



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MIKAELA MIGUEL SEVIDANIS

**DESENVOLVIMENTO DE FILME POLIMÉRICO
BIODEGRADÁVEL PARA TRATAMENTO DO
ENVELHECIMENTO CUTÂNEO DO COLO**

Londrina
2022

MIKAELA MIGUEL SEVIDANIS

**DESENVOLVIMENTO DE FILME POLIMÉRICO
BIODEGRADÁVEL PARA TRATAMENTO DO
ENVELHECIMENTO CUTÂNEO DO COLO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof^a. Dra. Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Suzana Mali de Oliveira

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Sevidanis, Mikaela Miguel.

Desenvolvimento de filme polimérico biodegradável para tratamento do envelhecimento do colo / Mikaela Miguel Sevidanis. - Londrina, 2022.
72 f. : il.

Orientador: Audrey Lonni.

Coorientador: Suzana Mali.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2022.

Inclui bibliografia.

1. Filme adesivo - Tese. 2. Polímeros - Tese. 3. Levana - Tese. I. Lonni, Audrey . II. Mali, Suzana. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. IV. Título.

CDU 66

MIKAELA MIGUEL SEVIDANIS

**DESENVOLVIMENTO DE FILME POLIMÉRICO
BIODEGRADÁVEL PARA TRATAMENTO DO
ENVELHECIMENTO CUTÂNEO DO COLO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BANCA EXAMINADORA

Profa Dra Audrey Alesandra Stinghen Garcia
Lonni
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa Dra Sandra Regina Georgetti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa Dra Cristiani Baldo
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 21 de março de 2022.

Dedico este trabalho primeiramente à Deus, à minha família, em especial minha mãe Ivânia Célia Miguel, meus avós Antônio Miguel e Aparecida Zanon Miguel e meu grande amigo Anderson Issao Ono Fujimoto, por terem me dado todo apoio necessário para que eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que me manteve firme até aqui, me dando forças para vencer os obstáculos da vida, colocando verdadeiros anjos na terra para me auxiliar na caminhada.

À minha querida mãe, Ivânia Célia Miguel, a maior mestra da minha vida, meu exemplo de amor e determinação, que sempre acreditou em mim e que não mediu esforços para que eu pudesse realizar meus estudos. E ao meu pai, José Carlos Sevidanis, pelo dom da vida.

Aos meus avós, Antônio Miguel e Aparecida Zanon Miguel, o amor mais puro e genuíno desse mundo, que dedicaram suas vidas para cuidar de mim e cuidam até hoje.

À minha orientadora, Prof^a Dra. Audrey Lonni, minha grande inspiração profissional, que me auxiliou em tudo que precisei, esteve sempre presente, respondendo a todas minhas dúvidas, contribuindo muito para o desenvolvimento do trabalho, até mesmo além do horário de expediente e finais de semana. Gratidão por todos os ensinamentos, paciência e dedicação.

À minha coorientadora, Prof^a Dra. Suzana Mali de Oliveira, pela grande colaboração em meu trabalho, por todo conhecimento transmitido e pelos polímeros gentilmente cedidos para o desenvolvimento dos filmes.

À Prof^a Dra. Maria Antonia Celligoi, por toda a colaboração em meu trabalho, pela Levana produzida em seu laboratório na UEL, com ajuda da sua aluna de Pós-doutorado, Dra. Gabrielly Terassi e cedida gentilmente para o desenvolvimento dos filmes. Agradeço também por ter aceitado o convite de ser membro da banca examinadora da minha qualificação.

À Prof^a Dra. Sandra Georgetti, atual coordenadora do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, por ser sempre solícita em responder todas as dúvidas com relação a pós-graduação e ajudar no que for preciso. Agradeço também por ter aceitado o convite de ser membro da banca examinadora da minha qualificação e defesa.

Agradeço a Prof^a Dra Cristiani Baldo por ter aceitado o convite de ser membro da banca examinadora da minha defesa.

À Prof^a Dra. Mirela Rabito e a Dra. Gabrielly Terassi, por terem aceitado o convite de ser membro da banca examinadora da minha qualificação e dissertação, na qualidade de Suplente.

Aos Docentes do curso, por todo conhecimento transmitido.

À Briani Bigotto, pela amizade e auxílio para realizar alguns testes laboratoriais.

À Talita Oliveira pela amizade e pelos momentos de distração.

Ao Nelson Janeiro, técnico do Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia da UEL, pelo auxílio durante os testes.

Ao Laboratório Multiusuários e Laboratório de Alimentos da UEL, pelos testes realizados.

Ao meu grande amigo, Anderson Issao Ono Fujimoto, que me incentivou desde a inscrição do mestrado até a conclusão, estando ao meu lado nos dias mais difíceis e nos momentos de distração.

A todos que contribuíram diretamente ou indiretamente para realização desse trabalho.

“Nenhum obstáculo é grande demais quando confiamos em Deus”.

(Aristóteles)

SEVIDANIS, Mikaela Miguel. **Desenvolvimento de filme polimérico biodegradável para tratamento do envelhecimento cutâneo do colo**. 2022. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

Nos últimos anos, a sociedade passou a dar maior atenção à saúde da pele, havendo um aumento significativo na demanda por produtos cosméticos e tratamentos estéticos. O envelhecimento, intrínseco ou extrínseco, causa mudanças estruturais e funcionais na pele, provocando prejuízos como manchas e rugas. Além das linhas e rugas faciais, há aquelas decorrentes da posição em que dormimos, conhecidas como *sleep lines*, que surgem principalmente na região do colo quando o indivíduo costuma dormir de lado. Para atenuar ou mesmo evitar estes sinais, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um filme adesivo polimérico biodegradável para tratamento e prevenção do envelhecimento cutâneo do colo. O filme foi composto por álcool polivinílico (PVOH), hidroxietilcelulose, propilenoglicol, glicerina, água e levana, que é um polímero biotecnológico, biodegradável, com atividade hidratante e antioxidante e produzido de forma sustentável. Após o desenvolvimento, o filme foi submetido aos testes de caracterização para avaliar os parâmetros físico-químicos e estruturais, estabilidade preliminar e teste de eficácia através da atividade antioxidante por ensaio de DPPH. O filme apresentou-se compacto, translúcido, inodoro e homogêneo, com ausência de fissuras em sua estrutura e flexível, o que facilita seu manuseio e aplicação no colo cutâneo. O pH foi de $5,40 \pm 0,17$, compatível com o pH cutâneo e a espessura média de $0,169 \text{ mm} \pm 0,23$. O filme se manteve estável frente à centrifugação e ao estresse térmico, nas temperaturas estudadas ($4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). O grau de intumescimento do filme aumentou linearmente em função do tempo. O teste de solubilidade indicou que o filme apresentou integridade mesmo em ambientes aquosos ou com umidade elevada (como a pele suada, por exemplo). A atividade antioxidante da levana foi de 74,9% na concentração de 10%, concentração correspondente àquela empregada no filme, confirmando a sua eficácia antioxidante. Além disso, o filme não apresentou toxicidade celular. Sugere-se que o filme é um produto promissor ao atual mercado de cosméticos, pelo qual os consumidores estão buscando cada vez mais por produtos naturais, multifuncionais, veganos, sustentáveis e *cruelty free*, podendo assim, interessar às indústrias cosméticas e farmácias magistrais, tendo aplicação na área de saúde e estética.

Palavras-chave: filme adesivo; polímeros; levana; antioxidante; *sleep lines*.

SEVIDANIS, Mikaela Miguel. **Development of biodegradable polymeric film for the treatment of skin aging neckline.** 2022. 73 p. Dissertation (Master's degree in Pharmaceutical Sciences) – Health Sciences Center, State University of Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

In the last few years, the society has started paying greater attention to the skin health, existing a significant increase in the demand for cosmetic products and aesthetic treatments. Intrinsic or extrinsic aging cause structural and functional changes in skin, provoking damages as blemishes and wrinkles. Besides facial lines and wrinkles, there are those resulting from the position which we sleep, known as “sleep lines” that appear mainly in the region of the neckline when the individual usually sleeps sideways. Attenuating these signs or even prevent the appearance of new wrinkles, this work aimed the development of biodegradable adhesive polymeric film for the treatment of the skin aging neckline. Film composition included biodegradable polymers (polyvinyl alcohol (PVOH), hydroxyethylcellulose), propylene glycol, glycerin, water and levan, a biodegradable and biotechnological moisturizer, with antioxidant activity and produced by a sustainable process. After the development, the film was submitted to characterization tests in order to evaluate physicochemical and structural parameters, as well as to stability and antioxidant activity testings, with the last one performed by DPPH assay. The film was compact, translucent, odorless, homogeneous, with no cracks or fractures in its structure, and flexible, and non-brittle film, which facilitates its handling and application on the cutaneous neck. The pH was 5.40 ± 0.17 , compatible with the skin pH and the mean thickness of the films was 0.169 mm. Furthermore, the film was stable when facing centrifugation and thermal stress, in the studied temperatures (4 ± 2 °C, 25 ± 2 °C e 40 ± 2 °C). Its swelling degree increased linearly along time. The solubility test indicated that the film presents integrity even in watery or high humidity (such as sweaty skin) environments. The antioxidant activity of levan was 74.9% in the concentration of 10% used in the filmogenic solution, which corresponds to its weight in the dry film, confirming the effectiveness of the film. In addition, the films did not present cellular toxicity. It is suggested that the film is a promising product for the current cosmetics, where the consumers are increasingly looking for natural, vegan, sustainable, multi-benefit and cruelty free products, thus being able to interest the cosmetic industries and magistral pharmacies, having application in the health area and aesthetics.

Key words: adhesive film; polymers; levan; antioxidant; sleep lines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura da pele humana	16
Figura 2 -	Estrutura da epiderme e seus estratos.....	17
Figura 3 -	Comparação das estruturas de polímeros termoplásticos e termofixos.....	25
Figura 4 -	Fórmula estrutural da levana.....	27
Figura 5 -	Estrutura monomérica do álcool polivinílico	31
Figura 6 -	Reação de síntese do álcool polivinílico a partir do acetato de vinila	32
Figura 7 -	Métodos de fabricação de filmes poliméricos biodegradáveis	34
Figura 8 -	Obtenção de filme polimérico pela técnica de casting utilizando solvente orgânico	35
Figura 9 -	Aspecto do filme polimérico biodegradável contendo levana	47
Figura 10 -	Aspecto do filme aplicado na região do colo	47
Figura 11 -	Representação gráfica do sistema de cores CIE Lab	48
Figura 12 -	Micrografias da superfície dos filmes poliméricos F0 (Controle) e FVL (Com adição de levana).....	49
Figura 13 -	Difratogramas de DRX dos filmes poliméricos F0 (controle) e FLV (com levana)	50
Figura 14 -	Isoterma de sorção dos filmes poliméricos controle (F0) e com adição de levana (FVL)	51
Figura 15 -	Perfil de intumescimento dos filmes poliméricos com adição de levana (FLV) e controle (FLV)	53
Figura 16 -	Permeabilidade ao Vapor de água dos filmes poliméricos F0 (controle) e FLV (com adição de levana).	55
Figura 17 -	Reação de redução do radical DPPH (roxo) para DPPH2 (amarelo).....	57
Figura 18 -	Embalagem usada no teste de estabilidade preliminar	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de polímeros naturais e suas aplicações.....	23
Tabela 2 - Exemplos de polímeros sintéticos e suas aplicações	24
Tabela 3 - Exemplos de organismos produtores de levana	28
Tabela 4 - Composição dos filmes desenvolvidos, sendo FLV o filme contendo levana e F0 o controle Negativo	39
Tabela 5 - Perfil de solubilidade dos filmes poliméricos, F0 e FLV ao longo do tempo	54
Tabela 6 - Propriedades mecânicas dos filmes poliméricos F0 (Controle) e FLV (adição de levana)	56
Tabela 7 - Avaliação da Viabilidade celular dos filmes F0 e FLV	58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	PELE.....	16
2.2	ENVELHECIMENTO CUTÂNEO.....	19
2.3	POLÍMEROS	22
2.3.1	Levana.....	27
2.3.2	Álcool Polivinílico.....	31
2.3.3	Filmes Biodegradáveis	33
2.3.4	Adesivos Antissinais.....	35
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVO GERAL.....	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
4	METODOLOGIA	38
4.1	OBTENÇÃO E CULTIVO DO MICRORGANISMO.....	38
4.2	OBTENÇÃO DA LEVANA	38
4.3	DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO.....	38
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS.....	39
4.4.1	Ensaio Organoléptico.....	39
4.4.2	Ensaio Físico-Químico.....	40
4.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	40
4.4.4	Difração de Raios-X e Índice de Cristalinidade	41
4.4.5	Perfil de Sorção de Umidade.....	41
4.4.6	Grau de Intumescimento	41
4.4.7	Solubilidade em Função do Tempo	42
4.4.8	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)	42
4.4.9	Propriedades Mecânicas de Tração	43
4.4.10	Análise Estatística	43
4.5	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA LEVANA.....	44
4.6	CITOTOXICIDADE	44

4.7	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO FILME	46
5.1.1	Ensaio Organoléptico	46
5.1.2	Ensaio Físico-Químico	46
5.1.3	Microscopia Eletrônica de Varredura	48
5.1.4	Difração de Raios-X e Índice de Cristalinidade	50
5.1.5	Perfil de Sorção de Umidade	51
5.1.6	Grau de Intumescimento	52
5.1.7	Solubilidade em Função do Tempo	53
5.1.8	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)	54
5.1.9	Propriedades Mecânicas de Tração	56
5.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA LEVANA	57
5.3	CITOTOXICIDADE	58
5.4	ESTABILIDADE PRELIMINAR	59
6	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo e dinâmico que reveste a superfície corporal, protegendo o organismo da desidratação e da ação de agentes exógenos que possam agredi-lo, além das funções de termorregulação e sensibilidade. Por ser um órgão externo, está constantemente exposta a agressões ambientais, como radiação, poluição e patógenos que ocasionam alterações em sua morfologia e fisiologia e aceleram assim o processo de envelhecimento (RITTIÉ, FISHER, 2015; BENÍTEZ, MONTÁNS, 2017).

O envelhecimento cutâneo é um processo biológico natural causado por fatores intrínsecos e extrínsecos, podendo ser acelerado, sobretudo, pela contínua exposição à radiação solar. Este processo afeta todas as camadas da pele e seus anexos, alterando sua composição, estrutura e funcionalidade, fazendo com que ela passe de um aspecto macio e uniforme a uma aparência áspera, flácida, ressecada, com rugas e manchas (SHANBHAG *et al.*, 2019).

Como nos últimos anos a sociedade passou a dar maior atenção à saúde da pele, sobretudo com o advento da pandemia, e especialmente no tocante ao envelhecimento, houve um aumento significativo na demanda por produtos cosméticos e tratamentos estéticos. O Brasil movimentou cerca de US\$ 23,738 bilhões no último ano, ocupando o 4º lugar no ranking mundial de consumidor no setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos, ficando atrás apenas dos EUA, China e Japão. As exportações nesse setor também tiveram um crescimento de 16,4% em 2021. Os produtos para pele ocupam o 8º lugar no ranking dos produtos mais consumidos no Brasil. (MORONE *et al.*, 2019; ABIHPEC, 2021).

As soluções convencionais para mitigar os sinais na pele contam com uso de protetor solar como preventivo, além de formulações cosméticas acrescidas de diversos ativos com ação hidratante, antioxidantes, ácidos, entre outras classes, e, em casos mais severos, recorre-se a procedimentos invasivos como *peelings* químicos, preenchimento com ácido hialurônico, uso de *lasers* e toxina botulínica (RAMOS-E-SILVA *et al.*, 2013; LI, 2015; MORONE *et al.*, 2019).

Além das rugas geradas pelo envelhecimento, há aquelas decorrentes da posição em que dormimos, conhecidas como *sleep lines*, que surgem principalmente na região do colo quando o indivíduo costuma dormir de lado. Para atenuar estes

sinais ou mesmo evitar o surgimento de novas rugas, o mercado cosmético lançou os adesivos antissinais. Feitos a partir de silicone, são de uso tópico e através do estiramento da pele do local de aplicação, prometem apresentar resultados desde a primeira aplicação, tendo efeito prolongado se usado continuamente (MAZZARELO *et al.*, 2018).

Recentemente, tem ocorrido uma alteração nas preferências dos consumidores, que passaram a optar pelo uso de cosméticos naturais ao invés dos convencionais sintéticos (GUPTA *et al.*, 2019). Os cosméticos naturais são compostos por extratos de plantas e metabólitos de bactérias, fungos e algas. Devido à origem destes ativos, a chance de efeitos colaterais e prejuízos à saúde humana são reduzidos, além de serem ecologicamente corretos, daí o acelerado crescimento deste mercado (MORONE *et al.*, 2019; DA SILVA *et al.*, 2020; ABIHPEC, 2021).

Princípios ativos naturais trazem inúmeros benefícios à saúde da pele devido às suas propriedades hidratantes, antioxidantes, anti-inflamatórias, anticarcinogênicas e antimicrobianas, protegendo a pele contra os danos da radiação ultravioleta e auxiliando na prevenção e tratamento do envelhecimento precoce (GUPTA *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2018). Exemplos destes ativos incluem o ácido hialurônico, ácido glucônico, ácido cítrico, ceramidas, flavonoides, taninos e exopolissacarídeos, como a levana (GUPTA *et al.*, 2019; DA SILVA *et al.*, 2020).

A levana é um exopolissacarídeo obtido a partir de microrganismos, como o *Bacillus subtilis* natto, através de técnicas fermentativas em presença de uma fonte de carbono, como a sacarose, por exemplo (DA SILVA *et al.*, 2020). Por apresentar propriedades anti-inflamatória, prebiótica, hipocolesterolêmica e hipoglicemiante, além de biocompatibilidade e renovabilidade, encontra aplicações nos setores alimentício, biomédico e cosmético (ÖNER, HERNÁNDEZ, COMBIE, 2016; DOMŻAŁ-KĘDZIA *et al.*, 2019; DA SILVA *et al.*, 2020). Neste último setor, mostra-se um ativo em potencial para incorporação em produtos de beleza, uma vez que não é tóxico ou irritativo à pele. Apresenta ainda capacidade de formar filmes e possui propriedades hidratante e clareadora (KIM *et al.*, 2005; ÖNER, HERNÁNDEZ, COMBIE, 2016; DA SILVA *et al.*, 2020), regenerativa (ÖNER, HERNÁNDEZ, COMBIE, 2016), calmante (DOMŻAŁ-KĘDZIA *et al.*, 2019), antitumoral e antioxidante (ABDEL-FATAH *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2012; DA SILVA *et al.*, 2020).

