UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

VITOR AUGUSTO DOS SANTOS GARCIA

Desenvolvimento de matrizes poliméricas como veículo de ácido ascórbico: caracterização e avaliação da estabilidade

Pirassununga

2016

VITOR AUGUSTO DOS SANTOS GARCIA

Desenvolvimento de matrizes poliméricas como veículo de ácido ascórbico: caracterização e avaliação da estabilidade

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho

Pirassununga

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

G216d

Garcia, Vitor Augusto dos Santos
Desenvolvimento de matrizes poliméricas como veículo de ácido ascórbico: caracterização e avaliação da estabilidade / Vitor Augusto dos Santos Garcia. – Pirassununga, 2016.
181 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho.

1. Vitamina C 2. Acerola 3. Camu-camu 4. Filmes de desintegração oral. I. Título.

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – o autor”

Aos meus pais, Valdir e Maria Filomena, e aos meus irmãos, Janaina e Rodrigo, por estarem sempre ao meu lado e me apoiarem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, pelo amor e dedicação, meu eterno agradecimento pelos momentos em que estiveram ao meu lado, apoiando-me e fazendo acreditar que nada é impossível.

À minha orientadora Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho, por todos os ensinamentos, paciência, atenção, dedicação, pelas inúmeras conversas e conselhos, pois sem ela o desenvolvimento deste trabalho não seria possível.

Á Equipe do Laboratório Multiusuário por todo os momentos compartilhados durante o desenvolvimento deste trabalho, em especial, a Josiane, Camila e Marcela, que além de colegas de trabalho, se tornaram grandes amigas. Muito obrigado por todos os momentos compartilhados, que ficarão guardados para sempre.

Ah não posso deixar de agradecer as duas pessoas que me receberam em 2012, me ensinaram a produzir o primeiro "Filme de desintegração oral", que compartilharam comigo momentos de alegria e outros não tão alegres assim, Rs. Que sempre me ouviam, aconselhavam, pelas inúmeras caronas, por tudo. Josi e a Camila (Afilhada, Rs) Muito obrigado.

Á Carla, técnica do laboratório, por todo o auxílio e por sempre estar disposta a ajudar.

Á todas os amigos que fiz durante estes anos em Pirassununga, que me receberam de uma forma tão especial, não vou citar nome, pois posso esquecer de alguns, mas tenham certeza todos tem um lugar especial na minha vida. Obrigado pelas viagens inesquecíveis, pelas festas, cervejadas, "Bodeguita", almoços de domingo, enfim todos os momentos que compartilhamos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa de doutorado e pelo apoio financeiro a este projeto (Proc. 2013 / 03143 – 7).

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos pela oportunidade do curso de Doutorado.

Aos membros da banca, pela dedicação e disponibilidade.

Enfim, a todos que fizeram parte de forma direta ou indiretamente, nesta importante etapa da minha vida.

o meu, Muito Obrigado,

Que Deus abençoe fortemente cada um de vocês.

GARCIA, V. A. S. **Desenvolvimento de matrizes poliméricas como veículo de ácido ascórbico: caracterização e avaliação da estabilidade.** 2016. 180 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

A administração de princípios ativos pela mucosa oral é uma forma eficiente para a distribuição de fármacos e nutrientes, oferecendo diversas vantagens como uma fácil aplicação, evitando o metabolismo de primeira passagem hepática e potencialmente melhorando a biodisponibilidade dessas substâncias. A acerola e o camu-camu apresentam uma alta concentração de vitamina C e são consideradas fontes de diferentes compostos ativos, porém a vitamina C presente nas frutas é facilmente oxidada pelos fatores ambientais, e essas frutas são pouco acessíveis ao consumo populacional. Filmes de desintegração oral (FDO) podem apresentar rápido tempo de desintegração e fácil administração, o que os torna um material interessante para a veiculação de compostos com atividades farmacêuticas ou nutricionais. Assim, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização de filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina com adição de extrato seco de acerola e camu-camu produzidos por "spray dryer" como uma alternativa para a administração de vitamina C. Os FDOs foram produzidos pela técnica de casting, variando-se a proporção de amido e gelatina. Como plastificante foi utilizado o sorbitol (20 g / 100 g de polímero), mantendo-se constante a concentração de polímeros (2 g /100 g de solução filmogênica) e de extrato seco de acerola (4 g /100 g de solução filmogênica) e camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica). Os extratos secos de acerola e camu-camu foram caracterizados com relação à concentração da vitamina C e da estabilidade desses extratos nessas condições (30 °C, UR 75 % e 40 °C, UR 75%). Os FDOs foram caracterizados em relação a espessura, propriedades mecânicas, ângulo de contato, FT-IR, microscopia electrônica de varredura, concentração de vitamina C, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana, estabilidade da vitamina C, tempo de desintegração, estabilidade da atividade de eliminação de radicais de DPPH•, avaliação sensorial. Os extratos secos apresentaram uma boa estabilidade em relação à vitamina C e aos compostos antioxidantes (sequestro do radical DPPH•). Os FDOs sem adição de extrato, independente da formulação, mostraram-se homogêneos, com ausência de partículas insolúveis e alta capacidade de formação de filme. Para os FDOs com maior concentração de amido foi observado reduzido tempo de desintegração e pH próximo ao bucal. Após a adição dos extratos, os FDOs apresentaram redução do tempo de desintegração, boa aceitação sensorial, propriedades antioxidantes e estabilidade pelo sequestro do radical

DPPH•. O pH de superfície dos filmes com adição de extrato seco de acerola foi mais próximo ao bucal quando comparado com os filmes com camu-camu. No entanto, os FDOs com acerola apresentaram reduzida estabilidade da vitamina C em relação ao tempo de armazenamento, enquanto que os filmes com camu-camu apresentaram melhor estabilidade. De modo geral, na formulação produzida apenas com amido (100 g de amido / 100 g de polímeros) observou-se uma maior concentração da vitamina C no final da estabilidade realizada à 30 °C e umidade relativa de 75 %, elevada estabilidade dos compostos ativos (DPPH) e alta taxa de uniformidade na distribuição da vitamina C no filme de desintegração oral. Dessa forma, os FDOs podem ser considerados uma boa alternativa para a suplementação de vitamina C.

Palavras-chave: Acerola, camu-camu, filmes de desintegração oral, vitamina C.

GARCIA, V. A. S. **Development of polymeric matrix as ascorbic acid vehicle: characterization and stability evaluation.** 2016. 180 p. Dr. (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

The administration of active ingredients through the oral mucosa is an efficient way to deliver drugs and nutrients because it offers various advantages such as easy application, avoiding the hepatic metabolism of the first pass and potentially improving the bioavailability these substances. Acerola and camu-camu have high concentration of vitamin C and are considered sources of different active compounds, however the vitamin C present in fruits is easily oxidized by environmental factors, and such fruits are poorly accessible to population consumption. Orally disintegrating films (ODF) can provide rapid disintegration and easy administration, which makes them interesting materials to deliver compounds with pharmaceutical or nutritional properties. This work aimed at the development and characterization of orally disintegrating films based on starch and gelatin with addition of acerola and camu-camu dry extract produced by spray dryer as an alternative to vitamin C administration. ODFs were produced with casting technique by varying the ratio of starch and gelatin. Sorbitol (20 g / 100 g polymer) was used as plasticizer, with constant the concentration of polymer (2 g / 100 g filmogenic solution), and dry extracts of acerola and camu-camu (4 g / 100 g filmogenic solution). Acerola and camu-camu dry extracts were characterized regarding vitamin C concentration and stability (30 °C, RH 75% and 40 °C, RH 75%). ODFs were characterized considering thickness, mechanical properties, contact angle, FT-IR, scanning electron microscopy, vitamin C concentration, antioxidant activity, antimicrobial activity, vitamin C stability, disintegration time, stability of the scavenging activity of $DPPH^{\bullet}$ radical, and sensory evaluation. Dry extracts showed good stability for vitamin C and antioxidant compounds (scavenging activity of $DPPH^{\bullet}$ radical). ODFs without extract addition, regardless of the formulation, were homogeneous, without insoluble particles and with high film formation capacity. Reduced disintegration time and pH similar to oral pH was observed for ODFs with high starch concentration. After the addition of extracts, ODFs presented decreased disintegration time and good sensorial acceptation, antioxidant properties and stability of the scavenging activity of $DPPH^{\bullet}$ radical. Surface pH of films with acerola dry extract was the closest to oral pH when compared with films with camu-camu dry extracts. However, ODFs with acerola dry extract showed reduced stability of vitamin C regarding storage time, whereas films with camu-camu dry extract showed better stability. In general,

the formulation produced only with starch (100 g starch / 100 g polymer) presented higher concentration of vitamin C at the end of stability assay performed at 30 °C and 75% relative humidity, as well as high stability of active compounds (DPPH) and high uniformity rate in vitamin C distribution in the orally disintegrating film. Thus, ODFs can be considered a good alternative for the supplementation of vitamin C.

Keywords: Vitamin C, acerola, camu-camu, orally disintegrating films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estágios no desenvolvimento das formas de dosagens sólidas (BALA et al., 2013). 29
Figura 2. Exemplos do camu-camu (a) Fruta (ZANATTA et al., 2005); (b) Fruta inteira (Própria autoria); (c) Corte transversal (Própria autoria). 48
Figura 3. Análises utilizadas para caracterização dos extratos secos de acerola e camu-camu obtidos por "spray dryer". 54
Figura 4. Fluxograma da produção dos filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina (2 g / 100 g de solução filmogênica), com e sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica). 62
Figura 5. Caracterização dos filmes de desintegração oral sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu. 63
Figura 6. Caracterização dos filmes de desintegração oral com e sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu. 64
Figura 7. Sistema utilizado para determinação do tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral: (a) sistema "slide frame" + filme de desintegração oral (sobre placa de Petri) com uma gota de água (200 µL) depositada na superfície e (b) sistema "slide frame" + filme de desintegração oral após a formação do orifício no filme de desintegração oral. 68
Figura 8. Sistema para determinação da mucoadesividade dos FDOs utilizando-se um texturômetro TA.XTPlus (Própria autoria). 70
Figura 9. Provador não treinado avaliando amostras de filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola em relação aos atributos conforto, sabor, sensação e aceitação global usando uma escala hedônica de 9 pontos. 76
Figura 10. Polpas *in natura*, (a) polpa de acerola, (b) polpa de camu-camu. 79
Figura 11. Sólido de cor do sistema Cie Lab. 79
Figura 12. Extratos secos obtidos por spray dryer: (a) extrato seco de acerola e (b) extrato seco de camu-camu. 83
Figura 13. Micrografias do extrato seco obtida por spray dryer com aumento de 500x, sendo: (a) extrato seco de acerola; (b) extrato seco de camu-camu. 86
Figura 14. Dados experimentais e calculados da cinética de degradação da vitamina C em diferentes temperaturas (30 e 40 °C) e umidade relativa de 75 %, sendo (a) extrato seco de acerola e (b) extrato seco de camu-camu. 89

Figura 15. Exemplos de filmes de desintegração oral produzidos com diferentes concentrações de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros): (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 92

Figura 16. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral no tempo de desintegração nos testes *in vitro*. 98

Figura 17. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral no tempo de desintegração avaliado por uma equipe de provadores treinados. 99

Figura 18. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral em contato com a língua após 20 segundos de administração: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 20; (c) C_{amido} = 40; (d) C_{amido} = 60; (e) C_{amido} = 80; (f) C_{amido} = 100. 100

Figura 19. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral no espectro de absorção de infravermelho: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 105

Figura 20. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral nas micrografias: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 107

Figura 21. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral nas micrografias de superfície interna: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 108

Figura 22. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) nos filmes de desintegração oral e diferentes concentrações de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros), mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100g de amido + gelatina): (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 111

Figura 23. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) nos filmes de desintegração oral e diferentes concentrações de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros), mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100g de amido + gelatina): (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 112

Figura 24. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido no tempo de desintegração *in vivo.* 123

Figura 25. Efeito da adição de extrato seco de acerola nos filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) no espectro de absorção de infravermelho: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100..... 127

Figura 26. Efeito da adição de extrato seco de camu-camu nos filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) no espectro de absorção de infravermelho: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100..... 128

Figura 27. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nas micrografias: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100..... 130

Figura 28. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nas micrografias: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 131

Figura 29. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na micrografia eletrônica da superfície interna: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 133

Figura 30. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na micrografia eletrônica da superfície interna: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100. 134

Figura 31. Exemplo do efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Cândida albicans*: (F1) C_{amido} = 0; (F5) C_{amido} = 40; (F7) C_{amido} = 60; (F9) C_{amido} = 80; (F10) C_{amido} = 90; (C-) Controle negativo. 135

Figura 32. Exemplo do efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*: (1) C_{amido} = 0; (2) C_{amido} = 10; (3) C_{amido} = 20; (6) C_{amido} = 50. 136

Figura 33. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Cândida albicans*: (1) C_{amido} = 0; (2) C_{amido} = 10; (3) C_{amido} = 20; (4) C_{amido} = 30; (8) C_{amido} = 70; (9) C_{amido} = 80; (10) C_{amido} = 90; (11) C_{amido} = 100. 137

Figura 34. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*: (1) C_{amido} = 0; (2) C_{amido} = 10; (3) C_{amido} = 20; (4) C_{amido} = 30; (5) C_{amido} = 40; (6) C_{amido} = 50; (7) C_{amido} = 60; (8) C_{amido} = 70; (9) C_{amido} = 80; (10) C_{amido} = 90; (11) C_{amido} = 100. 137

Figura 35. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral na avaliação sensorial em relação aos atributos (a) Conforto; (b) Sabor; (c) Sensação; (d) Aceitação global. 140

Figura 36. Histograma entre o número de consumidores e as notas obtidas em relação a incorporação de extrato seco de acerola e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) avaliando o atributo de aceitação global. (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 20; (c) C_{amido} = 40; (d) C_{amido} = 60; (e) C_{amido} = 80; (f) C_{amido} = 100. 141

Figura 37. Histograma entre o número de consumidores e as notas obtidas em relação a incorporação de extrato seco de camu-camu e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) avaliando o atributo de aceitação global. (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 20; (c) C_{amido} = 40; (d) C_{amido} = 60; (e) C_{amido} = 80; (f) C_{amido} = 100. 142

Figura 38. Avaliação da capacidade de sequestro do radical DPPH• (%) em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido: (a) 0; (b) 20; (c) 40; (d) 60; (e) 80; (f) 100 g / 100 g de polímeros. 146
Figura 39. Avaliação da capacidade de sequestro do radical DPPH• (%) em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido: (a) 0; (b) 20; (c) 40; (d) 60; (e) 80; (f) 100 g / 100 g de polímeros. 147
Figura 40. Avaliação da estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido. 149
Figura 41. Avaliação da estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido. 151
Figura 42. Avaliação da estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido. 155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos filmes de desintegração oral classificados em: liberação rápida, liberação mucoadesiva e mucoadesivo de liberação controlada. 30
Tabela 2. Principais componentes utilizados na produção dos filmes de desintegração oral. 33
Tabela 3. Exemplos de plastificantes utilizados para produção de filmes de desintegração oral. 34
Tabela 4. Exemplos de polímeros utilizados para produção de filmes de desintegração oral. 36
Tabela 5. Exemplos de polímeros utilizados para produção de filmes de desintegração oral. 38
Tabela 6. Exemplos de moléculas de fármacos e das quantidades incorporadas em filmes de desintegração oral (FDO). 40
Tabela 7. Exemplos de princípios ativos incorporados em filmes de desintegração oral (FDO). 41
Tabela 8. Patentes relacionadas com o desenvolvimento de filmes de desintegração oral..... 42
Tabela 9. Ingestão de nutrientes recomendados (INR) de vitamina C em função dos grupos populacionais. 45
Tabela 10. Concentração de vitamina C na polpa de acerola produzida com frutos em diferentes estágios de maturação ou polpas comerciais. 47
Tabela 11. Concentração de vitamina C na polpa de camu-camu produzida com frutos em diferentes estágios de maturação ou polpas comerciais. 49
Tabela 12. Parâmetros estabelecidos para a avaliação visual dos filmes de desintegração oral. 65
Tabela 13. Concentração de vitamina C ($C_{vitamina\ C}$), e luminosidade (L*), croma a* (a*) e croma b* (b*) da polpa de acerola e camu-camu. 78
Tabela 14. Concentração de vitamina C ($C_{vitamina\ C}$), higroscopicidade, atividade de água, umidade, luminosidade (L*), croma a* (a*) e croma b* (b*) do extrato seco de acerola e camu-camu obtido por spray dryer. 81
Tabela 15. Atividade antioxidante do extrato seco de acerola e camu-camu avaliado pelos métodos de radicais $ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e FRAP..... 84
Tabela 16. Coeficiente de correlação do extrato seco de acerola e camu-camu entre a concentração de vitamina C e atividade antioxidante ($ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e FRAP) 85
Tabela 17. Taxa de degradação do extrato seco de acerola e camu-camu armazenado em diferentes temperaturas e umidade relativa de 75%. 90

Tabela 18. Avaliação visual dos filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros). 91
Tabela 19. Efeito do aumento da concentração de amido nos filmes de desintegração oral na luminosidade (L*), croma a* (a*), croma b* (b*) e opacidade. 93
Tabela 20. Efeito do aumento da concentração de amido nos filmes de desintegração oral na espessura, tensão na ruptura (TR), elongação (E) e módulo elástico (ME). 95
Tabela 21. Efeito do aumento da concentração de amido dos filmes de desintegração oral no valor do ângulo de contato e pH de superfície. 96
Tabela 22. Efeito do aumento da concentração de amido nos filmes de desintegração oral na mucoadesividade. 102
Tabela 23. Avaliação visual dos filmes de desintegração com incorporação de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e/ou camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido. 109
Tabela 24. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e diferentes concentrações de amido na luminosidade (L*), croma a* (a*), croma b* (b*) e opacidade. 114
Tabela 25. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na luminosidade (L*), croma a* (a*), croma b* (b*) e opacidade. 115
Tabela 26. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na espessura, tensão na ruptura (TR), elongação (E) e módulo elástico (ME). 116
Tabela 27. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na espessura, tensão na ruptura (TR), elongação (E) e módulo elástico (ME). 117
Tabela 28. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido no ângulo de contato (AC) e pH de superfície. 119
Tabela 29. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido no tempo de desintegração *in vitro*. 121

Tabela 30. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na mucoadesividade. 124
Tabela 31. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu na atividade antimicrobiana contra *Cândida albicans* e *Streptococcus mutans* dos filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido. 138
Tabela 32. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu na em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido na atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ e poder redutor do ferro (FRAP). 143
Tabela 33. Valores de aceitação das doses unitárias dos filmes de desintegração com adição de extrato seco de acerola e camu-camu para a formulação com 100% de amido..... 154

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 24

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 28

2.1 Filmes de desintegração oral (FDO) 28

2.1.1 Produção e composição dos filmes de desintegração oral 31

2.1.2 Polímeros utilizados para produção dos filmes de desintegração oral 36

2.1.3. Princípios ativos utilizados para incorporação em FDO 40

2.2 Fontes naturais de vitamina C 43

2.2.1 Frutas como fontes de vitamina C 45

2.2.1.1 Acerola 46

2.2.1.2 Camu-camu 48

3. MATERIAL E MÉTODOS 51

3.1 Material 51

3.2 Caracterização da polpa 51

3.2.1 Determinação da concentração de vitamina C 51

3.2.2 Parâmetros de cor 52

3.3 Produção do extrato seco 52

3.4. Caracterização do extrato seco 55

3.4.1 Determinação da concentração de vitamina C 55

3.4.2 Higroscopicidade 55

3.4.3 Atividade de água 56

3.4.4 Umidade 56

3.4.5 Parâmetros de cor 56

3.4.6 Atividade antioxidante dos extratos 57

3.4.6.1 Determinação da capacidade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ 57

3.4.6.2 Determinação da capacidade antioxidante pelo método radical livre DPPH• 57

3.4.6.3 Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) 58

3.4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 59

3.4.8 Estabilidade do extrato seco de acerola e camu-camu.....59

3.5 Produção dos filmes de desintegração oral (FDO).....60

3.6 Caracterização dos filmes de desintegração oral.....63

3.6.1 Avaliação visual 65

3.6.2 Espessura.....65

3.6.3 Parâmetros de cor e opacidade 65

3.6.4 Propriedades mecânicas 66

3.6.5 Ângulo de Contato.....66

3.6.6 pH de superfície.....67

3.6.7 Determinação do tempo de desintegração dos FDOs 67

3.6.7.1 Tempo de desintegração *in vitro* 67

3.6.7.2 Tempo de desintegração *in vivo* 68

3.6.8 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 69

3.6.9 Mucoadesividade dos filmes de desintegração oral.....69

3.6.10 Atividade antimicrobiana 71

3.6.11 Uniformidade da vitamina C dos filmes de desintegração oral.....71

3.7 Atividade antioxidante dos filmes de desintegração oral incorporados com extrato seco de acerola e camu-camu.....72

3.7.1 Determinação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre ABTS•+ 72

3.7.2 Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro - FRAP 72

3.8 Avaliação da estabilidade dos filmes de desintegração oral em relação à atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH• 73

3.9 Estabilidade da vitamina C nos filmes de desintegração oral.....74

3.10 Avaliação sensorial.....75

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 77

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE ACEROLA E CAMU-CAMU 77

4.1.1 Concentração de vitamina C e parâmetros de cor 77

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO DE ACEROLA E CAMU-CAMU ..80

4.2.1 Concentração de vitamina C, higroscopicidade, atividade de água e parâmetros de cor 80

4.2.2 Atividade antioxidante do Extrato seco de acerola avaliado pelo sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e pelo poder de redução do ferro (FRAP) 83

4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura 86

4.2.4 Estabilidade da vitamina C no extrato seco de acerola e camu-camu 87

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE DESINTEGRAÇÃO ORAL 91

4.3.1 Avaliação visual 91

4.3.2 Cor e Opacidade 92

4.3.3 Propriedades mecânicas 94

4.3.4 Ângulo de contato e pH de superfície dos FDO 96

4.3.5 Determinação do tempo de desintegração dos FDOs 97

4.3.5.1 Tempo de desintegração *In vitro* 97

4.3.5.2 Tempo de desintegração *In vivo* 98

4.3.6 Mucoadesividade dos FDOs 101

4.3.7 Espectroscopia de infravermelho (FT-IR) 103

4.3.8 Microscopia eletrônica de varredura 106

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE DESINTEGRAÇÃO ORAL COM ADIÇÃO DE EXTRATO SECO DE ACEROLA E CAMU-CAMU 109

4.4.1 Avaliação visual 109

4.4.2 Parâmetros de cor e opacidade dos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 113

4.4.3 Propriedades mecânicas dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 116

4.4.4 Ângulo de contato e pH de superfície dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 118

4.4.5 Determinação do tempo de desintegração dos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 120

4.4.5.1 Tempo de desintegração *In vitro* 120

4.4.5.2 Tempo de desintegração *In vivo* 122

4.4.6 Mucuadesividade dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu123

4.4.7 Espectroscopia de infravermelho (FT-IR) 125

4.4.8 Microscopia eletrônica de varredura 129

4.4.9 Atividade antimicrobiana 135

4.5 Avaliação sensorial, atividade antioxidante e estabilidade dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 139

4.5.1 Avaliação sensorial dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu139

4.5.2 Atividade antioxidante dos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu pelo método do sequestro do radical $ABTS^{\bullet+}$ e redução do ferro (FRAP). 143

4.5.3 Avaliação da estabilidade dos Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu em função da capacidade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH• 145

4.5.4 Avaliação da estabilidade dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu em função da Vitamina C 148

4.6 Otimização dos filmes de desintegração oral incorporados com extrato seco de acerola e camu-camu à base de amido e gelatina 153

4.6.1 Uniformidade da vitamina C nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 153

4.6.2 Estabilidade da vitamina C nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu 154

5. CONCLUSÕES 156

6. REFERÊNCIAS 158

7. ANEXOS 176

7.1 Parecer consubstanciado do CEP – Aprovação para realização da Análise sensorial176

7.2 Modelo de Ficha (escala não estruturada) utilizada para treinamento da equipe para avaliação do tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral.....178

7.3 Modelo da Ficha utilizado na análise sensorial dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola 179

7.4 Modelo da Ficha utilizado na análise sensorial dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu 180

1 INTRODUÇÃO

A administração oral é a rota mais popular devido à facilidade de ingestão, à ausência de sintomas de dor, à versatilidade (para acomodar vários tipos de drogas), e mais importante ainda, à aceitação do paciente (PATEL et al., 2010). Muitas dosagens farmacêuticas são administradas utilizando-se dosagens sólidas, como comprimidos e cápsulas, que geralmente são consumidas intactas ou mastigadas, por garantirem uma dosagem precisa aos pacientes (NAGARAJU et al., 2013). Além disso, os comprimidos e cápsulas geralmente são capazes de reter as suas formas sob uma pressão moderada (NAGARAJU et al., 2013).

