



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JÉSSICA FERNANDA PEREIRA

**FILMES BIOPOLIMÉRICOS COM AÇÃO ANTIOXIDANTE
PARA APLICAÇÃO DERMATOLÓGICA**

Londrina
2020

JÉSSICA FERNANDA PEREIRA

**FILMES BIOPOLIMÉRICOS COM AÇÃO ANTIOXIDANTE
PARA APLICAÇÃO DERMATOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira
Co-Orientadora: Profa. Dra Audrey A. S. Garcia
Lonni

Londrina
2020

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

J58 Pereira, Jéssica Fernanda.
Filmes Biopoliméricos com Ação Antioxidante para a Aplicação Dermatológica
/ Jéssica Fernanda Pereira. - Londrina, 2020.
72 f. : il.
Orientador: Suzana Mali de Oliveira.
Coorientador: Audrey Garcia Lonni.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de
Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia, 2020.
Inclui bibliografia.
1. Biopoliméros - Tese. 2. Vitamina C - Tese. 3. Extrato de Catuaba - Tese. I.
Mali de Oliveira, Suzana . II. Garcia Lonni, Audrey . III. Universidade Estadual de
Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia. IV. Título.

CDU 66

JÉSSICA FERNANDA PEREIRA

**FILMES BIOPOLIMÉRICOS COM AÇÃO ANTIOXIDANTE
PARA APLICAÇÃO DERMATOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Suzana Mali de
Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Nicole Caldas Pan
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Flávia Debiagi
Universidade Norte do Paraná – Unopar

Londrina, 21 de fevereiro de 2020.

Dedico este trabalho à meus pais, meu irmão, minha irmã, meu noivo e toda a minha família que sempre me apoiaram em todos os momentos dessa caminhada, sempre me incentivando e acreditando em minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre ter me abençoado, protegido e dado força nos momentos de dificuldades, mostrando que com sua ajuda tudo é possível.

À minha querida Universidade Estadual de Londrina que me ofereceu a oportunidade de realizar o curso com todo o suporte e ferramentas necessárias.

Agradeço minha orientadora a Prof. Dr. Suzana Mali por ter acreditado em mim todos esses anos. Sempre me ajudando com toda a paciência e sabedoria.

Aos meus pais Meire e Ademir, que são minha base e exemplo de vida. Em todos os momentos estiveram presentes me guiando e estimulando para eu desenvolver o meu melhor. Sempre me colocando em primeiro lugar para conseguir realizar esse sonho. Sem eles com toda a certeza não teria chego até aqui. Agradeço a Deus por ter me dado os melhores pais.

Aos meus irmãos Jaqueline e Wellington que sempre acreditaram no meu potencial. Em especial ao meu irmão por todo o investimento e confiança depositados em mim.

Ao meu noivo Diego por todo o amor, confiança e apoio em todos esses anos de relacionamento.

A todos os professores que me guiaram até aqui, me passando o conhecimento necessário para atingir todas as realizações alcançadas até esse momento.

A todos os meus amigos que foram de extrema importância nessa que foi uma fase muito importante da minha vida. Em especial as minhas amigas Beatriz, Amanda e Eloise que foram de extrema importância em todo esse tempo percorrido.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma foram presentes nesses anos de estudos e aprendizado, a vocês o meu muito obrigada!

“O Altíssimo deu-lhes a ciência da medicina para ser honrado em suas maravilhas; e delas se serve para acalmar as dores e curá-las; o farmacêutico faz misturas agradáveis, compõe unguentos úteis à saúde, e seu trabalho não terminará, até que a paz divina se estenda sobre a face da terra”

Eclesiástico 38, 6-8

PEREIRA, Jéssica Fernanda. **Filmes biopoliméricos com ação antioxidante para aplicação dermatológica**. 2020. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

O interesse no desenvolvimento de novos produtos obtidos a partir de matérias-primas de fonte renovável vem crescendo em todos os setores, incluindo a indústria farmacêutica e de cosméticos. Um exemplo disso são os filmes biopoliméricos, uma forma farmacêutica alternativa e promissora que tem sido empregada para a veiculação de fármacos e cosméticos. No presente trabalho, os objetivos foram a produção de filmes biopoliméricos à base de amido de mandioca e gelatina com a incorporação de antioxidantes naturais, como a vitamina C e o extrato de catuaba, em diferentes concentrações, sendo um produto natural livre de produtos derivados do petróleo como, por exemplo, parabenos, com vistas à sua aplicação na área dermatológica. O extrato bruto de catuaba foi obtido das cascas de planta e caracterizado quanto ao seu teor total de sólidos, atividade antioxidante e teor de polifenóis totais. Os filmes foram produzidos a partir da mistura de amido e gelatina, pela técnica de casting, com diferentes concentrações de vitamina C (0, 5, 7,5 e 10 g/100 g polímero) e de extrato de catuaba (0, 0,5, 1,0 e 1,5 g/100 polímero) e foram caracterizados quanto à sua microestrutura, solubilidade, grau de intumescimento, permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas, valores de pH, atividade antioxidante e liberação dos princípios ativos. Os filmes apresentaram boa aparência e homogeneidade, independente das concentrações de vitamina C ou do extrato de catuaba empregadas. Todos os filmes produzidos com a vitamina C e o extrato de catuaba tiveram a sua capacidade antioxidante demonstrada, mesmo aqueles produzidos com as menores concentrações dos antioxidantes. Os filmes adicionados de vitamina C apresentaram capacidade antioxidante variando entre 75 e 100 % de atividade sequestrante de radicais livres (ASR) medida pelo método do DPPH, enquanto os filmes com o extrato de catuaba apresentaram valores entre 6 e 57 % ASR. A formulação adicionada do extrato de catuaba na concentração de 1,5% e todas as formulações com a vitamina C se mostraram promissoras para o uso na indústria cosmética.

Palavras-chave: Biopolímeros. Vitamina C. Extrato de catuaba.

PEREIRA, Jessica Fernanda. **Biopolymeric films with antioxidant action for dermatological application.** 2020. 72 p. Dissertation (Master's Degree Biotechnology) – State University of Londrina, 2020.

ABSTRACT

Interest in developing new products made from renewable raw materials is growing in all sectors, including the pharmaceutical and cosmetics industry. An example of this is biopolymer films, a promising pharmaceutical alternative form that has been employed to the delivery of drugs and cosmetics. In the present work, the objectives were the production of cassava starch and gelatin biopolymeric films with the incorporation of natural antioxidants, such as vitamin C and catuaba extract, in different concentrations, with a view to their application in the dermatological area. Catuaba crude extract was obtained from plant bark and characterized by its total solids content, antioxidant activity and total polyphenols content. The films were produced from the mixture of starch and gelatin, by casting technique, with different concentrations of vitamin C (0, 5, 7.5 and 10 g / 100 g polymer) and catuaba extract (0, 0.5, 1.0 and 1.5g / 100 polymer) were characterized for their microstructure, solubility, swelling degree, water vapor permeability, mechanical properties, pH value, antioxidant activity and release of active ingredients. The films presented good appearance and homogeneity, regardless of the concentrations of vitamin C or catuaba extract employed. All films produced with vitamin C and catuaba extract had their antioxidant capacity demonstrated, even those produced with the lowest concentrations of antioxidants. Vitamin C films showed antioxidant capacity ranging between 75 and 100% free radical scavenging activity measured by the DPPH method, while films with catuaba extract showed values between 6 and 57%. The film formulation added with catuaba extract at a concentration of 1.5% and all formulations with vitamin C were promising to be used in the cosmetic industry.

Key words: Biopolymers. Vitamin C. Catuaba extract.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da amilose(a) e amilopectina(b)	19
Figura 2 – Esquema da reação de oxidação do ácido ascórbico ao ácido desidroascórbico com a formação do radical ascorbila.	28
Figura 3 – Árvore, folhas e cascas da T. catigua	29
Figura 4 – Catiguanina A (1), catiguanina B (2), cinchonaína A (3), cinchonaína B (4), cinchonaína C e D (5,6) isoladas de T. catiguá.....	30

ARTIGO CIENTÍFICO:

Figure 1 – Image of the films	55
Figure 2 – Scanning electron microscopy of films fracture	59
Figure 3 – Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FT-IR) of films	61
Figure 4 – Differential scanning calorimetry of films.	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações das soluções filmogênicas empregadas para o preparo dos Filmes.....	32
---	----

ARTIGO CIENTÍFICO

Table 1 – Antioxidant capacity of catuaba extract in different concentrations.....	54
Table 2 – Solubility of films at different times	56
Table 3 – Degree of swelling of films at different times.	57
Table 4 – Mechanical properties (elongation and tensile strength) and water vapor permeability (WVP) of films.	58
Table 5 – pH and thickness of films.	63
Table 6 – Antioxidant capacity of catuaba films measured by the DPPH method	64
Table 7 – Polyphenol total content released from catuaba films at different times.....	65
Table 8 – Vitamin C released from films at different times	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1	BIOPOLÍMEROS.....	17
3.1.1	Amido	18
3.1.2	Gelatina	21
3.2	FILMES BIODEGRADÁVEIS PRODUZIDOS POR BIOPOLÍMEROS.....	23
3.3	CAUSAS DO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO	25
3.4	ANTIOXIDANTES.....	26
3.4.1	Vitamina C	27
3.4.2	Extrato de Catuaba	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	MATERIAIS	31
4.2	MÉTODOS	31
4.2.1	Preparo do Extrato de Catuaba	31
4.2.2	Produção dos Filmes	31
4.2.3	Teor de Sólidos no Extrato Bruto	33
4.2.4	Caracterização dos Filmes	33
4.2.4.1	Espessura	33
4.2.4.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	33
4.2.4.3	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	34
4.2.4.4	Solubilidade e grau de intumescimento em diferentes tempos	34
4.2.4.5	Propriedades mecânicas	34
4.2.4.6	Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	35
4.2.4.7	Valor de pH	36

4.2.4.8	Difusão / liberação de vitamina C e dos polifenólicos totais dos filmes.....	36
4.2.4.9	Determinação do teor de vitamina C nos filmes	36
4.2.4.10	Determinação do teor de polifenóis totais no extrato de catuaba e nos filmes	36
4.2.4.11	Capacidade antioxidante dos filmes contendo vitamina C e extrato de catuaba pela captura de radical livre	37
4.2.4.12	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos filmes	38
4.2.5	Análise Estatística	38
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
7	CONCLUSÃO	66
	AGRADECIMENTOS.....	66
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a sustentabilidade é uma questão importante em diferentes setores, incluindo a indústria de cosméticos, que resultou em crescentes preocupações com a segurança dos cosméticos, impactos ambientais e sociais, envolvendo todas as fases do ciclo de vida dos produtos cosméticos. Com a sustentabilidade, aumenta o interesse na produção de cosméticos sem a adição de conservantes químicos, como por exemplo, produtos derivados do petróleo, parabenos, doadores de formaldeídos que são conhecidos por as vezes causarem alergias na população (BOM *et al.*,2019) .

Os filmes biodegradáveis quando direcionados para aplicação na indústria farmacêutica e de cosméticos funcionam como uma matriz polimérica que irá liberar um princípio ativo de interesse, e estes podem ser de diferentes classes e apresentar diferentes mecanismos de ação, mas inicialmente precisam ser solúveis em água, ou serem usados em formulações que permitam a sua solubilização na matriz polimérica estudada (SCARPA *et al.*, 2017).

A gelatina é uma proteína de baixo custo, obtida através da hidrólise ácida ou alcalina do colágeno isolado a partir de pele, ossos ou tecido conjuntivo de animais, amplamente empregada pela indústria farmacêutica. É facilmente solúvel em água a temperatura média de 40 °C, formando uma solução viscosa e com capacidade de formação de filmes e géis termoreversíveis, e essa característica vem sendo amplamente explorada em estudos envolvendo a produção de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis com as mais diversas aplicações (BORGES *et al.*, 2013; LAFFLEUR; STRASDAT, 2019).

Os amidos de diferentes fontes são considerados polímeros promissores para a produção de filmes biodegradáveis devido a sua elevada disponibilidade e diversidade de possibilidades de modificação química, física, enzimática ou genética, além de originar filmes resistentes. Porém, filmes produzidos exclusivamente por amido são frágeis e quebradiços, por isso é importante que este polímero seja empregado em misturas com outros polímeros que possam melhorar o seu desempenho (PRAJAPATI *et al.*, 2014, MALI *et al.*, 2010).

Autores relataram a produção de filmes biodegradáveis a partir da mistura de amido e gelatina, com diferentes aplicações, obtendo-se materiais com

melhores propriedades mecânicas que os polímeros puros, em especial quando se emprega o glicerol como plastificante (AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; FAKHOURI *et al.*, 2007; 2013; 2015; PODSHIVALOV *et al.*, 2017; GARCIA *et al.*, 2018; VERCELHEZE *et al.*, 2019), e com aplicações voltadas principalmente para o uso como filmes e revestimentos comestíveis para área de alimentos. Tanto o amido, como a gelatina são biopolímeros considerados não-tóxicos e não irritantes, e são listados como geralmente reconhecidos como seguros (GRAS - *Generally Recognized as Safe*) pela agência norte-americana que regula alimentos e medicamentos (FDA - *Food and Drug Administration*) (GARCIA *et al.*, 2018). Os filmes obtidos das misturas de amido e gelatina são translúcidos, sem cheiro ou sabor (PEREIRA; MARIM; MALI, 2019).

Os antioxidantes são substâncias que podem diminuir ou bloquear as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres. Algumas substâncias produzidas naturalmente pelo nosso organismo têm por objetivo estabelecer um equilíbrio harmônico entre a presença das moléculas oxidantes, os antioxidantes e a pele. Esta última, por sua área extensa e função protetora do organismo, fica muito exposta ao ataque radicalar, sendo a defesa antioxidante constantemente requisitada. Desta forma, é preocupação constante da cosmetologia prevenir e atenuar o envelhecimento cutâneo por meio da busca e do estudo de substâncias antioxidantes eficazes (SCOTTI *et al.*, 2007; AFONSO *et al.*, 2019)

O ácido ascórbico (vitamina C) é considerado como um potente antioxidante hidrossolúvel. Tem a capacidade de interferir na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) induzida pela radiação ultravioleta (UV) reagindo com ânions superóxido ou radicais hidroxila gerados no processo de oxidação e envelhecimento. Também tem o poder de reduzir radicais tocoferóis para que possam voltar em sua forma ativa presente nas membranas celulares, para assim manter a sua integridade nas células dos organismos aeróbios (OLIVEIRA *et al.*; 2011). Apresenta também muitas funções fisiológicas, dentre as quais está o alto poder antioxidante de reciclar a vitamina E no processo de peroxidação lipídica das membranas e lipoproteínas (SOUZA *et al.*, 2007).

Muitas plantas são conhecidas por apresentarem na sua composição substâncias antioxidantes, um exemplo é a *Trichilia catigua* A. Juss. (Meliaceae), que é popularmente conhecida no Brasil como catuaba, ou catinguá, catinguá vermelho, catuama, pau-ervilha e catuaba-do-norte (LONGHINI *et al.*, 2017).

A atividade antioxidante do extrato de catuaba foi confirmada por Lonni *et al.* (2012), que descreveu a presença de cinchonáinas, derivados do ácido gálico, polifenóis, flavonoides, catequinas e epicatequinas no extrato bruto de catuaba.

Diante disso, o presente trabalho teve como proposta o desenvolvimento de filmes biopoliméricos de baixo custo, confeccionados a partir de matérias-primas de fonte renovável, tendo como matriz polimérica o amido de mandioca e a gelatina, com a incorporação de princípios ativos antioxidantes de origem natural, como a vitamina C e o extrato de catuaba, para uso dermatológico. Sendo este um produto produzido sem a adição de parabenos e conservantes, possuindo base hidrofílica, se alinhando ao conceito de sustentabilidade, atendendo a demanda da indústria e do mercado por produtos mais naturais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes biopoliméricos à base de amido de mandioca e gelatina com a incorporação de princípios ativos antioxidantes de origem natural, como a vitamina C e o extrato de catuaba, com vistas à sua aplicação na área dermatológica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir o extrato de catuaba e caracterizá-lo quanto ao teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante;
- Caracterizar os filmes biodegradáveis produzidos quanto à sua microestrutura, propriedades de barreira, solubilidade e propriedades mecânicas.
- Determinar a capacidade antioxidante dos filmes incorporados com diferentes concentrações da vitamina C ou do extrato de catuaba.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 BIOPOLÍMEROS

Os biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis (ABNT-NBR 15448-1, 2008). As matérias-primas obtidas de fontes renováveis apresentam um ciclo de vida muito mais curto quando são comparadas com as de fontes fósseis como, por exemplo, os polímeros sintéticos plásticos derivados do petróleo (BRITO *et al.*, 2011). Outras vantagens além de serem de fonte renovável, na maioria das vezes são compostos biodegradáveis e biocompatíveis, ou seja, matérias-primas que não oferecem riscos, tais como reações adversas, tóxicas e carcinogênicas ao paciente (ISO 10993-1, 2009).

