

**CAMILLA LUIZA DE ALMEIDA LOPES**

**APLICAÇÃO DO BIOPOLÍMERO DE *SCHIZOPHYLLUM*  
*COMMUNE* NA COSMÉTICA CAPILAR**



**Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia.**

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE  
GÓES**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
RIO DE JANEIRO**

**JULHO / 2023**

**Trabalho realizado no Departamento  
de Microbiologia Geral do Instituto de  
Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob  
a orientação da Professora Alane Beatriz  
Vermelho e coorientação de João Vítor  
Barreto**

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico esse trabalho aos meus irmãos Luiz Felipe, Júlia**

**Alice e Bernardo.**

**Que vocês nunca desistam de seus sonhos.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Santíssima Virgem por sempre estarem me fortalecendo e me amparando durante essa trajetória da graduação.

Agradeço a minha mãe Deise por ter me dado amor e mostrado a importância do estudo e como isso pode mudar nossas vidas.

Agradeço ao meu tio Luiz Mário que foi meu maior exemplo e sempre incentivou minha curiosidade pela ciência e plantou esse amor que tenho pela UFRJ, obrigada tio tenho certeza que dei orgulho ao senhor e a minha mãe.

Agradeço a minha família que por muitas vezes mesmo sem entender muito bem o peso de uma graduação e o que eu estava fazendo colocavam fé de que eu iria terminar.

Agradeço a todos meus amigos que além de acompanharem meus momentos de surto durante a graduação e até viverem junto comigo esses momentos, também me proporcionaram muitos momentos de alegria e risadas que com certeza fizeram meus dias serem mais leves.

Agradeço a Isabelle e Elaine por sempre terem sido grandes irmãs na minha vida dentro e fora da universidade, sempre me incentivando a continuar e me transmitindo as energias necessárias para continuar.

Agradeço em especial ao Caio por ser esse grande amigo que sempre esteve ao meu lado me apoiando e ajudando durante muito dos principais processos importantes da graduação do meu projeto e da minha vida, sem sua força tudo seria mais difícil.

Agradeço também à minha orientadora Alane Beatriz Vermelho por me orientar durante todo esse tempo e confiar a mim este lindo projeto pelo qual sou apaixonada

Agradeço ao meu coorientador João Vítor Barreto que me guiou e auxiliou durante todo o processo e se tornou um grande amigo que guardo e levo em meu coração, obrigada por ser mais que um coorientador, ser um amigo, muito de quem eu me tornei tem um pouco de você.

Agradeço também a todos do laboratório BioInovar por me auxiliarem durante todo o meu amadurecimento científico gostaria de agradecer em especial a Jac, Lívia, Athayde, Edilma, Jacqueline Elis, Sabrina e Verônica por me encorajarem a ser cada dia melhor, me oferecerem risadas, conselhos, abraços calorosos e ensinarem técnicas importantes.

Agradeço as ações de políticas públicas que desde muito cedo me incentivaram a estar onde estou me dando oportunidade para alcançar esse grande sonho.

Agradeço às agências de fomento por sempre incentivarem a ciência e possibilitarem a execução deste projeto.

Por fim, agradeço a todos que fizeram parte dessa minha trajetória e vibraram com cada uma das minhas conquistas direta ou indiretamente, sou grata por cada um de vocês.



## FICHA CARTOGRÁFICA

### CIP - Catalogação na Publicação

L183a      Lopes, Camilla Luiza  
Aplicação do Biopolímero de Schyzophyllum commune  
na cosmética capilar / Camilla Luiza Lopes. -- Rio  
de Janeiro, 2023.  
63 f.

Orientadora: Alane Beatriz Vermelho.  
Coorientadora: João Vitor Barreto.  
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto  
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:  
Microbiologia e Imunologia, 2023.

1. Biopolímero. 2. Cosmetologia. 3. Fungo. I.  
Vermelho, Alane Beatriz , orient. II. Barreto, João  
Vitor, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ  
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO  
RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO  
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

**ALUNO: Camilla Luiza de Almeida Lopes**  
DRE: 119048074

**BANCA EXAMINADORA:** Profa. Karla Rodrigues Miranda (Presidente)  
Profa. Flávia Lima do Carmo  
Dra. Jacqueline Elis de Souza  
Prof. Mateus Gomes de Godoy (Suplente)

**Título da Monografia: “Aplicação do biopolímero de *Schizophyllum commune* em  
cosmético capilar”**

**Local: Sala Vermelha / IMPG / CCS / UFRJ**  
**Data e hora de início: 13 de julho de 2023 às 13:40h**

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 10,0 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou co-orientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 13 de julho de 2023.

NOTA

10,0

10,0

10,0

\_\_\_\_\_

Banca Examinadora:

Karla R. M.

Profa. Karla Rodrigues Miranda

Flávia

Profa. Flávia Lima do Carmo

Jac. Elis

Dra. Jacqueline Elis de Souza

\_\_\_\_\_

Prof. Mateus Gomes de Godoy

Aluno:

Camilla Luiza de Almeida Lopes

Camilla Luiza de Almeida Lopes

Orientador:

Alane Beatriz Vermelho

Profa. Alane Beatriz Vermelho  
Coorientador: M.Sc. João Vitor Barreto

Coordenador  
de TCC

Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho





## RESUMO

CAMILLA LUIZA DE ALMEIDA LOPES

**Aplicação do Biopolímero de *Schizophyllum commune* na cosmética capilar**

**Orientadora: Alane Beatriz Vermelho**

**Coorientador: João Vítor Barreto**

**Resumo da monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso**

*Schizophyllum commune* é um fungo filamentosos que durante processos fermentativos, pode realizar a síntese do homopolímero extracelular (EPS) esquizofilano, uma  $\beta$ -glucana, constituída por uma cadeia principal com ligações glicosídicas  $\beta$ -(1,3), com um resíduo de glicose  $\beta$ -(1,6). Na literatura são descritas diversas propriedades, como hidratação, fotoproteção, alta viscosidade e estabilidade térmica, o que sugere potencial de aplicação em cosméticos. Em virtude disso, esse trabalho visa a produção da esquizofilano, em fermentação submersa do *Schizophyllum commune* e sua aplicação em formulações cosméticas. O fungo foi mantido sob crescimento em tapete em PDA (Potato Dextrose Ágar), cortado em pedaços e inoculado em meio de cultura de extrato de levedura 7 dias a 30°C. Após a fermentação, a biomassa fúngica foi separada do meio de cultivo e no sobrenadante adicionou-se 5 volumes de etanol absoluto para precipitação do EPS que foi liofilizado e pesado para quantificação em balança de precisão. Foram realizadas duas suspensões do biopolímero a 0,5% e a 1% para aplicação no creme capilar. Foi avaliado o potencial antioxidante das suspensões do biopolímero pela técnica de DPPH, a qualidade microbiológica das formulações preparadas, as propriedades organolépticas, o potencial citotóxico pelo ensaio de MTT e avaliação do fio capilar antes e após tratamento com a formulação. Dentre as condições utilizadas, o *S. commune* produziu 0,98 g/L de esquizofilano, que desempenhou boa emulsificação na formulação, não apresentou atividade antioxidante e de citotoxicidade, estavam

dentro dos parâmetros microbiológicos exigidos pela Legislação Brasileira. Obteve como propriedades organolépticas padrões esperados de uma formulação cosmética e desempenhou efeito condicionante no fio capilar. Em resumo, os resultados significativos e promissores deste estudo revelam que o biopolímero do *S. commune* possui um enorme potencial para a indústria de cosméticos capilares.

Palavras-chave: Biopolímero, creme capilar, fungo, fermentação submersa, beta glucana.

**ABSTRACT****CAMILLA LUIZA DE ALMEIDA LOPES****Aplicação do Biopolímero de *Schizophyllum commune* em cosmético capilar****Application of *Schizophyllum commune* Biopolymer in capillary cosmetics****Orientadora: Alane Beatriz Vermelho****Co-orientador: João Vítor Barreto**

**Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.**

*Schizophyllum commune* is a filamentous fungus that, during fermentation processes, can synthesize the extracellular homopolymer (EPS) schizophyllan, a  $\beta$ -glucan, consisting of a main chain with  $\beta$ -(1,3) glycosidic linkages and a  $\beta$ -(1,6) glucose residue. Several properties are described in the literature, such as hydration, photoprotection, high viscosity, and thermal stability, suggesting potential application in cosmetics. Therefore, this work aims to produce schizophyllan through submerged fermentation of *Schizophyllum commune* and apply it in cosmetic formulations. The fungus was maintained on a Potato Dextrose Agar (PDA) medium, cut into pieces, and inoculated into a yeast extract culture medium for 7 days at 30°C. After fermentation, the fungal biomass was separated from the culture medium, and 5 volumes of absolute ethanol were added to the supernatant to precipitate the EPS. The EPS was then lyophilized, weighed for quantification using a precision balance. Two biopolymer suspensions at 0.5% and 1% were prepared for application in the hair cream. The antioxidant potential of the biopolymer suspensions was evaluated using the DPPH technique, along with the microbiological quality of the prepared formulations, organoleptic properties, cytotoxic potential through the MTT assay, and evaluation of the hair strand before and after treatment with the formulation. Among the conditions used, *S. commune* produced 0.98 g/L of schizophyllan, which exhibited good emulsification in the formulation, showed no antioxidant or cytotoxic activity, and met the microbiological parameters required by Brazilian Legislation. It exhibited the expected organoleptic properties of a cosmetic formulation and had a conditioning effect on the hair strand. In summary, the significant and promising results

of this study reveal that the biopolymer from *S. commune* has enormous potential for the hair cosmetics in industry.

**Keywords:** Biopolymer, hair cream, fungus, submerged fermentation, beta glucan..

## RESUMO PARA LEIGOS

CAMILLA LUIZA DE ALMEIDA LOPES

**Aplicação do Biopolímero de *Schizophyllum commune* em cosmético capilar**

**Orientadora: Alane Beatriz Vermelho**

**Coorientador: João Vítor Barreto**

**Resumo para leigos da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso**

O fungo chamado *Schizophyllum commune* possui o potencial de revolucionar a indústria de cuidados com os cabelos. Este fungo filamentososo é conhecido por sua capacidade de produzir uma substância especial chamada esquizofilano, que possui propriedades únicas que podem beneficiar os cabelos. No mundo da cosmética, encontrar ingredientes naturais que possam melhorar a qualidade do nosso cabelo é sempre uma prioridade. É por isso que esse estudo explora o potencial do *Schizophyllum commune* o esquizofilano na criação de produtos eficazes para o cuidado do cabelo. Para iniciar o estudo, foi cultivado o fungo em um meio especial sob condições controladas. Após um processo de fermentação cuidadosamente monitorado, foi separada a biomassa fúngica do meio de crescimento. No líquido restante, foi adicionado uma quantidade específica de álcool 95% para isolar a esquizofilano, que foi liofilizado e pesado para análises posteriores. Foi preparado duas concentrações diferentes da solução de esquizofilano, 0,5% e 1%, para testar suas propriedades em uma formulação de creme para cabelos. Foi avaliado seu potencial como antioxidante usando uma técnica chamada DPPH, verificaram quaisquer microrganismos nocivos, avaliaram suas propriedades sensoriais e examinaram seu impacto nos fios de cabelo.

Os resultados foram que o fungo *Schizophyllum commune* produziu uma quantidade significativa de esquizofilano, demonstrando seu potencial como um recurso valioso para a indústria de cuidados com os cabelos. O esquizofilano apresentou propriedades de emulsificação na

formulação do creme para cabelos e atendeu a todos os padrões de segurança exigidos pelos órgãos reguladores. Não apresentou atividade citotóxica e antioxidante, tornando-o seguro para uso em produtos cosméticos. Além disso, proporcionou as características sensoriais esperadas de uma formulação cosmética e teve efeito condicionante nos fios, deixando-os mais macios e maleáveis. Com as propriedades naturais e benéficas da esquizofilano, a indústria de cuidados com os cabelos tem um novo e promissor ingrediente à sua disposição. Este biopolímero derivado de fungo pode levar ao desenvolvimento de produtos capilares inovadores e eficazes que aumentam a hidratação e melhoram a saúde geral do cabelo.

## ÍNDICE

RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	iii
RESUMO PARA LEIGOS .....	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Cronologia do cabelo na sociedade.....	1
1.2 A Fibra Capilar .....	2
1.3 Estrutura da Fibra Capilar .....	3
1.4 Crescimento Capilar .....	4
1.5 Diferença Étnicas do Cabelo.....	5
1.6 Curvaturas Capilares.....	8
1.7 Cuidados com o Cabelo.....	9
1.8 O Mercado de Produtos Capilares .....	10
1.9 Microrganismos: fungos .....	11
1.9.1 <i>Schizophyllum commune</i> .....	12
1.9.2 Esquizofilano .....	15
1.9.3 Propriedades do Esquizofilano .....	16
2. JUSTIFICATIVA .....	18
3. OBJETIVO .....	19
3.1 Objetivos específicos .....	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 Obtenção do Microrganismo e Manutenção de Estoque.....	20
4.2 Cultura submersa.....	21
4.3 Extração e Rendimento.....	22
4.4 Análise do Potencial de Ação Antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picril- hidrazil).....	23
4.5 Suspensão do Biopolímero .....	25
4.6 Formulação .....	26
4.7 Teste microbiológico do creme .....	27
4.8 Teste de estabilidade preliminar .....	30

4.9	Tratamento de Mechas Capilares .....	31
4.10	Microscopia Eletrônica de Varredura .....	32
4.11	Ensaio de Citotoxicidade (MTT) .....	33
5.	RESULTADOS .....	34
5.1	Manutenção e estoque do microrganismo <i>S. commune</i> .....	34
5.2	Fermentação Submersa do fungo <i>Schizophyllum commune</i> .....	34
5.3	Isolamento do biopolímero esquizofilano e quantificação do seu rendimento .....	35
5.4	Suspensão nas concentrações de 0,5% e 1% .....	36
5.5	nálise do Potencial de Ação Antioxidante do biopolímero por meio da técnica de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) .....	36
5.6	Desenvolvimento das formulações de cremes capilares contendo a suspensão do biopolímero derivado do fungo <i>S. commune</i> . .....	37
5.7	Controle de qualidade microbiológico das formulações capilares F0, F1 e F2. ....	38
5.8	Teste de estabilidade preliminar e avaliação das propriedades organolépticas das formulações .....	40
5.9	Tratamento de Mechas Capilares e Microscopia Eletrônica de Varredura .....	42
5.10	Ensaio de Citotoxicidade (MTT).....	44
6.	DISCUSSÃO .....	47
7.	CONCLUSÃO.....	53
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54





## 1. INTRODUÇÃO

Com o crescente avanço da biotecnologia e a consciência ambiental da população por itens cada vez mais ecologicamente corretos biodegradáveis (Zollo *et al.*, 2021) surge a idealização de produtos microbiológicos que buscam satisfazer o consumidor e preservar o meio ambiente. Os microrganismos são capazes de sintetizar moléculas como enzimas, polissacarídeos, proteínas, peptídeos, dentre outras (Rudakiya, Patel e Chhaya, 2021) Essas moléculas podem ser aplicadas na indústria química (PU *et al.*, 2018), indústria farmacêutica (Garcia *et al.*, 2022) indústria de alimentos (Zhang *et al.*, 2013 ) e na indústria cosmética (Leathers *et al.*, 2015).

O setor dos cosméticos ano após ano vem ganhando destaque no Brasil, em especial o de produtos capilares (ABIHPEC,2022) com bastante procura para cabelos cacheados e crespos. Devido à demanda, manifestou-se a ideia da elaboração de um cosmético capilar de composição fúngica utilizando o esquizofilano, um biopolímero fúngico do tipo beta glucana sintetizado pelo microrganismo *Schizophyllum commune* (Shoaib *et al.*, 2020) que já é descrito na literatura por suas propriedades, antitumorais, imuno terapêuticas (Garcia *et al.*, 2022) fotoprotetoras e de hidratação de tecidos (Gupta *et al.*, 2019) Devido a essas propriedades este biopolímero pode ser utilizado na indústria em diferentes segmentos. No setor dos cosméticos ele pode desempenhar um papel muito importante, por já ser conhecido pelo seu potencial para aplicação em produtos para a hidratação e proteção de raios UV da pele (Gupta *et al.*, 2019).

Tendo em vista as propriedades do biopolímero do fungo *Schizophyllum commune* e seu alto potencial de aplicação biotecnológica (Zhang *et al.*, 2013), visamos neste trabalho a elaboração de uma formulação visando sua aplicação em cosméticos capilares para cabelos cacheados, com um produto inovador e biodegradável e ecologicamente correto.

### 1.1 Cronologia do cabelo na sociedade

Desde a antiguidade o cabelo sempre foi um ornamento pessoal de bastante importância, simbolizando em muitas sociedades força, sedução, vaidade e prestígio social. Algumas das primeiras representações da importância social dos cabelos podem ser encontradas no Egito Antigo em que os faraós utilizavam perucas para indicar seu status social e na Grécia Antiga os

cabelos eram ofertados aos deuses como forma de pagamento à promessas, além de representarem beleza, sedução e perfeição corporal (Harlow, Mary e Ed., 2020).

O cabelo continuou exercendo sua influência social, na década de 1970 a 1980 com o ápice do movimento “*black power*” nos Estados Unidos, em que os cabelos afros passaram a simbolizar liberdade, força e a resistência do povo negro (Smethurst e James., 2018). Impactando diretamente a cultura de muitos países, como no Brasil, onde muitos artistas começaram a adotar o visual do cabelo natural e influenciaram diretamente a população que incorporou a estética dos cabelos armados que teve um fim no início da década de 1990 (Gomes *et al.*, 2019. a).

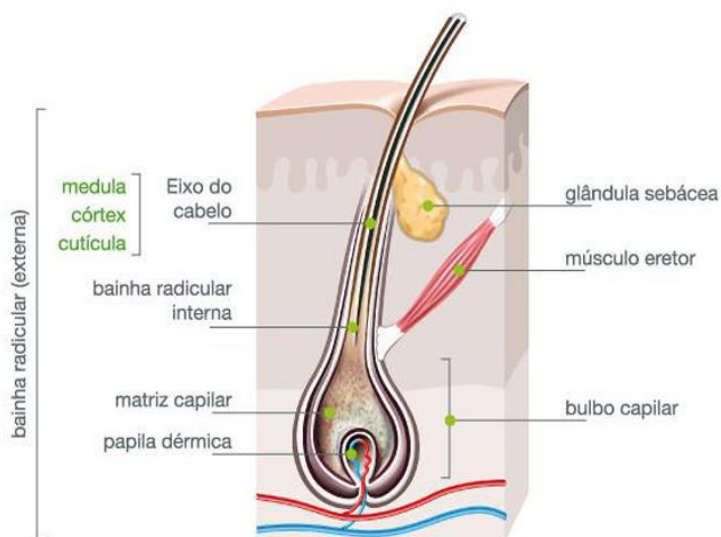
Atualmente, o cabelo continua representando um importante aspecto da individualidade humana (Burns *et al.*, 2020), uma significação onipresente nos diferentes contextos sociais que são capazes de transparecer a identidade social de uma determinada comunidade (Mizrahi e Mylene, 2015). Por conta dessa grande importância humana e social, houve a necessidade do desenvolvimento de produtos cosméticos que auxiliassem a manutenção e embelezamento dos cabelos, além de serem eficientes para os diferentes tipos de curvaturas capilares e agradarem os consumidores.

## 1.2 A Fibra Capilar

A fibra capilar é composta por células que não realizam processo mitótico, preenchido por uma camada de queratina, tendo em média cerca de 50-100µm. O crescimento do cabelo começa no folículo piloso sendo esse uma invaginação epidérmica do couro cabeludo envolvendo uma área com acúmulo de células mesenquimais chamada de papila dérmica, que se funde a bainha radicular fibrosa recobrando o folículo piloso, além de ser responsável pelo direcionamento do cabelo durante seu crescimento (Park, Khan e Rawnsley, 2018). A papila dérmica é envolvida pelo bulbo capilar e pela matriz capilar onde ocorre a divisão das células de matriz em sua maioria queratinócitos que migram para cima dando origem a haste capilar e a bainha radicular interna (Pereira-Silva *et al.*, 2022).

O folículo piloso (Figura 1) pode ser dividido em três segmentos: o inferior, na qual se encontra a base do folículo até a inserção do músculo eretor do pelo (região do bulbo e suprabulbo). No segmento médio encontra-se a inserção do músculo eretor do pelo que se estende até a glândula sebácea e por último, o segmento superior que se inicia após a glândula sebácea e se estende até o orifício folicular (Park, Khan e Rawnsley, 2018; Chikawa *et al.*, 2019; Pereira-Silva *et al.*, 2022).