Entretanto, alguns pacientes apresentam dificuldades para ingerir medicamentos de dosagens sólidas, principalmente no caso de pacientes pediátricos e geriátricos, devido ao medo de asfixia, ou por sofrerem de disfagia (PATEL et al., 2010). SEAGER et al. (1997) também reportam dificuldade na utilização de medicamentos de dosagens sólidas para pacientes acamados e pessoas ativas, que estão ocupadas ou viajando, especialmente aqueles que não têm acesso à água (SEAGER et al., 1997).

Como alternativa para a administração de medicamentos, o desenvolvimento de filmes de desintegração oral (FDO) está sendo estudado, pois apresentam rápido tempo de desintegração (SIDDIQUI; GARG; SHARMA, 2011). Adicionalmente, os filmes de desintegração oral apresentam uma maior área superficial e desintegram-se com mais facilidade na cavidade oral, disponibilizando o princípio ativo de forma mais eficiente; e, como a mucosa bucal é altamente vascularizada, o composto ativo pode ser absorvido diretamente na circulação sistêmica, sem sofrer metabolismo de primeira passagem hepática (KAREN et al., 2012).

De acordo com Saini et al. (2012), na produção dos filmes de desintegração oral são utilizados polímeros, plastificantes, compostos ativos, além de agente estimulante de saliva,

surfactante, edulcorante e sabor. Dentro os principais polímeros utilizados na produção de filmes de desintegração oral, podemos destacar: quitosana e eudragit (PERUMAL et al., 2008), carboximetilcelulose e hidroxi metil celulose (GARSUCH; BREITKREUTZ, 2010), pululana (MURATA et al., 2010), maltodextrina (CILURSO et al., 2011), amido (LIEW; TAN; PEH, 2012), polivinilpirrolidona (KUMAR et al., 2014), gelatina (BORGES et al., 2015), e álcool polivinílico (CHAVALA et al., 2015). Os polímeros utilizados na produção de filmes de desintegração oral podem ser utilizados isolados ou na forma de blendas; note-se que as concentrações utilizadas é um fator importante na produção dos filmes de desintegração oral (IRFAN et al., 2015).

O amido e a gelatina, polímeros naturais, são amplamente utilizados nas indústrias farmacêutica e alimentícia e apresentam propriedade filme-formadora, o que permite sua utilização no desenvolvimento de filmes de desintegração oral.

Nos filmes de desintegração oral podem ser incorporadas diversas classes de compostos ativos, incluindo: anti-inflamatório piroxican (CILURZO et al., 2008), anti-hipertensivo indometacina (GAISFORD et al., 2009), anti-hipertensivo cloridrato de diltiazem (MOHAMED, HAIDER e ALI, 2011), anti-hiperglicémico glibenclamida (MUZIBI et al., 2013), antidiabético cloridrato de metformina (HAQUE e SHEELA, 2015), anti-histamínico fluoxetina (CHAVALA et al., 2015), anti-inflamatório prednisolona (BRNIAK et al., 2015) entre outros. A maioria dos trabalhos disponíveis na literatura reportam a incorporação de compostos ativos sintéticos.

A utilização de compostos ativos naturais em filmes de desintegração oral é incipiente, entretanto podemos destacar a incorporação de extrato de própolis (JULIANO et al., 2007), extrato isolado da raíz de ginseng (WATANABE et al., 2009), extrato alcoólico de gengibre (DAUD, BONDE e SAPKAL, 2011) e extrato etanólico de própolis (BORGES et al., 2015). Desta forma a utilização de recursos naturais como fonte de compostos com

atividades funcionais para adição de filmes de desintegração oral consiste em uma área importante a ser estudada.

A vitamina C é um nutriente essencial para os seres humanos (JAFFE, 1984), entretanto, essa vitamina não pode ser sintetizada pelo corpo humano, devido à ausência da enzima L-gulonolactona oxidase (WOODALL et al., 1997). Uma vez que a vitamina C não pode ser sintetizada, nem armazenada no corpo humano, quantidades adequadas devem ser fornecidas pela dieta (BENDICH et al., 1997). De acordo com a FAO/WHO (2001), o índice de ingestão diária de vitamina C necessária para garantir o funcionamento adequado do organismo é de 45 mg / dia para adultos.

A acerola (*Malpighia emarginata*) e o camu-camu (*Myrciaria dúbia*), são frutas brasileiras consideradas fontes de vitamina C e de outros compostos (BRITO et al., 2007; CHIRINOS et al., 2010) que trazem benefícios para a saúde. Diversos trabalhos na literatura reportam a concentração elevada de vitamina C na acerola (BRITO et al., 2007; MÜLLER et al., 2010; RUFINO et al., 2010; MERCALI et al., 2012; LEFFA et al., 2013; HUANG et al., 2014) e no camu-camu (GENOVESE; PINTO; GONÇALVES, 2008; CHIRINOS et al., 2010; RUFINO et al., 2010; VIDIGAL et al., 2011).

Essa vitamina é amplamente utilizada nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêutica, podendo auxiliar na formação do colágeno (NAIDU et al., 2003), na absorção do ferro (BENDICH et al., 1990) e na síntese de carnitina (HULSE et al., 1997). Entretanto ela é instável, podendo ser facilmente degradada por fatores ambientais, como temperatura, oxigênio, luz, umidade e pH (ABBAS et al., 2012). De acordo com Han et al. (2012) a instabilidade da vitamina C reduz diretamente sua atividade biológica, o que limita sua aplicação.

A utilização de filmes de desintegração oral como veículo para estes compostos é uma alternativa promissora para contornar as limitações descritas acima, pois a incorporação

na matriz polimérica pode aumentar a estabilidade destes compostos, mantendo suas propriedades funcionais. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina como veículo para a vitamina C, com a incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu obtidos por spray dryer.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

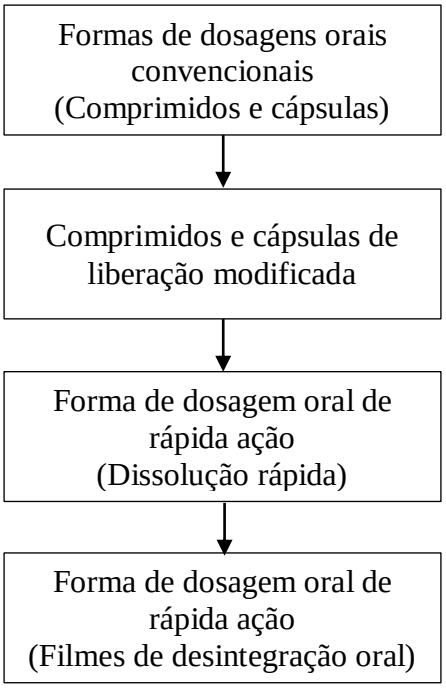
2.1 Filmes de desintegração oral (FDO)

Nas últimas décadas houve uma crescente busca por formas de dosagem mais acessíveis (PATEL et al., 2010). Dentre as formas de administração de medicamentos, a que se serve da mucosa oral é a mais aceitável e conveniente para os pacientes, e muitas empresas farmacêuticas têm dirigido a sua atividade de investigação na reformulação de medicamentos existentes, em novas formas farmacêuticas (DIXIT; PUTHLI, 2009).

A mucosa oral é altamente vascularizada e apresenta uma elevada permeabilidade, sendo que os fármacos podem ser absorvidos diretamente e entrar na circulação sistêmica sem sofrer metabolismo de primeira passagem hepática (KAREN et al., 2012). O metabolismo de primeira passagem consiste na penetração do fármaco no fígado através da veia porta, onde ocorre uma biotransformação, o que diminui o efeito real do fármaco devido à redução de biodisponibilidade (SCHAFFN, 1975). Adicionalmente, a cavidade oral apresenta uma grande área de superfície e, devido à absorção pré-gástrica, a biodisponibilidade do fármaco é maior e, consequentemente, menos doses são necessárias (SAINI et al., 2012).

De acordo com Khatoon et al. (2013) cerca de 60 % das formas de dosagens orais disponíveis são sólidas. No entanto, muitos pacientes possuem dificuldade de deglutir comprimidos e cápsulas, dessa forma, novas formas farmacêuticas se fazem necessárias. De acordo com Bala et al. (2013), os estágios de evolução das formas de dosagens sólidas podem ser classificados como apresentado na Figura 1.

Figura 1. Estágios no desenvolvimento das formas de dosagens sólidas (BALA et al., 2013).



Filmes de desintegração foram produzidos pela primeira vez em 1970, como alternativa para comprimidos e cápsulas (PATEL et al., 2010). Em relação a outras formulações orais, os filmes de desintegração oral apresentam algumas vantagens, tais como, tamanho e espessura reduzida, disponibilidade de área superficial maior e facilidade de engolir. Além disso, os fármacos podem ser absorvidos imediatamente e podem entrar na circulação sistêmica sem sofrer metabolismo de primeira passagem hepática (KALYAN; BANSAL, 2012). De acordo com Arya et al. (2010) o filme de desintegração oral deve apresentar uma espessura fina, com uma área de 5 a 20 cm^2 contendo um ingrediente ativo. e a composição dos filmes deve ser constituída por um polímero solúvel em água, e plastificantes.

De acordo com Bala et al. (2013), os filmes de desintegração oral apresentam rápido tempo de desintegração, sendo indicados para pacientes pediátricos e geriátricos, e também propiciam uma maior facilidade ao paciente, principalmente por se desintegrarem na boca

sem a necessidade concomitante de qualquer líquido. Aliás, a biodisponibilidade de alguns fármacos pode aumentar devido à absorção pré-gástrica na cavidade oral.

Jyoti et al. (2011) relataram que os filmes de desintegração oral podem ser classificados como filmes de desintegração oral de liberação rápida, mucoadesiva e controlada. As principais características desta classificação podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos filmes de desintegração oral classificados em: liberação rápida, liberação mucoadesiva e mucoadesivo de liberação controlada.

Propriedades	**Características dos FDOs**		
	FDOs de liberação rápida	**FDOs de liberação mucoadesiva**	**FDOs mucoadesivo de liberação controlada**
Área (cm^2)	2 – 8	2 – 7	2 – 4
Espessura (µm)	20 – 70	50 – 500	20 – 250
Estrutura	Camada única	Camada única / multicamada	Multicamada
Excipientes	Polímeros hidrofílicos de alta solubilidade	Polímeros hidrofílicos solúveis	Polímeros de baixa solubilidade / insolúveis
Fase do fármaco	Solução sólida	Solução sólida ou partículas do fármaco em suspensão	Solução sólida e/ou suspenção
Aplicação	Língua (palato superior)	Gengival ou região bucal	Gengival (outra região da cavidade oral)
Tempo de desintegração	Inferior a 60 segundos	Em alguns minutos	Máximo de 8 – 10 h
Local da ação	Sistêmica ou local	Sistêmica ou local	Sistêmica ou local

Fonte: Jyoti et al. (2011)

Sayed et al. (2013) produziram filmes de desintegração oral à base de alginato, hidroxipropilmetil celulose, carboximetilcelulose de sódio, goma xantana, carbopol, polivinilpirrolidona e maltodextrina com adição de sulfato de terbutalina, com o objetivo de

melhorar a biodisponibilidade do fármaco e a aceitação do paciente, auxiliando assim nos ataques de asma. Os autores relataram que os filmes de desintegração oral produzidos a partir das diferentes macromoléculas e incorporados com sulfato de terbutalina são uma forma de dosagem eficiente para administração de fármacos utilizados nos episódios agudos de asma.

Haque e Sheela (2015) desenvolveram filmes de desintegração oral com a incorporação de cloridrato de metamorfina à base de quitosona com diferentes concentrações de celulose microcristalina, amido e glicolato de amido sódico para auxiliar no processo de desintegração, e relataram que os filmes de desintegração oral produzidos indicaram um grande potencial em razão da rápida dissolução e disponibilidade do fármaco, pois isso facilitou a liberação imediata de metamorfina e manteve a dose terapêutica da droga administrada através da mucosa bucal.

2.1.1 Produção e composição dos filmes de desintegração oral

Os métodos mais utilizados para a produção dos filmes de desintegração oral são extrusão e *casting.*

No processo de extrusão, o polímero e outros ingredientes são misturados no estado seco, submetidos a um processo de aquecimento e, em seguida, são extrusados. Neste processo, os solventes são completamente eliminados (DIXIT; PUTHLI, 2009). A produção de filmes de desintegração oral pelo processo de extrusão é pouco reportada na literatura, no entanto apresentam algumas características como melhor uniformidade de conteúdo fármaco e unidades operacionais reduzidas (ARYA et al., 2010).

Pimparade et al. (2015) avaliaram a utilização da técnica de extrusão na produção de filmes de desintegração oral à base de etilcelulose com incorporação de citrato de cafeína, e relataram que os filmes de desintegração produzidos pelo processo de extrusão apresentaram

uma alta capacidade filme-formadora, além da incorporação do composto ativo de forma eficiente.

A técnica de *casting* consiste na mistura de polímeros e fármacos (compostos ativos), solúveis em água, e, após a agitação com solvente, ocorre a formação da solução filmogênica que é aplicada em placas de acrílico, para que ocorra a evaporação do solvente (ARYA et al., 2010). Diversos trabalhos disponíveis na literatura reportam a utilização da técnica de *casting* para a produção de filmes de desintegração oral (REPKA et al., 2005; CILURZO et al., 2008; GHORWADE et al., 2011; SAPKAL et al., 2011; MANHAR et al., 2013; JANßEN et al., 2013; MUZIBI et al., 2013; SAYED et al., 2013; MARQUES et al., 2014; BORGES et al., 2015; CHAVALA et al., 2015; ZHANG et al., 2015)

Cilurzo et al. (2008) compararam o processo de produção de filmes de desintegração oral à base de maltodextrina incorporados com piroxicam por diferentes técnicas (extrusão a quente e *casting*) e relataram que o *casting* foi considerada a técnica mais confiável para a produção de filmes de desintegração oral, além de apresentarem maior aceitação pelos pacientes e reduzido tempo de desintegração.

Sapkal et al. (2011) produziram filmes de desintegração oral à base de hidropropil metilcelulose, tween 80 e propilenoglicol, em formulações com diferentes concentrações de cada um dos compostos, e relataram que a técnica de *casting* foi eficiente no processo de produção, independente da formulação.

De modo geral, para a produção de filmes de desintegração oral são utilizados polímeros, plastificantes e compostos ativos, que podem ser origem natural ou sintética, além de outros ingredientes como agente estimulante de saliva, surfactante, edulcorante e sabor (SAINI et al., 2012), como podemos observar na Tabela 2.

Tabela 2. Principais componentes utilizados na produção dos filmes de desintegração oral.

Ingrediente	Concentração
Composto ativo	5 – 30 %
Polímero solúvel em água	45 %
Plastificante	0 – 20 %
Agente estimulante de saliva	2 – 6 %
Surfactante	q.s.*
Agentes adoçantes	3 – 6 %
Sabor, Cor	q.s.*

Nota: *quantidade suficiente. Fonte: Saini et al. (2012).

De acordo com Patel et al. (2010), outros ingredientes devem ser incorporados aos filmes de desintegração oral em quantidades reduzidas para atribuir as propriedades desejadas aos filmes de desintegração oral.

Os plastificantes são considerados ingredientes de vital importância para a produção dos filmes de desintegração oral, melhorando a flexibilidade e reduzindo a fragilidade dos filmes de desintegração oral (PATEL et al., 2010). A seleção do tipo de plastificante utilizado nos filmes de desintegração oral vai depender da compatibilidade com o polímero e o tipo de solvente utilizado (PATEL et al., 2010).

De acordo com Dixit et al. (2009), o plastificante deve conferir flexibilidade permanente aos filmes de desintegração oral, e isso depende da natureza volátil do plastificante e do tipo de interação com o polímero. Dentre os tipos de plastificantes selecionados para produção dos filmes de desintegração oral, o glicerol e o polietilenoglicol são os mais utilizados (Tabela 3).

Tabela 3. Exemplos de plastificantes utilizados para produção de filmes de desintegração oral.

Plastificante	Fonte
Glicerol, propilenoglicol, polietilenoglicol	Cilurzo et al. (2008)
Propanolol	Perumal et al. (2008)
Polietilenoglicol	Shimoda et al. (2009)
Glicerol, Sorbitol	Cilurzo et al. (2011)
Polietilenoglicol	Daud et al. (2011)
Polietilenoglicol,	Ghorwade et al. (2011)
Glicerol	Raju et al. (2011)
Polietilenoglicol	Sapkal et al. (2011)
Polietilenoglicol	Liew et al. (2012)
Glicerol	Preis et al. (2012)
Glicerol	Janßen et al. (2013)
Propilenoglicol	Muzibi et al. (2013)
Polietilenoglicol	Sayed et al. (2013)
Sorbitol	Borges et al. (2015)
Polietilenoglicol, glicerol	Brniak et al. (2015)
Álcool polivinílico	Chevala et al. (2015)
Glicerol	Haque e Sheela (2015)
Glicerol	Senthil et al. (2015)
Propilenoglicol, sorbitol	Zhang et al. (2015)

Fonte: Própria autoria.

Os agentes estimulantes de saliva geralmente são de natureza ácida, para estimular a produção de saliva na cavidade oral e promover a desintegração dos filmes de desintegração oral (IRFAN et al., 2015). Geralmente o ácido cítrico, o ácido málico, o ácido ascórbico e o ácido tartárico são considerados agentes estimulantes de saliva, podendo ser utilizados isoladamente ou em combinação (DIXIT; PUTHLI, 2009). Os trabalhos disponíveis na literatura reportam principalmente a utilização do ácido cítrico como agente estimulante de saliva (CILURZO et al., 2011; GHORWADE et al., 2011; RAJU et al., 2011; SENTHIL et al., 2015).

Os surfactantes são utilizados como agentes auxiliadores no processo de desintegração dos filmes, de modo que os FDOs apresentem um reduzido tempo de

desintegração e rápida liberação do composto ativo (ARYA et al., 2010). Entre os mais utilizados, podemos destacar o sulfato de laurilo e sódio, cloreto de benzalcónio, cloreto de benzethonium e tweens (ARYA et al., 2010).

Os agentes adoçantes adicionados na produção de filmes de desintegração oral são importantes principalmente para a população pediátrica (DIXIT; PUTHLI, 2009). De acordo com Irfan et al. (2015) os agentes adoçantes podem ser de origem natural, como a glucose, a frutose, adextrose, asacarose e a isomaltose, ou de origem sintética como o acesulfame-k, a sucralose e o neotame. Uma desvantagem na utilização de adoçantes sintéticos é o gosto residual após a administração dos filmes de desintegração oral; esse efeito pode ser minimizado pela mistura com agentes adoçantes naturais (DIXIT; PUTHLI, 2009).

Cilurzo et al. (2011) desenvolveram filmes de desintegração oral de maltodextrina com a adição de diclofenaco de sódio, utilizando-se agentes com uma mistura de sucralose, sacarina e xilitol, e ainda hortelã e alcaçuz, para mascarar o sabor desagradável do composto ativo. Estes autores verificaram que a adição destes agentes minimizou o sabor amargo do diclofenaco de sódio.

De acordo com Ifan et al. (2015), os pigmentos são utilizados como agentes de cor nos filmes de desintegração oral. Preis et al. (2012) relataram a utilização do agente de cor vermelha (E 124) em filmes de desintegração oral à base de amido modificado de ervilha, plastificados com glicerol.

Chevala et al. (2015) avaliaram a produção de FDOs a base de álcool polivinílico ativados com fluoxetina, e reportaram que a adição de agentes aromatizantes e edulcorantes, como mentol e manitol, ajudaram na aceitação dos FDOs pelos pacientes.

2.1.2 Polímeros utilizados para produção dos filmes de desintegração oral

Existe uma variedade de polímeros utilizados para a produção de filmes de desintegração oral (FDOs), que podem ser utilizados sozinhos ou na forma de blendas, de acordo com as propriedades desejadas (DIXIT; PUTHLI, 2009).

A produção de filmes de desintegração oral inclui vários ingredientes, mas o polímero é o principal, pois ajuda na formação dos filmes (NAGAR, CHAUHAN e YASIR, 2011). Os polímeros podem ser de origem natural, como pululano, amido, gelatina, pectina, alginato de sódio, maltodextrina, ou de origem sintética, como carboximetil celulose, hidroxipropilmetil celulose, hidroxipropil celulose, álcool polivinílico e etil celulose, entre outros (BALA et al., 2013). De acordo com Saini et al. (2012), os polímeros naturais são seguros, eficazes e desprovidos de efeitos colaterais.

Dixit e Puthli (2009) relataram algumas características dos polímeros utilizados para o desenvolvimento de filmes de desintegração oral como: devem ser desprovidos de impurezas, baratos e facilmente disponíveis; não podem ser tóxicos nem irritantes, não devem ser amargos, nem um obstáculo no tempo de desintegração, e não devem causar infecção secundária na cavidade oral. A Tabela 4 apresenta algumas características dos principais polímeros utilizados na produção de filmes de desintegração oral.

Tabela 4. Exemplos de polímeros utilizados para produção de filmes de desintegração oral.

Polímeros	Solubilidade em água	pH
Hidroxipropil celulose	Solúvel	5 – 8
Hidropropilmetil celulose	Solúvel em água gelada	5 – 8
Álcool polivinílico	Facilmente solúvel	5 – 8
Pululano	Facilmente solúvel	5 – 7
Pectina	Solúvel	6 – 7,2
Gelatina	Inchamento em água e amolecimento	3,8 – 6
Maltodextrina	Inchamento em água e amolecimento	4 – 7

Fonte: Bala et al. (2013)

De acordo com Kumar et al. (2010) os polímeros hidrofílicos são muito utilizados na produção de filmes de desintegração oral, pois se desintegram rapidamente e os compostos incorporados são liberados na cavidade oral quando entram em contato com a saliva. Na Tabela 5 podem-se observar os principais polímeros utilizados para a produção de filmes de desintegração oral.

Tabela 5. Exemplos de polímeros utilizados para produção de filmes de desintegração oral.

Polímeros	Fonte
Polivinilpirrolidona, povidona polivinilpirrolidona	Ali et al. (2007)
Maltodextrina	Cilurzo et al. (2008)
Eudragit, quitosana	Perumal et al. (2008)
Celulose microcristalina, hidroxipropil celulose, hidroxipropil metilcelulose	Shimoda et al. (2009)
Polivinilpirrolidona	Gaisford et al. (2009)
Pululano, acetato de polivinila, álcool polivinílico, gelatina, eudragit, goma guar, goma xantana, goma carragena	Kulkarni et al. (2010)
Pululano	Murata et al. (2010)
Maltodextrina	Cilurzo et al. (2011)
Maltodextrina, pululano, hidropropilmetil celulose, álcool polivinílico	Daud et al. (2011)
Carboximetil celulose, hidropropilmetil celulose	Raju et al. (2011)
Hidropropilmetil celulose	Sapkal et al. (2011)
Gelatina, quitosana	Abruzzo et al. (2012)
Hidropropilmetil celulose, amido de milho	Liew et al. (2012)
Amido de ervilha modificado	Preis et al. (2012)
Hidroxipropilmetil celulose	Janßen et al. (2013)
Hidropropilmetil celulose, carboximetil celulose	Muzibi et al. (2013)
Alginato, hidroxipropilmetil celulose, carboximetilcelulose de sódio, goma xantana, carbopol, polivinilpirrolidona, maltodextrina	Sayed et al. (2013)
Gelatina	Borges et al. (2015)
Eudragit, hidroxipropilmetil celulose	Brniak et al. (2015)
Quitosana	Souza et al. (2015)
Hidroxipropilmetil celulose, croscarmelose sódica	Zhang et al. (2015)

Fonte: Própria autoria.

A utilização de polímeros para formação de filmes de desintegração oral tem chamado a atenção de diversas áreas farmacêuticas, e a seleção do polímero é um dos parâmetros mais importantes na produção dos FDOs (NAGAR, CHAUHAN e YASIR, 2011).

Os polímeros podem ser utilizados isoladamente ou na forma de blendas para se obter as propriedades desejadas (NAGAR, CHAUHAN e YASIR, 2011).

Muitas vezes, as blendas são utilizadas para melhorar as propriedades dos filmes de desintegração oral, como a hidrofilicidade, a flexibilidade, a sensação na boca e as características de solubilidade (ALI et al., 2007). A maioria dos trabalhos disponíveis utilizam mais de um polímero para a produção dos filmes de desintegração oral.

Patel et al. (2007) produziram filmes à base de eudragit com adição de cloridrato de propranolol, utilizado no tratamento de hipertensão, para atribuir características mucoadesivas aos filmes de desintegração oral. Os autores adicionaram carbopol e polivinilpirrolidona, e relataram que os filmes de desintegração oral desenvolvidos à base de eudragit, carbopol e polivinilpirrolidona em diferentes concentrações apresentaram características mucoadesivas.

Kulkarni et al. (2010) avaliaram a capacidade de formação de filmes de desintegração oral à base de diferentes polímeros, como pululano, acetato de polivinila, álcool polivinílico, gelatina, eudragit, goma guar, goma xantana, carragena em diferentes concentrações, e relataram que algumas combinações de FDOs com acetato de polivinila apresentaram uma baixa capacidade filme-formadora, ao contrário das formulações de pululano, que apresentaram uma alta capacidade filme-formadora.