Atualmente, a classificação de biopolímeros engloba os biopolímeros biodegradáveis e não biodegradáveis (TAIATELE *et al.*, 2019). De acordo com Park *et al.* (2017), os biopolímeros biodegradáveis podem ser divididos em três grupos, de acordo com a sua origem. Os 3 grupos são: polissacarídeos (ex: amidos de diferentes fontes vegetais), proteínas (ex: gelatina) e de produção microbiana (ex: ácido polilático (PLA) e polihidroxibutirato (PHB)).

Dentre os biopolímeros não biodegradáveis estão os polímeros obtidos de fonte renovável, mas que não sofrem biodegradação, são também chamados de polímeros verdes. O termo polímero verde é atribuído aos polímeros que convencionalmente são sintetizados a partir de matéria-prima proveniente de fontes fósseis, mas que, devido a avanços tecnológicos também passaram a ser sintetizados a partir de matéria-prima proveniente de fontes renováveis. Desta forma para diferenciar o polímero obtido a partir de matéria-prima de fonte renovável do obtido do a partir de matéria-prima de fontes fósseis, o adjetivo verde é acrescentado ao nome do polímero. Exemplos de polímeros verdes são o polietileno verde (PE verde) e o policloreto de vinila verde (PVC verde), que não são biodegradáveis, entretanto, pelo fato de serem provenientes de fontes renováveis, são classificados como biopolímeros (BRITO *et al.*, 2011; TAIATELE *et al.*, 2019).

Dependendo da origem, o biopolímero pode ter baixo custo e elevada disponibilidade, como é o caso dos amidos de diferentes fontes e da gelatina, mas apesar de todas as vantagens, os biopolímeros de origem biológica

possuem algumas limitações técnicas que tornam difícil sua processabilidade e seu uso como produto final. Limitações tais como processabilidade, resistência térmica, propriedades mecânicas, propriedades reológicas, permeabilidade a gases e a elevada taxa de degradação (BRITO *et al.*, 2011).

Os biopolímeros são materiais que apresentam grande aplicação industrial, farmacêutica e biomédica, empregados como excipientes, em revestimentos e microencapsulação de drogas e no preparo de hidrogéis (ULERY; NAIR; LAURENCIN, 2011). De acordo com Galiano *et al.* (2018) o mercado de biopolímeros vem crescendo a cada dia mais em particular no uso para a produção de embalagens. Nos últimos 10 anos houve um aumento significativo no uso de filmes biopoliméricos com diferentes usos. Silva *et al.* (2017) relataram que muitas empresas brasileiras tais como ResBrasil®, CBPAK®, Biomater® e CopoBras® já produzem e vendem produtos fabricados com biopolímeros, alguns exemplos são etanol, embalagens plásticas, copos, frascos, talheres e bandejas.

3.1.1 Amido

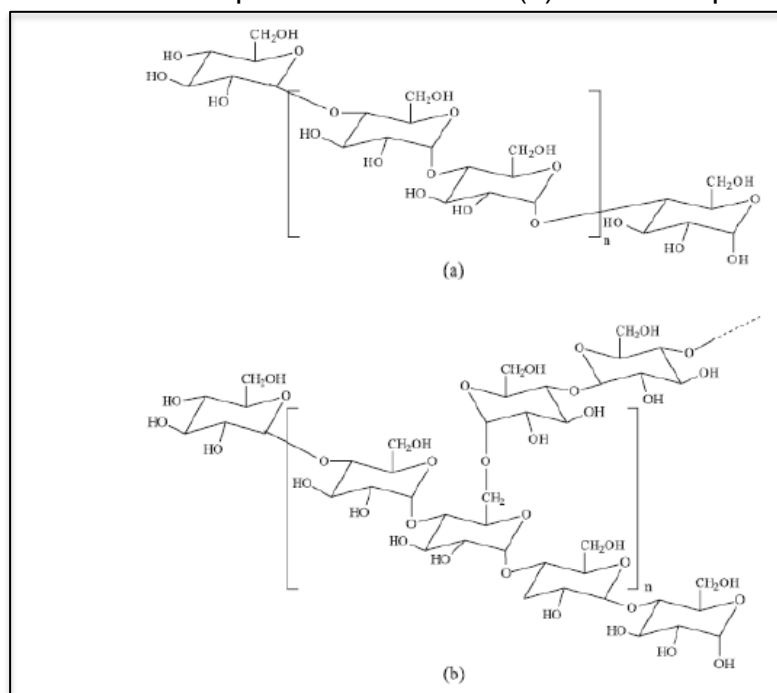
O amido é uma matéria-prima encontrada em abundância no mundo inteiro, podendo ser extraído de diferentes fontes vegetais, tais como cereais, raízes, tubérculos, frutas e leguminosas (MALI *et al.*, 2010), e é considerada uma das matérias-primas mais versáteis, disponíveis e de baixo custo (PARK *et al.*, 2017). O amido é um polissacarídeo de reserva da planta, sendo armazenado na forma de grânulos insolúveis de tamanhos variáveis nos cloroplastos das células vegetais, podendo apresentar diferenças dependendo da sua fonte botânica (SOUZA; ANDRADE, 2000).

Os grânulos de amido são compostos por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, que apresentam funções e estruturas diferentes. A quantidade de cada polímero vai depender da fonte do amido (ROCHA *et al.*, 2014), nos amidos nativos o teor de amilose varia de 10 a 30 % e de amilopectina de 70 a 90 % (PARK *et al.*, 2017).

A amilose é formada por unidades de D-glicose unidas por ligações glicosídicas α -(1→4), sendo um polissacarídeo de estrutura linear. A massa molecular das moléculas de amilose é da ordem de 250.000 Da (1500 unidades de glicose), essa massa pode variar entre as espécies de plantas e até mesmo dentro da mesma espécie, dependendo do grau de maturação da planta (MALI *et al.*,

2010). A amilopectina é uma molécula altamente ramificada que é formada por unidades de D-glicose unidas por ligações glicosídicas α -(1 \rightarrow 4), com ligações α -(1 \rightarrow 6) nos pontos de ramificação da molécula. Possui peso molecular da ordem de $(50-500) \times 10^6$ e o comprimento de suas ramificações é variável, sendo mais comum apresentarem a quantidade de 20 e 30 unidades de glicose (CEREDA, 2001). Na Figura 1 estão representadas as estruturas químicas da amilose e da amilopectina.

Figura 1- Estruturas químicas da amilose(a) e da amilopectina(b)



Fonte: CORRADINI Et al. (2005).

Os grânulos de amido nativo apresentam birrefringência quando são observados em microscópio óptico sob luz polarizada, o que indica certo grau de organização molecular. Os amidos nativos apresentam entre 15 e 45% de cristalinidade, se apresentando na forma de grânulos (2 a 100 μ m) onde as cadeias de amilose e amilopectina se organizam de forma concêntrica, com regiões amorfas (menos organizadas) e cristalinas (mais organizadas) alternadas (BULEON *et al.*, 1998). As regiões cristalinas são formadas pela fração linear das moléculas de amilopectina, que forma estruturas helicoidais duplas, que são estabilizadas por ligações de hidrogênio entre os grupamentos hidroxila de cadeias adjacentes. A região amorfa é formada pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina (SOUZA; ANDRADE, 2000).

O uso de amido para a produção de filmes é baseada na sua capacidade de formar uma matriz polimérica através da formação de ligações de hidrogênio entre os grupamentos hidroxila das cadeias de amilose e amilopectina (MALI *et al.*, 2010). Para que se forme essa matriz polimérica, a estrutura granular nativa precisa ser rompida, o que pode ocorrer através da gelatinização do amido, que é uma transição de fase dos grânulos do amido, de um estado ordenado a um estado desordenado, e que ocorre durante o aquecimento em excesso de água (SÁRKA; DVORÁČEK, 2017). A gelatinização que é o processo em que o amido granular se transforma em uma pasta viscoelástica, inicialmente os grânulos de amido incham, aumentando de tamanho, até ocorrer o seu rompimento, onde se tem mudanças irreversíveis em suas propriedades (SOUZA; ANDRADE, 2000), ocorre perda da organização estrutural (birrefringência) e os cristais fundem-se em função do rompimento das ligações de hidrogênio que mantêm a estrutura granular nativa (SINGH *et al.*, 2003). A gelatinização geralmente ocorre numa ampla faixa de temperatura, entre 50 °C e 80°C, variando conforme a fonte de amido, a sua composição (proporção amilose:amilopectina) e arquitetura granular (proporção de regiões cristalinas e amorfas). Geralmente, altas temperaturas de gelatinização têm sido associadas a maior cristalinidade, que fornece estabilidade estrutural e torna os grânulos mais resistentes à gelatinização (SINGH *et al.*, 2003).

Na pasta de amido gelatinizado submetida ao resfriamento, as moléculas do amido em solução têm a tendência de se reassociar através da formação de hélices simples e duplas, formando uma estrutura tridimensional estabilizada por ligações de hidrogênio, esse fenômeno é chamado de retrogradação, e é responsável pela formação de géis e filmes de amido. A retrogradação do amido pode ser acompanhada pela liberação de água do sistema, fenômeno este chamado de sinérese (BULÉON *et al.*, 1998; SINGH *et al.*, 2003).

A amilose quando em soluções com contato com a água, em razão de sua linearidade, tende a se posicionar paralelamente, de forma que a sua aproximação fique suficiente para formar ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Com consequência a afinidade entre a água e o polímero diminui o que favorece a formação de opacas soluções e filmes mais resistentes (MALI *et al.*, 2010). Entretanto, se o amido é aquecido na presença de pequenas quantidades de água, o fenômeno que indica o rompimento dos grânulos é

conhecido como fusão, e precisa de temperaturas maiores para ocorrer quando comparado com a gelatinização (CEREDA, 2001).

Filmes que são produzidos exclusivamente por amido são frágeis e quebradiços, pois o amido sobre o processo de recristalização que é quando as moléculas de amido voltam a se associar através de ligações de hidrogênio após a gelatinização formando uma estrutura mais ordenada o que pode levar a uma estrutura cristalina novamente (MALI *et al.*, 2010). Por esse motivo é importante que este polímero seja empregado em misturas com outros polímeros, ou ainda, que nas formulações dos filmes sejam empregados aditivos, como os plastificantes, que são capazes de diminuir o número de interações amido-amido, levando a uma melhoria do seu desempenho (MALI *et al.*, 2010, PRAJAPATI *et al.*, 2014).

O amido de mandioca é considerado um polímero bastante interessante para a produção de filmes biodegradáveis e muitos autores têm utilizado esta matéria-prima para obtenção de filmes e revestimentos com as mais diferentes aplicações (MALI *et al.* 2012, MALI *et al.*, 2011, MALI *et al.*, 2004, PEREIRA; MARIM; MALI, 2019; RESTA *et al.*, 2019; VERCELHEZE *et al.*, 2019; SUEIRO *et al.*, 2016), por ser de baixo custo e possuir boa capacidade de formação de filmes. Além disso, o amido de mandioca é uma matéria-prima abundante no Brasil, com uma produção de 21 milhões de toneladas em 2017 (FAO, 2017), sendo que o estado do Paraná é responsável por 70% da produção de amido de mandioca do Brasil (ABAM, 2014).

3.1.2 Gelatina

De acordo com Elzoghby (2013), a gelatina é uma proteína desnaturada obtida pela hidrólise ácida ou básica parcial do colágeno animal. Tem sido empregada com segurança ao longo dos anos em produtos farmacêuticos, cosméticos, assim como produtos alimentícios.

A gelatina é uma proteína animal resultante da hidrólise ácida ou alcalina do colágeno proveniente de pele, ossos e tecidos conectivos de bovinos e suínos. É facilmente solúvel em água a temperatura média de 50 °C. Dependendo da matéria prima utilizada na sua produção, a gelatina terá um tipo de mistura de polipeptídios (ELZOGHBY, 2013; GARCIA *et al.*, 2018). A grande maioria da gelatina produzida no mercado não apresenta massa molecular homogênea, uma

vez que ela é obtida a partir da degradação de estruturas longas, sendo essa degradação na maioria das vezes não totalmente homogênea (ver nova referência).

Existem dois tipos de gelatina no mercado em função do tratamento utilizado para a sua extração, ácido ou alcalino. A gelatina tipo A, obtida através de um pré-tratamento ácido a partir da pele de suínos tem característica catiônica, com ponto isoelétrico (PI) entre 7,0 e 9,0. A gelatina tipo B é obtida através de um pré-tratamento alcalino utilizando-se pele e ossos de bovinos e apresenta característica aniônica, com PI entre 4,8 e 5,0 (RAY; BOUSMINA, 2005). Em pH fisiológico, a molécula da gelatina apresenta 13% dos seus aminoácidos carregados positivamente devido à presença dos aminoácidos lisina e arginina, possui também 12% dos aminoácidos carregados negativamente devido à presença dos aminoácidos glutamina e ácido aspártico.

A representação (GLY-XPRO)_n é a responsável pela estrutura de tripla hélice da gelatina, onde o X representa os aminoácidos lisina, arginina, metionina e valina. Um terço da cadeia é composta por glicina (aproximadamente 33%), o outro um terço é composta por prolina ou hidroxiprolina (aproximadamente 33%), e o restante da cadeia é composta por outros resíduos de aminoácidos. A gelatina exibe um comportamento anfotérico devido a presença tanto de grupos básicos como ácidos (ELZOGHBY, 2013; RAY, BOUSMINA, 2005; SU, WANG, 2015).

Os aminoácidos podem se arranjar em diferentes cadeias polipeptídicas na estrutura da gelatina, incluindo as cadeias α , β (dímeros das cadeias α) e γ (trímeros das cadeias α), com massas moleculares de cerca de 80, 180 e 300×10^3 g/mol, respectivamente, e estas cadeias estão arranjadas em hélices aleatórias, e podem ser solubilizadas em água em temperaturas entre 40 e 50°C (MARIOD; ADAM, 2013).

O mecanismo de formação do gel de gelatina é semelhante ao dos géis formados pelos carboidratos, que formam uma rede tridimensional, no caso da gelatina são formados géis em baixas concentrações de sólidos, a partir de 1 %. São géis termorreversíveis que fundem em temperaturas entre 30°C e 40°C. O mecanismo mais aceito para a formação de gel é a reversão das hélices enroladas aleatoriamente, onde as regiões ricas em aminoácidos provenientes das diferentes cadeias polipeptídicas atuam como potenciais zonas de junção, na medida em que,

ao resfriar a solução, elas assumam uma conformação helicoidal, o que resulta em um gel tridimensional (MARIOD; ADAM, 2013).

A gelatina é amplamente utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica como estabilizante, espessante, formador de filmes, protetor coloidal, emulsificante, agente espumante e clarificante de bebidas. Devido a excelente capacidade de se dissolver na água e formar solução viscosa com capacidade de formação de filmes e géis, a gelatina vem sendo amplamente explorada em estudos envolvendo a produção de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis com as mais diversas aplicações (BORGES, 2013), incluindo a produção de matrizes poliméricas para liberação de princípios ativos. GARCIA *et al.* (2017) utilizaram a gelatina juntamente com amido para a produção de filmes para liberação oral de vitamina C e os filmes apresentaram boa aparência e capacidade de liberação da vitamina C.

3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS PRODUZIDOS POR BIOPOLÍMEROS

A aplicação dos polímeros na área cosmética vem crescendo à medida que a cosmetologia ganha espaço como ciência. Os biopolímeros oferecem uma nova abordagem para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos nesta área, considerando que são materiais seguros e biocompatíveis, se configurando como uma alternativa aos polímeros sintéticos (Basavaraj *et al.*, 2010). Em 2018, a empresa de cosméticos americana Mary Kay® lançou no mercado um filme biopolimérico à base do polímero fúngico pululana, com a incorporação da vitamina C como princípio ativo, para a aplicação facial. Afonso *et al.* (2019) produziram filme biodegradável à base de quitosana com a adição de antioxidantes, propondo a sua utilização como máscara facial anti-envelhecimento. No entanto, ainda são poucos os relatos na literatura sobre o uso de filmes biodegradáveis utilizados como cosméticos. Nos últimos anos, com o aumento da expectativa de vida da população, a pesquisa e desenvolvimento de produtos com substâncias ativas com propriedades anti-envelhecimento tem se intensificado, dentre as quais os antioxidantes, um grupo de compostos capazes de reduzir ou mesmo bloquear as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres, moléculas produzidas nos processos fisiopatológicos e bioquímicos responsáveis pela homeostase celular, e que têm disso associadas ao envelhecimento (GUARANTINI *et al.*, 2007; SCOTTI *et al.*, 2007).