Em decorrência do impacto ambiental causado pela indústria de polímeros, o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis mostra-se uma alternativa viável e ambientalmente correta para resolução deste problema (BATISTIOLI, 2020), uma vez que, sofre degradação *in vivo* através de organismos como fungos, bactérias e algas, não persistindo no meio ambiente como os plásticos convencionais, portanto, não gerando impacto (BATISTIOLI, 2020). Ademais, sua decomposição é relativamente rápida e benéfica ao solo, servindo como adubo e contribuindo com o ciclo do carbono na natureza (MEDEIROS, 2020). Sua obtenção se dá a partir de espécies vegetais (soja, milho e cana-de-açúcar) e incluem, por exemplo, quitosana, ácido polilático, policaprolactonas e álcool polivinílico (ZAPATA, PUJOL, CODA, 2012; DIAS, 2017).

O álcool polivinílico é um polímero de origem fóssil comercializado na forma de um pó esbranquiçado, insípido, inodoro e altamente hidrossolúvel (ASLAM, KALYAR, RAZA, 2018). É biodegradável, biocompatível, não tóxico e flexível, além de apresentar capacidade adesiva e de formar filmes, o que o torna útil nos setores alimentício (produção de embalagens), farmacêutico (sistemas de liberação de fármacos), biomédico (materiais implantáveis e fios cirúrgicos) e cosmético (máscaras faciais) (BAKER *et al.*, 2012; MARIN, ROJAS, CIRO, 2014; GAAZ *et al.*, 2015; BURNETT, 2017).

Considerando que o filme adesivo antissinais convencional, que é comercializado, é feito de um material não biodegradável (silicone) e pode reduzir rugas somente por ação mecânica, ou seja, por estiramento da pele, o desenvolvimento de um produto biodegradável contendo ativo biotecnológico e vegano vem como uma alternativa inovadora que supera estas limitações e é eficaz no tratamento do envelhecimento cutâneo do colo, pois o produto em estudo se propõe a tratar os sinais de envelhecimento do colo através das propriedades cosmeceúticas da levana

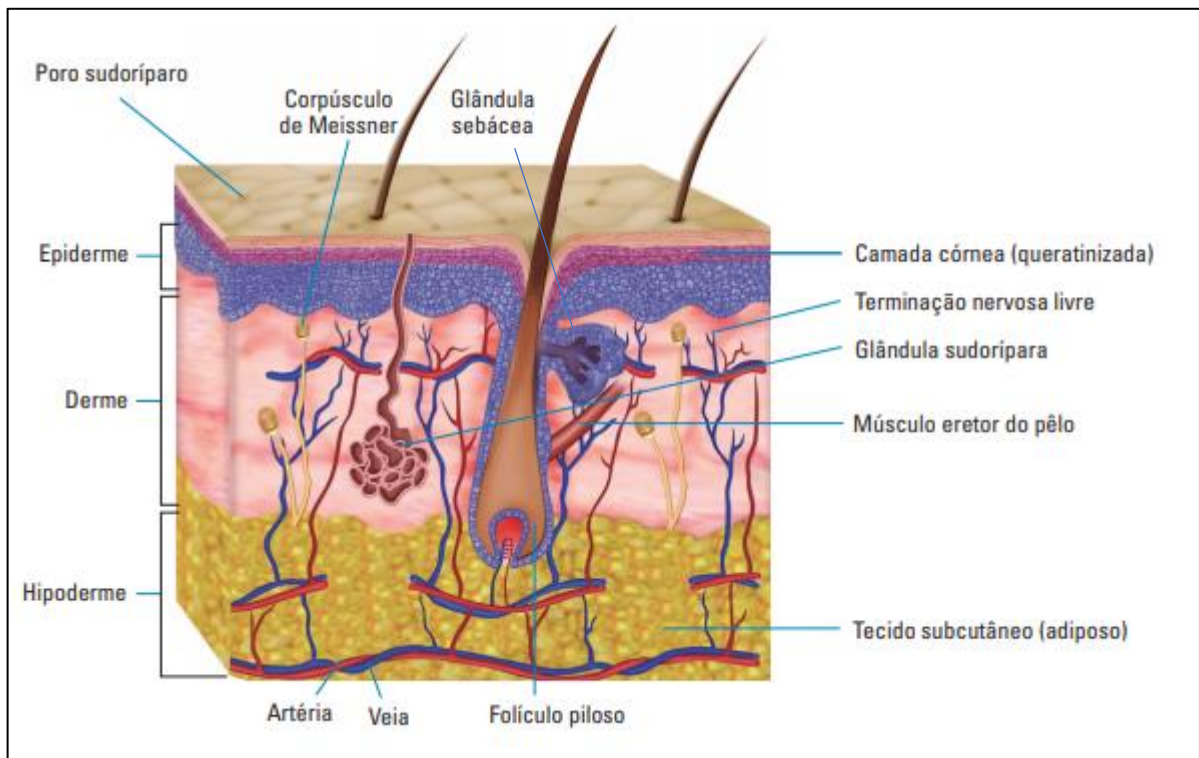
Destaca-se que a levana é um ativo biotecnológico, produzido de fonte renovável, e este filme se classifica como cosmético vegano e *cruelty free*, pois não utiliza ativos de origem animal e não foi testado em animais, respectivamente, uma vez que segue as exigências relacionadas ao processo de produção, à origem das matérias-primas e à sustentabilidade da cadeia produtiva. Sendo assim, este produto pode interessar às indústrias cosméticas e farmácias magistrais, tendo aplicação na área de saúde e estética.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PELE

Considerada o maior órgão do corpo humano, a pele é a responsável por recobrir toda a superfície corporal, representando cerca de 15% de sua massa e se estendendo por uma área aproximada de 2,0 m² em indivíduos adultos (CESTARI, 2019). É um órgão dinâmico e multifuncional, desempenhando funções de proteção, evitando a desidratação e limitando a entrada de agentes exógenos (radiação solar, substâncias químicas e microrganismos patogênicos); além das funções de termorregulação, produção de vitamina D, vigilância imunológica, sensibilidade tátil e auxílio na comunicação social, isto é, na relação entre os indivíduos (sua imagem) e os meios de comunicação (ALVES, 2015; RITTIÉ, FISHER, 2015; CESTARI, 2019). Apresenta aspecto, função e pH diferentes de acordo com a região do corpo, sendo dividida em 3 camadas: epiderme, derme e hipoderme, conforme a Figura 1.

Figura 1 - Estrutura da pele humana

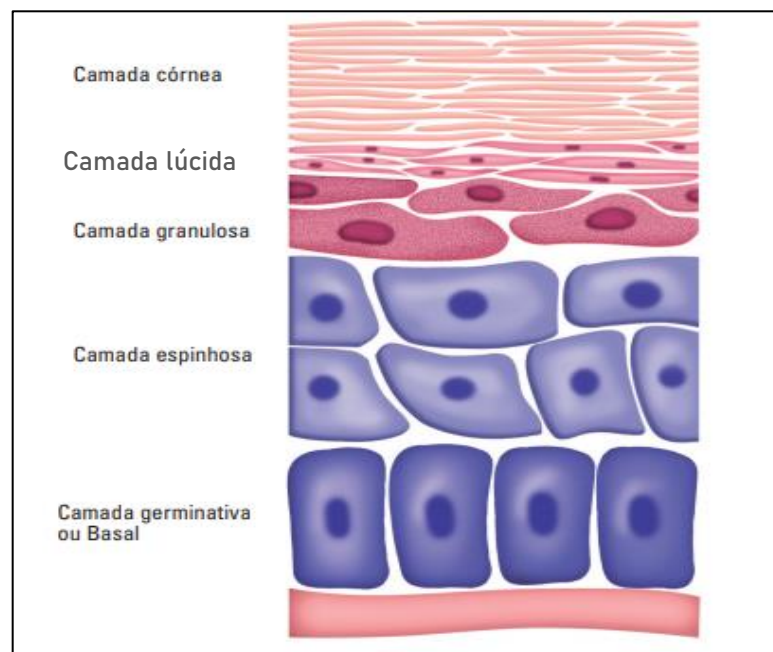


Fonte: Cestari (2019)

A epiderme é a camada mais superficial da pele. É avascular e ausente de terminações nervosas e sua nutrição se dá por meio da difusão de nutrientes pelos vasos sanguíneos da derme. É principalmente constituída por queratinócitos, configurando-se um epitélio que apresenta 5 estratos (ou camadas): córneo (mais externo), lúcido (presente na região palmo-plantar), granuloso (com função de barreira de água), espinhoso (onde os queratinócitos produzem a queratina) e basal (fonte de queratinócitos), conforme ilustrado pela Figura 2 (CESTARI, 2019; ARIFFIN, HASHAM, 2020). Além dos queratinócitos, apresenta também outras células como os melanócitos (células produtoras de melanina, que conferem cor à pele), as células de Langherans (com função imunológica) e as células de Merkel (responsáveis pela sensibilidade ao toque) (VANPUTTE *et al.*, 2019).

O processo de queratinização da pele se inicia no estrato basal, onde os queratinócitos se replicam continuamente, migrando em sentido ascendente e se diferenciando até chegar à camada córnea, transformando-se em células anucleadas, não viáveis e com alto teor de queratina, denominadas de corneócitos (SJÖVALL *et al.*, 2018). O tempo para que este processo ocorra é de cerca de 26 a 28 dias (CESTARI, 2019).

Figura 2 - Estrutura da epiderme e seus estratos



Fonte: Cestari (2019)

O estrato córneo é o mais superficial da epiderme e é ele quem confere as propriedades de barreira da pele, protegendo-a contra radiação ultravioleta, xenobióticos (pesticidas, conservantes, óleo mineral, conservantes à base de parabenos, entre outros) e desidratação (ALVES, 2015). Com espessura de aproximadamente 10 a 20 μm , é composto por corneócitos dispostos em múltiplas camadas (em torno de 18 a 20), variando de acordo com a região do corpo, e também por lipídeos, como ceramidas (50%), colesterol (25%) e ácidos graxos (25%) (MENON, CLEARY, LANE, 2012; NG, LAU, 2015; SJÖVAL *et al.*, 2018).

Os corneócitos encontram-se envolvidos por uma matriz extracelular rica em lipídeos em uma configuração conhecida como “tijolo e cimento” e mantêm-se coesos por conta dos corneodesmossomas que, ao passarem por um processo de degradação gradual programada, permitem a descamação das camadas de queratinócitos mais externas e desgastadas, possibilitando o processo de renovação celular (MENON, CLEARY, LANE, 2012).

Com exceção do estrato córneo, os demais estratos da epiderme são constituídos por células nucleadas, sendo coletivamente denominados de epiderme viável. Juntos, estes normalmente apresentam espessura média entre 50 e 100 μm , sendo também avasculares e sem terminações nervosas (NG, LAU, 2015).

A junção dermo-epidérmica (ou zona de membrana basal) constitui a interface entre a epiderme e a derme. Tal junção é constituída por quatro áreas distintas: a membrana celular da célula basal, a lâmina lúcida (onde ficam complexos multiproteicos chamados de hemidesmosomas), a lâmina densa (formada por colágeno tipo IV e proteoglicanas) e a sublâmina densa (contendo colágeno tipo VII) e tem como principal função a adesão entre estas duas camadas da pele (LANGTON *et al.*, 2016; GOLETZ, ZILLIKENS, SCHMIDT, 2017).

A derme é a camada intermediária da pele, situando-se abaixo da epiderme e conferindo-lhe sustentação e flexibilidade. Com espessura média de 0,3 a 3,0 mm, é composta principalmente por fibroblastos e fibras de colágeno (sobretudo dos tipos I e III) e de elastina, porém também apresenta uma matriz extracelular amorfa composta por glicosaminoglicanos (como o ácido hialurônico), proteoglicanos e glicoproteínas, além de células como macrófagos, adipócitos, mastócitos, células de Schwann e células-tronco. Nesta camada há vasos sanguíneos e linfáticos, terminações

nervosas, folículos pilosos e glândulas sudoríparas e sebáceas (CESTARI, 2019; BROWN, KRISHNAMURTHY, 2020).

Esta camada divide-se em duas outras: derme papilar (mais superficial) e derme reticular (mais profunda), com a primeira composta por um arranjo mais frouxo de fibras colágenas e elásticas, sendo menos espessa e ricamente vascularizada, e a segunda, constituída por um arranjo fibroso denso e mais espesso. Além da função de sustentação da pele, a derme é responsável pela nutrição e oxigenação da epiderme e pela remoção de resíduos dela por difusão através da junção-dermo-epidérmica, também pela termorregulação e sensibilidades térmica, tátil, de dor, de pressão e de prurido (NG, LAU, 2015; CESTARI, 2019; BROWN, KRISHNAMURTHY, 2021).

A última camada cutânea corresponde à hipoderme, constituída basicamente por adipócitos e abriga vasos sanguíneos e linfáticos de maior calibre (NG, LAU, 2015). Sua espessura varia de acordo com a região do corpo, sendo mais espessa e mole em regiões como abdômen, mamilos e nádegas. É menos elástica na região palmo-plantar e ausente em regiões de pele fina, como as pálpebras (NG, LAU, 2015; CESTARI, 2019). Tem como funções o armazenamento de energia, proteção contra choques mecânicos, isolamento térmico e a modelagem da superfície corporal devido apresentar certa mobilidade (BERNARDO, SANTOS, SILVA, 2019).

2.2 ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

Assim como outros órgãos, a pele também é passível de sofrer mudanças estruturais e funcionais ao longo do tempo, porém, uma vez que atua como interface com o meio ambiente, é constantemente exposta a agressões exógenas, como radiação ultravioleta e poluentes, que contribuem para seu envelhecimento (ALVES, 2015; RITTIÉ, FISHER, 2015; FERRAZ *et al*, 2021).

O aspecto de uma pele jovem é uniforme quanto à coloração, textura e elasticidade, contudo, por volta dos 30 anos, essa pele começa a evidenciar os primeiros sinais de envelhecimento por conta de alterações morfofisiológicas, acarretando em mudanças em seu aspecto, tornando-se mais fina, áspera, sensível,

flácida e elástica, levando ao surgimento de rugas, flacidez e discromias (BERNARDO, SANTOS, SILVA, 2019; LIMA, 2019; FERRAZ *et al*, 2021).

O envelhecimento cutâneo pode ser entendido como um conjunto de mudanças morfofisiológicas e bioquímicas que acontecem na pele de um indivíduo ao longo de sua vida. É um processo natural, dinâmico, gradual e irreversível, caracterizado pelo decaimento das funções fisiológicas da pele, tanto na derme quanto na epiderme, comprometendo sua funcionalidade. Tal processo é desencadeado por fatores genéticos, comportamentais e ambientais, não podendo ser evitado, porém retardado através de hábitos relacionados ao estilo de vida do indivíduo (SBD, 2017; LIMA, 2019).

Quanto à origem deste processo, o envelhecimento pode se dar de dois modos: intrínseco e extrínseco. O envelhecimento intrínseco ou também denominado de cronológico é ocasionado pelo desgaste natural do organismo ao longo do tempo e influenciado pela genética, estado hormonal (redução dos hormônios sexuais e de crescimento) e reações metabólicas (estresse oxidativo). Já o envelhecimento extrínseco ou fotoenvelhecimento está relacionado aos fatores ambientais (exposição à radiação solar, poluição, fumaça de cigarro) e ao estilo de vida do indivíduo (alimentação, sedentarismo, tabagismo, álcool, estresse, etc.) (SBD, 2017; LIMA, 2019; FERRAZ *et al*, 2021). Ambos atuam em conjunto, sendo o último mais prejudicial à pele e o principal responsável pelo processo de envelhecimento (KAMMEYER, LUITEN, 2015; FERRAZ *et al*, 2021).

Como características clínicas do envelhecimento intrínseco, tem-se uma pele seca e fina, apresentando rugas finas, irregularidade no crescimento de pelos, bochechas e cavidades oculares profundas e o afinamento das unhas. Já a pele fotoenvelhecida é caracterizada clinicamente pela presença de rugas profundas, perda da elasticidade, ressecamento, flacidez, aparência áspera, vasinhos (telangiectasias) e desordens de pigmentação (KAMMEYER, LUITEN, 2015). No caso do fotoenvelhecimento, as áreas mais expostas, como o dorso das mãos, pescoço, rosto, colo e antebraços, são as mais afetadas pela exposição à radiação do que as demais partes do corpo (RITTIÉ, FISHER, 2015).

Com o envelhecimento, a morfofisiologia cutânea é bastante afetada, tanto a nível dérmico quanto epidérmico, havendo o comprometimento de suas funções de

barreira, termorregulação, vascularização, imunológica e sensitiva (RITTIÉ, FISHER, 2015).

Na epiderme, a replicação de queratinócitos no estrato basal é reduzida, implicando no afinamento da pele e comprometendo também a cicatrização de feridas. A junção dermo-epidérmica torna-se achatada, com cristas menos pronunciadas, reduzindo assim a superfície de troca de nutrientes entre a derme e a epiderme e aumentando a fragilidade da pele. Também ocorrem a redução da produção de lipídeos e da hidratação no estrato córneo, ocasionando ressecamento (xerose), prurido e irritação, sobretudo na pele de indivíduos idosos. A produção de melanina é reduzida e em áreas constantemente expostas ao sol e a pigmentação torna-se irregular, favorecendo lesões como queratose solar, efélides (sardas) e manchas senis (RITTIÉ, FISHER, 2015).

