

Máscara bioativa: novas prospecções na área de cosméticos

Bioactive mask: new prospects in the cosmetics area

RESUMO

Gabriela Sperotto
gsperotto@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Samara Silva de Souza
samarasouza@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

João Pedro Maximino Gongora Godoi
jgodoi@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Larissa Gabrieli Stasiak
larissastasiak@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Naiana Cristine Gabiatti
naianagabiatti@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



A nanocelulose bacteriana (NCB) vem ganhando grande destaque em aplicações cosméticas. Entre elas, a utilização como máscara facial se mostra vantajosa, uma vez que a membrana de NCB possui alto teor de água, conferindo uma profunda hidratação à pele, e permite que substâncias bioativas, como antioxidantes, sejam incorporadas entre suas nanofibras. O objetivo deste trabalho foi incorporar a NCB óleo de semente de uva e extrato de mirtilo, ambos com alto poder antioxidante e fotoprotetor. A extração do óleo de semente de uva foi realizada, porém obteve-se um rendimento abaixo do esperado. A incorporação com extrato de mirtilo permitiu um bom crescimento das membranas. A pesquisa foi interrompida logo que decretado o período de isolamento social devido ao COVID-19. Para dar continuidade aos trabalhos, o grupo de pesquisa se dedicou ao desenvolvimento de um artigo de revisão sobre os diferentes meios de cultura utilizados para a biossíntese de NCB.

PALAVRAS-CHAVE: Nanocelulose bacteriana. Óleo de semente de uva. Extrato de mirtilo.

ABSTRACT

Bacterial nanocellulose (BNC) has been gaining notability in cosmetic applications. Among them, the utilization as a facial mask shows to be advantageous, since the BNC membrane has a high water content, providing a deep hydration to the skin, and allows bioactive substances, such as antioxidants, to be incorporated between its nanofibers. The objective of this work was to incorporate to BNC grape seed oil and blueberry extract, both with high antioxidant and photoprotective properties. The extraction of grape seed oil was performed, but a yield lower than the expected was obtained. The incorporation of blueberry extract enabled a great growth of the membranes. The research was paused as soon as the period of social isolation was determined. To continue the work, the research group dedicated itself to the development of a review article about the different culture media used for the BNC biosynthesis.

KEYWORDS: Bacterial nanocellulose. Grape seed oil. Blueberry extract.



INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é empregada em produtos eletrônicos, de cuidados pessoais, químicos, alimentícios, entre outros. No que diz respeito aos cuidados pessoais, há uma procura crescente por novos produtos cosméticos, o que requer um constante desenvolvimento de novas tecnologias para que as demandas sejam alcançadas. Cosméticos produzidos a partir de nanopartículas são disponibilizados em diversas formas como cremes, pós, loções, sabonetes, máscaras e emulsões que podem ser utilizadas em qualquer parte do corpo (PASTRANA; AVILA; TSAI, 2018). Entre estas, as máscaras faciais têm ganhado grande destaque entre os usuários de produtos cosméticos. Elas são aplicadas com diferentes fins: hidratação, revitalização, cicatrização, refrescância e clareamento (ARAMWIT; BANG, 2014).

Nesse sentido, a nanocelulose bacteriana (NCB) têm demonstrado ser um material promissor para a aplicação cutânea. Ela é produzida eficientemente por bactérias do gênero *Komagataeibacter* (DE SOUZA et al., 2019). A NCB é um hidrogel superabsorvente que promove inúmeras ligações com a água devido à grande quantidade de grupos hidroxila disponíveis neste biofilme. Desse modo, o teor de água da membrana é consideravelmente alto (acima de 95%). Portanto ela pode atuar como um tapete hidratante, onde a absorção de umidade é resultado do alto gradiente da concentração de água entre a pele e a NCB (LUDWICKA et al., 2016).

A estrutura de nanofibras com diâmetro menor que 100 nm possibilita a profunda penetração de substâncias ativas na pele (LUDWICKA et al., 2016). Alguns trabalhos realizados incorporaram à NCB sericina de seda, glicerina, colágeno, aloe vera, tanino e nisina (ALMEIDA et al., 2014; ARAMWIT; BANG, 2014; DOS SANTOS et al., 2018; GODINHO et al., 2016; MISSIO et al., 2018; SIONKOWSKA; MEZEYKOWSKA; SAHA, 2019). Os dois últimos trabalhos relatam a adição de atividade antioxidante à membrana de nanocelulose.

Extratos e óleos de algumas plantas são ricos em moléculas antioxidantes, as quais desempenham um papel fundamental no retardamento do envelhecimento celular. Moléculas antioxidantes podem reduzir os efeitos nocivos dos radicais livres, moléculas que prejudicam as células da pele e causam inflamação e envelhecimento precoce (DAYAN; KROMIDAS, 2011; PODEROSO, 2009).

