de biomassa (Figura 22).

Figura 20 – Tubo Falcon contendo extrato aquoso centrifugado



Fonte: Autoria própria

O sobrenadante é o extrato aquoso e foi armazenado em tubos de vidro, envelopado com papel kraft e congelado se não fosse usado imediatamente (Figura 23). A biomassa que passou por extração foi descartada.

Figura 21 – Extrato aquoso



Fonte: Autoria própria

Com isso o extrato obtido seguiu para os próximos processos da formulação e testes.

5.3 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E PROTOTIPAÇÃO

5.3.1 PREPARO DA FASE A

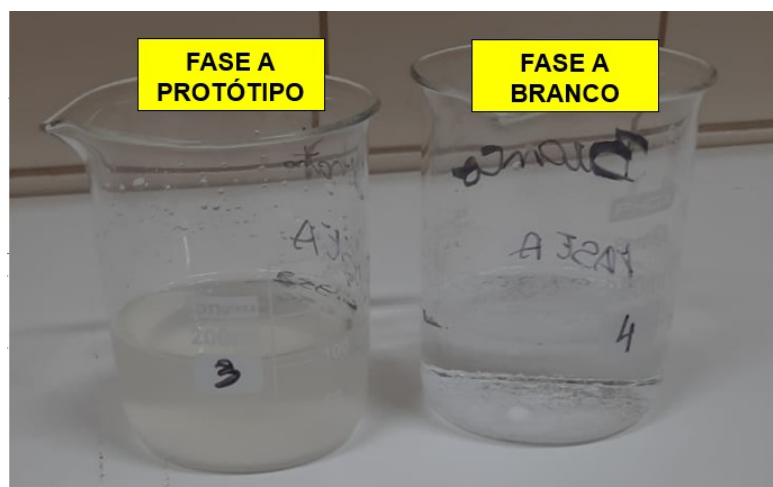
Dois béqueres foram separados sendo que em um deles preparou-se a fase A do branco (exceto as 10 g do ativo – extrato de *G. sulphuraria*) e em outro a fase A do protótipo. Primeiro foram pesados em balança analítica de precisão: o EDTA e o SymSave® H, em seguida foram adicionados cerca 100g de água deionizada e por fim 10g do extrato de *G. sulphuraria* apenas no protótipo. Na Tabela 7 estão discriminadas as quantidades pesadas. A Figura 24 representa a fase A tanto do branco como do protótipo. Percebe-se que a fase A do protótipo possui uma coloração diferente do branco devido a adição do extrato que a torna mais turva.

Tabela 5 - Massas pesadas para preparo da fase A

Fase	Nome comercial	Quantidade pesada (g) Protótipo	Quantidade pesada (g) Branco
A	Água Deionizada	99,446	98,177
	Versene Na2 - Disodium EDTA	0,106	0,101
	SymSave® H	1,040	1,007
	Extrato de <i>G. sulphuraria</i>	10,062	0,00

Fonte: Autoria própria

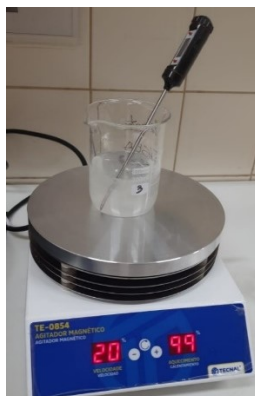
Figura 22 – Fase A do branco e do protótipo



Fonte: Autoria própria

Os béqueres então foram colocados sob uma chapa de aquecimento sob agitação constante, até que a temperatura atingisse 50°C. A Figura 25 ilustra esse processo. Em seguida, foram reservados para que a temperatura atingisse a ambiente.

Figura 23 - Fase A sob aquecimento e agitação constante



Fonte: Autoria própria

5.3.2 PREPARO DA FASE B

Dois béqueres foram separados tal que em um deles preparou-se a fase B do branco e em outro a fase B do protótipo. Todos os ingredientes foram pesados em balança analítica de precisão. As quantidades pesadas se encontram discriminadas na Tabela 8.

Tabela 6 - Massas pesadas para o preparo da fase B

Fase	Nome comercial	Quantidade pesada (g) Protótipo	Quantidade pesada (g) Branco
B	SymSol® PF-3	6,010	6,023
	SymMollient® W/S	4,011	4,022
	Hydrolite® CG	0,607	0,601
	Fragrância (386445)	0,599	0,624

Fonte: Autoria própria

5.3.3 UNIÃO DAS FASES E AJUSTE DE PH

Após o preparo das fases A e B procedeu-se com a junção das mesmas e ajuste de pH. A fase B foi colocada em um sistema de agitação contínua e a fase A foi vertida lentamente sobre ela. A Figura 26 ilustra esse processo.

Figura 24 - União da fase A e B



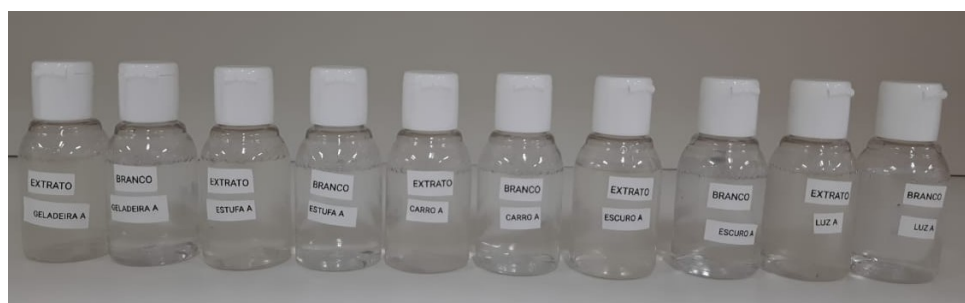
Fonte: Autoria própria

Por fim, algumas gotas da fase C foram adicionadas, até que o pH atingisse a faixa adequada.