No folículo capilar se observa a saída da haste capilar formada a partir da união de células de matriz capilar e do líquido disponível no bulbo capilar, que irá converter proteínas presentes no soro em precursoras de queratina e logo depois, queratina insolúvel que envolverá as células de matriz capilar criando uma bainha mielinizada, sendo esta uma interface sólido-líquido entre o bulbo e a haste capilar (Chikawa *et al.*, 2019; Pereira-Silva *et al.*, 2022).



**Figura 1:** Ilustração de um corte no eixo longitudinal das estruturas do fio capilar. (Pantogar, 2018).

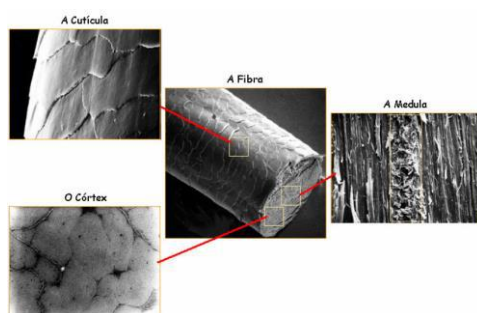
### 1.3 Estrutura da Fibra Capilar

A fibra capilar é composta por um núcleo central ou medula, córtex e cutícula (Figura 2). A medula, é constituída por uma coluna contínua ou descontínua de queratina rica em glicogênio e grânulos glomerulares compactados, localizada próximo ao centro da fibra capilar na região interna da haste capilar, rica em lipídios e com poucas ligações dissulfeto (Plowman, Jeffrey e Harland., 2018).

O córtex está localizado na parte central, é responsável pela força, elasticidade e textura, além de também dar cor ao fio, por possuir uma grande quantidade de melanossomas, onde ficam localizados os grânulos do pigmento de melanina (Koch. *et al.*, 2020). Sua estrutura celular possui uma camada protetora de microfibrilas (filamentos intermediários de queratina) que são adicionadas a proteínas associadas à queratina para formar a matriz capilar e assim se agrupam

formando microfibrilas maiores, gerando a resistência observada no fio capilar e o processo de queratinização triquilemal (Chikawa *et al.*, 2019; Koçak., 2023).

A cutícula é a região mais externa do fio capilar, é responsável por proteger o córtex, sendo constituída por queratina planas sobrepostas apontando para fora e para cima, criando uma superfície escamosa revestida por três camadas: Epicutícula, constituída por lipoproteínas; Exocutícula, constituída por cisteínas; Endocutícula, constituída por uma baixa concentração de enxofre-proteína localizada na interface do córtex, todas as camadas celulares e proteicas são unidas pelo complexo de membrana celular (CMC) uma estrutura derivada da membrana celular, rica em lipídeos que irá gerar a superfície hidrofóbica do cabelo (Pereira-Silva *et al.*, 2022).



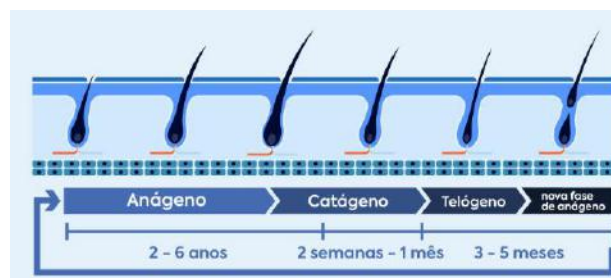
**Figura 2:** Morfologia capilar imagem de uma microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Epstein *et al.*, 2022).

#### 1.4 Crescimento Capilar

A formação da fibra capilar é um processo cíclico e dinâmico que envolve fatores nutricionais, genéticos, faixa etária dentre outros, mostrando uma grande complexidade para sua formação (Chikawa *et al.*, 2019). Em média o cabelo possui uma taxa de crescimento de 1cm por mês em seu estado estacionário em um padrão saudável, podendo crescer individualmente em grupos de 3 a 4 fios por folículo piloso (Pereira-Silva *et al.*, 2022). Também possui um ciclo de vida médio de 3,5 anos e três fases de crescimento sendo elas: anágena, catágena e telógena (Figura 3).

A fase anágena é a fase de crescimento capilar onde os folículos capilares atingem seu volume e comprimento máximo, tendo uma comunicação entre a papila dérmica e a matriz que dura cerca de 2 a 7 anos, em condições normais cerca de 85% dos fios do couro cabeludo são encontrados nessa fase. Na fase catágena, o folículo piloso entra em fase de repouso por conta do processo de desintegração do epitélio do folículo interior, com isso ocorre a diminuição da

atividade proliferativa das células e da bioquímica do folículo piloso essa fase tem em média uma duração de 2 a 4 semanas. Após esta fase, o folículo entra em um processo de quiescência e começa a cair sendo essa a última fase, telógena, que dura em média 3 meses (Park, Khan, Rawnsley *et al.*, 2018; Koch *et al.*, 2020; Pereira-Silva *et al.*, 2022). Entretanto, outros fatores como a descolorações e a utilização de químicas para modificar a estrutura original do cabelo podem influenciar no processo de queda capilar.



**Figura 3:** Fases do ciclo capilar (Kaloni., 2019).

### 1.5 Diferença Étnicas do Cabelo

O cabelo não possui somente um único formato e textura, por conta da predominância de alguns grupos étnicos o cabelo humano pode ser classificado em três grupos: asiático, caucasiano e africano (Tabela 1) dentro desses três grupos existem cinco aspectos principais que variam de acordo com cada grupo étnico: propriedade mecânica, pigmentação, área de seção transversal, curvatura e densidade (Epstein *et al.*, 2022).

A propriedade mecânica de um cabelo é um importante aspecto para entender mais profundamente a resistência que cada tipo de cabelo possui frente a sensibilizações externas. O cabelo asiático possui maior potencial elástico e estabilidade que o caucasiano e africano, este considerado o mais frágil dentre os três por possuir naturalmente uma menor quantidade de cutículas (Epstein *et al.*, 2022).

Já na pigmentação, uma característica influenciada pela quantidade e tamanho de melanossomas disponíveis no córtex capilar, o cabelo africano possui uma maior quantidade de eumelanina e baixa quantidade de feomelanina que são dois subtipos de melaninas produzidas no interior dos melanossomos, sendo a eumelanina responsável pela tonalidade preto/ castanho e a feomelanina responsável pela tonalidade vermelha ou amarela, por conta disso dificilmente cabelos africanos terão tonalidades mais claras, diferente de cabelos caucasianos que vão possuir


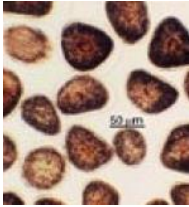


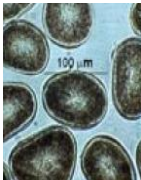


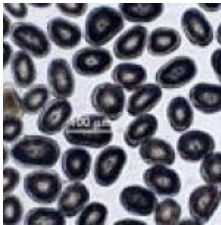

uma menor quantidade de eumelanina e maior quantidade de feomelanina, formando tonalidades mais claras (Epstein *et al.*, 2022).

Na área de seção transversal sendo esse o formato do folículo piloso, o cabelo asiático tem a maior área de seção transversal sendo seu folículo piloso redondo, enquanto no africano o folículo possui uma forma elíptica e no cabelo caucasiano pode ser vista uma forma intermediária dentre as duas (Epstein *et al.*, 2022).

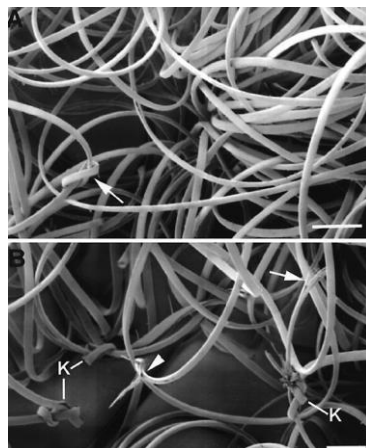
Na curvatura capilar, o cabelo africano é mais achatado com formato em espiral formando nós (Figura 4), enquanto o cabelo asiático é mais liso e não realiza nenhuma espiral e o caucasiano possui aspecto intermediário, podendo ser observado ondulações durante o crescimento do fio indo do liso até ondulado (Epstein *et al.*, 2022).

Já na densidade capilar, a concentração média de fios capilares é representada por unidades foliculares (UF) por centímetro quadrado, em média 1 UF é o equivalente a 1 a 4 fios (Khumalo *et al.*, 2000) O cabelo caucasiano é o com maior densidade de unidades foliculares por centímetro quadrado, seguido do asiático, que possui um calibre maior que os outros dois tipos capilares, e o africano que possui menor unidades foliculares (Epstein *et al.*, 2022).

**Tabela 1:** Diferença entre as estruturas capilares das três etnias: asiática, caucasiano e africano. (Adaptado de Santos., 2017).

Etnia	Aparência	Seção transversal do fio	Crescimento
Caucasiana	 <p>Geralmente liso ou com ondulações</p>	 <p>Oval ou redondo com diâmetro moderado</p>	 <p>Haste capilar cresce em um ângulo oblíquo ao couro cabeludo, levemente curvado</p>
Asiática	 <p>Liso</p>	 <p>Redondo com diâmetro grande</p>	 <p>Haste capilar cresce em um ângulo perpendicular ao couro cabeludo.</p>
Africana	 <p>Crespo e Cacheado</p>	 <p>Achatado com diâmetro moderado</p>	 <p>Haste capilar cresce paralelo ao couro cabeludo, enrolando-se</p>





**Figura 4:** Micrografia de baixa potência do fio capilar de um cabelo africano mostrando o entrelaçamento das hastes do cabelo mais a presença de um nó (K) escala em 2mm (Khumalo *et al.*, 2000).

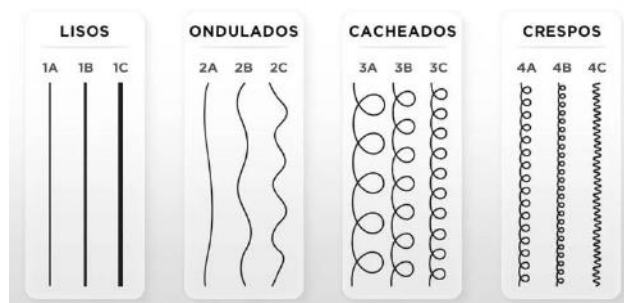
### 1.6 Curvaturas Capilares

Com o decorrer da evolução humana, houve o processo de compartilhamento de informações genéticas entre esses grupos étnicos devido a processos como colonizações, guerras e migrações, o que gerou variações e texturas capilares diversas (Luz., 2018).

Principalmente no Brasil que em sua maioria possui variações capilares que descendem do tipo capilar africano (Elzubair *et al.*, 2017). Segundo uma pesquisa realizada pela L'OREAL BRASIL (2007) que categorizou os principais tipos capilares encontrados no mundo com base na ondulação, mostrou que a população mundial possui oito tipos capilares diferentes, em sua maioria são cabelos cacheados ou crespos. Dentre eles, existe uma subdivisão maior, criada pelo cabeleireiro Andre Walker e adaptada para as diferentes curvaturas encontradas no Brasil: 1A,1B, 1C; 2A,2B,2C; 3A,3B e 3C; 4A,4B,4C (Figura 5).

Na classificação 1 (A, B, C) são os cabelos lisos com diferenças entre a circunferência capilar, sendo o 1A mais fino e 1C mais espesso. Já na 2 (A, B, C) são os cabelos chamados "ondulados" que formam ondulações mais abertas dependendo da finalização utilizada. Na classificação 3 (A, B, C) são os cabelos cacheados que necessitam naturalmente de reposição de óleos, possuem volume e maior definição em especial o tipo 3B, característico pela sua alta definição em "molas", ele possui o crescimento da haste capilar paralela ao couro cabeludo gerando ondulações na raiz capilar e com uma maior definição e volume nas pontas, sendo também naturalmente ressecado. Já na classificação 4 (A, B, C) são os cabelos crespos, característico por cachos mais fechados e um volume superior às outras classificações, também são naturalmente

ressecados e apresentam maior porosidade (Loussouarn *et al.*, 2007 ;L'OREAL BRASIL, 2021). Como essa curvatura advém dos fios africanos, são naturalmente frágeis e formam nós com maior facilidade que os cabelos cacheados do tipo 3 (A, B, C) (Luz., 2018).



**Figura 5:** Sistema de classificação das curvaturas capilares brasileiras adaptado de Andre Walker e Loussouarn (L'ORÉAL BRASIL 2021).

### 1.7 Cuidados com o Cabelo

Cabelos cacheados e crespos são cabelos que naturalmente necessitam de maiores cuidados, principalmente por serem naturalmente ressecados e mais frágeis, aliado a esse fator e a importância do cabelo na sociedade (Burns *et al.*, 2020). Houve a necessidade do desenvolvimento de produtos cosméticos que realizassem a manutenção e embelezamento dos cabelos, como xampus que realizam a higienização dos fios e do couro cabeludo compostos principalmente, por tensoativos que irão realizar a remoção do excesso de gordura do couro cabeludo (Kohl., 2021) e cremes de tratamento e condicionantes que possuem ativos capazes de recuperar a médio/longo prazo os fios ressecados e danificados (Luz., 2018).

Um creme é uma fórmula farmacêutica constituída por uma emulsão que apresenta duas fases presentes: a fase aquosa (hidrofílica) e a fase oleosa (lipofílica) que foram fundidas para a formação de uma emulsão, caracterizado por sua consistência semissólida e homogênea. Essas preparações emulsionadas são muito importantes para o uso dermatológico uma vez que a mistura água-óleo não causa manchas ou danos na pele, visto que são laváveis e facilmente removidos (Elaine., 2015). Um creme condicionante, tem por objetivo facilitar a penteabilidade e assegurar a saúde dos cabelos, sua ação é baseada na deposição do produto na superfície do cabelo que irá se fixar na fibra capilar por conta do tensoativo catiônico presente em sua formulação. As principais funções de um creme condicionante são: ser de fácil aplicação e remoção, não causar a formação de carga estática (*frizz*), proporciona fácil penteabilidade, ser suave com baixa

toxicidade, não irritar o couro cabeludo e permitir que os fios fiquem macios e desembaraçados (Elaine., 2015). Por conta disto, é um cosmético indispensável para o cuidado dos cabelos.

## 1.8 O Mercado de Produtos Capilares

De acordo com o panorama de 2022 da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2022) o Brasil é o quarto maior mercado de beleza e cuidados pessoais do mundo, movimentando cerca de 22,9 bilhões ao ano, e a categoria de produtos capilares é a quarta mais consumida pelos brasileiros, mesmo com a pandemia do SARS-COV 2 o setor de produtos de higiene pessoal continuou a crescer e nesse segmento os produtos voltados para os cuidados com os cabelos apresentaram um crescimento de 8,2% à 20,6% entre os meses de Janeiro e Setembro de 2020, em vendas (ABIHPEC,2021). Sendo esses produtos bastante procurados pelos brasileiros mesmo em período pandêmico (Zize., 2020).

Com esses dados, é perceptível a importância do mercado dos produtos capilares para a economia brasileira e para a nossa população. Um dos motivos desse grande mercado é a enorme diversidade de curvaturas do fio capilar que decorre da grande miscigenação do povo brasileiro (Elzubar, A. *et al.*, 2017). Em virtude disso, há uma grande demanda de cosméticos capilares voltados para esse público, gerando esse exponencial crescimento da indústria cosmética.

No cenário social, houve uma mudança no comportamento do público de cabelos cacheados/crespos que antes procuravam produtos para alisar ou modificar a curvatura de seus cabelos (Rocha, Schott e Casotti., 2016). Por conta da consciência dos danos à saúde causados pelo uso a longo prazo, e também pelas ações sociais de valorização dos cabelos pelo movimento negro, passaram a usar seus cabelos naturalmente cacheados/crespos e procurar opções de produtos para seus cabelos (Gomes *et al.*, 2019.b). A indústria passou a investir em produtos que consigam atender às principais exigências desse público, motivando a inovação e criatividade das empresas.

Dentre algumas exigências do consumidor, a que mais vem crescendo no cenário mundial é a utilização de cosméticos naturais que utilizem componentes biodegradáveis em suas formulações (Zollo, *et al.* 2021). Essa exigência, além da questão de saúde do produto, advém da preocupação crescente do consumidor pelas questões ambientais e preservação do meio ambiente. Desde a Conferência das Nações Unidas e do Relatório Brundtland, respectivamente, no período

de 1972 e 1987 o termo sustentável foi ressaltado com o foco no desenvolvimento econômico preocupado com a qualidade de vida das gerações futuras e atuais (Dos Anjos Furtado *et al.*, 2020).

Graças a isso, houve um exponencial crescimento no mercado de produtos capilares que passaram a procurar inovação, diversificação de seus produtos, além de práticas sustentáveis. No estudo realizado por Morioka (2021) é demonstrado que as principais empresas de cosméticos brasileiras demonstram preocupação com o desenvolvimento sustentável, além de procurarem opções sustentáveis a fim de obter uma vantagem competitiva e atender às principais demandas do seu público-alvo (Lourenço, *et al.* 2020). Sendo uma dessas inovações a utilização de microrganismos para a formulação de cosméticos biotecnológicos (Gomes, *et al.*, 2020. b).

### **1.9 Microrganismos: fungos**

Os microrganismos são formas de vida microscópicas que vivem em nosso ecossistema em constante sintonia e interação com o ser humano e com o meio ambiente, são encontrados em diversas partes da natureza e possuem diversos tamanhos e morfologias (Tortora *et al.*, 2016). São amplamente conhecidos por serem causadores de patologias, porém apenas 3% dos microrganismos conhecidos são potencialmente patogênicos (Ribeiro, Tamara e Marco Ferro, 2011).

Os outros 97% de microrganismos não usualmente patogênicos, atuam auxiliando os seres vivos em diversos processos biológicos de forma simbiótica, como na fixação biológica de nitrogênio pela simbiose estabelecida entre a bactéria *Rhizobium tropici* e plantas leguminosas (Pereira *et al.*, 2013), a emissão de uma grande quantidade de oxigênio atmosférico pelo fitoplâncton (Falkowski, Paul., 2012) e na microbiota humana, em especial a intestinal (Li *et al.* 2020) atuando na modulação do fenótipo metabólico, a regulação do desenvolvimento epitelial e a influência da imunidade inata (Wang, 2017). Essas são algumas das muitas funções biológicas desempenhadas pelos microrganismos, sendo notório sua importância para as interações dos seres vivos com o meio ambiente.

Com isso, o ser humano foi descobrindo formas de utilizar os microrganismos a seu favor, dando início ao desenvolvimento da biotecnologia para a melhoria do meio ambiente e da sua qualidade de vida (Verma *et al.*, 2011). Por exemplo, com a produção de cerveja e pão com fermentação feita pela levedura de *Saccharomyces cerevisiae* (Coutinho *et al.*, 2020). Na produção de butanol com a fermentação da bactéria do gênero *Clostridium* (Moon, Hyeon Gi *et al.*, 2016).

Com a bactéria *Escherichia coli* para a produção de proteínas não glicosiladas (Baeshen *et al* 2015). Sendo assim, os microrganismos podem ser aplicados no ramo industrial de forma biotecnológica na produção de bioprodutos, biossensores e biocombustíveis por sintetizarem moléculas importantes como enzimas, polissacarídeos, proteínas, peptídeos, dentre outras (Rudakiya, Patel e Chhaya, 2021).

Uma categoria de microrganismos bastante importante para a biotecnologia são os fungos, organismos encontrados em quase todos os ecossistemas da Terra e podem ser macroscópicos ou microscópicos, pluricelulares, eucariontes e heterótrofos (Grossart Hans-Peter *et al.*, 2019). E devido a variedade de habitats, passaram a competir contra uma ampla variedade de microrganismos e desenvolveram alguns mecanismos de sobrevivência que são atributos para sua aplicação na biotecnologia e conseqüentemente na indústria (Hyde *et al.*, 2019).

Outra característica bastante interessante dos fungos para a indústria é sua capacidade de produção de diversos metabólitos a partir da conversão de compostos mais complexos em compostos mais simples e ao contrário dos microrganismos unicelulares, os fungos possuem características morfológicas muito complexas quando submetidas a cultura submersa podendo variar seu crescimento e morfologia de uma estrutura micelar para estruturas mais compactas e menos dispersas (El *et al.*, 2022).