Os filmes biodegradáveis produzidos a partir de biopolímeros, tais como amido e gelatina, e a sua mistura, vêm sendo estudados ao longo dos anos com diversas aplicações, em especial como embalagens de alimentos (ALVES *et al.*, 2009, FAKHOURI *et al.*, 2003, LUCENA *et al.*, 2017), como revestimentos comestíveis (KROCHTA *et al.*, 1994, FAKHOURI *et al.*, 2007, ROMIO *et al.*, 2017) e nos últimos anos, trabalhos têm relatado o uso dos filmes biodegradáveis na produção de biomateriais para aplicações médicas, como na produção de enxertos e próteses (ULERY *et al.*, 2011), ou ainda, em sistemas de liberação de fármacos (DIXIL; PUTHILI, 2009; KETUL *et al.*, 2013; PATIL; SHRIVASTAVA, 2014).

Os filmes devem possuir fácil manuseio e transporte, eles podem ser produzidos a partir de uma alta diversidade de macromoléculas, levando em consideração as propriedades físico-químicas do componente ativo de interesse (DIXIT; PUTHLI, 2009; HASHIDE *et al.*, 2012; NISHIGAKI *et al.*, 2012). Para a produção do filme é necessário pelo menos um polímero hidrofílico de alta massa molecular (agente formador de filme, também conhecido como macromolécula) para que seja obtida uma matriz com força de coesão e tensão adequadas (SHELLHAMMER *et al.*, 2005), além de um solvente e um plastificante (DENA VI *et al.*, 2009).

Dentre as técnicas empregadas no preparo dos filmes pode-se relatar a técnica de *casting*, que se caracteriza pela solubilização do polímero para a obtenção de uma solução filmogênica, que será submetida à desidratação em um suporte de área conhecida, superfície lisa e plana (ARYA *et al.*, 2010). Normalmente são utilizados polímeros solúveis em água, também são adicionados plastificantes, como o glicerol, e a última etapa seria a incorporação do fármaco. Ao final do processo o filme é retirado do suporte por destacamento. (ARYA *et al.*, 2010; DENA VI *et al.*, 2009; SHIMODA *et al.*, 2009; NISHIMURA *et al.*, 2009). A obtenção de um filme empregando-se a técnica de *casting* está relacionada com o grau de coesão entre as moléculas do polímero empregado, e esta força de coesão é afetada pela estrutura química do polímero, tempo e temperatura de secagem dos filmes, presença de plastificante e de outros aditivos. A coesão do filme é favorecida pela alta ordenação das cadeias poliméricas (GONTARD; GUILBERT, 1996).

Dentre os aditivos que podem ser empregados para melhorar as propriedades mecânicas dos filmes biodegradáveis obtidos a partir dos biopolímeros como amido e gelatina estão os plastificantes. O plastificante mais empregado em

filmes de amido e gelatina é o glicerol. O glicerol faz ligações com as moléculas dos polímeros e assim leva ao aumento da mobilidade e diminuição da densidade entre as moléculas dos filmes, o que leva a um aumento da flexibilidade, mas também da permeabilidade ao vapor de água e aos gases nos filmes (MALI *et al.*, 2010). Este quando utilizado reduz a força intermolecular e aumenta a mobilidade das cadeias dos polímeros, o que leva a diminuição de possíveis descontinuidades com locais de zonas quebradiças (LUCENA *et al.*, 2017; MALHERBI *et al.*, 2019; SOUZA; ANDRADE, 2000).

Dentre as possibilidades de aplicação dos filmes como matrizes para a liberação de fármacos, estão os filmes orodispersíveis, que consistem em finas películas produzidas a partir de biopolímeros, que ao entrar em contato com a saliva/água, se intumescem e se desintegram, sofrendo dissolução, que então irá liberar o princípio ativo na cavidade bucal. Esta nova tecnologia tem se mostrado promissora e aceita mundialmente para absorção sistêmica de fármacos ativos (GARCIA *et al.*, 2017). São considerados como formas farmacêuticas sólidas, formadas por um filme polimérico hidrossolúvel que se hidrata muito facilmente quando em contato com a mucosa oral (bucal, palatal, gengival, lingual ou sublingual (PALLAVI, 2014).

3.3 CAUSAS DO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

Lidar com o envelhecimento cutâneo ainda é um desafio para a ciência. A pele é um órgão complexo que é formado por várias estruturas e tipos celulares, que trabalham como uma proteção dos órgãos internos e ao mesmo tempo também mantém o balanço entre a proliferação e a descamação celular. Por ser um grande tecido, a pele fica exposta a vários agentes, físicos, químicos e biológicos que acabam por danificar a sua estrutura (SCOTTI *et al.*, 2007).

O envelhecimento cutâneo pode ser causado por duas classes de fatores: fatores intrínsecos e fatores extrínsecos. Os intrínsecos são aqueles causados por processos celulares que ocorrem com o passar do tempo. Esse processo tem influências genéticas, e também acarretam a queda das funções dos queratinócitos e fibroblastos. Os fatores extrínsecos são os maiores causadores do envelhecimento precoce. São compostos por fatores ambientais como tabagismo, alimentação, exposição ao álcool, dieta pobre, exposição excessiva ao sol

(exposição a luz UV), poluição, etc (BAUMANN, 2018). O envelhecimento extrínseco ocorre então a partir da junção desses vários fatores, a exposição solar é responsável por 80% do processo de envelhecimento (SCOTTI *et al.*, 2007). Com a junção de todos esses fatores tem-se então danos a pele causados por radicais livres, inflamações e outras ações do sistema imunológico (BAUMANN, 2018; POMATTO; DAVIES, 2018).

Os radicais livres são moléculas que apresentam um elétron desemparelhado, o que confere ao radical livre uma grande instabilidade energética e cinética (SCOTTI *et al.*, 2007). Segundo BAUMANN (2018), os radicais livres são uma das principais causas do envelhecimento cutâneo, juntamente com a radiação UV, que acaba por produzir mais radicais livres. Na presença de radicais livres as mitocôndrias são imensamente prejudicadas. Tudo acontece a partir de uma cascata de danos tais como empareamento errado do DNA, perda de funções enzimáticas e redução na produção de ATP, o que pode resultar na morte celular.

Os antioxidantes têm se mostrado grandes aliados na manutenção e prevenção da homeostase cutânea. Estão presentes em uma vasta quantidade de produtos cosméticos na forma de princípios ativos, produtos tais como cremes, adstringentes, tônicos faciais e protetores solares. Trabalhos vêm demonstrando bons resultados na aplicação cutânea de produtos com a incorporação de princípios ativos antioxidantes (IHA *et al.*, 2008; NORONHA *et al.*, 2014; VANINI *et al.*, 2017).

3.4 ANTIOXIDANTES

O termo antioxidante compreende a um grupo de compostos que são capazes de diminuir ou impedir a oxidação de outra molécula química. São formados por um conjunto heterogêneo de substâncias, dentre as quais, vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros componentes naturais e sintéticos (COUTO; CANNIATTI; BRAZACA, 2010).

De acordo com o seu mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Alguns antioxidantes podem apresentar mais de um mecanismo de ação sendo chamados de antioxidantes de múltipla função (REISCHE *et al.*, 2002). De acordo com Reische *et al.* (2002), os antioxidantes primários são aquelas moléculas que se ligam aos radicais livres e

assim atrasam ou impedem a auto-oxidação ou ainda, que interrompam a etapa de propagação da auto-oxidação. Já os antioxidantes secundários são responsáveis por retardarem a taxa de oxidação através de diferentes mecanismos, mas não são capazes de reverterem os radicais livre em produtos mais estáveis.

A literatura descreve o uso de antioxidantes como princípios ativos em filmes biodegradáveis a serem empregados em sistemas de embalagens de no setor alimentício (EÇA *et al.*, 2014). Dentre os antioxidantes empregados estão as polpas de frutas (DANTAS *et al.*, 2015), extratos de plantas (AKHTAR *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2014; ZENG *et al.*, 2013), vitamina C (BASTOS *et al.*, 2009; DE'NOBILI *et al.*, 2013, PÉREZ *et al.*, 2012) e vitamina E (MARTINS *et al.*, 2012; MARTELLI *et al.*, 2017; NORONHA *et al.* 2014). Existe um grande interesse no uso de antioxidantes de origem biológica, com as vitaminas e extrato de plantas, ainda seguindo uma tendência da utilização de matérias-primas mais sustentáveis e de menor impacto ambiental.

Não há na literatura relatos do uso de filmes biodegradáveis contendo antioxidantes para uso dermatológico, exceto pelo trabalho de Afonso *et al.* (2019), que relata a produção de filmes de quitosana com adição de vitamina C e sementes de urucum para uso como máscara facial anti-envelhecimento. McEntire *et al.* (2007) relatam em patente norte-americana o desenvolvimento de filmes solúveis em água para uso dermatológico, mas empregando-se poliésteres sintéticos. Boswell *et al.* (2018) descrevem, também em patente norte-americana, o uso de filmes à base de polímeros derivados da celulose como adesivos para uso dermatológico.

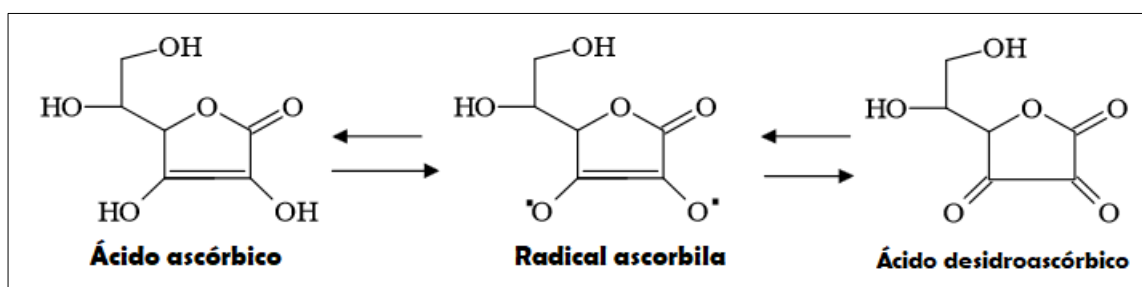
3.4.1 Vitamina C

O ácido ascórbico, mais conhecido como vitamina C, é uma molécula antioxidante hidrossolúvel que é essencial a saúde dos seres humanos (SCOTTI *et al.*, 2007). A vitamina C aumenta a ação de várias enzimas e com isso exerce muitas funções em quase todos os tecidos do corpo humano. Tem a capacidade de interferir na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) induzida pela radiação ultravioleta (UV) reagindo com ânions superóxido ou radicais hidroxila gerados no processo de oxidação e envelhecimento. Também tem o poder de reduzir radicais tocoferóis para que possam voltar em sua forma ativa presente

nas membranas celulares, para assim manter a sua integridade nas células dos organismos aeróbios (OLIVEIRA *et al.*; 2011). Os seres humanos não são capazes de produzir a vitamina C, que precisa ser ingerida diariamente, a ingestão diária de vitamina C recomendada é de 75-90 mg, a qual pode ser incluída na dieta através de frutas (especialmente as cítricas), legumes e verduras (POMATTO; DAVIES, 2018).

É possível encontrar a vitamina C em duas formas, na forma oxidada (ácido desidroascórbico) e na forma reduzida. Na reação de oxidação tem-se a formação do radical ascorbila (COUTO; CANNIATTI BRAZACA, 2010), este radical é essencial para a atividade antioxidante da vitamina C (Figura 2). Na natureza as duas formas são encontradas em quantidades praticamente equivalentes, já em pH fisiológico a forma reduzida é a mais encontrada (POMATTO; DAVIES, 2018).

Figura 2 - Esquema da reação de oxidação do ácido ascórbico ao ácido desidroascórbico com a formação do radical ascorbila.



Fonte: BUETTNER, CHARFER, 1997.

A vitamina C possui grande importância fisiológica por ter grande participação em diversos eventos no organismo, tais como produção de hormônios e anticorpos, biossíntese de aminoácidos, formação do tecido conjuntivo e a prevenção do escorbuto. Por possuir atividade antioxidante, a vitamina C é considerada a primeira linha de defesa contra radicais livres derivados do oxigênio presentes no meio aquoso, ela reage diretamente com superóxidos, radicais hidroxilas e oxigênio singlete (GONÇALVES, 2008). Sua importância na síntese do colágeno, atuando como cofator para as enzimas prolil e lisil hidroxilase, enzimas-chave na reticulação e estabilização do colágeno, faz com que seja um princípio ativo muito empregado em fármacos anti-envelhecimento. Adicionalmente, atua diretamente nos fatores de transcrição envolvidos na síntese de colágeno e na

estabilização do RNA mensageiro do procolágeno (RNAm). Estudos clínicos mostraram que a aplicação diária de vitamina C tópica em concentrações de 3 % ao longo de quatro meses levou a um aumento significativo da densidade de papilas dérmicas (LIN *et al.*, 2003). De acordo com Niami *et al.* (2017), a concentração ideal de vitamina C para aplicação tópica depende de sua formulação, na maioria dos casos, a concentração deve ser superior a 8 %, e concentrações acima de 20 % pode causar alguma irritação.

3.4.2 Extrato de Catuaba

Trichilia Catigua (Figura 3) é popularmente conhecida no Brasil como catuaba, catingá vermelho, pau ervilha e catuaba do norte (LONGHINI *et al.*, 2017). Essa planta possui distribuição ampla na América do Sul em países como Argentina, Bolívia, Paraguai e Brasil, sendo ela muito utilizada como purgante, tratamento do reumatismo, afrodisíaco e neuroestimulante. Seus caules são popularmente utilizados na produção de tônicos para uso mental e físico com maior utilização como afrodisíaco (MARTINELLI, 2010).

Figura 3 - Árvore, folhas e cascas da *T. catigua*



Fonte: MARTINELLI, 2010.

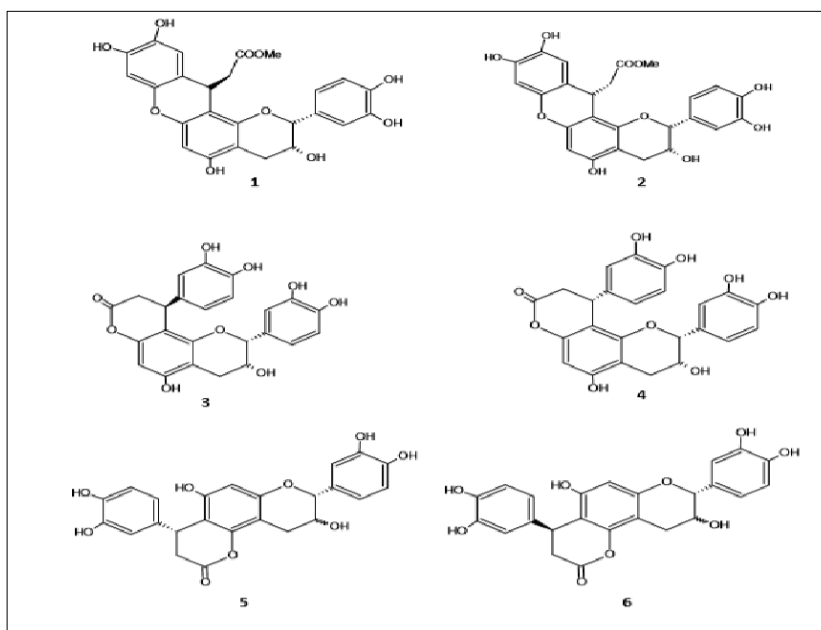
No Brasil existem diferentes gêneros e famílias de plantas que são popularmente conhecidas como catuaba, alguns exemplos são *Anemopaegma* (Bignoniaceae), *Erythroxylum* (Erythroxylaceae), *Illex* (Aquifoliaceae), *Micropholys*

(Sapotaceae), *Secondatia* (Apocynaceae), *Tetragastris* (Bursereceae), *Trichilia* (Meliaceae) (KAMDEM, 2013). De acordo com MARQUES (1988), que descreveu as diferenças entre plantas conhecidas como catuaba, concluiu que a espécie de catuaba mais comercializada no Brasil é a *T. catigua*.