Daud, Bonde e Sapkal (2011) determinaram a capacidade de formação de filmes de desintegração oral, a aparência visual e a pegajosidade em formulações à base de maltodextrina, pululano, hidropropilmetil celulose e álcool polivinílico em diferentes concentrações, e relataram que o pululano isoladamente ou em combinação com hidroxipropilmetil celulose apresentou reduzida capacidade filme-formadora.

Entre os polímeros utilizados para a produção de filmes de desintegração oral de origem natural ou sintética, o amido, a gelatina e a carboxi propilmetil celulose apresentam uma boa capacidade para formação de filmes de desintegração oral (DIXIT; PUTHLI, 2009).

2.1.3. Princípios ativos utilizados para incorporação em FDO

Existem diversos princípios ativos que podem ser incorporados aos filmes de desintegração oral, de origem natural ou sintética. De acordo com Patel et al. (2010) os filmes de desintegração oral têm potencial para a administração de diversos compostos ativos, entretanto, em função da dimensão reduzidas dos FDOs, grandes doses são difíceis de ser incorporadas, geralmente comportando apenas 5 a 30% do composto ativo. Na Tabela 6 podem ser observados alguns exemplos de fármacos, e a quantidade e a classe terapêutica que podem ser incorporadas em filmes de desintegração oral de acordo com Patel et al. (2010).

Tabela 6. Exemplos de moléculas de fármacos e das quantidades incorporadas em filmes de desintegração oral (FDO).

Fármacos	Dose (mg)	Classe terapêutica
Maleato de clorfeniramina	4	Antialérgico
Hidrocloreto triprolidine	2,5	Anti-histamínico
Loperamida	2	Anti-diarréia
Famotidine	10	Antiácido
Maleato azatadina	1	Anti-histamínico
Succinato de sumatriptano	35 – 70	Anti-enxaqueca
Cetoprofeno	12,5	Analgésico
Nicotina	2	Parar de fumar
Cloridrato pseudoephedrina	30	Broncodilatador
Acrivastine	8	Anti-histamínico
Hidrocloreto de dextrometorfano	10 – 20	Tosse
Loratadina	10	Anti-histamínico
Hidrocloreto de difenidramina	25	Antialérgico

Fonte: Patel et al. (2010).

Cilurzo et al. (2008) desenvolveram filmes de desintegração oral à base de maltodextrina com baixo teor de dextrose equivalente, e relataram que os FDOs apresentaram uma alta capacidade de incorporação do princípio ativo piroxicam (25 mg em 6 cm²),

utilizado como analgésico e anti-inflamatório, além de apresentarem boas propriedades de resistência a flexibilidade, liberando o princípio ativo nos testes *in vivo* em 10 minutos.

Os princípios ativos são adicionados para atribuir diversas funcionalidades, como propriedades antioxidantes, antimicrobianas, dentre outras. A maioria dos estudos na área farmacêutica relacionados com o desenvolvimento de filmes de desintegração oral relatam a incorporação de princípios ativos sintéticos, como pode-se observar na Tabela 7.

Tabela 7. Exemplos de princípios ativos incorporados em filmes de desintegração oral (FDO).

Princípio ativo	Fonte
Cloridrato de propranolol	Patel et al. (2007)
Propanolol	Perumal et al. (2008)
Piroxicam	Cilurzo et al. (2008)
Dexametasona	Shimoda et al. (2009)
Indometacina	Gaisford et al. (2009)
Dexametasona	Murata et al. (2010)
Citrato de cafeína	Garsuch e Breitkreutz (2010)
Metoclopramida	Raju et al. (2011)
Cloridrato de diltiazem	Mohamed, Haider e Ali (2011)
Montelucaste sódico	Ghorwade et al. (2011)
Diclofenaco de sódio	Cilurzo et al. (2011)
Cloridrato de ambroxol	Sapkal et al. (2012)
Donepezil	Liew, Tan e Peh (2012)
Cloridrato de propranolol	Abruzzo et al. (2012)
Cafeína e riboflavina	Li et al. (2013)
Glibenclamida	Muzibi et al. (2013)
Tadalafila / rasagilina	Jaben et al. (2013)
Enrofloxacina	Kumar et al. (2014)
Prednisolona	Brniak et al. (2015)
Cloridrato de clindamicina	Cantor et al. (2015)
Fluoxetina	Chevala et al. (2015)
Quercetina	Souza et al. (2015)

Fonte: Própria autoria.

Vale ressaltar também, que em função das vantagens associadas à utilização de filmes de desintegração oral, diversas patentes foram registradas. Na Tabela 8 podemos observar alguns exemplos de patentes desenvolvidas e o respectivo princípio ativo incorporado.

Tabela 8. Patentes relacionadas com o desenvolvimento de filmes de desintegração oral.

N° da Patente	Princípio ativo	Fonte
WO2008112124-A2	Bitartarato de nicotina	Meyer et al. (2008)
DE202008017304-U1	Selamectina	Acino (2009)
US2011160264-A1	Ondansetrona	Myers et al. (2011)
WO2010149196-A1	Escitalopram	Murpani et al. (2011)
CN102068416-A	Itraconazol	Fu et al. (2011)
WO2011048564-A2	Flurbiprofeno	Farshi et al. (2011)
WO2011117313-A1	Ondansetron	Costantini et al. (2011)
WO2012110222-A1	Olanzapina	Breitenbach et al. (2011)
WO2012029913-A1	Pitavastatina	Arai (2012)
JP2012056948-A	Topiramato	Hirota et al. (2012)
JP2012025683-A	Cloridrato de Donepezila	Taniguchi et al. (2012)

Fonte: Própria autoria.

A utilização de princípios ativos naturais na produção de filmes de desintegração oral é incipiente, entretanto alguns trabalhos envolvendo a utilização de extratos obtidos a partir de fontes naturais são relatados. Juliano et al. (2007) produziram filmes de desintegração oral à base de alginato com incorporação de extrato de própolis, e relataram que estes filmes apresentaram ação antimicrobiana, além de liberar os princípios ativos da própolis (polifenóis) quase completamente após 2 horas de administração.

Daud, Bonde e Sapkal (2011) desenvolveram filmes de desintegração oral à base de hidroxipropilmetil celulose, maltodextrina, pululano e álcool polivinílico (PVA) aditivados com extrato alcóolico de gengibre (*Zingiber officinale*), e verificaram que os filmes de desintegração oral à base de hidroxipropilmetil celulose apresentaram reduzido tempo de

desintegração. Os autores relataram ainda, com base nos testes *in vitro* e *in vivo*, que os filmes apresentaram uma boa aceitação e são considerados uma forma de dosagem inovadora.

Borges et al. (2015) desenvolveram filmes de desintegração oral de gelatina e colágeno hidrolisado aditivados com extrato etanólico de própolis, e observaram que com a adição do extrato os filmes apresentaram maior mucoadesividade, o que é importante para assegurar a liberação de compostos na cavidade oral, além dos filmes terem apresentado uma boa estabilidade dos compostos ativos e atividade antimicrobiana.

2.2 Fontes naturais de vitamina C

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas, principalmente pela diversidade de solos e condições favoráveis de clima (BUAINAIN e BATALHA, 2007). O consumo de frutas é essencial para a saúde humana e, devido ao elevado teor de compostos bioativos como vitamina C, polifenóis, β-caroteno e licopeno, o seu consumo tem aumentado (AKTER et al., 2011). Diversos compostos em frutas e legumes têm atraído a atenção, principalmente pelo seu papel na prevenção de doenças provocadas pelo estresse oxidativo (KAUR et al., 2001).

Ao contrário da maioria dos mamíferos, os seres humanos obtêm o ácido ascórbico ($C_6H_{18}O_6$ ou vitamina C), substância essencial, exclusivamente a partir de dietas, sendo ele encontrado principalmente em frutas e legumes (HIGDON e FREI,2002). De acordo com Sram, Binkova e Rossner (2012) a vitamina C é importante devido às funções bioquímicas que desempenha, como a diminuição dos danos oxidativos e a prevenção de alterações patológicas.

De acordo com Santos et al. (2008) a procura por fontes alimentares mais saudáveis e naturais, visando uma dieta equilibrada, tem causado mudanças no consumo alimentar. A vitamina C é encontrada na natureza e está presente em diversas plantas, porém em

quantidades diferentes. Cítricos, groselha preta, pimentão doce, salsa, couve-flor, batata, batatas-doces, brócolis, couve-de-bruxelas, morango, goiaba, manga, dentre outras, são fontes de vitamina C (PELLEGRINI et al., 2007).

Os frutos e vegetais contêm muitos compostos com potencial antioxidante, como vitaminas C e E, carotenóides, clorofilas, e uma variedade de antioxidantes fitoquímicos, como compostos fenólicos simples, glicosídeos e flavonoides (PELLEGRINI et al., 2007). Dentro de uma mesma variedade de frutas pode haver diferenças no teor de vitamina C, não só em função da maturação, mas também em função do solo, do clima, da adubação, da irrigação; todos esses fatores vão influenciar na composição do fruto (SILVA; SILVA; OLIVEIRA, 2004).

A vitamina C apresenta diversas funções no organismo humano e o seu consumo acarreta alguns benefícios, como a manutenção do colágeno, que representa cerca de um terço do total de proteína corporal (NAIDU, 2003), o auxílio na prevenção do estresse oxidativo (GONZÁLEZ-RAMÍREZ et al., 2010), e ela é ainda considerada um antioxidante natural que pode prevenir o desenvolvimento de doenças cardíacas e de certos tipos de cânceres (GARDNER et al., 2000). Adicionalmente, atua em sinergismo com os carotenóides e flavonóides na promoção de uma barreira efetiva contra a oxidação celular (MIEAN et al., 2001).

Diversas propriedades fazem da vitamina C um antioxidante ideal em sistemas biológicos, pois seus baixos potenciais de redução dos elétrons ascorbato e o ascorbil permitem que os compostos reajam com praticamente todas as espécies reativas de oxigênio (ROS) e reativas de nitrogênio (RNS) (HIGDON et al., 2000).

Embora a vitamina C apresente diversas propriedades de interesse, a mesma não pode ser sintetizada pelo corpo humano, devido à ausência da enzima L-gulonolactona oxidase (NISHIKIMI et al., 1994). De acordo com Albertino et al. (2009) as necessidades

diárias de vitamina devem ser supridas pela ingestão de alimentos ricos neste tipo de nutriente. A ingestão diária de vitaminas necessárias para garantir o funcionamento adequado do organismo é especificada como dose diária recomendada (DDR). De acordo com a FAO/WHO (Food Agriculture Organization) a quantidade necessária para suprir metade dos tecidos do corpo com vitamina C, por indivíduos e diferentes grupos populacionais, é definido como ingestão de nutrientes recomendados (INR). Na Tabela 9 podem-se observar os índices de ingestão diária recomendados para vitamina C.

Tabela 9. Ingestão de nutrientes recomendados (INR) de vitamina C em função dos grupos populacionais.

Grupo		INR de vitamina C (mg / dia)
Gestante		55
Lactantes		70
	1 – 3 anos	30
Crianças	4 – 6 anos	30
	7 – 10 anos	35
Adolescentes		40
Adultos		45

Fonte: FAO/WHO (2001).

2.2.1 Frutas como fontes de vitamina C

O consumo de frutas em nível nacional e internacional tem aumentado levando em consideração o seu valor nutricional (BALDEÓN et al., 2015). O Brasil, devido a sua vasta extensão territorial e ampla variação climática, apresenta uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo. Entre as variedades frutíferas brasileiras podemos destacar a acerola, originária das Antilhas (MARQUES et al., 2007) e o camu-camu, nativo da região Amazônica (ZAPATA; DUFOUR, 1993), frutas com alto potencial funcional, devido

principalmente à elevada concentração de vitamina C, dentre outros compostos de interesse na dieta humana.

Diversos trabalhos na literatura reportam a concentração elevada de vitamina C na acerola (BRITO et al., 2007; MÜLLER et al., 2010; RUFINO et al., 2010; MERCALI et al., 2012; LEFFA et al., 2013; HUANG et al., 2014) e no camu-camu (GENOVESE; PINTO; GONÇALVES, 2008; CHIRINOS et al., 2010; RUFINO et al., 2010; VIDIGAL et al., 2011).

2.2.1.1 Acerola

A acerola (*Malpighia emarginata*), também conhecida como cereja-dos-Bárbaros, é uma fruta nativa da América Central, introduzida no Brasil nos anos 50 e muito bem adaptada ao cultivo no Brasil (DE ROSSO et al., 2005), cujas principais regiões produtoras são Pernambuco, Ceará, São Paulo e Bahia (RITZINGER et al., 2003).

Acerola é um fruto climatérico, ou seja, pode amadurecer na planta ou após a colheita, e altamente perecível (RITZINGER et al., 2003), pois possui uma alta taxa de produção de etileno (CARRINGTON; KING, 2002). De acordo com Ritzinger et al. (2003) este fruto exige um processo de comercialização ágil, devido à alta perecibilidade. O fruto *in natura* possui curto período de vida de prateleira (dois a três dias), caso seja estocado em temperatura ambiente (VENDRAMINI; TRUGO, 2000).

A acerola é considerada uma fruta com alto valor nutritivo, fonte de vitaminas, ferro e cálcio (MERCALI et al., 2012), e apresenta um bom rendimento de polpa, facilitando o desenvolvimento de diversos produtos industriais (SOARES FILHO et al., 2003).

A principal razão para o aumento do consumo de acerola está relacionada a seu apelo funcional, principalmente pela presença de vitamina C (BRITO et al., 2007). Como pode-se observar na Tabela 10, diversos trabalhos na literatura reportam a alta concentração de vitamina C da polpa de acerola.

Tabela 10. Concentração de vitamina C na polpa de acerola produzida com frutos em diferentes estágios de maturação ou polpas comerciais.

Concentração de vitamina C	Polpa	Fonte
2164 mg / 100 g	Polpa verde	Vendramini e Trugo (2000)
1065 mg / 100 g	Polpa amarela	
1074 mg / 100 g	Polpa vermelha	
2424 mg / 100 g	Polpa verde	Assis et al. (2001)
2294,53 mg / 100 g	Polpa comercial, Atibaia, São Paulo	Cardoso et al. (2011)
4023,39 mg / 100 g	Polpa orgânica, Atibaia, São Paulo	
1357 mg / 100g	Polpa comercial, Limoeiro do Norte, Ceará	Rufino et al. (2011)
778,10 mg / 100 g	Polpa comercial, Lavras, Minas Gerais	Freire et al. (2013)
1657 mg / 100 g	Polpa comercial, South Jordan, EUA	Mercali et al. (2014)
806 mg / 100 g	Polpa comercial, Maringá, Paraná	Milani et al. (2015)

Fonte: Própria autoria.

Rufino et al. (2011), com o objetivo de caracterizar a capacidade antioxidante juntamente com a quantificação dos compostos bioativos importantes em diversas frutas brasileiras, relataram que a acerola se destaca entre os frutos avaliados (açaí, caju, camu-camu, umbu, jabuticaba, juçara, uvaia, etc.), com uma concentração de vitamina C de 1357 mg / 100g, e que essa concentração foi inferior apenas ao do camu-camu (1882 mg / 100 g).

Cardoso et al. (2011) relataram que a acerola também é rica em antocianinas, que são responsáveis pela coloração vermelha, no estágio maduro. Brito et al. (2007) relataram que a acerola roxa liofilizada apresentou 261 mg / 100 g de antocianinas, enquanto que para a acerola convencional liofilizada encontrou-se o teor de 528 mg / 100 g.

2.2.1.2 Camu-camu

O camu-camu (*Myrciaria dúbia*) também conhecido popularmente como caçari ou araçá-d'água é uma fruta originária da região Amazônica, pertencente à família *Myrtaceae*, com coloração variando de avermelhado a roxo, e cresce em árvores nativas da região amazônica (SILVA et al., 2012). É considerada uma fruta de grande importância e potencial econômico (CHAGAS et al., 2012). Na Figura 2 podemos observar exemplos de camu-camu.

Figura 2. Exemplos do camu-camu (a) Fruta (ZANATTA et al., 2005); (b) Fruta inteira (Própria autoria); (c) Corte transversal (Própria autoria).

(a) (b) (c)

O estudo de Chirinos et al. (2010) relatou que o camu-camu apresenta elevado potencial funcional, sendo importante fonte de antioxidantes, vitamina C, β-caroteno e compostos fenólicos, e seu alto teor de vitamina C criou demanda no mercado de produtos naturais (CHIRINOS et al., 2010). De acordo com Akter et al. (2011), o camu-camu também é considerado uma fonte de potássio, ferro, cálcio e de fósforo, e de vários tipos de aminoácidos, tais como serina, valina e leucina.

Japão e União Européia são os principais mercados de exportação do camu-camu na forma de polpa, extrato e suco (AKTER et al., 2011). A polpa de camu-camu é utilizada principalmente para produção de sorvetes e purê, e as frutas inteiras são utilizadas para

obtenção de produtos secos, desta forma, o camu-camu pode ser utilizado como alimento funcional, não apenas se restringindo ao Brasil, mas se espalhando ao redor do mundo (AKTER et al., 2011).

Fracassetti et al. (2013) avaliaram a composição química de extratos obtidos por spray dryer, e relataram que os extratos obtidos apresentaram alta concentração de vitamina C, 3510 mg / 100 g e 9040 mg / 100g, do extrato obtido a partir da polpa e do extrato obtido a partir da casca, semente e polpa aderida, respectivamente.

Devido ao potencial interesse nessa fruta, diversos trabalhos na literatura reportam a alta concentração de vitamina C do camu-camu (Tabela 11).

Tabela 11. Concentração de vitamina C na polpa de camu-camu produzida com frutos em diferentes estágios de maturação ou polpas comerciais.

Concentração de vitamina C	Polpa	Fonte
1910,31 mg/100 g	Polpa verde, Belém, Pará	Alves et al. (2002)
2061,01 mg/100 g	Polpa roxa, Belém, Pará	
3571,1 mg / 100 g	Polpa, Rio Maú, Roraima	Yayama et al. (2002)
6112,1 mg / 100 g	Polpa, Rio Urubu, Roraima	
2585,4 mg / 100 g	Polpa, Rio Preto da Eva, Amazonas	Maeda et al. (2006)
2280 mg / 100 g	Polpa verde	Chirinos et al. (2010)
1910 mg / 100 g	Polpa amarela	
210 mg / 100 g	Polpa vermelha	
1882 mg / 100 g	Polpa comercial, Belém, Pará	Rufino et al. (2010)
1380 a 1490 mg / 100 g	Polpa comercial, Astolfo Dutra, Minas Gerais	Vidigal et al. (2011)
2050 mg / 100 g	Casca	Vidigal et al. (2011)
4752,2 mg / 100 g	Polpa, Cantá, Roraima	Neves et al. (2015)

Fonte: Própria autoria.

Apesar de apresentar elevada concentração de vitamina C, o consumo de camu-camu é reduzido, pois além de ser um fruto com elevada acidez, apresenta amargor na casca

(GENOVESE; PINTO; GONÇALVES, 2008). O amargor na casca do camu-camu está relacionado ao teor de compostos fenólicos, sendo que o tipo de processamento utilizado na obtenção da polpa é determinante para essa percepção (MAEDA et al., 2006).

De acordo com Maeda et al. (2007), as antocianinas também são consideradas um componente importante e de interesse presente no camu-camu, porém como a vitamina C, apresenta certa instabilidade.

Schwertz et al. (2012) relataram que o camu-camu é considerado um fruto com grande potencial terapêutico no controle da dislipidemia e na prevenção de doenças cardiovasculares, verificando a sua eficiência em estudos experimentais com ratos. De acordo com Baldeon et al. (2015) o consumo de frutos tropicais, nacional e internacionalmente, aumenta à medida que o seu valor nutricional e terapêutico é reconhecido.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Para a produção dos filmes de desintegração oral, como polímeros, foram utilizados gelatina de pele de suíno tipo A (Bloom - 260, Mesh - 40) adquirida da empresa Gelita do Brasil Ltda. (São Paulo, SP) e amido pré-gelatinizado fornecido pela Cargill Ltda. (São Paulo, SP). O sorbitol (Vetec) foi utilizado como plastificante. A polpa de acerola para produção do extrato seco foi obtida da empresa DeMarchi Indústria e Comércio de Frutas (Campinas, SP). O camu-camu foi gentilmente doado pela EMBRAPA (Boa Vista, RR) e a maltodextrina (DE 12) foi doada pela *Corn Products* Ingredientes Industriais Ltda. (Mogi Guaçu, SP).

Para a análise do teor de vitamina C utilizou-se como padrão ácido ascórbico (Synth). Para as análises da atividade antioxidante utilizou-se $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico, Sigma Aldrich), persulfato de potássio (Synth), DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazina, Sigma Aldrich), trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico, Sigma Aldrich), TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina, Sigma Aldrich), sulfato de ferro heptahidratado (Synth), cloreto férrico hexahidratado (Synth). Nas análises antimicrobianas foram utilizadas cepas de *Cândida albicans* (ATCC 10231) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), ambas doadas pela Fundação André Tosello (FAT), caldo de infusão de cérebro e coração – BHI (Himedia M210) e ágar nutriente (Acumedia).

3.2 Caracterização da polpa

3.2.1 Determinação da concentração de vitamina C

Para a determinação da concentração de vitamina C, amostras (0,5 g de polpa) foram solubilizadas em água ultrapura (pH 2,5) e mantidas em banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) por 10 minutos, de acordo com a metodologia proposta por Rosa et al. (2007).

Após a solubilização, a solução foi filtrada em filtro de Nylon 0,45 μM (Millex). A quantificação da vitamina C da polpa de acerola e camu-camu foi realizada utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu – Prominence (Bomba: LC 20 AD, injetor automático: SIL20-HT, detector de rede de fotodiodo: SPD-M20A) e software LC Solution versão 1.21.

As condições da análise cromatográfica foram fixadas de acordo com Rosa et al. (2007), utilizando-se coluna Res Elut C18 (VP-ODS) e, como fase móvel, água ultrapura pH 2,5. A vazão da fase móvel foi fixada em 1 mL / minuto e o volume de injeção em 20 μL (Rosa et al., 2007), sendo utilizado o detector de rede de fotodiodo (SPD-M20A); a leitura foi realizada em 254 nm (Rosa et al., 2007). A curva de calibração foi preparada utilizando-se como padrão ácido ascórbico nas concentrações entre 0 a 0,0086 g / mL.

3.2.2 Parâmetros de cor

A polpa foi avaliada em relação aos parâmetros de cor utilizando-se um colorímetro Miniscan XE (HunterLab), com iluminante D65, controlado pelo programa computacional *Universal Software*. Os parâmetros de cor L* (Luminosidade), croma (a*) e croma (b*) foram determinados pelo software do equipamento (*Universal Software* – HunterLab Associates Laboratory, 1997).