A uva (*Vitis vinifera*) é uma grande fonte de antioxidantes, principalmente do grupo polifenóis presentes no óleo extraído da semente desta fruta. Os principais polifenóis identificados no óleo da semente de uva são catequinas, epicatequinas, resveratrol e procianidina B1 (MAIER et al., 2009; ROMBAUT et al., 2014). Além disso, este óleo é rico em ácido linoleico que possui ação nutritiva, anti-inflamatória e anti-séptica, vitaminas E, C e D e beta-caroteno (CLARA; JOSE, 2019; GARAVAGLIA et al., 2016).

Outra grande fonte de antioxidantes é o mirtilo, rico em compostos fenólicos como antocianinas, quercetina, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico e proantocianidinas (OH et al., 2017). Sendo parte dos flavonóides, as antocianinas

são ótimos pigmentos naturais, dando cor azul nas plantas e mostram alto potencial antioxidante (DIACONEASA et al., 2015), sendo capazes de restaurar os capilares da pele e melhorar várias doenças deste tecido, como rugas e hiperpigmentação (JANG et al., 2008; KARUNARATHNE et al., 2019; NANASHIMA et al., 2018). Proantocianidinas também são moléculas antioxidantes que já provaram ser capazes de retardar o fotoenvelhecimento, impedindo a degradação do colágeno e ácido hialurônico pela radiação UVA em células de fibroblastos da pele (YODKEEREE et al., 2018).

É fato que tanto o óleo de semente de uva como o mirtilo possuem composições benéficas à pele humana com ação antienvelhecimento, fotoprotetora e redução da hiperpigmentação. Nesse sentido, esta proposta buscou integrar estes componentes à NCB, a fim de obter uma máscara biologicamente ativa com alto poder hidratante e ação antioxidante, a qual, no cenário dos cosméticos, é um produto inovador, pois une a nano e a biotecnologia com produtos naturais. Portanto, será avaliada a incorporação dos óleos a NCB utilizando o método *ex situ*. Caso necessário, outras alternativas de modificação serão consideradas, por exemplo, a adição de um emulsificante para permitir a interação entre a água presente na NCB e os óleos.

MATERIAL E MÉTODOS

O meio de cultura utilizado foi o Hestrin-Schramm (HS) (HESTRIN; SCHRAMM, 1954). Para realizar a reativação da cepa e a preparação das placas de manutenção, uma alíquota de 1 ml de *Komagataeibacter xylinus* (ATCC® 53524™) foi adicionada a um tubo *falcon* de 4 ml de meio de cultura HS. 100 µL deste inóculo foram transferidos para uma placa de meio HS sólido, denominada placa de manutenção. O tubo com o inóculo e a placa foram levados a estufa B.O.D. a 30°C por 7 dias, para posterior preparação de estoques da cepa e placas de trabalho, respectivamente.

Da placa de manutenção foram coletadas 5 colônias para preparar 1 mL de meio de cultura líquido HS em um tubo *falcon*. Deste tubo, foram transferidos 100 µL para uma nova placa de meio HS sólido, denominada placa de trabalho, que então foi levada a estufa B.O.D. a 30°C por 7 dias.

A fim de se realizar a estocagem da cepa bacteriana, o tubo preparado para reativação da cepa, após o período de fermentação, teve o biofilme cuidadosamente removido e foi adicionado meio de cultura líquido HS em uma proporção de 10% do inóculo. Este tubo foi levado a estufa B.O.D. a 30°C por 7 dias. Após este período, as alíquotas foram preparadas em *ependorfs* adicionando-se 800 µL de inóculo e 200 µL de glicerol e levadas ao *freezer*.

Assim que a fermentação foi concluída, as membranas de NCB foram purificadas. As membranas foram cuidadosamente removidas e transferidas para uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M por 24 h. Então, elas foram lavadas com água destilada e colocadas na estufa a 50°C por 15 minutos com água

