



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

Máscara facial de nanocelulose bacteriana incorporada com óleo de semente de uva

Face mask of bacterial nanocellulose incorporated with grape seed oil

Gabriela Sperotto*, Samara Silva de Souza†,
João Pedro Maximino Gongora Godoi‡, Larissa Gabrieli Stasiak Vezentin§,
Naiana Cristine Gabiatti¶, Paula Fernandes Montanher^l

RESUMO

O conceito beleza varia com o tempo e, para atender essa necessidade variável dos consumidores, novos produtos cosméticos devem ser constantemente desenvolvidos. Nesse sentido, as máscaras faciais do tipo *sheet mask* têm conquistados os consumidores pela sua praticidade e popularidade em redes sociais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma *sheet mask* utilizando como material suporte a nanocelulose bacteriana (NCB), pelas suas características de hidratação cutânea e possibilidade de incorporação de substâncias bioativas. Para conferir atividade antioxidante à máscara, foi incorporado óleo de semente de uva por meio de uma emulsão no meio de cultivo (*in situ*). Com a finalidade de comprovar a incorporação do óleo, foi realizada uma análise de espectroscopia de infravermelho (FTIR), onde foi constatada a presença do óleo de semente de uva na NCB. Além disso, imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas, nas quais observou-se que a incorporação do óleo durante o crescimento da membrana causou modificações na morfologia das fibras de nanocelulose. Como perspectivas futuras, espera-se que seja alcançada uma produção economicamente viável desta *sheet mask*, uma vez que é um cosmético inovador e eficaz que possui potencial para ser um produto indispensável aos amantes de cuidados com a pele.

Palavras-chave: cosméticos, *sheet mask*, *in situ*, atividade antioxidante

ABSTRACT

The concept of beauty varies over time and, to attend this variable need of consumers, new cosmetic products must be constantly developed. In this perspective, sheet masks, a type of facial mask, have conquered consumers for their practicality and popularity on social media. The aim of this work was to develop a sheet mask using bacterial nanocellulose (BNC) as support material, due to its skin hydration characteristics and the possibility of incorporating bioactive compounds. To provide antioxidant activity to the mask, grape seed oil was incorporated into the membrane through an emulsion in the culture medium (*in situ*). To verify the incorporation of oil, an analysis of infrared spectroscopy was performed, where the presence of grape seed oil in the BNC was confirmed. Furthermore, scanning electron microscopy images were obtained, in which it was observed that the incorporation of oil during membrane growth caused changes in the morphology of the nanocellulose fibers. As future perspectives, it is expected that an economically viable production of this sheet mask will be achieved, as it is a novel and effective cosmetic that has the potential to be an indispensable product for skin care lovers.

Keywords: cosmetics, sheet mask, *in situ*, antioxidant activity

* Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; gabi-sperotto@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; samarasouza@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; jgodoi@alunos.utfpr.edu.br

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; larissastasiak@alunos.utfpr.edu.br

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; naianagabiatti@utfpr.edu.br

^l Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; paulamontanher@utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

Existem diversos materiais utilizados para a confecção das *sheet masks*, principalmente polímeros sintéticos. Entretanto, com a recente e crescente demanda dos consumidores por materiais biodegradáveis e *eco-friendly*, substitutos devem ser encontrados e utilizados para compor este produto.

Nesse sentido, a NCB tem demonstrado ser um material promissor para a aplicação cutânea. Ela é produzida por bactérias do gênero *Komagataeibacter*, mais comumente conhecidas como *Gluconacetobacter* e *Acetobacter* (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. O teor de água da membrana é consideravelmente alto (acima de 95%), permitindo-a 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). Além disso, devido à alta porosidade da NCB, diversos fármacos e princípios ativos podem ser incorporados e liberados na pele de forma controlada.

