



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JULIA ANDRADE CERQUEIRA

PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DE *Bacillus subtilis* natto EM FORMULAÇÃO COSMÉTICA

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JULIA ANDRADE CERQUEIRA

**PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DE *Bacillus subtilis* natto
EM FORMULAÇÃO COSMÉTICA**

Monografia apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientador(a): Dra MARIA ANTONIA P. COLABONE CELLIGOI
Coorientador(a): Dra BRIANI GISELE BIGOTTO**

**Londrina – Paraná
2024**

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a). Maria Antonia P. Colabone Celligoi

Dr(a). Briani Gisele Bigotto

Prof(a). Dr(a). Cristiani Baldo da Rocha

Prof(a). Dr(a). Josiane Vignoli

Londrina, 09 de Maio de 2024

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, Ana Paula e Regi, os quais tornaram essa conquista possível, sempre me incentivando e apoiando a estudar e ir atrás dos meus sonhos, sem eles este trabalho não existiria.

Gostaria de agradecer também a Universidade Estadual de Londrina – UEL, por fornecer um ensino de qualidade e me proporcionar experiências incríveis durante toda a minha graduação, pontuando as aulas práticas de zoologia, as quais tornam o ensino mais imersível e destacando a maravilhosa viagem ao Pantanal.

Agradeço também a professora Dra. Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi, quem me inseriu na área da biotecnologia e me apresentou o “mundo das inovações”, agradeço-a por me orientar durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço meu amigo Felipe que esteve ao meu lado durante toda a graduação, principalmente em época de estresse, me aguentando falar sobre trabalho em grupo repetidamente.

Agradeço a Bruna e Myrllon, meus primos que me receberam de braços abertos em sua lanchonete, o que me permitiu viajar pelo Brasil e vivenciar diferentes experiências. Agradeço também ao meu primo Lincoln, quem tornou as noites mais leves a partir de diferentes crises de risos.

Agradeço ao meu grupo de pesquisa que auxiliaram imensamente nessa pesquisa, tanto em ajudas técnicas como pessoais, tornando a rotina de laboratório extremamente satisfatória. Agradeço então a Briani por me coorientar e por ser essa pessoa maravilhosa, gentil e bondosa com todos. Agradeço a Beatriz por inúmeras dicas de compras e “macetes” nos estudos e agradeço também ao Tainã, Niumaique e Débora.

Gostaria de agradecer também a Milena e Tiago, meus primeiros parceiros de laboratório, amigos de todas as horas, tanto para trabalhar como para ir ao cinema ou em festas. Agradeço também ao Jheimison, meu primeiro “orientador”, quem sentou do meu lado e me ensinou a pesquisar e a escrever meu primeiro relatório de iniciação científica.

Por último e não menos importante, gostaria de agradecer ao Lucas, quem está sempre acreditando em mim e me acalmando com a seguinte frase “Ju, é óbvio que você consegue”.

CERQUEIRA, Julia. **Produção e aplicação de frutooligossacarídeos de *Bacillus subtilis* natto em formulação cosmética**. 2024. 38. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2024.

RESUMO

A demanda por produtos cosméticos que contenha ativos de origem natural, sustentáveis de qualidade e com ótimo custo-benefício, tem sido de interesse tanto por parte das indústrias quanto dos consumidores. Os ativos naturais se destacam pelas propriedades biológicas e pela biocompatibilidade aos consumidores. Dentre esses compostos os frutooligossacarídeos bacterianos apresentam diferentes propriedades biológicas, destacando as antioxidante e hidratante. Os frutooligossacarídeos possuem aplicação na indústria alimentícia pela sua propriedade prebiótica, porém esse efeito tem sido pouco explorado na área cosmética. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a produção e aplicação dessas moléculas em formulação cosmética com atividade antioxidante e hidratante. Os frutooligossacarídeos foram obtidos a partir de *Bacillus subtilis* natto, e aplicado no desenvolvimento de formulações tipo sérum com concentração de 1,25; 2,5 e 5,0 g/% de frutooligossacarídeos. As formulações foram avaliadas quanto a estabilidade, características organolépticas, físico-químicas e atividade antioxidante e hidratante. As formulações apresentaram pH de 6,0, faixa ideal para cosmético facial e exibiu aumento na atividade antioxidante de acordo como o aumento da concentração (%) de frutooligossacarídeos. A formulação com 5,0 g/% de frutooligossacarídeos atingiu 80% de inibição do radical DPPH e apresentou atividade hidratante de 95%. Portanto, os frutooligossacarídeos podem ser aplicados em formulações cosméticas pelo seu alto poder antioxidante e hidratante, apresentando um potencial significativo para o desenvolvimento de cosmético sustentável e multifuncional.

Palavras-chave: cosméticos sustentáveis, atividade antioxidante, atividade hidratante, oligossacarídeos.

ABSTRACT

The demand for cosmetic products that contain active ingredients of natural origin, which are sustainable in quality and cost-effective, has been of interest to both the industry and consumers. Natural active ingredients stand out for their biological properties and biocompatibility for consumers. Among these compounds, bacterial fructooligosaccharides have different biological properties, including antioxidant and moisturizing properties. Fructooligosaccharides are used in the food industry for their prebiotic properties, but this effect has been little explored in the cosmetics area. The aim of this study was to investigate the production and application of these molecules in cosmetic formulations with antioxidant and moisturizing activity. The fructooligosaccharides were obtained from *Bacillus subtilis* natto and applied in the development of serum-type formulations with concentrations of 1.25, 2.5 and 5.0 g/% fructooligosaccharides. The formulations were evaluated for stability, organoleptic and physicochemical characteristics and antioxidant and moisturizing activity. The formulations had a pH of 6.0, the ideal range for facial cosmetics, and showed an increase in antioxidant activity as the concentration (%) of fructooligosaccharides increased. The formulation with 5.0 g/% fructooligosaccharides achieved 80% inhibition of the DPPH radical and showed 95% moisturizing activity. Therefore, fructooligosaccharides can be applied in cosmetic formulations due to their high antioxidant and moisturizing power, presenting significant potential for the development of sustainable and multifunctional cosmetics.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
1. REVISÃO DE LITERATURA	8
1.1. Os Cosméticos.....	8
2.1.1 Cosméticos sustentáveis	10
1.2. Produção de bioativos por processos fermentativos	11
1.3. Frutooligossacarídeos	12
2. OBJETIVO	14
Objetivos Específicos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1. Microrganismo	14
4.2 Produção de frutooligossacarídeos	14
4.3 Desenvolvimento do cosmético tipo sérum com frutooligossacarídeos	15
4.4 Caracterizações das formulações	16
4.4.1 Ensaios de pré-estabilidade	16
4.4.2 Avaliação da estabilidade preliminar	16
4.4.3 Ensaios organolépticos	17
4.4.4 Ensaios físico-químicos.....	17
4.4.5 Espalhabilidade	17
4.4.6 Atividade hidratante.....	18
4.3.7 Atividade antioxidante	18
4.3.8 Análise estatística	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1 Produção dos frutooligossacarídeos pela levanasacarase	19
5.2 Atividade antioxidante dos frutooligossacarídeos.....	20
5.3 Caracterização das formulações	20
5.4 Ensaios organolépticos	20
5.5 Ensaios Físico-químicos	21
5.6 Espalhabilidade.....	22
5.4 Atividade Hidratante	23
5.7 Atividade antioxidante	23
5. CONCLUSÕES	25

INTRODUÇÃO

Na sociedade atual há um crescente interesse no cuidado pessoal, aumentando a busca da população por cosméticos (Domżał-Kędzia *et al.*, 2019). Entretanto, em alguns casos, o uso desses produtos está relacionado a ocorrência de efeitos indesejáveis nos usuários, devido à presença de substâncias químicas nos cosméticos. Estima-se que dentre os produtos cosméticos atualmente disponíveis, estão presentes cerca de 10.000 substâncias químicas, incluindo parabenos, ftalatos, p-fenilenodiamina, formaldeído, dioxano, triclosan e numerosos metais (Darbre; Harvey, 2014; Ullah *et al.*, 2017).

A presença dessas substâncias químicas em cosméticos está ligada ao seu uso intencional como antioxidantes, conservantes, emolientes, surfactantes, pigmentos, fragrâncias, absorvedores de UV, entre outras funções. Entretanto, além dessas substâncias utilizadas na formulação dos produtos e que geralmente são legalizadas, outras substâncias químicas perigosas, como os metais pesados, de origem acidental também podem estar presentes nesses produtos (Al-Saleh; Al-Enazi; Shinwari, 2009; Harada *et al.*, 2001; Lee; Jeong; Chang, 2008; Soares; Nascentes, 2013; Volpe *et al.*, 2012).

Algumas substâncias químicas usadas em cosméticos são expostas aos humanos por via cutânea, oral e inalatória, e essa exposição pode induzir efeitos adversos para a saúde e a segurança do consumidor, como por exemplo os parabenos, os quais podem interferir no sistema endócrino, afetando consequentemente o sistema nervoso central, o sistema imunológico, a homeostase lipídica, os níveis de glicose e a tireoide (Błędzka; Gromadzińska; Wąsowicz, 2014). Desta forma, as substâncias presentes em cosméticos devem ser seguras para os usuários e apresentando compostos ativos e biocompatíveis (Boyer *et al.*, 2018; Chuberre *et al.*, 2019; Domżał-Kędzia *et al.*, 2019, Dréno *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2021). Considerando a necessidade de utilização de moléculas biodegradáveis como ativos em formulações cosméticas, os pesquisadores têm investido em pesquisas para aplicação de metabólitos não tóxicos (Marin; Briceño; Caballero-George, 2013; Martins; Marto, 2023).

Dentre os ativos biodegradáveis com propriedades adequadas para aplicação na indústria cosmecêutica, encontra-se os polissacarídeos e oligossacarídeos bacterianos, com destaque para os frutooligossacarídeos (Fos). Este ativo, é um

oligomero constituído por unidades de frutose, unidas com ligações β 2,6-glicosídeos podendo ser sintetizado por plantas ou microorganismos diversos (Guerra *et al.*, 2023; Wan *et al.*, 2024; Veerapandian *et al.*, 2020^a). *Bacillus subtilis* natto é um dos microorganismos capazes de sintetizar frutooligossacarídeo, a partir de diversas fontes de sacarose, como xaropes ou melaço de cana de açúcar (De Siqueira; Öner, 2023), o que pode contribuir para a aplicação industrial.