5.4 TESTES DE ESTABILIDADE

Para desenvolvimento dos testes de estabilidade o protótipo e o branco foram colocados em recipientes plásticos de 30 mL transparentes e identificados, conforme Figura 27 e 28. Todos foram preenchidos com 22,5 mL ou $\frac{3}{4}$ do recipiente para prevenção de possíveis trocas gasosas como a Anvisa recomenda no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos.

Figura 25 - Amostras para testes de estabilidade acelerada



Fonte: Autoria própria

Figura 26 - Amostras para testes de estabilidade preliminar



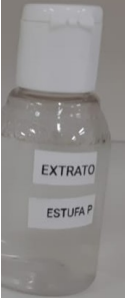



Fonte: Autoria própria

5.4.1 TESTES DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

Nos testes de estabilidade preliminar as amostras foram expostas a duas condições: temperatura 85°C e -5°C. No Quadro 6 e 7 se encontram fotos dos resultados obtidos. Nas Tabelas 9 e 10 se encontram os resultados dos ensaios que seguiram a escala proposta no Guia de Estabilidade de Cosméticos da ANVISA (2004).

Quadro 6 - Antes e depois: Testes de estabilidade preliminar em Temperatura 85°C

Etapa		Antes	Depois
Temperatura 85°C	Branco		
	Protótipo		

Fonte: Autoria própria

Quadro 7 - Antes e depois: Testes de estabilidade preliminar em Temperatura -5°C

Etapa		Antes	Depois
Temperatura -5°C	Branco		



Fonte: Autoria própria

Tabela 7 - Resultados do Ensaio de Estabilidade Preliminar em Temperatura 85°C

	Antes Branco	Depois Branco	Antes Protótipo	Depois Protótipo
Cor	Translúcida	Intensamente modificado	Levemente Turva (Branco)	Intensamente modificado
Odor	Fragrância	Intensamente modificado	Fragrância	Intensamente modificado
pH	6,55	6,09	6,47	5,97
Turbidez	2,13	3,55	24,6	11,9
Temperatura	25	20,6	25	20,5
Decantação	Não	Não	Não	Sim

Fonte: Autoria própria

Em temperatura de 85°C tanto o protótipo como o branco assumiram uma cor característica amarelada, intensamente modificado comparando-se com as condições iniciais, e o odor demonstrou-se intensamente modificado nos dois ensaios, indicando que os componentes desta formulação não são estáveis a esta temperatura. O produto deve possuir indicação ao consumidor para não ser exposto a temperaturas elevadas. Tanto o branco como o protótipo também, mas se mantiveram dentro do limite de 5,50. A turbidez do protótipo reduziu consideravelmente (72%) após os 15 dias devido a decantação da biomassa em suspensão. Indica-se o uso de métodos de filtração mais sofisticados.

Tabela 8 - Resultados do Ensaio de Estabilidade Preliminar em Temperatura -5°C

	Antes Branco	Depois Branco	Antes Protótipo	Depois Protótipo
Cor	Translúcida	Normal	Levemente Turva (Branco)	Normal
Odor	Fragrância	Normal	Fragrância	Normal
pH	6,55	6,32	6,47	6,46
Turbidez	2,13	2,08	24,6	7,24
Temperatura	25	21,3	25	25
Decantação	Não	Não	Não	Sim

Fonte: Autoria própria

Em temperatura -5°C tanto o protótipo como o branco mantiveram-se em condições normais sem alterações na cor e também sem nenhuma alteração no odor. O pH sofreu alterações mas se manteve dentro da faixa adequada (5,50 - 6,50). A turbidez do protótipo reduziu consideravelmente após os 15 dias devido a decantação da biomassa em suspensão. Indica-se o uso de métodos de filtração mais sofisticados. Não são necessárias indicações ao consumidor sobre temperaturas muito baixas.

5.4.2 TESTES DE ESTABILIDADE ACELERADA

Nos testes de estabilidade acelerada as amostras foram expostas seis condições: temperatura 25°C (ambiente), temperatura 30°C, temperatura 5°C, luz solar natural, armazenamento em veículo e escuro. As fotos retiradas ao longo dos 4 meses se encontram nos Apêndices de A-F.

5.4.2.1 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA AMBIENTE

A Tabela 11 apresenta um resumo dos resultados obtidos no teste de estabilidade acelerada em temperatura 25°C. As fotos referentes aos resultados se encontram no Apêndice A.

O branco com o passar do tempo adotou uma coloração rosa enquanto o protótipo permaneceu translúcido. O pH tanto do branco como do protótipo reduziu dentro dos 4 meses, mas permaneceu próximo a 5,50. Tanto o branco como o

protótipo não sofreram alteração no cheiro, permanecendo com odor característico da fragrância.

Tabela 9 - Resultados do teste de estabilidade acelerada em temperatura 25°C (ambiente)

Dia realizado	Amostra	Coloração	Odor	Turbidez (NTU)	pH	Temperatura (°C)
t=0	Branco	Translúcido	Fragrância	2,13	6,55	25
	Protótipo	Translúcido	Fragrância	24,6	6,47	25
t=1	Branco	Modificado	Normal	-	6,34	20,5
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,23	20,4
t=2	Branco	Modificado	Normal	-	6,25	19,8
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,1	19,8
t=3	Branco	Modificado	Normal	-	6,34	23,3
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,07	23,3
t=4	Branco	Modificado	Normal	-	5,6	19,1
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,41	19,1
t=5	Branco	Modificado	Normal	-	5,61	20,6
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,49	20,8
t=6	Branco	Modificado	Normal	2,72	5,53	23,5
	Protótipo	Normal	Normal	15,6	5,42	23,7

Fonte: Autoria própria

5.4.2.2TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA EM PRESENÇA DE LUZ NATURAL

A Tabela 12 apresenta um resumo dos resultados obtidos no teste de estabilidade acelerada em presença de luz natural. As fotos referentes aos resultados se encontram no Apêndice B.