Algumas das diversas utilizações dos fungos e suas moléculas são: no desenvolvimento de fármacos (Hesterkamp *et al.*, 2015), produção de alimentos e bebidas (Grimm e Wösten., 2018) eliminação de resíduos agrícolas (Couturier *et al.*, 2018), micorremediação (Luna, Rufino e Sarubbo., 2016) e para a formulação de cosméticos (Hyde, Bahkali e Moslem., 2010; Visvanathan, Krishnamoorthy e Sabesan., 2022). Isto advém da relativa facilidade no cultivo dos fungos, tornando a produção em escala viável. Essa biodiversidade dos fungos possui um grande potencial econômico e biotecnológico (Hyde. *et al.*, 2019). Com a localização de novos organismos haverá novas aplicações na indústria e na criação de novos produtos.

### **1.9.1 *Schizophyllum commune***

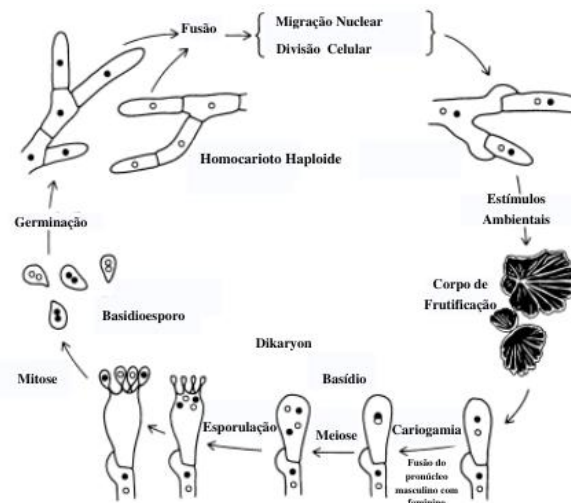
*Schizophyllum commune* é um fungo filamentosos que pertence à classe Basidiomycetes da família Schizophyllaceae, Subfilo Agaricomycotina da Ordem Agaricales (Figura 6) e possui um ciclo de vida bem definido de 10 dias (Vonk, Ohm e Robin., 2021).



**Figura 6 :** Fungo *Schizophyllum commune* encontrado na natureza ( Wikipédia., 2022 ).

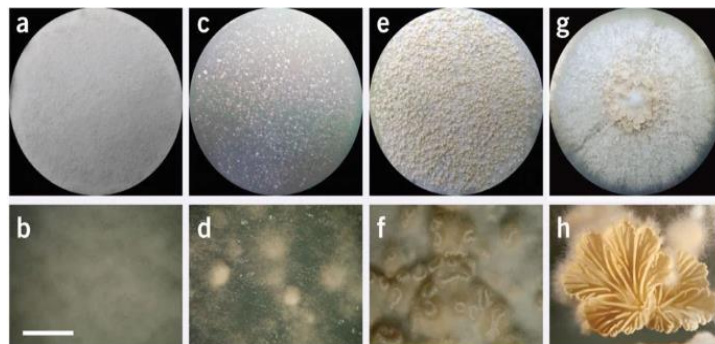
É conhecido como o fungo degradador da madeira e tem uma distribuição mundial, por ser um fungo formador de cogumelo e são usados como fonte de alimento na África e na Ásia (Krause *et al.*, 2020). É encontrado predominantemente em galhos caídos e madeira de árvores. Em torno de 150 gêneros de plantas lenhosas são substratos para *Schizophyllum commune*, sendo um fungo que adota principalmente um estilo de vida saprófito, causando podridão branca (Traxler *et al.*, 2022).

No complexo ciclo de vida do *Schizophyllum commune*, os esporos haplóides germinam e crescem em micélios filamentosos compostos de células uninucleadas, haplóides. Estes micélios são denominados monocarióticos (para realçar a característica uninucleada de cada célula). As fusões celulares podem ocorrer entre células nas proximidades umas das outras. Quando essas fusões estão entre as células de diferentes núcleos, está presente a possibilidade de uma interação geneticamente compatível que leva ao desenvolvimento sexual. A genética das interações compatíveis é determinada pelos genes do tipo acasalamento. O desenvolvimento sexual inclui a formação do dikaryon (fusão do citoplasma), um micélio com dois núcleos haplóides compatíveis emparelhados em cada célula. O dikarion é capaz de crescimento vegetativo prolongado, mas é estimulado à formação do corpo de frutificação, a meiose e esporulação em condições ambientais apropriadas (Figura 7) (Ullrich *et al.*, 1991; Ohm *et al.*, 2010; Krause *et al.*, 2020).



**Figura 7:** Ciclo de vida do *Schizophyllum commune*. (Retirado de Ullrich *et al.*, 1991).

Para demonstrar mais claramente o ciclo de vida do *Schizophyllum commune*, no trabalho feito por Ohm (2010), foi analisado o desenvolvimento do *Schizophyllum commune* a fim de sequenciar seu genoma e encontrar os genes sexuais (*metA* e *metB*), e constatou a importância da exposição da luz para a expressão desses genes e a formação do corpo de frutificação fúngica. Pode-se observar o desenvolvimento do fungo na imagem 8 em que a - h são as colônias de quatro dias, a - f de 8 dias e g - h cultivadas a partir de extratos ilustram estágios típicos de desenvolvimento no ciclo de vida de *S. commune*. Um monocarionte gera hifas aéreas estéreis que formam uma camada branca fofa no topo do micélio vegetativo (a e b). As hifas aéreas de um dikaryon interagem entre si para formar agregados de estágio I (c e d), que, após um estímulo luminoso, se desenvolvem em primórdios de estágio II (e f). Esses primórdios se diferenciam ainda mais em cogumelos esporulados (g e h).



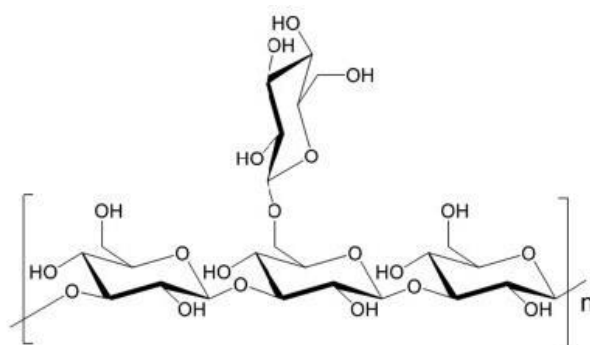
**Figura 8:** Desenvolvimento do *Schizophyllum commune* e suas fases (Retirado de Ohm *et al.*, 2010).

O *Schizophyllum commune*, está distribuído por todo o mundo e pode ser encontrado em todos os continentes, com exceção da Antártica (Klaus *et al.*, 2011) Por conta disso é uma boa

alternativa de uso biotecnológico. Sendo capaz de produzir iminolactonas que são uma importante classe de compostos heterocíclicos, com capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas (Liu *et al.*, 2015). Uma diversidade de enzimas como pectinases e hemicelulases que degradam carboidratos, e também proteínas não hidrolíticas (Liu *et al.*, 2015) na produção de etanol (Horisawa, Inoue, Yamanaka., 2019) No corpo de frutificação é encontrado uma série de ésteres fenólicos e esteróides. Um bioproduto importante produzido pelo *Schizophyllum commune* é um polissacarídeo denominado esquizofilano (Basso *et al.*, 2020).

### 1.9.2 Esquizofilano

O esquizofilano é um homopolímero extracelular fúngico não iônico, do tipo o tipo  $\beta$  glucana sintetizado a partir do metabolismo secundário do microrganismo *Schizophyllum commune*. Esse biopolímero é constituído por uma cadeia linear com ligações glicosídicas  $\beta$  (1-3) de D-glucopiranosose com uma cadeia ramificada de D-glucopiranosose  $\beta$  (1-6), a cada três monômeros da estrutura primária (Figura 9) sendo uma cadeia polissacarídica rígida (Shoib *et al.*, 2020). Possui conformação helicoidal tripla em água e também no estado sólido (Wanke *et al.*, 2021). É formado pelo enrolar de três hélices individuais estabilizadas por ligações de hidrogênio, com as cadeias laterais  $\beta$  (1-6) se projetando para fora da estrutura (Kodama *et al.*, 2020). O rompimento dessa formação em tripla hélice simples é observado quando aplicado soluções básicas fortes com o  $\text{pH} > 13$  ou com a adição de dimetilsulfóxido (DMSO) que quebra as ligações de hidrogênio (Maity *et al.*, 2021) Por ser um polissacarídeo rígido possui uma fase cristalina líquida quando submetido a altas concentrações de substrato (Carvalho *et al.*, 2021). Em virtude dessas características bioquímicas desse biopolímero, ele possui algumas propriedades bastante interessantes para o campo da biotecnologia.



**Figura 9:** Estrutura química do biopolímero esquizofilano (Garcia *et al.*, 2022).



### 1.9.3 Propriedades do Esquizofilano

#### a) Viscosidade

A viscosidade é uma propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento. Fluidos são substâncias que se deformam continuamente sob ação de tensões de cisalhamento. O esquizofilano possui essa propriedade, sendo um biopolímero modelo para o estudo de viscosidade de polissacarídeos lineares neutros. Quando parcialmente dissociado é capaz de formar um gel à temperatura ambiente em concentrações de 1% do peso total (Garcia *et al.*, 2022). Esse gel pode auxiliar na formação de filme, hidratação de tecidos e na cicatrização de feridas (Safaei *et al.*, 2019).

#### b) Estabilidade térmica

Estabilidade térmica é a capacidade de uma substância ou sistema em resistir a mudanças na temperatura sem que haja alteração na sua composição inicial. O que permite essa característica termoestável do esquizofilano são as ligações de hidrogênio entre a hidroxila 4' e o átomo de oxigênio hemiacetal adjacente dos resíduos de D-glucopiranosose de sua estrutura em tripla hélice. Sua desnaturação pode ser induzida pelo aquecimento do esquizofilano com uma solução aquosa a temperaturas acima de 135°C, pela adição de soluções com pH>13 ou com a adição de dimetilsulfóxido (DMSO) acima de 87% à temperatura ambiente dissociando a tripla hélice (Zhang *et al.*, 2013).

#### c) Hidratação

Hidratação é a reposição de água em algum tecido. Diversas  $\beta$ -glucanas podem ser utilizados para nutrir e melhorar a pele, sendo eficazes para diversas condições dermatológicas. O esquizofilano por ser um  $\beta$ -glucana também possui efeito hidratante na pele, fortalecendo a pele de efeitos externos e ambientais. Essa capacidade advém da estrutura do esquizofilano em absorver uma grande quantidade de água em razão de sua geometria molecular (Du e Xu., 2014).

#### d) Atividade Antitumoral e Imunorreguladora

A atividade antitumoral pode ser encontrada em diferentes glucanos, desde homopolímeros até heteropolímeros (Ooi e Liu., 2000). O esquizofilano possui ação antitumoral, mesmo sendo difícil esclarecer a correlação entre a estrutura química e a atividade antitumoral, a maioria dos polissacarídeos antitumorais possuem a mesma estrutura de  $\beta$ -glucano com diferentes tipos de ligações glicosídicas (Zhang *et al.*, 2013; Garcia *et al.*, 2022). No estudo do Smirnou *et*

*al.*, foi relatado a atividade imunorreguladora e antitumoral do esquizofilano tratado com ultrassom, mostrando a capacidade de ação antitumoral e imunorregulação do biopolímero. Outras atividades desempenhadas pelo esquizofilano são, ação anti-inflamatória (Du *et al.*, 2016) e atividade fotoprotetora contra raios UV (Gupta *et al.*, 2019). Com isso, apesar de possuir tantas propriedades que podem ser utilizadas em diversas aplicações, ainda é um biopolímero pouco explorado no setor cosmético.

## 2. JUSTIFICATIVA

Diante do atual cenário global de acúmulo de resíduos industriais no meio ambiente, manifesta-se a necessidade da elaboração de novos produtos cosméticos que possuam em sua composição elementos que a médio e a longo prazo se decomponha e não prejudique o meio ambiente e ainda consigam atender às principais exigências dos consumidores. Com isso, há a procura de ativos eficientes e que consigam preencher essas duas lacunas: a do consumidor e do meio ambiente, surge então a utilização de um biopolímero eficiente e capaz de atender essas exigências, o esquizofilano.

O esquizofilano é um biopolímero fúngico produzido a partir do metabolismo secundário do fungo *Schizophyllum commune* (Shoaib *et al.*, 2020), e descrito na literatura o potencial para sua aplicação na recuperação avançada do petróleo (Pu *et al.*, 2018; Vermelho *et al* 2020) e na indústria farmacêutica (Rahman, Asghar e Khalid., 2021), sendo uma ótima alternativa biotecnológica para indústria cosmética, por ser uma substância biodegradável e atóxica. Além de poder atuar em diversas frentes, podendo ser utilizado para a preparação de cremes capilares, cremes faciais, cremes cicatrizantes e hidrogéis (Mellou, Varvaresou e Papageorgiou., 2019), substituindo composições de preparações tradicionais. Portanto, a utilização deste biopolímero em formulações capilares é um ótimo caminho para a promoção da sustentabilidade nesse setor.

### 3. OBJETIVO

O objetivo deste estudo é propor uma formulação de cosmético capilar para cachos a base do biopolímero esquizofilano, tendo em vista as principais propriedades deste biopolímero e seu alto potencial de aplicação biotecnológica.

#### 3.1 Objetivos específicos

- Produzir biopolímero de *S. commune* em fermentação submersa
- Extrair e quantificar o biopolímero produzido.
- Verificar possível atividade antioxidante por meio da análise do potencial de ação antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) do biopolímero.
- Formular cremes capilares em concentrações diferentes utilizando o biopolímero
- Realizar o controle de qualidade a fim de verificar se as formulações estão de acordo com a Legislação Brasileira Vigente.
- Visualizar a estrutura capilar de mechas capilares por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) após tratamento com formulações.
- Analisar o potencial citotóxico das formulações a fim de garantir sua aplicação de maneira segura.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

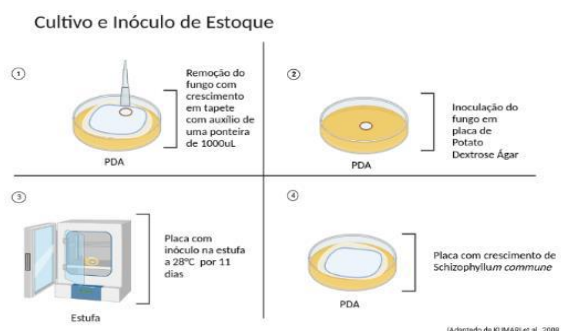
### 4.1 Obtenção do Microrganismo e Manutenção de Estoque

O fungo *Schizophyllum commune* foi adquirido após sua compra na Fundação André Tosello pelo laboratório BioInovar, tendo número de registro 40347. Com objetivo de realizar seu cultivo e inóculo de estoque, foi realizado o repique em placa de petri estéril descartável 60X15mm contendo o meio de cultura Potato Dextrose Ágar (PDA), sendo este um meio de cultura ideal para o cultivo de fungos e leveduras por possuir em sua composição uma rica quantidade de carboidratos simples (Tabela 1) oriundos da batata (Laborclin., 2019). A remoção do inóculo foi realizada com auxílio de uma ponteira de 1000 $\mu$ L, a partir do método de remoção de 0,7cm de diâmetro (Figura 1) retirado de uma placa que já possuía crescimento fúngico em tapete. A placa com inóculo foi condicionada na estufa a 28° durante 11 dias para que ocorra nas condições ideais, o crescimento fúngico (Adaptado de Kumari *et al.*, 2008).

**Tabela 1:** Meio de cultura Potato Dextrose Ágar (PDA) utilizado para o cultivo do fungo *Schizophyllum commune* (Laborclin., 2019).

Reagentes	Concentração (g/L)
Infusão de Amido de Batata	4 g/L
Dextrose	20 g/L
Ágar Bacteriológico	15 g/L
pH	5,6 $\pm$ 0.2 a 25°C

\*O meio foi suplementado com 1% de ágar a fim de garantir seu estado sólido.



**Figura 9:** Esquema simplificado do método a ser realizado.

## 4.2 Cultura submersa

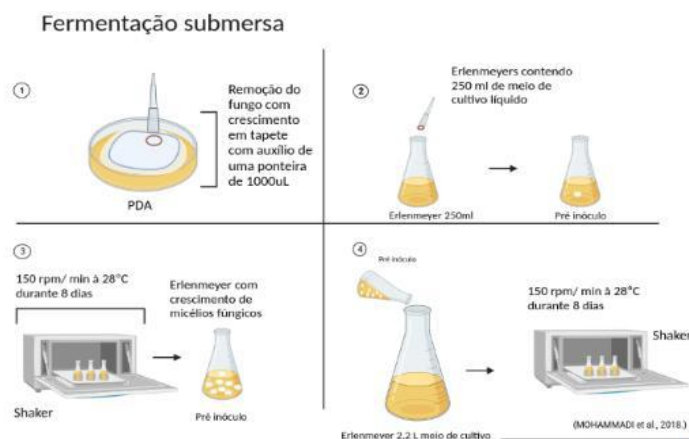
A fim de extrair-se o biopolímero, esquizofilano, foi realizado a cultura submersa do fungo *Schizophyllum commune* (Figura 10), sendo essa técnica a mais adequada para a produção do biopolímero fúngico, por possuir como vantagens: o controle das condições de temperatura e pH, um menor tempo para o crescimento e fácil processamento dos nutrientes para o fungo (López-Legarda *et al.*, 2021; Vieira *et al.*, 2008). Em cultura submersa o *Schizophyllum commune* utiliza a glicose disponível no meio de cultivo como fonte de carbono para a produção do biopolímero esquizofilano, a partir do processo de fermentação (Rau *et al.*, 1992). Desta maneira, duas fermentações foram necessárias. A primeira intitulada de pré-inóculo, fundamental para promover impulso, desempenho e número de células necessárias para otimizar a produção do biopolímero para a segunda fermentação, designada de fermentação principal (Souza *et al.*, 1999). O meio de cultivo extrato de levedura utilizado para ambas as fermentações (Tabela 2) foi escolhido visando a produção do biopolímero, sendo este meio composto pelos seguintes reagentes (Mohammadi *et al.*, 2018).

**Tabela 2:** Reagentes que foram utilizados no meio de cultivo extrato de levedura líquido para a realização das fermentações (Adaptado de Mohammadi *et al.*, 2018).

Reagentes	Concentração (g/L)
Glicose	30g/L
Extrato de levedura	3g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g/L
pH	5,6 ± 0.2 a 25°C

Seguindo o mesmo método descrito acima de remoção de 0,7cm de diâmetro do crescimento fúngico em tapete, foi removido o inóculo da placa de ágar e impelido em um erlenmeyer de 300 ml contendo 200 ml do meio de cultivo líquido descrito acima, sendo este o pré-inóculo que ficou sob agitação em agitador orbital HT (CH 4103) a 150 rpm/ min (3 força g) a 28°C durante 8 dias, condições ideais para favorecer o crescimento fúngico. Após o crescimento, foi vertido todo o conteúdo presente no erlenmeyer de 200ml em um segundo erlenmeyer de 3L contendo 2L do meio de crescimento líquido descrito acima, totalizando-2,2L, para a fermentação principal. O Erlenmeyer colocado nas mesmas condições do pré-inóculo, como visto na figura 11,

ficou incubado sob agitação em Shaker HT (CH 4103) 150 rpm/ min (3 força g) a 28°C durante 8 dias (Mohammadi *et al.*, 2018; Negahban, Shojaosadati, Hamed, 2020).



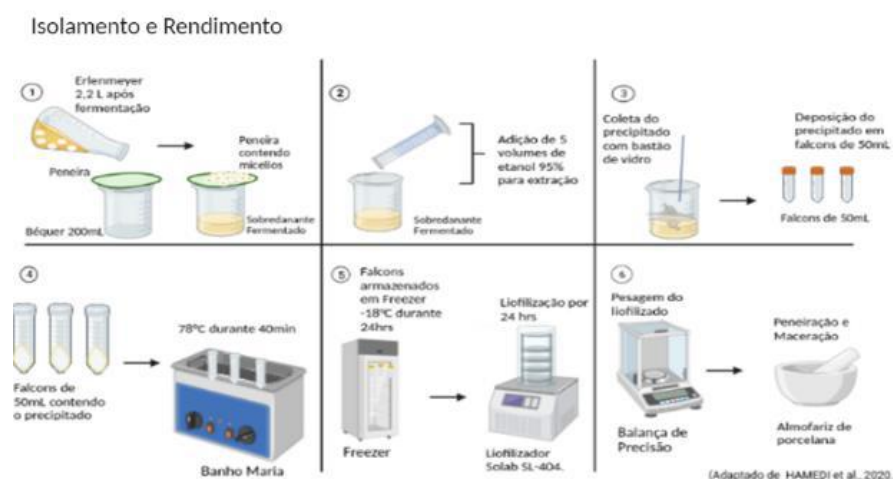
**Figura 10:** Esquema simplificado do método a ser realizado.