O frutooligossacarídeo de origem bacteriana é produzida pela levanassacarase, uma enzima extracelular, que realiza a hidrólise da sacarose, bem como as reações de transfrutossilacção com a molécula de sacarose formando frutooligossacarídeos (E Silva *et al.*, 2023; Gonçalves; Baldo; Celligoi, 2015; Mardo *et al.*, 2014). Essa enzima se torna importante no campo biotecnológico da produção de Fos, exibindo altos níveis de eficiência (Ragab *et al.*, 2019).

As características físico-químicas, as propriedades dos frutooligossacarídeos e suas aplicações são determinadas pelo microorganismo utilizado bem como as condições de produção, e a concentração da enzima aplicada (Öner; Hernández; Combie, 2016; Tanaka; Oi; Yanamoto, 1980).

Os frutooligossacarídeos apresentam diversas propriedades como biocompatibilidade, bioestabilidade, atividade antioxidante, hidratante, espessante, emulsificante e ação prebiótica levando a melhoria do funcionamento intestinal. Assim apresenta potencial de aplicação em uma ampla gama de setores da indústria (Chen *et al.*, 2023; E Silva *et al.*, 2023; Pawar *et al.*, 2023). Dessa forma, considerando a tendência de mercado pela procura de cosméticos com ativos naturais e as propriedades dos frutooligossacarídeos, este composto vem se mostrando um ativo competitivo a polímeros sintéticos comerciais (E Silva *et al.*, 2023).

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Cosméticos

Produtos datado desde anos antes de Cristo, em regiões como Egito, Grécia e Roma antiga (Oliveira, 2022), os cosméticos são definidos como qualquer produto de higiene ou embelezamento (De Souza *et al.*, 2022), amplamente utilizados no cotidiano humano, possuindo uma gama de aplicações, podendo atuar como hidratante, umectante, antioxidante e bioestimulante.

Ao decorrer da história humana, os cosméticos tiveram diferentes picos de uso na sociedade devido à diferentes culturas que proibiam o consumo, enquanto outras incentivavam. Como exemplo, há relatos no Egito antigo e Grécia antiga sobre a aplicação facial de produtos com pigmentação preta ou avermelhada para proteção do sol ou para o embelezamento para encontros sociais, como os teatros. Já na idade média, o uso de cosméticos decaiu devido a proibições religiosas e só houve o retorno no século XIX com o nascimento da moderna indústria de cosméticos (Oliveira, 2022). Durante a época da revolução industrial, houve um impacto cultural na sociedade, o qual provocou o consumo exagerado de produtos em geral, entre eles o consumo de cosméticos (Golçalves *et al.*, 2022).

O consumo desenfreado de produtos cosméticos contribuiu para a crise ambiental, visto que tanto as embalagens descartáveis como as substâncias presentes nas formulações promoveram impactos ambientais (De Souza *et al.*, 2022). Nesta mesma época, houve também uma preocupação com o bem-estar do consumidor, visto que algumas substâncias que compõe o produto poderiam ser tóxicas ao indivíduo, resultando em reações ao cosmético (Boyer *et al.*, 2018; Chuberre *et al.*, 2019; Da Silva; Mangas; Chagas., 2023; Domżał-Kędzia *et al.*, 2019; Dréno *et al.*, 2019; Furman *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2021; Oliveira, 2022).

Com isso, houve um apelo social por cosméticos sustentáveis, os quais ficaram conhecidos na década de 1970 com o desenvolvimento de produtos a partir de recursos naturais (De Lima *et al.*, 2021; De Souza *et al.*, 2022). Sendo assim, a indústria buscou compostos de origem vegetal e microbiana para ser utilizados como bioativos em formulações cosmeceúticas (Martiny *et al.*, 2021; Martelli *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2022). Entre os indivíduos com potencial de produzir bioativos, os microrganismos se destacam no uso industrial por conta da diversidade sintetizada de ácidos graxos, peptídeos, vitaminas e carboidratos (Ferreira *et al.*, 2022).

Em 2022, o Brasil foi classificado como o quarto país que mais consome cosméticos no mundo, tanto produtos estéticos como produtos de higiene, havendo cerca de 3.300 empresas no país responsável pelo desenvolvimento e produção desses produtos. O Brasil também é considerado o maior produtor de fragrâncias, produtos masculinos e desodorantes (Graciano *et al.*, 2022; Lima; Melo; Aguiar; 2022). Para os produtos de uso tópicos, o país está em oitavo lugar no ranking mundial, atrás do uso de produtos depilatórios (sexto lugar) e o uso de maquiagem (quinto lugar) (Baptista, 2020). Além do comércio de produtos cosméticos, o Brasil contribuiu também para o

desenvolvimento de bioativos de origem microbiana ou vegetal, os quais podem ser aplicados a diferentes formulações (Dahmer *et al.*, 2023; De Castro *et al.*, 2022; Helenas *et al.*, 2022; Rodrigues *et al.*, 2023).

2.1.1 Cosméticos sustentáveis

A sustentabilidade é um conceito definido a partir de três pilares: (1) responsabilidade ambiental; (2) solidariedade social; e (3) eficiência econômica. Sendo assim, para que um produto ou metodologia seja considerado sustentável, é necessário que haja o equilíbrio entre os três fundamentos citados (Martins; Marto, 2023). Atualmente, empresas de diversas áreas estão em busca da sustentabilidade, seja no método abordados para o preparo do produto, como no próprio produto em si. Focando nas indústrias cosmeceúticas, surge a necessidade do desenvolvimento de cosmético sustentável, pela demanda social de produtos menos tóxicos ao meio ambiente e ao consumidor (De Lima *et al.*, 2021; Martins; Marto, 2023).

Os consumidores estão cada vez mais tendenciosos ao uso exclusivo dos cosméticos sustentáveis, visto que, a população busca conhecer as origens e os processos pelo qual o produto foi submetido, como por exemplo se o cosmético passou por teste em animais. Quando analisados as preferências de compras do consumidor, foi observado que mais da metade possui preferência nesses produtos, e que grande parte do grupo estava disposto a pagar mais caro para ter um cosmético de origem natural, sem agressão ao meio ambiente e sem testes em animais (Martins; Marto, 2023; Rocca *et al.*, 2022). O mercado de cosméticos sustentáveis tende a crescer cada vez mais, tendo sido estimado para 2027 um mercado de 50 bilhões de dólares (Suphasomboon; Vassanadumrongdee, 2023).

Dentre os tipos de cosméticos sustentáveis, podemos citar os cosméticos verdes, os quais buscam o uso mínimo de substância sintética, possuindo em sua composição substância orgânicas de origem natural (Martins; Marto, 2023). Em 2021, os pesquisadores Dini e Laneri definiram como produtos verdes todos aqueles que possuíam compostos derivados de plantas como substituinte dos ingredientes sintéticos. Porém, o conceito mais utilizado é relacionado ao uso da “química verde”, a qual se refere a metodologia que reduz o dano ou a toxicidade do produto com a natureza ou o consumidor (Franca; Ueno, 2020).

Além de substâncias provenientes de plantas inteiras ou partes delas como folha, fruto e caule, a obtenção de químicos verdes pode ocorrer a partir de resíduos agroindustriais, como por exemplo borra de café ou as cascas de frutas. Neste caso há o emprego do conceito de economia circular, a qual, resumidamente, se trata de um sistema fechado, onde há o uso do produto todo, não produzindo resíduos (Martins; Marto, 2023; Tioosi; Simon, 2021).

O metabolismo microbiano também é uma fonte de químicos verdes, visto que sintetiza diferentes moléculas que podem atuar como surfactantes, polímeros, antioxidante, antimicrobiano, e entre outras características, sendo rico em substâncias de interesse comercial (Dahmer *et al.*, 2023; De Oliveira Caretta *et al.*, 2023; Ferreira *et al.*, 2022; Karnwal *et al.*, 2023; Nnolim *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2022).

1.2. Produção de bioativos por processos fermentativos

A produção de compostos bioativos a partir de microrganismo apresenta diferentes vantagens, sendo que esses possuem a capacidade de sintetizar moléculas complexas sem a necessidade do uso de substâncias agressivas ao meio ambiente e ao consumidor (Miyazawa *et al.*, 2022). Com isso, alguns microrganismos podem ser considerados como biofábrica, ou seja, são utilizados para a produção de biomoléculas de interesse comercial.

Entre os diferentes microrganismos que podem ser utilizados para a síntese de bioativos, podemos citar o *Bacillus subtilis* natto, o qual foi isolada no ano de 1913, a partir do natto, uma comida típica japonesa com alta popularidade no leste asiático (Chen *et al.*, 2022). Essa bactéria tem sido estudada pelo nosso grupo de pesquisa, tanto para a área de alimentos como cosmética (Bersanetti *et al.* 2018; Silva *et al.* 2020 e 2022).