Tanto o branco como o protótipo sofreram modificações na coloração, que ficou amarelada com o passar das semanas. Também houve modificação no odor, desaparecendo o odor da fragrância totalmente na última semana. Se faz necessário a indicação ao consumidor de evitar exposição direta a luz solar. Uma possível solução é adotar uma embalagem de cor fumê ou âmbar. O pH reduziu significativamente, se afastando do valor mínimo de 5,50.

Tabela 10 - Resultados do teste de estabilidade em presença de luz natural

Tempo	Amostra	Coloração	Odor	Turbidez (NTU)	pH	Temperatura (°C)
t=0	Branco	Translúcido	Fragrância	2,13	6,55	25
	Protótipo	Translúcido	Fragrância	24,6	6,47	25
t=1	Branco	Normal	Normal	-	6,23	20,8
	Protótipo	Levemente Modificado	Normal	-	6,1	20,9
t=2	Branco	Modificado	Intensamente Modificado	-	5,96	19,8
	Protótipo	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,82	19,7
t=3	Branco	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,76	23,2
	Protótipo	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,62	23,2
t=4	Branco	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,15	19,2
	Protótipo	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,01	19,4
t=5	Branco	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,27	21,7
	Protótipo	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	-	5,13	21,9
t=6	Branco	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	2,44	5,19	24,1
	Protótipo	Intensamente Modificado	Intensamente Modificado	6,77	5,09	24,1

Fonte: Autoria própria

5.4.2.3 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 5°C

A Tabela 13 apresenta um resumo dos resultados obtidos no teste de estabilidade acelerada em temperatura 5°C. As fotos referentes aos resultados se encontram no Apêndice C.

O protótipo apresentou-se normal durante todo o ensaio, não sofreu alterações de cor, já o branco sofreu alterações, se tornando rosado com o passar do tempo. Tanto protótipo como o branco sofreram redução do odor. O pH reduziu, mas se manteu próximo da faixa adequada (5,50 - 6,50).

Tabela 11 - Teste de estabilidade acelerada em temperatura 5°C

Dia realizado	Amostra	Coloração	Odor	Turbidez (NTU)	pH	Temperatura (°C)
t=0	Branco	Translúcida	Fragrância	2,13	6,55	25
	Protótipo	Translúcida	Fragrância	24,6	6,47	25
t=1	Branco	Normal	Normal	-	6,42	20,5
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,26	20,6
t=2	Branco	Normal	Normal	-	6,44	19,8
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,32	19,9
t=3	Branco	Normal	Normal	-	6,27	23,2
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,16	23,3
t=4	Branco	Levemente modificado	Levemente modificado	-	5,53	19,5
	Protótipo	Normal	Levemente modificado	-	5,45	19,7
t=5	Branco	Levemente modificado	Levemente modificado	-	5,64	22,1
	Protótipo	Normal	Levemente modificado	-	5,59	22,3
t=6	Branco	Levemente modificado	Levemente modificado	2,09	5,6	24
	Protótipo	Normal	Levemente modificado	10,07	5,52	24

Fonte: Autoria própria

5.4.2.4TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA TEMPERATURA 30°C

A Tabela 14 apresenta um resumo dos resultados obtidos no teste de estabilidade acelerada em temperatura 30°C. As fotos referentes aos resultados se encontram no Apêndice E.

O protótipo não sofreu alterações de cor, já o branco sofreu alterações se tornando rosado com o passar do tempo. Tanto protótipo como o branco não sofreram redução do odor. O pH reduziu, mas se manteve próximo a 5,50.

Tabela 12 - Resultado do teste de estabilidade acelerada em temperatura 30°C

Dia realizado	Amostra	Coloração	Odor	Turbidez (NTU)	pH	Temperatura (°C)
t=0	Branco	Translúcida	Fragrância	2,16	6,55	25
	Protótipo	Translúcida	Fragrância	25,1	6,47	25
t=1	Branco	Modificado	Normal	-	6,33	20,8
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,23	20,8
t=2	Branco	Intensamente modificado	Normal	-	6,3	19,8
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,13	19,7
t=3	Branco	Intensamente modificado	Normal	-	6,13	23,6
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,01	23,6
t=4	Branco	Intensamente modificado	Normal	-	5,45	20
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,36	19,9
t=5	Branco	Intensamente modificado	Normal	-	5,57	21
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,48	21,4
t=6	Branco	Intensamente modificado	Normal	2,6	5,5	23,8
	Protótipo	Normal	Normal	12,27	5,43	23,9

Fonte: Autoria própria

5.4.2.5 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA NA AUSÊNCIA DE LUZ

A Tabela 16 apresenta um resumo dos resultados obtidos no teste de estabilidade acelerada na ausência de luz. As fotos referentes aos resultados se encontram no Apêndice F.

O protótipo não sofreu alterações de cor, já o branco sofreu modificações se tornando rosado com o passar do tempo. Tanto protótipo como o branco não sofreram redução do odor. O pH reduziu, mas se manteu próximo a 5,50.