A uva (*Vitis vinifera*) é uma importante fonte de antioxidantes, principalmente dos grupos polifenóis presentes no óleo extraído das sementes dessa fruta. Os principais polifenóis identificados no óleo de semente de uva são catequinas, epicatequinas, resveratrol e procianidina B1 (MAIER et al., 2009; ROMBAUT et al., 2014). A uva possui princípios ativos que podem neutralizar os sintomas do envelhecimento da pele, o que pode melhorar a proteção da radiação solar e a atividade antioxidante do tecido (LORENCINI et al., 2014).

Pelo fato de a NCB ser um composto hidrofílico, a sua interação com um composto oleoso é prejudicada. Diante disso, a adição de um agente que promova a interação entre as duas fases pode ser essencial para a qualidade do produto a ser desenvolvido. Uma mistura entre um composto polar e um apolar é chamado de emulsão e alguns agentes podem facilitar a sua preparação, como por exemplo um surfactante ou tensoativo (BURGUERA; BURGUERA, 2012).

A partir do que foi apresentado, pode-se formular a seguinte pergunta: o óleo de semente de uva pode ser incorporado a NCB de forma eficiente e sem prejudicar a formação do filme bacteriano? Para responder essa pergunta, o objetivo deste trabalho é produzir uma máscara cosmética do tipo *sheet mask* constituída de NCB incorporada com uma emulsão de óleo de semente de uva. Também pretende-se avaliar a incorporação do óleo na NCB e como ele influencia a morfologia dessa membrana.

2 MÉTODO

2.1 Microrganismo, meio de cultura e emulsão

O microrganismo utilizado neste experimento foi reativado a partir de uma cepa de *Komagataeibacter xylinus* (ATCC® 53524™) congelada, que resultou em placas de trabalho de meio sólido Hestrin-Schramm (HS) (SCHRAMM; HESTRIN, 1954) para serem utilizadas nos demais cultivos.

O óleo de semente de uva utilizado foi um óleo comercial com 100% de pureza extraído por prensagem a frio. O tensoativo utilizado foi o Triton X-100. Em condições assépticas, foi preparada a emulsão em meio de cultura líquido HS contendo 1% de óleo de semente uva e 0,01% de Triton X-100 (ZYWICKA et al., 2019). Essa mistura foi agitada por 60 min a 1500 rpm em agitador mecânico.

2.2 Cultivo das membranas com emulsão e controle

O cultivo líquido em modo estático foi realizado em placas de 24 e de 6 poços, cada poço contendo um volume total de 2 e 6 mL, respectivamente.



Para preparar o inóculo, inicialmente foi preparado um pré-inóculo utilizando somente meio HS e aproximadamente 5 colônias de bactéria para cada 1 mL de meio de cultura. Esse pré-inóculo foi adicionado a uma proporção de 10% na emulsão e no meio HS puro, para cultivo das membranas incorporadas com óleo e para membranas controle, respectivamente. A fermentação ocorreu em estufa B.O.D. a 30°C por 7 dias.

Após este período, as membranas passaram pelo processo de purificação, onde foram cuidadosamente removidas do meio de cultura e transferidas para uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M e mantidas por 24 horas em estufa a 50°C. Prosseguiu-se com lavagens sucessivas com água destilada, por 15 minutos em estufa a 50°C; esse processo se repetiu por sete vezes, para garantir a remoção das bactérias. Por fim, as membranas hidratadas foram autoclavadas a 121°C por 20 minutos e reservadas.

As membranas cultivadas na emulsão de óleo de semente de uva foram denominadas NCB-E, enquanto as membranas controle foram denominadas NCB-C.

Para a confecção da *sheet mask*, o cultivo utilizando a emulsão foi realizado por 3 dias em um frasco circular, similar ao tamanho de uma face. Após a purificação da membrana ela foi recortada com o auxílio de um bisturi para se obter o formato necessário da *sheet mask*.