### 4.3 Extração e Rendimento

Com o término da fermentação, foi realizado o processo de extração do biopolímero, sendo essa técnica um processo importante para a obtenção de um biopolímero com propriedades físicas e químicas adequadas (Ramsay *et al.*, 1994). A fim de realizar-se a separação da biomassa do *Schizophyllum commune* e do caldo fermentado, foi vertido todo o conteúdo do erlenmeyer de 3L em dois béqueres de 1L com auxílio de duas peneiras de 0,42 mm de abertura (Granutest modelo. 35) acomodadas na parte superior da vidraria, para realizar a separação. A biomassa fúngica ficou contida na peneira e somente o sobrenadante fermentado ultrapassou para o béquer. Os béqueres foram reservados e para isolar o biopolímero foram adicionados, em cada, 5 volumes de etanol a 95% e o precipitado foi coletado com auxílio de um bastão de vidro e acomodado em tubos do tipo falcon de 50 mL (Adaptado de Hamed *et al.*, 2020).

Os tubos foram levados ao banho maria com circulação (Solab SL-154) e permaneceram a 78°C durante 70 minutos para que todo o etanol utilizado na extração fosse evaporado. Após o processo de evaporação do etanol, os tubos do tipo falcon foram armazenados a -18°C no Freezer (Consul CVU20/127) para posterior liofilização por 24 horas (Solab SL-404) (Adaptado de Jamshidian *et al.*, 2016). Após esse processo, o liofilizado foi levado à balança de precisão (Shimadzu modelo BL3200H) calibrada de acordo com o manual do fabricante, para que seu rendimento total fosse aferido, e passou pelo processo de maceração em almofariz de porcelana

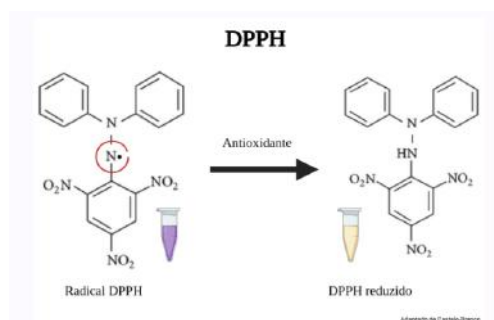
(Chiarotti) e peneiração (Peneira Granutest - modelo 35 - 0,42 mm de abertura) em dois ciclos, até adquirir o aspecto fino necessário para a etapa posterior de preparação de uma emulsão eficiente.



**Figura 11:** Esquema simplificado do método a ser realizado.

#### 4.4 Análise do Potencial de Ação Antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

Com objetivo de avaliar um possível potencial antioxidante do biopolímero extraído, foi realizado um ensaio em microplaca do potencial antioxidante baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). O princípio deste ensaio é a capacidade de um potencial antioxidante de transferir um elétron e reduzir qualquer substância, incluindo metais, carbonilas e radicais e seu resultado pôde ser lido em absorbância de 515/517 nm (Pires *et al.*, 2017; Prior *et al.*, 2005). A substância antioxidante irá agir como doador de um átomo de hidrogênio quando adicionado solução de DPPH ela foi reduzida e formará a hidrazina, proporcionando uma alteração de cor da solução que passará do violeta para o amarelo claro (Figura 12).



**Figura 12:** Esquema ilustrativo da reação do ensaio de DPPH. Adaptado de Prior *et al.*, 2005.



Para a realização do ensaio, foi necessário a elaboração da solução de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e de duas curvas: a curva padrão e a curva da amostra, sendo necessário a utilização de soluções de estoque/mãe para ambas as curvas. Para a solução de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) em um béquer de 100 mL foi dissolvido 1,6 mg de DPPH (Sigma) e 50mL de Metanol (Isofar) que ficou em ultrassom (Eco-Sonics modelo. Q3.0/40) por 25 min. Para a curva padrão foi realizado uma solução de estoque sendo utilizado 2 mL de DMSO (Dimetilsulfóxido) e 2 mL de quercetina (3,5,7,3'-4'-pentahidroxi flavona) um flavonóide conhecido por sua alta capacidade antioxidante devido a sua estrutura química possuir vários grupamentos hidroxil (OH) presentes nos anéis aromáticos (Alexandre., 2005). Para realização da curva da amostra foi necessário a realização de uma solução mãe de esquizofilano compondo 10 mg de esquizofilano e 5 mL de DMSO (Dimetilsulfóxido). O solvente aprótico e polar DMSO (Dimetilsulfóxido) é capaz de dissociar a dupla hélice encontrada no esquizofilano tornando-o mais solúvel (Sato *et al.*, 1983), também sendo capaz de solubilizar a quercetina.

Para a realização da curva padrão em uma placa de 96 poços (Kasvi) foi adicionado os seguintes reagentes nas seguintes concentrações. A placa ficou durante 30 min protegida da luz para ser realizada a leitura em espectrofotômetro.

**Tabela 4:** Volumes das soluções para a curva padrão de quercetina para o ensaio de ação antioxidante (Adaptado de Pires *et al.*, 2017).

Concentração	Quercetina	DPPH
0,5x	100 µL	100 µL
1x	200 µL	0 µL

Em microtubos de 1,5 mL foi adicionado à solução mãe de esquizofilano e o DMSO (Dimetilsulfóxido) nas seguintes concentrações para a realização da curva de diluição da amostra:

**Tabela 5:** Volumes das soluções para a construção da curva de diluição da amostra para o ensaio de ação antioxidante (Adaptado de Pires *et al.*, 2017).

Concentração	Solução de esquizofilano	DMSO
1x	80 µL	320 µL
0,5x	40 µL	360 µL

Em seguida, em tubos do tipo falcons de 15 mL foi adicionado 19500 µL do reagente DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e 50 µL de cada uma das diluições da amostra de esquizofilano, sendo incubada ao abrigo da luz durante 30 minutos. Após a reação, foi adicionado 200 µL na placa de 96 poços junto com a curva padrão para comparação da atividade antioxidante da amostra, foi lida em SpectraMax (Molecular Devices modelo. i3x) na absorvância de 517 nm (Pires *et al.*, 2017). O branco foi feito somente com DMSO e o controle negativo com 1950µL e 50 µL de DMSO. Para a interpretação dos resultados foi utilizado a equação:

$$AAO\% = \left( \frac{\text{Abs controle DPPH} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs controle DPPH}} \right) \times 100$$

Onde: AAO%= Porcentagem de atividade antioxidante.

Abs controle DPPH= Absorbância do controle da amostra.

Abs amostra= Absorbância da amostra.

#### 4.5 Suspensão do Biopolímero

Com objetivo de otimizar a aplicação do biopolímero na formulação cosmética, foi realizado uma suspensão do biopolímero liofilizado com água de osmose reversa (MilliQ). Uma suspensão é um sistema heterogêneo que contém duas fases: o meio de dispersão caracterizado por um líquido ou semissólido e a fase dispersa caracterizada por partículas sólidas praticamente insolúveis (Kulshreshtha *et al.*, 2009). Uma boa suspensão pode ser definida por seu baixo processo de sedimentação, a partir do emprego de partículas com menor densidade e com um aumento da viscosidade, alterando a taxa de sedimentação em condições gravitacionais normais (Kulshreshtha *et al.*, 2009; Mariana., 2022). A água de osmose reversa (MilliQ) que foi utilizada como o meio de dispersão é uma água purificada obtida através do processo de filtração por membrana semipermeável e filtros de carbono comumente utilizada em formulações farmacêuticas, meios de cultura e para métodos analíticos (ANVISA., 2017).

Foi preparado duas suspensões contendo o biopolímero liofilizado, as concentrações foram escolhidas a fim de garantir o aspecto uniforme e a viscosidade apropriada de um creme capilar, sem que haja grandes modificações em sua textura, já que a suspensão atuará como emulsificante na formulação capilar. Sendo a primeira concentração a 0,5% e a segunda a 1%. Em um béquer

de 200mL foi adicionado de forma fracionada 0,5g do biopolímero liofilizado e 99,5 mL de água de osmose reversa (MilliQ) previamente aquecida a 80°C durante 5 minutos, totalizando 100 mL/0,5 g, para a preparação da suspensão à 0,5%. Já na suspensão à 1%, em um béquer de 200 mL foi adicionado de forma fracionada 1g de biopolímero liofilizado e 99 mL de água de osmose reversa (MilliQ) previamente aquecida, totalizando 100mL/g. Com objetivo de aumentar a afinidade da fase dispersa e do meio de suspensão (Kulshreshtha *et al.*, 2009). Ambos os béqueres ficaram em placa aquecedora à 200°C durante 40 min aproximadamente, até ambas as suspensões atingirem 50°C foi utilizado um termômetro digital (B-Max) para aferir a temperatura durante todo o processo.

#### 4.6 Formulação

A realização da formulação do creme condicionante foi feita em colaboração com a professora Elisabete Pereira dos Santos no Laboratório de Pesquisa Galênico (LADEG) localizado na Farmácia Universitária da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Foram realizadas três formulações: o creme condicionante controle e duas outras formulações contendo as suspensões do biopolímero à 0,5% e a 1%.

A realização das formulações foi feita de acordo com a técnica de *Emulsion Phase Inversion* (EP I) (Maciel., 2012) e a base da formulação foi de creme condicionador do tipo rinse. Foram preparadas duas formulações de 100g contendo o biopolímero a 0,5% e 1%. A primeira formulação a 0,5% em sua fase aquosa ser adicionado 99 mL da suspensão de esquizofilano e 1,35 g/mL de Cloreto de Cetiltrimetilamônio, já na fase oleosa foi adicionado 6g/mL de Álcool Ceto Estearílico e 0,5g/mL de Fenoxietanol.

A fase aquosa ficará na placa aquecedora até atingir a temperatura de 80°C e a fase oleosa ficará na chapa aquecedora até atingir a temperatura de 70°C que foi verificado com auxílio de um termômetro calibrado e então foi vertido a fase aquosa na fase oleosa sob agitação mecânica (Agitador Mecânico Forte Fisatom com haste e turbina, Modelo. 7131) até que seja formado uma emulsão.

A mesma técnica foi empregada para a formulação do creme capilar à 1%, somente para a formulação do creme controle que foi utilizado 99mL de água destilada no lugar de 99mL de suspensão de esquizofilano. Após a formulação dos três cremes foi ajustado o pH para 5,5 utilizando ácido cítrico, sendo o pH ácido necessário para selar a cutícula capilar (SBRT)

adicionado 3 gotas de essência de uva e realizado o envase das formulações em potes com rosca de 100g.

**Tabela 6:** Composição da formulação do creme condicionante de esquizofilano (Adaptado de Elaine.,2015; Larissa., 2014).

FASE	MATÉRIA PRIMA	FUNÇÃO	g/L
Oleosa	Álcool Ceto estearílico	Agente de consistência e emoliência	60 g/L
Oleosa	Fenoxietanol	Conservante	5g/L
Aquosa	Cloreto de Cetiltrimetilamônio	Tensoativo catiônico	13,5 g/L
Aquosa	Suspensão de Esquizofilano	Emulsificante	990L

#### 4.7 Teste microbiológico do creme

Para assegurar a acurácia dos ensaios realizados e a qualidade do produto formulado foi necessário a realização do controle de qualidade das formulações (Schuller *et al.*, 2002) sendo este um conjunto de atividades destinadas a verificar e garantir a qualidade de um produto que deve estar dentro das normas propostas pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). De acordo com a 5ª edição da Farmacopéia Brasileira (F. Bras., 2010), produtos orais e tópicos são referidos como produtos não estéreis, ou seja, admite-se a existência de um nível de contaminação. Na RDC Nº 644, De 24 De Março De 2022 a categoria de cremes condicionantes é classificada na lista de grupos de grau I de produtos cosméticos tópicos, por conta disso o objetivo desta análise para as formulações que foram criadas foi avaliar e verificar se ambas encontram-se de acordo com as normas e limites microbianos exigidos pela RDC Nº 481, De 23 De Setembro De 1999; 5ª edição da Farmacopéia Brasileira de 2010 e pela RDC Nº 644, De 24 De Março De 2022.

As três formulações que foram estudadas foram designadas como: F0 (Formulação creme base); F1 (Formulação 0,5% de suspensão de esquizofilano) e F2 (Formulação 1% de suspensão de esquizofilano). Toda a metodologia acontecerá em uma cabine de segurança biológica Classe II, as formulações terão a parte externa de suas embalagens limpas com álcool 70% e foi realizado diluições seriadas das amostras, para isso foram pesados 5g de cada uma das formulações em balança de precisão (Shimadzu, modelo. BL3200H) e acomodados em garrafas de vidro de 100 mL contendo 45 mL de caldo Lethen estéril, atingindo então a diluição de 1:10. O caldo Lethen é um meio de cultivo líquido nutritivo não seletivo indicado para a pesquisa de contaminação microbiana em produtos cosméticos e sanitizantes, possui em sua formulação suplementação de 0,5% de Tween 80/Polisorbato 80 sendo esse o reagente necessário para a inativação do conservante presente nas formulações (ANVISA,2010; Laborclin, 2019).

O conteúdo das três garrafas foi homogeneizado e realizado diluições seriadas, em tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo Lethen foi adicionado 1 mL da diluição 1:10 de cada uma das garrafas até atingirem as diluições de 1; 100 e 1:1000. Após a realização das diluições, as três garrafas foram incubadas a 35°C por 24h para a realização da pesquisa de patógenos específicos.

Após este processo, 1 mL de cada diluição foi incubado em triplicata com auxílio de pipeta de 1000 mL e uma alça de Drigalski pelo método de spread plate em meios de cultivo sólido, o controle negativo de cada meio de cultura foi somente 1 mL do diluente, sendo este o caldo Lethen sem a incorporação das formulações que foram testadas. Os meios de cultivo foram selecionados de acordo com a Farmacopéia Brasileira, visando os parâmetros exigidos pela RDC N° 644, De 24 De Março De 2022 e foram preparados de acordo com as recomendações dos fabricantes em placas de petri estéreis de 90X15 mm. Para a contagem de bactérias heterotróficas, bolores e leveduras foi utilizado os meios de cultura:

- Ágar Triptona Soja (TSB), meio não seletivo e nutritivo indicado para a pesquisa de bactérias heterotróficas em amostras de produtos farmacêuticos, cosméticos e sanitizantes (ANVISA,2010; Farmacopéia Brasileira., 2010).

Em uma cabine de segurança biológica Classe II foi inoculado 1 mL de cada uma das diluições em triplicata com auxílio de pipeta de 1000 mL e uma alça de Drigalski pelo método de spread plate em meios de cultivo sólido, então foram incubadas invertidas para prevenir contaminação pela água de condensação à 35°C na estufa por 48h (Farmacopeia Brasileira., 2010.).

- Potato Dextrose Ágar (PDA), meio nutritivo indicado para o cultivo de fungos e leveduras por possuir em sua composição uma rica quantidade de carboidratos simples oriundos da batata (Laborclin., 2019).

Foi realizado a mesma técnica de inoculação de 1 mL das diluições e o método de spread plate em meios de cultivo sólido, descrito acima, com exceção do tempo de incubação que foi de 25°C na estufa por 7 dias e as placas também ficaram vertidas para evitar contaminação (Farmacopéia Brasileira., 2010 ).

De acordo com a RDC N° 644, De 24 De Março De 2022, é necessário que haja ausência de *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* e coliformes totais em 1g ou 1mL do produto a ser testado. Por isso para a pesquisa de patógenos específicos foi utilizado:

- Ágar Cetrimide, meio seletivo e diferencial, possui em sua composição brometo de cetiltrimetilamônio que irá inibir o crescimento de um grande número de bactérias incluindo outras espécies de *Pseudomonas* com exceção de *P. aeruginosa* e permite a diferenciação a partir da visualização de piocianina um pigmento azul e da pioverdina um pigmento verde fluorescente produzido pela *P. aeruginosa*. Indicado para a extração e contagem de *P. aeruginosa* em amostras biológicas de origem animal e produtos farmacêuticos e cosméticos (Laborclin., 2021).

A semeadura foi realizada com 1 mL da diluição da garrafa 1:10 por meio da técnica de spread plate total da placa com auxílio de uma alça de Drigalski e incubada a 35°C na estufa durante 48 h (Farmacopéia Brasileira, 2010).

- Ágar Manitol Salgado, meio seletivo e diferencial, possui em sua composição uma alta concentração de sal que vai inibir o crescimento de algumas bactérias e bolores, permite a diferenciação a partir da fermentação do manitol. Indicado para o isolamento e contagem de bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. em especial *Staphylococcus aureus* por ser um fermentador de manitol (Laborclin., 2018).

A semeadura foi realizada com 1 mL da diluição da garrafa 1:10 por meio da técnica de spread plate total da placa com auxílio de uma alça de Drigalski e incubada vertida a 35°C na estufa durante 48 h (Farmacopéia Brasileira, 2010).

- Ágar MacConkey, meio seletivo e diferencial, possui em sua composição cristal violeta e sais biliares que vão inibir o crescimento de bactérias Gram positivas e permite a diferenciação delas a partir da fermentação da lactose presente no meio. Indicado para o

isolamento e contagem de bactérias Gram negativas, em especial enterobactérias (Laborclin., 2019).

A semeadura foi realizada com 1 mL da diluição da garrafa 1:10 por meio da técnica de spread plate total da placa com auxílio de uma alça de Drigalski e incubada vertida a 35°C na estufa durante 48 h (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Para a interpretação dos resultados obtidos foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de cada uma das diluições, sendo assim possível determinar o número total de bactérias mesófilas e fungos, a fim de determinar se o produto satisfaz às exigências microbiológicas farmacopeicas exigidas (Farmacopéia Brasileira., 2010). O cálculo que foi utilizado para cada diluição foi:

$$UFC/g = N / (D \cdot V)$$

UFC/g = Unidade Formadora de Colônia

N = Média Aritmética das contagens de colônias na placa

D = Diluição utilizada

V = Volume

#### 4.8 Teste de estabilidade preliminar

Com objetivo de avaliar as formulações (F0, F1 e F2) foi realizado os testes de estabilidade preliminares recomendados pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) a fim de verificar as propriedades físicas e químicas das formulações (ANVISA.,2004). Para a realização dos testes iniciais as amostras foram submetidas 24 h após seu preparo, sendo todas realizadas nas mesmas concentrações de 25 gramas por cada formulação, sendo estes os testes preliminares: viscosidade, determinação de pH, aspectos macroscópicos e teste de centrifugação (ANVISA.,2007).

- a) Determinação do pH das amostras, as formulações (F0, F1 e F2) foram levadas até o pHmetro (Alfakit- AT355) previamente calibrado com as soluções de 4,0, 7,0 , 9,0 em temperatura ambiente a fim de se realizar a leitura do pH das formulações (ANVISA., 2017; Do Rosário., 2021).

- b) Determinação dos aspectos macroscópicos das amostras, foi realizada a avaliação por observação de possíveis mudanças na aparência das formulações, sendo essas: odor, cor, consistência, observação de sedimentação ou formação de grumos (ANVISA., 2004).
- c) Teste de centrifugação, em tubos do tipo falcons de 50 mL foram adicionados 25 gramas de cada formulação (F0, F1, F2) que foram submetidos na centrífuga (Cientec CT- 5000R) a ciclos de 1000, 2500 e 3000 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente cada ciclo (ANVISA., 2017; Do Rosário., 2021). A centrifugação vai simular um aumento na força da gravidade gerando um estresse, podendo assim ser antecipado possíveis instabilidades (ANVISA., 2007)

#### **4.9 Tratamento de Mechas Capilares**

Com objetivo de avaliar a ação condicionante das formulações, foram obtidas quatro mechas do tipo 3B por doação e foi selecionado a formulação com maior concentração da suspensão do biopolímero F2, a avaliação foi realizada em etapas. A primeira etapa foi a separação das mechas (Tabela 14), cada mecha capilar possui 1g de 18 cm de comprimento de cabelo virgem de cor castanho escuro de curvatura cacheada 3B que foram fornecidos por doação.

##### **Pré -Tratamento**

A segunda etapa foi o pré-tratamento das mechas capilares M1, M2, M3 e M4 com 2g de tensoativo (Tabela 13) sendo massageado da raiz até as pontas, enxaguadas com água corrente gelada ( $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e colocadas em placa de petri para ser retirado o excesso de água. Após este processo as mechas M3 e M4 foram colocadas na estufa para secar e passaram pelo processo de descoloração, utilizando 15 mL de água oxigenada 30 volumes Beira Alta profissional (L:10790) e 2 gramas de pó descolorante Yamá Platinado (L:2036039), foi aplicado 2g da combinação preparada nas mechas selecionadas que ficaram cobertas com papel alumínio durante 45 min realizado o processo de descoloração.