3.3 Produção do extrato seco

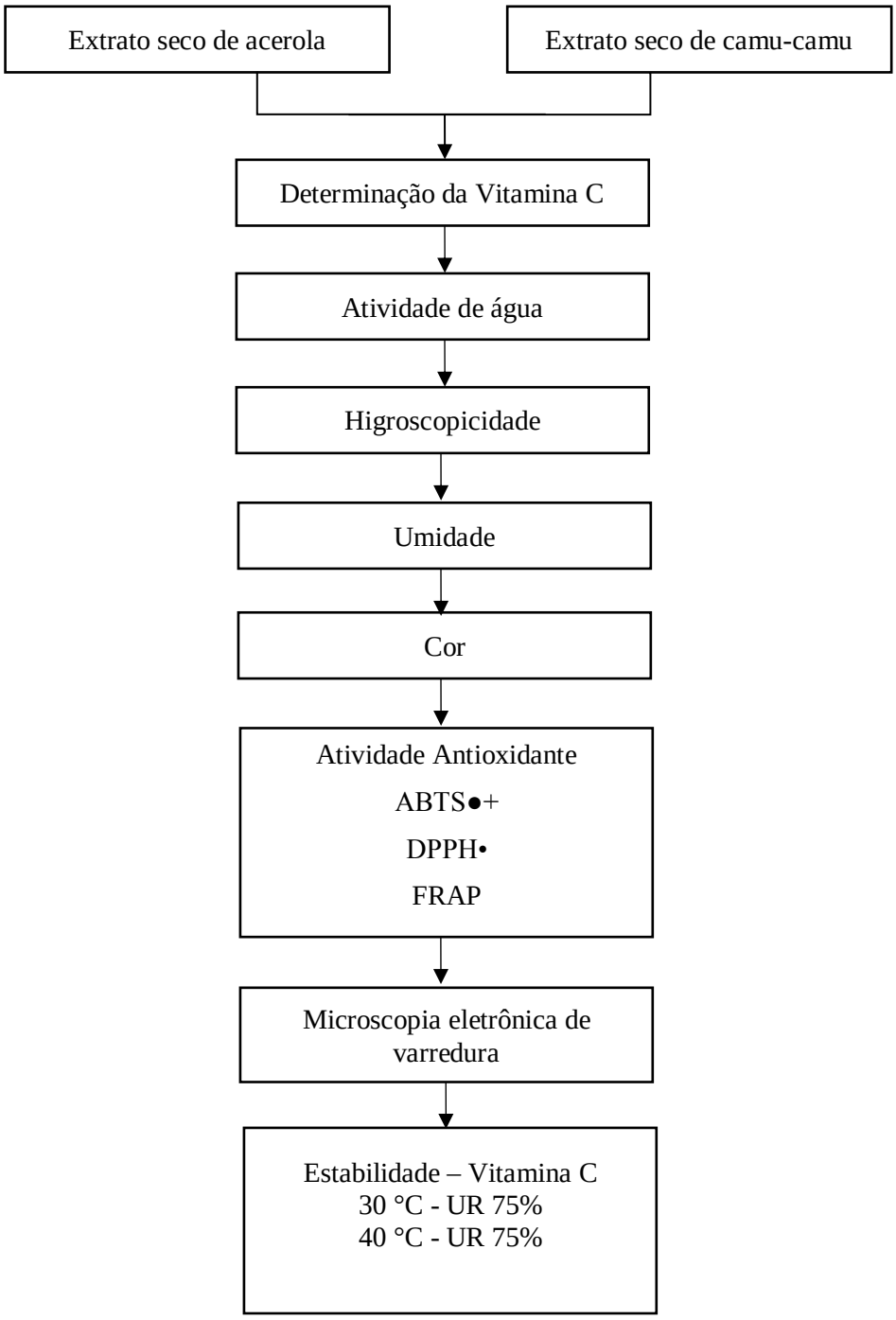
Para a produção do extrato seco de acerola, a polpa de acerola foi previamente descongelada em geladeira (5 °C ± 2). A maltodextrina (5 %) foi adicionada à polpa como agente carreador, sob agitação mecânica (500 rpm, Agitador IKA RW 20) durante 30 minutos. A secagem foi realizada utilizando-se “spray dryer” MSD 5.0 (Labmaq, Ribeirão Preto, SP), com bico injetor com orifício de 2,0 mm de diâmetro. A alimentação foi realizada utilizando-se bomba peristáltica (Masterflex – LS), e após testes preliminares a vazão foi

fixada em 20 mL / min. A temperatura de entrada foi fixada em 120 °C, de acordo com Righetto et al. (2005). O valor da temperatura foi igual à 80± 5 °C.

Para o camu-camu, os frutos foram lavados em água corrente para remoção das sujidades e despolpados na EMBRAPA – Boa Vista (RR). O despolpamento foi realizado em despolpadeira horizontal de aço inoxidável (COMPACTA), com peneira de 1 mm de diâmetro. Imediatamente a polpa de camu-camu foi embalada em sacos de polietileno de baixa densidade (aproximadamente 800g) e congelada. O transporte foi realizado por via aérea em caixas de isopor até o aeroporto de São Paulo, em seguida, de carro até o departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP, onde foi armazenada a -18 °C em freezer vertical (Brastemp Flex, BVR28HBBNA). O processo de pasteurização foi realizado em bancada de acordo com Bastos et al. (2008), à 90 °C por um período de 60 segundos. Para a obtenção do extrato seco de camu-camu, a maltodextrina foi utilizada como agente carreador na concentração de 15 % de acordo com Dib Taxi et al. (2003), sendo adicionada à polpa e mantida sob agitação mecânica (500 rpm, Agitador IKA RW 20) durante 30 minutos. Para a secagem em "spray dryer", a alimentação foi realizada utilizando-se bomba peristáltica (Masterflex – LS), e após testes preliminares a vazão fixada em 20 mL / min. A temperatura de entrada foi fixada em 150 °C de acordo com Dib Taxi et al. (2003). O valor da temperatura foi igual a 95±3 °C.

Os extratos secos (acerola e camu-camu) foram caracterizados de acordo com a as análises apresentadas na Figura 3.

Figura 3. Análises utilizadas para caracterização dos extratos secos de acerola e camu-camu obtidos por "spray dryer".



Fonte: Própria autoria.

3.4. Caracterização do extrato seco

3.4.1 Determinação da concentração de vitamina C

Para a determinação da concentração de vitamina C, amostras (0,5 g de extrato seco) foram solubilizadas em água ultrapura (pH 2,5) e mantidas em banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) por 10 minutos, de acordo com a metodologia proposta por Rosa et al. (2007). Após a solubilização, a solução foi filtrada em filtro de Nylon 0,45 μM (Millex). A quantificação da vitamina C do extrato de acerola foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu (Prominence) equipado com bomba quaternária (LC20-AD), desgaseificador (DGU-20A5), injetor automático (SIL10-AF), compartimento para coluna (CTO-20A), detector por arranjo de diodos (SPD-M20A) e software LC Solution versão 1.21.

A quantificação da vitamina C do extrato de camu-camu foi realizada utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu – Prominence (Bomba: LC 20 AD, injetor automático: SIL20-HT, detector de rede de fotodiodo: SPD-M20A) e software LC Solution versão 1.21.

As condições da análise cromatográfica foram fixadas de acordo com Rosa et al. (2007), utilizando-se coluna Res Elut C18 (VP-ODS) e, como fase móvel, água ultrapura pH 2,5. A vazão da fase móvel foi fixada em 1 mL / minuto e o volume de injeção em 20 μL (Rosa et al., 2007), sendo utilizado o detector de rede de fotodiodo (SPD-M20A); a leitura foi realizada em 254 nm (Rosa et al., 2007). A curva de calibração foi preparada utilizando-se como padrão ácido ascórbico nas concentrações entre 0 a 0,0086 g / mL.

3.4.2 Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com o método descrito por Cai e Corke (2000). Amostras (0,1 g) dos extratos secos de acerola e camu-camu foram acondicionadas em dessecadores contendo solução saturada salina de sulfato de sódio (81%

umidade relativa), os dessecadores foram acondicionados em BOD (Marconi, MA415), na temperatura de 25 °C ± 2, por um período de 7 dias. Antes dos extratos serem acondicionados foi realizada a pesagem de todas as amostras em balança analítica (Shimadzu – AUY 220); após este período a massa foi novamente determinada utilizando-se uma balança analítica (Shimadzu – AUY 220) e a higroscopicidade foi expressa como g de água absorvida / 100 g de matéria seca.

3.4.3 Atividade de água

A atividade de água foi determinada utilizando-se um analisador Aqualab 3 (Decagon Devices, USA) a 25 °C de acordo com Favaro-Trindade et al. (2010).

3.4.4 Umidade

Amostras dos extratos (2 g) foram colocadas no analisador de umidade (Ohaus - MB 35) com radiação infravermelha de uma fonte de halógena.

3.4.5 Parâmetros de cor

O extrato foi avaliado em relação aos parâmetros de cor utilizando-se um colorímetro Miniscan XE (HunterLab), com iluminante D65, controlado pelo programa computacional *Universal Software*. Amostras dos extratos secos de acerola e camu-camu foi colocada em um recipiente de quartzo para leitura. Os parâmetros de cor L* (Luminosidade), croma (a*) e croma (b*) foram determinados pelo software do equipamento (*Universal Software* – HunterLab Associates Laboratory, 1997). A calibração do equipamento foi realizada utilizando-se placas branca e preta. A leitura foi realizada em 3 pontos de cada amostra.

3.4.6 Atividade antioxidante dos extratos

3.4.6.1 Determinação da capacidade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$

A determinação da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ foi realizada de acordo com Re et al. (1999). O radical $ABTS^{\bullet+}$ foi produzido pela reação da solução de $ABTS^{\bullet+}$ ((2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) 7 mM) com persulfato de potássio (2,45 mM), na ausência de luz por 16 horas. Após a formação do radical ($ABTS^{\bullet+}$), a solução foi diluída em etanol até a obtenção de absorbância igual à 0,7, determinada à 734 nm utilizando-se um espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 35). Amostras (0,01 g de extrato) foram solubilizadas em água (balão volumétrico de 10 mL), sendo as soluções mantidas em banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) por 10 minutos, em seguida uma alíquota de 30 µL foi adicionada a 3 mL do radical livre $ABTS^{\bullet+}$. As amostras foram mantidas na ausência de luz por um período de 6 minutos e a absorbância foi determinada utilizando-se um espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 35), à 734 nm. Soluções com concentrações entre 250 a 2500 µM de trolox foram utilizadas para a construção da curva de calibração e os resultados foram expressos em µM trolox equivalente / g de extrato.

3.4.6.2 Determinação da capacidade antioxidante pelo método radical livre DPPH•

A capacidade antioxidante pelo método radical livre DPPH• foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Inicialmente, foi preparada uma solução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH•) com absorbância de 0,7 (0,6 mM), determinada à 515 nm em espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 35). Amostras (0,2 g de extrato) foram solubilizadas em água (balão volumétrico de 50 mL) e a partir desta solução foram preparadas oito diluições. As alíquotas (100 µL) de

cada diluição foram adicionadas a 3,9 mL da solução do radical livre DPPH•, a solução foi mantida na ausência de luz por um período de 65 minutos. O tempo da reação foi determinado por testes preliminares, nos quais as leituras foram monitoradas a cada 5 minutos, sendo observada a redução da absorbância até sua estabilização (RUFINO et al., 2007). A atividade antioxidante determinada pelo método radical livre DPPH• dos extratos secos de acerola e camu-camu foram expressos como a quantidade de compostos antioxidantes necessários para reduzir a concentração inicial de DPPH• em 50 % (EC_{50}) de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A partir dos dados de concentração de extrato *versus* a atividade antioxidante, foi obtida uma equação da reta para determinação do EC_{50}.

3.4.6.3 Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)

A capacidade antioxidante pelo método de redução de íons do ferro (FRAP) foi determinada de acordo com Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado a partir das seguintes soluções: 25 mL de tampão acetato (300 mM), 2,5 mL de solução 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (10 mM de 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina em 40 mM HCL) e 2,5 mL de $FeCl_3$ (20 mM). Amostras dos extratos (0,1 g de extrato) foram solubilizadas em água (balão volumétrico de 10 mL) e mantidas no banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) durante 10 minutos, em seguida, a 150 µL desta solução foram adicionados 2850 µL do reagente FRAP, e a solução foi mantida na temperatura de 37°C em banho-maria (Marconi, MA – 127) durante 30 minutos. As absorbâncias foram registradas em espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 35) a 593 nm. Para construção da curva de calibração, trolox (100 a 625 µMol) foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em µMol de trolox equivalente /g de extrato.

3.4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos extratos secos foi analisada utilizando-se o microscópio eletrônico de varredura (Modelo TM300, Tabletop Microscope Hitachi, Japão). Anteriormente à análise, amostras de extrato seco de acerola e camu-camu foram armazenadas em dessecadores contendo sílica gel por um período de 10 dias. Após este período as amostras foram depositadas sobre uma fita de carbono dupla face (Ted Pella) e estas foram fixadas em probes de alumínio. As imagens foram obtidas com aceleração de 5 kv e aumento de 500x.

3.4.8 Estabilidade do extrato seco de acerola e camu-camu

Para avaliação da estabilidade, os extratos foram armazenados em dessecadores contendo solução salina de NaCl, umidade em 75 % (DAUD; BONDE; SAPKAL, 2011), e os dessecadores armazenados em estufas incubadoras BOD (Marconi, MA415) nas temperaturas de 30 °C e 40 °C.

A quantificação da vitamina C foi realizada utilizando-se cromatografia liquida de alta eficiência, de acordo com Rosa et al. (2007), como citado anteriormente na seção 3.3.1. Amostras (0,2 g de extrato seco) foram solubilizadas em água ultrapura (pH 2,5) e mantidas em banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) por 10 minutos (ROSA et al., 2007), em seguida a solução foi filtrada (filtro de Nylon 0,45 µM - Millex).

A cinética de degradação da vitamina C foi avaliada utilizando-se o modelo de 1ª ordem (VIKRAM, RAMESH e PRAPULLA, 2005) utilizando-se a eq. (1)

$$\ln C = \ln C_o - kt \qquad (1)$$

Onde: C = concentração de vitamina C de acordo com o dia de armazenamento (mg / 100 g de extrato); C_o = concentração de vitamina C inicial, antes do armazenamento (mg / 100 g de extrato); k = constante da velocidade da degradação da vitamina C; t = tempo de armazenamento (dias).

3.5 Produção dos filmes de desintegração oral (FDO)

Os filmes de desintegração oral (FDO) foram produzidos utilizando-se como polímeros naturais o amido e a gelatina. A concentração de polímeros (amido + gelatina) na solução filmogênica foi mantida constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e a concentração de plastificante (sorbitol) foi fixada em 20 g de sorbitol / 100 g de solução filmogênica. Os filmes de desintegração oral com e sem adição de extrato foram produzidos com diferentes concentrações de amido 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 g / 100 g de polímeros.

Para a produção dos FDOs a gelatina foi hidratada em água destilada por 30 minutos e solubilizada à 90°C utilizando-se banho termostático (Marconi, MA 127) durante 10 minutos. O amido foi disperso em água destilada e mantido sob agitação magnética durante 30 minutos, em seguida a dispersão foi solubilizada em banho termostático à 90°C (10 minutos).

As dispersões de gelatina e amido foram misturadas e homogeneizadas sob agitação magnética (Big squid, IKA, 3 minutos) e mantidas a 90 °C por 10 min em banho termostático (Marconi, MA 127). Posteriormente o sorbitol foi adicionado e homogeneizado sob agitação magnética (Big squid, IKA) por um período de 3 minutos. A solução filmogênica foi dispersa em placas de acrílico (12 x 12 mm) e submetida à secagem em estufa (Marconi, MA 35) em temperatura de 30 °C por 24 horas. Para os filmes de desintegração oral com adição de extrato, após a adição de plastificante, a solução filmogênica foi resfriada até 30 °C., tendo sido os extratos incorporados sob agitação magnética (Big squid, IKA) por um período de 4 minutos.

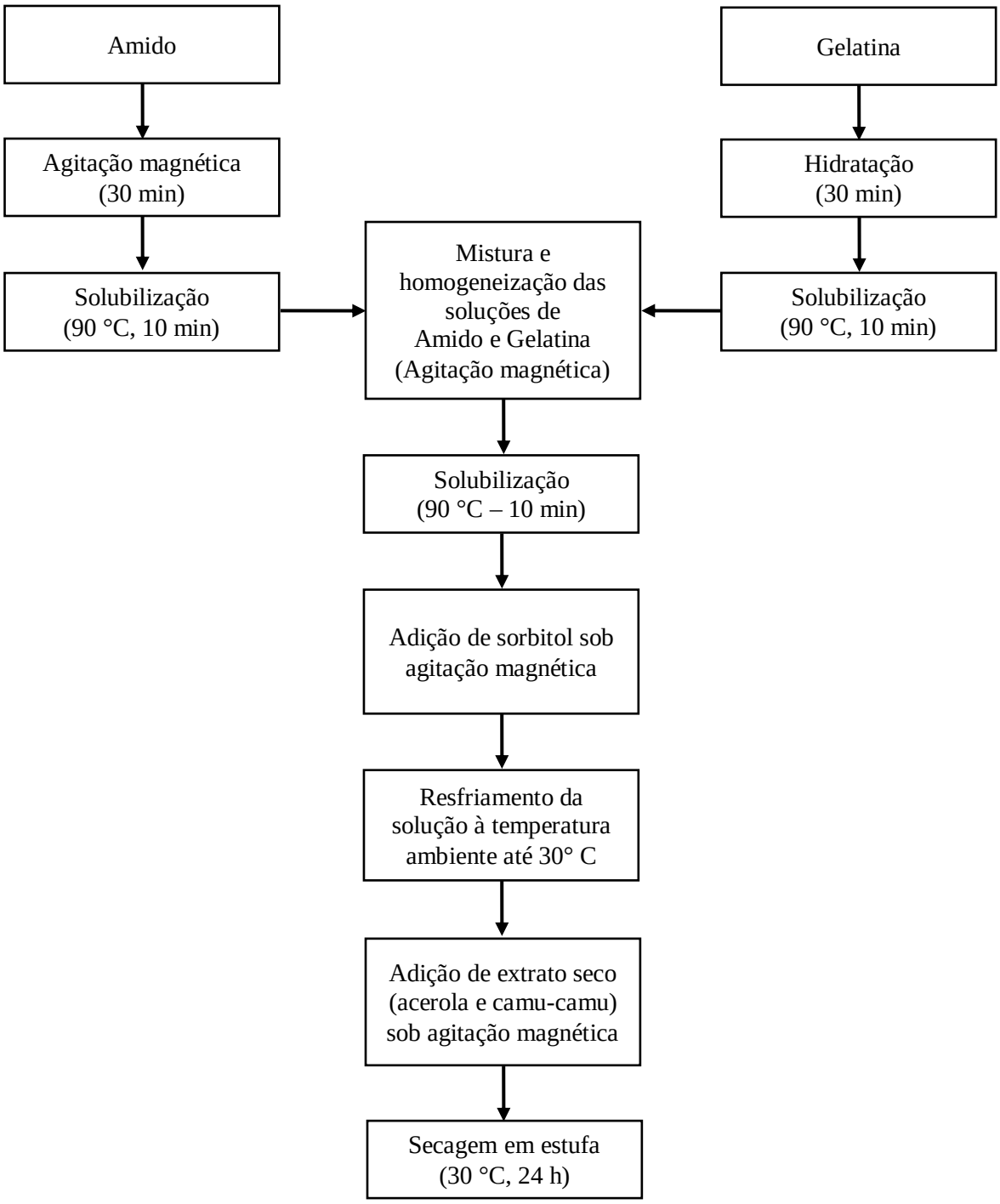
Inicialmente foram realizados testes preliminares para determinar a concentração de extrato seco a ser adicionado nos filmes de desintegração oral, foram testadas diferentes

concentrações de extrato seco de acerola e camu-camu (4, 6, e 8 g de extrato seco / 100 g de solução filmogênica). Após a secagem os filmes de desintegração com adição de extrato seco de acerola e camu-camu foram avaliados visualmente em relação à homogeneidade e capacidade de formação de filme.

Todas as formulações produzidas apresentaram capacidade de formação de filmes, porém os FDOs desenvolvidos nas maiores concentrações de extrato seco de acerola (6 g e 8 g de extrato seco / 100 g de solução de filmogênica) tornaram-se mais quebradiços após a secagem, e os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (6 g e 8 g de extrato seco / 100 g de solução de filmogênica) tornaram-se pegajosos, consequentemente difíceis de manusear. Dessa forma, a concentração de extrato seco de acerola e camu-camu adicionada nos filmes de desintegração oral foi fixada em 4 g de extrato seco / 100 g de solução filmogênica, pois nessa concentração os filmes de desintegração se apresentaram visualmente homogêneos.

Na Figura 4 pode-se observar o fluxograma de produção dos filmes de desintegração oral.

Figura 4. Fluxograma da produção dos filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina (2 g / 100 g de solução filmogênica), com e sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).

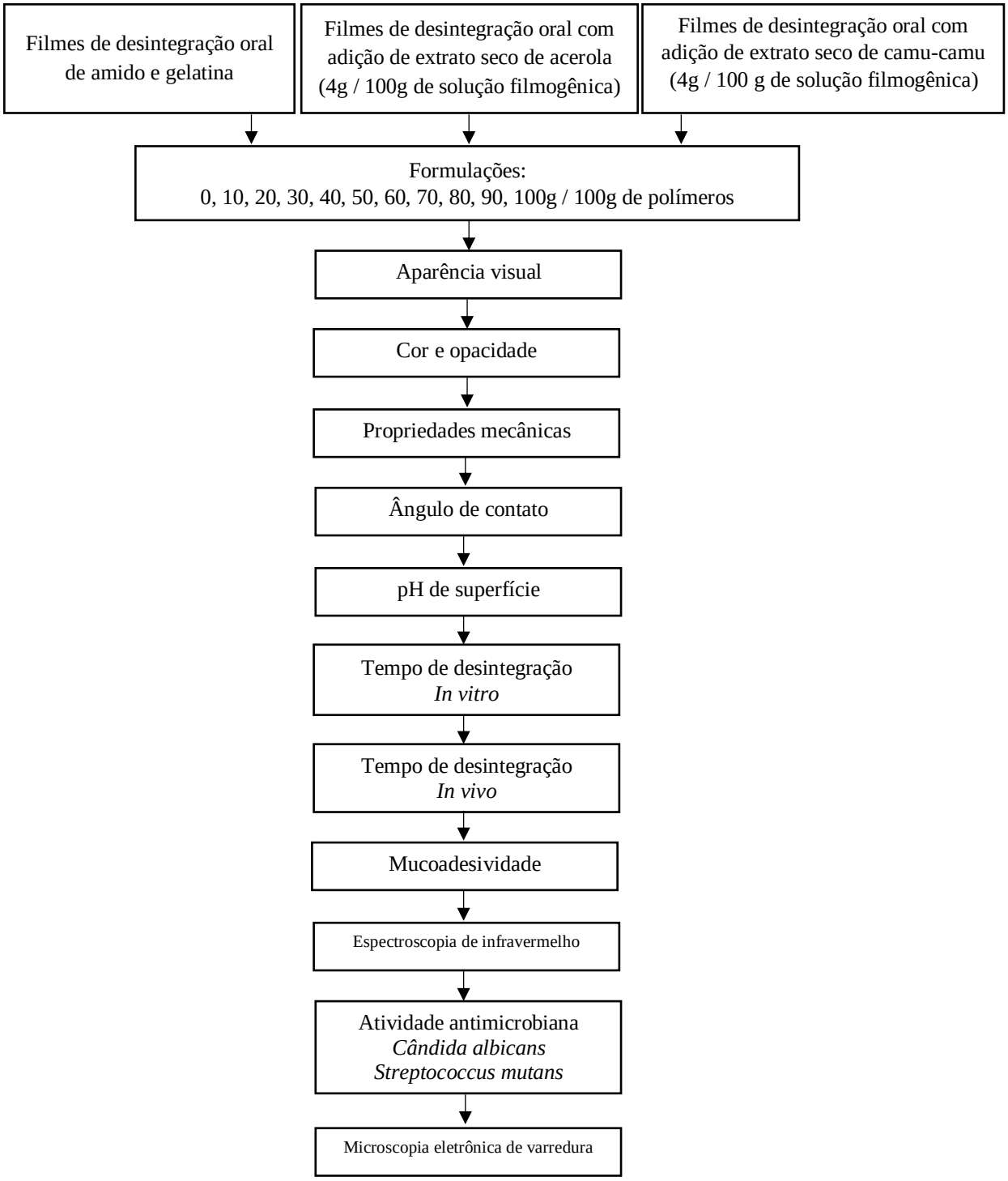


Fonte: Própria autoria.

3.6 Caracterização dos filmes de desintegração oral

Os filmes de desintegração oral com e sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu foram caracterizados de acordo com a Figura 5.

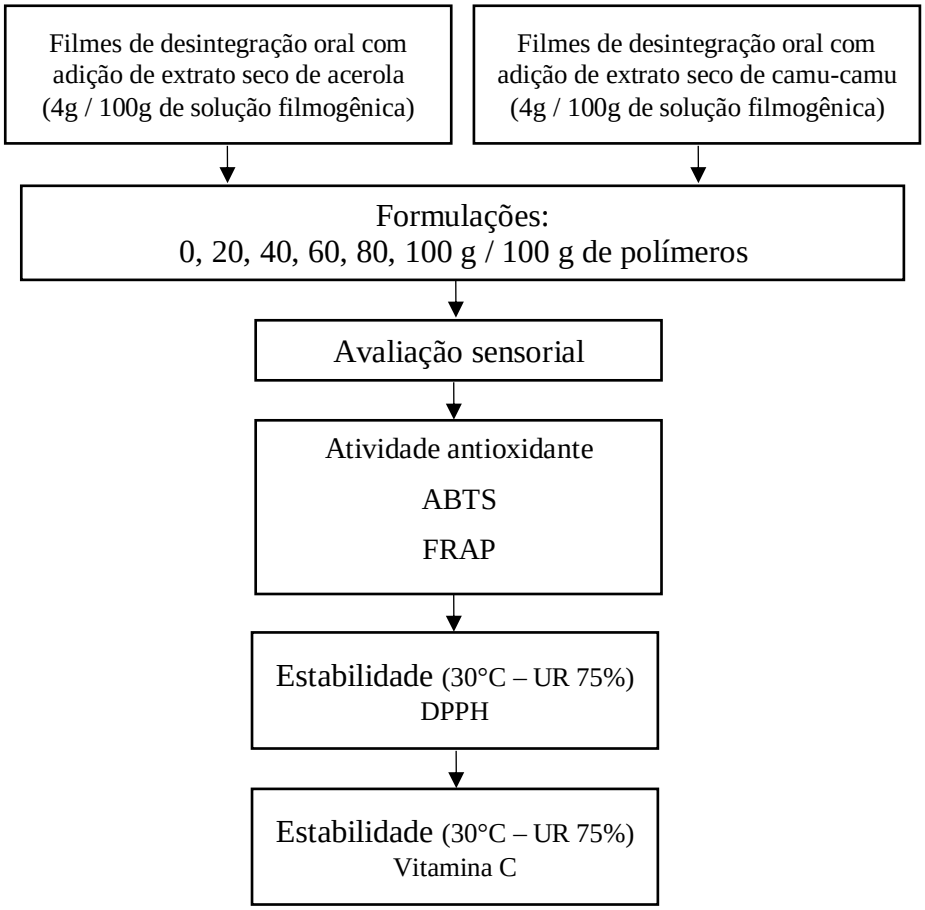
Figura 5. Caracterização dos filmes de desintegração oral sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu.