A partir da *T. catigua* já foram isoladas e caracterizadas as espécies químicas a seguir: catiguanina A (1) e catiguanina B (2) de sementes e frutas. Das cascas também foram isoladas mais quatro flavolignanais - cinchonaínas A (3) e B (4) e cinchonaínas C (5) e D (6) (Figura 4) (PIZZOLATTI *et al.*, 2002, TANG *et al.*, 2007). Essas substâncias apresentam forte capacidade antioxidante, tendo ainda as cinchonaínas A e B capacidade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (PIZZOLATTI *et al.*, 2002).

Em função da sua capacidade antioxidante e pelo seu uso nos diferentes setores industriais ser muito pouco explorado, a catuaba (*T. catigua*) se configura como uma alternativa interessante e promissora para emprego na indústria cosmética, se alinhando à tendência da utilização de matérias-primas mais sustentáveis e de origem natural.

Figura 4 – Catiguanina A (1), catiguanina B (2), cinchonaína A (3), cinchonaína B (4), cinchonaína C e D (5,6) isoladas de *T. catigua*.



Fonte: MARTINELLI,2010.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para a produção dos filmes foram utilizados o amido de mandioca da marca Yoki (Paranavaí - Brasil). A gelatina utilizada foi da marca BIOTEC (São Paulo – Brasil) e a vitamina C da Alphatec (São Paulo-Brasil). A catuaba foi obtida em mercado local (Londrina- PR) e as cascas foram empregadas para a obtenção do extrato que foi incorporado nos filmes, como descrito no item 4.2.1 a seguir.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparo do Extrato de Catuaba

As cascas de catuaba foram obtidas em mercado local e empregadas para a obtenção do extrato. O extrato de catuaba foi preparado de acordo com Lonni *et al.* (2012). Cascas do caule previamente secas (20,0 g) foram moídas, e o extrato bruto obtido por extração com 200 mL de uma mistura de solventes (água : metanol : acetona : etanol – 1:1:1:1) por 15 min a $40 \pm 2^\circ$ C. Em seguida, o extrato bruto líquido foi filtrado em membrana de tecido, e após em membrana de celulose, e foi submetido à rota-evaporação (Tecnal - TE-0581) e armazenado sob refrigeração.

4.2.2 Produção dos Filmes

Os filmes foram produzidos por *casting*, técnica em que a solução filmogênica (2,0% m/v) foi preparada em meio aquoso, colocada sobre um suporte para desidratação, e após a evaporação do solvente o filme foi removido por destacamento. As formulações foram preparadas com proporções de amido:gelatina de 50:50.

Em todas as formulações foi utilizado 0,20 g de glicerol/100 g de polímero. Para o preparo dos filmes, a gelatina foi hidratada em água destilada à temperatura ambiente por 30 min e depois solubilizada a 55° C por 30 min. O amido de mandioca foi aquecido a 90° C por 10 min. Por fim, para o preparo das misturas,

os componentes de cada formulação foram misturados nas proporções pré-estabelecidas e agitados continuamente em Banho Maria (Marconi MA 127) à 90 °C por 30 min. As soluções filmogênicas (20 g) foram secas em placas de acrílico em estufa com circulação de ar a 30 °C por 24 h.

As concentrações de vitamina C e do extrato de catuaba que foram incorporadas nos filmes estão indicadas na tabela 1.

Tabela 1- Formulações empregadas no preparo de 100 mL das soluções filmogênicas usadas para o preparo dos filmes.

Amostra	Amido (g)	Gelatina (g)	Glicerol (g)	Água (g)	Vitamina C (g)	Extrato de Catuaba^a (g)
Controle	1,000	1,000	0,4	97,60	-	-
Vitamina C 5,0%	0,950	0,950	0,4	97,60	0,10	-
Vitamina C 7,5%	0,925	0,925	0,4	97,60	0,15	-
Vitamina C 10%	0,900	0,900	0,4	97,60	0,20	-
Extrato de Catuaba 0,5%	0,995	0,995	0,4	97,60	-	0,01
Extrato de Catuaba 1,0%	0,990	0,990	0,4	97,60	-	0,02
Extrato de Catuaba 1,5%	0,985	0,985	0,4	97,60	-	0,03
Mistura de Vitamina C e extrato de catuaba	0,915	0,915	0,4	97,60	0,15	0,02

^aQuantidade de sólidos no extrato de catuaba

4.2.3 Teor de Sólidos no Extrato Bruto

O teor total de sólidos do extrato foi obtido através da secagem de 10 mL do extrato bruto em estufa de circulação de ar e temperatura controlada (Marconi- MA 035) por 24 h. A análise foi realizada em triplicata.

4.2.4 Caracterização dos Filmes

Antes das análises, as amostras dos filmes foram condicionadas em umidade relativa (UR) de 58 % a 25°C em dessecador contendo solução saturada de brometo de sódio (NaBr) por no mínimo 48 h. Os testes foram realizados com os filmes em quadrados de 2x2 cm.

4.2.4.1 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada utilizando um micrômetro manual (Mitutoyo, Japão). Foram avaliados 5 pontos diferentes do filme, sendo um no centro e os outros quatro pontos no perímetro.

4.2.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise da morfologia dos filmes foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram imersas em nitrogênio líquido para congelamento rápido, fraturadas com auxílio de pinças e secas em cloreto de cálcio (CaCl₂) por 1 semana. As amostras secas foram revestidas de ouro por um *Sputter Coater* BAL-TEC SCD 050. Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 200 (Hillsboro – USA), do Laboratório de Microanálise e Microscopia Eletrônica da Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

4.2.4.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Foi utilizado o método de leitura da amostra em pastilha de brometo de potássio (KBr). Amostras foram colocadas em estufa com circulação de ar (Marconi MA 035) a 60 °C por 4 h, pulverizadas e mantidas em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro por 1 semana. Após esse período, as amostras pulverizadas e secas foram incorporadas ao KBr e submetidas a alta pressão para a produção das pastilhas. O experimento foi conduzido em aparelho Shimadzu FTIR-8300 (Kyoto, Japão), com uma resolução de 4 cm⁻¹, utilizando-se uma escala de 4000 a 400 cm⁻¹.

4.2.4.4 Solubilidade e grau de intumescimento em diferentes tempos

A solubilidade e o grau de intumescimento (GI) foram determinados simultaneamente, através de método gravimétrico, utilizando-se um dispositivo cilíndrico previamente pesado (3,0 x 3,5 cm), contendo em uma das extremidades uma malha com abertura nominal de 138 x 75 µm, como descrito por Sueiro (2018). Corpos de prova (2 x 2 cm) de cada formulação foram cuidadosamente pesados e colocados no dispositivo, e em seguida, estes foram imersos em 10 mL de solução tampão fosfato (pH 7,0). Em tempos pré-determinados (5, 15, 30 e 60 min), os filmes foram retirados da solução, e o excesso de tampão foi retirado com auxílio de papel filtro, e em seguida os filmes foram pesados, e a partir do valor obtido foi calculado o GI de cada amostra em relação ao seu peso seco inicial.

Em seguida, os filmes foram levados para secar em estufa de circulação de ar com temperatura controlada de 25° C por 24 h. Ao fim desse período os filmes foram pesados novamente, e então foi calculada a porcentagem de solubilização de cada amostra. As análises foram determinadas em triplicata.

4.2.4.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas de tração foram analisadas utilizando um texturômetro da marca Stable Micro Systems modelo TA.TX2i de acordo com as

Normas da *American Society for Testing and Material* – (ASTM D882-91). Os corpos de prova (2 x 4 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. As análises foram realizadas em triplicata. Foram determinadas as seguintes propriedades de tração: força máxima (N) que é registrada pelo próprio aparelho; (a) resistência máxima à tração (MPa) e (b) alongação na ruptura (%), calculadas pelas equações 1 e 2 a seguir:

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

onde:

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

$$A_{\text{mín}} = \text{área mínima inicial da amostra (m}^2\text{)} \quad (1)$$

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

onde:

$$A_r = \text{alongamento total da amostra até a ruptura (m)}$$

$$DG = \text{distância inicial entre as garras (m)} \quad (2)$$

4.2.4.6 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A PVA é a permeabilidade ao vapor de água (g/msPa), a TPVA é a taxa de permeabilidade ao vapor de água (g/m²s), e e é a espessura do filme, P_s é a pressão de saturação do vapor de água sob 25°C, URd e URc são as umidades relativas no dessecador e na cápsula, respectivamente. Cada amostra de filme, em triplicata, foi colocada em uma abertura circular de 60 mm de uma célula de permeabilidade e selada de modo a garantir que a transferência de vapor de água ocorresse exclusivamente através do filme. O conjunto foi colocado em dessecador a 25° C contendo solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) que propiciou ambiente com 75% de UR, a célula de permeabilidade foi parcialmente preenchida com CaCl₂ (0% UR) no seu interior. Após um período de equilíbrio de 3 h, as células foram pesadas em intervalos regulares, até a obtenção de uma taxa constante de ganho de massa. As análises foram realizadas em triplicata.

A PVA foi determinada gravimetricamente, de acordo com as normas da ASTM E96-00 (2000). O coeficiente angular de cada reta foi calculado pela regressão linear no regime constante ($r^2 > 0,99$) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada de acordo com a seguinte equação 3:

$$PVA = \frac{(TPVA * e)}{\left(P_s \times \left(\frac{URd - URc}{100} \right) \right)} \quad (3)$$

4.2.4.7 Valor de pH

O pH foi medido usando potenciômetro (Digimed- DM20). Em 10 mL de água foram adicionado 1 g de filme, e após agitação de 1 h, o pH foi verificado. A análise foi realizada em triplicata.

4.2.4.8 Difusão / liberação de vitamina C e dos polifenólicos totais dos filmes

Corpos de prova (2 x 2 cm) de cada formulação dos filmes foram cuidadosamente pesados e imersos em 50 mL de água destilada e colocados em agitação mecânica com temperatura controlada de 37 °C (CIEN TEC-712), e em tempos pré-determinados (5, 15, 30 e 60 min), alíquotas de 0,5 mL foram retiradas para análise de vitamina C e dos polifenóis totais liberados em solução, conforme metodologia já descrita acima.

4.2.4.9 Determinação do teor de vitamina C nos filmes

O teor de vitamina C nos filmes foi determinado por titulometria utilizando o indicador 2,6-diclorofenolindofenol (JACOBS, 1958; LEME Jr.; MALAVOLTA, 1950). Foi utilizado como padrão ácido ascórbico 10 mg/L para a realização dos cálculos. Na amostra e no padrão de ácido ascórbico foram adicionados 0,5 mL de H₂SO₄ 0,1 N. Os testes foram realizados em triplicata.

4.2.4.10 Determinação do teor de polifenóis totais no extrato de catuaba e nos filmes

O teste foi realizado de acordo com a Farmacopeia Europeia (2007). Uma solução estoque (SE) foi preparada com o extrato bruto de catuaba (0,075 g) e outra com os filmes (0,080 g), que foram misturados com 250 mL de água. Para a

determinação de polifenóis totais (PT), 5 mL de cada SE foram diluídos com água em balão volumétrico de 25 mL. Uma alíquota de 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, EUA) e 10 mL de água foram transferidos para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com solução de carbonato de sódio (29%). Após 30 min da adição da última solução mediu-se a absorvância a 760 nm, empregando-se a água como branco (Shimadzu UV/VIS PC-1650). As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em porcentagem de pirogalol (Sigma-Aldrich, EUA), composto usado como padrão.

4.2.4.11 Capacidade antioxidante dos filmes contendo vitamina C e extrato de catuaba pela captura de radical livre

A capacidade antioxidante dos filmes, assim como da vitamina C e do extrato de catuaba, foi determinada com procedimento descrito por Amarowicz *et al.* (2004) empregando-se o reagente DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazila). Foram pesados 5 mg de vitamina C que foram diluídas em etanol e 5 mg de extrato de catuaba que foram diluídas em metanol até se obter as concentrações de 8,0; 7,0; 5,5; 4,0 ,2,5 e 1,0 µg/mL. Para os filmes foram utilizadas amostras de 2 x 2 cm de cada formulação, que foram acrescentadas de 375 µL de solução de DPPH (1 mmol/L) em cada amostra. Após 30 min em repouso no escuro, foi realizada leitura em espectrofotômetro a 517 nm, empregando-se como branco uma solução de ácido ascórbico (PA) (representando 100 % de capacidade antioxidante), e como controle negativo, DPPH em metanol. A atividade sequestrante de radicais livres (ASR) de cada amostra foi expressa em porcentagem, segundo a equação 4:

$$ASR (\%) = \left(\frac{AbsCN - AbsA}{AbsCN} \right) * 100 \quad (4)$$

Onde, AbsCN é igual a absorvância do controle negativo e AbsA é igual a absorvância da amostra. A concentração do extrato (µg/mL) necessária para atingir 50% de atividade sequestrante de radicais DPPH (IC₅₀) foi calculada a partir da equação da reta obtida pela plotagem da ASR em função da concentração da amostra. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4.12 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos filmes

A calorimetria diferencial exploratória foi realizada em equipamento Shimadzu DSC 60 (Japão). As amostras (3 mg) foram colocadas em recipientes de platina e aquecidas de 30 a 450° C, com taxa de aquecimento de 5° C/ min, em uma atmosfera de hélio.

4.2.5 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Core Team (2019). Verificada a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e independência (teste de Durbin-Watson) dos erros e homogeneidade de variância (teste de Bartlett), os dados foram submetidos ao teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca- ABAM- 2014.

Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis- ABNT NBR 115448-1, 2008.

AFONSO, C.R.; HIRANO, R.S.; GASPARI, A.L.; CHAGAS, E.G.L.; CARVALHO, R. A.; SILVA, F. V.; LEONARDI, G. R.; LOPES, P. S.; SILVA, C. F.; YOSHIDA, C. M. P. Biodegradable antioxidant chitosan films useful as an anti-aging skin mask. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1262-1273, 2019.

AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, v. 84, p. 551-562, 2004.

AKHTAR, M.J.; JACQUOT, M.; JASNIEWSKI, J.; JACQUOT, C.; IMRAN, M.; JAMSHIDIAN, M.; PARIS, C.; DESOBRY, S. Antioxidant Capacity and Light-Aging Study of HPMC Films Functionalized with Natural Plant Extract. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 89, n. 4, p. 1150-1158, 2012.

ALVES, J. S. **Elaboração e caracterização de filmes finos de amido e parafina**. 2009. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

ARYA, A.; CHANDRA, A.; SHARMA, V.; PATHAK, K. Fast dissolving oral films: an innovative drug delivery system and dosage form. **International Journal of ChemTech Research**, 2010.

BAUMANN, L. How to use oral and topical cosmeceuticals to prevent and treat skin aging. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 26, n. 4, p. 407–413, 2018.

BOM, S.; JORGE, J.; RIBEIRO, H. M.; MARTO, J. A step forward on sustainability in the cosmetic industry: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 225, p. 270-290, 2019.

BORGES, J.G.; TAGLIAMENTO, M. S.; SOBRAL, A. G.; CARVALHO, P. J. A.; APARECIDA, R. Development and characterization of orally-disintegrating films for propolis delivery. **Food Science and Technology**, v.33, p.28-33 2013.

BORGESA, A. F.; SILVA, C.; COELHO, J. F. J.; SIMÕES, S. Oral films: current status and future perspectives I — Galenical development and quality attributes. **Journal of Controlled Release**, v. 206, p. 1-19, 2015.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P; ARAÚJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127–139, 2011.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starches granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, 1998.

BUETTNER, G.R.; SCHARFER, F.Q. Ascorbate (vitamin C) its antioxidante chemistry. **Oxygen Society of Education Program**, p. 1-20,1997.

CEREDA, M.P. Estrutura dos grânulos de amido. In: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas. **Fundação Cargill**, v.1, p.101-133, 2001.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Estudo Comparativo de Amidos termoplásticos derivados do milho Polímeros. **Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, 268-273, 2005.

DENAVI, G.; TAPIA - BLÁCIDO, D. R.; ANON, M. C.; SOBRA, P. J. A.; MAURI, A. N.; MENEGALLI, F. C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 341- 349, 2009.

DIXIT, R.P.; PUTHLI, S.P. Oral strip technology: Overview and future potential. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 139, p. 94-107,2009.