Os efeitos do envelhecimento na derme são bastante significativos, havendo diminuição da quantidade de células, como fibroblastos e mastócitos, e das fibras colágenas e elásticas, que sofrem fragmentação e degradação. Também há diminuição do teor de glicosaminoglicanos (como o ácido hialurônico), reduzindo a capacidade de hidratação cutânea (MENOITA, SANTOS V., SANTOS A., 2013). Em decorrência destes fenômenos, a pele se torna mais fina, áspera, sensível, menos firme e elástica, viabilizando o surgimento de rugas (LIMA, 2019).

O metabolismo da gordura subcutânea também sofre mudanças, havendo decréscimo no percentual e redistribuição pelas regiões corporais, a exemplo do rosto, em que esta redistribuição contribui para a percepção dos sinais de envelhecimento (RITTIÉ, FISHER, 2015).

Disfunções nas glândulas sudoríparas e sebáceas, bem como na percepção sensorial, reposta imune e na vascularização da pele são observadas com o envelhecimento, comprometendo as funções de termorregulação, lubrificação, sensitiva, vigilância imunológica e aporte de nutrientes e oxigênio na pele (MENOITA, SANTOS V., SANTOS A., 2013; RITTIÉ, FISHER, 2015).

A teoria mais aceita para explicar o envelhecimento cutâneo é a teoria dos radicais livres (VIEIRA, SOUZA, 2019). Proposta em 1956 por Denham Harman, enuncia que o envelhecimento tem sua causa nos danos teciduais provocados pela ação dos radicais livres, que agem sobre componentes celulares (proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos), comprometendo sua estrutura e função (KAIM, BACKES, 2019).

Radicais livres são espécies químicas (átomos, íons ou moléculas) extremamente reativas que contêm um elétron desemparelhado nas camadas mais externas e podem ser categorizados em três principais classes: espécies reativas de oxigênio (EROs), de enxofre (EREs) e de nitrogênio (ERNs) e incluem radicais como $\text{OH}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$, $\text{NO}\cdot$, $\text{NO}_2\cdot$ (MARTINELLI, NUNES, 2014). Sua produção pode acontecer naturalmente no organismo, principalmente nas mitocôndrias, ou ainda por fatores externos, como exposição à radiação ultravioleta, poluição, tabagismo, estresse, poluição e má alimentação (MARTINELLI, NUNES, 2014; VIEIRA, SOUZA, 2019).

Sob condições normais, há um balanço entre a formação de radicais e sua aniquilação por espécies antioxidantes; entretanto, quando há o desequilíbrio nesta relação (excesso de radicais ou escassez de antioxidantes), inicia-se o processo de estresse oxidativo, em que estes radicais, em busca de estabilidade, reagem prontamente com quaisquer espécies que encontrarem no caminho, desencadeando uma cascata de reações radicalares envolvendo macromoléculas como DNA, RNA, lipídeos e proteínas, danificando a estrutura celular e, conseqüentemente, sua funcionalidade (MARTINELLI, NUNES, 2014; VIEIRA, SOUZA, 2019). Mudanças nestas moléculas estão associadas a doenças degenerativas (Alzheimer) e metabólicas (diabetes, hipertensão arterial), além de câncer, artrite, aterosclerose e infertilidade (MARTINELLI, NUNES, 2014; VELLOSA et al., 2021).

Medidas para retardar o avanço do envelhecimento cutâneo e suas manifestações incluem a adoção de um estilo de vida saudável, com uma dieta balanceada, prática de atividades físicas, não uso de álcool ou fumo, uma rotina de cuidados diários da pele com o uso protetores solares e produtos cosméticos, além de procedimentos estéticos (*peelings*, laserterapia, preenchimentos, entre outros (BENTO, 2015).

2.3 POLÍMEROS

Polímeros são macromoléculas formadas pela união de moléculas menores, conhecidas como monômeros, através de reações de polimerização (ROCHA, SILVA, SOUZA, 2013). De origem sintética ou natural, são materiais versáteis e encontram ampla aplicação industrial nos setores alimentício, farmacêutico, biomédico e cosmético, servindo, por exemplo, como agentes emulsionantes, solubilizantes, gelificantes, estabilizantes e formadores de filme, sendo úteis no preparo de

medicamentos e de cosméticos. Além de formar filmes para embalagens de alimentos, membranas para hemodiálise, material para sutura e implantes (no reparo de juntas e cartilagens), em dispositivos de liberação de fármacos e engenharia de tecidos. Exemplos destes e suas aplicações encontram-se listados nas Tabelas 1 e 2 (VILLANOVA, ORÉFICE, CUNHA, 2010; MAITZ, 2015; HUANG *et al.*, 2019).

Tabela 1 - Exemplos de polímeros naturais e suas aplicações

POLÍMERO	APLICAÇÃO	REFERÊNCIAS
Hidroxietilcelulose	Setores farmacêutico e cosmético	Villanova, Oréfice, Cunha (2010).
Gelatina	Amplamente utilizada na indústria alimentícia, em engenharia de tecidos oftálmicos e em sistemas de liberação de fármacos e curativos.	Suntornnond <i>et al.</i> (2015); Boran, Regenstein (2010).
Amido	Útil em sistemas de liberação de fármacos, engenharia de tecidos e no tratamento de efluentes, no setor alimentício e nos setores farmacêutico e cosmético.	Azevedo <i>et al.</i> (2018); Chen Qing <i>et al.</i> (2015).
Alginato	Utilizado na indústria alimentícia e na engenharia de tecidos e como curativo.	Avendaño-Romero, López-Malo, Paolu (2013); Song <i>et al.</i> (2018).

Fonte: Autor (2022)

Tabela 2 - Exemplos de polímeros sintéticos e suas aplicações

POLÍMEROS	APLICAÇÕES	REFERÊNCIA
Álcool polivinílico	Empregado em lentes de contato, materiais de sutura, implantes e sistemas de liberação de fármacos.	Villanova, Oréfice, Cunha (2010); Baker et al. (2012); Marin, Rojas, Ciro (2014).
Carbômero	Útil nos setores farmacêutico e cosmético como doador de viscosidade. Gelificante, doador de viscosidade para líquidos, aglutinante em <i>pellets</i> e comprimidos.	Villanova, Oréfice, Cunha (2010).
Polietilenoglicol	Aplicável em engenharia de tecidos, sistemas de liberação de fármacos e setor cosmético.	Jang, Shin, Kim (2015); Suntornnond et al. (2015).

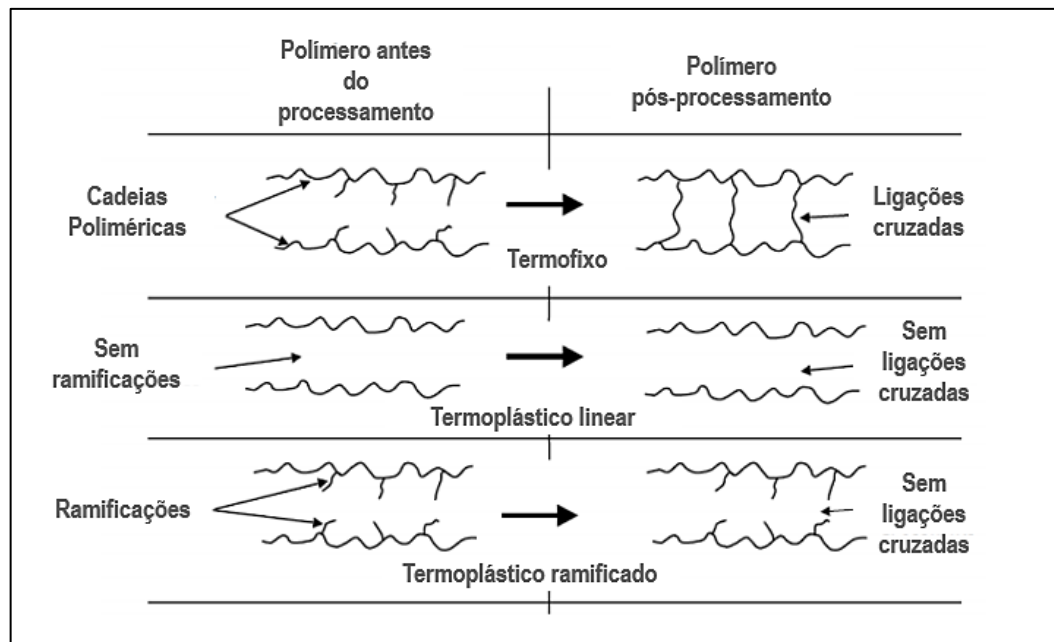
Fonte: Autor (2022)

A síntese de polímeros ocorre pela reação de polimerização, em meio fundido ou em solução (com catalisador e calor), e pode ser de duas formas: por adição ou condensação, dependendo da forma como os monômeros se ligam. A polimerização por adição inclui as etapas de iniciação, propagação e terminação, e a ligação de um novo monômero à cadeia polimérica ocorre pelas insaturações nela presentes. Esta reação é rápida e não há eliminação de moléculas menores (como água) e, dependendo da espécie iniciadora (cátion, ânion ou radical), pode ser do tipo radicalar, iônica (aniônica ou catiônica) ou mediada por metal de transição. Polímeros como poliácrlatos e poliestireno são sintetizados desta forma (HACKER, KRIEGHOFF, MIKOS, 2019).

No caso da polimerização por condensação, a reação ocorre entre duas espécies de funções diferentes, que se unem com consequente liberação de uma molécula menor, como água, álcool ou ácido clorídrico. Este processo ocorre lentamente, podendo levar dias para se completar, e envolve sucessivas etapas de condensação e adição. *Nylon*, tereftalato de polietileno (PET), poliuretanas e polietilenoglicol são exemplos de polímeros obtidos por condensação (HACKER, KRIEGHOFF, MIKOS, 2019).

O arranjo estrutural influencia no comportamento térmico dos polímeros, que podem ser classificados em termoplásticos e termofixos (Figura 3). Polímeros conhecidos como termoplásticos têm as cadeias poliméricas unidas por interações intermoleculares fracas, portanto, facilmente rompíveis, o que possibilita a deformação da estrutura mediante aquecimento. Já os polímeros termofixos apresentam uma estrutura em que as cadeias poliméricas estão unidas por ligações cruzadas fortes, o que impede sua movimentação e consequentemente, sua deformação quando submetido a aquecimento (FREITAS, 2014).

Figura 3 - Comparação das estruturas de polímeros termoplásticos e termofixos



Fonte: Adaptado de Ibarra (2014).

A produção intensiva de polímeros e o gerenciamento de seus resíduos representam atividades de grande impacto ambiental, visto que boa parte deles é

proveniente do petróleo, um recurso não-renovável, cuja extração e refino são bastante impactantes. E na maioria das vezes, estes materiais não têm um descarte adequado, não são reciclados e nem degradáveis, passando então a se acumular e poluir a natureza. A tomada de consciência frente a este cenário levou a uma crescente busca pelo desenvolvimento de polímeros biodegradáveis, especialmente por aqueles que sejam facilmente processáveis, que tenham propriedades iguais ou superiores aos convencionais e custo competitivo em relação aos mesmos (ZAPATA, PUJOL, CODA, 2012; BATISTIOLI, 2020;).

Polímeros biodegradáveis são aqueles que sofrem decomposição por ação de organismos como fungos, bactérias e algas sob condições ambientais adequadas (pH, temperatura, luminosidade, umidade, suprimento de nutrientes e oxigênio e atividade enzimática) (DIAS, 2017; BATISTIOLI, 2020). Geralmente, são obtidos a partir de carboidratos derivados de plantas (como milho, batata, cana-de-açúcar, trigo e beterraba), óleos vegetais (de girassol, soja ou outras oleaginosas) ou proteínas (MEDEIROS, LIMA, 2020). Suas propriedades se assemelham às dos tradicionais, podendo ser de origem natural ou sintética e incluem, por exemplo, amido, celulose, quitosana, ácido polilático, poli-hidroxibutirato, policaprolactona e álcool polivinílico (ZAPATA, PUJOL, CODA, 2012; DIAS, 2017).

A degradação destes polímeros é relativamente mais rápida que dos tradicionais, ocorrendo completamente em um prazo de, no máximo, três anos, dependendo da estrutura e da massa molar do polímero (DIAS, 2017; MEDEIROS, LIMA, 2020). O processo envolve reações *in vivo* de hidrólise e oxidação e ocorre em duas etapas: a primeira consiste na quebra das cadeias poliméricas (por ação de enzimas extracelulares) em moléculas menores (oligômeros). Já a segunda etapa se dá no interior da célula microbiana e envolve a transformação destes oligômeros em produtos como biomassa, sais, gás carbônico (ou metano, em condições anaeróbias) e água, processo denominado de biodegradação (BATISTIOLI, 2020), o que representa uma alternativa viável ao tratamento de resíduos poliméricos, já que impede seu acúmulo no meio ambiente, além de gerar produtos ricos em carbono, que trazem benefícios ao solo (MEDEIROS, LIMA, 2020).

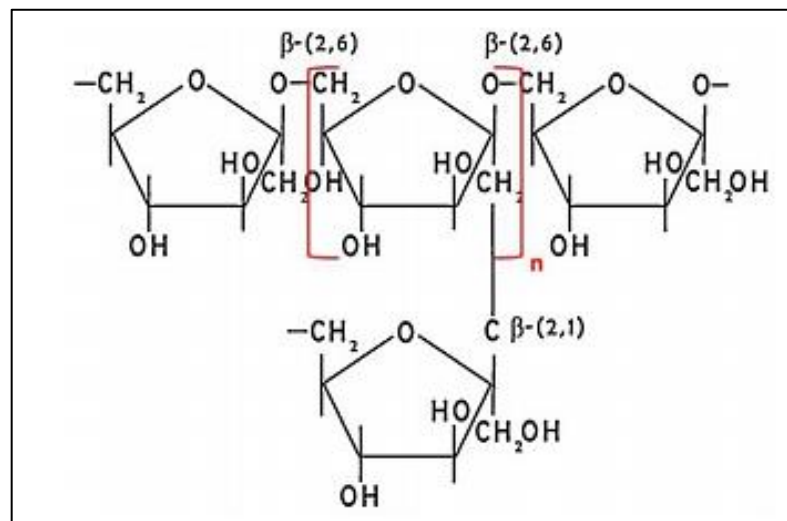
Devido às propriedades de biocompatibilidade, não toxicidade biodegradabilidade e capacidade de formar filmes, os polímeros biodegradáveis vêm se mostrando uma alternativa atrativa e cada vez mais explorada para emprego

industrial nos setores alimentício, farmacêutico, cosmético e médico, sendo usados em embalagens de alimentos, fios cirúrgicos, sistemas de liberação de fármacos e cosméticos, dispositivos ortopédicos (pinos, hastes e parafusos), implantes e curativos, além de aplicações em engenharia de tecidos e medicina regenerativa (RAZAK, SHARIF, RAHMAN, 2012; DOPPALAPUDI *et al.*, 2014; DIAS, 2017).

2.3.1 Levana

A levana trata-se de um exopolissacarídeo (EPS) composto por resíduos de D-frutose unidos por ligações glicosídicas do tipo $\beta(2\rightarrow6)$, com ramificações do tipo $\beta(2\rightarrow1)$ e um resíduo terminal de glicose (Figura 4). Possui massa molecular aproximada de 10^7 Daltons, equivalente à ligação de cerca de 60.000 unidades de frutose unidas por ligações $\beta(2\rightarrow6)$ (DOS SANTOS *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2019). Pode ser encontrada em diversas espécies de microrganismos e em uma pequena parcela de plantas, sendo que nos primeiros, atua como exopolissacarídeo e auxilia na formação de biofilme microbiano, enquanto que nas últimas, funciona como carboidrato de reserva (SRIKANTH *et al.*, 2015).

Figura 4 - Fórmula estrutural da levana



Fonte: Srikanth et al. (2015)

A levana pode ser sintetizada a partir de bactérias, fungos e algumas poucas plantas, conforme a Tabela 3, através de técnicas de fermentação submersa, em que se emprega o microrganismo em um meio de cultivo contendo sacarose, extrato de levedura e sais minerais ou ainda por síntese enzimática a partir da levanasacarase isolada, adicionando-a a um meio contendo uma fonte energética. Em ambos os casos, geralmente esta fonte é a sacarose, mas também pode-se empregar xaropes ou melão como substrato (SRIKANTH *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019).

Tabela 3 - Exemplos de organismos produtores de levana

ORGANISMO	ESPÉCIE	REFERÊNCIA
	<i>Erwinia amylovora</i>	Gross <i>et al.</i> (1992)
	<i>Bacillus subtilis natto</i>	Dos Santos <i>et al.</i> (2013)
Bactérias	<i>Zymomonas mobilis</i>	Dawes, Ribbons, Rees (1966)
	<i>Bacillus polymyxa</i>	Han, Watson (1992)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Jathore <i>et al.</i> (2012)
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Ni <i>et al.</i> (2018)
	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	Zhang <i>et al.</i> (2014)
Fungos	<i>Aspergillus sydowi</i>	Harada <i>et al.</i> (1993)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Franken <i>et al.</i> (2013); Ko <i>et al.</i> (2019)
Plantas	<i>Phleum pratense</i>	Matsuhira <i>et al.</i> (2014)
	<i>Agropyron cristatum</i>	Wei, Chatterton (2001)

Fonte: Autor (2022)

A levanasacarase é a enzima extracelular essencial à síntese da levana e catalisa a conversão do substrato no produto desejado através de 3 possíveis reações: 1) transfrutoseilação, em que há transferência de grupos D-frutoseil

(provenientes da sacarose hidrolisada) a uma molécula receptora (glicose, frutana, sacarose); 2) hidrólise, convertendo sacarose em frutose e glicose, ou (3) polimerização da frutose (TOMULESCU *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2019).

O rendimento da produção e as características da levana obtida, como o grau de polimerização e ramificações dependem das condições do meio de cultivo, tempo de cultivo, pH, temperatura, agitação, aeração, concentração de nutrientes, e também do tipo de organismo empregado (microrganismo ou droga vegetal). No caso da origem ser uma planta, a levana sintetizada normalmente apresenta peso molecular inferior se comparado à produzida por microrganismos (SRIKANTH *et al.*, 2015; TOMULESCU *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2019).