**Tabela 13:** Reagentes utilizados para a preparação do tensoativo (Isensee., 2016).

<b>Reagentes</b>	<b>INCI NAME</b>	<b>Concentração</b>
Lauril Sulfato de Sódio	Sodium Laureth Sulfate	114,3 g/L
Glicerina	Glyceryl	15,0 g/L
Água	Water	1000 g/L

#### Pós-Tratamento

Para o pré-tratamento, as mechas (M2 e M4) foram umedecidas com água corrente e foi aplicado 2g da formulação F2, massageando da raiz até as pontas das mechas deixando agir por 3 minutos e então enxaguadas com água corrente gelada ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) Após este processo foram colocadas na estufa à  $27^\circ\text{C}$  durante 5 minutos para secar. Então foi visualizado a sedosidade e brilho de todas as mechas (tratadas e não tratadas) que foram levadas até a Unidade de Microscopia Multiusuário do IMPG (UNIMICRO) para preparação das amostras que foram lidas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) como indicado na tabela 13.

**Tabela 14:** Separação das mechas em grupos de acordo com o tratamento que foi realizado.

<b>Mechas</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Pós-Tratamento</b>
M1	Xampu	
M2	Xampu	Formulação F2
M3	Xampu + Descoloração	
M4	Xampu + Descoloração	Formulação F2

#### 4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura é uma técnica bastante utilizada para a avaliação do fio capilar, pois permite a visualização da cutícula e da fibra capilar com imagens de alta definição, podendo ser assim avaliado qualquer alteração estrutural do fio capilar (Araújo., 2015).

A preparação das amostras e visualização no microscópio foi realizada na Unidade de Microscopia Multiusuário do Centro de Tecnologia (PEMM-UFRJ). Em triplicata, foram acomodadas nos porta amostras específicos (stubs) utilizando fita de carbono, um fio capilar da região mais proximal da raiz capilar e outro mais distal da raiz capilar das amostras M1, M2, M3 e M4. Logo após, os stubs foram recobertos por um filme de ouro pelo processo de pulverização anódica (sputtering) e levados para análise microscópica em microscópio eletrônico de varredura TESCLAN.

#### 4.11 Ensaio de Citotoxicidade (MTT)

Com objetivo de avaliar efeitos de citotoxicidade *in vitro* utilizaremos a técnica colorimétrica Brometo De 3-(4,5-Dimetil-2-Il)-2,5- Difeniltetrazólio (MTT). Técnica baseada em uma análise quantitativa da atividade da desidrogenase encontradas na reação de NADH / NADPH que irão realizar a lise dos sais tetrazólio do reagente MTT [3- (4,5- dimetil -2-tiazolil) -2,5-difenil-2H-tetrazólio] em células viáveis, reduzindo assim o composto amarelado em um composto azul escuro (formazan) (Peres *et al.*, 2008).

O ensaio foi realizado em etapas, segundo (Liu *et al.*,1997). Na primeira etapa, foi selecionado linhagens celulares de HFB (fibroblastos humanos), Raw 264.7 (macrófagos de camundongo) e HaCaT (queratinócitos epidérmico humano) que foram mantidas em meio de cultura DMEM (Dulbecco Modification of Minimum Essential Media) suplementado com 10% de soro fetal bovino. As linhagens celulares foram plaqueadas em placas de 96 poços estéril (Kasvi transparente) em uma densidade de  $10^4$  células/200  $\mu$ l por poço e incubadas por 24 horas em estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C para adesão das células. Na segunda etapa, para o preparo das amostras a serem testadas, foi realizado uma suspensão do biopolímero a 2%, utilizando 2g do biopolímero liofilizado e 99mL de água MilliQ, para a formulação foi pesado somente 2g da formulação F2. As amostras foram diluídas em 10mL de meio de cultivo celular estéril DMEM e passaram em filtro de 0,45 nm (Sigma).

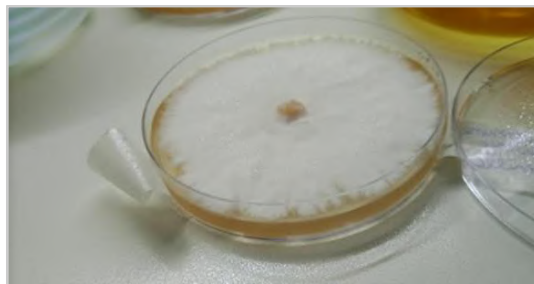
As amostras foram reservadas para serem adicionadas nas placas de 96 poços. Na terceira etapa, após a adesão das células foi descartado todo o meio de cultivo dos poços da placa e adicionado com auxílio de uma pipeta multicanal (Kasvi) as amostras diluídas em meio DMEM. As placas foram incubadas, em triplicata, por 24 horas em estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C. Na quarta etapa, foi adicionado 20 $\mu$ l da solução de MTT [3- (4,5- dimetil -2-tiazolil) -2,5-difenil-2H-tetrazólio] (Sigma) em cada um dos poços e incubados por 4 horas a 37°C na estufa de CO<sub>2</sub>. Após a

incubação, as placas foram centrifugadas por 10 min e foi desprezado o sobrenadante e aplicado 200µl de DMSO. Para interpretação dos resultados, as placas foram levadas ao SpectraMAX para realização da leitura da absorbância nos comprimentos de onda de 490 e 570nm.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Manutenção e estoque do microrganismo *S. commune*

No repique do fungo *S. commune* disponível no estoque do laboratório BioInovar, utilizando-se a técnica de inoculação de 0,7cm de diâmetro, foi obtido crescimento em tapete em placa de Potato Dextrose Ágar (PDA) apresentando aspecto cotonoso do tipo hialino ( Figura 13) característico do *S.commune*.



**Figura 13:** Crescimento em tapete do fungo *Schizophyllum commune* em placa de PDA.

### 5.2 Fermentação Submersa do fungo *Schizophyllum commune*

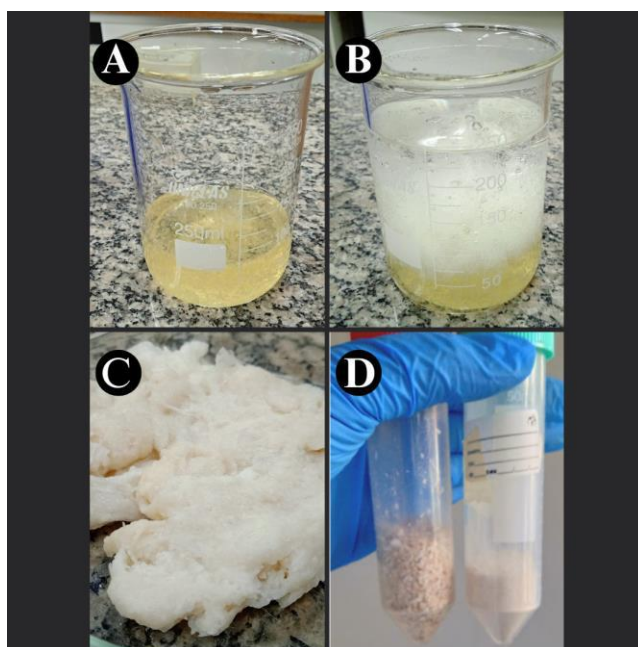
No processo de fermentação submersa para o crescimento do fungo *S. commune* observou-se crescimento dos micélios fúngicos característicos deste fungo em ambos os meios de cultura (pré-inóculo e inóculo principal) demonstrando que a escolha do meio de cultura para a fermentação foi adequada para o crescimento micelial do fungo (Figura 14)



**Figura 14:** Foto autoral da fermentação submersa do fungo *Schizophyllum commune* em meio de cultivo.

### 5.3 Isolamento do biopolímero esquizofilano e quantificação do seu rendimento

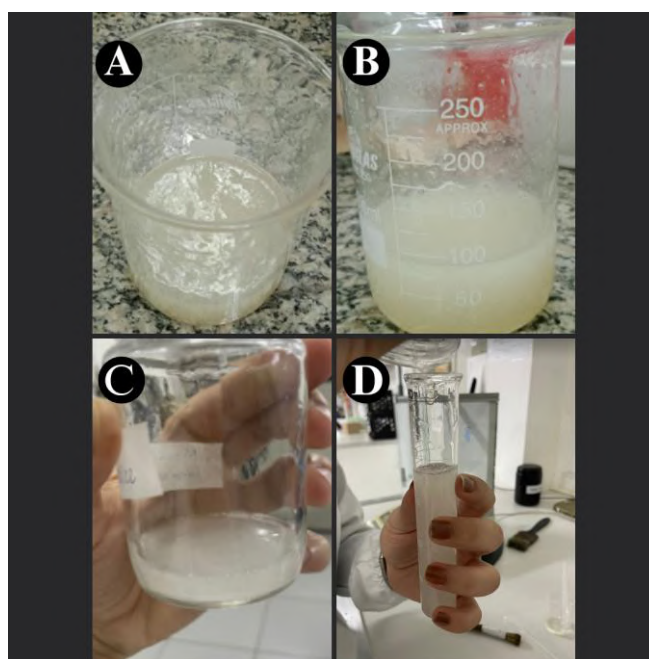
Foi possível realizar o processo de separação dos micélios fúngicos do sobrenadante da fermentação de maneira eficiente (Figura 15.A) Foi realizado o isolamento com álcool 95% e evaporação em banho-maria do biopolímero que apresentou visualmente viscosidade e coloração levemente esbranquiçada (Figura 15.B e C). O processo de maceração descrito na metodologia após liofilização se mostrou bastante satisfatório por tornar o aspecto do biopolímero mais fino e auxiliar na sua incorporação em água MilliQ (Figura 15.D) O rendimento medido na balança de precisão indicou um total de 0,98g do biopolímero produzido em 1 litro de meio de cultivo.



**Figura 15:** Imagem autoral dos resultados de isolamento do biopolímero. A: Sobrenadante da fermentação. B: Momento exato da adição do álcool 95% para isolamento do biopolímero. C: Biopolímero isolado. D: O antes e depois do processo de maceração do biopolímero liofilizado.

#### 5.4 Suspensão nas concentrações de 0,5% e 1%

Tanto as suspensões contendo 0,5% quanto 1% do biopolímero esquizofilano demonstraram aparência visual uniforme, baixa sedimentação e alta viscosidade, proporcionando uma adequada manipulação e uma subsequente incorporação nas formulações F1 e F2. (Figura 16).



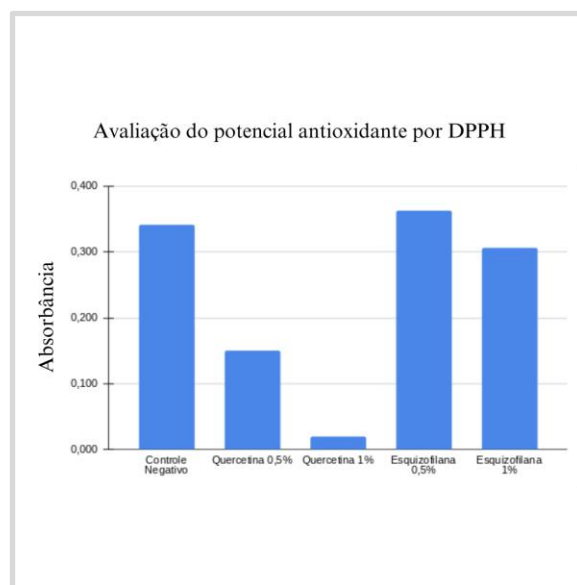
**Figura 16:** Imagem autoral dos resultados da suspensão do biopolímero. A: Suspensão do biopolímero a 1% após sua preparação. B: Suspensão do biopolímero a 1%. C: Suspensão do biopolímero a 0,5%. D: Suspensão do biopolímero a 0,5% em uma proveta de 15ml. Observa-se a característica viscosa das suspensões.

#### 5.5 Análise do Potencial de Ação Antioxidante do biopolímero por meio da técnica de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

No gráfico 1, é possível observar que as soluções com concentrações de 0,5% e 1% de esquizofilano estão situadas na mesma absorbância que as do controle negativo (DMSO), que não exibe atividade antioxidante. Por outro lado, os valores de absorbância das concentrações de 0,5% e 1% foram de 0,363 e 0,306, quando aplicadas na equação descrita na metodologia para

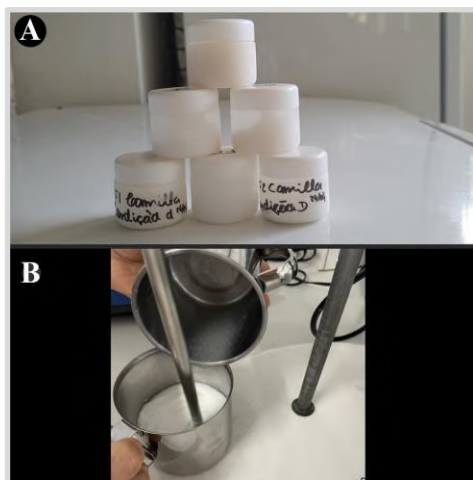
interpretação dos resultados se obtêm 0% de atividade antioxidante na concentração de 0,5% e de 1%. Portanto, na avaliação do potencial antioxidante da amostra de esquizofilano pelo método de sequestro do radical livre DPPH, não se obteve resultado satisfatório para um possível potencial antioxidante.

**Gráfico 1:** Ensaio de avaliação do potencial antioxidante da amostra de esquizofilano pelo método de sequestro do radical livre DPPH. Pode-se observar que a amostra de esquizofilano está na mesma altura que o controle negativo.



### 5.6 Desenvolvimento das formulações de cremes capilares contendo a suspensão do biopolímero derivado do fungo *S. commune*.

As três formulações (F0, F1 e F2) demonstraram uma excelente incorporação durante o processo de agitação em agitador mecânico (Agitador Mecânico Forte Fisatom com haste e turbina, Modelo. 7131) não apresentando nenhuma separação de fases entre a suspensão do biopolímero e as concentrações selecionadas para a formulação do creme. Portanto, as concentrações e a base condicionante escolhida foram adequadas para garantir a completa incorporação e homogeneidade de todos os componentes selecionados.



**Figura 17:** Imagem autoral dos resultados da preparação das formulações. A: Formulações preparadas e ensadas. B: Preparação da formulação F1 utilizando agitador mecânico.

### 5.7 Controle de qualidade microbiológico das formulações capilares F0, F1 e F2.

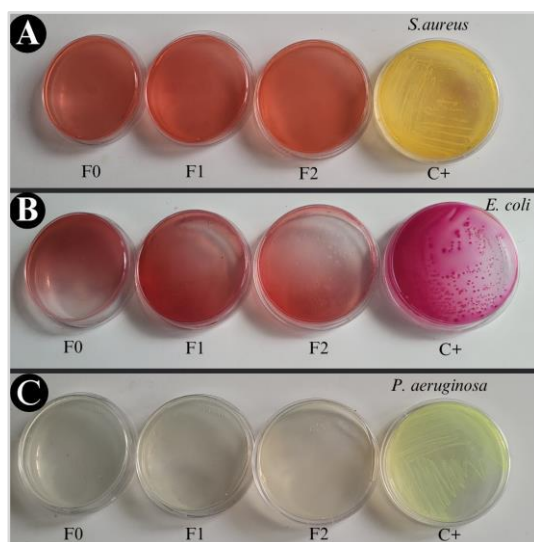
Durante o teste de qualidade microbiológica, realizado de acordo com os parâmetros de pesquisa de microrganismos mesófilos que devem estar expressos em resultado quantitativo e de coliformes totais/fecais, *P. aeruginosa* e *S. aureus* que devem estar expressos em resultados qualitativos conforme exigido pela legislação RDC N° 481 de 23 de setembro de 1999, 5ª edição da Farmacopeia Brasileira de 2010 e pela RDC N° 644 de 24 de março de 2022, indicaram que os parâmetros analisados estão em conformidade com os limites de aceitabilidade estabelecidos pelas regulamentações (Tabela 15). Portanto, as formulações testadas não apresentaram riscos ou contaminação.

Os resultados foram obtidos seguindo a equação previamente detalhada na metodologia de UFC/g. Na formulação F0, não foi observado crescimento de *P. aeruginosa*, coliformes totais/fecais, *S. aureus*, bactérias mesófilas, fungos e leveduras, com um resultado expresso como  $<1,0 \times 10^1$  UFC/g para fungos e bactérias mesófilas. Na formulação F1, não houve crescimento de *P. aeruginosa*, coliformes totais/fecais, *S. aureus* e bactérias mesófilas, porém foi identificado crescimento de fungos e leveduras, com um resultado de  $2,8 \times 10^1$  UFC/g, dentro dos limites de aceitabilidade estabelecidos pela legislação. Já na formulação F2, também não foi observado crescimento de *P. aeruginosa*, coliformes totais/fecais, *S. aureus* e bactérias mesófilas, com um resultado expresso como  $<1,0 \times 10^1$  UFC/g. No entanto, foi constatado crescimento de fungos e leveduras, com um resultado de  $4,3 \times 10^1$  UFC/g.

**Tabela 15:** Identificação microbiana e unidades formadoras de colônia presentes nas formulações F0, F1, F2.

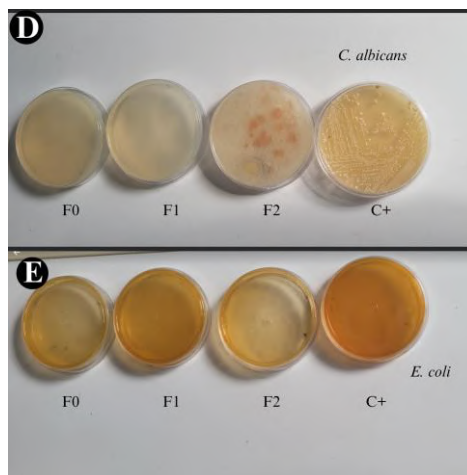
Formulação	Parâmetros exigidos pela Legislação					Dentro dos Limites da Legislação
	Bactérias mesófilas (UFC/g)	Fungos e Leveduras (UFC/g)	<i>P. aeruginosa</i> (UFC/g)	Coliformes totais e fecais (UFC/g)	<i>S. aureus</i>	
<b>*Limites de aceitabilidade</b>	<b>5x10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>Ausência</b>	<b>Ausência</b>	<b>Ausência</b>	<b>Sim</b>
<b>F0</b>	<1,0x10 <sup>1</sup> UFC/g	<1,0x10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausência	Ausência	Ausência	Sim
<b>F1</b>	<1,0x10 <sup>1</sup> UFC/g	2,8x10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausência	Ausência	Ausência	Sim
<b>F2</b>	<1,0x10 <sup>1</sup> UFC/g	4,3x10 <sup>1</sup> UFC/g	Ausência	Ausência	Ausência	Sim

\*Limites de aceitabilidade de acordo com a RDC N° 481, De 23 De Setembro De 1999; 5° edição da Farmacopéia Brasileira de 2010 e pela RDC N° 644, De 24 De Março De 2022



**Figura 18:** Imagem autoral dos resultados dos testes microbiológicos. A: Placas de Ágar Manitol Salgado, sem crescimento, semeadas com as formulações F0, F1 e F2 na diluição 1:10 e com crescimento na placa de controle positivo (*S. aureus*). B: Placas de Ágar MacConkey, sem crescimento, semeadas com as formulações F0, F1 e F2 na diluição 1:10 e com crescimento na placa de controle positivo (*E. coli*). C: Placas de Ágar Cetrimides, sem crescimento, semeadas com as formulações F0, F1 e F2 na diluição 1:10 e com crescimento na placa de controle positivo (*P. aeruginosa*).





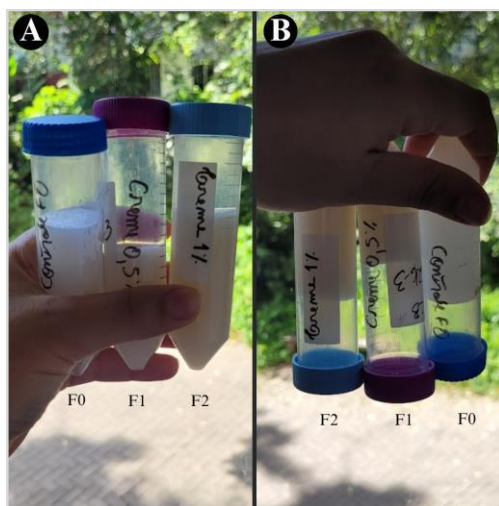
**Figura 19:** Imagem autoral dos resultados dos testes microbiológicos. A: Placas de Ágar Potato Dextrose Ágar (PDA) com crescimento nas placas das formulações F1 e F2, semeadas com as formulações F0, F1 e F2 na diluição 1:10 e com crescimento na placa de controle positivo (*C. albicans*). B: Placas de Ágar TSB, sem crescimento, semeadas com as formulações F0, F1 e F2 na diluição 1:10 e com crescimento na placa de controle positivo (*E. coli*).