Tabela 13 - Resultado do teste de estabilidade acelerada na ausência de luz

Dia realizado	Amostra	Coloração	Odor	Turbidez (NTU)	pH	Temperatura (°C)
t=0	Branco	Translúcida	Fragrância	2,13	6,55	24,9
	Protótipo	Translúcida	Fragrância	24,6	6,47	25
t=1	Branco	Levemente modificado	Normal	-	6,38	21
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,26	21
t=2	Branco	Levemente modificado	Normal	-	6,34	19,0
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,22	19,3
t=3	Branco	Levemente modificado	Normal	-	6,21	24,0
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,07	24,0
t=4	Branco	Levemente modificado	Normal	-	5,59	19,2
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,5	19,5
t=5	Branco	Modificado	Normal	-	5,6	22,4
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,51	22,5
t=6	Branco	Modificado	Normal	1,87	5,53	24,0
	Protótipo	Normal	Normal	15,97	5,44	24,0

Fonte: Autoria própria

5.4.2.6 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA ARMAZENAMENTO EM AUTOMÓVEL

A Tabela 16 apresenta um resumo dos resultados obtidos no teste de estabilidade acelerada referentes ao armazenamento em automóvel. As fotos referentes aos resultados se encontram no Apêndice D.

O protótipo não sofreu alterações de cor, já o branco sofreu modificações se tornando rosado com o passar do tempo. Tanto protótipo como o branco não sofreram redução do odor. O pH reduziu, mas se manteu maior que 5,50.

Tabela 14 - Resultados do teste de estabilidade acelerada armazenamento em automóvel

Dia realizado	Amostra	Coloração	Odor	Turbidez (NTU)	pH	Temperatura (°C)
t=0	Branco	Translúcida	Fragrância	2,13	6,42	25
	Protótipo	Translúcida	Fragrância	24,6	6,41	25
t=1	Branco	Levemente modificado	Normal	-	6,39	22
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,23	21
t=2	Branco	Levemente modificado	Normal	-	6,30	19,4
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,20	18
t=3	Branco	Levemente modificado	Normal	-	6,21	23,5
	Protótipo	Normal	Normal	-	6,10	23,5
t=4	Branco	Levemente modificado	Normal	-	5,61	19,6
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,60	19,7
t=5	Branco	Modificado	Normal	-	5,56	22,4
	Protótipo	Normal	Normal	-	5,58	22,6
t=6	Branco	Modificado	Normal	1,87	5,55	23,9
	Protótipo	Normal	Normal	15,97	5,53	23,9

Fonte: Autoria própria

6 CONCLUSÃO

O objetivo principal deste trabalho era demonstrar se o extrato da *G. sulphuraria* se mostrava estável em uma formulação de água micelar.

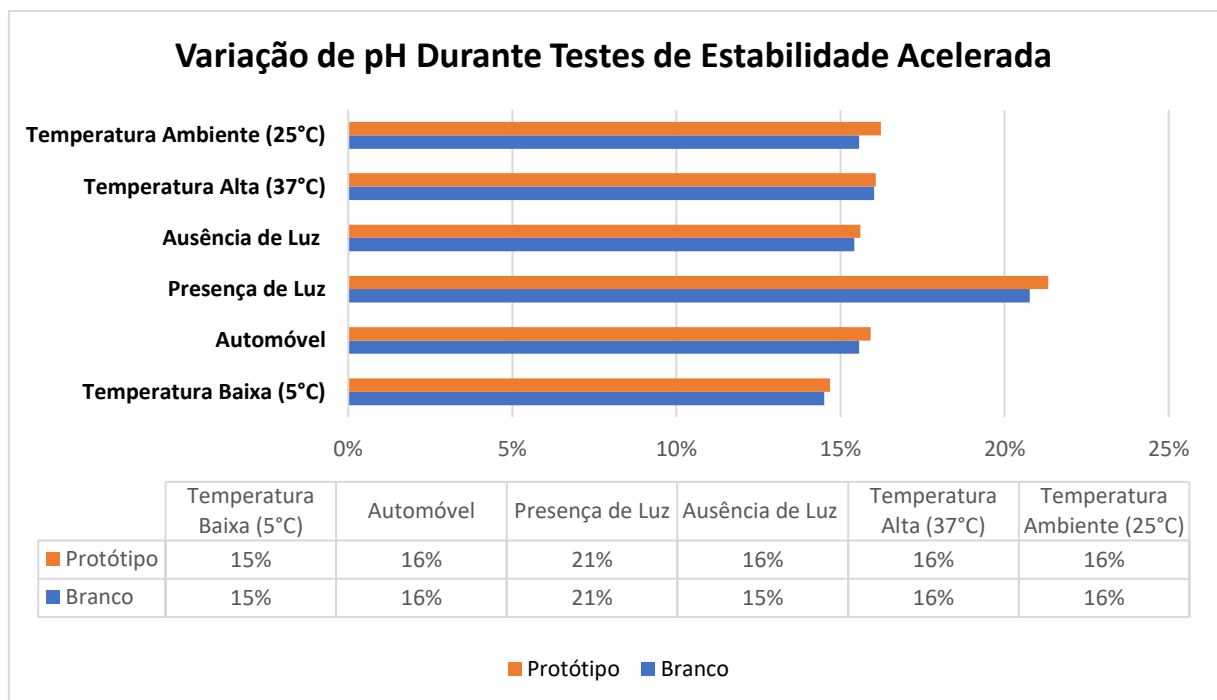
O protótipo se mostrou estável caso mantido em temperatura de 25°C (ambiente) e sem exposição direta a luz solar, que provocam perda da fragrância e alterações na coloração.

Em temperatura -5°C e 5°C o protótipo sofre alteração significativa de odor e diferentemente do branco, demonstrou não sofrer alterações de coloração em situações de armazenamento em automóvel, temperatura 30°C, temperatura 5°C, temperatura -5°C e na ausência de luz. O branco não apresentou coloração rosada apenas no teste de estabilidade acelerada em temperatura de 25°C (ambiente), demonstrando ser a condição mais favorável para a formulação base. Com a adição do extrato da *G. sulphuraria* a carga de antioxidantes da formulação aumentou e água micelar passou a não apresentar coloração rosada como o branco.