Fonte: Própria autoria.

Após a avaliação dos resultados (Figura 5), análises específicas foram realizadas com os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) com variação da concentração de amido (0, 20, 40, 60, 80, 100g / 100g de polímero) de acordo com a Figura 6.

Figura 6. Caracterização dos filmes de desintegração oral com e sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu.



Fonte: Própria autoria.

Posteriormente as caracterizações (Tabela 5 e 6), a formulação que apresentou o menor tempo de desintegração e maior estabilidade em relação a concentração de vitamina C (T 30 ºC e UR 75 %) foi caracterizada em relação à estabilidade (T 40 °C e UR 75 %) e uniformidade da vitamina C.

3.6.1 Avaliação visual

A avaliação visual dos filmes de desintegração oral foi realizada com base nos seguintes parâmetros: homogeneidade (ausência de partículas insolúveis); capacidade de formação de filme (ausência de zonas de descontinuidade após a etapa de secagem) e manuseabilidade (facilidade de retirada do filme de desintegração oral do suporte), de acordo com as características estabelecidas na Tabela 12.

Tabela 12. Parâmetros estabelecidos para a avaliação visual dos filmes de desintegração oral.

Parâmetro	Boa	Ruim
Homogeneidade	+	-
Capacidade de formação de filme	+	-
Manuseabilidade	+	-

Fonte: Própria autoria

3.6.2 Espessura

A espessura dos filmes de desintegração oral (média aritmética de dez medidas aleatórias sobre a área do filme) foi determinada utilizando-se um micrômetro digital Mitutoyo (0,001 mm).

3.6.3 Parâmetros de cor e opacidade

Os filmes de desintegração oral foram caracterizados em relação aos parâmetros de cor L* (luminosidade), croma a*, croma b* e opacidade utilizando um colorímetro Miniscan XE (HunterLab). A determinação dos parâmetros de cor (Luminosidade, L*; croma a* e croma b*) foi realizada segundo metodologia descrita por Gennadios et al. (1996), utilizando-se o sistema CIE Lab (Comisson Internationale de Eclairage). A opacidade foi determinada pelo software do equipamento, sendo calculada a partir da relação entre a opacidade do filme

sobreposto sobre o padrão preto (P_{preto}) e sobre o padrão branco (P_{branco}) de acordo Sobral (1999).

3.6.4 Propriedades mecânicas

A tensão na ruptura (TR), a elongação (E) e o módulo elástico (ME) dos filmes de desintegração oral foram determinadas utilizando um texturômetro TA XT2 (Stable Microsystems SMD, Inglaterra) de acordo com ASTM D882-10 (ASTM, 2010). Amostras dos FDOs foram cortadas em tiras (50 x 25 mm) e acondicionadas em dessecadores contendo solução salina saturada de brometo de sódio (NaBr) (58 % umidade relativa) por um período de 5 dias, em temperatura ambiente (25 °C ± 3). A análise foi realizada mantendo-se a distância inicial e a velocidade do teste constantes em 50 mm e 50 mm/min respectivamente. Os FDOs foram tracionados até a ruptura, a tensão na ruptura e a elongação foram obtidas diretamente das curvas de tensão na ruptura (MPa) *versus* elongação (%). O modulo elástico corresponde ao coeficiente angular da parte linear da curva de tensão na ruptura *versus* elongação.

3.6.5 Ângulo de Contato

O ângulo de contato, entre uma gota de um líquido puro e o filme de desintegração oral, foi determinado utilizando-se um tensiômetro Attension Theta Lite (KSV Instrument), segundo a metodologia proposta por Arya et al. (2010). Amostras dos filmes de desintegração oral foram fixadas na base do equipamento e uma gota de água deionizada (5 µL) foi depositada sobre a superfície dos FDOs utilizando-se uma micro seringa (Hamilton). Imagens foram registradas após 10 segundos utilizando-se a câmera digital do equipamento. As imagens digitais foram analisadas pelo software Attension Theta Lite (Versão 4.1.9.8), para a determinação do ângulo de contato.

3.6.6 pH de superfície

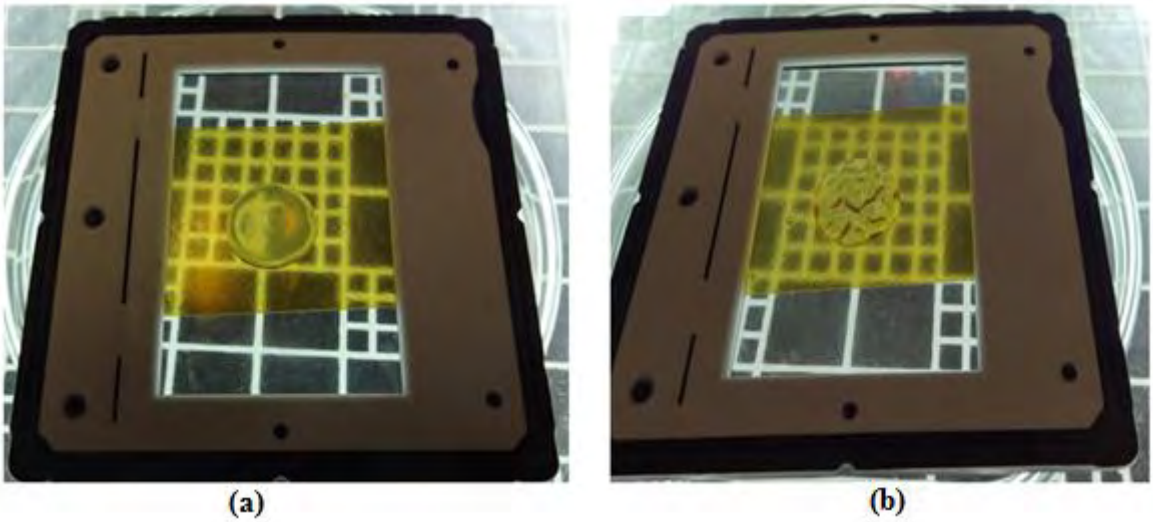
O pH de superfície dos filmes de desintegração oral foi determinado de acordo com Prabhu et al. (2011). Amostras dos FDOs (3 x 2 cm) foram colocadas em um recipiente contendo 0,5 mL de solução tampão fosfato salina, preparada de acordo com Wong et al. (1999). Os filmes de desintegração oral foram mantidos em contato com a solução salina por 30 segundos, após este período, o eletrodo do pHmetro (WTW, 3210) foi colocado em contato com a superfície do filme por 1 minuto e o pH foi registrado.

3.6.7 Determinação do tempo de desintegração dos FDOs

3.6.7.1 Tempo de desintegração *in vitro*

O tempo de desintegração *in vitro* dos filmes de desintegração oral foi determinado de acordo com Garsuch e Breitkreutz (2010). Amostras dos filmes (3 x 2 cm) foram fixadas no suporte “slide frame” (Figura 6.a). O sistema (“slide frame” + filme) foi colocado sobre uma placa de petri (Figura 6) e uma gota de água destilada foi depositada na superfície do filme de desintegração oral. O volume da gota foi fixado em 200 µL de acordo com Janßen et al. (2013). O tempo necessário para a gota dissolver o filme e formar um orifício foi fixado como o tempo de desintegração. Na Figura 7 pode-se observar a formação do orifício no filme de desintegração oral, este momento é fixado como tempo de desintegração.

Figura 7. Sistema utilizado para determinação do tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral: (a) sistema "slide frame" + filme de desintegração oral (sobre placa de Petri) com uma gota de água (200 µL) depositada na superfície e (b) sistema "slide frame" + filme de desintegração oral após a formação do orifício no filme de desintegração oral.



Fonte: Própria autoria.

3.6.7.2 Tempo de desintegração *in vivo*

Para a determinação do tempo de desintegração *in vivo*, os FDOs foram avaliados por uma equipe treinada (2 homens e 8 mulheres, idade entre 25 e 29 anos). O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos da Universidade de São Paulo e aprovado pelo comitê de ética CEP/CONEP (CAAE 16840613.0.0000.5422, Anexo 8.1).

O treinamento da equipe para a determinação do tempo de desintegração foi realizado em 3 etapas, divididas em 8 reuniões, onde os provadores foram treinados a avaliar o tempo de desintegração utilizando uma escala não estruturada, ancoradas com as palavras rápido e lento. A primeira etapa consistiu em treinamentos de grupo, para que os provadores pudessem trocar informações em relação às características dos filmes de desintegração oral. Após o consenso da equipe em relação ao que seria considerado tempo de desintegração rápido e lento, iniciou-se a segunda etapa do treinamento.

A segunda etapa, consistiu no treinamento individual nas cabines do “Laboratório de Análise Sensorial FZEA/USP”. Após esta etapa, foi realizada uma seleção entre os voluntários e a formação da equipe. A terceira etapa consistiu na avaliação do tempo de desintegração dos FDOs com e sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu.

Após a formação da equipe treinada, os filmes de desintegração oral foram codificados de forma aleatória e entregues aos provadores dentro de cabines iluminadas (luz vermelha), para que a coloração dos FDOs não interferisse na determinação do tempo de desintegração. Os FDOs foram colocados na cavidade bucal (entre a língua e palato) pelo próprio provador, anteriormente à análise todos os provadores umedeceram a boca com água. Os provadores avaliaram o atributo tempo de desintegração dos FDOs assinalando empiricamente o tempo de desintegração dos FDOs, através de uma ficha de avaliação ancorada com as palavras rápido e lento (Anexo 8.2). Para tratamentos dos dados obtidos foram realizadas medidas utilizando-se régua, e os valores foram atribuídos como notas.

3.6.8 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros na região do infravermelho foram registrados utilizando-se um espectrômetro Perkin Elmer (Spectrum One). Anteriormente à análise os filmes de desintegração oral foram acondicionados em dessecadores contendo sílica gel por um período de 10 dias. Foram realizadas 16 varreduras na faixa espectral de 650 a 4000 cm^{-1}, com resolução de 2 cm^{-1}, de acordo com Cilurzo et al. (2008). Os espectros foram analisados utilizando-se o programa *FTIR Spectrum Software*.

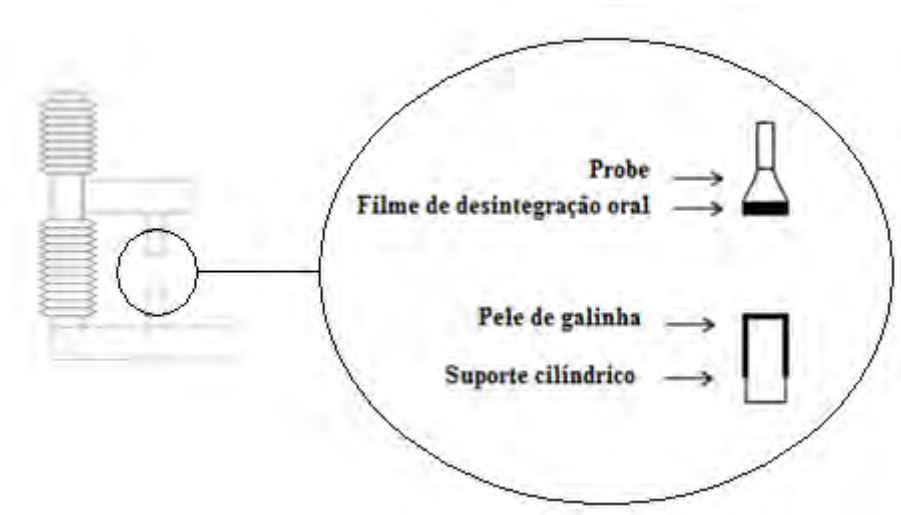
3.6.9 Mucoadesividade dos filmes de desintegração oral

A mucoadesividade dos filmes de desintegração oral foi determinada de acordo com Peh et al. (1999), com modificações, utilizando-se o texturômetro modelo TA.XTPlus

(StableMicroSystems), equipado com uma célula de carga de 20 Kg. Como tecido modelo, para simular a mucosa bucal, foi utilizada pele de galinha, definida de acordo com Wong et al. (1999).

A pele de galinha foi fixada na parte inferior do texturômetro (Figura 8), utilizando-se fita dupla face em um suporte cilíndrico (2 x 4 cm). A cada análise, 100 µL de solução tampão fosfato salina foi uniformemente distribuída sobre a pele de galinha para reidratação. Os filmes de desintegração oral foram cortados (2 cm de diâmetro) e fixados usando uma fita dupla face no probe (2 cm de diâmetro) na parte superior do texturômetro (Figura 6). A pele foi comprimida pelo probe contendo o FDO a uma força constante de 1 N por um período de 10 segundos, e a velocidade de separação foi mantida constante (0,5 mm/s) até uma distância de 15 mm, determinadas de acordo com Peh et al. (1999). A força de desprendimento (mucoadesividade) foi considerada como a força necessária para separar o filme de desintegração oral da pele.

Figura 8. Sistema para determinação da mucoadesividade dos FDOs utilizando-se um texturômetro TA.XTPlus (Própria autoria).



Fonte: Própria autoria.

3.6.10 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos filmes de desintegração oral foi avaliada contra *Streptococcus mutans* e *Cândida albicans*, utilizando-se o método de disco de difusão em ágar descrito na Norma M7 – A6 (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2003). A bactéria gram-positiva e o fungo foram ativados em caldo BHI (Himedia M210) por 24 horas a 37 °C. Após a incubação a solução foi padronizada em espectrofotômetro (FEMTO, Cirrus, 80MB) utilizando-se uma solução de 0,5 McFarland à 625 nm, para obtenção de uma solução contendo 108 células / mL. Essa solução foi espalhada nas placas contendo ágar nutriente com o auxílio de um "swab" pelo método de semeadura em placa de petri (estrias múltiplas). Amostras dos FDOs (2 mm de diâmetro) foram colocadas sobre a superfície da placa inoculada. Como controle negativo, foram utilizados FDOs sem adição de extrato seco de acerola e camu-camu. Como controle positivo para a bactéria, foi utilizado Cloranfenicol. A atividade antimicrobiana foi avaliada através da determinação do diâmetro do halo de inibição formado (mm) após 24h de incubação à 37ºC considerando o diâmetro do filme. A análise foi realizada em duplicata.

3.6.11 Uniformidade da vitamina C dos filmes de desintegração oral

A uniformidade das doses unitárias dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu foram avaliadas de acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010). Amostras (10 unidades) de filmes de desintegração oral produzidos a partir da mesma solução filmogênica foram cortados em 3 x 2 cm e a concentração de vitamina C foi determinada por cromatografia liquida de alta eficiência utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu – Prominence (Bomba: LC 20 AD, injetor automático: SIL20-HT, detector de rede de fotodiodo: SPD-M20A), de acordo com a metodologia proposta por Rosa et al. (2007)

como citado anteriormente na seção 3.3.1, as análises foram realizadas em duplicata. Para a determinação da uniformidade da vitamina C utilizou-se a eq. (2).

$$VA = \left|M - \overline{X}\right| + Ks \qquad (2)$$

Onde: VA = valor de aceitação; $\overline{X}$ = média dos conteúdos individuais (mg / g FDO); K = constante de aceitabilidade; s = desvio padrão da amostra.

3.7 Atividade antioxidante dos filmes de desintegração oral incorporados com extrato seco de acerola e camu-camu

3.7.1 Determinação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre ABTS•+

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ os filmes de desintegração oral com extrato seco de acerola e de camu-camu, amostras (0,1 g de FDO) foram solubilizadas em água (balão volumétrico de 10 mL) e mantidas no banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) durante 10 minutos. Em seguida, a 30 µL desta solução foram adicionados 3 mL do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ e as amostras foram mantidas na ausência de luz por 6 minutos. As absorbâncias foram registradas em espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 35) a 734 nm (RUFINO et al., 2007), conforme descrito anteriormente na seção 3.3.6.1. Os resultados foram expressos em µM trolox equivalente / g de filme.

3.7.2 Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro - FRAP

A atividade antioxidante pelo método de redução de ferro (FRAP) foi realizada de acordo com Benzie et al. (1996), como descrito anteriormente na seção 3.3.6.3. Amostras

(0,02 g de FDO) foram solubilizadas em água (balão volumétrico de 10 mL) e mantidas durante 10 minutos no banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique). Em seguida, a 150 μL desta solução foram adicionados 2850 μL do reagente FRAP. A solução foi mantida em banho-maria (Marconi, MA-127) por 30 minutos, a 37° C. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 35) a 593 nm. A curva de calibração foi preparada utilizando-se trolox como padrão (99,9 a 549,4 μM) e os resultados foram expressos em μM trolox equivalente / g filme.

3.8 Avaliação da estabilidade dos filmes de desintegração oral em relação à atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre DPPH•

Para avaliação da estabilidade em relação à atividade sequestrante de radical DPPH•, amostras de filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu foram armazenadas em dessecadores contendo solução salina de NaCl (umidade relativa de 75 %), e estes dessecadores foram mantidos em estufa incubadora BOD (Marconi, MA 415) à temperatura de 30 °C (DAUD; BONDE; SAPKAL, 2011), por um período de 50 dias para os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola, e 55 dias para os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu.

A atividade sequestrante foi determinada pelo método do sequestro do radical livre DPPH• (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Amostras (0,2 g de FDO) foram solubilizadas em água (balão volumétrico de 25 mL) e as soluções foram mantidas no banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) por 10 minutos. Após este período a 2 mL desta solução foram adicionados 2 mL do radical DPPH• (0,2 mM) (A_1). Simultaneamente, a 2 mL do radical DPPH• foram adicionados 2 mL de etanol (utilizado como controle), definido como A_c, e a 2 mL da solução de FDO, preparada no início, foram adicionados 2 mL de água destilada (A_2). A leitura das absorbâncias (A_1, A_2, A_c) foram realizadas em espectrofotômetro

à 517 nm, após 3 horas de reação. A capacidade antioxidante foi determinada de acordo com Li et al. (2014) seguindo a eq. (3).

$$\text{Capacidade antioxidante } (\%) = \left[\left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_c}\right)100\%\right] \quad (3)$$

Onde: A_1 = absorbância da solução do FDO + solução do radical DPPH•; A_2 = Absorbância do FDO + água; A_c = absorbância do controle.

3.9 Estabilidade da vitamina C nos filmes de desintegração oral

Para avaliação da estabilidade da vitamina C, os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu foram armazenados em dessecadores contendo solução salina de NaCl (umidade relativa de 75%) e estes dessecadores foram mantidos em estufa incubadora BOD (Marconi, MA 415) à temperatura de 30 °C e 40°C de acordo com DAUD; BONDE; SAPKAL, (2011). Amostras (0,5 g de FDO) foram solubilizadas em água ultrapura (pH 2,5) e mantidas em banho ultrassônico (Ultra Clear, 1400 A, Unique) durante 10 minutos, para solubilização dos FDOs. Em seguida, a solução foi filtrada usando um filtro de membrana de Nylon 0,45 μM (Millex), e a concentração de vitamina C foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu – Prominence (Bomba: LC 20 AD, injetor automático: SIL20-HT, detector de rede de fotodiodo: SPD-M20A) de acordo a metodologia proposta por Rosa et al. (2007), como citado anteriormente na seção 3.3.1.

3.10 Avaliação sensorial

A avaliação sensorial dos filmes de desintegração oral com adição do extrato seco de acerola e camu-camu foi realizada de acordo com os princípios éticos da Universidade de São Paulo e aprovada pelo comitê de ética CEP/CONEP (CAAE 16840613.0.0000.5422).

As amostras de FDOs foram submetidas ao teste de aceitação por provadores não treinados. Os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola foram avaliados por 55 provadores (idade entre 22 e 30 anos) e os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu foram avaliados por 64 provadores, com idade entre 20 e 35 anos. Na Figura 8 podemos observar um provador não treinado avaliando as amostras.

Os filmes de desintegração oral foram avaliados usando uma escala hedônica de 9 pontos (1 – Detestei e 9 – Adorei) para os atributos conforto, sabor, sensação e aceitação global (Anexo 7.3 e 7.4). Os filmes de desintegração oral foram codificados de forma aleatória e entregues aos provadores dentro das cabines iluminadas (luz vermelha), (Figura 9). Os FDOs foram colocados na cavidade bucal (entre a língua e palato) pelo próprio provador; previamente à análise, todos os provadores foram orientados a umedecer a boca com água.

Figura 9. Provador não treinado avaliando amostras de filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola em relação aos atributos conforto, sabor, sensação e aceitação global usando uma escala hedônica de 9 pontos.

Fonte: Própria autoria.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE ACEROLA E CAMU-CAMU

4.1.1 Concentração de vitamina C e parâmetros de cor

A concentração de vitamina C e os parâmetros de cor (L*, croma a* e croma b*) da polpa de acerola e camu-camu *in natura* podem ser observadas na Tabela 13. De uma forma geral, a concentração de vitamina C da polpa de acerola e camu-camu foram altas, assim como relatada na literatura.

Assis et al. (2001) avaliaram a concentração de vitamina C na polpa de acerola em diferentes estágios de maturação e reportaram valores na faixa de 957 a 2424 mg / 100 g de polpa. Mercali et al. (2014) verificaram o efeito da frequência do campo elétrico sob a degradação do ácido ascórbico em polpas de acerola *in natura*, anteriormente ao processo realizaram a caracterização da polpa e reportaram que a concentração inicial de vitamina C foi de 1657 mg / 100 g de polpa. Milani et al. (2015) relataram que antes de aplicar o processo de clarificação a polpa de acerola *in natura* apresentou um percentual de vitamina C de 806 mg / 100 g de polpa.

A concentração de vitamina C da polpa de camu-camu foi superior à concentração da polpa de acerola (Tabela 1). De acordo com Maeda et al. (2009) o camu-camu é um fruto com notável potencial nutricional.

Tabela 13. Concentração de vitamina C ($C_{vitamina\ C}$), e luminosidade (L*), croma a* (a*) e croma b* (b*) da polpa de acerola e camu-camu.

Análise	Polpa de acerola	Polpa de camu-camu
$C_{vitamina\ C}$ (mg / 100 g de polpa b.s)	2063,8 ± 137,9	6754,7 ± 215,8
L*	34,6 ± 0,8	49,1 ± 2,1
a*	10,9 ± 0,6	8,4 ± 0,9
b*	21,5 ± 0,7	7,8 ± 0,5

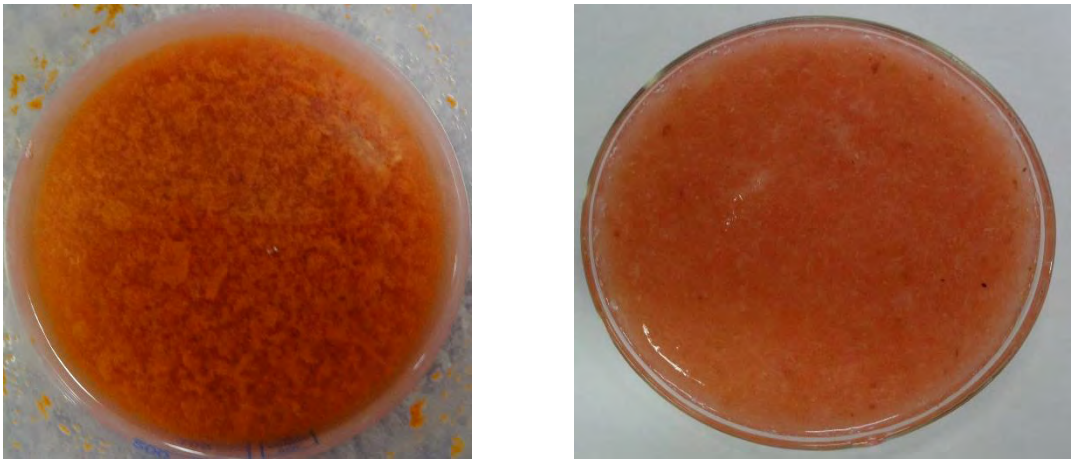
Fonte: Própria autoria.

Yayama et al. (2002) avaliaram a concentração de vitamina C de polpa de frutos de camu-camu provenientes da região leste de Roraima, e a concentração de vitamina C variou de 3571,1 a 6112,1 mg / 100 g. Maeda et al. (2006) relataram que a polpa de camu-camu *in natura* utilizada para produção de néctar, apresentou uma concentração de vitamina C de 2585,4 mg / 100 g. Silva et al. (2006) reportaram que anteriormente ao processo de secagem por *spray dryer*, a polpa de camu-camu *in natura* apresentou uma concentração de vitamina C de 1603 mg / 100 g. Neves et al. (2015) avaliaram os compostos antioxidantes da polpa de camu-camu em diferentes estágios de maturação e reportaram a concentração de vitamina C na polpa *in natura* é de 4752,2 mg / 100 g.