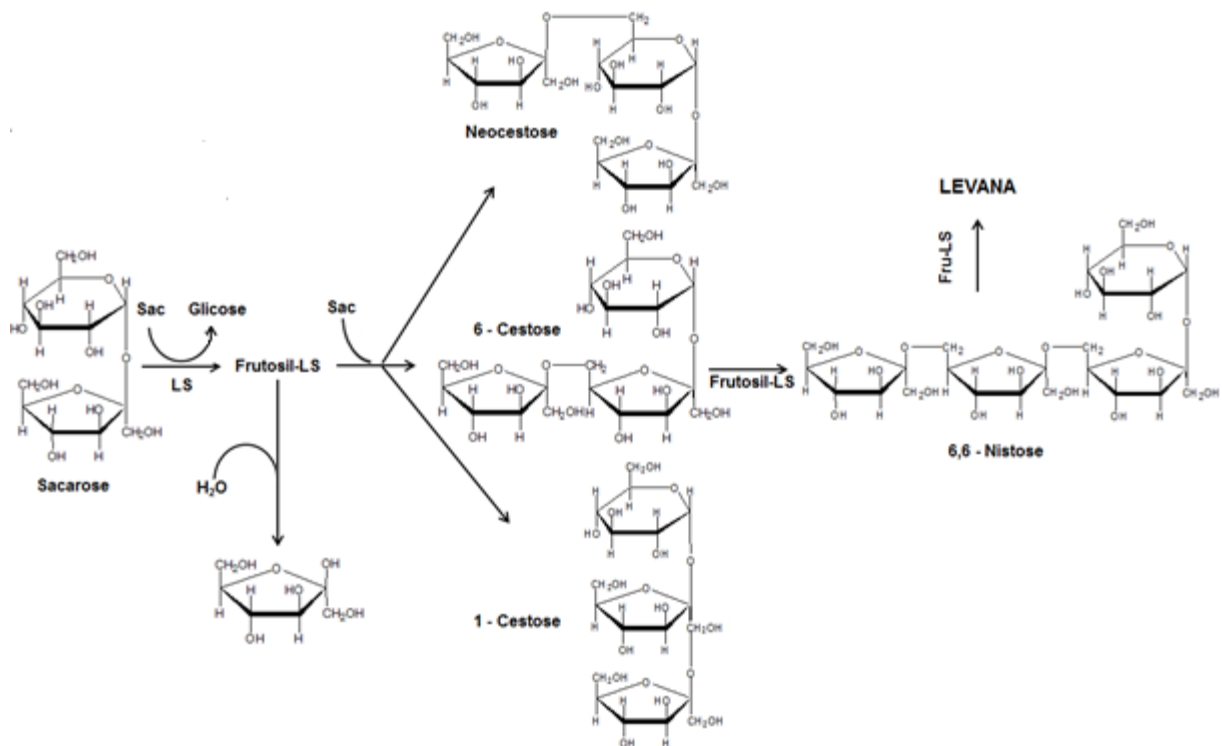
B. subtilis natto é uma bactéria gram-positiva, aeróbica, com o tamanho médio de 2-6 μm (Miyazawa *et al.*, 2022). Esse microrganismo sintetiza alta diversidade de substâncias bioativas, como a nattoquinase, uma protease extracelular com capacidade de prevenir doenças cardiovasculares a partir da atividade fibrinolítica (Li *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2023; Pinontoan *et al.*, 2021); ácido poliglutâmico, o qual pode ser aplicado em diferentes áreas industriais, como a área alimentícia, farmacêutica e cosmética, por conta de sua característica espessante (Dahiya; Chettri; Nigam, 2021; Li *et al.*, 2021; Bersanetti *et al.* 2021) e síntese de vitamina K (Miyazawa *et al.*, 2022).

Este microrganismo também apresenta atividade antimicrobiana, devido a produção de diferentes antibióticos. Entre eles, podem citar o ácido dipicolínico, o qual apresentou atividade contra o microrganismo *Helicobacter pylori* e o fungo *Aspergillus niger*; e o peptídeo AMPNT-6, o qual apresentou inibição de crescimento do microrganismo *Vibrio parahaemolyticus*. Apesar de não descrito as bactericinas responsável, o *B. subtilis* natto também apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Zhang *et al.*, 2020). Outra característica desta bactéria é a atividade antioxidante, proveniente da síntese de diferentes moléculas, como o frutooligossacarídeo.

1.3. Frutooligossacarídeos

Os frutooligossacarídeos são oligômeros de frutose, com ligação β -2,6 glicosídica (Figura 1) (Domżał-Kędzia *et al.*, 2023; Sahyoun *et al.*, 2024). A síntese desta biomolécula pode ocorrer de duas maneiras, direto pelo microrganismo ou pela síntese enzimática de transfrutossilacção a partir da enzima β -frutofuranosidases, onde a enzima quebra as moléculas de sacarose e transfere a frutose para uma molécula receptora, formando assim a estrutura dos frutooligossacarídeos (E Silva *et al.*, 2023). Outra forma de obtenção desse frutano ocorre pela enzima levanasacarase, a qual catalisa a ligação entre as moléculas de frutose disponíveis, formando os diferentes frutooligossacarídeos como cestoses, neocetose e nistose (Figura 1) (De Siqueira; Öner, 2023; Domżał-Kędzia *et al.*, 2023). A enzima levanasacarase é sintetizada no citoplasma celular e em seguida é secretada no meio extracelular onde está em seu estado nativo, podendo então, hidrolisar a sacarose (Ávila-Fernández *et al.*, 2023; Domżał-Kędzia *et al.*, 2023)

Figura 1 – Reações para formação de frutooligossacarídeos e levana e de *B. subtilis* natto em meio de sacarose.



Os frutooligossacarídeos possuem alto potencial na indústria alimentícia como prebiótico, visto que apresenta diversos benefícios para a saúde do consumidor, como a melhoria e o aumento da microbiota intestinal. A atuação deste frutano como prebiótico alimentar se assemelha ao consumo de fibras, visto que essa biomolécula é decomposta apenas pelos microrganismos da biota intestinal (Silva *et al.*, 2023). Em 2023, Pawar e colaboradores estudaram os efeitos dos frutooligossacarídeos em conjunto com o *B. subtilis* na alimentação de peixes, para melhorar a saúde dos animais de aquicultura. No estudo citado, foi observado que a associação do prebiótico e o probiótico resultou um aumento na resposta imunológica dos organismos analisados (Pawar *et al.*, 2023). Além deste, outros estudos foram realizados para compreender as propriedades dos frutooligossacarídeos na alimentação de diversos organismos (Liu *et al.*, 2023; Okuda *et al.*, 2023). Além de proporcionar benefício à saúde do consumidor, a adição deste bioativo em alimentos interfere também nas características reológicas do produto, apresentando impactos positivos na textura de alimentos lácteos (Pawar *et al.*, 2023). A atividade antioxidante dos frutooligossacarídeos já foi descrita na literatura, o qual já contribuiu para a diminuição do estresse oxidativo derivado da gestação em camundongos (Okuda *et al.*, 2023).

Devido as propriedades dos frutooligossacarídeos e a busca por moléculas atóxicas e multifuncionais, este trabalho vem desenvolver um cosmético multifuncional do tipo sérum facial com frutooligossacarídeos de *B. subtilis*.

2. OBJETIVO

Produzir e aplicar frutooligossacarídeos de *Bacillus subtilis* natto em uma formulação cosmética.

Objetivos Específicos

- Produzir frutooligossacarídeos pela enzima levansacarase de *B. subtilis* natto;
- Separar e aplicar em formulações cosméticas tipo sérum variando a concentração do frutooligossacarídeo;
- Avaliar a estabilidade das formulações;
- Analisar aspectos organolépticos, físico-químicos, espalhabilidade das formulações;
- Determinar a atividade hidratante e antioxidante das formulações com diferentes concentrações de frutooligossacarídeo;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Microrganismo

O microrganismo utilizado para a produção de frutooligossacarídeos foi o *Bacillus subtilis* natto. Este foi isolado no Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina – PR e identificado pela Fundação André Tosello Pesquisa e Tecnologia - Campinas SP. A cepa foi criopreservada a -80 °C com glicerol. Para a manutenção foi transferida para o meio contendo (g/L): peptona 50, extrato de carne 30 e ágar 20, 37 °C, por 48 h e mantido a 4 °C em câmara refrigerada. O repique das células foi realizado a cada quarenta e cinco dias.

4.2 Produção de frutooligossacarídeos

Para a produção de frutooligossacarídeo, inicialmente foi produzida a levansacarase pela fermentação com o *B. subtilis* natto, onde esse foi cultivado em meio em g.L⁻¹: 400,0 sacarose; 2,0 de extrato de levedura; 1,0 KH₂SO₄; 3,0 de

(NH₄)₂SO₄; 0,6 de MgSO₄; 0,2 de MnSO₄ e 0,25 de (NH₄)₂HC₆H₅O₇ com agitação de 150 rpm, 24 h à 37 °C e com 0,2g/L de células (Bersaneti *et al.*, 2018). A fermentação foi interrompida por centrifugação a 6.000 rpm por 15 min a 4°C e o sobrenadante bruto foi utilizado como fonte de levanasacarase.

A síntese dos frutooligossacarídeos foi realizada de acordo com Bersaneti *et al.* 2016, com modificações. A produção foi realizada em frascos Erlenmeyer de 1 L contendo 200 mL de solução de sacarose 350 g.L⁻¹ em tampão de citrato (0,1 M), 50 mL do sobrenadante (fonte de levanasacarase) a pH 6,0 e, agitação de 150 rpm, 35 °C por 36h.

Após a reação de síntese, a primeira precipitação foi para separar a levana de alto peso molecular, seguindo a metodologia de Porras-Domingues *et al.*, 2015 onde foi utilizado etanol absoluto a 1:1,5, repouso por 12 horas. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi novamente precipitado com etanol absoluto a 1:3 (1 sobrenadante: 3 etanol), obtendo assim os frutooligossacarídeo. O precipitado foi centrifugado a 4.500 rpm durante 15 minutos a 4°C, liofilizado e avaliado quanto à atividade antioxidante e utilizado para o desenvolvimento do cosmético. O sobrenadante foi utilizado para avaliar os açúcares redutores pelo método de Somogy-Nelson (1945) para acompanhar a quebra da sacarose pela levanasacarase.

A partir dos resultados da atividade antioxidante foi definida a concentração próxima a 50% de inibição do radical livre para o desenvolvimento das formulações do cosmético.