### 5.8 Teste de estabilidade preliminar e avaliação das propriedades organolépticas das formulações

Na avaliação do pH durante o teste de estabilidade preliminar e das propriedades organolépticas, todas as formulações apresentaram um pH na faixa de 4,5 a 4,6. Em relação às propriedades organolépticas das formulações, todos os resultados foram consistentes, apresentando características semelhantes esperadas de um creme capilar, coloração branca, consistência semissólido, homogêneo e odor da essência aplicada. No teste de centrifugação, realizado para avaliar a estabilidade das formulações, não foram observadas alterações na consistência das mesmas, mantendo-se homogêneas. Os resultados detalhados podem ser encontrados na Tabela 16 e na Figura 20 a seguir:

**Tabela 16:** Avaliação das formulações F0, F1 e F2 através do teste de estabilidade preliminar

Parâmetros	Formulação F0	Formulação F1	Formulação F2
pH	4,5	4,5	4,6
Odor	Odor da essência aplicada	Odor da essência aplicada	Odor da essência aplicada
Cor	Branco	Branco	Branco
Consistência	Semissólido	Semissólido	Semissólido
Teste de centrifugação	Homogêneo	Homogêneo	Homogêneo



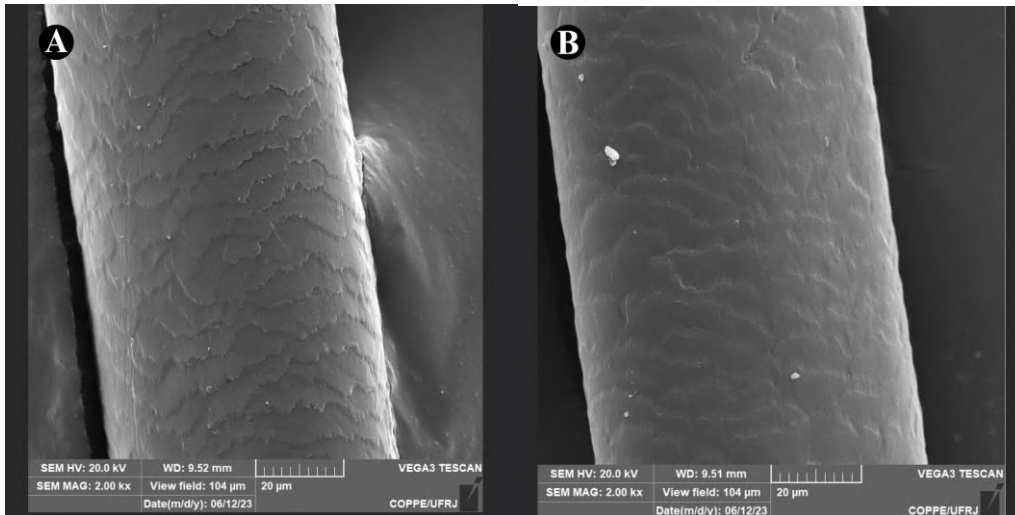
**Figura 20:** A imagem autoral ilustra os resultados do teste de centrifugação. Na figura A, é possível observar as formulações F1, F2 e F3 após o processo de centrifugação, não apresentando nenhuma separação de fases. Na figura B, as formulações F1, F2 e F3 foram invertidas após a centrifugação para verificar se ocorreria alguma separação de fases. É evidente que as formulações permaneceram homogêneas e aderidas ao tubo do tipo falcon, sem nenhuma alteração significativa.



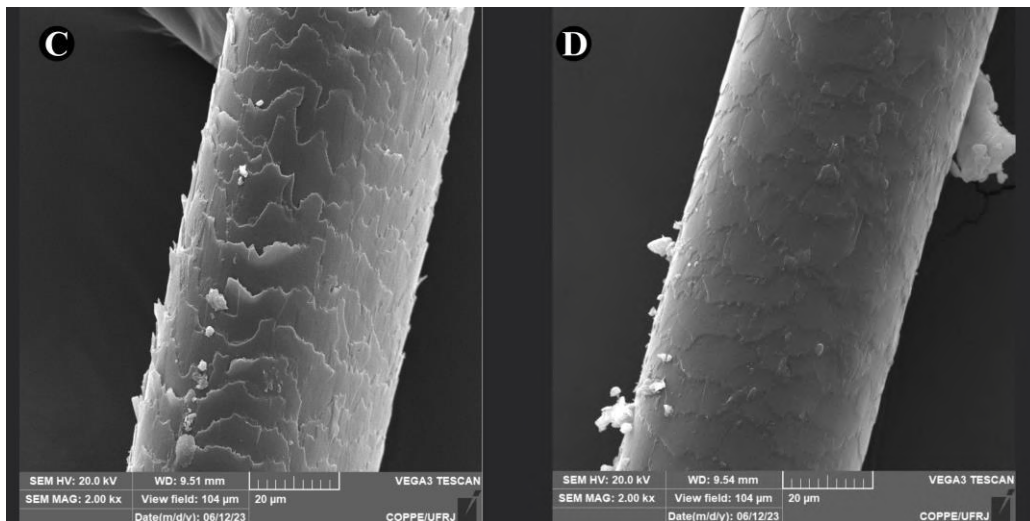
**Figura 21:** Imagem autoral ilustra os resultados das propriedades organolépticas. Na figura podemos observar a consistência semissólida das formulações e a coloração branca.

### 5.9 Tratamento de Mechas Capilares e Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura realizada com objetivo de avaliar a cutícula capilar antes e após tratamento com a formulação F2, demonstrou a eficácia do creme capilar de fechar a cutícula capilar desempenhando a função de condicionante capilar, inclusive para cabelos com tratamento químico. Nas imagens 22.A e 22.B, pode-se observar o fio capilar virgem antes e após o tratamento com a formulação F2. Na imagem 22.A observa-se as cutículas bem aparentes e na imagem 22.B após o tratamento, as cutículas bem fechadas. Nas imagens 23.C e 23.D, é observado o fio capilar descolorido antes e após o tratamento com a formulação F2 e observa-se resultado semelhante aos da imagem 22, na imagem 23.C temos o fio capilar sem tratamento com as cutículas abertas, já na imagem 23.D do fio capilar após tratamento com as cutículas bem fechadas.



**Figura 22:** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) - VEGA3 TESCAN / 2.000 x. A: Fio capilar virgem sem tratamento condicionante apresentando cutículas aparentes. B: Fio capilar virgem após tratamento condicionante apresentando cutículas bastante fechadas.



**Figura 23:** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) - VEGA3 TESCAN / 2.000x. C: Fio capilar descolorido sem tratamento condicionante apresentando cutículas abertas. D: Fio capilar descolorido após tratamento condicionante apresentando cutículas bastante fechadas.

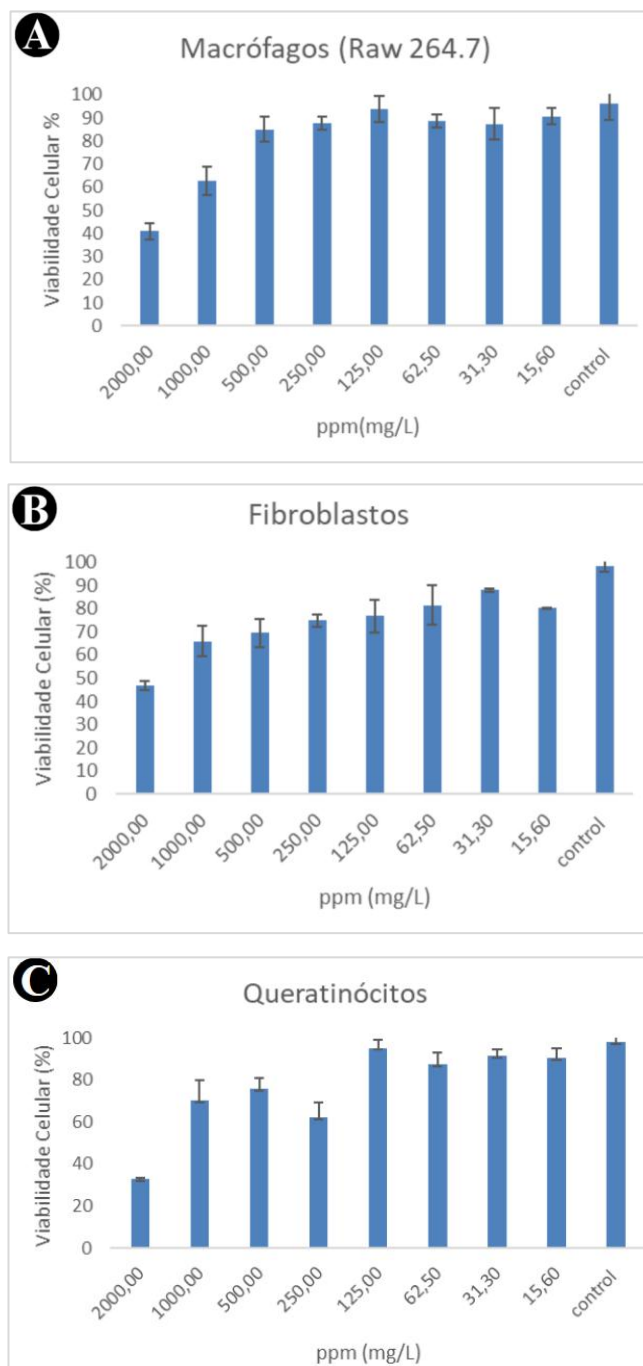
### 5.10 Ensaio de Citotoxicidade (MTT)

Foi realizado o ensaio de citotoxicidade da suspensão do biopolímero nas seguintes concentrações: 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,15%, 0,06%, 0,03% e 0,01% e da formulação F2. Ambas as amostras não apresentaram efeito citotóxico nas linhagens celulares de macrófagos, fibroblastos e queratinócitos cujo resultados estão apresentados nos Gráficos 2 e 3 abaixo.

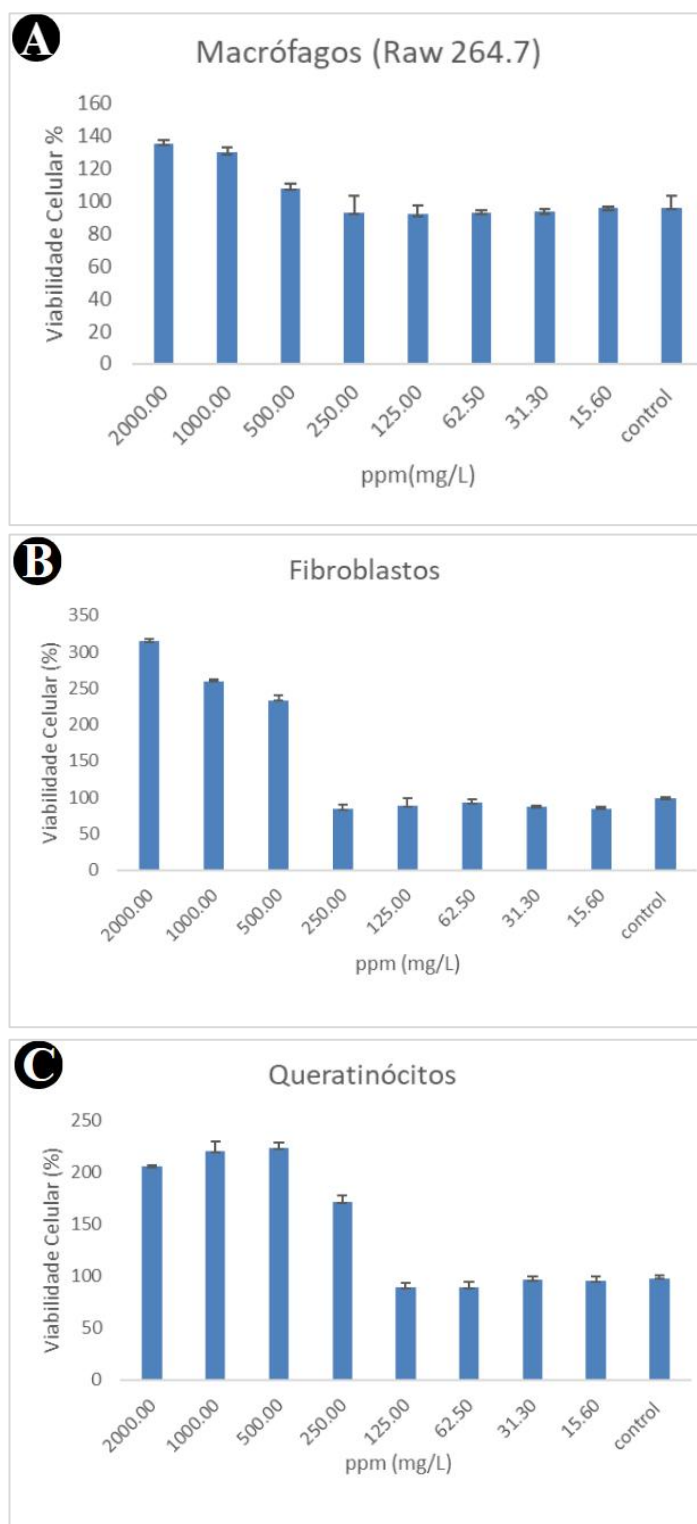
O teste de MTT realizado na formulação F2 revelou que, na linhagem de macrófagos (Gráfico 2.A) as concentrações de 1000 mg/L a 15,60 mg/L não apresentaram efeito citotóxico, demonstrando viabilidade celular superior a 60%. A concentração mais eficaz foi de 125 mg/L. Na linhagem de fibroblastos (Gráfico 2.B), também não foi observado efeito citotóxico, com viabilidade celular superior a 60% nas concentrações de 1000 mg/L a 15,60 mg/L. Da mesma forma, na linhagem de queratinócitos (Gráfico 2.C), as concentrações de 1000 mg/L a 15,60 mg/L exibiram viabilidade celular superior a 60%, com a concentração mais eficaz sendo 125 mg/L, semelhante à linhagem de macrófagos.

Já nos resultados obtidos no teste de MTT da suspensão do biopolímero a 2%, verificou-se que a suspensão do biopolímero não demonstrou citotoxicidade nas linhagens celulares de macrófagos, fibroblastos e queratinócitos, nas concentrações testadas, com uma viabilidade celular superior a 80% (Gráfico 3). Notavelmente, nas concentrações de suspensão acima de 500 mg/L, observou-se um aumento significativo no número celular, resultando em uma viabilidade celular maior em comparação com o grupo controle.

**Gráfico 2:** Ensaio de Citotoxicidade (MTT) da formulação F2 em linhagem celular de macrófagos Raw 264.7 (2.A), fibroblastos HFB (2.B) e queratinócitos HACAT (2.C).



**Gráfico 3:** Ensaio de Citotoxicidade (MTT) da suspensão do biopolímero à 2% em linhagem celular de macrófagos Raw 264.7 (3.A), fibroblastos HFB (3.B) e queratinócitos HACAT (3.C).



## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo a utilização do biopolímero derivado do fungo *S. commune* para desenvolver uma formulação de cosmético capilar do tipo condicionante. No primeiro momento, o estudo foca na produção do biopolímero esquizofilano e seu isolamento para a incorporação na formulação capilar.

Para o isolamento do biopolímero é necessário que o fungo passe pelo processo de fermentação submersa em meio rico composto por glicose, sendo a glicose a melhor fonte de carbono, o que já é utilizado em outras metodologias para o isolamento do biopolímero, como utilizado nos artigos de Vermelho *et al* (2020), Negahban, Shojaosadati, Hamedí (2020) e Alizadeh *et al* (2021) que utilizaram o mesmo meio de cultura nas mesmas concentrações para a realização da fermentação submersa e produção do biopolímero. Após o processo de fermentação submersa sob agitação a fim de aumentar a produção do biopolímero disponibilizando oxigênio por meio da agitação dos frascos, como proposto por Saedian *et al* (2022) em seu estudo sobre otimização do meio de cultura para produção do biopolímero. O estudo prosseguiu para o processo de isolamento do biopolímero, visto que a sua produção acontece de forma extracelular e está intimamente ligado com as fases do crescimento celular assexuado do fungo *S. commune*. Para o isolamento do biopolímero a técnica empregada foi a de isolamento com álcool 95% uma das técnicas descritas na literatura mais utilizadas para o isolamento da esquizofilano. Apesar de ser uma técnica que utiliza uma grande quantidade de álcool ainda assim, é uma das melhores opções por ser de mais fácil manuseio e economicamente mais viável que os métodos enzimáticos já utilizados, como relatado por Mohammadi *et al* (2018) e Negahban, Shojaosadati e Hamedí (2020)

Após o processo de isolamento, o estudo passou para o processo de quantificação do biopolímero e realização de uma suspensão para aplicação prática em uma formulação cosmética capilar.

Por meio da metodologia de isolamento deste estudo, foi obtido 0,98 g/L de biopolímero produzido. Este valor de rendimento em frasco de cultivo em meio não otimizado, é significativo em comparação com os dados encontrados na literatura sobre isolamento em frascos de cultivo, como no estudo de Singh (2017) em que foi realizado a produção de esquizofilano em madeira durante 28 dias de fermentação submersa em frasco de cultivo, obteve-se 1,3g/L em meio composto por glicose 10g; ureia 0,3 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,4g ; CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,4g ; peptona, Tween 80 0,2g; MgSO<sub>4</sub> 0,9g; MnSO<sub>4</sub> 0,15g ; FeSO<sub>4</sub> 0,03 g ; ZnSO<sub>4</sub> 0,03 ; e CuSO<sub>4</sub> 0,03g; CoCl<sub>2</sub> 0,002g, cloridrato de timina. Comparando com os dados do presente estudo, pode-se observar que apesar



do valor encontrado por Singh (2017) ser superior ao do atual estudo, o meio de cultura para a fermentação foi divergente e o tempo de fermentação foi maior, avaliando esses dois pontos apesar do rendimento de Singh (2017) possuir um rendimento maior, o presente estudo teve um tempo de fermentação menor, um meio de cultura menos complexo e ainda ter um objetivo diferente para a sua aplicação. Ademais, não foram encontrados mais dados na literatura sobre rendimento em frascos de cultivo, visto que atualmente os artigos estão focados nos rendimentos de fermentações em biorreatores de tanque agitado que se mostram bastante eficazes por possibilitar uma maior área de aeração, um maior volume de meio de cultura, parâmetros controláveis e diminuição do tempo de cultivo como constatado por Bakratsas *et al* (2021) em seu estudo sobre cultivo submerso de fungos superiores. Já no estudo de Araújo (2016) para a produção do biopolímero extracelular, quitosana do fungo *Mucor racemosus* foi obtido 1,2 g/L de biopolímero não liofilizado durante 8 dias de fermentação utilizando 50g/L de glicerol como fonte de carbono. Em comparação com o resultado do rendimento da esquizofilano do presente estudo, pode-se observar um melhor resultado, visto que no estudo de Araújo (2016), o biopolímero não passou por um processo de liofilização o que iria diminuir de forma significativa o peso do seu rendimento, a fermentação foi mais prolongada e também, houve uma grande utilização de glicerol na formulação do meio de cultivo. Portanto, os valores de quantificação encontrados não interferem no prosseguimento do presente estudo, já que a fermentação em frasco com agitação se mostrou eficaz e também, a quantidade de biopolímero produzido se mostra proveitosa em relação a quantidade utilizada na formulação do creme capilar. Ademais, a utilização de biorreatores é uma possível alternativa para uma escala de produção industrial de esquizofilano para uma futura formulação capilar no mercado cosmético.

Para aplicação do biopolímero em uma formulação capilar, foi realizado duas suspensões nas concentrações de 0,5% e 1% de biopolímero, visto que o biopolímero apresenta alta solubilidade em água (Wanke *et al.*, 2021). Entretanto, de acordo com Rau (1999) após o processo de liofilização o biopolímero esquizofilano apresenta uma diminuição significativa em sua solubilidade em água. Sendo assim, a preparação de uma suspensão se mostrou uma alternativa viável para incorporação do biopolímero visto que se encontrava liofilizado, e uma suspensão seria ideal para sua aplicação em uma formulação capilar.