Finalizada a síntese, o EPS é purificado e passa por testes de caracterização para determinar propriedades físicas e químicas como: estrutura, massa molecular e estabilidades mecânica e térmica. Para isso, utilizam-se técnicas espectrométricas, cromatográficas e de microscopia, bem como, suas associações, sendo as mais comuns: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-vis), espectrometria de massa, ressonância magnética nuclear (RMN), cromatografia de permeação em gel, além das microscopias de força atômica (MFA) e de varredura (MEV). Feita a caracterização, pode-se então prosseguir com suas possíveis aplicações (SRIKANTH *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019).

Quanto às propriedades, a levana se caracteriza por apresentar biocompatibilidade, biodegradabilidade, estabilidade frente a altas temperaturas, solubilidade tanto em água, renovabilidade, flexibilidade, poder adesivo e baixa viscosidade, apresentando também atividades antioxidante, imunomoduladora, antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral, prebiótica, hipocolesterolêmica e hipoglicemiante. Por isso, encontra aplicações nos setores alimentício, cosmético e médico, por exemplo (SRIKANTH *et al.*, 2015; ÖNER, HERNÁNDEZ, COMBIE, 2016; MANTOVAN *et al.*, 2018).

Na indústria alimentícia é empregada como emulsificante, estabilizante, espessante e fixadora de cor e sabor nos alimentos, além de aditivo em alimentos funcionais e em embalagens de alimentos. Já na área médica, encontra aplicação em filmes para regeneração de tecidos lesionados, já que estimula a proliferação celular,

como substituto do plasma sanguíneo, agente prolongador da ação de fármacos, imunomodulador, antitumoral, hipoglicemiante e hipocolesterolêmico (SRIKANTH *et al.*, 2015; ÖNER, HERNÁNDEZ, COMBIE, 2016; TOMULESCU *et al.*, 2016).

A aplicação em cosméticos ainda é pouco expressiva, contudo, suas propriedades a tornam atrativa para incorporação em diversas formulações cosméticas. Celligoi e colaboradores (2018) desenvolveram a patente (BR 10 2018 069609 2) do preparo de uma nova formulação biocosmética facial com a levana sintetizada pela levanasacarase de *Bacillus subtilis*. A levana foi incorporada em uma formulação biocosmética à base de *ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer* e através desta formulação cosmecêutica foi comprovada alta atividade antioxidante (aproximadamente 60 %) fornecida pela levana.

A capacidade hidratante da levana se deve à presença de grupamentos polares (OH⁻, por exemplo) e às orientações espaciais da molécula, o que confere uma boa retenção de água (Kim *et al.*, 2005; CHI *et al.*, 2019). Estudos conduzidos por Kim *et al.* (2005) revelaram que a levana gerou uma diminuição significativa na perda de água transepidermal (TEWL) quando comparada ao ácido hialurônico, em testes avaliados pelo Vapometer®.

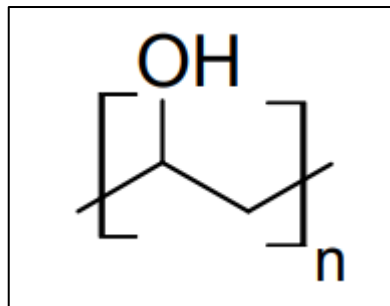
Em estudos realizados por Choi e colaboradores (2018), a levana demonstrou ser um efetivo agente preenchedor (*filler*) dérmico pelo aumento da proliferação de fibroblastos dérmicos na pele humana, e conseqüentemente, da síntese do colágeno, fator responsável por gerar o efeito preenchedor.

Além das propriedades anteriormente citadas, a levana estimula a formação de fibroblastos e queratinócitos, cujo efeito é comparável ao do ácido hialurônico (KIM *et al.*, 2003; 2005; CHOI *et al.*, 2018; DOMŹAŁ-KĘDZIA *et al.*, 2019), não é citotóxica e apresenta ação anti-irritante, sendo capaz de reduzir inflamações e formar filme tensor sobre a pele (*efeito lifting*) (KIM *et al.*, 2003; DOMŹAŁ-KĘDZIA *et al.*, 2019). Por ser um polímero não-iônico, é compatível com os demais ingredientes de uma formulação (DOMŹAŁ-KĘDZIA *et al.*, 2019).

2.3.2 Álcool Polivinílico

O álcool polivinílico (PVOH) (Figura 5) é um polímero semicristalino sintético derivado do petróleo, que se apresenta sob a forma granular ou de um pó esbranquiçado, sendo insípido, inodoro, atóxico, termoestável, biodegradável e biocompatível, além de muito solúvel em água, pouco solúvel em etanol e insolúvel em solventes orgânicos. Foi sintetizado pela primeira vez por Hermann e Haehnel, em 1924, através da reação de saponificação de um éster polivinílico com hidróxido de sódio (MARIN, ROJAS, CIRO, 2014; GAAZ *et al.*, 2015; ASLAM, KALYAR, RAZA, 2018).

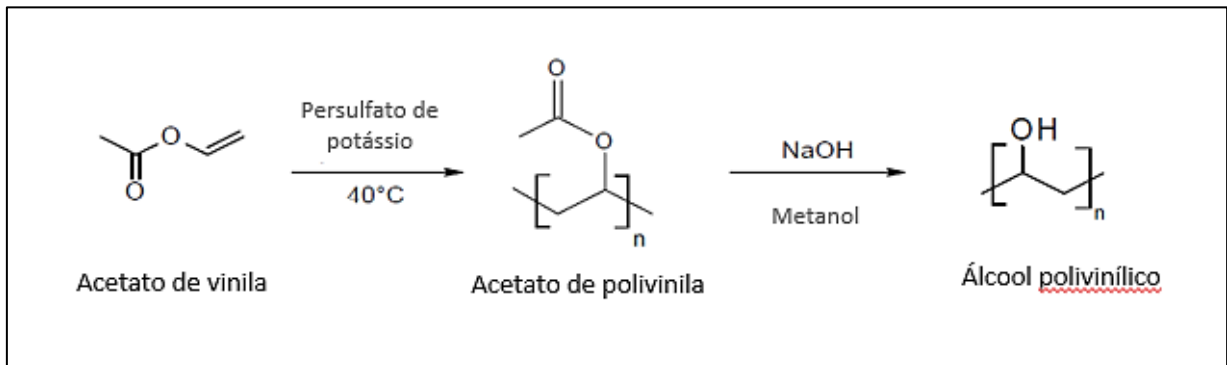
Figura 5 - Estrutura monomérica do álcool polivinílico



Fonte: Marin, Rojas, Ciro (2014)

Ao contrário de outros polímeros, o PVOH não é obtido por simples polimerização de monômeros de álcool vinílico, uma vez que, sua síntese se dá por reações indiretas, sendo a mais comum a reação radicalar envolvendo o acetato de vinila (Figura 6), que reage com um radical iniciador, como o persulfato de potássio, formando um intermediário, o acetato de polivinila, que em seguida, sofre hidrólise por uma base forte na presença de metanol, originando então o polímero desejado. O processo ocorre sob refluxo, a 80°C por 40 minutos e ao final, o PVOH obtido é precipitado, lavado e seco (MARIN, ROJAS, CIRO, 2014).

Figura 6 - Reação de síntese do álcool polivinílico a partir do acetato de vinila



Fonte: Adaptado de Marin, Rojas, Ciro (2014)

As propriedades físicas deste polímero dependem das condições reacionais (meio ácido ou alcalino, temperatura, tempo), do grau de polimerização e do número de hidroxilas presentes em sua estrutura, porém, em geral, o PVOH apresenta ótimas propriedades como: capacidade de formar filmes, resistência à tração, biodegradabilidade, hidrofiliçidade, flexibilidade, não toxicidade, além de compatibilidade com os tecidos humanos (MARIN, ROJAS, CIRO, 2014; ASLAM, KALYAR, RAZA, 2018). Por isso, é aplicável nos setores industrial, médico, farmacêutico, cosmético e alimentício, sendo frequentemente usado na produção de embalagens de alimentos, resinas, vernizes e fios cirúrgicos (GAAZ *et al.*, 2015).

A administração oral do PVOH não implica em absorção intestinal, portanto, não causa toxicidade ao organismo. Ademais, não apresenta efeitos colaterais, não é mutagênico ou cancerígeno, além de apresentar características bioadesivas e biocompatibilidade. Sendo assim, o PVOH é um polímero adequado à aplicação nos setores biomédico e farmacêutico, representando um material implantável que pode substituir cartilagens, menisco e corrigir deformações nas juntas. Além disso, é utilizado na fabricação de lentes de contato, sistemas de liberação de fármacos, cosméticos e curativos (BAKER *et al.*, 2012; MARIN, ROJAS, CIRO, 2014; GAAZ *et al.*, 2015).

Quanto às aplicações farmacêuticas, estas também incluem a inibição do crescimento e nucleação de cristais de fármacos (como carbamazepina), a remoção da umidade por absorção, a melhora da solubilidade de fármacos (como

escitalopram), quando empregado no preparo de dispersões sólidas e uso como agente de revestimento (GAAZ *et al.*, 2015).

No setor cosmético, de acordo com o *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*, o PVOH tem como funções ser um ingrediente formador de filme, um doador de viscosidade ou um agente aglutinador, sendo seguro quando empregado em formulações cosméticas. Há relatos de seu uso em produtos como maquiagens para olhos e produtos para a pele, como máscaras faciais, delineador de olhos e cremes e géis para a pele (BURNETT, 2017).

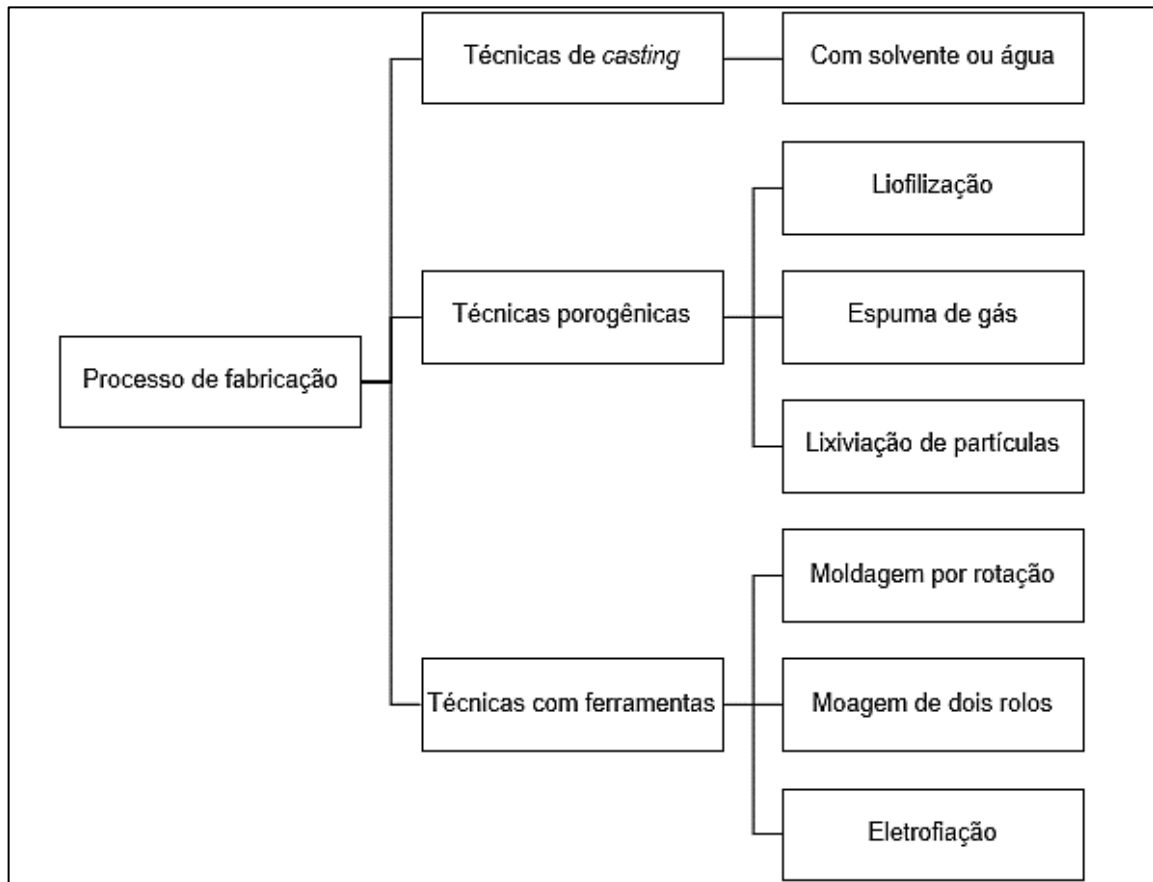
2.3.3 Filmes Biodegradáveis

Devido ao grande impacto causado pela indústria de plásticos, viu-se a necessidade de desenvolver filmes biodegradáveis que substituíssem e que tivessem desempenho equivalente aos convencionais. Tais filmes são obtidos a partir de polissacarídeos, proteínas e/ou lipídeos. Exemplos destes polímeros são quitosana, colágeno, amido, celulose, alginato, ácido hialurônico, polietilenoglicol, poli ácido láctico, policaprolactona e polietilenoglicol, dentre outros. Devido à sua origem, esses filmes podem ser destinados à compostagem, servindo assim de adubo ao solo, além de eliminar grande parte do lixo acumulado nos aterros sanitários (SUNTORNOND *et al.*, 2015; SANTOS, 2017).

Os filmes biodegradáveis consistem em uma fina camada formada pelo agrupamento de cadeias de polímeros biodegradáveis, e atuam como uma interface que separa dois meios. Por serem biodegradáveis e apresentarem boas propriedades mecânicas, representam um potencial substituto aos filmes plásticos convencionas e apresentam diversas aplicações nos setores farmacêutico, cosmético, biomédico e alimentício, sendo principalmente usados em embalagens de alimentos, sistemas de liberação de fármacos, curativos e em engenharia de tecidos (SUNTORNOND *et al.*, 2015; CAMPIM, FERREIRA, 2019).

As formulações dos filmes normalmente são compostas pelo polímero, solventes (orgânicos e/ou água) e aditivos (agentes plastificantes) (SANTOS, 2017). Quanto à obtenção, estes podem ser produzidos por dois métodos: fusão e solução polimérica, a partir dos quais derivam diversas técnicas, sintetizadas na Figura 7.

Figura 7 - Métodos de fabricação de filmes poliméricos biodegradáveis



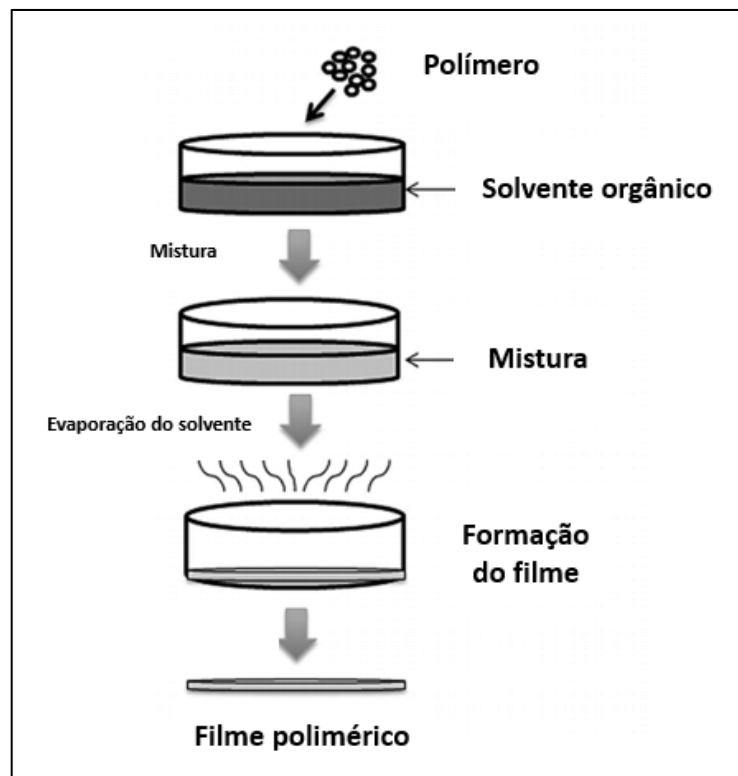
Fonte: Adaptado de Suntornnond *et al.* (2015)

A fusão se aplica a processos que empregam calor, permitindo ao polímero ter o formato desejado. Técnicas envolvendo este método incluem o moinho de dois rolos, fiação por fusão e eletrofiação. Já no segundo método, as cadeias poliméricas se unirão à medida em que o solvente for evaporado e após completa evaporação, obtém-se o polímero na forma sólida. Liofilização, moldagem por rotação e *casting* são técnicas baseadas neste princípio, sendo a última a mais comumente empregada na produção de filmes (SUNTORNNOND *et al.*, 2015).

A técnica de *casting* (ou secagem por moldagem), exemplificada na Figura 8 consiste na dispersão do(s) polímero(s) no meio solvente (aquoso ou orgânico), seguida da incorporação dos aditivos, que reforçarão as propriedades mecânicas do filme. A mistura obtida é levada à secagem por um período de 6 horas a 2 dias (em capela ou estufas) e com a evaporação completa do solvente, obtém-se um filme que pode ser retirado manualmente do recipiente. Sua espessura pode variar até 200 µm,

dependendo da composição e da concentração dos polímeros envolvidos. Como vantagem, tem-se uma produção simples, de baixo custo, com uso mínimo de equipamentos e um filme com estabilidade físico-química e microbiológica (CAMPOS, 2014; SUNTORNNOND *et al.*, 2015).

Figura 8 - Obtenção de filme polimérico pela técnica de *casting* utilizando solvente orgânico



Fonte: Adaptado de Suntornnond *et al.* (2015)

2.3.4 Adesivos Antissinais

Com intuito de tratar peles fotoenvelhecidas e atenuar rugas, ao longo do tempo surgiram inúmeros tratamentos estéticos invasivos (como preenchimentos, *peelings*, dermoabrasão e técnicas a *laser*) e formulações dermocosméticas, contendo ativos antioxidantes, hidratantes, despigmentantes, ácidos, entre outros. Neste contexto e com o avanço da cosmetologia, recentemente, surgiram produtos conhecidos como adesivos antissinais (MAZZARELLO *et al.*, 2018).