4.3 Desenvolvimento do cosmético tipo sérum com frutooligossacarídeos

O desenvolvimento da formulação cosmética do tipo sérum com frutooligossacarídeos foi realizado em 6 fases em um béquer. Inicialmente foi adicionada a água destilada e o agente espessante Aristoflex, homogeneizados até a completa dissolução, e em seguida foi acrescentado o frutooligossacarídeos, o qual foi misturado até se encontrar totalmente dissolvida. Após esse processo, foi incluído lentamente o conservante neolone e em seguida acrescentado a glicerina e o silicone volátil e para finalizar foi incluída a essência de morango champanhe, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 –Componentes das formulações FB, F1, F2, F3 do s rum tipo gel com 0,0; 1,25; 2,5; 5,0 g/%, respectivamente, de frutooligossacar deos de *B. subtilis* natto

Fase	Componentes	INCI Name	FB	F1	F2	F3
1	�gua Destilada (ml)	Water (ml)	97,2	95,7	94,5	92
1	Copolímero de acriloidimetiltaurato de am�nio/VP (g)	Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer (g)	0,6	1,2	1,2	1,2
2	Frutooligossacarídeos (g)	Fructooligosaccharides (g)	-	1,25	2,5	5,0
3	Metilisotiazolinona (e) Fenoxietanol (mL)	Methylisothiazolinone (and) Phenoxyethanol (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2
4	Glicerina (mL)	Glycerin (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
5	Silicone Volátil (mL)	Ciclomethicone (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
6	Morango champanhe (mL)	Champagne strawberry (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2

4.4 Caracteriza es das formula es

4.4.1 Ensaio de pr -estabilidade

Cinco (5) mL de cada formula o foram colocados em tubos de ensaios, c nico e foram centrifugadas a 2.800 rpm durante 30 minutos   temperatura ambiente, para detectar vis veis modifica es ou instabilidades como separa o de fases. A observa o ocorreu em dois momentos: an lise macrosc pica ap s 24 horas em repouso e ap s o teste de centrifuga o.

4.4.2 Avalia o da estabilidade preliminar

A avalia o da estabilidade preliminar foi realizada na fase inicial do desenvolvimento do produto e durante quinze dias, onde as amostras passaram por condi es de estresse visando acelerar o surgimento de poss veis sinais de instabilidade. Elas foram submetidas a aquecimento em estufas e resfriamento em refrigeradores, em ciclos alternados de resfriamento e aquecimento. Os ciclos ser o de 24 horas a 40 ± 2  C e umidade relativa (UR) $75 \pm 5\%$ e 24 horas a 24 ± 2  C, durante 15 dias (ANVISA, 2004).

4.4.3 Ensaio organolépticos

Foram avaliadas as características das formulações: aspecto, cor e odor. Com relação ao aspecto, as amostras foram acondicionadas em vidro relógio e colocadas sobre fundo escuro. Foi observado visualmente se as amostras em estudo mantiveram as características macroscópicas sem alterações do tipo separação de fases, precipitação e turvação.

A análise de cor das formulações foi realizada por colorimetria, pela observação visual. A análise visual da cor das amostras foi realizada com 1g das amostras acondicionadas em vidro relógio, colocada sobre fundo escuro. Em seguida foram fotografadas e seus resultados comparados. As amostras foram classificadas pela cor como: normal, sem alteração; levemente modificado; modificado e intensamente modificado.

O odor das amostras foi comparado com o odor da formulação base, sem o ativo, diretamente através do olfato do pesquisador. A amostra foi classificada como normal, sem alteração; levemente modificada; modificada e intensamente modificada.

4.4.4 Ensaio físico-químicos

A determinação de pH de cada formulação foi realizada utilizando-se potenciômetro digital na temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), calibrado com solução tampão (pH 4,0 e 7,0). O eletrodo foi inserido diretamente na amostra.

A densidade foi avaliada utilizando-se picnômetro de vidro, com capacidade de 10 mL em temperatura ambiente. A relação entre a massa da amostra e a massa da água representa a densidade específica da amostra ensaiada. Para o cálculo foi utilizado a equação 1:

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \text{ (Eq. 1)}$$

4.4.5 Espalhabilidade

A avaliação da espalhabilidade consistiu em utilizar placas de vidro sob papel milimetrado para determinar a superfície que 1 g da amostra abrange através da medição dos diâmetros perpendiculares e cálculo do diâmetro médio, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (Borghetti; Knorst, 2006). Este método é repetido utilizando pesos pré-

determinados (2, 5 e 10 g) em intervalos de um minuto. Os cálculos seguiram a equação 2:

$$Ei = \frac{[(d2) \cdot \pi]}{4} \text{ (Eq.2)}$$

Onde Ei (mm^2) é a espalhabilidade da amostra para peso e d é o diâmetro médio (mm) alcançado pela amostra após a sobreposição de cada placa. Os valores da espalhabilidade em função dos pesos adicionados foram determinados em triplicata, calculando-se a média.

4.4.6 Atividade hidratante

A avaliação retenção de umidade foi de acordo com Zhang *et al.* (2012) e Zhao *et al.* (2013), onde 1 g das formulações com 1 mL de água foram adicionados em cadinhos previamente tarados e mantidos durante 96 horas à temperatura ambiente em um dessecador de umidade selado com uma solução saturada de K_2CO_3 (43% de umidade relativa (HR)). A capacidade de retenção de umidade foi avaliada pela porcentagem de água residual nas amostras. Os cálculos seguiram a Equação (3):

$$Ru (\%) = Pt/P0 \times 100 \text{ (Eq.3)}$$

Onde: Ru: Capacidade de retenção de umidade; Pt: peso da água após 96 h; e P0: peso da água destilada adicionada as amostras.

4.3.7 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos frutooligossacarídeos e das formulações cosméticas foram determinadas pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), conforme descrito por Srikanth *et al.* (2015). As amostras foram preparadas em cinco concentrações em mg/mL: 100; 50; 25, 12,5 e 6,25 em água destilada (Gerhäuser *et al.*, 2003) e 1 mL de cada concentração foi avaliada no teste de DPPH. Um (1) g das quatro formulações foram diluídas 1:10 em água destilada. Para as análises 1 mL de frutooligossacarídeos ou 1 mL dos diluídos foram adicionados 0.3 mL da solução de DPPH, incubados em ambiente escuro, por 30 min em temperatura ambiente. Após isso, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a $\lambda = 517$ nm. Para o branco, foi

utilizado 1mL de cada amostra sem o DPPH. Para o controle de DPPH foi utilizado apenas a 1 mL água destilada e 0.3 mL de DPPH. A taxa de inibição (%) do radical livre foi calculada conforme a equação 4 abaixo:

$$\% \text{ inibição} = ((\text{Abs. do controle} - \text{Abs. da amostra}) / \text{Abs. do controle}) \times 100. \text{ (Eq.4)}$$

4.3.8 Análise estatística

As atividade antioxidante e hidratante foram avaliadas pela análise estatística de variância One-Way ANOVA e as diferenças individuais entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram efetuadas no software (GraphPad, EUA). O nível de significância foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produção dos frutooligossacarídeos pela levanasacarase

A produção de frutooligossacarídeos foi de $54,18 \text{ g.L}^{-1}$ com uma conversão de 82% da sacarose inicial. A concentração de sacarose no meio interfere diretamente a síntese dos Fos, visto que é o principal substrato para a obtenção de frutose e sua concentração é proporcional a produção (Sahyoun *et al.*, 2024).

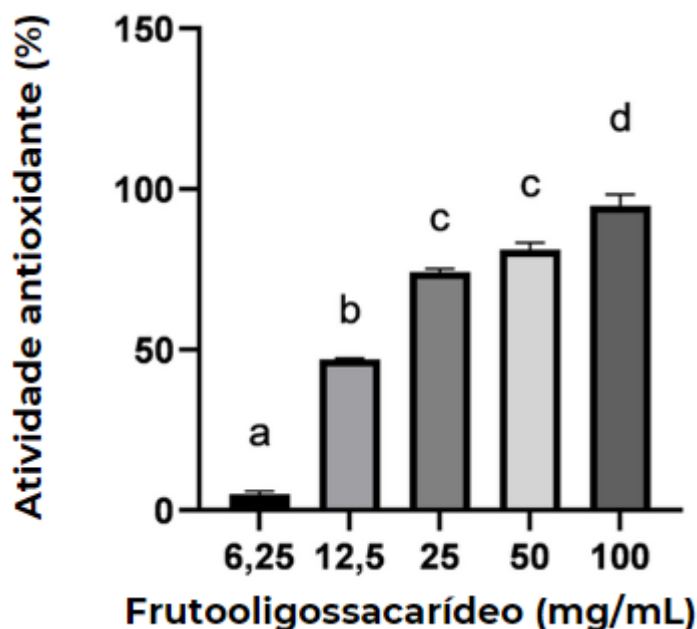
Na literatura encontra-se pesquisas para a otimização de produção de frutooligossacarídeo, onde foi analisada a concentração ideal de sacarose para a produção de Fos, e foi observado que há diferença em relação ao microrganismo utilizado variando a quantidade de sacarose de 150 g.L^{-1} até 350 g.L^{-1} (Nasir *et al.*, 2020). Em estudos anteriores do grupo de pesquisa segundo Bersaneti *et al.* 2018, a produção de frutooligossacarídeos foi de $41,3 \text{ g.L}^{-1}$ usando meio contendo 350 g.L^{-1} de sacarose a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 36h. A síntese enzimática de levana resultou em $86,9 \text{ g.L}^{-1}$ quando condições semelhantes às foram aplicados aqueles utilizados para síntese de frutooligossacarídeos. Esses resultados indicam que levanasacarase de *B. subtilis* natto poderia ser aplicada para a coprodução de frutooligossacarídeos e levana, que são biomoléculas que trazem benefícios à saúde e são usadas com sucesso na indústria alimentícia e pode ser utilizada na indústria cosmética.

5.2 Atividade antioxidante dos frutooligossacarídeos

Os resultados da atividade antioxidante de frutooligossacarídeos é apresentada na Figura 2, onde é possível observar que a atividade antioxidante aumenta conforme a concentração do ativo (mg/%) ($p < 0,05$). Devido à essa atividade, os frutooligossacarídeos apresentam grande potencial como bioativo em formulações cosmeceúticas.

Diante dos resultados apresentados, as formulações do cosmético foram desenvolvidas a partir das concentrações de frutooligossacarídeo que apresentaram atividade antioxidante próximo a 50% de inibição do radical.