Após as suspensões preparadas, as análises prosseguiram a fim de avaliar o potencial antioxidante das suspensões do biopolímero e realizar as avaliações das propriedades organolépticas, da estabilidade preliminar e do controle de qualidade microbiológico das formulações do creme capilar.

Na análise do potencial antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH, onde foram utilizados quercetina como controle positivo, DMSO como negativo e as soluções de 0,5% e 1% de esquizofilano. Foi observado valores de potencial antioxidante de 0%, o que não representa um potencial antioxidante expressivo, em contrapartida, Gou *et al* (2023) também analisou esse potencial via DPPH e observou potencial antioxidante significativo de 17,66%. Já no estudo de Pirzadeh-Naeeni (2020) que avaliou a citotoxicidade de nanopartículas de esquizofilano para o tratamento com câncer foi alcançado 28%. Todavia, o que explicaria esses resultados divergentes seriam os métodos distintos que foram realizados, porque passaram por um longo processo de purificação e otimização da cepa. No estudo Pirzadeh-Naeeni (2020) durante o isolamento do biopolímero foram realizados diversos processos de purificação. Já no estudo de Gou *et al* (2023) foi realizado a seleção de uma cepa do fungo *S. commune* através do seu crescimento, já no meio de cultura foi realizado a otimização das fontes de carbono, nitrogênio e dos reguladores de crescimento do fungo e outro fator divergente foi o método de isolamento que passou por um processo de diversas purificações. Contudo, o resultado encontrado não inviabiliza o prosseguimento do estudo visto que as metodologias realizadas foram feitas visando a aplicação do biopolímero em um cosmético capilar.

Na avaliação do controle de qualidade microbiológico das formulações capilares F0, F1 e F2. As formulações avaliadas não apresentaram crescimento dos microrganismos patogênicos *S. aureus*, *P. aeruginosa* e coliformes fecais/totais, assim como observado por Rosa *et al* (2015) em seu estudo sobre a qualidade microbiológica de condicionantes infantis disponíveis no mercado brasileiro. Na contagem de bactérias mesófilas, as três formulações demonstraram valores inferiores a  $1,0 \times 10^1$  UFC/g. Na pesquisa de fungos e leveduras, a formulação F1 apresentou resultado de  $2,8 \times 10^1$  UFC/g, a formulação F2 registrou  $4,3 \times 10^1$  UFC/g, enquanto que a formulação F0 obteve um resultado inferior a  $1,0 \times 10^1$  UFC/g. Diferentemente dos resultados observados por dos Reis Vieira *et al* (2020) que avaliou os principais produtos farmacêuticos não estéreis, dentre eles cremes condicionantes, comercializados em Campinas (SP) e obteve uma contagem microbiana para bactérias mesófilas de  $9 \times 10^1$  UFC/g a  $2,06 \times 10^6$  UFC/g, e para contagem total de bolores e leveduras, a variação foi de  $2,3 \times 10^1$  UFC/g a  $2,8 \times 10^5$  UFC/g. Tais resultados apresentados por Reis Vieira *et al* (2020) demonstram que muitas das formulações capilares disponíveis no mercado apresentam valores altos para microrganismos mesófilos, fungos e bactérias, o que difere das formulações elaboradas no presente estudo que além de apresentarem valores baixos para microrganismos mesófilos e ausência de microrganismos patogênicos, então dentro das recomendações da 5ª edição da Farmacopeia Brasileira de 2010 e da RDC N° 644, de 24 de março de 2022. Estes resultados podem ser atribuídos à qualidade das matérias-primas

utilizadas, aliadas às práticas assépticas e ao manuseio das formulações, visto que os microrganismos pesquisados geralmente estão presentes em casos de contaminação da matéria-prima ou durante o processo de manipulação do produto como observado por Gomes *et al.*, 2021.

Após a conclusão da avaliação microbiológica das formulações, foi realizado o teste de estabilidade preliminar. Nenhuma das três formulações apresentou instabilidade, mantendo-se homogêneas e como pH na faixa ideal de 4,5 a 4,6. Vale ressaltar que um pH ácido no creme condicionante é importante para o fechamento das cutículas capilares, resultando em um reflexo de luz que confere um aspecto brilhante aos cabelos (Konrad *et al.*, 2022). Além disso, conforme mencionado por Firmino (2011), o pH possui papel fundamental na estabilidade dos ativos presentes na formulação. Portanto, as formulações seguiram as diretrizes estabelecidas pelo manual da ANVISA (2004). Adicionalmente, procedeu-se ao teste das características organolépticas, que não foram observadas quaisquer alterações nas três formulações testadas. As formulações mantiveram a estabilidade, apresentando cor branca, consistência semissólida e odor característico da essência de uva empregada, assim como observado por Corrêa (2022) em seu estudo sobre uma máscara capilar com óleo de café torrado em que as características organolépticas não sofreram alterações sensoriais. Esses resultados confirmam que as concentrações utilizadas foram ideais para a formulação dos cremes e a formulação F2 foi escolhida para o prosseguimento dos testes por apresentar uma maior viscosidade.

Com as análises de qualidade microbiológica e estabilidades do creme capilar finalizadas, o estudo focou na análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) a fim de observar a cutícula do fio capilar e no ensaio de citotoxicidade (MTT) com objetivo de avaliar a viabilidade celular das células de macrófagos, fibroblastos e queratinócitos.

Foi realizada a análise por microscopia eletrônica de varredura, no fio capilar virgem sem tratamento (Figura 21.A), foi possível observar regiões com danos nas células cuticulares, além de uma diminuição no brilho da superfície do fio. Por outro lado, no fio capilar virgem tratado com a formulação F2 (Figura 21.B), foi possível observar uma cutícula mais uniforme, íntegra e em melhores condições em comparação com o cabelo virgem não tratado, assim como observado por Tanamachi *et al* (2010) que observou, que em cabelos virgens as células cuticulares são sobrepostas, apresentando camadas uniformes, e a cutícula, em boas condições, exibe uma superfície hidrofóbica, resultado da presença de uma camada de ácidos graxos covalentemente ligados à camada superficial da cutícula. Já no fio capilar que passou pelo processo de descoloração sem tratamento (Figura 22.A), a cutícula capilar foi bastante exposta e exibiu danos significativos nas células cuticulares, sendo observado até mesmo fragmentos da cutícula, desprendendo-se do fio capilar. O que também foi observado por Araújo (2015) que avaliou a

cutícula capilar de mechas capilares após tratamento químico e visualizou danos nas células cuticulares. Em contraste, o fio capilar que passou pelo processo de descoloração foi tratado com a formulação F2 (Figura 22.B) apresentou uma cutícula mais íntegra, apesar dos danos ainda presentes, no geral, encontrou-se em melhores condições do que o fio capilar sem tratamento. Ademais, no trabalho de Lidiane (2015) foi realizado a microscopia eletrônica de varredura (MEV) a fim de avaliar o fio capilar após tratamento com o condicionador, a mesma base utilizada no presente estudo, e foi constatado que a formulação preservou a cutícula das mechas tratadas. Porém, em comparação com a microscopia eletrônica de varredura da formulação F2, foi possível observar que as cutículas tratadas com a formulação F2 ficaram mais seladas e uniformes que as cutículas do estudo de Lidiane (2015) concluindo que o creme condicionador é capaz de selar a cutícula, porém de maneira não tão eficaz quanto como o condicionador proposto no atual estudo. Na revisão de Zhang (2013) em que ele sugere a capacidade da esquizofilano em hidratar tecidos da pele por conta da sua propriedade de reposição de água e ação umectante a partir da formação de filme. No presente estudo foi observado que tanto a reposição de água quanto a formação de filme também acontecem na fibra capilar. Portanto, pode-se inferir que a formulação desempenhou sua principal função de agente condicionante capilar, confirmando que além do efeito condicionante repõe umidade e criar umectação em fios virgens e quimicamente tratados, sendo mais eficiente para um tratamento capilar por conseguir proteger e fechar a cutícula, reparando pequenos danos, como observado pela microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Com objetivo de avaliar se a composição da formulação contém algum componente citotóxico para as células locais. Foi realizado o ensaio de citotoxicidade (MTT), da formulação F2 nas linhagens celulares de macrófagos (Raw 264.7), queratinócitos e fibroblastos, e não se observou atividade citotóxica em nenhuma das concentrações testadas. Os resultados mostraram uma viabilidade celular superior a 60% (Gráficos 2, 3 e 4), sendo a concentração de 1000 mg/L utilizada na formulação do creme, eficaz possuindo uma viabilidade celular superior a 60%. Atualmente os estudos de citotoxicidade celular para o biopolímero esquizofilano não avaliam sua aplicação em formulações capilares, exploram mais sua utilização em tratamentos terapêuticos como no estudo de Safae-Ardakani (2022) em que ele avaliou a citotoxicidade de um hidrogel para cicatrizes composto por esquizofilano e observou uma viabilidade celular de 80% das células de fibroblastos. Semelhante ao estudo de Tu *et al* (2023) que também avaliou a citotoxicidade e o desempenho de um hidrogel composto por curcumina e esquizofilano para o curativo de feridas e observou uma viabilidade celular de 80% da linhagem celular de queratinócitos. No ensaio de citotoxicidade da suspensão do biopolímero a 2%, também não foi observada citotoxicidade em nenhuma das concentrações testadas, obtendo-se uma viabilidade celular superior a 80% (Gráficos

5, 6 e 7). Esses achados estão em concordância com o estudo realizado por Rahilah (2012), que testou o biopolímero em diferentes concentrações utilizando a linhagem celular de fibroblastos de galinha DF-1 com o objetivo de estudar sua atividade antiviral e constatou que o biopolímero não apresenta atividade citotóxica expressiva. Nas linhagens celulares estudadas, além de apresentar uma viabilidade celular superior a 80%, a suspensão do biopolímero também demonstrou uma possível proliferação celular, o que requer estudos mais aprofundados. Na literatura, já se sabe que o biopolímero possui atividade anticancerígena (Pirzadeh-Naeni *et al.*, 2020) e pode inibir a sepsis microbiana em camundongos (Kim *et al.*, 2016). A possível proliferação celular precisa ser investigada e esclarecida em estudos futuros. No entanto, os resultados encontrados garantem que a utilização do biopolímero na formulação de um creme condicionante não causa efeito citotóxico em nível celular, permitindo assim sua aplicação em produtos cosméticos.

Em resumo, os resultados significativos e promissores deste estudo revelam que o biopolímero do *S. commune* possui um enorme potencial para a indústria de cosméticos capilares. Suas características de segurança, qualidade e eficácia condicionante, maciez o tornam um produto revolucionário, com capacidade para transformar o mercado de cosméticos capilares. Tendo o potencial de impactar positivamente a economia, uma vez que o Brasil, de acordo com o panorama de 2022 da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2022), é o quarto maior mercado de beleza e cuidados pessoais do mundo, movimentando cerca de 22,9 bilhões de reais anualmente. Além da sua natureza segura e inovadora reforçar o compromisso com a sustentabilidade, proporcionando aos usuários uma opção consciente e *ecofriendly* para cuidados com os cabelos.

## 7. CONCLUSÃO

- O crescimento do fungo *S. commune* realizado em meio glicose, possibilitou a produção do biopolímero através do processo de isolamento com álcool 95%, resultando em uma concentração de 0,98 g/L de biopolímero seco produzido.
- O biopolímero não apresentou potencial antioxidante significativo, obtendo-se valores de absorvância de 0%
- Para a incorporação do biopolímero na formulação capilar é necessário a preparação de duas suspensões nas concentrações de 0,5% e 1% que acrescentadas à formulação capilar não modificam as características típicas de cremes condicionantes.
- A formulação F2 ser mostrou ideal por conta das características organolépticas analisadas.
- As formulações capilares são microbiologicamente seguras e atendem os parâmetros exigidos pela legislação brasileira.
- A formulação capilar possui atividade condicionante, eficácia na selagem da cutícula que promove o brilho e a sedosidade capilar de cabelos virgem e quimicamente tratados, além de proporcionar maior maciez, sedosidade e auxiliar na manutenção e cuidados com o cabelo.
- As formulações e as soluções do biopolímero obtiveram baixa toxicidade, sendo seguros para serem utilizados como cosméticos capilares. E são necessários estudos para avaliar o aumento da proliferação celular das soluções do biopolímero.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aboushanab, S. A. S., Vyrova, D. V., Selezneva, I. S., & Ibrahim, M. N. G. (2019, December). The potential use of  $\beta$ -Glucan in the industry, medicine and cosmetics. In AIP Conference Proceedings. 1, e020198- 020205.

ABIHPEC (2022.). Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Panorama do Setor Novembro. Disponível: <https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor/> Acesso em: 08/09/2022

Alexandre S.D (2005.) O antioxidante quercetina diminui o estresse oxidativo hepático em ratos diabéticos. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul.

Alizadeh, V., Shojaosadati, S. A., & Zamir, S. M. (2021). Enhancement of schizophyllan production in *Schizophyllum commune* using microparticles in medium. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44, 317-328.

ANVISA(2004.) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Disponível em: Acesso em: 21/10/2022.

ANVISA(2005.) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 222, de 08 de Agosto de 2005. Disponível: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0222\\_02\\_08\\_2005.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0222_02_08_2005.html). Acesso em: 06/09/2022.

ANVISA (2007.). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Disponível: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cosmeticos.pdf>. Acesso em: 21/10/2022

ANVISA(2010.) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira 5° edição. Disponível: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8000json-file-1>. Acesso em: 28/09/2022.

ANVISA(2010.) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 481, De 23 De Setembro De 1999; 5° edição da Farmacopéia Brasileira de 2010. Disponível: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/res0481\\_23\\_09\\_1999\\_rep.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/res0481_23_09_1999_rep.html). Acesso em: 28/09/2022.

ANVISA(2017.) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 61, de 20 de fevereiro de 2017. Disponível: <https://www.faimport.com.br/images/pdf/RDC61.pdf> Acesso em: 09/09/2022

ANVISA(2022.) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 644, De 24 De Março De 2022. Disponível: <https://www.latinigroup.com.br/index.php/em-foco/legislacao/555-resolucao-rdc-n-644-de-24-de-marco-de-2022>. Acesso em: 28/09/2022.

Araújo, L.A (2015) Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo óleos vegetais para a proteção e reparação capilar. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto

Basso, V., Schiavenin, C., Mendonça, S., de Siqueira, F. G., Salvador, M., & Camassola, M. (2020). Chemical features and antioxidant profile by *Schizophyllum commune* produced on different agroindustrial wastes and byproducts of biodiesel production. *Food chemistry*. 329, e127089-127094.

Bakratsas, G., Polydera, A., Katapodis, P., & Stamatis, H. (2021). Recent trends in submerged cultivation of mushrooms and their application as a source of nutraceuticals and food additives. *Future Foods*, 4, 100086.

Baeshen, MN, Al-Hejin, AM, Bora, RS, Ahmed, MM, Ramadan, HA, Saini, KS, ... & Redwan, EM (2015). Produção de biofármacos em *E. coli*: cenário atual e perspectivas futuras.

Burns, L. J., Mesinkovska, N., Kranz, D., Ellison, A., & Senna, M. M. (2020). Cumulative life course impairment of alopecia areata. *International journal of trichology*. 12, e197-210.

Bontorim, G. Estudo de estabilidade de emulsão cosmética utilizando reologia e técnicas convencionais de análise. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

Carvalho, L. T., Vieira, T. A., Zhao, Y., Celli, A., Medeiros, S. F., & Lacerda, T. M. (2021). Recent advances in the production of biomedical systems based on polyhydroxyalkanoates and exopolysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*. 183, e1514-1539.

Chikawa, J. I., Bandou, M., Tabuchi, K., Tani, K., Saji, H., & Takasaki, Y. (2019). Hair growth at a solid-liquid interface as a protein crystal without cell division. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*. 65, e100452-100458.



Coutinho, Ú. T. C., Vasco, R. C., da Silva, S. S. V., de Almeida Melo, E., & Santos, A. M. P. (2020). Avaliação da capacidade fermentativa da *Saccharomyces Cerevisiae* e *Saccharomyces Pastoris* imobilizada para produção de cerveja: Perfil fermentativo, ciclos e produtividade. *Brazilian Journal of Development*. 6, e37877-37886.

Couturier, M., Ladeveze, S., Sulzenbacher, G., Ciano, L., Fanuel, M., Moreau, C., ... & Berrin, J. G. (2018). Lytic xylan oxidases from wood-decay fungi unlock biomass degradation. *Nature chemical biology*. 14, e306-310.

Luz, G.F.S. (2018) Desenvolvimento de formulações cosméticas com óleos vegetais para cabelos cacheados. (Monografia em Farmácia)- Escola de farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais.4, e88-92.

do Rosário, M. S., Gauto, M. I. R., Silva, A. C. L. N., Sales, J. S., dos Santos Pereira, F., dos Santos, E. P., ... & Costa, M. C. P. (2021). Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata* Martius). *Brazilian Journal of Development*. 7, e29552-29570.

Du, B., Zeng, H., Yang, Y., Bian, Z., & Xu, B. (2016). Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Schizophyllum commune* as affected by ultrasonication. *International journal of biological macromolecules*. 91, e100-105.

El Enshasy, H. A. (2022). Fungal morphology: a challenge in bioprocess engineering industries for product development. *Current Opinion in Chemical Engineering*. 35, e100729-100734.

Eliane Neves De Gasperi (2015) *Cosmetologia I*eds( Indaial- UNIASSELVI). pp 40-75

Elzubair, A., de Oliveira, N. F., Munhoz, F., Flor, C., Fiat, F., Baghdadli, N., ... & Luengo, G. S. (2017). Tribological and mechanical properties of Brazilian hair. *Biotribology*. 12, e33-42.

Equipe Inovação Industrial. 3 fatores que afetam estabilidade térmica dos equipamentos. Disponível em: <<https://inovacaoindustrial.com.br/estabilidade-termica/>>. Acesso em: 18 ago. 2021.

Epstein, J. S., & Epstein, G. K. (2022). Hair Restoration in the Ethnic Patient. *Facial Plastic Surgery Clinics*. 30, e457-469.

Falkowski, P. (2012). Ocean science: the power of plankton. *Nature*. 483, e17-20.

- Garcia, J., Rodrigues, F., Saavedra, M. J., Nunes, F. M., & Marques, G. (2022). Bioactive polysaccharides from medicinal mushrooms: A review on their isolation, structural characteristics and antitumor activity. *Food Bioscience*. 9, e101955-101960.
- Gomes, J. R., de Almeida, F. A. S., Adão, J. M., Porto, M. D., & da Silva, R. R. The Brazilian Beauty Industry and the Cosmetics Market For Frizzy/Curly Hair. *International Journal of Humanities and Social Science*. 2, e18-20.
- Gupta, P. L., Rajput, M., Oza, T., Trivedi, U., & Sanghvi, G. (2019). Eminence of microbial products in cosmetic industry. *Natural Products and Bioprospecting*. 9, e267-278.
- Grossart, H. P., Van den Wyngaert, S., Kagami, M., Wurzbacher, C., Cunliffe, M., & Rojas-Jimenez, K. (2019). Fungi in aquatic ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*. 17, e339-354.
- Gou, Z., Peng, Z., Wang, S., Chen, L., Ma, Z., Kang, Y., ... & Lei, P. (2023). Efficient production and skincare activity evaluation of schizophyllan, a  $\beta$ -glucan derived from *Schizophyllum commune* NTU-1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241, 124504.
- Hamed, S., Shojaosadati, S. A., Najafi, V., & Alizadeh, V. (2020). A novel double-network antibacterial hydrogel based on aminated bacterial cellulose and schizophyllan. *Carbohydrate Polymers*. 229, e115383-115390.
- Hesterkamp, T. (2015). Antibiotics clinical development and pipeline. How to Overcome the Antibiotic Crisis.5, e447-474.
- Horisawa, S., Ando, H., Ariga, O., & Sakuma, Y. (2015). Direct ethanol production from cellulosic materials by consolidated biological processing using the wood rot fungus *Schizophyllum commune*. *Bioresource Technology*. 197, e37-41.
- Hyde, K. D., Bahkali, A. H., & Moslem, M. A. (2010). Fungi—an unusual source for cosmetics. *Fungal diversity*. 43, e1-9.
- Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., ... & Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*. 97, e1-136.
- Isensee, D. B (2016) Análises Comparativas de Formulações cosméticas sulfadas X Formulações cosméticas não sulfatadas. Monografia (Engenharia Química). Universidade do Vale do Paraíba-São José dos Campos, SP.

Jamshidian, H., Shojaosadati, S. A., Vilaplana, F., Mousavi, S. M., & Soudi, M. R. (2016). Characterization and optimization of schizophyllan production from date syrup. *International journal of biological macromolecules*. 92, e484-493.