Considerados produtos inovadores, os adesivos antissinais consistem em filmes poliméricos, feitos principalmente de silicone, aplicáveis em regiões que apresentem rugas lineares ou linhas de sono (*sleep lines*), como face e colo. De uso tópico, são facilmente aplicáveis e removíveis, possuem forma viscoelástica e devem apresentar adesão e coesão adequadas a fim de resistirem ao descolamento, além de não irritarem a pele (LIU et al., 2017; MAZZARELLO et al., 2018).

Sua aplicação mantém a pele esticada e visa reduzir a contração da musculatura subcutânea local, levando à diminuição da profundidade das rugas já existentes e prevenindo a formação de novas rugas. O apelo comercial diz que uma única aplicação já é suficiente para perceber o desaparecimento temporário das rugas e este efeito se prolonga com o uso contínuo do produto (MAZZARELLO et al., 2018). No estudo feito por Mazzarelo e colaboradores (2011), demonstrou-se que a aplicação esporádica por 30 minutos deste adesivo na região periorbital foi capaz de esticar a pele local e reduzir temporariamente as rugas nela presentes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma formulação, de uso tópico, na forma de um filme polimérico adesivo contendo levana para tratamento e prevenção do envelhecimento cutâneo do colo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver filmes poliméricos adesivos biodegradáveis acrescidos ou não de levana;
- Realizar a caracterização farmacotécnica dos filmes;
- Avaliar a atividade antioxidante da levana para incorporação no filme;
- Realizar a citotoxicidade dos filmes;
- Realizar estudos de estabilidade dos filmes.

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO E CULTIVO DO MICRORGANISMO

O microrganismo utilizado foi o *Bacillus subtilis* natto CCT 7712, isolado no Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL - PR) e identificado pela Fundação André Tosello de Pesquisa e Tecnologia (FAT Campinas – SP). A bactéria foi cultivada em meio de cultivo contendo peptona (50 g L^{-1}), extrato de carne (30 g L^{-1}) e ágar (20 g L^{-1}), a 37°C , por 48 h e mantido 4°C em câmara refrigerada. Repiques das células foram realizados a cada quarenta cinco dias.

4.2 OBTENÇÃO DA LEVANA

A levana utilizada para as formulações foi produzida em meio de sacarose, segundo a metodologia desenvolvida por Bersanetti e colaboradores (2017). O ativo foi gentilmente cedido pela Profa. Dra. Maria Antônia Colabone Celligoi, do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina.

4.3 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO

Foi desenvolvida uma formulação, de uso tópico, na forma de um filme adesivo, cuja composição contou com polímeros biodegradáveis e a levana como o ativo hidratante e antioxidante. O filme controle foi composto por álcool polivinílico (PVOH), hidroxietilcelulose, propilenoglicol, glicerina e água (Tabela 4) e a formulação definida a partir de dados da literatura (FARIA, VERCELHEZE, MALI, 2012). Foi depositada uma patente referente à formulação do filme desenvolvido neste trabalho (BR 10 2022 0017387).

Tabela 4 – Formulação das soluções filmogênicas empregadas para o preparo dos filmes, sendo FLV o filme contendo levana e F0 o controle negativo

Ingredientes	Massa (g)	
	FLV	F0
Água destilada	q.s.p 100,0	q.s.p 100,0
Álcool polivinílico	1,0 – 3,0	1,0 – 3,0
Hidroxietilcelulose	1,0 – 5,0	1,0 – 5,0
Glicerina vegetal	7,0 – 12,0	7,0 – 12,0
Propilenoglicol	10,0 – 15,0	10,0 – 15,0
Levana	0,2 - 2,0*	-

Fonte: Autor (2022). * A massa de levana foi calculada para resultar em concentrações de 10 a 25% (g/100 g de polímero - álcool polivinílico + hidroxietilcelulose)

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

Os filmes foram avaliados quanto às características organolépticas (cor, aspecto e odor) e físico-químicas (pH, espessura e opacidade) (BRASIL, 2008). Também foi avaliado a microestrutura dos filmes (FARIA, VERCELHEZE, MALI, 2012), o índice de cristalinidade (MÜLLER, LAURINDO, YAMASHITA, 2009), o perfil de sorção de umidade, o grau de intumescimento (MOHAMED, HAIDER, MOHAMED ALI, 2011), a solubilidade (PERIOLI *et al.*, 2004), a permeabilidade ao vapor de água (ASTM, E96/E96M).

Os testes foram realizados em triplicata para cada filme e as médias dos parâmetros calculadas.

4.4.1 Ensaio Organolépticos

As características avaliadas foram o aspecto, a cor e o odor. Com relação ao aspecto, a amostra foi colocada sobre fundo escuro e então observou-se visualmente se foram mantidas as mesmas características macroscópicas da amostra de controle ou se houve qualquer alteração (BRASIL, 2008).

A análise de cor foi feita visualmente, sob luz branca e fundo escuro, comparando-se com a cor da amostra controle, armazenada nas mesmas condições e embalagem que a amostra em estudo. As amostras foram classificadas de acordo

com a cor como: normal, sem alteração, levemente modificada, modificada ou intensamente modificada (BRASIL, 2008).

O odor da amostra foi comparado com o odor da formulação controle, diretamente através do olfato, sendo classificado como: normal, sem alteração, levemente modificado, modificado ou intensamente modificado (BRASIL, 2008).

4.4.2 Ensaio Físico-Químicos

A determinação de pH foi feita à temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) utilizando-se peagâmetro digital (Digimed DM-22), previamente calibrado com soluções tampão (pH 4,0 e 7,0). Para determinação deste parâmetro, o eletrodo foi inserido diretamente na solução filmogênica, antes da secagem tipo casting (BRASIL, 2008).

A espessura dos filmes foi determinada utilizando-se um paquímetro, sendo que a espessura final corresponderá à média aritmética de medidas aleatórias sobre a área de 8 filmes (FARIA, VERCELHEZE, MALI, 2012).

A medida da opacidade da amostra foi determinada utilizando colorímetro (Konica Minolta CR 400, Japão), os parâmetros foram de cor L^* (luminosidade), a^* (vermelho - verde) e b^* (amarelo - azul), com a seguinte especificação: iluminante CIE D 65 e observador padrão CIE 10° , de acordo com o sistema CIELab (DA SILVA et al., 2016).

4.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microestrutura do filme foi analisada por microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se o microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 200 (Oregon – EUA). A amostra foi seca em estufa de circulação de ar (Marconi MA 035) a 65°C por 24 h e, então, fraturada manualmente e mantida em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro por uma semana. Posteriormente, foi recoberta com uma fina camada de ouro e as imagens foram obtidas empregando-se uma voltagem de aceleração de 20 kV (FARIA, VERCELHEZE, MALI, 2012).

4.4.4 Difração de Raios-X e Índice de Cristalinidade

Os difratogramas foram obtidos a partir do difratômetro de raios-X (X'Pert-Philips), sob as seguintes condições de análise: voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, faixa de varredura de 2 teta de 3° a 60°, passo angular 0,05°, velocidade 1°/min, com monocromador de feixe secundário de grafite. A variação dos tamanhos dos cristais foi determinada do software PC APD Diffraction. O índice de cristalinidade (IC) foi dado pela equação 1, em que Ac corresponde à área da região cristalina e Aa à da região amorfa (MÜLLER, LAURINDO, YAMASHITA, 2009). O programa computacional Origin 6.0 foi empregado para o cálculo das áreas dos difratogramas.

$$IC = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100 \quad (1)$$

4.4.5 Perfil de Sorção de Umidade

Os filmes foram desidratados em dessecador por três semanas, na presença de sílica anidra, que mantém a umidade relativa (UR) próxima a 0%. Após esse período, passou a ser acondicionada a 25 °C em dessecadores contendo soluções saturadas dos sais: cloreto de lítio (11% de UR), cloreto de magnésio (33% de UR), cloreto de sódio (75% de UR), cloreto de bário (90% de UR) e sulfato de potássio (97% de UR). A amostra foi pesada em intervalos de 2 h até a 12 h e, a partir deste período, a cada 24 h, até atingir o equilíbrio. A umidade de equilíbrio das amostras foi determinada por secagem em estufa (105 °C; 8h) e a isoterma obtida graficamente através dos dados de umidade de equilíbrio e da atividade de água (Aa) do filme armazenado sob diferentes UR (Aa = UR/100) (FARIA, VERCELHEZE, MALI, 2012). Este teste foi realizado em duplicata e os valores dos parâmetros expressos através da média.

4.4.6 Grau de Intumescimento

A análise do grau de intumescimento foi feita de acordo com Mohamed M., Haider e Mohamed Ali (2011), com algumas modificações. As amostras foram

cortadas em discos de 1,2 cm de diâmetro, depositadas em dessecadores por 7 dias e pesadas, sendo esta considerada a massa inicial do filme (m_i). Após esse período, foram colocadas em um recipiente cilíndrico, fechado em uma das extremidades por uma malha com pequenos furos, e imersas em 10mL de solução tampão fosfato salino (pH = 6,8) à temperatura ambiente. As amostras foram sendo retiradas em intervalos de 0,5, 1, 2, 3 e 5 minutos e então pesadas, considerando-se ser esta a massa final do filme (m_f). O grau de intumescimento (%) foi determinado de acordo com a equação 2 e o teste feito em triplicata.

$$GI = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (2)$$

4.4.7 Solubilidade em Função do Tempo

A solubilidade foi determinada por método gravimétrico, utilizando-se um dispositivo cilíndrico fechado em uma das extremidades por malha vazada. Discos de 1,2cm de diâmetro da amostra foram pesados e colocados no dispositivo citado contendo 10 mL de tampão fosfato (pH 6,8), à temperatura ambiente. Em tempos pré-determinados (0,5, 1, 2, 3 e 5 min), os discos foram retirados do dispositivo, secos em estufa de circulação (50°C) de ar até peso constante e então pesados. Por fim, calculou-se a diferença entre a massa inicial (M_1) e a massa final (M_2), sendo a massa solubilizada (%) determinada de acordo com a equação 3 (PERIOLI *et al.*, 2004).

$$\text{Massa solubilizada (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (3)$$

4.4.8 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada por método gravimétrico à temperatura ambiente (25 °C ± 5°C), de acordo com a Norma ASTM E96/E96M. O file foi selado com graxa de silicone em célula de permeação de alumínio com 60 cm de diâmetro, contendo sílica anidra (dessecante). Essa célula foi acondicionada em dessecador a 25 °C e 75% UR. A partir do ganho de peso da cápsula, medido em intervalos de 5 h, durante 24 h, foi possível determinar o vapor de água transferido

através do filme por meio da plotagem de um gráfico de peso *versus* tempo. A PVA foi determinada através do coeficiente angular (g/t) da equação 4, em que *e* representa a espessura média dos filmes, a área de permeação e ΔP , a diferença de pressão de vapor de água (kPa).

$$PVA = \frac{g}{t} \times \frac{e}{A\Delta P} \quad (4)$$

4.4.9 Propriedades Mecânicas de Tração

As propriedades de tração foram analisadas através da utilização de um texturômetro da marca Stable Micro Systems modelo TA.TX2i de acordo com as Normas da American Society for Testing and Material – (ASTM F882-91). Os corpos de prova (2,5 cm x 6,0 cm) foram cortados e ajustados entre as garras pneumáticas do equipamento. A distância entre as garras foi de 50 mm e a velocidade de tração de 500 mm/min. Foram determinadas as seguintes propriedades de tração: força máxima (N) que foi registrada pelo próprio aparelho; (a) resistência máxima à tração (MPa); (b) alongação na ruptura (%) e calculadas pelas formulações a seguir:

$$\text{Resistência máxima à tração} = \frac{F_{\text{máx}}}{A_{\text{min}}}$$

onde:

$F_{\text{máx}}$ = força máxima registrada (N)

(a) A_{min} = área mínima inicial da amostra (m^2)

$$\text{Alongação na ruptura} = \frac{A_T}{DG} * 100$$

onde:

A_T = alongamento total da amostra até a ruptura (m)

(b) DG = distância inicial entre as garras (m)

4.4.10 Análise Estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos foi empregado o programa computacional Statistica versão 7.0 (Statsoft, Oklahoma, USA). Foi realizado teste de Tukey (nível de significância de 5 %) para comparação de médias.

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA LEVANA

A determinação da atividade antioxidante da levana foi realizada pelo método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), conforme descrito por Srikanth *et al.* (2015). O DPPH foi dissolvido em etanol para obter a concentração de 0,1 mmol L⁻¹. Igualmente, a levana foi dissolvida neste solvente para se obter uma solução com concentração de 10%. A mistura de reação continha 1 mL da solução do ativo e 0,3 mL da solução de DPPH, sendo em seguida incubada em ambiente escuro por 30 min, à temperatura ambiente. Posteriormente, foram realizadas leituras em espectrofotômetro UV-vis a 517 nm. Uma solução de ácido ascórbico (Vitamina C) foi utilizada como padrão do ensaio e a taxa de inibição (%) do radical livre foi dada através da equação 5.

$$\% \text{ inibição} = \frac{(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra})}{\text{Abs controle}} \times 100 \quad (5)$$

4.6 CITOTOXICIDADE

O ensaio de citotoxicidade, aplicado para verificar quais as concentrações dos compostos são seguras para uso nas células sem causar danos, foi realizado pelo método de MTT (brometo de dimetil tiazol-difeniltetrazólio) (Sigma Chem. Co., EUA). Primeiramente, células Vero (célula epitelial renal de macaco verde africano - *Cercopithecus aethiops* - ATCC CCL-81) cultivadas com meio DMEM, adicionado de 10% de Soro Fetal Bovino, antimicrobianos (2% de fungizona, penicilina/estreptomicina) e glutamina, foram cultivadas em microplacas de 96 poços até obter 80 a 100% de confluência (104 células/mL). Após isso, o meio de crescimento foi substituído por meio contendo diferentes concentrações dos filmes (5% a 0,16%, diluições 1:2 e quintuplicata) e incubadas em ambiente de 37° C, 5% de CO₂, por 72 horas. Posteriormente, foi realizada a leitura colorimétrica nos comprimentos de onda de 570 e 690 nm. Com o uso de regressão linear, foi calculada a Concentração Citotóxica de 50% (CC50) do composto.

4.7 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR

Os filmes foram submetidos a um ciclo de gelo-degelo durante 15 dias, sendo mantidos em temperaturas alternadas de 4 ± 2 °C e 40 ± 2 °C (UR de $75\% \pm 5\%$), em intervalos regulares de tempo (24h). Da mesma forma, amostras foram mantidas, isoladamente, em temperaturas de 4 ± 2 °C, 25 ± 2 °C e 40 ± 2 °C. Após 15 dias, os parâmetros organolépticos de todas estas amostras voltaram a ser analisados (BRASIL, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO FILME

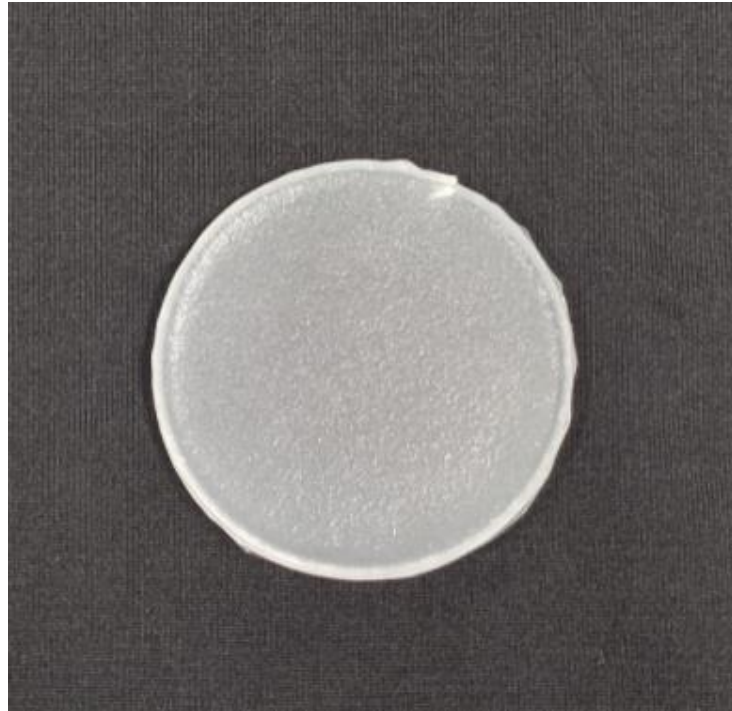
5.1.1 Ensaio Organolépticos

Quanto às características organolépticas, a formulação apresentou-se como um filme homogêneo, flexível, translúcido e inodoro, conforme mostrado pela Figura 9 e Figura 10. Além disso, não apresentou rachaduras ou fissuras visíveis em sua estrutura, nem diferenças em relação ao aspecto, cor ou odor, quando comparado com o controle negativo, podendo ser então classificada como sem alteração em relação a este controle.

5.1.2 Ensaio Físico-Químicos

O pH médio da amostra, determinado à temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) e em triplicata, foi de $5,40 \pm 0,17$, portanto, compatível com o pH cutâneo que, de acordo com Takagi *et al.* (2015), é de aproximadamente 5,0. A espessura média encontrada para a amostra foi de 0,169 cm.

Figura 9 - Aspecto do filme polimérico biodegradável contendo levana



Fonte: Autor (2022).

Figura 10 - Aspecto do filme aplicado na região do colo

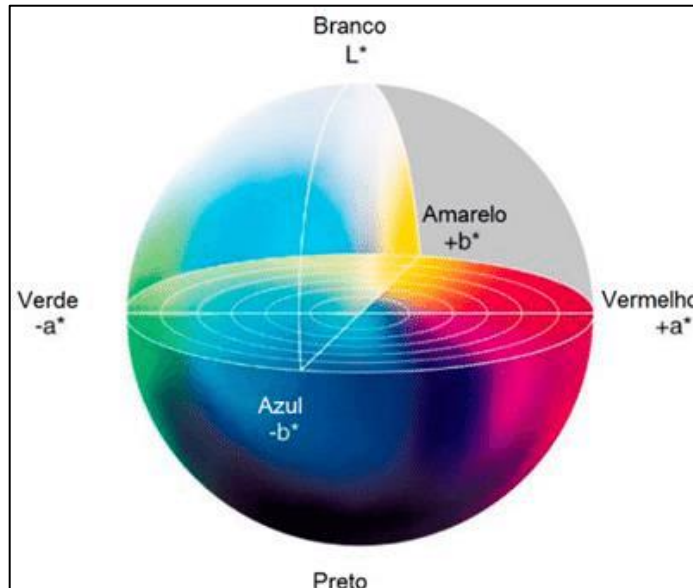


Fonte: Autor (2022).