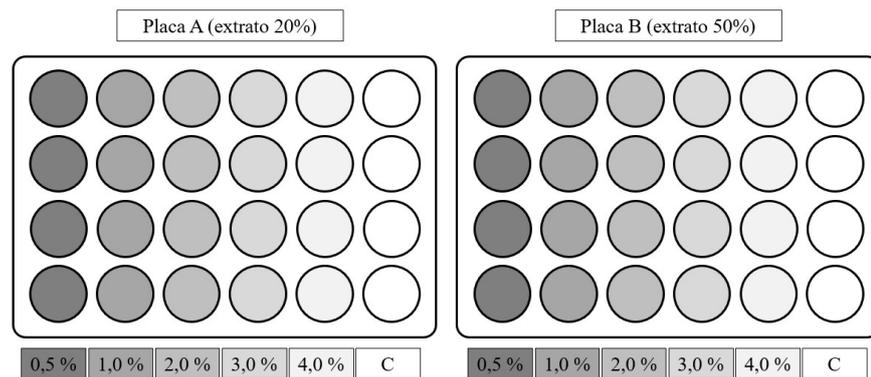
destilada cobrindo-as, esse processo se repetiu por 7 vezes. Após isso as membranas hidratadas foram autoclavadas a 121°C por 20 minutos.

Os extratos de mirtilo foram adquiridos da Empresa Empório do Mirtilo em Itá, Santa Catarina, Brasil. A empresa forneceu um extrato 50% e um 20%, ambos glicólicos, além de um extrato seco de mirtilo e uma farinha de mirtilo.

Sementes de uva foram adquiridas de uma vinícola do oeste de Santa Catarina, Brasil para realizar a extração do óleo de semente de uva. A extração seguiu o protocolo de Bligh and Dyer (BLIGH, E.G. AND DYER, 1959).

O cultivo em modo estático com extrato de mirtilo foi realizado em placas de 24 poços, cada poço contendo um volume total de 2 mL. De acordo com a Figura 1, a placa A contém o extrato 20% e a placa B contém o extrato 50%. As diluições dos extratos são demonstradas na figura e foram realizadas em meio HS. A fermentação ocorreu em estufa B.O.D. a 30°C por 7 dias.

Figura 1 – Esquema da preparação das placas com extrato de mirtilo 20% e 50%. Fonte: autoria própria.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

A reativação da cepa foi realizada e as placas de manutenção foram preparadas para posterior preparo das placas de trabalho. Entretanto, muitos problemas com contaminação foram encontrados durante o processo. Concluiu-se que as alíquotas com as cepas iniciais estavam contaminadas devido a frequente falta de luz no campus que ocasionava o descongelamento das amostras que eram armazenadas no freezer do laboratório. Portanto, novas alíquotas foram obtidas e logo foram reativadas, garantindo assim que não sofreram descongelamento. A Figura 2 mostra uma placa contaminada, pela morfologia concluiu-se que é um fungo filamentososo.

A extração do óleo de semente de uva foi realizada como descrito, entretanto mais extrações deverão ser realizadas para se obter um maior rendimento de óleo.

Figura 2 – Placa de reativação contaminada por fungo. Fonte: autoria própria.



As placas contendo o inóculo e o extrato de mirtilo de acordo com a Figura 1 foram preparadas. O crescimento seguiu por 7 dias e observou-se o crescimento de membranas de NCB na superfície como mostra a Figura 3. As membranas foram purificadas como descrito anteriormente e armazenadas em água destilada.

Figura 3 – Placas com extrato de mirtilo após 7 dias de fermentação. Fonte: autoria própria.



O projeto de pesquisa “NanoCel - Desenvolvimento de Plataformas de Nanocelulose” teve início em agosto de 2019, trazendo uma nova linha de pesquisa ao campus da UTFPR de Dois Vizinhos. Diversos problemas surgiram durante o desenvolvimento inicial do projeto, como, por exemplo, as contaminações. Aproximadamente 3 meses foram necessários até que uma cultura pura fosse produzida e, assim, dar continuidade aos experimentos. Além disso, alguns equipamentos indispensáveis para o andamento do projeto não estavam

disponíveis para o uso, como a estufa B.O.D., no entanto, grande progresso foi feito assim que se obteve as condições necessárias para a produção dos biofilmes de NCB.

As atividades de pesquisa do campus de Dois Vizinhos foram suspensas em março de 2020 devido a pandemia do Covid-19 por tempo indeterminado. Dessa forma todas as atividades de pesquisa foram suspensas que comprometeu as atividades planejadas.

Durante este período de isolamento, o grupo dos alunos vinculados ao projeto “NanoCel - Desenvolvimento de Plataformas de Nanocelulose” vem desenvolvendo um artigo de revisão sobre os diferentes meios de cultura para a produção de NCB, que ainda será publicado. Desta forma, o grupo continuou produzindo resultados mesmo fora dos laboratórios.

Assim que possível, os experimentos terão continuidade e será realizada a incorporação do óleo de semente de uva à NCB, a caracterização físico-química e os testes sensoriais. Também será avaliado o crescimento da NCB em meio de cultura mínimo, o qual acrescenta vantagens ao processo, como por exemplo um menor custo, além de resultar em uma membrana transparente (DE SOUZA et al., 2019), agregando um melhor aspecto visual ao produto.