Kulshreshtha, A. K., Singh, O. N., & Wall, G. M. (Eds.). (2009). *Pharmaceutical suspensions: from formulation development to manufacturing*. Springer Science & Business Media.. 4, e104-108.

Kumari, M., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2008). Production of schizophyllan using *Schizophyllum commune* NRCM. *Bioresource technology*.99, e1036-1043.

Khumalo, N. P., Doe, P. T., Dawber, R. R., & Ferguson, D. J. P. (2000). What is normal black African hair? A light and scanning electron-microscopic study. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 43, e814-820.

Kikumoto, S. (1971). Polysaccharide produced by *Schizophyllum commune*. Pt. II. Chemical structure of an extracellular polysaccharide. *Nippon Nougai Kagaku Kaishi*, 45, 162-168.

Koch, S. L., Tridico, S. R., Bernard, B. A., Shriver, M. D., & Jablonski, N. G. (2020). The biology of human hair: A multidisciplinary review. *American Journal of Human Biology*. 32, e23316-23320.

Kodama, A., Nakagawa, A., Nonoguchi, Y., Sakurai, H., Yano, C., Suzuki, T., & Koumoto, K. (2020). Solubilization of poorly water-soluble bioactive molecules in neutral aqueous media by complexation with renatured  $\beta$ -1, 3-1, 6-glucan nanoparticles. *Biopolymers*.111, e23349-23352.

Koçak, A. (2023). Studying the effect of cocaine on the structure of cosmetically treated human hair using micro-Attenuated Total Reflection spectroscopy (ATR). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*.284, e121826-121830.

Kohl R.S. (2021). *Desenvolvimento e caracterização de xampu sólido utilizando diferentes óleos vegetais*. Monografia (Engenharia química) Instituto de engenharia química. Universidade do Vale do Taquari, Lajeado, Rio Grande do Sul.

Krause, K., Jung, E. M., Lindner, J., Hardiman, I., Poetschner, J., Madhavan, S., ... & Kothe, E. (2020). Response of the wood-decay fungus *Schizophyllum commune* to co-occurring microorganisms. *PLoS One*.15, e0232145-0232148.

Laborclin (2021). Fornecedor de produtos laboratoriais Laborclin. Instruções sobre o uso do meio de cultura Ágar Cetrimides. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2021/10/172390BK.pdf>. Acesso em: 16/10/2022

Laborclin (2019). Fornecedor de produtos laboratoriais Laborclin. Instruções sobre o uso do meio de cultura Potato Dextrose Ágar. Disponível em: [https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/POTATO\\_DEXTROSE\\_AGAR\\_12042019.pdf](https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/POTATO_DEXTROSE_AGAR_12042019.pdf). Acesso em: 01/09/2022.

Laborclin (2019). Fornecedor de produtos laboratoriais Laborclin. Instruções sobre o uso do meio de cultura Caldo Lethen. Disponível em: [https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/LETHEEN\\_CALDO\\_BULA\\_11012019.pdf](https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/LETHEEN_CALDO_BULA_11012019.pdf). Acesso em: 16/10/2022.

Laborclin (2019). Fornecedor de produtos laboratoriais Laborclin. Instruções sobre o uso do meio de cultura Ágar MacConkey. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/agar-macconkey-o-mais-antigo-e-eficiente-meio-de-cultura-para-bacterias/>. Acesso em: 16/10/2022

Laborclin (2018). Fornecedor de produtos laboratoriais Laborclin. Instruções sobre o uso do meio de cultura Manitol Salgado. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/MANITOL.pdf>. Acesso em> 16/10/2022

Leathers, T. D., Sutivisedsak, N., Nunnally, M. S., Price, N. P., & Stanley, A. M. (2015). Enzymatic modification of schizophyllan. *Biotechnology letters*. 37, e673-678.

Leathers, T., Nunnally, M., and Price, N. (2006). "Co-production of schizophyllan and arabinoxylan from corn fiber," *Biotechnology Letters* 28, 623-626. DOI: 10.1007/s10529-006-0028-1

Luiz, G.M.S. (2018). Uma breve revisão sobre RMN e algumas de suas aplicações. Monografia (Bacharel em Química Industrial)- Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.

Li, C., Niu, Z., Zou, M., Liu, S., Wang, M., Gu, X., ... & Jha, R. (2020). Probiotics, prebiotics, and synbiotics regulate the intestinal microbiota differentially and restore the relative abundance of specific gut microorganisms. *Journal of dairy science*. 103, e5816-5829.

Li, X., & Cheung, P. C. K. (2019). Application of natural  $\beta$ -glucans as biocompatible functional nanomaterials. *Food Science and Human Wellness*.8, e315-319.

- Liu, X., Frydenvang, K., Liu, H., Zhai, L., Chen, M., Olsen, C. E., & Christensen, S. B. (2015). Iminolactones from *Schizophyllum commune*. *Journal of natural products*.78, e1165-1168.
- Liu, Y., Peterson, D. A., Kimura, H., & Schubert, D. (1997). Mechanism of cellular 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *Journal of neurochemistry*. 69, e581-593.
- López-Legarda, X., Rostro-Alanis, M., Parra-Saldivar, R., Villa-Pulgarín, J. A., & Segura-Sánchez, F. (2021). Submerged cultivation, characterization and in vitro antitumor activity of polysaccharides from *Schizophyllum radiatum*. *International Journal of Biological Macromolecules*.186, e919-932.
- Loussouarn, G., Garcel, A. L., Lozano, I., Collaudin, C., Porter, C., Panhard, S., ... & de La Mettrie, R. (2007). Worldwide diversity of hair curliness: a new method of assessment. *International journal of dermatology*. 46, e2-6.
- Lourenço-Lopes, C., Fraga-Corral, M., Jimenez-Lopez, C., Pereira, A. G., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., & Simal-Gandara, J. (2020). Metabolites from macroalgae and its applications in the cosmetic industry: A circular economy approach. *Resources*. 9, e101-109.
- Luna, J. M., Rufino, R. D., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactant from *Candida sphaerica* UCP0995 exhibiting heavy metal remediation properties. *Process Safety and Environmental Protection*. 102, e558-566.
- Maciel, N. R. (2012) Desenvolvimento de emulsões múltiplas cosméticas contendo óleo de girassol e óleo de gergelim: estudos de estabilidade físico-química. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Mansoldo, F. R. P., Firpo, R., da Silva Cardoso, V., Queiroz, G. N., Cedrola, S. M. L., de Godoy, M. G., & Vermelho, A. B. (2020). New method for rapid identification and
- Mariana, A.A. (2022) Abordagem Biofarmacêutica das suspensões orais pediátricas. Monografia (Graduação em Farmácia)- Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto)
- Maity, P., Sen, I. K., Chakraborty, I., Mondal, S., Bar, H., Bhanja, S. K., ... & Maity, G. N. (2021). Biologically active polysaccharide from edible mushrooms: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 172, e408-417.

- Mellou, F., Varvaresou, A., & Papageorgiou, S. (2019). Renewable sources: applications in personal care formulations. *International Journal of Cosmetic Science*. 41, e517-525.
- Mizrahi, M. (2015). Cabelos ambíguos beleza, poder de compra e “raça” no Brasil urbano. *Revista Brasileira de Ciências Sociais*. 30, e31-45.
- Moon, H. G., Jang, Y. S., Cho, C., Lee, J., Binkley, R., & Lee, S. Y. (2016). One hundred years of clostridial butanol fermentation. *FEMS microbiology letters*. 3, e363-369.
- Mohammadi, A., Shojaosadati, S. A., Tehrani, H. J., Mousavi, S. M., Saleh, T., & Khorasani, A. C. (2018). Schizophyllan production by newly isolated fungus *Schizophyllum commune* IBRC-M 30213: optimization of culture medium using response surface methodology. *Annals of microbiology*. 68, e47-62.
- Morioka, M., Pilz, T. L., & Maceno, M. M. C. (2021). Comparative Analysis of the Sustainable Practices Based on Social Responsibility Guidelines of Personal Hygiene, Perfumery and Cosmetics Companies in Brazil. In *Integrating Social Responsibility and Sustainable Development*. 2, e85-108
- Negahban, Z., Shojaosadati, S. A., & Hamed, S. (2021). A novel self-assembled micelles based on stearic acid modified schizophyllan for efficient delivery of paclitaxel. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 199, e111524-111530.
- Ohm, R. A., De Jong, J. F., Lugones, L. G., Aerts, A., Kothe, E., Stajich, J. E., ... & Wösten, H. A. (2010). Genome sequence of the model mushroom *Schizophyllum commune*. *Nature biotechnology*. 28, e957-963.
- Ooi, V. E., & Liu, F. (2000). Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Current medicinal chemistry*. 7, e715-729.
- Park, A. M., Khan, S., & Rawnsley, J. (2018). Hair biology: growth and pigmentation. *Facial Plastic Surgery Clinics*. 26, e415-424.
- Peres, L. A. B., Delfino, V. D. A., Mocelin, A. J., Akari, L., Tutida, M. E. F., & Matsuo, T. (2008). Padronização do teste do MTT em modelo de preservação a frio como instrumento de avaliação da viabilidade celular renal. *J Bras Nefrol*. 30, e48-53.

Pereira-Silva, M., Martins, A. M., Sousa-Oliveira, I., Ribeiro, H. M., Veiga, F., Marto, J., & Paiva-Santos, A. C. (2022). Nanomaterials in hair care and treatment. *Acta Biomaterialia*.6, e30-35.

Deb-Choudhury, S., Harland, D. P., & Plowman, J. E. (2018). *The Hair Fibre: Proteins, Structure and Development*. Springer.5, e3-13.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53, e4290-4302.

De Oliveira Souza, P., Dusek, P. M., & Avelar, K. E. S. (2019). Resíduos sólidos decorrentes da indústria da beleza. *Semioses*. 13, e113-127.

Pires, J., Torres, P. B., Santos, D. Y. A. C., & Chow, F. (2017). Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 12, e1-6.

Pu, W., Shen, C., Wei, B., Yang, Y., & Li, Y. (2018). A comprehensive review of polysaccharide biopolymers for enhanced oil recovery (EOR) from flask to field. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 61, e1-11.

Ramsay, J. A., Berger, E., Voyer, R., Chavarie, C., & Ramsay, B. A. (1994). Extraction of poly-3-hydroxybutyrate using chlorinated solvents. *Biotechnology Techniques*. 8, e589-594.

Rahman, H. U. U., Asghar, W., & Khalid, N. (2021). Scleroglucan and Schizophyllan: Microbial Polysaccharides of Functional Importance. In *Polysaccharides of Microbial Origin: Biomedical Applications*. 4, e1-28.

Rau, U., Gura, E., Olszewski, E., & Wagner, F. (1992). Enhanced glucan formation of filamentous fungi by effective mixing, oxygen limitation and fed-batch processing. *Journal of Industrial Microbiology*, 9, e19-25.

Ribeiro, T. R. M., & De Marco Ferro, D. A. (2011). Análise a Concepção de Pais e Alunos do Ensino Público Acerca de Microorganismos e Suas Relações com o Ambiente, Saúde e Doença. *Unifunec Científica Multidisciplinar*. 1, e12-15.

Rocha, A. R., Schott, C., & Casotti, L. (2016). Socialization of the Black female consumer: Power and discourses in hair-related consumption. *ACR North American Advances*.44, e333-337.

Rudakiya, D. M., Patel, Y., & Chhaya, U. (2021). Strategies to Improve Remediation Technology Using Fungi. In *Microbial Rejuvenation of Polluted Environment*. 4, e185-202

Rau, U. (1999). Production of schizophyllan. *Carbohydrate biotechnology protocols*, 43-55.

Sato, T., Sakurai, K., Norisuye, T., & Fujita, H. (1983). Collapse of randomly coiled schizophyllan in mixtures of water and dimethylsulfoxide. *Polymer Journal*. 15, e87-96.

Safae-Ardakani, M. R., Hatamian-Zarmi, A., Sadat, S. M., Mokhtari-Hosseini, Z. B., Ebrahimi-Hosseinzadeh, B., Rashidani, J., & Kooshki, H. (2019). Electrospun Schizophyllan/polyvinyl alcohol blend nanofibrous scaffold as potential wound healing. *International journal of biological macromolecules*. 127, e27-38.

Saeedian, K., Shojaosadati, S. A., Zamir, S. M., & Mohammadi, A. (2022). Increasing-Aeration Strategy: a Practical Approach to Enhance the Schizophyllan Production and Improve the Operational Conditions of Schizophyllum commune Cultivation in the Stirred Tank and Bubble Column Bioreactors. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(5), 2284-2300.

SBRT- SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTA TÉCNICA . Potencial hidrogeniônico. p.3 Disponível:<https://www.passeidireto.com/arquivo/97035822/analise-fisico-quimica-shampoo/7>Acesso em : 27 setembro de 2022.

SINGH, Shweta et al. Characterization and development of cultivation technology of wild split gill Schizophyllum commune mushroom in India. *Scientia Horticulturae*, v. 289, p. 110399, 2021.

Schmidt, O., & Liese, W. (1980). Variability of wood degrading enzymes of Schizophyllum commune. *Holzforschung*. 34, e67-72

Schuller, R.; Romanowski, P. Iniciação à química cosmética, São Paulo: Editora Tecnopress, 2002, v 2. p13-14.

Silva, E. M., Silva, A. F., Santos, M. G. M., Costa, C. S., Santos, O. C., & Alves, B. O. (2022). Antioxidantes Naturais: uma abordagem sobre a inserção no mercado cosmético.

Souza, F. A. D., Trufem, S. F. B., Almeida, D. L. D., Silva, E. M. R. D., & Guerra, J. G. M. (1999). Efeito de pré-cultivos sobre o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 34, e1913-1923.



Singh, M. K., Kumar, M., & Thakur, I. S. (2017). Proteomic characterization and schizophyllan production by *Schizophyllum commune* ISTL04 cultured on *Leucaena leucocephala* wood under submerged fermentation. *Bioresource technology*, 236, 29-36.

Shoaib, M., Quadri, S. M. R., Wani, O. B., Bobicki, E., Garrido, G. I., Elkamel, A., & Abdala, A. (2020). Adsorption of enhanced oil recovery polymer, schizophyllan, over carbonate minerals. *Carbohydrate polymers*. 240, e116263.

Traxler, L., Shrestha, J., Richter, M., Krause, K., Schäfer, T., & Kothe, E. (2022). Metal adaptation and transport in hyphae of the wood-rot fungus *Schizophyllum commune*. *Journal of Hazardous Materials*. 425, e127978-127980.

Tortora, G. J. ; Funke, B. R.; Case, C. L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artimed, 2016.  
Ullrich, R. C., Specht, C. A., Stankis, M. M., Yang, H., Giasson, L., & Novotny, C. P. (1991). Molecular biology of mating-type determination in *Schizophyllum commune*. *Genetic engineering*. 3, e279-306.

Tu, L., Fan, Y., Deng, Y., Hu, L., Sun, H., Zheng, B., ... & Zhou, L. (2023). Production and Anti-Inflammatory Performance of PVA Hydrogels Loaded with Curcumin Encapsulated in Octenyl Succinic Anhydride Modified Schizophyllan as Wound Dressings. *Molecules*, 28(3), 1321.

SAFAEE-ARDAKANI, Mohammad Reza et al. In vivo study of beta-glucan-based biogenic synthesis of silver nanocomposite using *Schizophyllum commune* for wound dressings in a rat burn model. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, v. 13, n. 3, p. 035001, 2022.

Vonk, P. J., & Ohm, R. A. (2021). H3K4me2 ChIP-Seq reveals the epigenetic landscape during mushroom formation and novel developmental regulators of *Schizophyllum commune*. *Scientific reports*. 11, e1-15.

Ekowati, N., MUMPUNI, A., RATNANINGTYAS, N. I., & MAHARNING, A. R. (2020). Compounds detection and inhibition activity of chloroform and ethyl acetate extracts of *Schizophyllum commune* on some cancer cell types. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(12).

ARAÚJO, Lidiane Advíncula de. Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo óleos vegetais para proteção e reparação capilar. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Corrêa, A. C. Z., & Pereira, G. S. S. (2022). Formulação e avaliação da estabilidade preliminar de uma máscara capilar com óleo de café torrado.

dos Reis Vieira, N., de Oliveira Vianna, W., & de Almeida, J. F. M. (2020). Controle de qualidade microbiológica de produtos não estéreis/Microbiological quality control in non-sterile products. *Brazilian Journal of Development*, 6(1), 2889-2901.

Oliveira, G. L. D. S. (2015). Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17, 36-44.

Kim, Y. R., Hwang, J., Koh, H. J., Jang, K., Lee, J. D., Choi, J., & Yang, C. S. (2016). The targeted delivery of the c-Src peptide complexed with schizophyllan to macrophages inhibits polymicrobial sepsis and ulcerative colitis in mice. *Biomaterials*, 89, 1-13.

Pirzadeh-Naeni, S., Mozdianfard, M. R., Shojaosadati, S. A., Khorasani, A. C., & Saleh, T. (2020). A comparative study on schizophyllan and chitin nanoparticles for ellagic acid delivery in treating breast cancer. *International journal of biological macromolecules*, 144, 380-388.

Rahilah, A. N., Raha, A. R., & Maizirwan, M. (2012). Cytotoxicity study of Schizophyllum commune extract towards DF-1 cell line. In *4th International Conference on Chemical and Bioprocess Engineering (ICCBPE 2012) in conjunction with 26th Symposium of Malaysian Chemical Engineers*.

Tanamachi, H., Tokunaga, S., Tanji, N., Oguri, M., & Inoue, S. (2010). 18-MEA and hair appearance. *Journal of cosmetic science*, 61(2), 147-160.

Gomes, L. R. M., & Santos, N. S. P. (2021). Qualidade microbiológica de cosméticos industrializados: estudo experimental com bases faciais líquidas.

Firmino, C. R., da Costa, M. C., Andrela, A. L. B., & Soares, V. C. G. (2011). Avaliação da qualidade de bases farmacêuticas manipuladas no município de Jundiaí-SP. *Revista Multidisciplinar da Saúde*, 3(5), 2-14.

Konrad, M. V. (2022). Desenvolvimento de formulação capilar condicionante leave-in contendo óleo de argan, óleo de coco ou óleo de semente de uva.

quantification of fungal biomass using ergosterol autofluorescence. *Talanta*, 219, 121238

Verma, A. S., Agrahari, S., Rastogi, S., & Singh, A. (2011). Biotechnology in the realm of history. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 3, e321-329.

Vieira, G. R. T., Liebl, M., Tavares, L. B. B., Paulert, ., & Smânia Júnior, A. (2008). Submerged culture conditions for the production of mycelial biomasses and antimicrobial metabolites by *Polyporus tricholoma* Mont. *Brazilian Journal of Microbiology*. 39, e561-568.

Visvanathan, S., Krishnamoorthy, R., & Sabesan, G. S. (2022). Fungal Cosmetics: Mushrooms in Beauty Care and the New Age of Natural Cosmetics. In *Applied Mycology*. 2, e1-37.

Wang, B., Yao, M., Lv, L., Ling, Z., & Li, L. (2017). The human microbiota in health and disease. *Engineering*. 3, e71-82.

Wikipedia (2022). Imagem do fungo *S.commune*. Disponível: [https://en.wikipedia.org/wiki/Schizophyllum\\_commune](https://en.wikipedia.org/wiki/Schizophyllum_commune). Acesso em: 21/10/2022

Yang, H., Ma, Y., Zhao, Y., Shen, W., & Chen, X. (2020). Systematic engineering of transport and transcription to boost alkaline  $\alpha$ -amylase production in *Bacillus subtilis*. *Applied microbiology and biotechnology*. 104, e2973-2985.

Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K., & Phillips, G. O. (2013). Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 1, e53-71.

Zhao, S., Gao, Q., Rong, C., Wang, S., Zhao, Z., Liu, Y., & Xu, J. (2020). Immunomodulatory effects of edible and medicinal mushrooms and their bioactive immunoregulatory products. *Journal of Fungi*. 6, e269-272.

Zhong, K., Tong, L., Liu, L., Zhou, X., Liu, X., Zhang, Q., & Zhou, S. (2015). Immunoregulatory and antitumor activity of schizophyllan under ultrasonic treatment. *International journal of biological macromolecules*.80, e302-308.

Zollo, L., Carranza, R., Faraoni, M., Díaz, E., & Martín-Consuegra, D. (2021). What influences consumers' intention to purchase organic personal care products? The role of social reassurance. *Journal of Retailing and Consumer Services*. 60, e102432-102438.