De acordo com Vissotto et al. (2003) a grande variação na concentração de compostos bioativos entre as polpas de frutas pode ser associado a fatores intrínsecos (espécies, cultivar e estádio de maturação) e extrínsecas (condições ambientais, armazenamento e processamento).

Em relação aos parâmetros de cor (Tabela 13) observou-se valores positivos para todos os parâmetros avaliados (L*, a*, b*). Os maiores valores do croma b* para polpa de acerola indicam uma tendência a coloração vermelha, como pode ser observado visualmente na Figura 10.a. Os parâmetros de cor reportados para polpa de acerola foram similares aos reportados por Mercali et al. (2014), luminosidade L* 44,1; croma a* 7,8 e croma b* 20,1, indicando uma tendência a coloração vermelha.

Figura 10. Polpas *in natura*, (a) polpa de acerola, (b) polpa de camu-camu.



(a) (b)

Fonte: Própria autoria.

Os valores observados para os cromas a* e b* na polpa de camu-camu (Tabela 13) indicam uma coloração avermelhado que corroboram com o observado visualmente na Figura 10.b. Os resultados determinados nos parâmetros de cor (L*, a*, b*) corroboram com o observado visualmente considerando o sólido de cor observado no sistema Cie Lab (Figura 11).

Figura 11. Sólido de cor do sistema Cie Lab.

Fonte: HunterLab (2012)

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO DE ACEROLA E CAMU-CAMU

4.2.1 Concentração de vitamina C, higroscopicidade, atividade de água e parâmetros de cor

Os resultados relacionados à caracterização do extrato seco de acerola e camu-camu obtidos por “spray dryer” podem ser observados na Tabela 14. Para os extratos secos de acerola e camu-camu observou-se uma redução da concentração de vitamina C em relação a concentração desta na polpa (Tabela 14). Possivelmente esta redução está relacionada com a degradação da vitamina C durante o processo de secagem.

Alguns trabalhos na literatura reportaram a concentração de vitamina C para o extrato seco de acerola. Moreira et al. (2010) avaliaram o impacto dos parâmetros de processamento na secagem por spray dryer (temperatura e substituição da maltodextrina por goma do cajueiro) de polpa de acerola e reportaram valores de 3645,53 mg / 100 g extrato seco de acerola, utilizando-se no processo de secagem temperatura de entrada de 170 °C e substituição total da maltodextrina por goma do cajueiro (100 %).

Nóbrega et al. (2014) avaliaram o efeito da secagem com ar quente sob diferentes condições de temperatura (60 °C, 70 °C e 80 °C) e a velocidade do ar (4, 5 e 6 m/s) em relação as características físico químicas (cor, concentração de compostos bioativos e capacidade antioxidante) de resíduos agroindustriais de acerola e reportaram que a vitamina C variou de 765,3 a 406,0 mg / 100g, de acordo com a temperatura de secagem.

Tabela 14. Concentração de vitamina C ($C_{vitamina\ C}$), higroscopicidade, atividade de água, umidade, luminosidade (L*), croma a* (a*) e croma b* (b*) do extrato seco de acerola e camu-camu obtido por spray dryer.

Análise	Extrato de acerola	Extrato de camu-camu
$C_{vitamina\ C}$ (mg / 100 g de extrato seco)	1593,2 ± 64,3	6690,4 ± 137,6
Higroscopicidade (g de H_2O / 100 g de extrato seco)	78,1 ± 2,5	44,1 ± 4,1
Atividade de Água	0,25 ± 0,01	0,37 ± 0,01
Umidade (g / 100 g de extrato seco)	3,9 ± 0,1	2,5 ± 0,4
L*	65,4 ± 1,2	79,9 ± 1,1
a*	15,1 ± 0,1	7,7 ± 0,3
b*	27,1 ± 0,6	6,7 ± 0,4

Fonte: Própria autoria.

O extrato seco de camu-camu apresentou uma concentração de vitamina C de 6690,4 mg / 100 g de extrato seco (Tabela 14), condizente com os resultados reportados por Souza (2012) que avaliou o processo de secagem por “spray dryer” do suco de camu-camu retido no processo de microfiltração e reportou que no extrato microencapsulado por spray dryer com temperatura de entrada de 192 °C e concentração de agente carreador 1:2 (uma parte de sólidos do suco para duas partes de material encapsulante) observou-se uma concentração de vitamina C de 6222,00 mg / 100 g e 6483,00 mg / 100 g, quando utilizado amido e maltodextrina como agente encapsulante, respectivamente.

Rodrigues et al. (2015) avaliaram a secagem por spray dryer da fração retida do suco de camu-camu processado por microfiltração e reportaram valores de vitamina C de 4630,1 mg / 100 g de extrato, utilizando como agente carreador a maltodextrina (1:2, suco:maltodextrina).

Em relação à higroscopicidade (Tabela 14) verificou-se que a higroscopicidade do extrato seco de acerola foi superior à do extrato seco de camu-camu. A maior higroscopicidade do extrato seco de acerola pode estar associada a menor concentração de

agente carreador adicionado para produção do extrato seco de acerola (5 %). Tonon et al. (2008) produziram extrato seco de polpa de açaí por “spray dryer” e reportaram que nas maiores concentrações de agente carreador (maltodextrina), observou-se um menor valor de higroscopicidade e relataram que a concentração de maltodextrina afeta diretamente a higroscopicidade de pós.

Observou-se valores reduzidos de atividade de água para o extrato seco de acerola e camu-camu (Tabela 14), garantindo uma boa estabilidade dos pós obtidos. Singh e Heldman (1993), relataram que valores de atividade de água entre 0,20 e 0,40, garante uma boa estabilidade dos pós armazenados contra oxidação lipídica e reações enzimáticas e não enzimáticas. De acordo com Bell e Lapuza (1992) o crescimento microbiano é proveniente da atividade de água entre 0,6 e 0,7. Desta forma, podemos afirmar que os extratos secos de acerola e camu-camu podem apresentar boa estabilidade.

Os extratos secos de acerola e camu-camu também apresentaram um valor reduzido de umidade (Tabela 14), indicando eficiência no processo de secagem. De acordo com Oliveira e Petrovick (2010) as variáveis de secagem devem ser controladas visando à obtenção de rendimento e teor de umidade adequado. Moreira et al. (2009) relataram que a umidade do extrato de acerola obtido por spray dryer pode variar de 3,09% a 5,43%, de acordo com a quantidade de agente carreador adicionado.

Os parâmetros de cor do extrato seco de acerola e camu-camu podem ser observados na Tabela 14. De modo geral, os extratos secos de acerola e camu-camu apresentaram valores superiores em relação a polpa *in natura*, o que pode estar relacionado a concentração de maltodextrina adicionada. Para a obtenção do extrato seco de camu-camu a concentração de maltodextrina foi superior em relação ao extrato seco de acerola, obtendo-se um maior valor do parâmetro L* e consequentemente uma maior tendência a coloração branca (Figura 12), o que corrobora com os parâmetros de cor do sistema Cie Lab (Figura 11).

Figura 12. Extratos secos obtidos por spray dryer: (a) extrato seco de acerola e (b) extrato seco de camu-camu.

(a) (b)

Fonte: Própria autoria.

De acordo com Ferrari et al. (2012) a maltodextrina possui coloração branca, e uma vez adicionada na polpa durante o processo de secagem pode diluir os pigmentos presentes na fruta, torando-a mais clara.

Em relação aos parâmetros croma a* e croma b* (Tabela 14), observou-se um aumento destes parâmetros no extrato seco de acerola em relação a polpa *in natura*, indicando uma coloração tendendo ao vermelho. No extrato seco de camu-camu observou-se uma redução do croma a* e croma b* (Tabela 14), em comparação com a polpa *in natura*, indicando uma coloração tendendo ao vermelho claro.

4.2.2 Atividade antioxidante do Extrato seco de acerola avaliado pelo sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e pelo poder de redução do ferro (FRAP)

Na Tabela 15 pode-se observar a atividade antioxidante dos extratos secos de acerola e camu-camu avaliados por diferentes métodos. De modo geral, observou diferença significativa em relação ao extrato seco de acerola e camu-camu em relação aos métodos

avaliados, evidenciando-se uma maior atividade antioxidante para o extrato seco de camu-camu (Tabela 15).

Em relação ao método de DPPH• (Tabela 15), foram calculados os valores de $EC_{50,}$ que corresponde à quantidade de extrato necessário para reduzir o radical DPPH• em 50%. De modo geral, os dois extratos secos (acerola e camu-camu) apresentaram uma alta capacidade antioxidante por esse método.

Tabela 15. Atividade antioxidante do extrato seco de acerola e camu-camu avaliado pelos métodos de radicais $ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e FRAP.

Método	Extrato seco de acerola	Extrato seco de camu-camu
$ABTS^{\bullet+a}$	$1423,4 \pm 32,6^{b}$	$4114,6 \pm 122,6^{a}$
DPPH• $(EC_{50})^{b}$	$2,3 \pm 0,05^{a}$	$1,4 \pm 0,03^{b}$
$FRAP^{c}$	$5068,4 \pm 477,1^{b}$	$6283,4 \pm 385,7^{a}$

Nota: [a] $ABTS^{\bullet+}$ os valores foram expressos como µMol de trolox equivalente/ 100 g de extrato; [b]DPPH os valores foram expressos como mg/mL; [c]FRAP os valores foram expressos como µMol de trolox equivalente/100g de extrato. Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa. Fonte: Própria autoria.

De acordo com a Tabela 15 os valores da atividade antioxidante obtidos pelo método FRAP, indicam que os dois extratos obtidos a partir do spray dryer também apresentam capacidade redutora dos íons de ferro. Mezadri et al. (2008) avaliaram a atividade antioxidante de acerola *in natura*, polpas comercias e suco de acerola e reportaram uma alta atividade antioxidante *in vitro* para os métodos avaliados ($ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e ORAC), sendo a vitamina C responsável por 40 % a 83 % desta atividade antioxidante.

De acordo com Assis et al. (2001) a acerola é rica em vitamina C, bem como caroteno, tiamina, riboflavina, niacina, proteínas, sais minerais, principalmente cálcio, fósforo e ferro.

Fracassetti et al. (2013) avaliaram as características antioxidantes do extrato seco de camu-camu obtido por “spray-dryer” com adição de 10 % de maltodextrina e reportaram valores de $ABTS^{\bullet+}$ de 167,5 µMol de trolox equivalente / 100 g de extrato seco, considerando o extrato uma boa fonte de compostos bioativos potencialmente benéficos para saúde.

Avaliando a correlação entre a concentração de vitamina C e atividade antioxidante verificou-se que entre todos os métodos utilizados, uma maior correlação com o poder redutor de ferro (FRAP) dos extratos de acerola e camu-camu (Tabela 16). O presente estudo também evidenciou uma fraca correlação entre a concentração de vitamina C e o DPPH• e o $ABTS^{\bullet+}$.

Tabela 16. Coeficiente de correlação do extrato seco de acerola e camu-camu entre a concentração de vitamina C e atividade antioxidante ($ABTS^{\bullet+}$, DPPH• e FRAP)

Método	Coeficiente de correlação (R^2)	
	Extrato seco de acerola	Extrato seco de camu-camu
$ABTS^{\bullet+}$	0,38	0,47
DPPH• (EC_{50})	0,12	0,49
FRAP	0,84	0,81

Fonte: Própria autoria.

Chirinos et al. (2010) reportaram uma correlação positiva entre os compostos fenólicos e o DPPH (r^2 = 0,93), porém entre a vitamina C e o DPPH• a correlação foi baixa (r^2 = 0,19), assim como observado neste trabalho, os autores sugerem que a capacidade antioxidante é resultado da presença de compostos fenólicos.

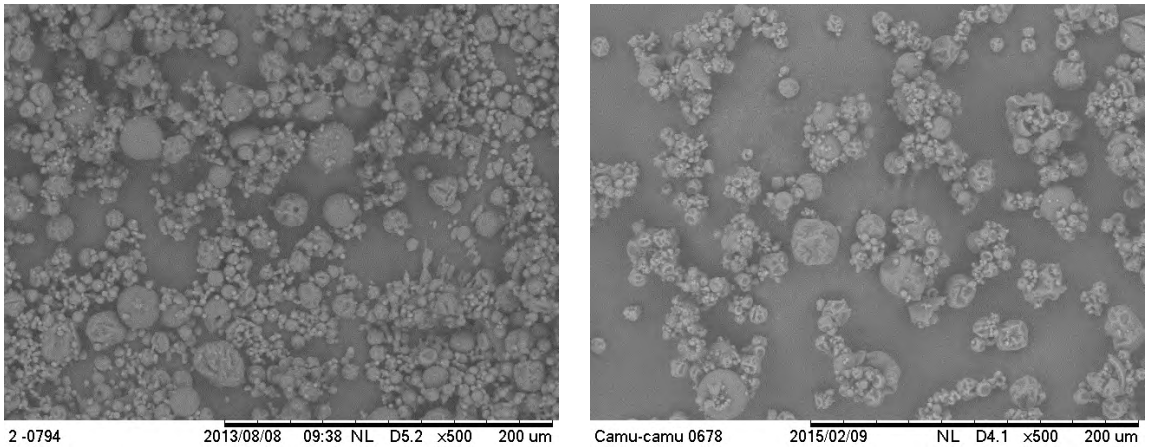
Oliveira et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante de diferentes fontes de vitamina C (goiaba, manga e mamão) e também evidenciaram uma fraca correlação entre a concentração de vitamina C e o sequestro do radical DPPH• (r^2 = 0,17), relatando ainda uma

forte correlação em relação a concentração de compostos fenólicos (r^2 = 0,93) para as frutas avaliadas.

4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura

Na Figura 13 pode-se observar as micrografias do extrato seco de acerola (Figura 13.a) e do extrato seco de camu-camu (Figura 13.b). De um modo geral, a secagem da polpa de acerola e camu-camu acarretou a formação de partículas esféricas com diferentes tamanhos. A característica da formação de partículas esféricas é relatada na literatura como uma característica dos pós obtidos por "spray dryer".

Figura 13. Micrografias do extrato seco obtida por spray dryer com aumento de 500x, sendo: (a) extrato seco de acerola; (b) extrato seco de camu-camu.



(a) (b)

Fonte: Própria autoria.

Tonon et al. (2009) observaram a formação de partículas esféricas na secagem de polpa de açaí por "spray dryer", e relataram que este formato é característico de pós produzidas por este sistema de secagem.

Dib Taxi et al. (2003) estudaram o processo de microencapsulação de suco de camu-camu por “spray dryer” utilizando como agente carreador a maltodextrina e também observaram a formação de partículas com diferentes tamanhos e formatos esféricos nas mesmas condições de secagem utilizadas neste trabalho (temperatura de entrada 150 °C e 15 % de maltodextrina).

4.2.4 Estabilidade da vitamina C no extrato seco de acerola e camu-camu

Nas Figuras 14.a e 14.b observou-se os resultados da estabilidade da vitamina C dos extratos secos de acerola e camu-camu, respectivamente, em função do tempo de armazenamento.

De modo geral, foram observadas diferenças entre os valores médios da vitamina C do extrato seco de acerola e camu-camu para os diferentes tempos e condições de armazenamento. No mesmo período de armazenamento (30 dias), o extrato seco de acerola apresentou uma redução da vitamina C de 77,8 % e o camu-camu 39,5 % (T 30 °C, UR 75 %), efeito similar foi observado para os extratos armazenados na temperatura de 40 °C (UR 75 %) para o mesmo período, onde o extrato seco de acerola apresentou uma redução da concentração de vitamina C de 91,3 % e o extrato seco de camu-camu 57,1 %, nos dois casos evidenciou-se uma maior taxa de degradação da vitamina C para o extrato seco de acerola durante o armazenamento.

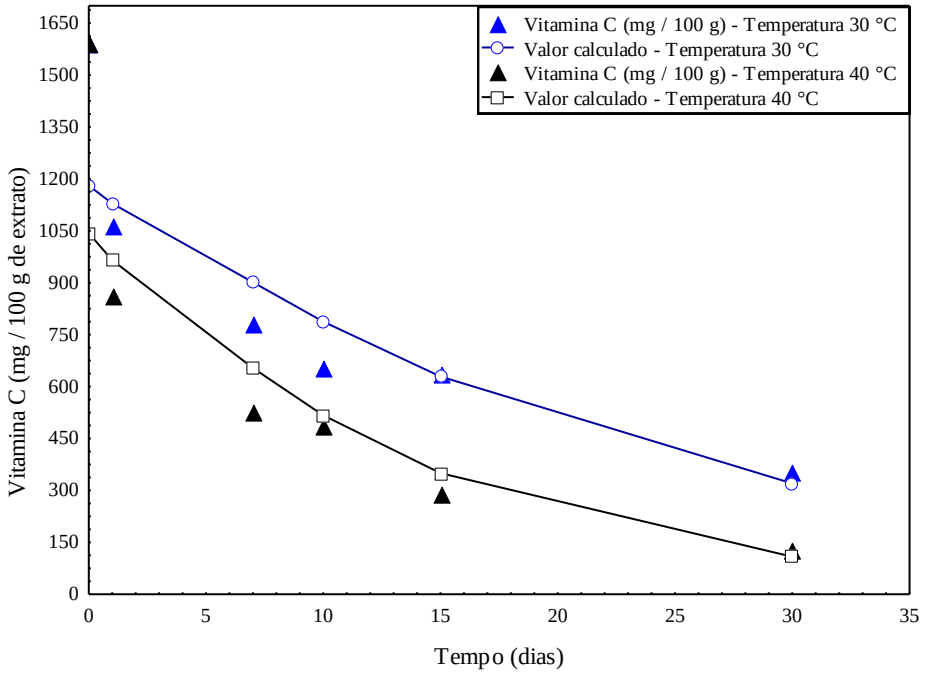
Além da menor concentração inicial de vitamina C no extrato seco de acerola, outro fator que pode estar associado a maior estabilidade do extrato seco de camu-camu é a concentração de maltodextrina. Alguns trabalhos relatam que a maltodextrina pode agir como agente encapsulante, conferindo maior estabilidade a vitamina C.

Dib Taxi et al. (2003) reportaram que a utilização de maltodextrina como agente carreador é eficiente para conservação da vitamina C durante o processo de secagem,

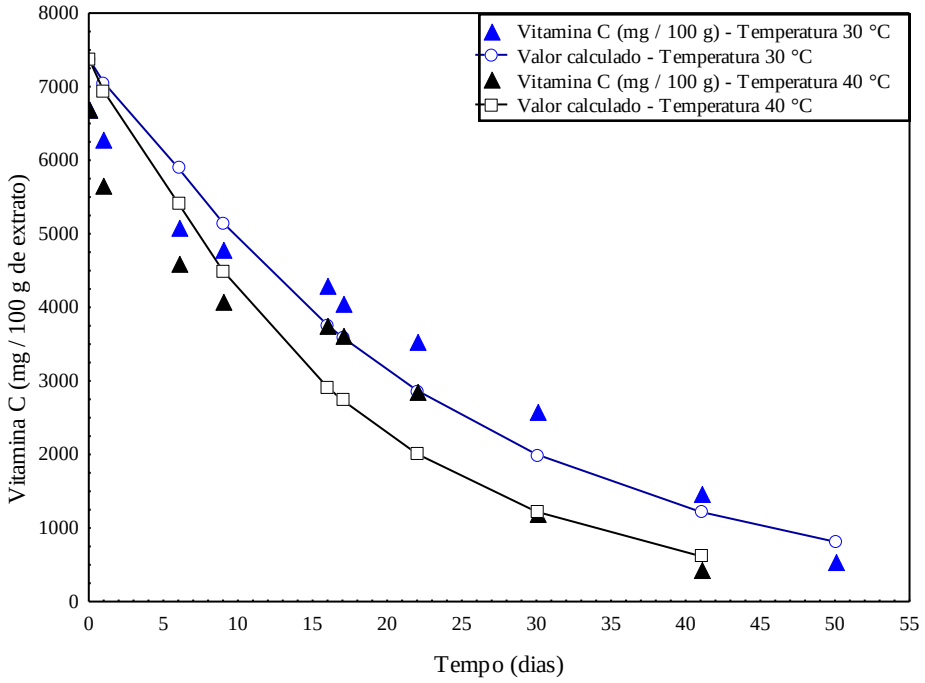
indicando eficiência no processo de microencapsulação. Righetto et al. (2005) também verificaram eficiência na utilização de maltodextrina como agente encapsulante em suco de acerola.

Além da temperatura, o aumento da atividade de água e da umidade do extrato, acarretados pela alta umidade relativa de armazenamento (UR 75 %), também podem estar associados a velocidade de degradação da vitamina C.

Figura 14. Dados experimentais e calculados da cinética de degradação da vitamina C em diferentes temperaturas (30 e 40 °C) e umidade relativa de 75 %, sendo (a) extrato seco de acerola e (b) extrato seco de camu-camu.



(a)



(b)

Fonte: Própria autoria.

A concentração de vitamina C do extrato seco de acerola e camu-camu ao longo do tempo armazenamento apresentaram praticamente o mesmo perfil de degradação, nas duas temperaturas avaliadas, porém de acordo com a taxa de degradação (Tabela 17), verificou-se maior taxa de degradação na temperatura de 40 °C. Possivelmente a temperatura influenciou de forma negativa no teor de vitamina C presente nos extratos secos de acerola e camu-camu, uma vez que as taxas de degradação foram maiores com o aumento da temperatura.

Tabela 17. Taxa de degradação do extrato seco de acerola e camu-camu armazenado em diferentes temperaturas e umidade relativa de 75%.

Extrato seco	Temperatura	*k* (Taxa de degradação)	R^2
Acerola	30 °C	-0,045	0,88
	40 °C	-0,078	0,92
Camu-camu	30 °C	-0,045	0,93
	40 °C	-0,062	0,92

Fonte: Própria autoria.

Trindade e Grosso (2000) estudaram o processo de microencapsulação de vitamina C por “spray dryer”, utilizando como agente carreador o amido de arroz, gelatina e goma arábica e reportaram que os testes de estabilidade da concentração de vitamina C à 21 ºC e 45 ºC em diferentes umidades relativas revelou que a goma arábica foi relativamente estável em 21 ºC (60 % de umidade relativa) e o aumento da temperatura (45 ºC) reduziu a estabilidade da vitamina C.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE DESINTEGRAÇÃO ORAL

4.3.1 Avaliação visual

Os resultados da avaliação visual podem ser observados na Tabela 18. Os filmes de desintegração oral produzidos à base de amido e gelatina, independente da formulação, mostraram-se homogêneos, com ausência de partículas insolúveis, ausência de zonas de descontinuidade e facilidade para a retirada do suporte.

Tabela 18. Avaliação visual dos filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).

Concentração de amido (g / 100g de polímeros)	Homogeneidade	Capacidade de formação de filme	Manuseabilidade
0	+	+	+
10	+	+	+
20	+	+	+
30	+	+	+
40	+	+	+
50	+	+	+
60	+	+	+
70	+	+	+
80	+	+	+
90	+	+	+
100	+	+	+

Nota: + Boa

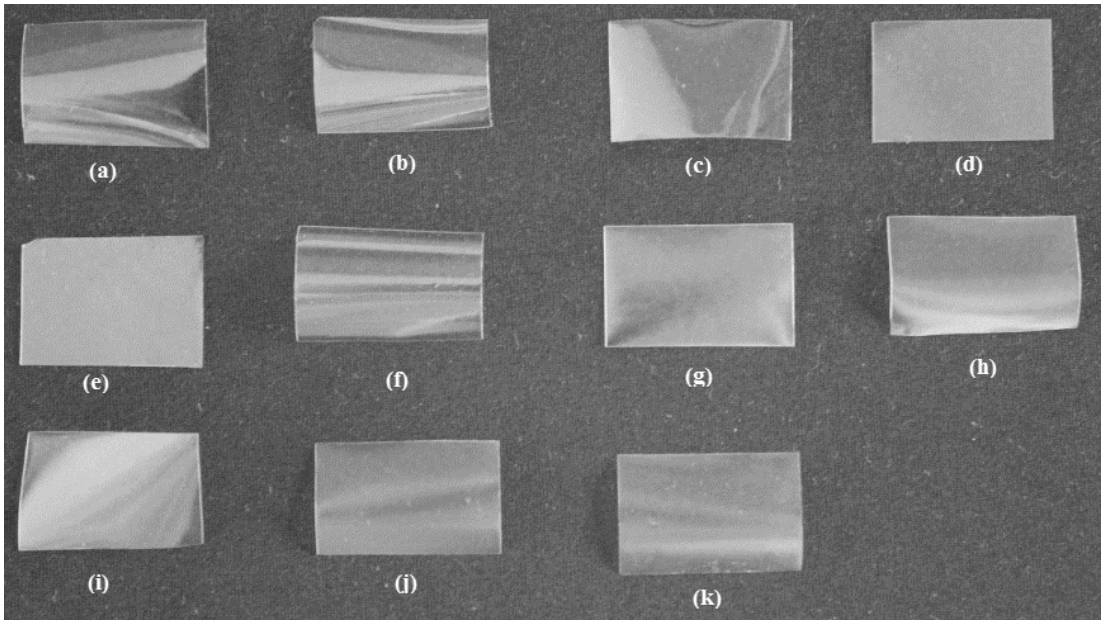
As características relatadas na Tabela 18 corroboram o que foi observado visualmente (Figura 15). Analisando-se os filmes de desintegração oral (Figura 15), observou-se que todas as formulações, visualmente, apresentam alta capacidade de formação de filme.