Em relação à coloração/opacidade da amostra, foi empregado o sistema de cores CIE Lab, que expressa cores de forma objetiva através de três parâmetros: L*

(luminosidade), a^* (verde-vermelho) e b^* (amarelo-azul), conforme demonstrado pela Figura 11.

Figura 11 - Representação gráfica do sistema de cores CIE Lab



Fonte: Da Silva *et al.* (2016).

A amostra foi submetida à análise pelo colorímetro por cinco vezes, fornecendo os seguintes valores (médios) para os parâmetros: $L^* = 82,85$; $a^* = 1,14$; $b^* = -1,65$. Segundo Takatsui (2011), o parâmetro L^* varia entre 0 (cor preta) e 100 (cor branca) e quanto mais próximos de zero forem os parâmetros a^* e b^* , mais próximo das cores neutras (como a branca) estará o objeto em análise. Sendo assim, os valores encontrados para a amostra analisada estão de acordo com esta declaração (L^* mais próximo de 100 e a^* e b^* próximos de 0); portanto a amostra se apresenta translúcida e exibe uma coloração mais próxima ao branco, conforme visto através da imagem 9. Flutuações nos valores destes parâmetros podem ser provenientes de luz espúria proveniente do próprio ambiente de análise, uma vez que a leitura é feita com o colorímetro em ambiente aberto e em presença de luz.

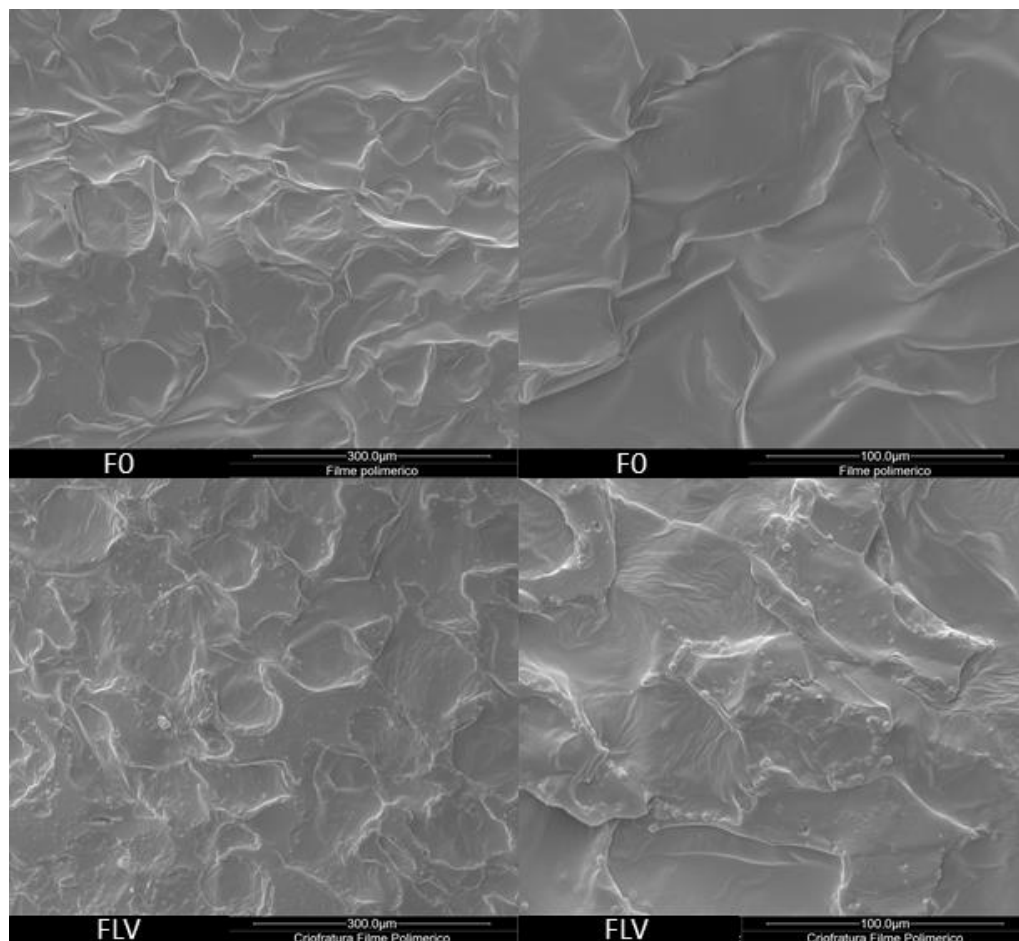
5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Realizada a análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV), as micrografias geradas (Figura 12) mostraram que tanto a formulação F0 quanto o filme

adesivo polimérico FVL, apresentaram estrutura homogênea e compacta, com ausência de fissuras ou fraturas em sua estrutura, atribuída provavelmente ao uso de ingredientes umectantes, como propilenoglicol e glicerol na formulação, tornando-o um filme flexível e não quebradiço quando manuseado. É possível afirmar que a adição da levana não influenciou na morfologia dos filmes adesivo polimérico. Todas essas características facilitam sua aplicação no colo cutâneo, sem comprometimento da estrutura durante o uso.

Pereira *et al.* (2021), também observaram que a adição de antioxidantes não afetou a morfologia dos filmes poliméricos, sugerindo que não houve grande alteração estrutural aos polímeros utilizados quando reagidos com levana.

Figura 12 - Micrografias da superfície dos filmes poliméricos F0 (Controle) e FVL (Com adição de levana).

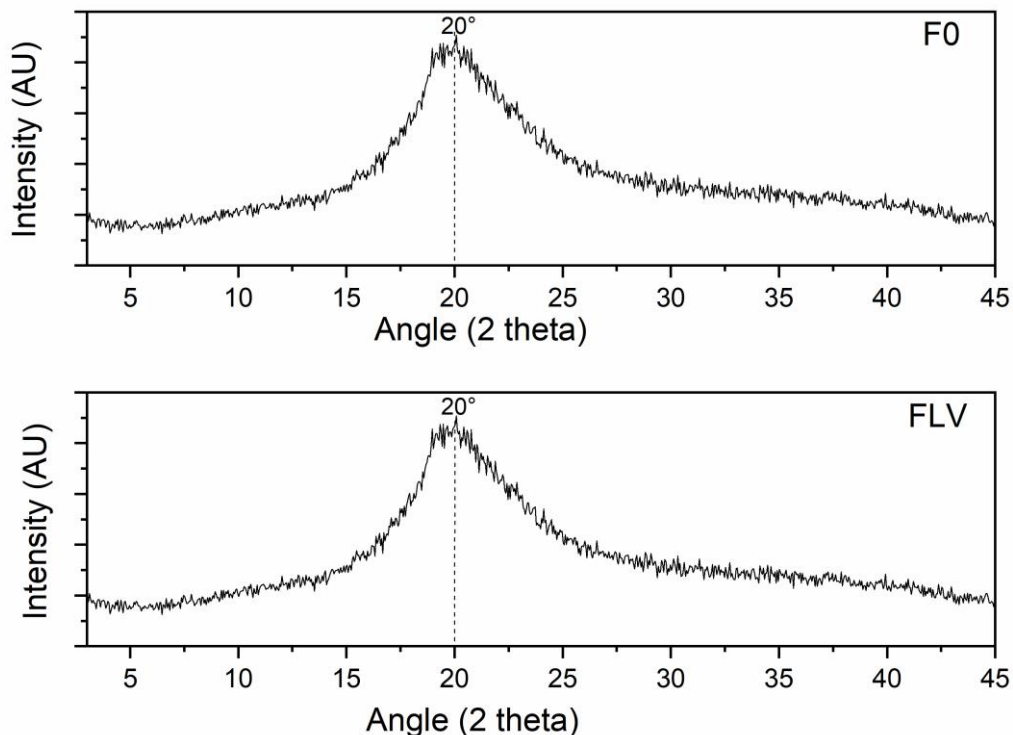


Fonte: Autor (2022).

5.1.4 Difração de Raios-X e Índice de Cristalinidade

Realizada esta análise, foi gerado o difratograma, representado na Figura 13. O pico observado em $2\theta = 20^\circ$ é característico de álcool polivinílico (FARIA, VERCELHESE, MALI, 2012). Possivelmente, a levana deve estar na forma amorfa neste filme, assim como no trabalho de Ragab e colaboradores (2020), e por isso não constam picos característicos dela no difratograma. A hidroxietilcelulose se mostra como um material de natureza semicristalina e seu pico característico provavelmente se sobrepõe ao do álcool, pois, segundo Trivedi e colaboradores (2015), este pico aparece próximo a $2\theta = 24^\circ$. Os filmes F0 (controle) e FLV (com levana) não demonstraram diferença nos picos dos difratogramas. O índice de cristalinidade, encontrado pelo programa computacional foi de 22,3%, para os filmes FLV, enquanto para as amostras F0 foi de 25%, o que demonstrou que a adição de levana não altera a organização cristalina dos filmes poliméricos.

Figura 13 – Difratogramas de DRX dos filmes poliméricos F0 (controle) e FLV (com levana).

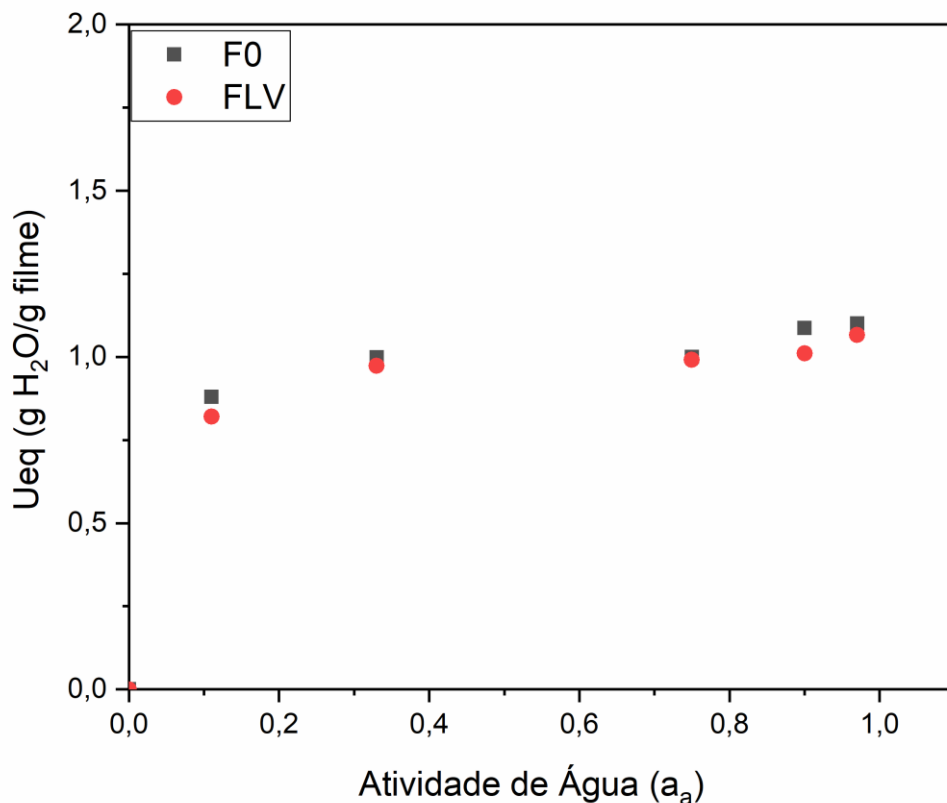


Fonte: Autor (2022).

5.1.5 Perfil de Sorção de Umidade

A realização deste teste resultou na isoterma mostrada na Figura 14, que apresenta a forma do tipo II, ou seja, sigmoide, o que era de se esperar, já que as formulações dos filmes produzidos (F0 e FLV) possuem polímeros hidrofílicos de peso molecular elevado (levana, álcool polivinílico e hidroxietilcelulose) e segundo Vicentini (2003) e Barreto, Pires e Soldi (2003), este tipo de isoterma é típico de polímeros com estas características. Um perfil semelhante de isoterma foi encontrado por Faria, Vercelhesse e Mali (2012), para filmes à base de álcool polivinílico e amido.

Figura 14 - Isotherma de sorção dos filmes poliméricos controle (F0) e com adição de levana (FVL).



Fonte: Autor (2022).

De acordo com a Figura 14, a atividade de água (A_a) aumentou até próximo de 0,4, o que indica que possivelmente os grupamentos hidroxila presentes nos

polímeros e na levana estejam interagindo entre si por ligações de hidrogênio, o que impede a ligação de moléculas de água aos polímeros, e conseqüentemente diminui a higroscopicidade do filme. Já entre 0,4 e 0,8 a Aa se mantém praticamente constante e a partir de 0,8 a Aa volta a elevar-se.

Baixa hidrofilicidade também foi descrita por Brandelero, Almeida e Favaro (2015) para um filme composto por PVOH, alginato e amido, que verificaram que tal efeito foi ocasionado pela interação entre os polímeros que compunham o filme, conseqüentemente reduzindo a capacidade de ligação de moléculas de água a estes polímeros.

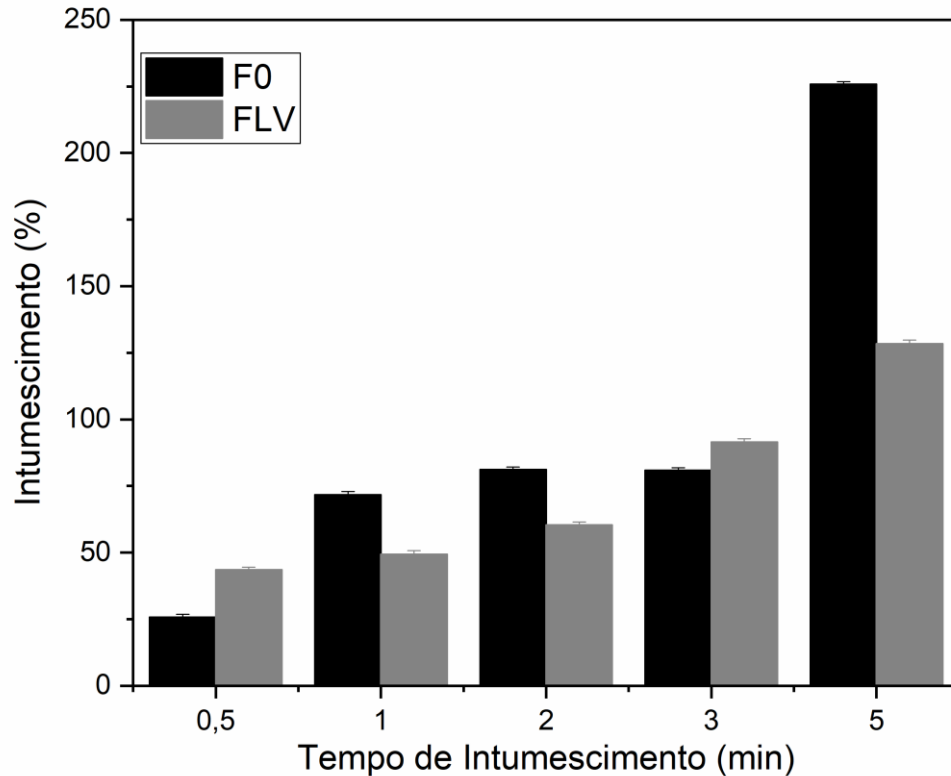
5.1.6 Grau de Intumescimento

O processo de intumescimento de um polímero depende basicamente da interação entre ele e o solvente e ocorre principalmente em três etapas, que são: a difusão do solvente por dentro a rede polimérica; o estiramento das cadeias poliméricas por conta da hidratação do material e a expansão e intumescimento da malha polimérica (MARTINS *et al.*, 2013).

A partir do perfil do gráfico (Figura 15) é possível dizer que o grau de intumescimento aumentou linearmente com o passar do tempo. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de os polímeros e o ativo terem vários grupos hidroxila expostos, o que contribui para a difusão de moléculas de água através da rede polimérica e conseqüente intumescimento do filme (PEREIRA, J. F.; LEONNI, A.A.S.G.; MALI, S., 2021).

O menor valor foi observado para F0, em 0,5 minutos (25,80 %) e o maior valor foi obtido para a amostra F0 em 5 min (225,85 %). Provavelmente, com a adição da levana, houve aumento das ligações de hidrogênio com os polímeros base do filme, impedindo a ligação com a água, conseqüentemente diminuindo o grau de intumescimento do material.

Figura 15 - Perfil de intumescimento dos filmes poliméricos com adição de levana (FLV) e controle (FLV)



Fonte: Autor (2022).

5.1.7 Solubilidade em Função do Tempo

Os valores observados para a solubilidade do filme polimérico com levana (FLV) foram baixos, variando entre 2,51 e 3,28%, conforme apresentado na Tabela 5. Através dessa tabela é possível verificar um aumento linear neste parâmetro com o passar do tempo. O controle também apresentou baixa solubilidade em Tampão de PSB.

A solubilidade do filme FLV, no caso, em solução tampão (aquosa) de PBS está relacionada com sua capacidade de se manter intacto mesmo frente à umidade ou a ambientes aquosos (VICENTINI, 2003). Sendo assim, os resultados observados indicam que o filme apresenta integridade mesmo em ambientes aquosos ou com umidade elevada, como a pele suada, por exemplo.