O pH sofreu o maior percentual de variação no ensaio de estabilidade acelerada em presença de luz (21%). Em todos os testes a porcentagem de variação do protótipo e do branco foram muito similares, indicando baixa influência do extrato (Gráfico 1).

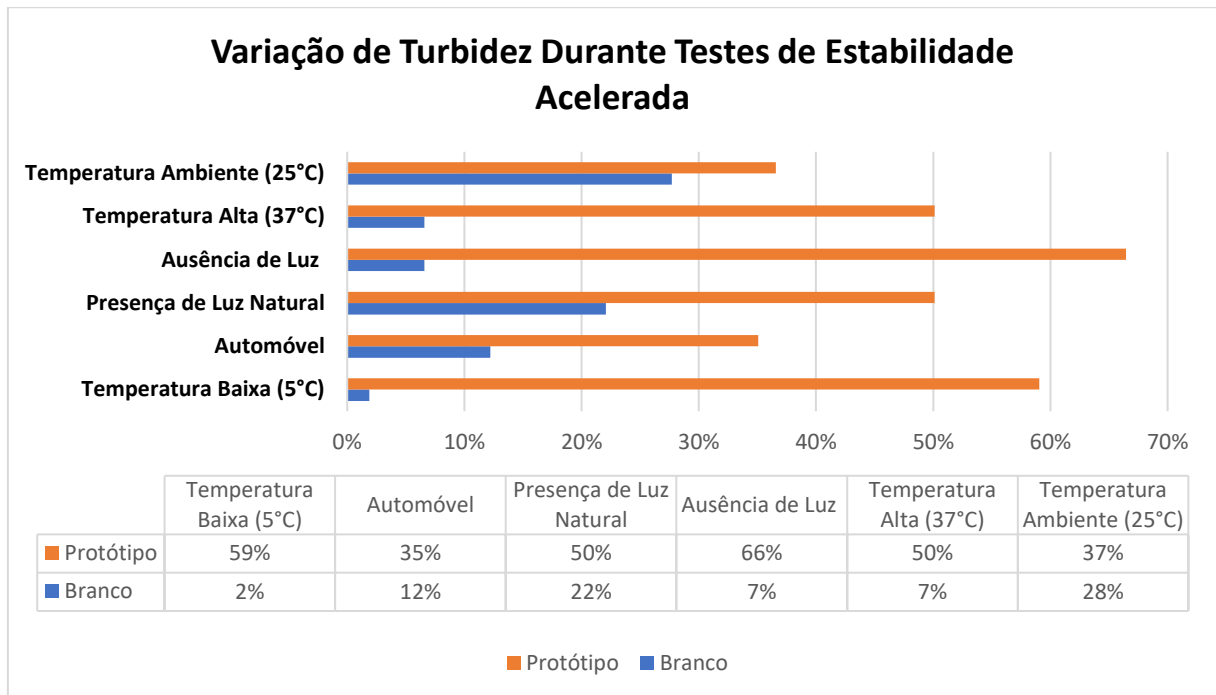
A turbidez do protótipo apresentou uma variação muito superior a do branco em todos os testes de estabilidade acelerada, como podemos ver no Gráfico 2.

Gráfico 1 - Variação de pH durante Testes de Estabilidade Acelerada



Fonte: Autoria própria

Gráfico 2 - Variação de Turbidez durante Testes de Estabilidade Acelerada



Fonte: Autoria própria

Para contornar os problemas observados na formulação, recomenda-se o aumento da carga de antioxidantes na formulação base, uso de uma embalagem fosca ou escuro que proteja o produto da exposição solar e o uso de métodos de métodos de filtração do extrato mais eficazes.

REFERÊNCIAS

ABIHPEC (2021). **Panorama do Setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos**. ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Editora Anvisa, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**. Editora Anvisa, 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**. Editora Anvisa, 2012.

ALVES, C. Q.; et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ALVES, N.c.. Penetração de Ativos na Pele: Revisão Bibliográfica. *Amazônia Science & Health*, [s.l.], v. 3, n. 4, p.36-43, 10 dez. 2015. Amazonia: Science and Health. <http://dx.doi.org/10.18606/2318-1419/amazonia.sci.health.v3n4p36-43>

ANTHAPADMANABHAN, K. P.; et al. Cleansing without compromise: the impact of cleansers on the skin barrier and the technology of mild cleansing. **Dermatologic Therapy**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.16-25, jan. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1396-0296.2004.04s1002.x>.

ATHANÉ, A.; DEMOL, J.; VINCENT, S. B.; AGUENOU, C.; KRISA, S.; COURTOIS, A.; GRIFFITHS, H. CAGNAC, O. The safety evaluation of phycocyanin-enriched *Galdieria sulphuraria* extract using 90-day toxicity study in rats and in vitro genotoxicity studies. **Toxicology Research and Application**, [s.l.], v. 4, p.1-15, feb. 2020. <https://doi.org/10.1177/2397847320929991>.

BIMONTE, M.; et al. *Galdieria sulphuraria* relieves oily and seborrheic skin by inhibiting the 5- α Reductase expression in skin cells and reducing sebum production in vivo. **Trichol Cosmetol Open J**, Naples, v. 1, n. 1, p. 11-18. 17 mai. 2016.

BOHJANEN, K. Estrutura e funções da pele. *Dermatologia Clínica*. Seção I Bases para diagnóstico e tratamento. 2017.

BOTTONE, C.; et al. Antioxidant and anti-proliferative properties of extracts from heterotrophic cultures of *Galdieria sulphuraria*. **Natural Product Research**, [s.l.], v. 33, n. 11, p.1659-1663, 15 jan. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2018.1425853>.