Figura 2 - Atividade antioxidante de frutooligossacarídeos produzidos pela enzima levanasacarase de *Bacillus subtilis* natto



5.3 Caracterização das formulações

Foram realizados os testes de pré-estabilidade e estabilidade preliminar e as formulações não apresentaram alterações visíveis ou separação de fase, mantendo-se estáveis durante a realização do estudo. Após a avaliação da pré estabilidade e estabilidade preliminar as formulações foram caracterizadas e avaliadas pelos testes seguintes.

5.4 Ensaios organolépticos

As formulações com os frutooligossacarídeos foram comparadas a formulação base antes e após a estabilidade preliminar: a F1 e a F2 não apresentaram

precipitação e separação de fases, odor característica da essência e cor levemente translúcida. A F3 apresentou o odor com menor intensidade da essência, podendo estar relacionada ao aumento da concentração do frutooligossacarídeo, a cor estava mais opaca e não foi observada precipitação e separação de fases.

Após o teste de estabilidade preliminar, onde as formulações foram submetidas a condições de estresse por 15 dias, não foram observadas alterações organolépticas nas formulações em comparação ao tempo zero.

5.5 Ensaios Físico-químicos

Antes da estabilidade preliminar a formulação base apresentou pH 5,0 e as formulações F1 e F2 5,5 e a F3 aumentou para 6,5 pela alta concentração de frutooligossacarídeo. Após a estabilidade preliminar, todas as formulações apresentaram pH 6,0. Sendo assim, todas as formulações apresentaram pH dentro da faixa ideal para o rosto (4,5 – 6,5) (Ainurofiq *et al.*, 2023). A pele é composta por diferentes microrganismos, como bactérias, fungos e vírus, os quais auxiliam na manutenção da saúde deste órgão, e para isso, necessitam de ambientes favoráveis para a sua proliferação (Carvalho *et al.*, 2023). O pH é um dos fatores os quais podem interferir na homeostase da pele, e caso tenha algum tipo de desequilíbrio desse fator, pode ocorrer o favorecimento da proliferação de microrganismos patogênicos (Carvalho *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2023). Além disso, quando a pele apresenta acidose, ou seja, baixo pH, ocorre a irritação do órgão, em contrapartida a alcalose resulta no ressecamento da pele (Ainurofiq *et al.*, 2023). Os produtos cosméticos devem ter um pH próprio com a região de aplicação.

Em relação a densidade das formulações, foram observados valores próximos a 1,0 (Tabela 2). As formulações FB, F1, F2 e F3 são compostas por 98%, 96%, 95% e 92% de água, respectivamente, o que faz com que a densidade das formulações se aproxime ao valor de densidade da água. Pode-se observar também que existe a tendência do aumento da densidade associada com o aumento da concentração de FOS.

Tabela 2 – Densidade das formulações antes e após a análise de estabilidade preliminar

Formulações	Densidade	Densidade
	pré-estabilidade	Pós-estabilidade
FB	0,9991 ± 0,00	0,9898 ± 0,00
F1	1,0392 ± 0,01	1,0172 ± 0,00
F2	1,0275 ± 0,00	1,0133 ± 0,00
F3	1,0368 ± 0,00	1,0258 ± 0,00

5.6 Espalhabilidade

Em relação a espalhabilidade das formulações, foi observado que quando maior a concentração do bioativo, maior a foi a espalhabilidade do produto (Figuras 3 e 4). Após a realização do teste de estabilidade preliminar, foi observado que houve uma diminuição na espalhabilidade geral do sérum, porém, a formulação com maior concentração de Fos (F3), ainda apresentou alta espalhabilidade (Figura 4). Considerando que o sérum facial é um biocosmético de uso tópico, a capacidade de espalhabilidade está associada com a aceitação pelo consumidor, já que está relacionada à facilidade de aplicação do produto (De Pina Santos *et al.*, 2023; Shirata; Campos, 2016).

Figura 3 - Espalhabilidade ($E_i = \text{mm}^2$) do cosmético tempo inicial. FB – 0,0; F1 – 1,25; F2 - 2,5; F3 5,0 g/% de frutooligossacarídeos de *Bacillus subtilis* natto.

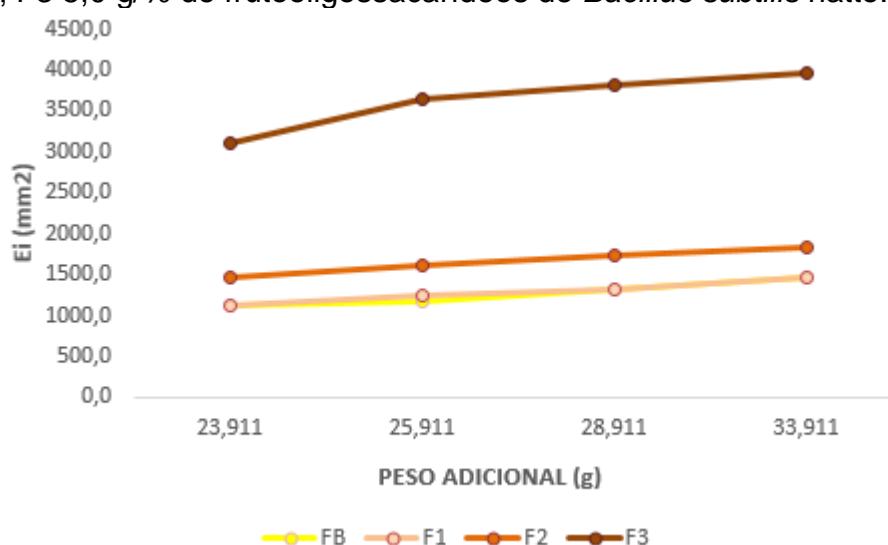
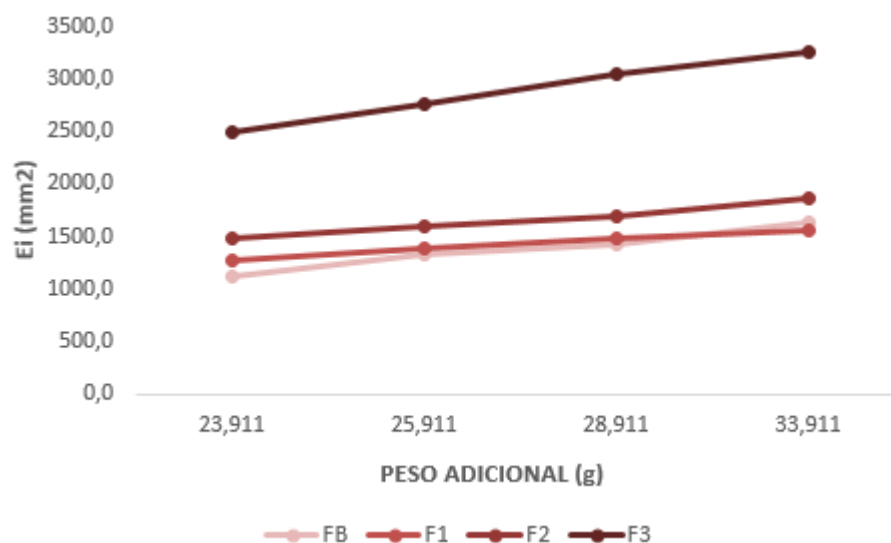


Figura 4 – Espalhabilidade ($E_i = \text{mm}^2$) do cosmético após 15 dias. FB – 0,0; F1 – 1,25; F2 - 2,5; F3 5,0 g/% de frutooligossacarídeos de *Bacillus subtilis* natto.



5.4 Atividade Hidratante

A atividade hidratante verificada pela capacidade de retenção de umidade das formulações foi de 94,4%, 94,6% e 95% para as formulações FB, F1 e F3, respectivamente, a F2 foi retirada por perda de dados. Pode ser observado que a formulação com maior concentração de frutooligossacarídeos (F3) apresentou maior valor de retenção de umidade ($p < 0,05$). Na literatura, foi relatado que o frutooligossacarídeos apresenta a capacidade de retenção de umidade, visto que o Fos é uma molécula higroscópica (Khereda *et al.*, 2021; Sudha *et al.*, 2022). A retenção de umidade em cosmético permite uma pele mais hidratada, pois evita a perda de água do local onde foi aplicado o biocosmético (Zhang *et al.*, 2022).

5.7 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do sêrum facial foi proporcional ao aumento da concentração de frutooligossacarídeos presente na formulação. Pelos dados estatísticos ($p < 0,5$), a atividade antioxidante foi crescente com a adição do ativo no cosmético, chegando a valores três vezes maiores quando comparada à formulação base (Figura 6). A capacidade antioxidante dos frutooligossacarídeos é caracterizada, principalmente, pela cadeia estrutural do Fos que apresenta altas quantidades de extremidades redutoras, as quais permite a redução de compostos oxidantes (Sahyoun *et al.*, 2024).

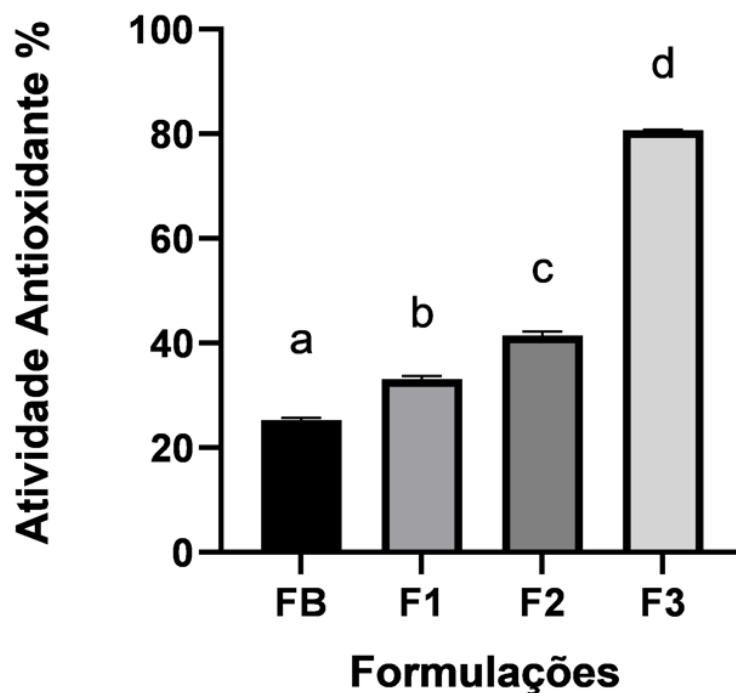
Em estudos anteriores do grupo de pesquisa também houve o desenvolvimento de produtos cosméticos com propriedades antioxidante como por exemplo, Silva *et al.*

(2022), desenvolveu um biocosmético facial contendo o polissacarídeo de frutose derivado de *B. subtilis* natto, levana, e obtiveram um produto com máxima atividade antioxidante de 72%. Outro estudo, também com a presença de levana nas formulações e com associação de compostos vegetais, desenvolveu um cosmético multifuncional facial resultando em uma atividade antioxidante máxima de 76% (Helenas *et al.*, 2023). Observa-se que o presente estudo apresentou um biocosmético facial com maior atividade antioxidante (80%), além disso, a partir de pesquisas anteriores, sabe-se que o frutooligossacarídeo não apresenta citototoxicidade nas concentrações utilizada nesta pesquisa (Magri *et al.*, 2020).