2.3 Análises físico-químicas

Para a realização das análises físico-químicas, as membranas cultivadas em placas de poços foram secadas em um liofilizador (marca Liobras, modelo L108). Primeiramente elas foram congeladas em *freezer* comum (-20 °C) por 48 horas e levadas ao aparelho de liofilização onde a secagem ocorreu por 24 horas.

As membranas NCB-E e NCB-C foram analisadas por espectroscopia de infravermelho (FTIR) no equipamento Frontier na faixa do espectro de 4000-400 cm⁻¹ na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para avaliar a microestrutura da superfície dos dois lados das membranas NCB-E e NCB-C com aproximações 2000x, 5000x e 10000x. As membranas foram caracterizadas pelo equipamento Tescan modelo Vega3 pelo Centro de Caracterização Multiusuário em Pesquisa e Desenvolvimento de Materiais (C²MMA) da UTFPR campus Ponta Grossa. Antes das análises as amostras foram cortadas em pequenos pedaços e revestidas com uma fina camada de ouro.

3 RESULTADOS

3.1 Cultivo das membranas com emulsão e controle

As membranas NCB-E e NCB-C foram cultivadas em placas de poços e a membrana para a confecção da *sheet mask* foi cultivada na emulsão em um recipiente maior. Esta última permaneceu sob cultivo por 3 dias para que a sua espessura fosse adequada para a colocação sobre a face. Se o cultivo seguisse por 7 dias, a membrana se tornaria muito grossa e pesada, prejudicando a sua utilização como *sheet mask*. Após a purificação, foram feitos os recortes no formato de um rosto, como mostrado na Figura 1.

Figura 1 – *Sheet mask* de NCB com óleo de semente de uva

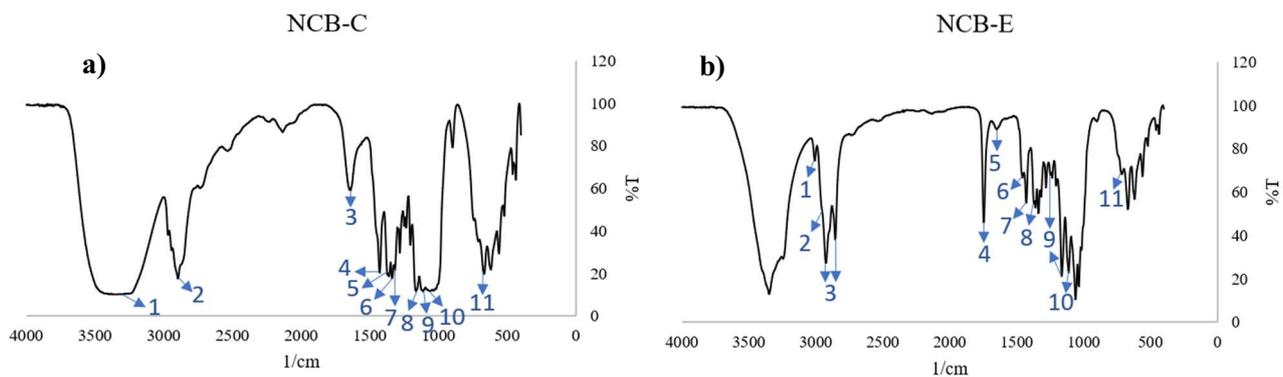


Fonte: Autoria própria (2021)

3.2 Espectroscopia de infravermelho

Os resultados das análises de FTIR, comprovam a incorporação do óleo de semente de uva nas membranas de NCB, a partir das ligações químicas características conforme pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2 – Espectros de infravermelho a) NCB-C e b) NCB-E