ELZOGHBY, A.O. Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research. **Journal of Controlled Release**, v. 172, n. 3, p. 1075–1091, 2013.

FAKHOURI, F.M.; BATISTA, J.A.; GROSSO, C.R.F. Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis de gelatina, triacetina e ácidos graxos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 301-308, 2003.

FAKHOURI, F.M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANEZ, C.R.; STEEL, C.J.; COLLARES-QUEIROZ, F.P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativose gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007.

FAKHOURI, F.M.; MARTELLI, S.M.; BERTAN, L.C.; YAMASHITA, F.; MEI, L.H. I.; QUEIROZ, F. P. C. Edible films made made from blandes of manioc starches and gelatin- Influence of different types of plasticizer and diferente levels of macromolecules on their properties. **Food Science and Technology**, v. 49, p. 149-154, 2012.

Farmacopeia Europeia, Determinação de taninos em drogas herbais, sexta edição. **Diretório Europeu de Qualidade de Medicamentos**, 2007.

FRANCHETTI, S. R. M.; MARCONATO J. C. Polímeros biodegradáveis - uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GALIANO, F.; BRICEÑO, K.; MARINO, T.; MOLINOC, A.; CHRISTENSEN, K. V.; FIGOLIA, A. Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications. **Journal of Membrane Science**, v. 564, p. 562-586, 2018.

GARCIA, V.A.S.; BORGES, J.G.; MACIEL, V.B.V.; MAZALLI, M.B.; GUIMARÃES, J.G.L.; VANIN, F.L.; CARVALHO, R.A. Gelatin/ starch orally disintegrating films as a promising system for vitamin C delivery. **Food Hydrocolloids**, v.79, p. 127-135, 2018.

GONÇALVES, A.E.D.S.S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina**. 2008. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 2008.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M.H.G.; COLEPICCOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, v. 10, p. 206-213, 2007.

HASHIDE, R.; YOSHIDA, K.; KOTAKI, K.; WATANABE, T.; WATAHIKI, R.; TAKAHASHI, S. SATO, K. Use of anionic polysaccharides for preparation of insulin containing layer-by-layer films and their pH stability. **Polymer Bulletin**, v. 69, p. 229-239, 2012.

IHA, S.M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 387–393, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993. Partes 1 a 20, 2009.

KAMDEM, J.P. **Antioxidant and neuroprotective properties of *Trichilia catigua* (catuaba) against ischemia-reperfusion and pro-oxidants agents in rat hippocampal slices**. 2013. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

KLEIN, R.M. **Flora ilustrada catarinense: meliáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 138, 1984.

KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E A.; NISPEROS-CARRIERO, M.O. Edible coatings and films to improve food quality. **Lancaster: Technomic Publishing Co.**, p. 379, 1994.

LAFFLEUR, F.; STRASDAT, B. Gelatin-based formulations for dermal application. **European Polymer Journal**, v. 118, p. 542-550, 2019.

LIN, J. Y.; SELIM, M. A.; SHEA, C. R.; GRICHNIK, J. M.; OMAR, M. M.; RIVIERE, N. A. M.; DURHAM, S. R. P. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. **Journal of the American Academic of Dermatology**, 2003.

LONGHINI, R.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.; SVIDZINSKI, T.I.E.; FRANCO, S.L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, n.3, p. 388-395, 2007.

LONGHINI, R.; LONNI, A.A.S.G.; SEREIA, A.L.; KRZYZANIAK, L.M.; LOPES, G. C.; MELLO, J. C. P. *Trichilia catigua* : therapeutic and cosmetic values. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 254-271, 2017.

LUCENA, C.A.A.; COSTA, S.C.; ELEAMEN, G.R.A.; MENDANÇA, E.A.M.; OLIVEIRA, E. E. **Desenvolvimento de biofilmes á base de xilana e xilana/gelatina para produção de embalagens biodegradáveis**. 2017. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

COUTO, M.A.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. Supl. 1, p. 15–19, 2010.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semana: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137–156, 2010.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, n. 2, p. 379-386, 2002.

MALI, S.; KARAM, L. B.; RAMOS, L. P.; GROSSMANN, M. V. E. Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 52, n. 25, p. 7720-7725, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p.7055-7011, 2003.

MALHERBI, N.M. et al. Corn starch and gelatin-based films added with guabiroba pulp for application in food packaging. **Food Packaging Shelf Life**, v. 19, p. 140-146, 2019.

MAGALHÃES, J. O uso de cosméticos através dos tempos, envelhecimento cutâneo. **Cosmetologia: com questões de avaliação**, p.33- 42, 61-145, 2000.

MANO E. B.; MENDES, L. C. **Introdução a polímeros**, v, 2, p. 208, 2004.

MANO, J.F.; SILVA G.A.; AZEVEDO H.S.; MALAFAYA, P.B.; SOUSE R. A.; SILVA S.S. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. **Journal of the Royal Society Interface**, v.4, p. 999-1030, 2007.

MARIOD, A.A.; ADAM, H.F. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 12, n. 2, p. 135–147, 2013.

MARTINELLI, F.R. **Cinchoninas – método cromatográfico e produção de padrões para controle de qualidade de extratos polares de catuaba (*Trichilia catigua* Adr. Juss)**. 2010. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Araraquara, 2010.

MARQUES, L.C. Contribuição ao esclarecimento da identidade botânica da droga vegetal catuaba. **Revista Racine**. v.8, p. 8-11, 1988.

NAGAR, P.; CHAUHAN, I.; YASIR, M. Insights into polymers: Film formers in mouth dissolving films. **Drug Invention Today**, v. 3, n. 12, p. 280-289, 2011.

NIAIMI, F. A.; CHIANG, N.Y. Z. Topical vitamin c and the skin: mechanisms of action and clinical applications. **The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, v. 10, p. 14-17, 2017.

NINAN N.; MUTHIAH M.; PARK I. K.; WONG T.W.; THOMAS S.; GROEHNS Y. Natural polymer/inorganic material based hybrid scaffolds for skin wound healing. **Polymer reviews**. v. 55, 2015.

NISHIGAKI, M. *et al.* Development of fast dissolving oral film containing dexamethasone as an antiemetic medication: Clinical usefulness. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 424, p. 12-17, 2012.

NISHIMURA, M.; MATSUURA, K.; TSUKIOKA, T.; YAMASHITA, H.; INAGAKI, N.; SGUGIYAMA, T.; ITOH, Y. In vitro and in vivo characteristics of prochlorperazine oral disintegrating film. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 98-102, 2009.

NORONHA, C.M.; CARVALHO, S.M.; LINO R.C.; BARRETO, P.L. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. **Food Chemistry**, v. 159, p. 529–535, 2014.

PALLAVI P.; SHRIVASTAVA S.K. Fast Dissolving oral films: an innovative drug delivery system. **International Journal of Science and Research**, v. 3, p. 412-105, 2014.

PARK, S. B.; LIH, E.; PARK, K. S.; JOUNG, Y. K.; HAN, D. K. Biopolymer - based functional composites for medical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 68, p. 77-105, 2017.

PEREIRA, J. F.; MARIM, B.M.; MALLI, S. Desenvolvimento de filmes orodispersíveis biopoliméricos à base de amido, goma xantana e gelatina. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 21, p. 61-70, 2019.

PIZZOLATTI, M.G.; VENSON, F.A.; SMANIA JÚNIOR, A.; SMÂNIA, F.A.; BRAZ FILHO, R. Two epimeric flavalignans from *Trichilia catiguá* (Meliaceae) with antimicrobial activity. **Journal of Biosciences**, v. 57, n. 5/6, p. 483-488, 2002.

PHILLIPS C.L.; COMBS S. B.; PINNELL S.R. Effects of ascorbic acid on proliferation and collagen synthesis in relation to the donor age of human dermal fibroblasts. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 103(2), p. 228-32, 1994.

POMATTO, L.C.D.; DAVIES, K.J.A. Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 124, p. 420–430, 2018.

PRAJAPATI B. G.; RATNAKAR N. A Review on recent patents on fast dissolving drug delivery system. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, p. 790-798, 2009.

RAY, S.S.; BOUSMINA M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21 st century materials world. **Progress in Materials Science**. v. 50, p. 962-1079, 2005.

REISCHE, D.; LILLARD, D.; EITENMILLER, R. Antioxidants. In: AKOH, C. C.; MIM, D. B. (Ed.). Food Lipids. **Food Science and Technology**, 2002.

RESTA, V.G.; MALI, S. Efeito de sacarose e glicerol como plastificantes em filmes orodispersíveis de amido e gelatina. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 21, p. 15-25, 2019.

ROCHA, G.O.; FARIAS, M.G.; CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, J.L.R.; GALDEANO, M.C. . Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587–595, 2014.

ROMIO, A.P.; LUNKES, A.M.; BRUSAMARELLO, C.Z.; BERTAN, L.C.; OLIVEIRA, L.; ASSIS, O.B.; TÉO, T. Encapsulação do carvacrol em filmes comestíveis de amido de mandioca e gelatina. **Embrapa Instrumentação**, p. 213-216, 21 nov. 2017.

SARKA, E.; DVORACÉK, V. New processing and applications of waxy starch (a review). **Journal of Food Engineering**, v. 206, p. 77-87, 2017.

SEREIA, A.L.; MELLO, J.C.P. **Desenvolvimento de metodologia analítica por ECZ para polifenóis de fração semipurificada de *Trichilia catigua***. In: VI Simpósio Iberoamericano de Plantas Mediciniais, Ponta Grossa, Brasil, 2012.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C. L.; PAULETTI, P. M.; GAMBOA, I.C.;

BOLZANI, V.S.; VELASCO, M.V.R.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p. 153–166, 2007.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.88, p. 219-231, 2003.

SHELLHAMMER, T.H.; RHIM, J.W. Lipid-based films and coatings. **Innovations in Food Packaging**, p. 362 - 383, 2005.

SHIMODA, H.; TANIGUCHI, K. Preparation of fast dissolving oral thin film containing dexamethasone: a possible application to antiemesis during cancer chemotherapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**; v.73, p. 361-365. 2009.

SOUZA, R.C.R.; ANDRADE, C.T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24–30, 2000.

SU, K.; WANG, C. Recent advances in the use of gelatin in biomedical research. **Biotechnology Letters**, v. 37, n. 11, p. 2139–2145, 2015.

TANG, W.; HIOKI, H.; HARADA, K.; KUBO, M.; FUKUYAMA, Y. Antioxidant phenylpropanoid-substituted epicatechins from *Trichilia catigua*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p. 2010-2013, 2007.

TAIATELE, I.; BOSCO, T. C. D.; TISCHER, P. C. S. F.; BILCK, A. N.; YAMASHITA, F.; BERTOZZI, J.; MICHELS, R. N.; MALI, S. Abiotic hydrolysis and compostability of blends based on cassava starch and biodegradable polymers. **Journal of Polymers and Environment**, 2019.

ULERY, B.D.; NAIR, L.S.; LAURENCIN, C.T. Biomedical applications of biodegradable polymers. **Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics**, v. 49, n. 12, p. 832–864, 2011.

VANINI, L.S.; SANTOS, A.C.F.; KALSCHNE, D.L.; VIEGAS, M.C.; BENASSI, M. T.; LONNI, A. A. S. G. Desenvolvimento de uma formulação cosmeceutica para região dos olhos com extrato padronizado de café verde desenvolvimento. **Visão Acadêmica**, v. 18, p. 18–34, 2017.

VERCELHEZE, A. E. S.; MARIM, B. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; MALI, S. Development of biodegradable coatings for maize seeds and their application for *Azospirillum brasilense* immobilization. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 2193-2203, 2019.

XU, L.L.; SHI, L.L.; CAO, Q.R.; XU, W.J.; CAO, Y.; ZHU, X.Y.; CUI, J.H. Formulation and in vitro characterization of novel sildenafil citrate-loaded polyvinyl alcohol-polyethylene glycol graft copolymer-based orally dissolving films. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, p. 398–406, 2014

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os Resultados e Discussão deste trabalho estão apresentados, a seguir, na forma de um artigo científico, formatado nas Normas da revista *Materials Science and Engineering: C*.

NOVEL BIOPOLYMERIC FILMS WITH ANTIOXIDANT ACTION AS PROMISING SYSTEMS FOR DERMATOLOGICAL APPLICATION

ABSTRACT

The aim of this work was the production of biopolymeric films based on cassava starch and gelatin mixture (1:1) with the incorporation of natural antioxidants, such as vitamin C and catuaba extract. Films were produced from the mixture of starch and gelatin (1: 1) by casting employing glycerol (0.2 g/ 100 g polymer) as plasticizer, vitamin C (0, 5.0, 7.5 and 10.0 g/100 g polymer) and catuaba extract (0, 0.5, 1.0 and 1.5 g/100 g polymer) and were added as bioactive compounds. Films were characterized according to their microstructure, solubility, degree of swelling, water vapor permeability, mechanical properties, pH, antioxidant activity and release of bioactive compounds. All films formulations presented good appearance and homogeneity, and also all films produced with vitamin C and catuaba extract had their antioxidant capacity demonstrated, even in those produced with the low concentrations. Vitamin C films showed antioxidant capacity ranging between 75 and 100% free radical scavenging activity measured by the DPPH method, while films with catuaba extract showed values between 6 and 57%. Films prepared with 1.5 g catuaba extract /100 g polymer and all vitamin C formulations demonstrate to be promising alternatives to be used as sustainable cosmetic products.

Keywords: biopolymers; catuaba extract; vitamin C; starch; gelatin.

1. Introduction

In recent years, sustainability is an important issue in different sectors, including the cosmetics industry, which resulted in increasing concerns about cosmetics safety, environmental impacts and social impacts, involving all phases of the cosmetic product life cycle, and selection of raw materials is deserving of greater attention. With the sustainability comes the concept of the production of cosmetics without the addition of chemicals preservatives, such as petroleum-based products, parabens, formaldehydes donors that are known to sometimes cause allergies in the population [1].

The growing interest in natural products as functional additives with low environmental impact has attracted researchers and the cosmetics industry to invest in innovative products and pharmaceutical forms such as the development of biodegradable films for cosmetic use [2]. These films consist of thin membranes that quickly adhere to the local application, where the bioactive compound is released and absorbed [3].

Biodegradable films when directed to the pharmaceutical and cosmetic applications act as a polymeric matrix that will release an bioactive ingredient of interest, and these may be of different classes and with different mechanisms of action, but initially it must be water soluble, or be used in formulations that allow their solubilization in the polymeric matrix studied [4].

Hydrophilic biopolymers can be used in this process, which is an advantage because they are generally non-toxic and non-irritant materials, in addition, there are several characteristics that can be controlled with the choice of the polymer, such as disintegration time, mechanical strength, flexibility, among others. Therefore, choosing the polymer or polymers to be used is a critical research step [5].

Starch and gelatin are renewable source, low-cost, high availability and biodegradable polymers, as well as they have excellent functional and filmogenic properties [6,7]. Additionally both of them are listed as generally recognized as safe (GRAS) and included in the Food and Drug Administration Inactive Ingredient Guide. These materials have great industrial, pharmaceutical and biomedical application, they have been used as excipients, in drug coatings, microencapsulation and in hydrogels preparation [8].

Several authors have reported the production of biodegradable films from starch and gelatin mixtures, obtaining materials with better mechanical properties than pure polymers and with applications primarily intended to use as edible food films and coatings [9-13]. Garcia *et al.* (2 [9] reported the use orodispersible films based on gelatin and starch loaded with camu-camu powder as vitamin C source. There are very few reports in literature exploiting the use of biodegradable films based on these polymers to obtain novel cosmetic systems.

The increase in life expectancy observed in recent decades and also the pursuit of quality of life during aging have encouraged research and development of products with active substances with anti-aging properties, including antioxidants. Antioxidants are substances that can slow or block reactions induced by free radical oxidation. Some substances naturally produced by our body aim to establish a harmonic balance between the presence of oxidizing molecules, antioxidants and the skin. Due to its extensive area and protective function of the organism, the skin is very exposed to free radical attack, being the antioxidant defense constantly requested. Thus, it is a constant concern of cosmetology to prevent and alleviate skin aging through the search and study of effective antioxidant substances [14].

Vitamin C is considered as an important water soluble antioxidant, it has the ability to eliminate different free radical species, including superoxide and hydroxyl radicals. It also has the power to reduce tocopherol radicals so that they can return to their active form present in cell membranes, to maintaining their integrity in cells of aerobic organisms. It also has many physiological functions, including the high antioxidant power of recycling vitamin E in the lipid peroxidation process of membranes and lipoproteins [2,13,15].