A atividade antioxidante atua na eliminação de espécies reativas de oxigênio, também conhecidas como ROS, as quais podem causar estresses oxidativo em determinadas regiões. ROS são radicais livres derivados do metabolismo celular, que atuam como anti-inflamatório, antibacteriano e regulador natural do organismo, porém quando em quantidades excessivas ou liberação de forma exógena, como poluição ambiental, fumaças e raios ultravioletas, esses compostos podem trazer malefícios para o ser humano como doenças pulmonares e câncer, visto que reagem facilmente com proteínas, lipídeos e DNA (Hertadi; Amari; Ratnaningsih 2020; Martelli; Giacomini, 2018).

Os compostos antioxidantes são produzidos naturalmente pelos organismos, para que ocorra a eliminação dos radicais livres, porém essa produção é decaída de acordo com a idade, sendo necessário o uso de antioxidantes exógenos (Hertadi; Amari; Ratnaningsih 2020). Quando focado na saúde da pele e os efeitos dos radicais livres no órgão, observamos a alteração dos fibroblastos, o qual contribui para o enfraquecimento da camada de colágeno, a deterioração do mesênquima extracelular e o aumento anormal da melanina, que juntamente provocam manchas na pele, rugas e ressecamento (Chen *et al.*, 2024). Sendo assim, o uso de biocosmético que possui atividade antioxidante contribuí para uma pele hidratada, firme e sem manchas.

Figura 6 – Atividade antioxidante das formulações desenvolvidas; Base – 0,0 g/% ; F1 –com 1,25 g/%; F2 –com 2,5 g/% e F3 –com 5,0 g/% de Frutooligossacarídeos do *Bacillus subtilis* natto.



5. CONCLUSÕES

A partir deste estudo, constatou-se que o frutooligossacarídeos podem ser sintetizados pela levanasacarase de *B. subtilis* natto, podendo apresentar um potencial significativo como componente bioativo, em formulações cosmecêuticas, devido às suas propriedades hidratantes e antioxidante. A adição de frutooligossacarídeos nas formulações resultou no aumento da atividade antioxidante do produto, chegando a triplicar o seu valor o que garante um produto com característica antienvhecimento.

Os frutooligossacarídeos revelam possibilidade de aplicação sustentável na indústria, devido à sua origem microbiana e produzido a partir da sacarose, um substrato sustentável, o qual contribuiu para métodos não poluentes, atóxicos e inovadores, aliando-se às buscas por alternativas sustentáveis.

REFERÊNCIAS

Ainurofiq, A.; Haya, A.F.F.D.; Safitri, A.N.; Solihatin, I.Z.; Nusriya, S.B.; Nugroho, T.S. Characterization and application of moisturizer in skin treatment: A review: Moisturizer in Skin Treatment. **Journal of Pakistan Association of Dermatologists**, v. 33, n. 4, p. 1602-1613, 2023.

Al-Saleh, I.; Al-Enazi, S.; Shinwari, N. Assessment of lead in cosmetic products. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 54, n. 2, p. 105-113, 2009.

Aramsangtienchai, P.; Raksachue, W.; Pechroj, S.; Srisook, K. The immunomodulatory activity of levan in RAW264.7 macrophage varies with its molecular weights. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102721, 2023.

Ávila-Fernández, Á.; Montiel, S.; Rodríguez-Alegría, M.E.; Caspeta, L.; Munguía, A.L. Simultaneous enzyme production, Levan-type FOS synthesis and sugar by-products elimination using a recombinant *Pichia pastoris* strain expressing a levansucrase-endolevanase fusion enzyme. **Microbial Cell Factories**, v. 22, n. 1, p. 1-12, 2023.

Baptista, A.H.A. Consumer Behavior In Relation To Cosmetics. **South American Development Society Journal**, v. 6, n. 17, p. 426, set. 2020. ISSN 2446-5763.

Bersaneti, G.T.; Pan, N.C.; Baldo, C.; Celligoi, M.A.P.C. Co-production of Fructooligosaccharides and Levan by Levansucrase from *Bacillus subtilis* natto with Potential Application in the Food Industry. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 184, p. 838-851, 2018.

Bersaneti, G.T.; Mantovan, J.; Magri, A.; Mali, S.; Celligoi, M.A.P.C. Edible films based on cassava starch and fructooligosaccharides produced by *Bacillus subtilis* natto CCT 7712. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 1132-1138, 2016.

Błędzka, D.; Gromadzińska, J.; Wąsowicz, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment international**, v. 67, p. 27-42, 2014.

Boyer, I.; Burnett, C.L.; Bergfeld, W.F.; Belsito, D.V.; Hill, R.A.; Klaassen, C.D.; Liebler, D.C.; Marks, J.G.J.; Shank, R.C.; Slaga, T.J.; Snyder, P.W.; Gill, L.J.; Heldreth, B. Safety Assessment of PEGs Cocamine and Related Ingredients as Used in Cosmetics. **International Journal of Toxicology**, v. 37, n. 2_suppl, p. 10S-60S, 2018.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2004.

Carvalho, M.J.; Oliveira, A.L.S.; Pedrosa, S.S.; Pintado, M.; Pinto-Ribeiro, I.; Madureira, A.R. Skin microbiota and the cosmetic industry. **Microbial Ecology**, v. 86, n. 1, p. 86-96, 2023.

Chen, H.; Wu, Y.; Wang, B.; Kui, M.; Xu, J.; Ma, H.; Li, J.; Zeng, J.; Gao, W.; Chen, K. Skin healthcare protection with antioxidant and anti-melanogenesis activity of

polysaccharide purification from *Bletilla striata*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 262, p. 130016, 2024.

Chen, X.; Lu, Y.; Zhao, A.; Wu, Y.; Zhang, Y.; Yang, X. Quantitative analyses for several nutrients and volatile components during fermentation of soybean by *Bacillus subtilis* natto. **Food Chemistry**, v. 374, p. 131725, 2022.

Chen, W.; Tan, D.; Yang, Z.; Tang, J.; Bai, W.; Tian, L. Fermentation patterns of prebiotics fructooligosaccharides-SCFA esters inoculated with fecal microbiota from ulcerative colitis patients. **Food and Chemical Toxicology**, v. 180, p. 114009, 2023.

Chuberre, B.; Araviiskaia, E.; Bieber, T.; Barbaud, A. Mineral oils and waxes in cosmetics: an overview mainly based on the current European regulations and the safety profile of these compounds. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. S7, p. 5–14, 2019.

Dahiya, D.; Chettri, R.; Nigam, P.S. Biosynthesis of polyglutamic acid (γ -PGA), a biodegradable and economical polyamide biopolymer for industrial applications. **Microbial and Natural Macromolecules**, p. 681-688, 2021.

Dahmer, D.; Scandorieiro, S.; Bigotto, B.G.; Bergamini, T.A.; Germiniani-Cardozo, J.; Costa, I.M.; Kobayashi, R.K.T.; Nakazato, G.; Borsato, D.; Prudencio, S.H.; Daltoé, M.L.M.; Celligoi, M.A.P.C.; Lonni, A.A.S.G. Multifunctional Biotechnological Lip Moisturizer for Lip Repair and Hydration: Development, *In Vivo* Efficacy Assessment and Sensory Analysis. **Cosmetics**, v. 10, n. 6, p. 166, 2023.

Da Silva, J.G.; Mangas, M.B.P.; Chagas, F.W.M. Determinação de Contaminantes Emergentes em Amostras de Água no Brasil por Técnicas Voltamétricas: Revisão da Literatura. **Revista Virtual de Química**, v. 15, n. 1, 2023.

Darbre, P.D.; Harvey, P.W. Parabens can enable hallmarks and characteristics of cancer in human breast epithelial cells: a review of the literature with reference to new exposure data and regulatory status: Parabens and breast cancer. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 9, p. 925–938, 2014.

De Castro, M.A.; Soares, I.L.; Nascimento, P.G.G.; Magalhães, K.N.; Nojosa, R.T.; Fonseca, S.G.C.; Balogun, S.O.; Anne, M. Phytochemical standardization of *Eucalyptus tereticornis* Smith (Myrtaceae) used in Green Pharmacy from Northeastern Brazil. **Revista de Fitoterapia**, v. 36, p. 100590, 2022.

De Lima, L.R.; Costa, J.R.L.; Bena, M.G.P.; Gomes, M.T.H.C.A.B.; Sousa, J.A.B.; Bacelar, S.N.A.; Paz, B.K.B.; Mascarenhas, M.T.M. Cosméticos orgânicos: uma tendência crescente no mercado. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 4322-4331, 2021.

De Oliveira Caretta, T.; Baldo, C.; Silveira, V.A.I.; Hipólito, A.; Costa, N.J.A.; Mali, S.; Celligoi, M.A.P.C. Synthesis of novel antimicrobial bioactive films for strawberry coating based on sophorolipids and fructooligosaccharides-modified starch. **Polymer Bulletin**, v. 1, p. 1-19, 2023.