CAI, Z.; HAKKINEN, P. J. Detergent. **Encyclopedia Of Toxicology**, [s.l.], p.10-13, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-386454-3.00487-5>

CARFAGNA, S.; et al. Dietary Supplementation with the Microalga *Galdieria sulphuraria* (Rhodophyta) Reduces Prolonged Exercise-Induced Oxidative Stress in Rat Tissues. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2015, p.1-11, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/732090>.

CARLI, B. **Creating micellar water**. Institute of Personal Care Science. 28 jun. 2015. Disponível em: < <https://labmuffin.com/fact-check-what-is-micellar-water-and-how-does-it-work-an-update/>>. Acesso em: 5 out. 2019

CARLSON, B. M. Skin. **The Human Body**, [s.l.], p.65-85, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-804254-0.00003-x>.

CASTRO, D. Micellar Water Characterization: A Laser Scattering Application. **Brookhaven Instruments**. Disponível em: < <https://www.brookhaveninstruments.com/library/m/micellar-water-characterization-a-laser-light-scattering-application>>. Acesso em: 5 out. 2019.

CELLENO, L.; TAMBURI, F. Structure and Function of the Skin. **Nutritional Cosmetics**, [s.l.], p.3-45, 2009. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-8155-2029-0.50008-9>.

CÉSAR, J.; PAOLI, M. E.; ANDRADE, J. C. **A Determinação da Densidade de Sólidos e Líquidos**. jan. 2004. Disponível em: <http://webeduc.mec.gov.br/portaldoprofessor/quimica/cd2/conteudo/aulas/37_aula/recursos/21480/21480.pdf>. Acessado em: 10 nov. 2019.

ČÍŽKOVÁ, M.; VÍTOVÁ, M.; ZACHLEDER, V. The Red Microalga *Galdieria* as a Promising Organism for Applications in Biotechnology. **Microalgae - From**

Physiology To Application, [s.l.], 10 out. 2019. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.89810>.

CLARK, K. B.; WHEELWRIGHT, S. C. **Revolutionizing product development: quantum leaps in speed, efficiency, and quality**. Simon and Schuster, 1992.

CLEPF, S.; MARTINELLI, D. P.; CAMPOS, P. M. B. G. **Visão sistêmica no desenvolvimento de produtos cosméticos**. Caderno Profissional de Marketing-UNIMEP, v. 3, n. 2, p. 36-47, 2015.

CORAZZA, M.; et al. Surfactants, skin cleansing protagonists. **Journal Of The European Academy Of Dermatology And Venereology**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.1-6, jan. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2009.03349.x>.

CRODA. **Surfactantes Poliméricos**. Disponível em: <https://www.crodacropcare.com/pt-br/discovery-zone/technologies/polymeric-surfactants>>. Acessado em: 29 de outubro de 2019.

Culture Collection of Algae at The University of Texas at Austin (UTEX). **Allen Medium**. Disponível em: <https://utex.org/products/allen-medium?variant=30991788507226>>. Acesso em: 15 nov. 2019.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2007. 732 p.

EFFENDY, I.; MAIBACH, H. I. Detergent and skin irritation. **Clinics In Dermatology**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.15-21, jan. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0738-081x\(95\)00103-m](http://dx.doi.org/10.1016/0738-081x(95)00103-m).

ERIKSEN, N. T. Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 80, n. 1, p.1-14, 18 jun. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-008-1542-y>.

FORMIGHERI, M. S. **Estabilidade e potencial antioxidante de microcápsulas de ficocianina**. 2017. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, 2017.

FRAZÃO, J. S. F. L. **Desenvolvimento de formulações cosméticas utilizando produtos apícolas e voláteis de cogumelos silvestres: determinação da estabilidade e toxicidade**. 2017. 178 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia e Química de Produtos Naturais, Universidade de Salamanca, Bragança, 2017.

FRIES, A. T.; FRASSON, A. P. Z. Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos “anti-idade”. **Infarma**, [s.l.], v. 24, n. 5/6, p.35-39, 2011.

GAINARD, C.; et al. New horizons in culture and valorization of red microalgae. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.193-222, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.014>

Galdieria sulphuraria (Galdieri) Merola. **AlgaeBase**. 2 mai. 2017. Disponível em: <http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=36734>. Acesso em: 28 out. 2019.

GALLO, M. Novel Foods: Algae. **Encyclopedia Of Food Security And Sustainability**, [s.l.], p.300-306, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22135-5>

GARNIER. **Micellar Water vs. Makeup Wipes**. Disponível em:<<https://www.garnierusa.com/tips-how-tos/micellar-water-vs-makeup-wipes>>. Acesso em: 5 out. 2019

GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: Uma abordagem Teórico-Prática**. Elsevier. 2016.

GUTNICK, D. I.; BACH, H. Biosurfactants. **Reference Module In Life Sciences**, [s.l.], p.731-757, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.09184-6>.

HINZE, W. L.; PRAMAURO, E. A Critical Review of Surfactant-Mediated Phase Separations (Cloud-Point Extractions): Theory and Applications. **Critical Reviews In Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 24, n. 2, p.133-177, jan. 1993. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408349308048821>.

HONARI, G.; MAIBACH, H. Skin Structure and Function. **Applied Dermatotoxicology**, [s.l.], p.1-10, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-420130-9.00001-3>.

HUBER, P. C.; et al. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, 2008.

JÚNIOR, H. B. P. **Efeitos toxicológicos agudos de extratos de frutos verdes de *Melia azedarach* (Meliaceae) em ratos (*Rattus norvegicus*), camundongos (*Mus musculus*) e *Artemia salina***. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

KAWASAKI et al. **Skin Irritation Potential Study of Anionic Surfactants with Electron Paramagnetic Resonance (EPR) Spectroscopy**. 2014.