Many plants are known to have antioxidant substances in their composition, one example is *Trichilia catigua* A. Juss. (Meliaceae), which is popularly known in Brazil as catuaba, or catinguá, red catiguá, catuama, pea-stick and northern catuaba [16-17]. The antioxidant activity of catuaba extract was confirmed by Lonni *et al.* [18], who described the presence of cinchonains, gallic acid derivatives, polyphenols, flavonoids, catechins and epicatechins in catuaba crude extract.

Therefore, this study aimed the development of low cost biopolymeric films from cassava starch and gelatin, with the incorporation of antioxidant bioactive ingredients, such as vitamin C and catuaba extract, to future use as a cosmetic

product eco-friendly and sustainable. As this product being free parabens and chemical preservatives, with a hydrophilic basis.

2. Materials and methods

2.1. Materials

To produce the films, cassava starch was purchased from Yoki (Paranavaí - Brazil), gelatin was purchased from BIOTEC (Sao Paulo - Brazil) and vitamin C was purchased from Alphatec (Sao Paulo-Brazil). Catuaba was obtained from a local market and used to obtain the extract that was incorporated into the films, as described below.

2.2. Methods

2.2.1. Catuaba extract preparation

Catuaba barks were obtained from a local market and used to obtain the extract. Catuaba extract was prepared according to Lonni et al. [18]. Previously dried stem barks (20.0 g) were milled, and the crude extract obtained by extraction with 200 mL of a solvent mixture (water: methanol: acetone: ethanol - 1: 1: 1: 1) for 15 min. $40 \pm 2^\circ \text{C}$ in mill. Then, the crude extract was filtered on tissue membrane initially, and on cellulose membrane, after rotary evaporated (Tecnal-TE-0581) and stored under refrigeration.

2.2.3. Films production

The films were produced by casting technique from the mixture of starch and gelatin (1: 1), in which the filmogenic solution (2 g polymer/ 100 g filmogenic solution) was prepared in aqueous medium, placed on a support for dehydration, and after the solvent evaporation, films were removed by detachment. In all films formulations 0.2 g glycerol / 100 g polymer was employed as plasticizer. To the preparation of the films, the gelatin was hydrated in distilled water at room temperature for 30 min and then solubilized at 55°C for 30 min. Cassava starch was heated at 90°C for 10 min. Finally, to the films preparation, the components of each formulation were mixed in the 1:1 proportion and agitated continuously in a water bath (Marconi MA 127) at 90°C for 30 min. The filmogenic solutions (20 g) were dried in acrylic plates in a ventilated oven at 30°C for 24 h.

Different concentrations of vitamin C and catuaba extract were incorporated in the films, resulting in 8 films formulations. Vitamin C and catuaba extract concentrations were based on study of Afonso et al. [2], and through preliminary studies (not presented) the quantities ranges of each antioxidant that can be used to obtain films with good mechanical properties and easy to handle were determined. The films formulations were labeled as control film (CF), prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF7.5 and VCF10, prepared with addition of 5.0, 7.5 and 10 g vitamin C/100 g polymer, and CEF0.5, CEF1.0 and CEF1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 % dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 , prepared with addition of 10 vitamin C/100 g polymer, and 1.0 % catuaba extract/100 g polymer.

2.2.3. Solids content of catuaba extract

The total solids content of the extract was obtained by drying 10 ml of the crude extract in a temperature-controlled air-circulation oven at 25°C (Marconi- MA 035) for 24 h.

2.2.4. Characterization of the films

Before analyzes, the film samples were conditioned in relative humidity of 58% at 25°C in desiccator for at least 48 h for characterization.

2.2.4.1. Solubility and degree of swelling (DS) at different times

Solubility and degree of swelling (DS) were determined simultaneously using a gravimetric method using a previously weighed cylindrical device (3.0 x 3.5 cm), containing at one end a mesh with a nominal aperture of 138 x 75 µm, as described by Sueiro [19]. The samples (2 x 2 cm) of each formulation were carefully weighed and placed in the device, and then immersed in 10 mL phosphate buffer solution (pH 7.0). At predetermined times (5, 15, 30 and 60 min), the films were removed from the solution, excess buffer was removed with filter paper, and then the films were weighed, and from the obtained value the DS of each sample was calculated in relation to its initial dry weight. The films were then taken to dry at 25 °C in a controlled temperature ventilated oven for 24 h. At the end of this period, the films were weighed again, and then the percentage of solubilization of each sample was calculated. Analyzes were determined in triplicate.

2.2.4.2. Mechanical properties

Mechanical tensile properties were analyzed using a Stable Micro Systems TA.TX2i texturometer in accordance with the American Society for Testing and Material Standards (ASTM D882-91) [20]. Samples (2 x 4 cm) were cut and adjusted between the pneumatic clamps of the equipment. The distance between the claws was 50 mm and the traction speed 500 mm / min, and the analyzes were performed in triplicate. The force (N) and deformation (mm) were reported to determine the tensile strength (MPa) and elongation (%).

2.2.4.3. Water vapor permeability (WVP)

Water vapor permeability (WVP) is the water vapor permeability (g / msPa), the TWVP is the water vapor permeability rate (g / m²s), and is the film thickness, P_s is the water vapor saturation pressure under 25°C, RH_d and RH_c are the relative humidity in the desiccator and capsule, respectively. Each triplicate film sample was placed in a 60 mm circular opening of a permeability cell and sealed to ensure that water vapor transfer occurred exclusively through the film. The set was placed in a desiccator at 25° C containing saturated NaCl solution that provided 75% RH environment, the permeability cell was partially filled with CaCl₂ so that 0% relative humidity (RH) was obtained inside. After an equilibration period of 3 h, the cells were weighed at regular intervals until a constant rate of mass gain was obtained. Analyzes were performed in triplicate.

WVP was determined gravimetrically according to ASTM E96-00 [21] standards. The angular coefficient of each line was calculated by linear regression at constant regime (r² > 0.99) and water vapor permeability (WVP) was calculated according to the following equation 1:

$$WVP = \frac{(TWVP * e)}{\left(P_s \times \left(\frac{RH_d - RH_c}{100} \right) \right)} \quad (1)$$

2.2.4.4. Scanning electron microscope (SEM)

The analysis of the films morphology was performed by scanning electron microscope (SEM). The samples were immersed in quick freezing liquid nitrogen, fractured with tweezers and dried in calcium chloride (CaCl₂) for 1 week. The dried samples were coated with gold by a BAL-TEC SCD 050 Sputter Coater. It was employed a scanning electron microscope FEI Quanta 200 (Hillsboro - USA).

2.4.4.5. Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR)

The pulverized and dried samples were then mixed with potassium bromide and compressed into tablets. The FT-IR analyses were carried out with a Shimadzu FT-IR - 8300 (Kyoto, Japan), which has a spectral resolution of 4 cm^{-1} and a spectral range of $400\text{-}500\text{ cm}^{-1}$.

2.4.4.6. Differential scanning calorimetry (DSC)

The DSC analyses were performed on a Shimadzu DSC 60 (Kyoto, Japan) calorimeter. Approximately 3.0 mg of each sample were placed in platinum containers and heated from 30 to 450°C at a heating rate of $5^{\circ}\text{C} / \text{min}$ in a helium atmosphere.

2.4.4.7 pH

The pH was measured using a potentiometer (Digimed-DM20, LOCAL). Approximately 1 g of each film formulation was placed in 10 mL of water and after 1 h under agitation the pH was measured. The analysis was performed in triplicate.

2.4.4.8. Film thickness

The samples thicknesses were determined using a Mitutoyo micrometer (São Paulo, Brazil). For each formulation, an arithmetic average of five points in three film samples was performed.

2.4.4.9. Release of vitamin C and phenolic compounds from films

Samples (2 x 2 cm) of each film formulation were carefully weighed and immersed in 50 mL of distilled water and mechanically agitated at a controlled temperature of 37°C (CIEN TEC-712), and at pre-determined times (5, 15, 30 and 60 min), 0.5 mL aliquots were taken for analysis of vitamin C and phenolic compounds.

2.4.4.10. Determination of vitamin C content in films

Vitamin C content in the films was determined by the method described by Tee et al. [22] by titration using 2,6-dichlorophenolindophenol as a color indicator, which changes from transparent to pink when all the ascorbic acid in the reaction is

consumed. It was employed a vitamin C standard at 10 mg%. The tests were performed in triplicate.

2.4.4.11. Determination of total phenolic content in catuaba extract and in films containing the catuaba extract

Total phenolic content was determined according to the European Pharmacopoeia spectrophotometric method [23, 24]. A stock solution was prepared with the crude catuaba extract (0.075 g of solids) or with the films (0.080 g), which were mixed each one with 250 mL of distilled water and pyrogallol. The absorbances of the resulting solutions were read spectrophotometrically (Shimadzu UV/VIS PC-1650, Japan) at 760 nm. Tests were carried out in triplicate. The results were reported as the mean \pm standard deviation (SD) of the total phenolics or total tannins, expressed as pyrogallol percentage and as the relative standard deviation percentage (RSD%).

2.4.4.12. Antioxidant capacity of films containing vitamin C and catuaba extract by free radical capture

The antioxidant capacity of films containing antioxidants, as well as vitamin C and catuaba extract, were determined by the procedure described by Amarowicz et al. [25] using DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl). Vitamin C (5 mg) and catuaba extract (5 mg) were weighed and diluted in methanol to obtain 8.5; 7.0; 5.5; 4.0, 2.5 and 1.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$, and the free radical scavenging activity (RSA) of each sample was expressed as a percentage.

The IC_{50} (indicating the concentration of antioxidant necessary to quench 50% radicals in the reaction mixture) was calculated from the plotting of inhibition percentage versus sample concentration.

For the films there were employed samples of 2 x 2 cm from each formulation. Then, 375 μL of DPPH solution (1 mmol/L) was added to each sample. After 30 min at rest in the dark, the absorbances of the resulting solutions were read spectrophotometrically at 517 nm in a spectrophotometer (Shimadzu UV/VIS PC-1650, Japan). The negative control employed was the control formulation (CF). Analyzes were performed in triplicate.

2.2.5 Statistical analysis

Statistical analyzes were performed using the software R (R Core Team (2019)). Once the normality (Shapiro-Wilk test) and independence (Durbin-Watson test) were verified from errors and homogeneity of variance (Bartlett test), the data were submitted to the Tukey test, at the level of 5% significance.

3. Results and discussion

3.1. *Catuaba* extract characterization

The total solids content found in the crude extract was 0.37 g per 10 mL, which is equivalent to 3.7 % total in the crude extract. The results of the antioxidant capacity are presented in Table 1. It can be observed that with the increase of the *catuaba* extract concentrations there was observed an increase of the antioxidant capacity. From these results the inhibitory concentration corresponding to the amount required to decrease the initial DPPH reagent concentration to 50 % (IC₅₀) [26] was calculated. The IC₅₀ obtained for *catuaba* crude extract was 6.49 µg/mL, higher than the value obtained by Lonni et al. [18] who found a value of 4.59 µg/ml to the IC₅₀ extract from the same plant.

Table 1 – Antioxidant capacity of *catuaba* extract in different concentrations..

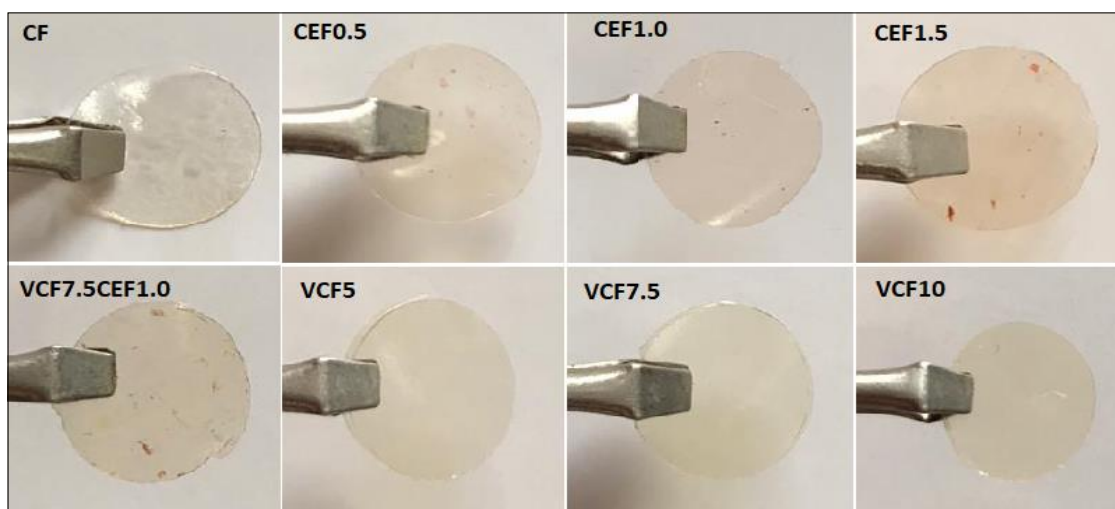
Crude extract concentration (mg/ml)	Antioxidant Capacity (%)
1.0	0
2.5	13.64
4.0	30.90
5.5	43.08
7.0	53.21
8.5	64.62
Negative control	0

The total phenolic content found in the crude *catuaba* extract obtained in this work was 34.54 %. Resende et al. [27] presented in their work a result of 19.16 %, Sereia et al. [28] a result of 24.99 % for *catuaba* extract, while Lonni et al. [18] observed values between 35.77 and 50.84 % for extract from the same plant. The results obtained may differ due to conditions in the test performed and also due to the origin or cultivation conditions of each plant.

3.2 Visual appearance of the films

All formulations resulted in homogeneous films, without discontinuity zones and easy to handle. They presented variations of colors from transparent to brown, varying according to each produced formulation (Figure 1). Vitamin C formulations were colorless, on the other hand, catuaba films had a brownish color due to crude extract being brown.

Figure 1 – Gelatin-Starch films produced with different concentrations of vitamin C and catuaba extract.



3.3. Solubility and degree of swelling at different times

The solubility results are presented in Table 2. It can be observed that the control formulation is between the lowest solubility values at most times. In general, films added with the antioxidants presented the highest values, with VCF7.5 (prepared with 7.5 g vitamin C /100 g polymer) being the formulation between the highest solubility values. This result may be related to the fact that with the addition of vitamin C and catuba extract in the formulations increased the amount of hydrophilic molecules, which led to a higher solubility percentage in films containing vitamin C [8]. Farias et al. [29] observed in their work with starch films that with the addition of frozen acerola pulp increased the films solubility. Malherbi et al. [11] obtained films based on corn starch and gelatin, added with guabiroba pulp and also observed an increase in solubility values with addition of the hydrophilic bioactive compound.

Films added with catuaba extract (CEF0.5 and CEF1.5) did not present significant difference ($p \leq 0.05$) for solubility values at the different assay times, having constant solubility (Table 2).

Some formulations broke up when in contact with water for 60 min, leading in losses in films mass, which resulted in lower values for solubility percentage; this occurred for films formulations with addition of 5 and 10 g vitamin C /100 g polymer (VCF5 and VCF10) and for CEF0.5 and CEF1.0 formulations, which showed lower solubility values after 60 min compared to 30 min. Sueiro et al. (2016) [30] reported the same trend form starch-pullullan films.

Table 2 - Solubility of films at different times.

Films samples	Solubility (%)			
	5 min	15 min	30 min	60 min
CF	6.14±0.91 ^{cB}	21.78±0.23 ^{abcdA}	19.82±0.07 ^{bA}	25.45±0.60 ^{bcdA}
VCF5	15.02±10.50 ^{bB}	13.38±2.91 ^{dB}	24.75 ^A ±1.45 ^{abB}	18.052±3.25 ^{dAB}
VCF7.5	19.89±1.84 ^{abC}	25.86±2.81 ^{abBC}	30.17±4.08 ^{aAB}	35.23±3.68 ^{aA}
VCF 10	15.15±0.47 ^{bB}	27.33±0.68 ^{aA}	31.08±0.34 ^{aA}	29.26±0.83 ^{abcA}
CEF0.5	24.47±0.49 ^{aA}	18.53±0.99 ^{bcdA}	25.55±0.43 ^{abA}	21.91±0.50 ^{cdA}
CEF1.0	11.60±1.45 ^{bcC}	16.12±2.72 ^{cdBC}	23.81±1.94 ^{abA}	20.47±2.15 ^{dAB}
CEF1.5	17.93±0.88 ^{abA}	22.12±0.32 ^{abcA}	21.60±1.00 ^{bA}	23.43±0.40 ^{cdA}
VCF 7.5 CEF1.0	14.12±0.83 ^{bcC}	26.44±0.51 ^{abB}	25.27±0.58 ^{abAB}	33.38±0.48 ^{abA}

Lower case letters in the same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$) and upper case letters in the same line indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

The degree of swelling results are presented in Table 3. It can be observed the values increased with increase of assay test, the values ranged from 2.8 to 10.44 g/g (Table 3).