De Pina Santos, J.C.; Yonemura, C.H.; Munhoz, I.; Tescarollo, I.L. Aproveitamento Das Sementes De Goiaba Na Produção De Cosméticos Esfoliantes. **Ensaio USF**, v. 7, n. 2, 2023.

De Siqueira, E.C.; Öner, E.T. Co-production of levan with other high-value bioproducts: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 235, p. 123800, 2023.

De Souza, D.L.; Oliveira, A.; Pereira, M.J.; Villar, Y.; De Souza, T.A. O Que Leva O Consumidor Adolescente A Optar Por Um Cosmético Sustentável?. In: **14^o JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DO IFSULDEMINAS**, v. 14, n. 1, 2022.

Dini, I.; Laneri, S. The new challenge of green cosmetics: Natural food ingredients for cosmetic formulations. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3921, 2021.

Dréno, B.; Alexis, A.; Chuberre, B.; Marinovich, M. Safety of titanium dioxide nanoparticles in cosmetics. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. S7, p. 34–46, 2019.

Domżał-Kędzia, M.; Lewińska, A.; Jaromin, A.; Weselski, M.; Pluskota, R.; Łukaszewicz, M. Fermentation parameters and conditions affecting levan production and its potential applications in cosmetics. **Bioorganic Chemistry**, v. 93, p. 102787, 2019.

Domżał-Kędzia, M.; Ostrowska, M.; Lewińska, A.; Łukaszewicz, M. Recent developments and applications of microbial levan, a versatile polysaccharide-based biopolymer. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5407, 2023.

E Silva, P.I.S.; Oriente, S.F.; Ramos, N.J.S.; Gusmão, T.A.S.; Gusmão, R.P. Fructooligosaccharide and application in dairy products: a literature review. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 5, p. e13812541582-e13812541582, 2023.

Franca, C.C.V.; Ueno, H.M. Green cosmetics: perspectives and challenges in the context of green chemistry. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 53, p. 133-150, 2020.

Furman, A.C.; Veit, M.T.; Palácio, S.M.; Gonçalves, G.C.; Barbieri, J.C.Z. Sustainability in the production process of the cosmetic industry: a literature review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e586111335852-e586111335852, 2022.

Gonçalves, B. C. M.; Baldo, C.; Celligoi, M. A. P. C. Levan and levansucrase-a mini review. **International Journal of Scientific and Technology Research**, v. 4, n.6, p. 100–104, 2015.

Gonçalves, J.; Santos, A.R.; Kieling, A.P.; Tezza, R. The influence of environmental engagement in the decision to purchase sustainable cosmetics: An analysis using the Theory of Planned Behavior. **Revista de Administração da UFSM**, v. 15, p. 541-562, 2022.

Graciano, P.; Gularte, A.C.; Lermen, F.H.; Barcellos, M.D. Consumer values in the Brazilian market for ethical cosmetics. **International Journal of Retail & Distribution Management**, v. 50, n. 4, p. 458-478, 2022.

Guerra, L.; Ureta, M.; Romanini, D.; Voitovich, N.; Gómez-Zavaglia, A.; Clementz, A. Enzymatic synthesis of fructooligosaccharides: From carrot discards to prebiotic juice. **Food Research International**, v. 170, p. 112991, 2023.

Harada, M.; Nakachi, S.; Tasaka, K.; Sakashita, S.; Muta, K.; Yanagida, K.; Doi, R.; Kizaki, T.; Ohno, H. Wide use of skin-lightening soap may cause mercury poisoning in Kenya. **Science of The Total Environment**, v. 269, n. 1–3, p. 183–187, 2001.

Helenas, J.K.; Bersaneti, G.T.; Silva, R.T.; Bigotto, B.G.; Lonni, A.A.S.G.; Borsato, D.; Baldo, C.; Celligoi, M.A.P.C. Development of Facial Cosmetic Formulations Using Microbial Levan in Association with Plant-Derived Compounds Using Simple Lattice Design. **Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia**, v. 66, p. e23220275, 2022.

Hertadi, R.; Amari, M.M.S.; Ratnaningsih, E. Enhancement of antioxidant activity of levan through the formation of nanoparticle systems with metal ions. **Heliyon**. V. 6, p. e04111, 2020.

Hou, Y.; Huang, F.; Yang, H.; Cong, H.; Zhang, X.; Xie, X.; Yang, H.; Tong, Q.; Luo, N.; Zhu, P.; Meng, J. Factors affecting the production and molecular weight of levan in enzymatic synthesis by recombinant *Bacillus subtilis* levansucrase SacB-T305A. **Polymer International**, v. 70, n. 2, p. 185-192, 2021.

Karnwal, A.; Shrivastava, S.; Al-Tawaha, A.R.M.S.; Kumar, G.; Singh, R.; Kumar, A.; Mohan, A.; Yogita.; Malik, T. Microbial Biosurfactant as an Alternate to Chemical Surfactants for Application in Cosmetics Industries in Personal and Skin Care Products: A Critical Review. **BioMed Research International**, v. 2023, 2023.

Kherade, M.; Solanke, S.; Tawar, M.; Wankhede, S. Fructooligosaccharides: A comprehensive review. **J. Ayurvedic Herb. Med**, v. 7, n. 3, p. 193-200, 2021.

Kim, K.B.; Kwack, S.J.; Lee, J.Y.; Kacew, S.; Lee, B.M. Current opinion on risk assessment of cosmetics. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 24, n. 4, p. 137–161, 2021.

Lee, S.M.; Jeong, H.J.; Chang, I.S. Simultaneous determination of heavy metals in cosmetic products. **Journal of Cosmetic Science**, v. 59, n. 5, p. 441–448, 2008.

Li, M.; Zhang, Z.; Li, S.; Tian, Z.; Ma, X. Study on the mechanism of production of γ -PGA and nattokinase in *Bacillus subtilis* natto based on RNA-seq analysis. **Microbial Cell Factories**, v. 20, n. 83, p. 1-15, 2021.

Lima, J.P.P.; Melo, E.D.; Aguiar, A. Characteristics and ways of treating cosmetic wastewater generated by Brazilian industries: a review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 168, p. 601-612, 2022.

Liu, D.; Han, Z.; Hu, Z.; Yu, C.; Wang, Y.; Tong, J.; Fang, X.; Yue, W.; Nie, G. Comparative analysis of the transcriptome of *Bacillus subtilis* natto incubated in different substrates for nattokinase production. **Process Biochemistry**, v. 129, p. 30-43, 2023.

Liu, T.; Bai, H.; Wang, S.; Gong, W.; Li, G.; Wang, Z. In vitro simulated canine and feline gastrointestinal digestion of fructooligosaccharides and isomaltooligosaccharides and their effects on intestinal microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 306, p. 115821, 2023.

Ma, L.; Niu, Y.; Yuan, C.; Bai, T.; Yang, S.; Wang, M.; Li, Y.; Shao, L. The Characteristics of the Skin Physiological Parameters and Facial Microbiome of "Ideal Skin" in Shanghai Women. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 16, n. 2023, p. 325-337, 2023.

Magri, A.; Oliveira, M. R.; Baldo, C.; Tischer, C. A.; Sartori, D.; Mantovani, M. S.; Celligoi, M. A. P. C. Production of fructooligosaccharides by *Bacillus subtilis* natto CCT7712 and their antiproliferative potential. **Journal of applied microbiology**, v. 128, n. 5, p. 1414-1426, 2020.

Mardo, K.; Visnapuu, T.; Gromkova, M.; Aasamets, A.; Viigand, K.; Vija, H.; Alamäe, T. High-Throughput Assay of Levansucrase Variants in Search of Feasible Catalysts for the Synthesis of Fructooligosaccharides and Levan. **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 8434–8455, 2014.

Marin, E.; Briceño, M.I.; Caballero-George, C. Critical evaluation of biodegradable polymers used in nanodrugs. **International Journal of Nanomedicine**, v.8, p. 3071-3091, 2013.

Martelli, E.C.; Camargo, M.C.G.D.; Vieira, J.; Gandra, R.F. Uso de substâncias bioativas como conservantes naturais em formas farmacêuticas: uma revisão. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 8120-8133, 2021.

Martelli, G.; Giacomini, Daria. Antibacterial and antioxidant activities of natural and synthetic dual-active compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 158, p. 91-105, 2018.

Martiny, T.R.; Avila, L.B.; Oliveira, I.G.; Klein, A.C.R.; Da Rosa, G.S. Alternativas De Extratos Naturais Em Cosméticos: Uma Visão Geral Das Oportunidades E Desafios. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, v. 17, n. 17, p. 113-122, 2021.

Martins, A.M.; Marto, J.M. A sustainable life cycle for cosmetics: From design and development to post-use phase. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 35, p. 101178, 2023.

Miyazawa, T.; Abe, C.; Bhaswant, M.; Ikeda, R.; Higuchi, O.; Miyazawa, T. Biological functions of compounds from *Bacillus subtilis* and its subspecies, *Bacillus subtilis* natto. **Food Bioengineering**, v. 1, n. 3-4, p. 241-251, 2022.

Mummaleti, G.; Sarma, C.; Kalakandan, S.K.; Gazula, H.; Sivanandham, V.; Anandharaj, A. Characterization of levan produced from coconut inflorescence sap using *Bacillus subtilis* and its application as a sweetener. **LWT**, v. 154, p. 112697, 2022.

Nasir, A.; Sattar, F.; Ashfaq, I.; Lindemann, S.R.; Chen, M.H.; Den Ende, W.V.; Öner, E.T.; Kirtel, O.; Khaliq, S.; Ghauri, M.A.; Anwar, M.A. Production and characterization of a high molecular weight levan and fructooligosaccharides from a rhizospheric isolate of *Bacillus aryabhattai*. **LWT**, v. 123, p. 109093, 2020.

Nelson, N. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v.153, p.375-380, 1944.

Nnolim, N.E.; Udenigwe, C.C.; Okoh, A.I.; Nwodo, U.U. Microbial keratinase: Next generation green catalyst and prospective applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 580164, 2020.