Tabela 5 - Perfil de solubilidade dos filmes poliméricos, F0 e FLV ao longo do tempo

Amostras	0,5 min	1 min	5 min
F0	1,49 ± 0,42 ^b	1,996 ± 0,83 ^b	2,44c± 0,83 ^b
FLV	2,051 ± 0,21 ^a	2,361 ± 0,06 ^a	3,356 ± 0,06 ^a

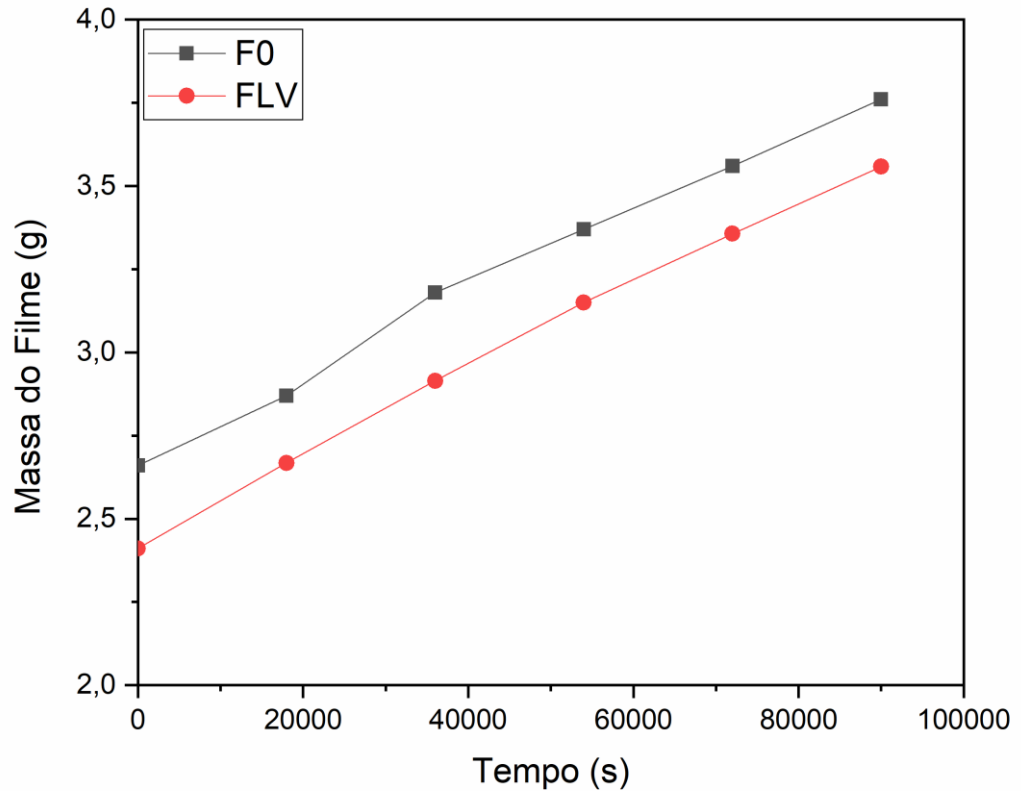
Fonte: Autor (2022).

5.1.8 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A partir dos dados de tempo e ganho de massa dos filmes foi construído o gráfico mostrado pela Figura 16. Pelo gráfico, é possível observar que a permeabilidade aumenta linearmente com o passar do tempo.

Feito o ajuste linear dos dados do gráfico, foi comparado o coeficiente angular da reta obtida pelo ajuste com o da equação 4 e assim, obteve-se um valor de PVA de $1,274 \times 10^{-13} \text{ g Pa}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para o filme com adição de levana (FLV), e um valor de PVA de $1,1134 \times 10^{-17}$ para o filme controle (F0).

Figura 36 – Permeabilidade ao Vapor de água dos filmes poliméricos F0 (controle) e FLV (com adição de levana).



Fonte: Autor (2022).

A PVA pode ser entendida como uma medida da facilidade com que o vapor de água penetra num determinado material, no caso, o filme, e depende de fatores como a atividade de água, temperatura, espessura do material e quantidade de plastificante (MALI, GROSSMANN, YAMASHITA, 2010; RESTA, MALI, 2019). Segundo Resta e Mali (2019), o PVOH tende a aumentar conforme a concentração de plastificantes hidrofílicos, como glicerol e propilenoglicol presentes na formulação.

O glicerol é um plastificante que contribui para a hidrofiliabilidade do filme por conta dos grupos hidroxila, e conseqüentemente aumenta a absorção de água pelo filme, que então se expande e aumenta o volume livre entre as cadeias poliméricas, o que facilita a passagem de vapor de água pela estrutura do filme e faz com que a PVA aumente (MARTELLI *et al.*, 2006; MALI, GROSSMANN, YAMASHITA, 2010; RESTA,

MALI, 2019). Os filmes com levana apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água, comparado com o filme F0. É possível que grupamentos polares (OH-, por exemplo) e às orientações espaciais da levana, favoreçam as suas interações com a matriz polimérica hidrofílica, diminuindo assim a solubilidade e a permeabilidade ao vapor de água destes materiais (SUEIRO *et al*, 2016)

5.1.9 Propriedades Mecânicas de Tração

As propriedades mecânicas estão apresentadas a Tabela 6, a amostra do controle, F0, apresentaram maiores valores de RMT (0,073MPa), porém não apresentaram diferença significativa com os filmes poliméricos FLV. A elongação dos filmes, foi significativamente maior na amostra F0 (controle), e os menores valores foram obtidos para os filmes poliméricos com adição de levana (44,875%). As propriedades mecânicas dos filmes poliméricos FLV demonstraram uma elongação mais restrita comparadas com os filmes poliméricos de controle, esta característica se deve provavelmente às interações do tipo ligações de hidrogênio, que podem ser estabelecidas entre as cadeias do polímero e a levana, o que deixa o material bastante quebradiço (MÜLLER, LAURINDO, YAMASHITA, 2009).

Tabela 6 – Propriedades mecânicas dos filmes poliméricos F0 (Controle) e FLV (adição de levana).

Amostras	RMT (MPa)	Elongação (%)
F0	0,073 ± 0,01 ^a	62,440 ± 5.87 ^a
FLV	0,046 ± 0,02 ^a	44,875 ± 6.06 ^b

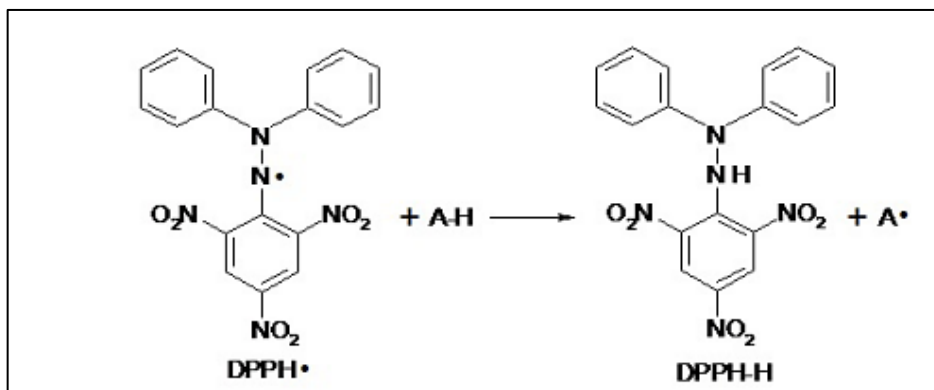
Fonte: Autor (2022).

5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA LEVANA

Realizado o teste para determinação da atividade antioxidante, através da equação 5 encontrou-se que a atividade antioxidante da levana foi de 74,9%. A concentração de levana utilizada no teste foi de 10%, mesma concentração incorporada nos filmes.

O teste de DPPH é um método muito utilizado na determinação da atividade antioxidante e esta reação se baseia na recepção de um próton (vindo da levana, neste caso) pelo radical estável de DPPH (inicialmente roxo), passando à forma reduzida (DPPH₂), que apresenta coloração amarela (MISHRA, OJHA, CHAUDHURY, 2012), conforme a Figura 17.

Figura 47 - Reação de redução do radical DPPH (roxo) para DPPH₂ (amarelo)



Fonte: Oliveira (2015).

A atividade antioxidante de levana depende de sua concentração (normalmente aumenta com o aumento desta) e do microrganismo a partir do qual é produzida, por exemplo, no estudo de Pei e colaboradores (2020), a levana de *Bacillus megaterium* apresentou atividade de 35,34% na dosagem de 0,50 mg mL⁻¹ e 94,78% à 5,0 mg mL⁻¹. Os estudos de Bouallegue e colaboradores (2020), feito com levana de *Bacillus subtilis* AF17, a concentração de 0,10 a 2,00 mg mL⁻¹, o valor obtido foi entre 27,96 a 58,54%. Já no trabalho de Da Silva e colaboradores (2020), a levana de *Bacillus subtilis natto* mostrou atividade de até 58% nas concentrações entre 1,00 e 10,00 mg mL⁻¹. Por estes e outros trabalhos, como o de Abdel-Fattah e colaboradores (2012),

sabe-se que a levana apresenta expressiva atividade antioxidante, mostrando-se um ativo com potencial aplicação no setor cosmético.

5.3 CITOTOXICIDADE

A citotoxicidade dos filmes poliméricos testados, F0 e FLV, estão apresentadas na tabela 7. Não houve diferença significativa entre os filmes do controle (F0) e com adição de levana (FLV), exceto na diluição 0,63%, onde a viabilidade celular do filme com adição de levana apresentou maior viabilidade celular. Foi possível observar que houve maior viabilidade celular nas amostras com 0,16% de diluição, isso demonstra que os filmes poliméricos produzidos não apresentam toxicidade celular, resultados semelhantes foram apresentados por KIM, *et al.*(2003), na patente produzida por esses pesquisadores, há relato da baixa toxicidade de levana em mistura polimérica, sendo viável seu uso em produtos cosméticos.

Tabela 7 - Avaliação da Viabilidade celular dos filmes F0 e FLV.

DILUIÇÃO	VIABILIDADE CELULAR %	
	FLV	F0
5%	7,173 ± 0,01 ^a	6,900± 0,01 ^a
2,50%	27,465± 0,01 ^a	24,869 ± 0,04 ^a
1,25%	61,831± 0,03 ^a	64,701 ± 0,07 ^a
0,63%	80,414± 0,04 ^a	61,216± 0,03 ^b
0,31%	79,799± 0,07 ^a	79,162± 0,04 ^a
0,16%	83,215± 0,07 ^a	83,830± 0,04 ^a

5.4 ESTABILIDADE PRELIMINAR

Após 15 dias do estudo realizado pelo ciclo gelo-degelo, as amostras foram verificadas e não foram observadas alterações nas características organolépticas, o que confirma a estabilidade delas frente ao estresse térmico a que foram submetidas nas três temperaturas estudadas (4 ± 2 °C, 25 ± 2 °C e 40 ± 2 °C). No entanto, aquelas que permaneceram armazenadas por 15 dias somente em geladeira, se tornaram um pouco mais pegajosas que as que ficaram somente em estufa por 15 dias e as que sofreram o estresse térmico pelo ciclo gelo-degelo. Enquanto a que foi mantida em temperatura ambiente permaneceu inalterada. Sendo assim, permite-se prever que o produto pode ser armazenado em ambiente de prateleira, o que facilita sua estocagem e comercialização.

Os filmes foram acondicionados em embalagens de alumínio (Figura 18), que garantiu uma boa estabilidade em temperatura ambiente e frente ao estresse térmico que os filmes foram expostos. Entretanto, não garantiu uma boa estabilidade para as amostras que ficaram 15 dias apenas em geladeira, pois as alterações sofridas pelos filmes, sugeriram que esta embalagem permitiu a passagem de vapor de água. Portanto, este tipo de embalagem pode ser indicado como uma possível candidata para embalar a formulação final do produto para ser estocada em temperatura ambiente.

Figura 18 - Embalagem usada no teste de estabilidade preliminar



Fonte: Autor (2022).

O teste de estabilidade preliminar serve para prever possíveis alterações frente a flutuações de temperatura a que um produto pode ser submetido, permitindo prever seu comportamento diante de estresse térmico e assim, antecipar futuras instabilidades que sobrevenham à formulação, permitindo também que o produto seja reformulado, caso seja necessário (BRASIL, 2004).

Tempo de estocagem, temperatura, luz e oxigênio, umidade e material da embalagem são alguns dos fatores que influenciam a estabilidade de uma formulação (BRASIL, 2004), o que esclarece o comportamento das amostras mantidas em estufa e em geladeira.

6 CONCLUSÃO

Foi desenvolvida uma formulação, de uso tópico, na forma de um filme adesivo polimérico contendo ingredientes veganos e biodegradáveis, não impactando, portanto, o meio ambiente. Com pH compatível com o da pele humana (cerca de 5,0), o filme pode ser aplicado na pele sem alteração deste parâmetro. Macroscopicamente, esta formulação apresentou-se como um filme inodoro, translúcido, com flexibilidade e boa adesividade na pele, sendo facilmente manuseável pelo usuário, e microscopicamente, mostrou-se homogênea e ausente de microfraturas em sua estrutura. Foi constatado também que a levana apresenta propriedades antioxidante e hidratante, além de ser segura para o uso em humanos, o que a torna um ativo com potencial aplicação em produtos cosméticos.

Pode-se concluir que o filme se mostra um produto promissor para o tratamento do envelhecimento cutâneo do colo de mulheres, que vem de encontro com a demanda do atual mercado de cosméticos, em que os consumidores estão buscando cada vez mais produtos naturais, veganos, sustentáveis e *cruelty free*, podendo assim, interessar às indústrias cosméticas e farmácias magistrais, tendo aplicação na área de saúde e estética.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, A .M.; GARNAL-ELDEEN, A. M. G. . Antitumor and antioxidant activities of levan and its derivative from the isolate *Bacillus subtilis* NRC1aza. **Carbohydrate polymers**, v. 89, n. 2, p. 314-322, 2012.
- ALVES, N. C. Penetração de ativos na pele: revisão bibliográfica. **Amazonia: science & health**, v. 3, n. 4, p. 36-43, 2015.
- ASLAM, M.; KALYAR, M. A.; RAZA, Z. A. Polyvinyl alcohol: A review of research status and use of polyvinyl alcohol-based nanocomposites. **Polymer Engineering & Science**, v. 58, n. 12, p. 2119-2132, 2018.
- AVENDAÑO-ROMERO, G.; LÓPEZ-MALO, A.; PAOLU, E. Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. **Temas selectos de Ingeniería de Alimentos**, v. 7, n. 1, p. 87-96, 2013.
- AZEVEDO, L. C.; AS. A. S. C.; ROVANI, S.; FUNGARO, D. A. Propriedades do amido e suas aplicações em biopolímeros. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, p. 351, 2018.
- BAKER, M. I.; STEVEN, P. W.; ZVI SCHWARTZ, B. D. B. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 100, n. 5, p. 1451-1457, 2012.
- BARRETO, P. L. M; PIRES, A. T. N; SOLDI, V. **Propriedades mecânicas e isotermas de sorção de umidade de filmes de caseinato de sódio**. 2003. Disponível em: < <https://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2003/Document/412.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2022.
- BATISTIOLI, C. **Handbook of biodegradable polymers**. 3ª ed. Itália: De Gruyter, 2020.
- BENÍTEZ, J. M.; MONTÁNS, F. J. The mechanical behavior of skin: Structures and models for the finite element analysis. **Computers & Structures**, v. 190, p. 75-107, 2017.

BENTO, B.S. **Fotoenvelhecimento cutâneo: processos/produto**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto superior de ciências Egas Moniz, Portugal, 2015.

BERNARDO, A. F. C.; SANTOS, K.; SILVA, D. P. Pele: alterações anatômicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. **Revista Saúde em Foco**, v. 1, n. 11, p. 1221-33, 2019.

BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Fish gelatin. **Advances in food and nutrition research**, v. 60, p. 119-143, 2010.

BOUALLEGUE, A. CASILLO, A.; CHAARI, F.; LAGATTA, A.; LANZETTA, R.; CORSARO, M. M.; BACHOUAL, R.; ALLOUZ, S. C. Levan from a new isolated *Bacillus subtilis* AF17: Purification, structural analysis and antioxidant activities. **International journal of biological macromolecules**, v. 144, p. 316-324, 2020.

BRANDELERO, R. P.H; ALMEIDA, F.M. de; ALFARO, A. Microestrutura e propriedades de filmes de amido-álcool polivinílico-alginato adicionados de óleos essenciais de copaíba e capim limão. **Química Nova**, v. 38, p. 910-916, 2015.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2008.

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

BURNETT, C. L. Polyvinyl alcohol. **International journal of toxicology**, v. 36, n. 5_suppl2, p. 46S-47S, 2017.

CAMPIM, N.P; FERREIRA, G. M. D. **Filmes biodegradáveis formados por taninos condensados e álcool polivinílico modificado**. 2019. Disponível em: <<http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobecic2019/EMN58.pdf>>. Acesso em: 23 abr. 2021.

CAMPOS, C. de. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de resíduos da fabricação de cápsulas nutracêuticas**. 2014. Dissertação (Mestrado

em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CESTARI, S. da C. P. **Dermatologia pediátrica – diagnóstico e tratamento**. Ed: 1º: Editora dos editores, 2019, 784 p.

CHEN, Q.; YU, H. WANG, L.; ABDIN, Z. U.; CHEN, Y.; WANG, J.; ZHOU, W.; YANG, X.; KHAN, R. U.; ZHANG, H.; CHEN, X. Recent progress in chemical modification of starch and its applications. **Rsc Advances**, v. 5, n. 83, p. 67459-67474, 2015.

CHI, Y.; YE, H.; LI, H.; LI, Y.; GUAN, H.; MOU, H.; WANG, P. Structure and molecular morphology of a novel moisturizing exopolysaccharide produced by *Phyllobacterium* sp. 921F. **International journal of biological macromolecules**, v. 135, p. 998-1005, 2019.

CHOI, W.; HWANG, Y.; SAHU, A.; MIN, K.; SUNG, D.; TAE, G. An injectable and physical levan-based hydrogel as a dermal filler for soft tissue augmentation. **Biomaterials science**, v. 6, n. 10, p. 2627-2638, 2018.

DA SILVA, M. G.; SILVA, A. B.; GIACOMINI, F.; ARZANI, V. C.; FERREIRA, F. L.; RUGGERI, T. Tingimento de têxteis com o corante natural extraído dos excrementos do bicho-da-seda. **4º CONTEXMOD**, v. 4, n. 1, 2016.