Table 3 – Degree of swelling of films at different times.

Films samples	Degree of swelling (g/g)			
	5 min	15 min	30 min	60 min
CF	5.31±0.36 ^{aB}	6.65±0.70 ^{aAB}	6.62±0.40 ^{aAB}	8.35±0.67 ^{abA}
VCF5	2.80±0.50 ^{bB}	7.75±1.14 ^{aA}	6.63±1.71 ^{aA}	8.47±0.80 ^{abA}
VCF7.5	5.28±0.53 ^{aB}	6.44±0.54 ^{aAB}	7.83±0.51 ^{aA}	7.49±0.62 ^{bA}
VCF10	5.81±0.47 ^{aC}	6.86±0.55 ^{aBC}	7.99±0.88 ^{aAB}	9.09±0.24 ^{abA}
CEF0.5	4.94±0.88 ^{aB}	5.96±0.55 ^{aAB}	7.65±0.91 ^{aA}	7.37±0.54 ^{bA}
CEF1.0	4.94±0.59 ^{aC}	6.00±0.77 ^{aBC}	7.72±0.54 ^{aAB}	9.49±0.64 ^{abA}
CEF1.5	4.22±0.31 ^{aB}	6.51±0.51 ^{aA}	7.46±0.40 ^{aA}	8.10±0.20 ^{abA}
VCF7.5CEF1.0	4.68±0.24 ^{aC}	5.96±0.24 ^{aBC}	7.39±0.58 ^{aB}	10.44±0.46 ^{aA}

Lower case letters in the same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$) and upper case letters in the same line indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

The lowest value was observed for VCF5 after 5 min (2.80 g/g) and the highest value was obtained for the VCF7.5CEF1.0 sample after 60 min (10.44 g/g) (Table 3). According to Eça and Sartori [31], some properties of biodegradable films such as degree of swelling degree remain unchanged after addition of plant extracts as there was a good interaction between the extract and the matrices of the films.

3.4. Mechanical properties and water vapor permeability (WVP)

Table 4 shows the mechanical properties results of different films formulations. Elongation of samples ranged from 2.88 to 5.26 %, and only the samples VCF10 (prepared with 10 g vitamin C /100 g) and VCF7.5CEF1.0 (prepared with 7.5 and 1.0 g/100g of vitamin C and catuaba extract, respectively) had significant higher values when compared to the other films formulations.

Table 4 – Mechanical properties (elongation and tensile strength) and water vapor permeability (WVP) of films.

Film Samples	Elongation (%)	Tensile strength (MPa)	WVP (g/msPa) x 10 ¹¹
CF	3.04±0.45 ^b	15.75±0.47 ^a	4.66±9.26 ^{ab}
VC F 5	2.88±0.18 ^b	11.41±0.80 ^{bc}	3.92±3.63 ^b
VCF 7.5	2.91±0.16 ^b	12.06±1.24 ^{abc}	4.41±4.30 ^{ab}
VCF10	4.88±0.52 ^a	11.88±0.30 ^{abc}	7.98±1.19 ^{ab}
CEF0.5	2.75±0.15 ^b	11.58±1.04 ^{bc}	3.47±3.30 ^b
CEF1.0	2.68±0.24 ^b	10.69±1.00 ^c	7.88±1.25 ^{ab}
CEF1.5	2.74±0.28 ^b	12.07±1.76 ^{abc}	9.03±2.74 ^a
VCF7.5ECF1.0	5.26±0.10 ^a	12.17±1.00 ^{abc}	4.71±4.63 ^{ab}

Different letters at same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

The higher tensile strength value (15.75 MPa) was observed for the control film (Table 4), and the formulations that were added with antioxidants resulted in a decrease in tensile strength value when compared to the control film. Garcia et al. [9] observed a decrease in tensile strength in starch-gelatin films with addition of acerola and camu – camu extract to the films. This behavior was also observed in the work of Tedesco [32], who reported that after incorporation of acerola extract in films of pregelatinized starch, carboxymethylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose had a significant decrease in their tensile strength value. Yoon [33] produced starch - polyvinyl alcohol films with addition of vitamin C and also it was observed a decrease in tensile strength values with addition of this vitamin, so the author suggested that ascorbic acid played a role of plasticizer in the formulation, which means that it can as a mobility enhancer, possibly its low molecular weight leads a large increase in molecular mobility of amorphous and partially crystalline polymers due an increased free volume on the polymeric matrix.

Water vapor permeability values are presented in Table 4. It can be observed that the lowest values were obtained for CEF0.5 (prepared with addition of 0.5 g catuaba extract /100 g polymer) with a value of 3.47×10^{-11} g/ msPa and VCF5

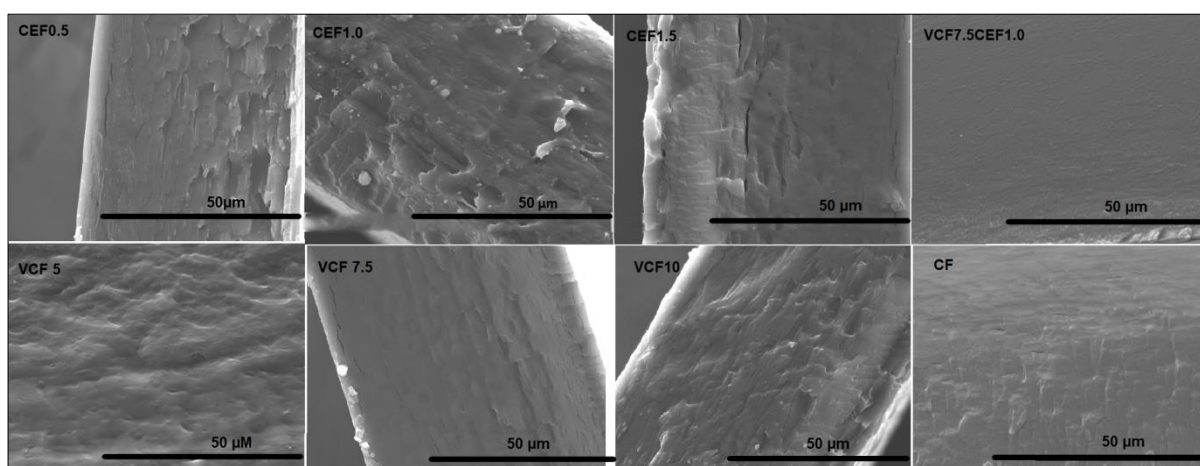
(prepared with addition of 5 g vitamin C /100 g polymer) with a value of 3.92×10^{-11} g/ msPa (Table 4).

The highest value was obtained for CEF1.5 (prepared with addition of 1.5 g catuaba extract /100 g polymer) with a value of 9.03×10^{-11} g/ msPa followed by VCF10 (prepared with addition of 10 g vitamin C /100 g polymer) with a value of 7.98×10^{-11} g/ msPa (Table 4). These results show an increase in WVP with increase of antioxidant added. Malherbi et al. [11] observed the same trend for films based on corn starch and gelatin added with guabiroba pulp, they reported an increase in WVP values with addition of the hydrophilic bioactive compound.

3.5. Scanning electron microscopy (SEM)

In figure 2 are shown the images of scanning electron microscopy of films . It is possible to see that all the films present a homogeneous structure without discontinuity zones and porosity. It is possible to say that the antioxidant addition did not influence the films microstructure. According to Jensen et al. [34] it is a good indicator of the structural integrity.

Figure 2 - Scanning electron microscopy of films fracture.



Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

3.6. Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR)

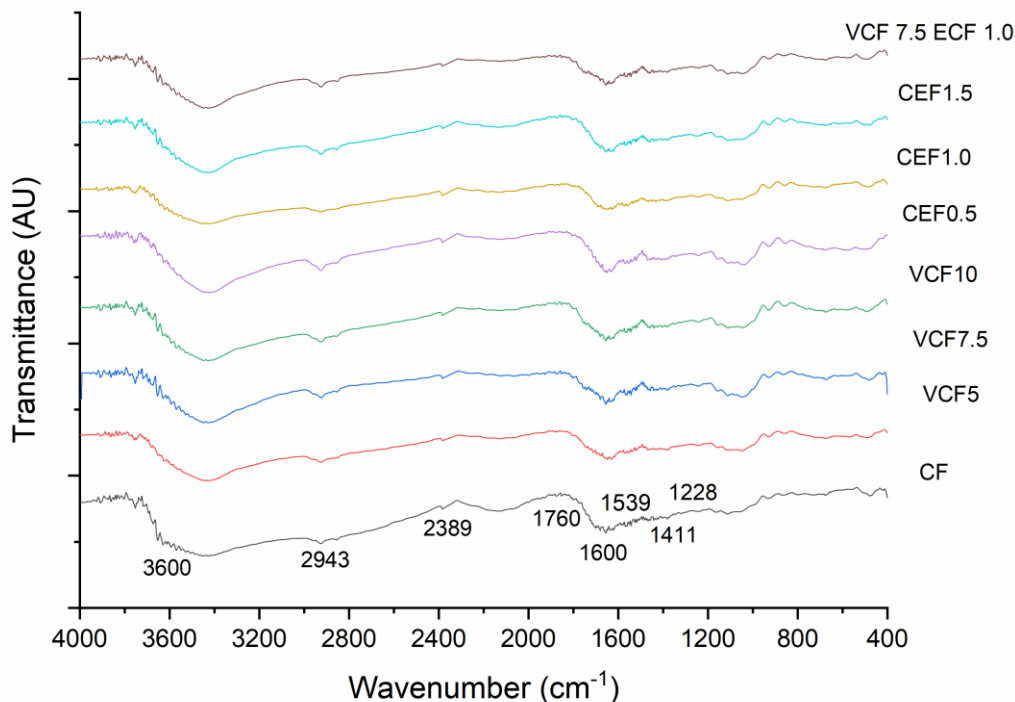
The FTIR spectra of films samples are depicted in Figure 3. In general, the shape and location of the main bands in all films formulations were very close in FTIR spectra of different films formulations (Figure 3), and this occurred because in all formulations starch and gelatin were the major components.

All the spectra presented a wide absorption band around 3400 and 3600 cm^{-1} (Figure 3), which can be attributed to OH stretching in hydrogen bonds [35], and according to Tongdeesoontorn et al. [36], the presence of O-H and N-H groups in starch and gelatin films and absorbed water leads to inter and intra hydrogen bonds. There were no observed changes in the polymers characteristic bands after the antioxidant addition; it can be due to its small concentration used in the formulations.

Bands located at 2930 cm^{-1} can be related to CH group stretching vibration (CH_2 groups) [37]. Figure 3 also show bands around 1660 cm^{-1} , which is associated with angular OH bending of water molecules, confirming the presence of water on films matrices [36,37], indicating that intermolecular hydrogen bonding may indicate not only the expected polymer interactions but also the hydration of starch, gelatin and glycerol molecules.

Bands between 1423 cm^{-1} and 1325 cm^{-1} were attributed to the CH_2 group, C-OH vibration and C-H stretch [8]. The bands located near 1640 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} and 1241 cm^{-1} corresponding to amine I, amine II and amine III from gelatin [38].

Figure 3 – Fourier Transform-Infrared Spectroscopy spectra of films.

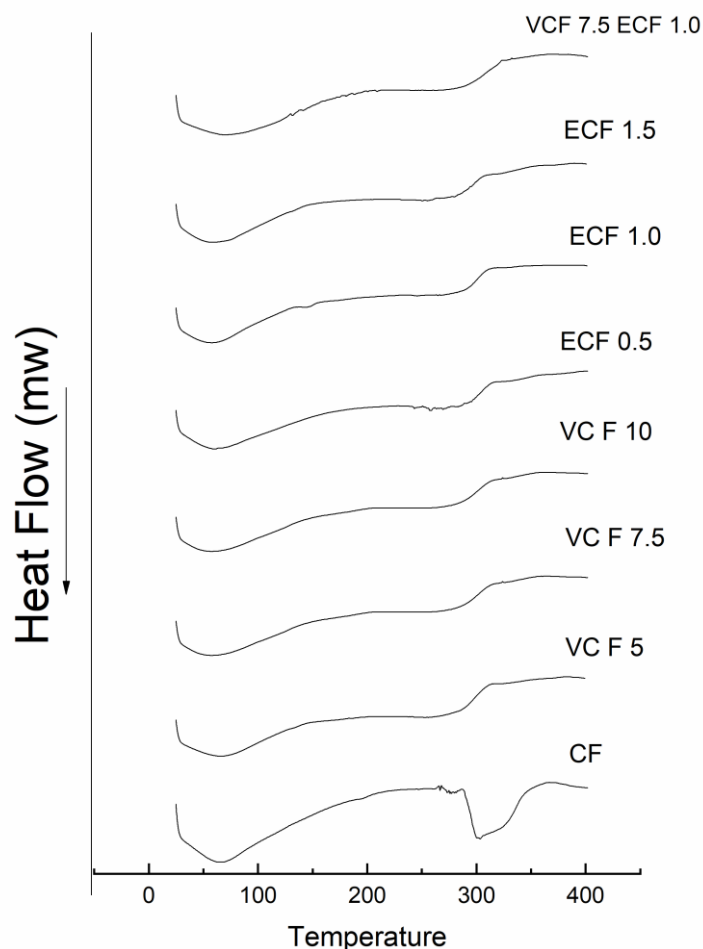


Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

3.6. Differential scanning calorimetry (DSC)

The DSC thermograms of the films are shown in Figure 4. For all samples it was observed a peak around 50-90°C, which can be attributed for residual water evaporation [39]. An endothermic peak was observed for all films formulations near to 300 °C, which can be related to the thermal degradation of starch. According to Bergo, Sobral and Prinson [40] endothermic peaks near 200 °C can be related to starch thermal degradation, and these peaks can be moved to above 200 °C when glycerol is used in the formulation, as it can be seen in this work. Ghanbarzadeh et al. [41] in their work with edible modified starch/carboxymethyl cellulose films observed a peak near 230 °C. Sueiro et al. [30] observed peaks in temperatures around 293 °C in DSC of starch-pullulan films.

Figure 4 - Differential scanning calorimetry curves of films.



Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

In films samples loaded with antioxidants it was possible to see the weakening of this peak 300 °C (Figure 4), possibly the incorporation of the antioxidants affected the inter-molecular force between polymers chains, resulting in a decrease of the heat of fusion of these films, as observed in DSC curves.

3.7. pH and thickness

The pH values of films are shown in Table 5. The pH ranged from 3.81 to 5.45. Control film and films loaded with catuaba extract showed no significant

difference between each other ($p \leq 0.05$), with pH values ranging from 5.20 to 5.45, these results agreed with results from Lonni et al.[18].

The formulations containing vitamin C had the lowest pH values, with decreasing pH as the concentration of vitamin C increased (Table 5). According to Dalcin et al.[42] when vitamin C has a pH lower than 4.2 is because it is in its non-ionized form, and this is the way that vitamin C needs to be to cross the skin barrier. Garcia et al. [9] produced orodispersible films based on starch and gelatin and observed that the addition of acerola and camu-camu extract resulted in lower pH values.

Thickness is a parameter that directly influences the properties of the films, so when it is controlled it allows the uniformity in the material, which helps in comparing their properties [43]. Table 5 shows the thickness results for different films formulations, and the values ranged from 110 to 140 μm .

Table 5 - pH and thickness of films.

Sample	pH	Thickness (μm)
CF	5.45 \pm 0.09 ^a	120.00 \pm 0.66
VC F5	4.3 \pm 0.07 ^b	120.66 \pm 1.08
VCF 7.5	3.70 \pm 0.26 ^c	130.33 \pm 1.11
VCF10	3.81 \pm 0.04 ^c	140.66 \pm 0.44
ECF0.5	5.20 \pm 0.02 ^a	120.66 \pm 1.11
ECF1.0	5.38 \pm 0.02 ^a	130.33 \pm 0.89
ECF1.5	5.32 \pm 0.11 ^a	140.00 \pm 0.66
VCF7.5 ECF1.0	3.93 \pm 0.01 ^{bc}	110.00 \pm 0.66

Different letters in the same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

3.8. Antioxidant capacity of films

The results of antioxidant capacity of films are shown in Table 6. It can be observed that all formulations presented statistical difference between each other ($p \leq 0.05$). Films loaded with vitamin C presented higher free radical scavenging activities

(RSA) when compared to catuaba extract films, which could be related to the concentrations of these compounds that were added to produce the films, vitamin C were employed in higher concentrations, resulting in higher antioxidant capacity.