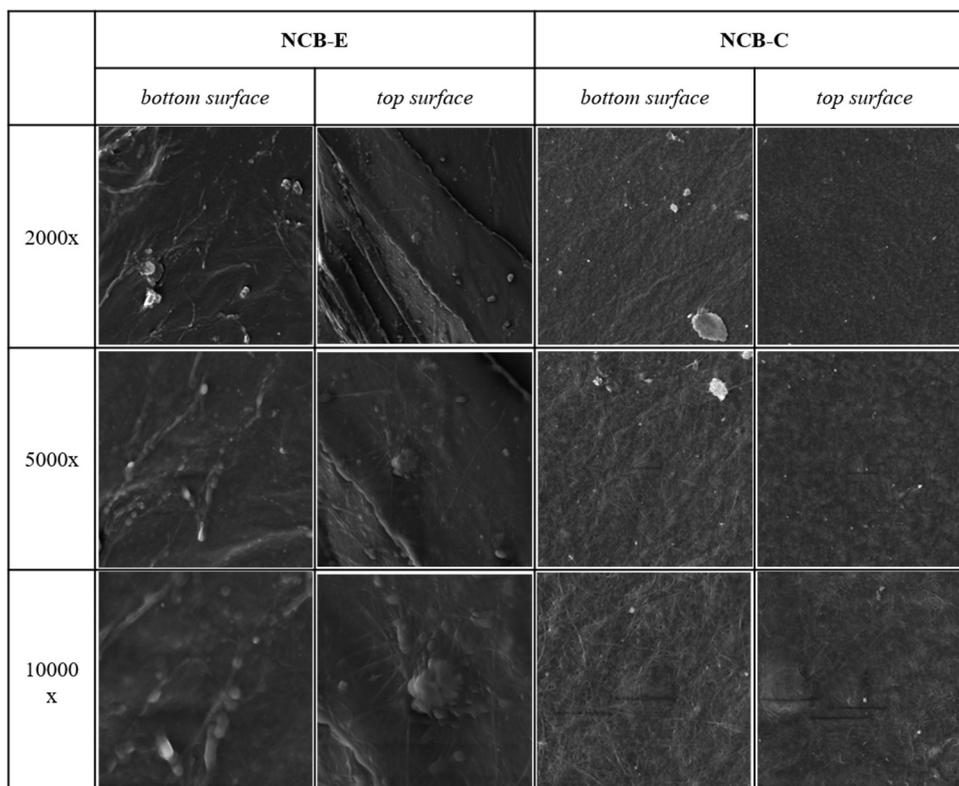
Fonte: Autoria própria (2021)

A Figura 2a representa o espectro da NCB pura, sem incorporação de óleo. O resultado desta análise segue o perfil característico da NCB de acordo com a literatura (DUARTE, 2014). Os picos característicos que podem ser encontrados na literatura citada para a NCB estão indicados pelas setas e números. Já a Figura 2b representa o espectro da NCB cultivada na emulsão de óleo de semente de uva, os picos desta análise foram comparados aos picos obtidos pelos autores Canbay e Bardakçi (2011). Esse trabalho realizou uma análise de FTIR no óleo de semente de uva puro. Dessa forma, confirmou-se a presença do óleo de semente de uva na membrana de NCB, uma vez que os mesmos picos foram encontrados nesse presente estudo.

3.3 Microscopia eletrônica de varredura

A produção da membrana de NCB ocorre na interface entre o meio de cultivo e o ar, portanto uma das superfícies da membrana fica em contato com o meio líquido (*bottom surface*) enquanto a outra superfície cresce em contato com o ar (*top surface*). A deposição das fibrilas de celulose é diferente em cada uma das superfícies, tornando a superfície inferior mais porosa do que a superior. As imagens de microscopia eletrônica de varredura estão representadas no Quadro 1.