CONCLUSÃO

O presente trabalho alcançou os objetivos iniciais, tais como reativação, propagação, estocagem da cepa bacteriana, preparação de meio de cultura e purificação das membranas de NCB. Além disso uma das estratégias de modificação foi realizada com os extratos de mirtilo, obtendo-se um resultado satisfatório. Entretanto, mais testes precisam ser feitos para determinar as estratégias de modificação (*in situ* ou *ex situ*) e as condições (tempo, formato da membrana, meio de cultura, entre outras) mais adequadas ao processo de produção da NCB.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a UTFPR campus Dois Vizinhos pelo apoio à pesquisa, pelos laboratórios e equipamentos disponíveis e a minha orientadora Samara Silva de Souza pela sua dedicação excepcional ao projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I. F. et al. Bacterial cellulose membranes as drug delivery systems: An in vivo skin compatibility study. **European Journal of Pharmaceutics and**

Biopharmaceutics, v. 86, n. 3, p. 332–336, 2014.

ARAMWIT, P.; BANG, N. The characteristics of bacterial nanocellulose gel releasing silk sericin for facial treatment. **BMC Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 1–11, 2014.

BLIGH, E.G. AND DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, 1959.

CLARA, S.; JOSE, S. **Patent Application Publication (10) Pub . No . : US 2019 / 0094203 A1**, 2019.

DAYAN, N.; KROMIDAS, L. **Marketing of Products Formulating , Marketing of Natural Cosmetic**. [s.l: s.n.].

DE SOUZA, S. S. et al. Nanocellulose biosynthesis by *Komagataeibacter hansenii* in a defined minimal culture medium. **Cellulose**, v. 26, n. 3, p. 1641–1655, 2019.

DIACONEASA, Z. et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin rich extracts from blueberry and blackcurrant juice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 2, p. 2352–2365, 2015.

DOS SANTOS, C. A. et al. Bacterial nanocellulose membranes combined with nisin: a strategy to prevent microbial growth. **Cellulose**, v. 25, n. 11, p. 6681–6689, 2018.

GARAVAGLIA, J. et al. Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. **Nutrition and Metabolic Insights**, v. 9, p. 59–64, 2016.

GODINHO, J. F. et al. Incorporation of Aloe vera extracts into nanocellulose during biosynthesis. **Cellulose**, v. 23, n. 1, p. 545–555, 2016.

HESTRIN; SCHRAMM. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochem J.**, v. 58, n. 2, p. 345–352, 1954.

JANG, M. H. et al. Inhibition of cholinesterase and amyloid- β aggregation by

resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 4, p. 544–549, 2008.

KARUNARATHNE, W. A. H. M. et al. Anthocyanins from *Hibiscus syriacus* L. Inhibit melanogenesis by activating the ERK signaling pathway. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, 2019.

LUDWICKA, K. et al. **Medical and Cosmetic Applications of Bacterial NanoCellulose**. [s.l.] Elsevier B.V., 2016.

MAIER, T. et al. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 551–559, 2009.

MISSIO, A. L. et al. Nanocellulose-tannin films: From trees to sustainable active packaging. **Journal of Cleaner Production**, v. 184, p. 143–151, 2018.

NANASHIMA, N. et al. Blackcurrant anthocyanins increase the levels of collagen, elastin, and hyaluronic acid in human skin fibroblasts and ovariectomized rats. **Nutrients**, v. 10, n. 4, p. 1–15, 2018.

OH, B. T. et al. Probiotic-mediated blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit fermentation to yield functionalized products for augmented antibacterial and antioxidant activity. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 124, n. 5, p. 542–550, 2017.

PASTRANA, H.; AVILA, A.; TSAI, C. S. J. Nanomaterials in Cosmetic Products: the Challenges with regard to Current Legal Frameworks and Consumer Exposure. **NanoEthics**, v. 12, n. 2, p. 123–137, 2018.

PODEROSO, J. J. The formation of peroxynitrite in the applied physiology of mitochondrial nitric oxide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 484, n. 2, p. 214–220, 2009.

ROMBAUT, N. et al. Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 284–292, 2014.

SIONKOWSKA, A.; MEZEYKOWSKA, O.; SAHA, N. NEW COMPOSITES BASED ON BACTERIAL NANOCELLULOSE AND COLLAGEN. **ENGINEERING OF BIOMATERIALS**, v. 22, n. 153, p. 32, 2019.

YODKEEREE, S. et al. Skin anti-aging assays of proanthocyanidin rich red rice extract, oryzanol and other phenolic compounds. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 8, p. 967–972, 2018.