For vitamin C films, the values ranged from 75.62 % to 93.33 % in 30 min, and from 87.94% to 100% in 60 min, being the lowest and the highest concentration of vitamin C in each time, respectively. Noronha et al. [44] observed a maximum antioxidant capacity of 56.21 % in methylcellulose films with the incorporation of α -tocopherol. Eça and Sartori [31] produced banana starch films containing 3.6 % unencapsulated ascorbic acid and obtained an antioxidant capacity of 49 %.

Table 6 - Antioxidant capacity of films measured by the DPPH method.

Film sample	RSA (%)	
	30 min	60 min
VC F 5	75.62±0.01 ^c	87.94±0.06 ^c
VCF 7.5	88.13±0.01 ^b	95.08±0.01 ^b
VCF 10	93.33±0.01 ^a	100±0.01 ^a
CEF0.5	6.65±0.01 ^f	15.32±0.06 ^f
CEF 1.0	14.34±0.01 ^e	23.38±0.01 ^e
CEF1.5	44.29±0.02 ^d	57.56±0.04 ^d

Different letters in the same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer.

3.9. Total polyphenol contents of films

Table 7 shows the results of total polyphenol release at 5, 15, 30 and 60 min from the films, and all formulations showed an increasing release of total polyphenols over time, and as higher the catuaba extract concentration in the films, higher the release. According to Resende et al. [27], as the higher the percentage of total polyphenols, the greater their antioxidant capacity. This is shown in the results of this work, where the CEF1.5 (prepared with addition of 1.5 g catuaba extract/ 100 g polymer) presented the highest total polyphenol values and also the highest antioxidant capacity (Table 6).

It was impossible to obtain reproducible results to the sample prepared with the mixture of both antioxidants (VCF7.5CEF1.0), so the results were not presented.

Table 7 – Polyphenol total content released from catuaba films at different times.

Films samples	Total polyphenol content (%)			
	5 min	15 min	30 min	60 min
CEF0.5	13.05±1.43 ^{cC}	22.58±1.54 ^{cBC}	39.39±1.91 ^{cAB}	41.83±1.94 ^{aA}
CEF 1.0	14.64±1.38 ^{cB}	32.45±1.19 ^{cA}	42.02±0.55 ^{cA}	45.18±0.37 ^{bA}
CEF1.5	39.35±0.61 ^{bB}	66.09±3.43 ^{bA}	62.18±0.45 ^{bA}	73.55±5.05 ^{cA}

Lower case letters in the same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$) and upper case letters in the same line indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer.

4.0. Vitamin C contents of the films

The results of vitamin C content released at different times are shown in Table 8. The lowest value was 4.29 mg from VCF5 after 5 min of test, and the highest 17.6 mg from VCF10 after 60 min.

Table 8 - Vitamin C released from films at different times.

Samples	Vitamin C content (mg)			
	5 min	15 min	30 min	60 min
VC F 5	4.29±0.19 ^{dA}	4.52±0.23 ^{dA}	4.58±0.19 ^{dA}	4.83±0.11 ^{dA}
VCF7.5	10.03±0.30 ^{cB}	11.19±0.50 ^{cA}	11.65±0.23 ^{cA}	11.65±0.23 ^{cA}
VCF10	15.54±0.50 ^{aC}	16.29±0.42 ^{aBC}	17.27±0.66 ^{aAB}	17.68±0.42 ^{aA}
VCF 7.5 ECF 1.0	12.52±0.23 ^{bB}	13.51±0.54 ^{bAB}	13.91±0.23 ^{bA}	12.93±0.39 ^{bAB}

Lower case letters in the same column indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$) and upper case letters in the same line indicate significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$). Control film (CF): prepared without antioxidant addition, VCF5, VCF 7.5 and VCF10, prepared with addition of 5, 10 and 15 g vitamin C/100 g polymer, and CEF 0.5, CEF 1.0 and CEF 1.5, prepared with addition of 0.5, 1.0 and 1.5 g dry catuaba extract/100 g polymer, and VCF7.5CEF1.0 prepared with addition of 10 g vitamin C/100 g polymer, and 1.0 g dry catuaba extract/100 g polymer.

All the formulations showed significant difference ($p \leq 0.05$) between then in all the times, with the VCF 10 formulation presenting the higher result in them.

However, the formulations VCF 5 and VCF 7.5 did not present significant difference ($p \leq 0.05$) over time, having constant release.

4. Conclusion

The films produced presented good appearance and homogeneity. Both vitamin C and catuaba extract films had antioxidant capacity demonstrated in the films even at the lowest concentrations employed. Vitamin C films were responsible for the highest antioxidant capacity value. Films with 1.5% catuaba extract/100 g polymers and all films formulations loaded with vitamin C films presented the best results in antioxidant capacity test, thus they are promising alternatives to use as topical drug delivery system, being a product free of petroleum-based product such as parabens and presenting a hydrophilic basis.

Acknowledgment

The authors wish to thank the Laboratory of X-ray Diffraction (LARX), Laboratory of Spectroscopy (ESPEC) and Laboratory of Electronic Microscopy and Microanalysis (LMEM) of the State University of Londrina, and also CAPES (Brazil) for Jéssica Fernanda Pereira grant and Fundação Araucária (Brazil) for financial support.

References

[1] Bom, S.; Jorge, J.; Ribeiro, H. M.; Marto, J. A step forward on sustainability in the cosmetic industry: A review. *Journal of Cleaner Production*, 225, (2019) 270-290. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.255>

[2] Afonso, C. R.; Hirano, R. S.; Gaspar, A. I.; Chagas, E. G. I.; Carvalho, R. A.; Silva, F. V.; Leonardi, G. R.; Lopes, P. S.; Silva, C. F.; Yoshida, C. M. P. Biodegradable antioxidant chitosan films useful as an anti-aging skin mask. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, (2019)1262-1273. <https://doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.052>

[3] Pallavi p.; Shrivastava S. K. Fast Dissolving Oral Films: An Innovative Drug Delivery System. *International Journal of Science and Research*, 3, (2014)412-105.

[4] Scarpa, M.; Paudel, A.; Klopogge, F.; Hsiao, W. K.;Bresciani, M.; Gaisford, S.; Orlu, M. Key acceptability attributes of orodispersible lms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 125, (2018)131-140. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.01.003>

[5] Xu, L. L.; Shi, L. L.; Cao, Q. R.; Xu, W. J.; Cao, Y.; Zhu, X. Y.; Cui, J. H. Formulation and in vitro characterization of novel sildenafil citrate-loaded polyvinyl alcohol-polyethylene glycol graft copolymer-based orally dissolving films. *International Journal of Pharmaceutics*, 473, (2014) 398–406. <https://doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.07.037>

[6] Yoon, S. D. Cross- linked potato starch-based blend films using ascorbic acid as a plasticize. *Agricultural and Food Chemistry, Washinton*, 62, p.(2014) 1775-1764. <https://doi.org/10.1021/jf4024855>

[7] Laffleur, F.; Strasdat, Benedikt. Gelatin-based formulations for dermal application. *European Polymer Journal*, 118, (2019) 542-550. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.06.013>

[8] Wannaphatchaiyong,S.; Heng, P. W. S.; Suksaeree, J. Lidocaine loaded gelatin/gelatinized tapioca starch films for buccal delivery and the irritancy evaluation using chick chorioallantoic membrane. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.09.005>

[9] Garcia, V. A. S. ; Borges, J. G. ; Mazalli, M. R. ; Lapa-Guimaraes, J. G. ; Vanin, F. M. ; Carvalho, R. A. . Gelatin and pregelatinized starch orally disintegrating films: Properties and stability of vitamin C. *Journal of Applied Polymer Science*, 134, (2017) 4484. <https://doi.org/10.1002/app.44841>

[10] Al-Hassan A. A.; Norziah M.H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26, (2012) 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.015>

- [11] Malherbi, N. M., Schmitz ; A. C., Grando, R. C., Bilck, A. P.; Yamashita, F.; Tormen, L.; Fakhouric, F. M.; Velascod, J. I.; Bertan, L. C. Corn starch and gelatin-based films added with guabiroba pulp for application in food packaging. *Food packaging and shelf life*, 19, (2019) 140-146.
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.12.008>
- [12] Asmeda, R.; Noorlaia, A.; Norziah, M. H. Relationships of damaged starch granules and particle size distribution with pasting and thermal profiles of milled MR263 rice flour. *Food Chemistry*, 191, (2016) 45-51.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.095>
- [13] Podshivalov, A.; Zakharova, M.; Glazacheva, E.;Uspenskaya, M. Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, (2017) 1162-1172.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.079>
- [14] Garcia, V. A. S.; Borges, J. G.; Maciel, V. B. V.; Mazalli, M. B.; Guimares, J. G. L.; Vanin, F. L.; Carvalho, R. A. Gelatin/ starch orally disintegrating films as a promising system for vitamin C delivery. *Food Hydrocolloids*, 79, (2018) 127-135.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.027>
- [15] Ninan N.; Muthiah M.; Park I. K.; Wong T. W.; Thomas S.; Groehns Y. Natural polymer/inorganic material based hybrid scaffolds for skins wound healing. *Polymer review*, v. 55,(2015)1-38. <https://doi.org/10.1080/15583724.2015.1019135>
- [16] Voss, G. T.; Gularte, M. S.; Vogt, A. G.; Giongo, J. L.; Vaucher, A. V.; Echenique, J. V. Z.; Soares, M. P.; Luchese, C.; Wilhelm, E. A.; Fajardo, A. R. Polysaccharide-based film loaded with vitamin C and propolis: A promising device to accelerate diabetic wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*, 552, (2018) 340-350. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.10.009>
- [17] Longhini, R.; Raksa, S. M.; Oliveira, A. C.; Svidzinski, T. I. E.; Franco, S. L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. *Revista Brasileira Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17, 3, (2007) 388-395. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300015>
- [18] Lonni, A.A.S.G.; Longhini, R.; Lopes, G.C.; Mello, J.C.P.; Scarminio, I.S. Statistical mixture design selective extraction of compounds with antioxidant activity and total polyphenol content from *Trichilia catigua*. *Analytica Chimica Acta* 719, (2012) 57-60. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.053>
- [19] SUEIRO, A. C. Desenvolvimento de filmes orodispersíveis à base de amido de mandioca, proteína de soja, gelatina e pululana. 2018. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.
- [20] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL (ASTM). Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. ASTM D882-91, Philadelphia, USA, 2001.

[21] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials – E 96-00 1 . Philadelphia: ASTM, 2000.

[22] TEE, E.S., Rajam, K., Young, S. I., Khor, S. C. And Zakayah, H. O. Laboratory Procedures in Nutrient Analysis of Foods. Kuala Lumpur, Malaysia: Division of Human Nutrition. Institute for Medical Research, 1996.

[23] Farmacopeia Europeia, Determinação de taninos em drogas herbais. Diretório Europeu de Qualidade de Medicamentos, v.6 , Strasbourg, 2007.

[24] Verza, S. G.; Kreinecker, M. T.; Reis, V.; Henriques, A. T.; Ortega, G. G. Avaliação das variáveis analíticas do método de folin-ciocalteu para determinação do teor de taninos totais utilizando como modelo o extrato aquoso de folhas de *Psidium guajava* L. *Química Nova*, 30, (2007) 815-820.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000400011>

[25] Amarowicz, R.; Pegg, R. B.; Rahimi-Moghaddam, P.; Barl, B.; Weil, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, (2004). [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00278-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00278-4)

[26] Borges, J. G.; Tagliamento, M. S.; Sobral, A. G.; Carvalho, P. J. A.; Aparecida, R. Development and characterization of orally-disintegrating films for propolis delivery. *Food Science and Technology*, 33, (2013) 28-33.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013000500005>

[27] Resende, F. O.; Rodrigues, E. F.; Luftmann, H. P. F.; Mello, J. C. P. Phenylpropanoid substituted flavan-3-ols from *Trichilia catigua* and their in vitro antioxidative activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22, (2011) 2087-2093. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532011001100010>

[28] Sereia, A.L., Mello, J.C.P. Desenvolvimento de metodologia analítica por ECZ para polifenóis de fração semipurificada de *Trichilia catigua*. In: VI Simpósio Iberoamericano de Plantas Mediciniais, Ponta Grossa, Brasil, 2012.

[29] Farias, M. G.; Fakhouri F. M.; Carvalho, C. W. P.; Ascheri, J. L. R. . Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). *Química Nova*, 35, (2012) 546-552.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000300020>

[30] Sueiro, A. C.; Tischer, P. C. S. F.; Lonni, A. A. S. G.; Mali, S. Filmes biodegradáveis de amido de mandioca, pululana e celulose bacteriana. *Química Nova*, 39, (2016) 1059-1064. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160118>

[31] Eça, K. S.; Sartori, T. Films and edible coatings containing antioxidants – a review. *Brazilian Journal of Food and Technology*, 17, (2014) 98.
<http://dx.doi.org/10.1590/bjft.2014.017>

[32] Tedesco, M. P. Filmes de desintegração oral produzidos por tape casting perspectiva para veiculação de compostos ativos extraídos dos resíduo industrial de acerola. Universidade de São Paulo, 2018.

[33] Yoon, S. D. Cross-Linked Potato Starch-Based Blend Films Using Ascorbic Acid as a Plasticizer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, (2014) 1755- 1764. <https://doi.org/10.1021/jf4024855>

[34] Jensen, S.; Grossmann, M. V.E.; Mali, S. Microestrutura e estabilidade de filmes de amido de mandioca adicionados de emulsificantes com diferentes equilíbrios hidrofílico/lipofílico. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12, (2009) 97 – 105. <https://doi.org/10.4260/BJFT20092308>

[35] Voss, G. T.; Gularte, M. S.; Vogt, A. G.; Giongo, J.L.; Vaucher, R. A.; Echenique, J. V. Z.; Soares, M.P.; Luchese, C.; Wilhelm, E. A.; Fajardo, A. R. Polysaccharide-based film loaded with vitamin C and propolis: A promising device to accelerate diabetic wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*, 552, (2018) 340-351. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.10.009>

[36] Tongdeesoontorn, W.; Mauer, L. J.; Wongruong, S.; Sriburi, P.; Rachtanapun, R. Mechanical and Physical Properties of Cassava Starch-Gelatin Composite Films. *International Journal of Polymeric Materials*, 61, (2012) 778-791. <https://doi.org/10.1080/00914037.2011.610049>

[37] Biswall, D. R.; Singh, R. P. Characterisation of carboxymethyl cellulose and polyacrylamide graft copolymer. *Carbohydrate Polymers* 57, (2004) 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.04.020>

[38] Barreto P. L. M., Pires, A. T. N., Soldi, V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatina in inert atmosphere. *Journal of Polymer Degradation and Stability*. 52, (2013) 79-147. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(02\)00267-7](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(02)00267-7)

[39] Wang, K.; Wang, W.; Liu, R. Y. A.; Xiao, J.; Liu, Y.; Zhao, Y. Mechanical properties and solubility in water of corn starch-collagen composite films: effect of starch type and concentrations. *Food Chemistry*, 216, (2017) 209-216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.048>

[40] Bergo, P. ;Sobral, P.; Prison, J. Effect of glycerol on physical properties of cassava starch films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, (2010) 401-41. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00282.x>

[41] Ghanbarzadeh, B.; Almasi, H.; Entezami, A. A. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *Innovative food science & emerging technologies*, 11, (2010) 697-702. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.06.001>

[42] Dalcin, K. B.; Schaffazick, S. R.; Guterres, S. S. Vitamina C e seus derivados em produtos dermatológicos: aplicações e estabilidade. *Caderno de Farmácia*, 19, (2003) 69-79.

[43] Lucena, C. A. A.; Costa, S. C.; Eleamen, G. R. A.; Mendança, E. A. M.; Oliveira, E. E. Desenvolvimento de biofilmes á base de xilana e xilana/gelatina para produção de embalagens biodegradáveis. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas), - Universidade Estadual da Paraíba, 2017.

[44] Noronha, C. M. et al. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. Food Chemistry, 159, (2014) 529–535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.159>