DA SILVA, Reginara Teixeira et al. Propriedades biológicas da levana de *Bacillus subtilis* natto e do óleo essencial de canela para aplicação em formulações cosmecêuticas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23009-23024, 2020.

DA SILVA, Reginara Teixeira et al. Propriedades biológicas da levana de *Bacillus subtilis* natto e do óleo essencial de canela para aplicação em formulações cosmecêuticas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23009-23024, 2020.

DA SILVA, R. T.; BERSANETTI, G. T.; CHIDEROLI, R. T.; PEREIRA, U. P.; LONNI, A. A. S. G.; BIGOTTO, B. G. Propriedades biológicas da levana de *Bacillus subtilis* natto e do óleo essencial de canela para aplicação em formulações cosmecêuticas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23009-23024, 2020.

DAWES, E. A.; RIBBONS, D. W.; REES, D. A. Sucrose utilization by *Zymomonas mobilis*: formation of a levan. **Biochemical Journal**, v. 98, n. 3, p. 804, 1966.

DIAS, L. W. **Preparação de filmes biodegradáveis poliméricos para aplicação em embalagens para cosméticos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre.

DOMŻAŁ-KĘDZIA, M.; LEWISKA, A.; JAROMIN, A. Fermentation parameters and conditions affecting levan production and its potential applications in cosmetics. **Bioorganic chemistry**, v. 93, p. 102787, 2019.

DOPPALAPUDI, S.; SURUMARAN, K. R.; DIVYA, J. M. Biodegradable polymers—an overview. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 25, n. 5, p. 427-435, 2014.

DOS SANTOS, L. F. De MELO, W. J.; PAIVA, R.D.B, ROMANIAN, R. H. J. Characterization and optimization of levan production by *Bacillus subtilis* natto. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 18, n. 4, p. 8413-8422, 2013.

FARIA, F. de O.; VERCELHEZE, A.E. S.; MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita. **Química Nova**, v. 35, p. 487-492, 2012.

FRANKEN, J.; BRANDT, B. A.; SIEW, L.; TAI, F. B. Biosynthesis of levan, a bacterial extracellular polysaccharide, in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **PloS one**, v. 8, n. 10, p. e77499, 2013.

FREITAS, R. L.M. **Efeito da temperatura de resfriamento sobre as propriedades de polímeros amorfos e semicristalinos**. 2014. Projeto de graduação (Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

GAAZ, T. S.; SULONG, A.B; AKHTAR, M.N.; KADHYM, A.A.H. Properties and applications of polyvinyl alcohol, halloysite nanotubes and their nanocomposites. **Molecules**, v. 20, n. 12, p. 22833-22847, 2015.

GOLETZ, S.; ZILLIKENS, D.; SCHMIDT, E. Structural proteins of the dermal-epidermal junction targeted by autoantibodies in pemphigoid diseases. **Experimental dermatology**, v. 26, n. 12, p. 1154-1162, 2017.;

GROSS, M. GEIER, G.; RUDOLPH, K. GEIDER, K. Levan and levansucrase synthesized by the fireblight pathogen *Erwinia amylovora*. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 40, n. 6, p. 371-381, 1992.

GUPTA, P. L.; OZA, T.; RAJPUT, M.; TRIVEDI, U. SANGHVI, G. Eminence of microbial products in cosmetic industry. **Natural products and bioprospecting**, v. 9, n. 4, p. 267-278, 2019.

HAN, Y. W.; WATSON, M. A. Production of microbial levan from sucrose, sugarcane juice and beet molasses. **Journal of industrial microbiology**, v. 9, n. 3, p. 257-260, 1992.

HARADA, T.; SUZUKI, S.; TANIGUCHI, H.; SASAKI, T. Characteristics and applications of a polyfructan synthesized from sucrose by *Aspergillus sydowi conidia*. **Food hydrocolloids**, v. 7, n. 1, p. 23-38, 1993.

HUANG, T. TIANQUI, H.; HANG, J.; YAN, G. Polymeric antimicrobial food packaging and its applications. **Polymers**, v. 11, n. 3, p. 560, 2019.

IBARRA, R.M. **Carbon fiber recovery using subcritical and supercritical fluids for chemical recycling of thermoset composite materials**. 2014. Tese de Doutorado. Universidad Autónoma de Nuevo León, 2014.

JANG, H.J.; SHIN, C. Y.; KIM, K. B. Safety evaluation of polyethylene glycol (PEG) compounds for cosmetic use. **Toxicological research**, v. 31, n. 2, p. 105-136, 2015.

JATHORE, N. R. BULE, M. V; TILAY, A.V. Microbial levan from *Pseudomonas fluorescens*: Characterization and medium optimization for enhanced production. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 4, p. 1045-1053, 2012.

KAIM, Maiara; BACKES, Luana Taís Hartmann. Envelhecimento celular: teorias e mecanismos. **REVISTA SAÚDE INTEGRADA**, v. 12, n. 23, p. 178-189, 2019.

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. **Ageing research reviews**, v. 21, p. 16-29, 2015.

KO, H.; BAE, J.H; SUNG, B.H.; KIM, M. J.; KIM, C. H. Efficient production of levan using a recombinant yeast *Saccharomyces cerevisiae* hypersecreting a bacterial levansucrase. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 46, n. 11, p. 1611-1620, 2019.

KIM, Ki Ho et al. Cosmeceutical properties of levan produced by *Zymomonas mobilis*. **Journal of cosmetic science**, v. 56, n. 6, p. 395-406, 2005.

Kim, K.; Kim, K.; Ryo, O.; Lee, T.; Kim, T. Cosmetic composition containing levan having cell proliferation, skin-moisturizing and irritation-alleviating effects. Japanese Patent 2003277225, 2003. Disponível em:
<https://patents.google.com/patent/JP2003277225A/en>. Acesso em: 18 de julho de 2019.

LANGTON, A. K.; HALAI, P.; GRIFFITHS, C. E. M.; SHERRATT, M. J.; WATSON, R. E.B. The impact of intrinsic ageing on the protein composition of the dermal-epidermal junction. **Mechanisms of ageing and development**, v. 156, p. 14-16, 2016.

LI, X. Anti-aging cosmetics and its efficacy assessment methods. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, p. 012043, 2015.

LIMA, F. P. P. Envelhecimento cutâneo da pele: relação entre o excesso de carboidratos e a Reação de Maillard na formação de produtos de glicação avançada (AGES). **Scire Salutis**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2019.

LIU, J.; LUO, J.; YE, H.; ZENG, X. Preparation, antioxidant and antitumor activities in vitro of different derivatives of levan from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p.767-772, 2012.

LIU, L.; KUFFEL, K.; SCOTT, D. K.; CONSTANTINESCEU, H. J. C.; RIEGER, J. Silicone-based adhesives for long-term skin application: cleaning protocols and their effect on peel strength. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 4, n. 1, p. 015004, 2017.

MAITZ, M. F. Applications of synthetic polymers in clinical medicine. **Biosurface and Biotribology**, v. 1, n. 3, p. 161-176, 2015.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-155, 2010.

- MANTOVAN, J.; MARIM, B.M.; GIRALDO, G. A.G.; MALI, S. Use of microbial levan in edible films based on cassava starch. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 18, p. 31-36, 2018.
- MARIN, E.; ROJAS, J.; CIRO, Y. A review of polyvinyl alcohol derivatives: Promising materials for pharmaceutical and biomedical applications. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 8, n. 24, p. 674-684, 2014.
- MARTELLI, S. M. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. **LWT-Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 292-301, 2006.
- MARTINS, T. **Estudo do grau intumescimento e transmissão de vapor d'água de hidrogéis de quitosana reticulados quimicamente com ácido adípico**. 2013. Disponível em: <<http://e-democracia.com.br/cbpol/anais/2013/pdf/6ENM.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2022.
- MATSUHIRA, H.; TAMURA, K.; TAMAGAKE, H.; SATO, Y. High production of plant type levan in sugar beet transformed with timothy (*Phleum pratense*) 6-SFT genes. **Journal of biotechnology**, v. 192, p. 215-222, 2014.
- MAZZARELLO, V., FERRARI, M.; BULLA, A.; PIU, G. M. Antiwrinkle effect of topical adhesive pads on crow's feet: How long does the effect last for?. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 17, n. 3, p. 484-490, 2018.
- MAZZARELLO, V.; PIGA, G.; DETTORI, S.; CURRELI, E. short test evaluation of the anti-wrinkles efficacy of topical adhesive pads. **Short test evaluation of the anti-wrinkles efficacy of topical adhesive pads**, p. 117-117, 2011.
- MEDEIROS, K. M. de; LIMA, C. A. P. de. **Novas tendências sustentáveis: os biopolímeros e os polímeros biodegradáveis**. 2020. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/editora/anais/conapesc/2020/TRABALHO_EV138_MD4_SA23_ID1194_11112020190404.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2021.
- MENOITA, E.; SANTOS, V.; SANTOS, A.S. **A pele na pessoa idosa**. 2013. Disponível em: <<https://journalofagingandinnovation.org/pt/volume2-edicao1-janeiro2013/a-pele-na-pessoa-idosa/>>. Acesso em: 16 mar. 2021.

MENON, G. K.; CLEARY, G. W.; LANE, M. E. The structure and function of the stratum corneum. **International journal of pharmaceutics**, v. 435, n. 1, p. 3-9, 2012.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

MOHAMED, M. I.; HAIDER, M.; MOHAMED ALI, M. A. Buccal mucoadhesive films containing antihypertensive drugs: in vitro/in vivo evaluation. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 6, p. 665-686, 2011.

MORONE, J.; ALFEUS, A.; VASCONCELOS, V.; MARTINS, R.. Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals—A new bioactive approach. **Algal Research**, v. 41, p. 101541, 2019.

MÜLLER, C. M. O; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-based films at different relative humidity values. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 293-299, 2009.

NI, D.; YU, W.; BAI, Y.; ZHANG, T.; MU, W. Biosynthesis of levan from sucrose using a thermostable levansucrase from *Lactobacillus reuteri* LTH5448. **International journal of biological macromolecules**, v. 113, p. 29-37, 2018.

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.

PEI, F.; MA, Y.; CHEN, H.; LIU, H. K. Purification and structural characterization and antioxidant activity of levan from *Bacillus megaterium* PFY-147. **International journal of biological macromolecules**, v. 161, p. 1181-1188, 2020.

PEREIRA, J. F.; LEONNI, A.A.S.G.; MALI, S. Development of biopolymeric films with addition of vitamin C and catuaba extract as natural antioxidants. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 52, p. 1-10, 2021.

PERIOLI, L.; AMBROGI, V.; RUBINI, D.; GIOVAGNOLI, S. Novel mucoadhesive buccal formulation containing metronidazole for the treatment of periodontal disease. **Journal of Controlled Release**, v. 95, n. 3, p. 521-533, 2004.

RAGAB, T. I. M.; AWDAN, S.A.; BASSYOUNI, G. T. Role of levan extracted from bacterial honey isolates in curing peptic ulcer: In vivo. **International journal of biological macromolecules**, v. 142, p. 564-573, 2020.

RAMOS-E-SILVA, M.; CELEM, L.R.; RAMOS, S. E SILVA, R. G. Anti-aging cosmetics: Facts and controversies. **Clinics in dermatology**, v. 31, n. 6, p. 750-758, 2013.

RAZAK, S. I. A.; SHARIF, N. F. A; RAHMAN, W. A. W. A. Biodegradable polymers and their bone applications: a review. **Int J Basic Appl Sci**, v. 12, p. 31-49, 2012.

RESENDE, F. O.; RODRIGUES-FILHO, E.; LUFTMANN, H.; PETEREIT, F.;MELLO, J. C. P. D. Phenylpropanoid Substituted Flavan-3-Ols from *Trichilia catigua* and Their In Vitro Antioxidative Activity. **J. Braz. Chem. Soc.** V. 22, p. 2087–2093, 2011.

RESTA, Vitoria G.; MALI, Suzana. Efeito de sacarose e glicerol como plastificantes em filmes orodispersíveis de amido e gelatina. **Iniciação Científica Cesumar**, v. 21, n. 1, 2019.

RITTIÉ, L.; FISHER, G. J. Natural and sun-induced aging of human skin. **Cold spring harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2015.

ROCHA, C. A.; SILVA, E. de F.; SOUZA, R. C. C. de. **Polímero de entretenimento: uma macromolécula biodegradável**. 2013. Monografia (Bacharelado em Química) - Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium (UNISALESIANO), Lins, 2013.

RODRIGUES, F.CÁDIZ, M.; GURREA, L. Cosmetics. In: **Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications**. Woodhead Publishing, p. 393-427, 2018

SANTOS, G. T. **Filmes poliméricos biodegradáveis a partir da gelatina da pele de tilápia-do-Nilo**. 2017. Mestrado (Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.

SANTOS, L. F.; PINEDA, E. A. G.; MELO, F. C. B. C. M.; CELLIGOI, M. A .P.C. C.; CAVALCANTI, O.A. Levan in the developing of new colon-specific polymer material: evaluation of the permeability, moisture and thermal analyses in free films of Eudragit® FS 30 D. **Acta Scientiarum**, v. 43, n. 2, p. 185-191, 2012.

SILVA, R. T.; BERSANETU, G. T.; LONNI, A. A. S. G.; CELLIGOI, M. A. P. C. Produção de levana e sua aplicação em cosméticos In: **A Produção do**

Conhecimento nas Ciências Biológicas. 1 ed. Ponta Grossa: Atena Editora, 2019, v.1, p. 22-35

SHANBHAG, S.; NAYAK, A.; NARAYAN, R.; NAYAK, Y. Anti-aging and sunscreens: paradigm shift in cosmetics. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 9, n. 3, p. 348, 2019.

SJÖVALL, P.; SKEDUNG, L.; GREGOIRE, S.; BIGANSKA, O. Imaging the distribution of skin lipids and topically applied compounds in human skin using mass spectrometry. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. **Envelhecimento**. 2017. Disponível em: <<https://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/doencas-e-problemas/envelhecimento/4/>>. Acesso em: 15 mar. 2021.

SONG, R.; MURPHY, M.; LI, C.; TING, K.; SOO, C. Current development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications. **Drug design, development and therapy**, v. 12, p. 3117, 2018.

SRIKANTH, R.; SIDDARTA, G.; REDDY, C. H. S. S. HARISH, B.S. Antioxidant and anti-inflammatory levan produced from *Acetobacter xylinum* NCIM2526 and its statistical optimization. **Carbohydrate polymers**, v. 123, p. 8-16, 2015.

SRIKANTH, R.; SIDDARTHA, G.; REDDY, C. H. S. S.S. HARISH, B. S. Review on production, characterization and applications of microbial levan. **Carbohydrate polymers**, v. 120, p. 102-114, 2015.

SUEIRO, A. C.; FARIA-TISCHER, P. C. S.; LONNI, A. A. S. G.; MALI, S. Biodegradable films of cassava starch, pullulan and bacterial cellulose. **Quím. Nova**, v. 39, n. 9, p. 109- 122, 2016.

SUNTORNOND, R.; AN, J.; YEONG, W.Y. Biodegradable polymeric films and membranes processing and forming for tissue engineering. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 300, n. 9, p. 858-877, 2015.

TAKAGI, Y.; KANEDA, M. M.; MATSUO, K. The long-term use of soap does not affect the pH-maintenance mechanism of human skin. **Skin Research and Technology**, v. 21, n. 2, p. 144-148, 2015.

TAKATSUI, F. **Sistema CIE Lab**: análise computacional de fotografias. 2011.

Disponível em: < [https://www.foar.unesp.br/Home/Pos-](https://www.foar.unesp.br/Home/Pos-Graduacao/LatoSensu/CienciasOdontologicas/takatsui_f_me_arafo.pdf)

[Graduacao/LatoSensu/CienciasOdontologicas/takatsui_f_me_arafo.pdf](https://www.foar.unesp.br/Home/Pos-Graduacao/LatoSensu/CienciasOdontologicas/takatsui_f_me_arafo.pdf)>. Acesso em: 06 jan. 2022.

TOMULESCU, C.; STOICA, R.; SEVCENCO, C.; CASARICA, A.; MOSCOVICI, M.; VAMANU, A. Levan - a mini review. **Sci Bull Ser F Biotechnol**, v. 20, p. 309-317, 2016.

TRIVEDI, M. K.; NAYAK, G.; PATIL, S.; TALLAPRAGADA, R. M.; MISHRA, R. Influence of biofield treatment on physicochemical properties of hydroxyethyl cellulose and hydroxypropyl cellulose. **Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research**, v. 3, n. 2, 2015.

VANPUTTE, C. L. **Anatomia e fisiologia de Seeley**. Tradução de (Aline Gonçalves Cozer et al.). 10ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. Tradução de : Seeley's anatomy and physiology.

VELLOSA, J.C. R.; BIAVATTI, M.; FRANÇOIA, P.C.O.; MELLO, B. J.; ALMEIDA, A. C.; BUENO, G. E. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2003.

VIEIRA, L. A. da S. L.; SOUZA, R. B. A. Ação dos Antioxidantes no Combate aos Radicais Livres e na Prevenção do Envelhecimento Cutâneo/Action of Antioxidants in Fighting Free Radicals and in Prevention of Skin Aging. **ID on line REVISTA DE PSICOLOGIA**, v. 13, n. 48, p. 408-418, 2019.

WEI, J-Z.; CHATTERTON, N. J. Fructan biosynthesis and fructosyltransferase evolution: expression of the 6-SFT (sucrose: fructan 6-fructosyltransferase) gene in crested wheatgrass (*Agropyron cristatum*). **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 9, p. 1203-1213, 2001.

ZAPATA, D.; PUJOL, R.; CODA, F. Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad de medio ambiente. **Técnica industrial**, v. 297, p. 76-80, 2012.

ZHANG, T.; LI, R.; QIAN, H.; MU, W.; MIAO, M.; JIANG, B. Biosynthesis of levan by levansucrase from *Bacillus methylotrophicus* SK 21.002. **Carbohydrate polymers**, v. 101, p. 975-981, 2014.