L'ORÉAL. **Por dentro dos nossos Produtos: EDTA**. Disponível em: <https://por-dentro-dos-nossos-produtos.loreal.pt/ingredients/edta>. Acesso em 15/11/2021.

L'OREAL. **What Is Micellar Water and How Do You Use It?** Disponível em: <https://www.lorealparisusa.com/beauty-magazine/skin-care/skin-care-essentials/micellar-water-101.aspx>. Acesso em: 5 out. 2019

LEONARDI, G. R.; et al. Cosmetologia aplicada. **São Paulo: Medfarma**, v. 51, 2005.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Santa Catarina, v. 2, n. 16, p.158-163, mar. 2006.

LOCILENTO, D. A. **Preparo, obtenção e caracterização de esponjas quitosana/colágeno para liberação controlada de extrato de semente de uva**. 2012. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012. doi:10.11606/D.82.2012.tde-04012013-164556.

LÓPEZ-MAHÍA, P.; et al. SURFACTANTS AND DETERGENTS. **Encyclopedia of Analytical Science**, [s. l.], p. 554-561, 2005. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b0-12-369397-7/00608-7>.

MACHADO, Ana Carolina et al. **Guia para Aulas Práticas – Manual de Inovação em Cosmetologia**. 1ª Edição, 2017.

MARKS, J. G.; MILLER, J. J. Structure and function of the skin. **Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology**, p. 2-10, 2013.

MICHELLE. **Fact-check: What is micellar water and how does it work? An update.** Lab Muffin Beauty Science.14 set. 2015. Disponível em: <<https://youtu.be/4RfjasZwm7k>>. Acesso em: 5 out. 2019

MOON, M.; et al. Isolation and characterization of thermostable phycocyanin from *Galdieria sulphuraria*. **Korean Journal Of Chemical Engineering**, [s.l.], v. 31, n. 3, p.490-495, 15 jan. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11814-013-0239-9>.

MUKHERJEE, S.; CHANDRASHEKAR, B.; GAIKWAD, R. Cleansers: To use or not to use. **Indian Journal Of Paediatric Dermatology**, [s.l.], 2015. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/2319-7250.165611>.

MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, [s.l.], v. 133, n. 2, p.183-198, jan. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.009>.

MYERS, D. **Surfactant Science and Technology**. 3 ed. Nova Jersey: John Wiley & Son, 2005.

OGA, S.; CARMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

OLIVEIRA, A. S.; ZOCOLER, M. A. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de cosméticos sensoriais com ação antiestresse. **Colloquium Vitae**, [s.l.], v. 10, n. 5, p.29-34, 1 dez. 2018. Associação Prudentina de Educação e Cultura (APEC). <http://dx.doi.org/10.5747/cv.2018.v10.nesp5.000329>.

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.36-44, mar. 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_165.

OLIVEIRA, Larissa Silva de; et al. **Produção e caracterização de biomassa de *Galdieria sulphuraria* em melaço de cana-de-açúcar.** In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 15., 2020, Toledo. Toledo: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2020. 7p.

PETRY, T. et al. Review of data on the dermal penetration of mineral oils and waxes used in cosmetic applications. **Toxicology Letters**, [s.l.], v. 280, p.70-78, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.07.899>.

PLASCAK, N. A. Experiência sensorial da marca pós-moderna. In: **Congresso Brasileiro de Ciências da Comunicação**, XXXI. 2008.

PLAZA, M. et al. Innovative Natural Functional Ingredients from Microalgae. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 57, n. 16, p.7159-7170, 26 ago. 2009. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf901070g>.

POOLE, C. F. Capillary-Electromigration Separation Techniques. **The Essence Of Chromatography**, [s.l.], p.619-717, 2003. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-044450198-1/50021-5>.

ROBINSON, P. J. Skin. **Encyclopedia Of Toxicology**, [s.l.], p.283-309, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-386454-3.00652-7>.

RODRIGUES, C. Z.; SANTOS, L. F. Substâncias antioxidantes cosméticas: composição química e ação no retardamento do envelhecimento cutâneo. **Revista Científica da FHO**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 28-36, 2018.

SAKURAI, T.; et al. Profiling of lipid and glycogen accumulations under different growth conditions in the sulfothermophilic red alga *Galdieria sulphuraria*. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 200, p.861-866, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.014>.

SANTOS, F. K. G.; et al. Determinação da concentração micelar crítica de tensoativos obtidos a partir de óleos vegetais para uso na recuperação avançada de petróleo. In: **Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em petróleo e gás natural**. 2007.

SCHONKNECHT, G.; et al. Gene Transfer from Bacteria and Archaea Facilitated Evolution of an Extremophilic Eukaryote. **Science**, [s.l.], v. 339, n. 6124, p.1207-1210, 7 mar. 2013. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1231707>.

SEWERYN, A. Interactions between surfactants and the skin – Theory and practice. **Advances In Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 256, p.242-255, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2018.04.002>.

SILVA, G. F. **Pesquisa e Desenvolvimento de Cosméticos a Partir de Ativos Vegetais da Amazônia**. 2016. 169 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2016.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1301 p.

SLACK, N.; CHAMBERS, S.; JOHNSTON, R. **Administração da produção**. 2 ed.

SØRENSEN, L.; HANTKE, A.; ERIKSEN, N. T. Purification of the photosynthetic pigment C-phycocyanin from heterotrophic *Galdieria sulphuraria*. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 93, n. 12, p.2933-2938, 5 abr. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6116>.

SYDNEY, E. B.; et al. Biomolecules from extremophile microalgae: From genetics to bioprocessing of a new candidate for large-scale production. **Process Biochemistry**, [s.l.], p.1-8, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2019.09.012>

TADROS, T. F. **Applied Surfactants: Principles and Applications**. Weinheim: Wiley-vch, 2005. 643 p.