Quadro 1 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura das membranas de NCB



Fonte: Autoria própria (2021)

Analisando a morfologia das membranas NCB-E, concluiu-se que a incorporação do óleo de semente de uva causou modificações estruturais na nanocelulose, com aumento do tamanho das fibras de nanocelulose depositada pelos microrganismos. Um estudo demonstrou que a morfologia da NCB foi alterada com a adição de óleo de palma, o qual aparentemente diminuiu a porosidade da membrana, sendo que a característica porosa foi desaparecendo de acordo com o aumento na concentração do óleo (KARINA et al., 2012). Nas imagens do Quadro 1, percebeu-se que a adição do óleo tornou as fibras de celulose mais grossas e a membrana passou a ser mais lisa.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados discutidos, pode-se responder à pergunta inicial deste trabalho. Sim, é possível incorporar óleo de semente de uva na NCB de forma eficiente e sem prejudicar a produção de nanocelulose pelos microrganismos. Entretanto, a emulsão criou pequenos buracos na superfície da membrana, o que provavelmente foi provocado por um acúmulo de emulsão sobre ela. Ainda assim, muitas etapas são necessárias para que este produto seja disponibilizado aos consumidores, como testes de citotoxicidade e aprovações dos órgãos de legislação competentes.

Máscaras faciais do tipo *sheet mask* de NCB já são comercializadas, porém a sua produção é muito custosa. Algumas soluções podem ser discutidas para contornar esta problemática, como por exemplo a utilização de um meio mínimo de cultivo, proposto pelos autores (DE SOUZA et al., 2019), uma vez que ele utiliza reagentes de menor custo, chegando a ser 4,6 vezes mais barato que o meio tradicional HS (SPEROTTO et al., 2021). Além disso, a semente de uva é uma matéria-prima excedente de vinícolas, portanto, a disponibilidade desse material é grande e de baixo custo.



Por fim, espera-se que no futuro esse trabalho alcance uma produção economicamente viável e que possua todos os testes e documentos necessários para disponibilização aos consumidores. Este é um produto promissor e inovador, aspectos que o destacam em comparação aos tradicionais já existentes no mercado, e que possui potencial para se tornar um produto indispensável para os amantes de cuidados com a pele.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIA

- BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Analytical applications of emulsions and microemulsions. **Talanta**, v. 96, p. 11–20, 2012.
- CANBAY, H. S.; BARDAKÇI, B. Determination of Fatty Acid, C, H, N and Trace Element Composition in Grape Seed by GC/MS, FTIR, Elemental Analyzer and ICP/OES. **SDU Journal of Science**, v. 6, n. 2, p. 140–148, 2011.
- 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.
- DUARTE, E. B. Produção de nanocompósitos de celulose bacteriana e hidroxiapatita com rota para valorização de resíduos agroindustriais. **Universidade Federal do Paraná**, 2014.
- KARINA, M. et al. Impact of Esterified Palm Oil Impregnation on Bacterial Cellulose Properties. **Polymers from Renewable Resources**, v. 3, n. 4, p. 139–152, 2012.
- KUSUMAWATI, A. H.; WULAN, I. R.; RIDWANULOH, D. Formulation and physical evaluation sheet mask from red rice (*Oryza nivara*) and virgin coconut oil (*Cocos nucifera* L). **International Journal of Health & Medical Sciences**, v. 3, n. 1, p. 60–64, 2020.
- LORENCINI, M. et al. Active ingredients against human epidermal aging. **Ageing Research Reviews**, v. 15, n. 1, p. 100–115, 2014.
- 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.
- PERUGINI, P. et al. In vivo evaluation of the effectiveness of biocellulose facial masks as active delivery systems to skin. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 19, n. 3, p. 725–735, 2020.
- 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.
- SCHRAMM, M.; HESTRIN, S. Factors affecting production of cellulose at the air/liquid interface of a culture of *Acetobacter xylinum*. **Journal of general microbiology**, v. 11, n. 1, p. 123–129, 1954.
- SPEROTTO, G. et al. A review of culture media for bacterial cellulose production: complex, chemically defined and minimal media modulations. **Cellulose**, v. 5, 2021.
- ZYWICKA, A. et al. An efficient method of *Yarrowia lipolytica* immobilization using oil- and emulsion-modified bacterial cellulose carriers. **Electronic Journal of Biotechnology**, n. 41, p. 30–36, 2019.