Na literatura existem trabalhos que reportam a produção de filmes de desintegração à base de amido de milho (Liew et al., 2012), amido de ervilha (Preis et al., 2012), gelatina (Borges et al., 2015), gelatina e quitosana (Abruzzo et al., 2012), porém os autores não

avaliam a aparência visual dos filmes de desintegração oral. Também não foram encontrados na literatura a produção de filmes de desintegração oral a partir da blenda amido e gelatina.

Por outro lado, Fakhoury et al. (2012) produziram filmes comestíveis à base de amido e gelatina (4:1, 1:1, 1:4, amido:gelatina), plastificados com sorbitol, e reportaram que todas as formulações desenvolvidas foram consideradas homogêneas e fáceis de manusear, além de não apresentarem resíduos no suporte após a remoção dos filmes.

Figura 15. Exemplos de filmes de desintegração oral produzidos com diferentes concentrações de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros): (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Fonte: Própria autoria.

4.3.2 Cor e Opacidade

Os parâmetros de cor (L*, croma a*e croma b*) e opacidade dos filmes de desintegração oral podem ser observados na Tabela 19. De maneira geral, observou-se aumento da luminosidade dos filmes de desintegração oral com o aumento da concentração de

amido (Tabela 19), sendo que os filmes produzidos à base de gelatina (0 g de amido / 100 g de polímeros) apresentaram diferença significativa em relação aos filmes com adição de amido, independente da concentração.

Em relação ao croma a* (Tabela 19) observou-se um aumento nos valores deste parâmetro em função do aumento da concentração de amido. Efeito contrário foi observado no croma b* (Tabela 19), onde o aumento da concentração de amido acarretou, de forma geral, uma redução nos valores do croma b*. Como os valores do croma a* e b* encontram-se muito próximos a zero, e com base no sólido de cores (Figura 11), pode-se considerar que os filmes de desintegração oral apresentaram uma coloração acinzentada.

Tabela 19. Efeito do aumento da concentração de amido nos filmes de desintegração oral na luminosidade (L*), croma a* (a*), croma b* (b*) e opacidade.

Concentração de amido (g / 100g de polímeros)	L	a*	b*	Opacidade
0	86,7±0,2^{e}	-1,0±0,1^{a}	1,9±0,2^{a}	0,2±0,1^{d}
10	87,6±0,1^{d}	-1,0±0,1^{ab}	1,8±0,1^{a}	0,2±0,1^{d}
20	87,4±0,2^{d}	-1,0±0,1^{ab}	1,8±0,1^{a}	0,3±0,1^{d}
30	87,5±0,5^{d}	-1,0±0,1^{ab}	1,9±0,1^{a}	0,3±0,1^{d}
40	87,6±0,1^{d}	-1,0±0,1^{ab}	1,8±0,1^{a}	0,3±0,1^{d}
50	88,1±0,1^{c}	-1,0±0,1^{ab}	1,8±0,1^{a}	0,3±0,1^{d}
60	88,5±0,1^{c}	-0,9±0,1^{ab}	1,8±0,1^{ab}	0,5±0,1^{c}
70	88,5±0,4^{c}	-0,9±0,1^{ab}	1,7±0,1^{ab}	0,6±0,1^{c}
80	90,1±0,5^{b}	-0,9±0,1^{b}	1,8±0,2^{ab}	0,8±0,1^{b}
90	91,1±0,3^{a}	-0,9±0,1^{b}	1,6±0,1^{b}	0,9±0,1^{b}
100	91,3±0,1^{a}	-0,9±0,1^{b}	1,6±0,1^{b}	1,2±0,1^{a}

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Observou-se, em geral, um aumento da opacidade nos filmes de desintegração oral produzidos com as maiores concentrações de amido (Tabela 19), possivelmente o aumento da

opacidade ocorreu devido à formação de áreas cristalinas formadas pelo processo de retrogradação.

De acordo com Denardin et al. (2009), o processo de retrogradação pode influenciar na opacidade dos filmes, pois as moléculas perdem energia, e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes, associando-se num estado mais ordenado, formando áreas mais cristalinas.

4.3.3 Propriedades mecânicas

O efeito do aumento da concentração de amido na tensão na ruptura (TR), elongação (E) e modulo elástico (ME) nos filmes de desintegração oral podem ser observados na Tabela 20. Não foram observadas diferenças significativas em relação à espessura dos filmes de desintegração oral com o aumento da concentração de amido, que variou de 0,070 a 0,072 mm, indicando um controle eficiente durante o processo de produção dos filmes de desintegração oral.

A coesividade da matriz polimérica é fortemente afetada pelas interações macromolécula-macromolécula e macromolécula-plastificante. Os resultados indicam que o aumento da concentração de amido aumenta a rigidez da matriz polimérica (redução da tensão na ruptura, elongação e módulo elástico). Aparentemente a incorporação do amido reduz a coesividade, pois afetou as interações proteína-proteína e proteína-plastificante, tornando o filme mais quebradiço.

Filmes com maiores concentrações de gelatina apresentaram maior tensão de ruptura, sugerindo maior interação amido-gelatina. Resultados semelhantes foram reportados por Tongdeeesoontorn et al. (2012), que avaliaram o efeito do aumento da concentração de gelatina em filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de gelatina e amido, sugerindo que

o comportamento observado está relacionado à formação de pontes de hidrogênio entre os grupos OH^- do amido e NH_3 da gelatina.

Efeitos contrários foram reportados na literatura para as propriedades mecânicas (tensão na ruptura, elongação e módulo elástico). Pranoto, Lee e Park (2007) observaram que a incorporação de polissacarídeos em filmes à base de gelatina de peixe provocou aumento na tensão na ruptura e elongação, justificando esse aumento com a interação da gelatina com os polissacarídeos, consequentemente aumentando a resistência dos filmes.

Al-Hassan e Norziah (2012) produziram filmes à base de amido de sagu e observaram redução da tensão de ruptura e módulo elástico, e aumento da elongação, devido a adição de gelatina de peixe, sugerindo que a resistência e a flexibilidade dos filmes podem ser modificadas pela relação polissacarídeos:proteínas.

Tabela 20. Efeito do aumento da concentração de amido nos filmes de desintegração oral na espessura, tensão na ruptura (TR), elongação (E) e módulo elástico (ME).

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Espessura (mm)	TR (MPa)	E (%)	ME (MPa)
0	0,070±0,003^{a}	73,0±3,4^{a}	14,0±5,7^{a}	1436,3±290,7^{a}
10	0,071±0,004^{a}	61,6±5,7^{b}	11,3±4,0^{ab}	1300,6±268,9^{ab}
20	0,071±0,005^{a}	57,5±6,1^{b}	11,1±1,4^{ab}	1459,2±232,8^{a}
30	0,072±0,005^{a}	50,5±5,3^{c}	9,3±4,7^{bc}	1175,4±348.1^{ab}
40	0,069±0,005^{a}	46,8±4,7^{c}	7,1±1,7^{cd}	1193,3±322,3^{ab}
50	0,074±0,006^{a}	46,4±2,2^{c}	6,9±1,5^{cde}	1267,8±287,8^{ab}
60	0,071±0,005^{a}	34,9±9,1^{d}	3,3±0,9^{e}	1000,3±475,2^{b}
70	0,072±0,005^{a}	33,3±3,6^{d}	3,4±0,2^{e}	1068,0±137,0^{b}
80	0,071±0,004^{a}	32,7±3,2^{d}	5,6±1,6^{de}	1042,0±311,0^{b}
90	0,072±0,006^{a}	31,5±1,7^{d}	4,8±1,4^{de}	1039,5±358,3^{b}
100	0,070±0,004^{a}	29,7±3,2^{d}	3,6±1,5^{de}	981,2±330,1^{b}

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

As diferenças observadas em relação às propriedades mecânicas obtidas no presente trabalho e outros trabalhos reportados na literatura podem estar relacionadas a diferentes parâmetros envolvidos no processo de produção: temperatura de secagem, umidade de secagem, concentração de macromoléculas, tipos de plastificantes, dentre outros.

4.3.4 Ângulo de contato e pH de superfície dos FDO

Na Tabela 21 pode-se observar os resultados de ângulo de contato dos filmes de desintegração à base de amido e gelatina, com aumento da concentração de amido.

De um modo geral, apenas os filmes de desintegração oral à base de amido (100 g / 100 g de polímeros) e gelatina (0 g / 100 g de polímeros) apresentaram diferença significativa em relação ao ângulo de contato. Os filmes de amido apresentaram menor ângulo de contato, indicando que possuem maior afinidade com a água e, embora não seja significativo, o aumento da concentração de amido provocou redução no valor do ângulo de contato (Tabela 21).

Tabela 21. Efeito do aumento da concentração de amido dos filmes de desintegração oral no valor do ângulo de contato e pH de superfície.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Ângulo de Contato	pH de superfície
0	87,9±5,1[a]	6,9±0,01[a]
10	86,9±8,1[ab]	6,9±0,01[a]
20	86,4±2,9[abc]	6,9±0,01[a]
30	86,2±3,1[abc]	6,9±0,01[a]
40	84,8±6,5[abc]	6,9±0,01[a]
50	84,2±6,1[abc]	6,9±0,01[a]
60	84,1±3,5[abc]	6,9±0,01[a]
70	83,4±6,3[abc]	6,9±0,01[a]
80	82,9±6,8[abc]	6,9±0,01[a]
90	81,3±4,4[bc]	6,9±0,01[a]
100	80,7±3,7[c]	6,9±0,01[a]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).

Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Zhang et al. (2013) estudaram um material para produção de cápsulas e observaram que o amido apresentou ângulo de contato inferior ao da gelatina, 72,3 ° e 113,7 °, respectivamente, indicando que o amido é mais hidrofílico. Borges et al. (2013) reportaram, para filmes de desintegração oral à base de gelatina, um ângulo de contato de 88,3 °.

De acordo com Wang et al. (1999) o pH bucal situa-se na faixa de 6,8. Verificou-se que independente da formulação, os valores de pH de superfície (Tabela 21) permaneceram próximos ao pH bucal (6,9). Irritações na mucosa da cavidade oral podem ocorrer devido ao pH ácido ou alcalino dos filmes de desintegração oral, e valores próximo ao pH neutro impedem qualquer tipo de irritação (DAUD; BONDE; SAPKAL, 2011).

Manhar et al. (2013) produziram filmes mucoadesivos à base de misturas poliméricas, como eudragit, hidroxipropil metilcelulose e carboximeltil celulose e relataram que o pH de superfície dos filmes permaneceu constante (6,7 - 7,0) por um período de 6 horas, confirmando que o pH de superfície dos filmes ficou próximo ao neutro, sugerindo que a mistura polimérica foi adequada para aplicação na mucosa oral. Em filmes de desintegração à base de álcool polivinílico aditivados com cloridrato de fluoxetina, Chavala et al. (2015) também observaram pH de superfície próximo ao bucal, evitando qualquer tipo de irritação na mucosa bucal.

4.3.5 Determinação do tempo de desintegração dos FDOs

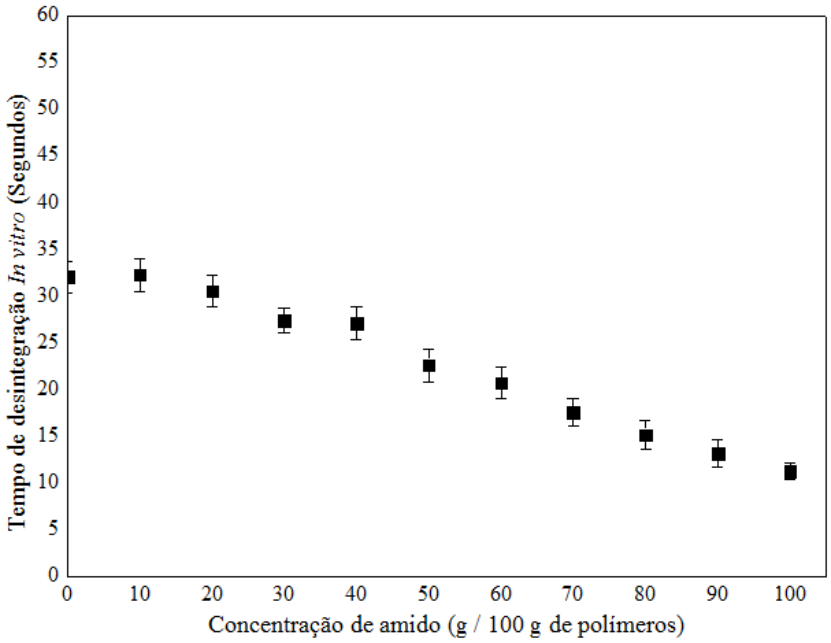
4.3.5.1 Tempo de desintegração *In vitro*

O tempo de desintegração dos FDOs podem ser observados na Figura 16. Os filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina apresentaram um reduzido tempo de desintegração (< 35 segundos), independente da concentração de amido, classificados como

filmes de desintegração oral de liberação rápida, pois, de acordo com Jyoti et al. (2011), os FDOs que apresentam tempo de desintegração inferior a 60 segundos, são classificados como filmes de liberação rápida.

O aumento da concentração de amido provocou uma redução linear no tempo de desintegração dos FDOs (t desintegração = -0,2296 C amido + 34,25; R^2 = 0,98). Possivelmente esta redução linear no tempo de desintegração está relacionada com a maior hidrofilicidade do amido, o que corrobora os resultados observados no ângulo de contato (Tabela 21).

Figura 16. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral no tempo de desintegração nos testes *in vitro*.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05).
Fonte: Própria autoria.

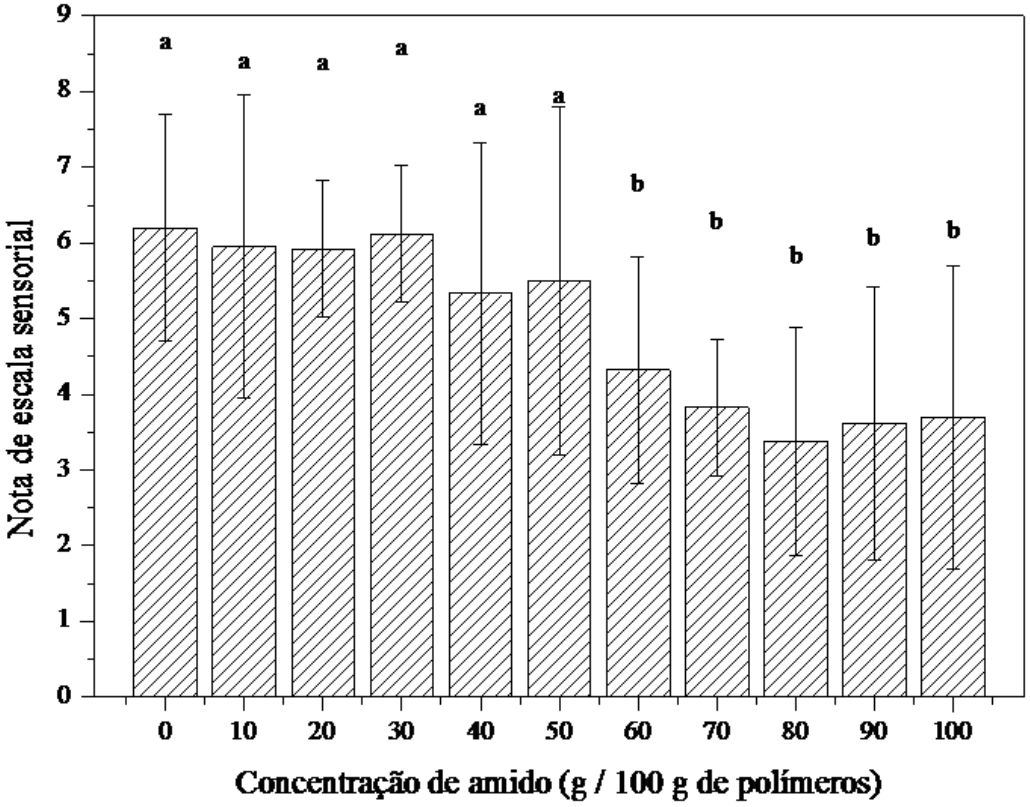
4.3.5.2 Tempo de desintegração *In vivo*

O aumento da concentração de amido acarretou uma redução nas notas atribuídas aos filmes de desintegração oral, ou seja, sensorialmente, os filmes com maior concentração de

amido também apresentaram menor tempo de desintegração. O comportamento observado na análise *in vivo* (Figura 17) corrobora os resultados observados para avaliação *in vitro* (Figura 16).

Não foram observadas diferenças significativas no tempo de desintegração *in vivo* nos FDOs com concentração de amido acima de 60 g / 100 g de polímeros (Figura 17). Porém, de acordo com a equipe treinada, os filmes de desintegração oral desenvolvidos com maiores concentrações de gelatina apresentavam alguns resíduos na cavidade oral após a administração, além de um sabor plástico, este efeito não foi relatado pela equipe nas formulações com as maiores concentrações de amido.

Figura 17. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral no tempo de desintegração avaliado por uma equipe de provadores treinados.

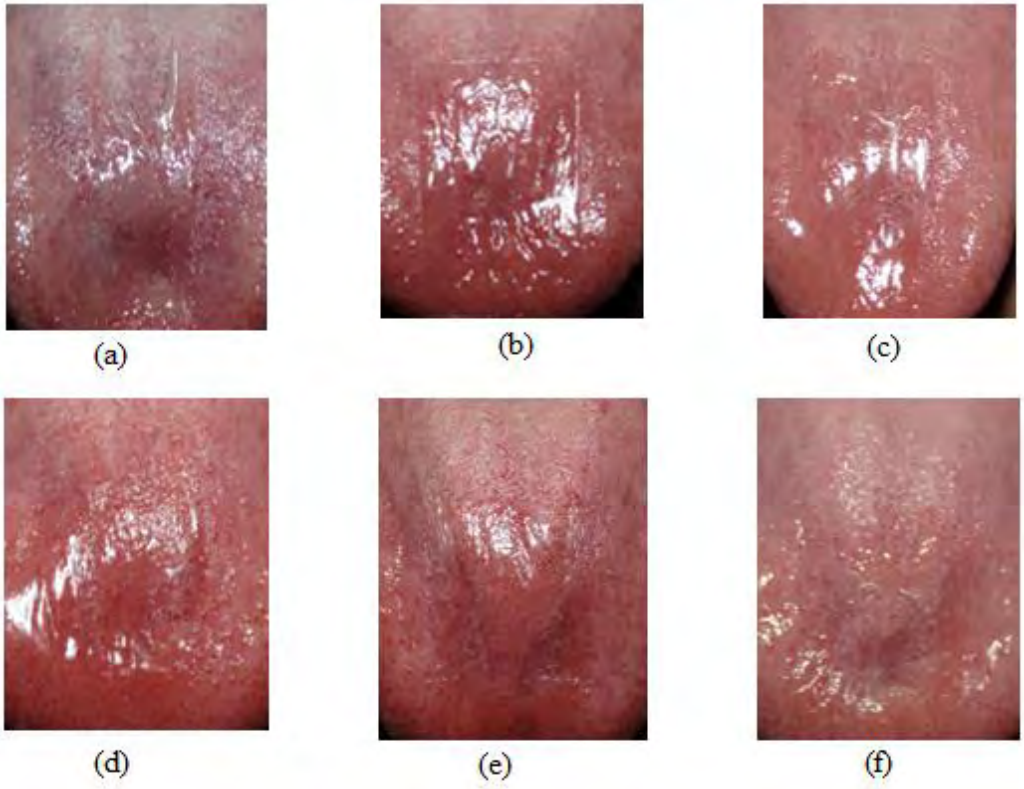


Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Na Figura 18 pode-se visualizar o efeito após 20 segundos de administração dos filmes de desintegração oral em contato com a saliva. As formulações com maiores concentrações de amido praticamente não apresentam mais resíduos na língua, enquanto nas demais formulações (Figura 18.a, 18.b e 18.c) observam-se alguns resíduos.

Figura 18. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral em contato com a língua após 20 segundos de administração: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 20; (c) C_{amido} = 40; (d) C_{amido} = 60; (e) C_{amido} = 80; (f) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Outros autores avaliaram o tempo de desintegração *in vivo* e *in vitro* e também observaram uma relação entre os dados obtidos. Cilurzo et al. (2008) avaliaram o tempo de desintegração de filmes à base de maltodextrina, plastificados com glicerol e observaram valores de tempo de desintegração *in vitro* de 10 e 45 segundos, para os filmes produzidos por *casting* e extrusão respectivamente, e destacam que os resultados observados nos testes *in vitro* foram semelhantes aos *in vivo*.

Liew, Tan e Peh (2012) avaliaram o tempo de desintegração de filmes de desintegração oral à base de hidroxipropilmetil celulose e amido de milho, plastificados com polietilenoglicol e reportaram que o tempo de desintegração *in vitro* (39 a 47 segundos), foi equivalente ao *in vivo* (46 a 52 segundos).

O mesmo efeito também foi observado por Salman et al. (2014), que produziram filmes à base de diferentes polímeros (hidroxipropilmetil celulose, álcool polivinílico, carboximetil celulose e maltodextrina) onde na mesma formulação os resultados obtidos *in vitro* corroboram os resultados *in vivo*.

4.3.6 Mucoadesividade dos FDOs

Na Tabela 22 podem-se observar os resultados de mucoadesividade para os filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina. Comparando-se as formulações produzidas, a mucoadesividade não foi influenciada de forma significativa pelo aumento da concentração de amido (Tabela 22). O amido apresenta em sua estrutura molecular os grupos $–CH_2OH$ e OH (NAGAR, CHAUHAN e YASIR, 2011) e a gelatina CH_3, CH_2, NH_2 e COOH (BIALOPIOTROWICZ e JANCZUK, 2002). Considerando os principais grupos funcionais presentes em ambas macromoléculas, pode-se sugerir que ambas apresentam capacidade de formação de pontes de hidrogênio com o muco.

De acordo com Andrews et al. (2009), a fixação de polímeros bioadesivos para substratos biológicos ocorre principalmente por meio de interpenetração seguida por ligação não covalente secundária entre os substratos. Dado que uma ligação secundária surge principalmente graças à formação de uma ligação de hidrogênio, os polímeros que possuem grupos funcionais, tais como, carboxilo (COOH), hidroxi (OH), amida (NH_2) e grupos sulfato (SO4H) podem ser mais favoráveis na formulação de plataformas de entrega de drogas direcionadas. Tipicamente, interações físicas e secundárias (ligações de hidrogênio) contribuem para a formação de uma rede reforçada, portanto, polímeros que possuem grupos disponíveis para a ligação de pontes de hidrogênio podem interagir fortemente com a mucosa oral. Desta forma, com base nos grupos funcionais relatados para os polímeros e nos valores observados para a mucoadesidade (Tabela 22), os filmes de desintegração à base de amido e gelatina apresentam características mucoadesivas.

Tabela 22. Efeito do aumento da concentração de amido nos filmes de desintegração oral na mucoadesividade.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Mucoadesividade (N)
0	0,54±0,06[a]
10	0,54±0,07[a]
20	0,56±0,07[a]
30	0,55±0,06[a]
40	0,56±0,08[a]
50	0,56±0,05[a]
60	0,56±0,04[a]
70	0,55±0,09[a]
80	0,54±0,04[a]
90	0,54±0,08[a]
100	0,55±0,06[a]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).

Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Os trabalhos reportados na literatura em relação à mucoadesividade *in vitro*, de modo geral, geralmente não estabelecem valores nos quais os filmes de desintegração oral podem ser considerados mucoadesivos. Porém os resultados observados neste trabalho foram semelhantes a outros trabalhos reportados na literatura. Mura et al. (201) estudaram filmes mucoadesivos à base de quitosana e diferentes concentrações de KollicoatIR®, e relataram valores de mucoadesividade entre 0,33 e 0,41 N. Borges e Carvalho (2015) reportaram para filmes de desintegração oral à base de gelatina valores de mucoadesividade de 0,5 N.

4.3.7 Espectroscopia de infravermelho (FT-IR)

Analisando-se os espectros de infravermelho para os filmes à base de amido (Figura 19.k) observou-se bandas de absorção na região de 3295 cm^{-1}, 2926 cm^{-1}, 1410 cm^{-1}, 1333 cm^{-1} e 1726 cm^{-1}. De acordo com a literatura da área, as bandas na região de 3000 cm^{-1} a 3600 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento dos grupos OH (Soares et al., 2005), bandas na faixa de 1398 cm^{-1} a 2930 cm^{-1} podem ser atribuídas as vibrações do grupo CH (Biswall et al., 2004) e na faixa de 1423 cm^{-1} e 1325 cm^{-1} podem ser atribuídas ao grupo CH2 e vibrações do C-OH (Biswall et al., 2004), e bandas próximas à 1740 cm^{-1} são relacionadas ao grupo carbonila (ZHONG et al. 2008).