Okuda, A.; Kintaka, Y.; Tanabe, K.; Nakayama, T.; Shimouchi, A.; Oku, T.; Nakamura, S. Fructooligosaccharide feeding during gestation to pregnant mice provided excessive folic acid decreases maternal and female fetal oxidative stress by increasing intestinal microbe-derived hydrogen gas. **Nutrition Research**, v. 120, p. 72-87, 2023.

Oliveira, C.B. **A problemática presença de metais pesados em cosméticos**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em química tecnológica da Universidade Federal Fluminense, 2022.

Oliveira, T.J.; Segato, T.C.M.; Machado, G.P.; Grotto, D.; Jozala, A.F. Evolution of Bacterial Cellulose in Cosmetic Applications: An Updated Systematic Review. **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8341, 2022.

Öner, E.T.; Hernández, L.; Combie, J. Review of Levan polysaccharide: From a century of past experiences to future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 827–844, 2016.

Pawar, N.A.; Prakash, C.; Kohli, M.P.S.; Jamwal, A.; Dalvi, R.S.; Devi, B.N.; Singh, S.K.; Gupta, S.; Lende, S.R.; Sontakke, S.D.; Gupta, S.; Jadhao, S.B. Fructooligosaccharide and *Bacillus subtilis* synbiotic combination promoted disease resistance, but not growth performance, in fish. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 11345, 2023.

Phengnoi, P.; Thakham, N.; Rachphirom, T.; Teerakulkittipong, N.; Lirio, G.A.; Jangiam, W. Characterization of levansucrase produced by novel *Bacillus siamensis* and optimization of culture condition for levan biosynthesis. **Heliyon**, v. 8, n. 12, p. e12137, 2022.

Pinontoan, R.; Elvina.; Sanjaya, A.; Jo, A. Fibrinolytic characteristics of *Bacillus subtilis* G8 isolated from natto. **Bioscience of microbiota, food and health**, v. 40, n. 3, p. 144-149, 2021.

Porras-Domínguez, J. R.; Ávila-Fernández, A.; Miranda-Molina, A.; Rodríguez-Alegría, M. E.; Munguía, A. L. *Bacillus subtilis* 168 levansucrase (SacB) activity affects average levan molecular weight. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 338-344, 2015.

Ragab, T. I. M.; Malek, R. A.; Elsehemy, I. A.; Farag, M. M. S.; Salama, B. M.; El-Baseer, M. A. A.; Gamal-Eldeen, A. M.; Enshasy, H. A.; Esawy, M. A. Scaling up of levan yield in *Bacillus subtilis* M and cytotoxicity study on levan and its derivatives. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 127, n. 6, p. 655–662, 2019.

Rocca, R.; Acerbi, F.; Fumagalli, L.; Taisch, M. Sustainability paradigm in the cosmetics industry: State of the art. **Cleaner Waste Systems**, v. 3, p. 100057, 2022.

Rodrigues, L. A. P.; Nunes, D. D. G.; Hodel, K. V. S.; Viana, J. D.; Silva, E. P.; Soares, M. B. P. Exotic fruits patents trends: An overview based on technological prospection with a focus on Amazonian. **Heliyon**, v. 9, p. e22060, 2023.

Sahyoun, A. M.; Min, M.W.; Xu, K.; George, S.; Karboune, S. Characterization of levans produced by levansucrases from *Bacillus amyloliquefaciens* and *Gluconobacter oxydans*: Structural, techno-functional, and anti-inflammatory properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 323, p. 121332, 2024.

Silva, R. T.; Bersaneti, G. T.; Bigotto, B. G.; Silveira, V. A. I.; Lonni, A. A. S. G.; Borsato, D.; Celligoi, M. A. P. C. Development of a facial biocosmetic containing levan, almond and cinnamon oils with antioxidant and moisturizing properties. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 44, p. e58869, 2022.

Shirata, M. M. F.; Campos, P. M. B. G. M. Importância do perfil de textura e sensorial no desenvolvimento de formulações cosméticas. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 8, n. 3, p. 223-230, 2016.

Soares, A. R.; Nascentes, C. C. Development of a simple method for the determination of lead in lipstick using alkaline solubilization and graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 105, p. 272–277, 2013.

Srikanth, R.; Reddy, C. H. S. S. S.; Siddartha, G.; Ramaiah, M. J.; Uppuluri, K. B. et al. Review on production, characterization and applications of microbial levan. **Carbohydrate Polymers**, v. 120, p. 102–114, 2015.

Somogy, M. A New Reagent for Determination of Sugars. **Journal of Biological Chemistry**, v. 160, p.61-68, 1945.

Sudha, M. L.; Soumya, C.; Saravanan M.; Madhushree, P.; Singh, J.; Roy, S.; Prabhasankar, P. Influence of short chain fructo-oligosaccharide (SC-FOS) on the dough rheological, microstructural properties and, bread quality during storage. **LWT**, v. 158, p. 113102, 2022.

Suphasomboon, T.; Vassanadumrongdee, S. Multi-stakeholder perspectives on sustainability transitions in the cosmetic industry. **Sustainable Production and Consumption**, v. 38, p. 225-240, 2023.

Tanaka, T.; Oi, S.; Yamamoto, T. The Molecular Structure of Low and High Molecular Weight Levans Synthesized by Levansucrase. **The Journal of Biochemistry**, v. 87, n. 1, p. 297–303, 1980.

Tian, J.; Wei, S.; Jiao, Y.; Liang, W.; Wang, G. A strategy to reduce the byproduct glucose by simultaneously producing levan and single cell oil using an engineered *Yarrowia lipolytica* strain displaying levansucrase on the surface. **Bioresource Technology**, v. 395, p. 130395, 2024.

Tioosi, F. M.; Simon, A. T. Economia Circular: suas contribuições para o desenvolvimento da Sustentabilidade / Circular Economy: your contributions to the development of Sustainability. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 11912-11927, 2021.

Ullah, H.; Noreen, S.; Fazia.; Rehman, A.; Waseem, A.; Zubair, S.; Adnan, M.; Ahmad, I. Comparative study of heavy metals content in cosmetic products of different countries marketed in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 10–18, 2017.

Veerapandian, B.; Shanmugam, S. R.; Varadhan, S.; Sarwareddy, K. K.; Mani, K. P.; Ponnusami, V. Levan production from sucrose using chicken feather peptone as a low cost supplemental nutrient source. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, p. 115361, 2020a.

Volpe, M. G.; Nazzaro, M.; Coppola, R.; Rapuano, F.; Aquino, R. P. Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA. **Microchemical Journal**, v. 101, p. 65–69, 2012.

Wan, X.; Wang, L.; Chang, J.; Zhang, J.; Zhang, Z.; Li, K.; Sun, G.; Liu, C.; Zhong, Y. Effective synthesis of high-content fructooligosaccharides in engineered *Aspergillus niger*. **Microbial Cell Factories**, v. 23, n. 76, 2024.

Wang, J.; Xu, X.; Zhao, f.; Yin, N.; Zhou, Z.; Han, Y. Biosynthesis and Structural Characterization of Levan by a Recombinant Levansucrase from *Bacillus subtilis* ZW019. **Waste and Biomass Valorization**, v. 13, p. 4599-4609, 2022.

Zhang, J.; Bilal, M.; Liu, S.; Zhang, J.; Lu, H.; Luo, H.; Luo, C.; Shi, H.; Iqbal, H. M. N.; Zhao, Y. Isolation, Identification and Antimicrobial Evaluation of Bactericides Secreting *Bacillus Subtilis* Natto as A Biocontrol Agent. **Processes**, v. 8, n. 3, p. 259, 2020.

Zhang, T.; Guo, Q.; Xin, Y.; Liu, Y. Comprehensive review in moisture retention mechanism of polysaccharides from algae, plants, bacteria and fungus. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 10, p. 104163, 2022.

Zhang, Z. S; Wang, X. M.; Han, Z. P.; Zhao, M. X.; Yin, L.; Purification, antioxidant and moisture-preserving activities of polysaccharides from papaya. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 3, p. 2332-2337, 2012.

Zhao, L.; Fan, F.; Wang, P.; Jiang, X. Culture medium optimization of a new bacterial extracellular polysaccharide with excellent moisture retention activity. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 97, p. 2841-50, 2013.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT.



Pedido nacional de invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 006393 7

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 78640489000153

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: RODOVIA CELSO GARCIA CD, KM 380 S/N CAMPUS UNIVERSITARIO

Cidade: Londrina

Estado: PR

CEP: 86055-900

País: Brasil

Telefone: (043) 3371 5812

Fax: (043) 3371 5812

Email: aintecpl@uel.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em
01/04/2024 às 15:19, Petição 870240028248

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): DERMOCOSMÉTICO COM PREBIÓTICOS DE *Bacillus subtilis* NATTO

Resumo: A presente invenção apresenta o desenvolvimento de uma formulação cosmética contendo frutooligossacarídeos (FOS) produzidos pela levanasacarase de *B. subtilis* natto. Os FOS produzidos foram separados por precipitação com álcool absoluto em duas fases, dialisado e liofilizado e aplicado nas formulações. As formulações foram desenvolvidas em % (p/v): Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer 1,20; FOS 1,25 (F1); 2,50 (F2) e 5,00 (F3); Methylisothiazolinone (and) Phenoxyethanol 0,2; Glycerin 1,0; Cyclomethicone 1,0; e FOS variando as concentrações de 0,0 (FB); 1,25 (F1), 2,5 (F2) e 5,0 (F3). Com os resultados foi possível concluir que o aumento da concentração de FOS no produto potencializa a atividade antioxidante variando de 24,85 (FB) para 32,61 (F1); 42,93 (F2) e 80,80 (F3) correspondendo a um aumento de 31,23; 72,75% e 225%, respectivamente em comparação a formulação base. A incorporação de FOS em dermocosméticos comprovou um alto efeito antioxidante e agregou multifuncionalidade ao produto cosmético que tem um caráter de inovação, pois é o primeiro estudo descrevendo um novo dermocosmético com o prebiótico de *B. subtilis* natto.

Figura a publicar: fig.1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 01/04/2024 às 15:19, Petição 870240028248