TEOTIA, A. K.; SAMI, H.; KUMAR, A. Thermo-responsive polymers. **Switchable And Responsive Surfaces And Materials For Biomedical Applications**, [s.l.], p.3-43, 2015. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-85709-713-2.00001-8>.

VEBER, J. et al. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini*L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 17, n. 2, p.267-273, jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_181.

VIGON INTERNATIONAL. **SymSave H (Hydroxyacetophenone)**. Disponível em: <https://www.vigon.com/symsave-h-hydroxyacetophenone>. Acesso em 15/11/2021.

WILLIAMS, A. C; BARRY, B. W. Penetration enhancers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 56, n. 5, p.603-618, mar. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.025>.

WOODLEY, D. T. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis. **Dermatologic Clinics**, [s.l.], v. 35, n. 1, p.95-100, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.det.2016.07.004>.

YOON, H. S.; et al. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta)¹. **Journal Of Phycology**, [s.l.], v. 42, n. 2, p.482-492, abr. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00210.x>.

YOUNG, E. How the Lord of the Springs Survives Where Most Things Die. **NATIONAL GEOGRAPHIC**. 7 mar. 2013. Disponível em: <https://www.nationalgeographic.com/science/phenomena/2013/03/07/how-the-lord-of-the-springs-survives-where-most-things-die/>>. Acesso em: 28 out. 2019.



















ZHANG, L. **Micelle enhanced analytical chemistry**. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência, Wake Forest University Graduate School Of Arts And Sciences, Winston-salem, 2014.

ZIMERMANN, Jéssika D'Arc Fernandes. **CULTIVO DA MICROALGA *Galdieria sulphuraria* EM PERMEADO DE SORO DE LEITE**. 2019. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2019.

ZIMMERMAN, J. D. F.; et al. **Potencial antioxidante e compostos fenólicos da microalga extromófila *Galdieria sulphuraria***. In: 24° Congresso Latino-americano e Ibérico de Químicos Cosméticos (24° COLAMIQ) da Associação Brasileira de Cosmetologia, 2019, São Paulo.



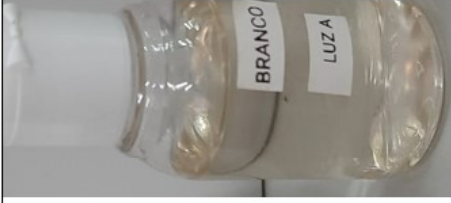




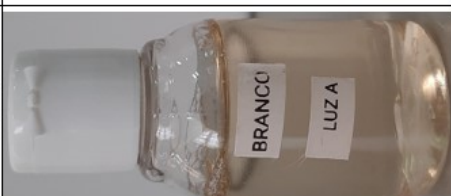






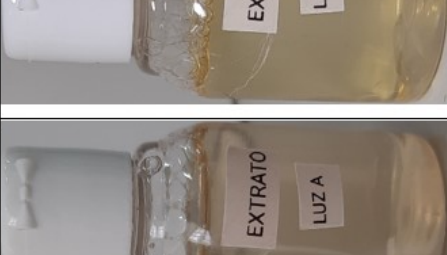



APÊNDICE A

Linha do Tempo Teste de Estabilidade Acelerada Temperatura 25°C (Ambiente)

		Dia								
Temp Amb	Branco	0 10/07	15° 26/07	30° 07/08	45° 28/08	60° 04/09	75° 19/09	90° 02/10	105° 16/10	120° 30/10
	Extrato									
										






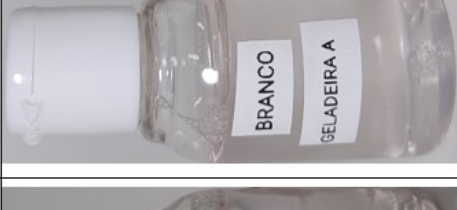









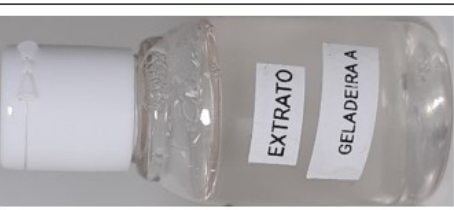


APÊNDICE B

Linha do Tempo Teste de Estabilidade Acelerada Luz

		Dia									
		0 10/07	15° 26/07	30° 07/08	45° 28/08	60° 04/09	75° 19/09	90° 02/10	105° 16/10	120° 30/10	
	Branco										
	Extrato										
	Luz										















APÊNDICE C

Linha do Tempo Teste de Estabilidade Acelerada Temperatura 5°C

		Dia								
Temp Baixa	Branco	0 10/07	15° 26/07	30° 07/08	45° 28/08	60° 04/09	75° 19/09	90° 02/10	105° 16/10	120° 30/10
	Extrato									
	Branco									











APÊNDICE D

Linha do Tempo Teste de Estabilidade Acelerada Carro

		Dia								
		0 10/07	15° 26/07	30° 07/08	45° 28/08	60° 04/09	75° 19/09	90° 02/10	105° 16/10	120° 30/10
Carrão	Branco									
	Extrato									








APÊNDICE E

Linha do Tempo Teste de Estabilidade Acelerada Temperatura 30°C

		Dia									
Temp Alta	Branco	0 10/07	15° 26/07	30° 07/08	45° 28/08	60° 04/09	75° 19/09	90° 02/10	105° 16/10	120° 30/10	
	Extrato										

APÊNDICE F

Linha do Tempo Teste de Estabilidade Acelerada Escuro

		Dia								
		0	15° 26/07	30° 07/08	45° 28/08	60° 04/09	75° 19/09	90° 02/10	105° 16/10	120° 30/10
Escuro	Branco									
	Extrato	