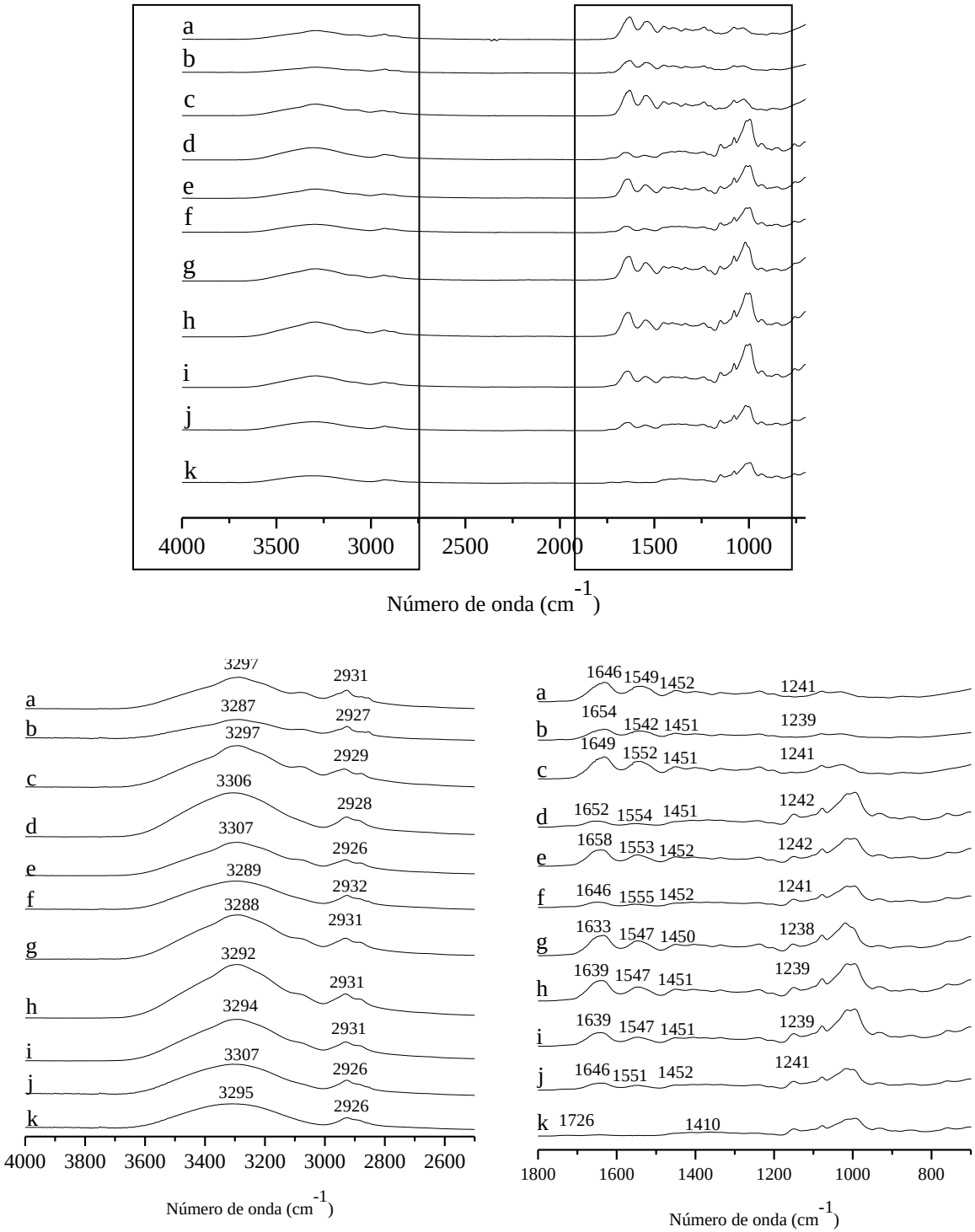
Em relação aos filmes à base de gelatina (Figura 19.a) observou bandas de absorção na região de 1646 cm^{-1}, 1549 cm^{-1}, 1452 cm^{-1}, 1241 cm^{-1}, 3297 cm^{-1}e 2931 cm^{-1}. De acordo com Yakimets et al. (2005) as bandas na região de 1646 cm^{-1}, 1549 cm^{-1} e 1241 cm^{-1}, correspondem à amida I, à amida II e à amida III. Bandas próximas à região 1450 cm^{-1} são atribuídas às vibrações dos anéis pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina (Bet et al., 2001) e

na faixa de 3298 cm^{-1} e 2931 cm^{-1} são relacionadas ao estiramento do grupo NH ou OH (Amida A) e estiramento do grupo C-H (Zhong et al., 2008).

Os filmes produzidos à base de amido e gelatina (Figura 19.b, 19.c, 19.d, 19.e, 19.f, 19.g, 19.h, 19.i e 19.j) apresentaram bandas na região de 3288 – 3307 cm^{-1}, e bandas na faixa de 1634 – 1658 cm^{-1}, 1554 – 1548 cm^{-1}, 1403 – 1407 cm^{-1} e 1334 – 1336 cm^{-1}. De acordo com Soares et al. (2005), bandas na região de 3000 cm^{-1} a 3600 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento dos grupos OH. Bandas próximas a 1646 cm^{-1}, 1549 cm^{-1} e 1241 cm^{-1}, correspondem à amida I, à amida II e à amida III (Yakimets et al., 2005) e na região de 1423 cm^{-1} e 1325 cm^{-1}, correspondem ao grupo CH_2 e vibrações do C-OH e estiramento do grupo C-H (Biswall et al., 2004).

De um modo geral, os filmes produzidos à base de amido e gelatina em diferentes concentrações, apresentaram as mesmas bandas características dos filmes produzidos com os polímeros isolados. De acordo com Zhang et al. (2013) com base no FT-IR de filmes de amido e gelatina, a gelatina forma uma matriz continua, enquanto o amido é disperso, indicando uma completa mistura dos polímeros, pois são parcialmente compatíveis.

Figura 19. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral no espectro de absorção de infravermelho: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



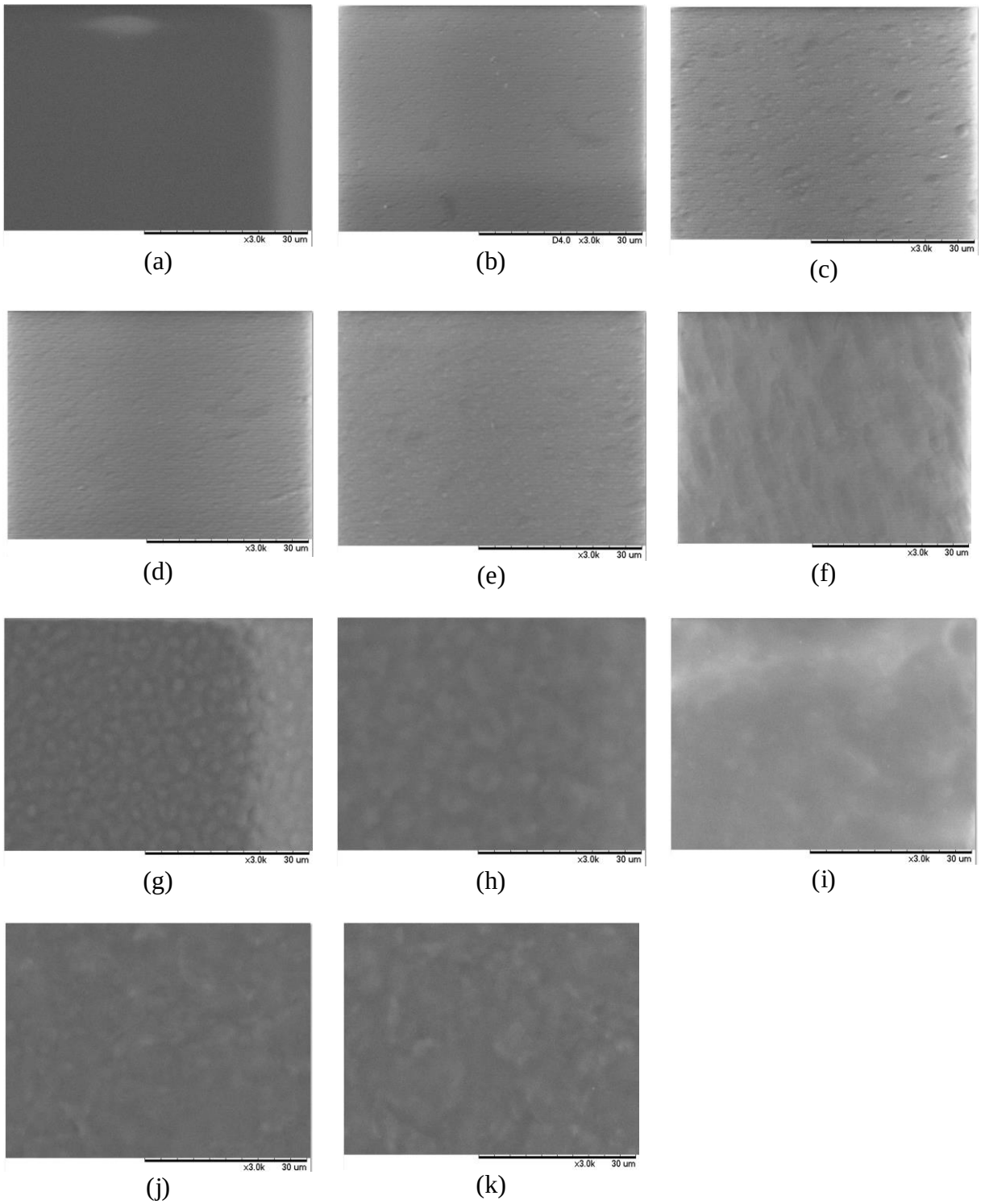
Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros). Fonte: Própria autoria.

4.3.8 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias da superfície dos filmes de desintegração oral à base de gelatina e amido podem ser observadas na Figura 20. Na micrografia do filme de desintegração oral à base de gelatina (0 g de amido / 100 g de polímeros, Figura 20.a) observou-se uma superfície lisa e compacta, porém a adição do amido provocou o aparecimento de saliências na superfície dos filmes. Os resultados observados podem estar relacionados à separação de fases entre a gelatina e o amido decorrentes de alterações conformacionais durante o processo de secagem. Resultados similares foram observados por Zang et al. (2013) em estudos relacionados à formação de cápsulas à base de gelatina e amido.

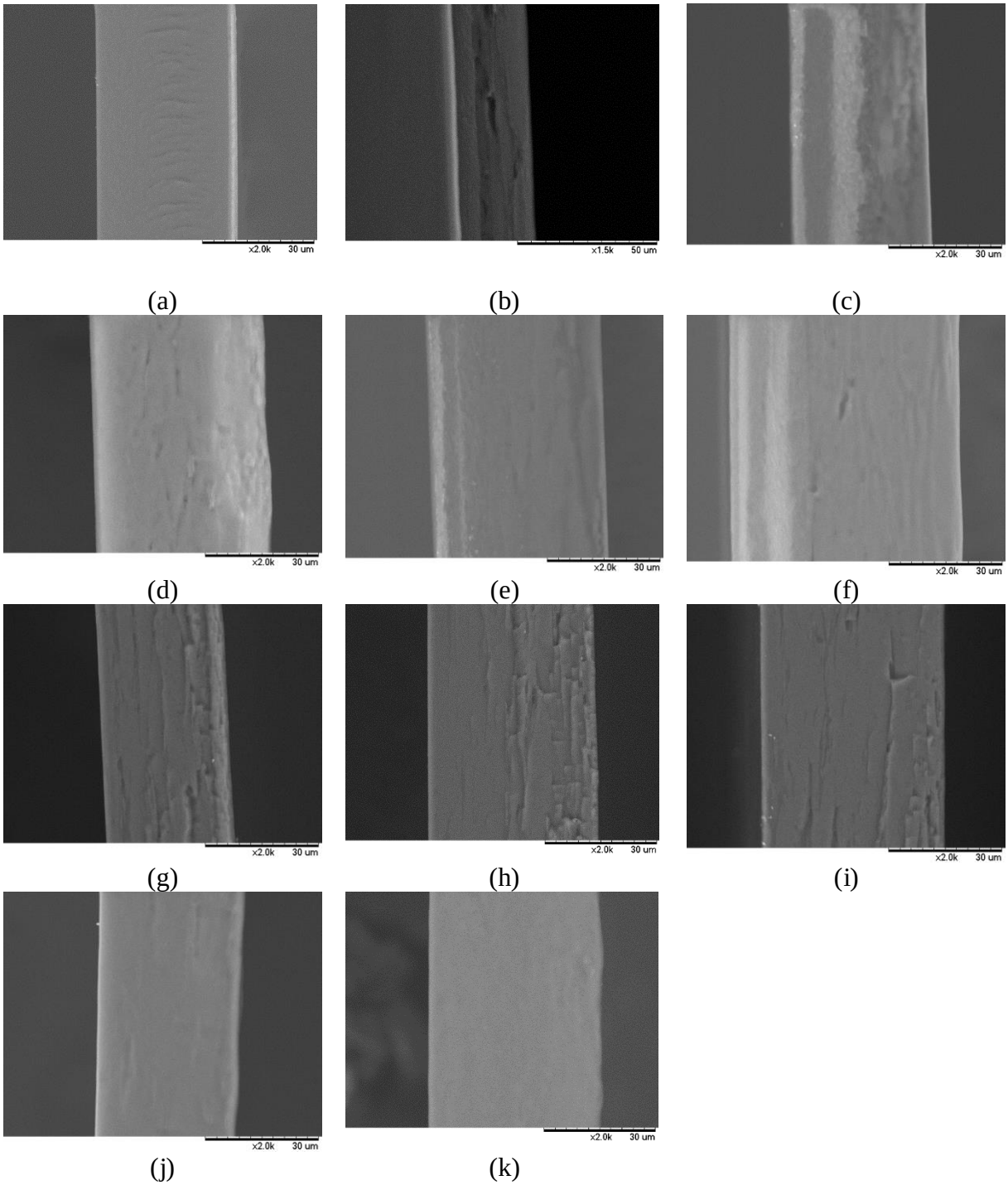
Em relação à estrutura interna dos filmes de desintegração oral (Figura 21), verificou-se nos filmes à base apenas de gelatina (Figura 21.a) e nos filmes à base apenas de amido (Figura 21.k) uma estrutura coesa e compacta. Entretanto, a incorporação de amido na matriz, independente da concentração (Figuras 21b a 21j), provocou o aparecimento de zonas de descontinuidade que podem estar relacionadas à separação de fase ou a diferentes taxas de encolhimento da matriz durante o processo de secagem. No caso de filmes de desintegração oral, não foram encontrados na literatura trabalhos relacionados com a morfologia dos filmes, entretanto, resultados similares são reportados para filmes comestíveis e/ou biodegradáveis de blendas de amido de mandioca e gelatina (Tongdeesoontorn et al., 2012; Acosta et al., 2013).

Figura 20. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral nas micrografias: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Fonte: Própria autoria.

Figura 21. Efeito do aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nos filmes de desintegração oral nas micrografias de superfície interna: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).

Fonte: Própria autoria.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE DESINTEGRAÇÃO ORAL COM ADIÇÃO DE EXTRATO SECO DE ACEROLA E CAMU-CAMU

4.4.1 Avaliação visual

A avaliação visual dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu podem ser observadas na Tabela 23. Independente da formulação os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu, visualmente mostraram-se homogêneos após a secagem, com ausência de partículas insolúveis e facilidade para retirada do suporte.

Tabela 23. Avaliação visual dos filmes de desintegração com incorporação de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e/ou camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido.

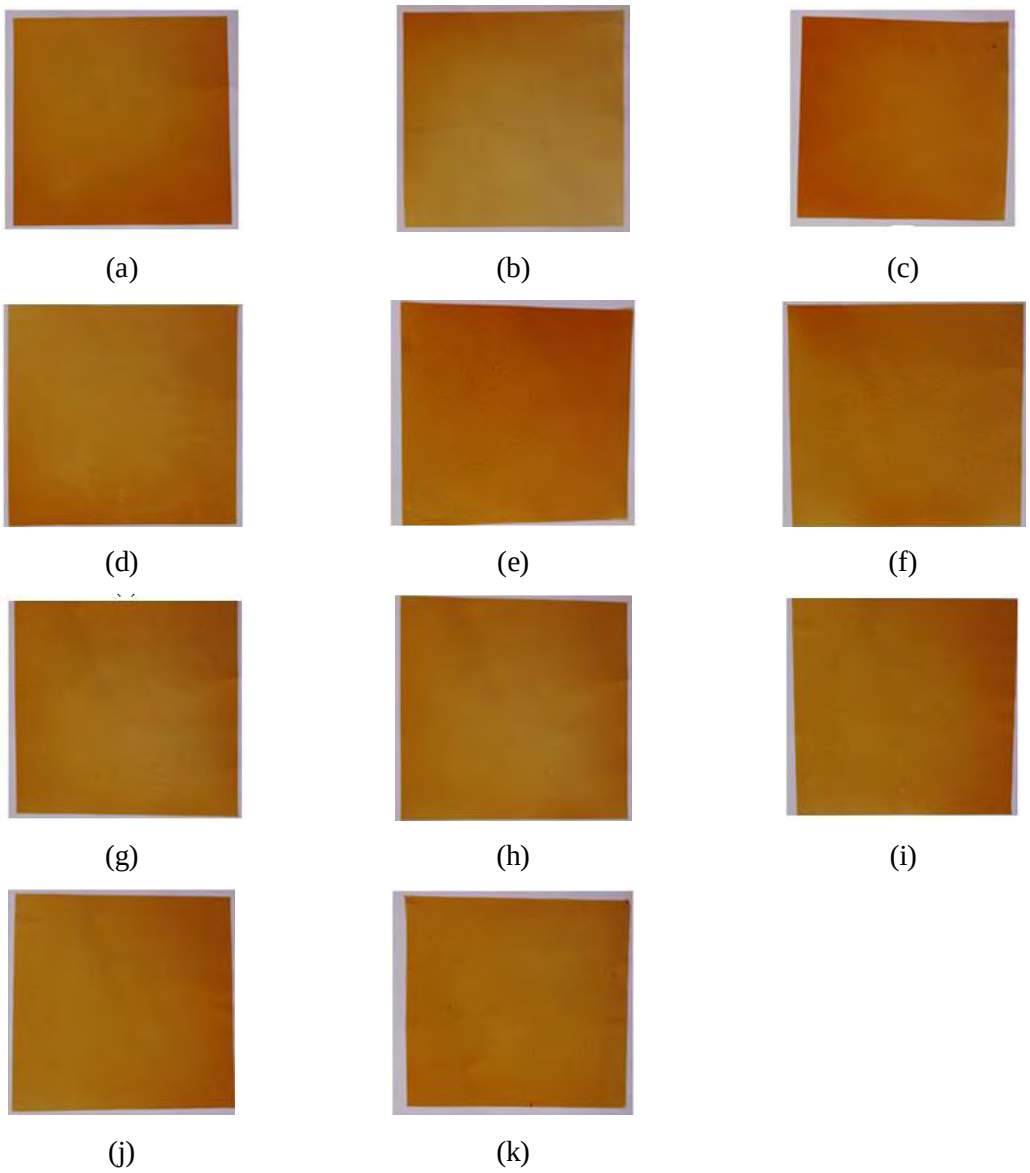
Concentração de amido (g / 100g de polímeros)	Homogeneidade		Capacidade de formação de filme		Manuseabilidade	
	FDOs Acerola	FDOs Camu-camu	FDOs Acerola	FDOs Camu-camu	FDOs Acerola	FDOs Camu-camu
0	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+
70	+	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	+	+
100	+	+	+	+	+	+

Nota: + Boa
Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Fonte: Própria autoria.

Visualmente a adição de extrato seco acarretou modificações na coloração dos filmes de desintegração oral, devido à coloração característica dos extratos secos de acerola (Figura 12.a) e camu-camu (Figura 12.b). As características relatadas na Tabela 23 corroboram com o observado visualmente (Figuras 22 e 23).

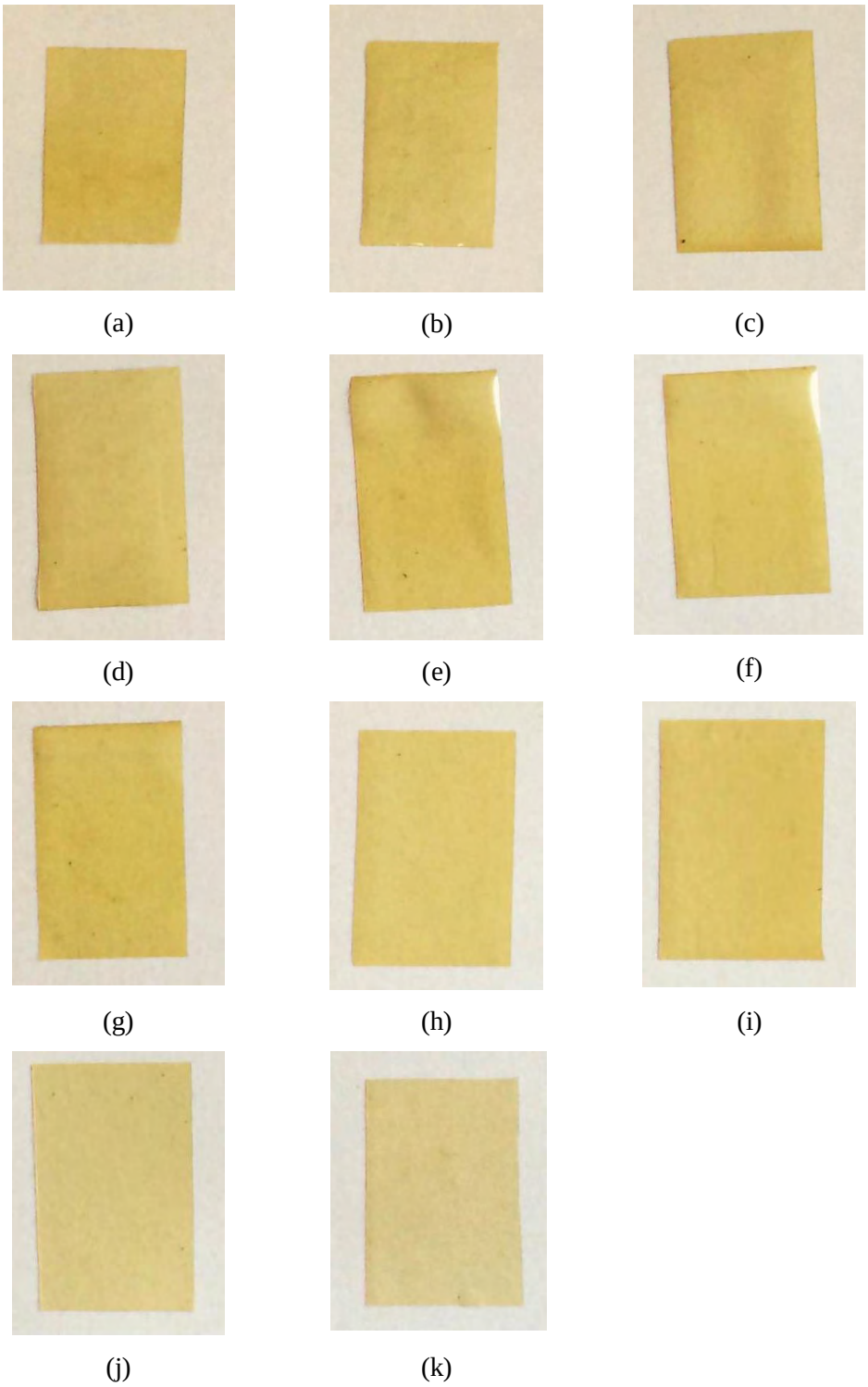
Não foram reportados na literatura a avaliação de filmes de desintegração oral à base de amido e gelatina com adição de extratos obtidos a partir de fontes naturais, no entanto, Farias et al. (2012) reportaram que filmes comestíveis produzidos à base de amido de mandioca e polpa de acerola foram visualmente homogêneos, apresentando fácil manipulação e desprendimento do suporte de secagem.

Figura 22. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) nos filmes de desintegração oral e diferentes concentrações de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros), mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100g de amido + gelatina): (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Fonte: Própria autoria.

Figura 23. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) nos filmes de desintegração oral e diferentes concentrações de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros), mantendo-se a concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica e plastificante (20 g de sorbitol / 100g de amido + gelatina): (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Fonte: Própria autoria.

4.4.2 Parâmetros de cor e opacidade dos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

O efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu nos filmes de desintegração oral em relação aos parâmetros de cor e opacidade podem ser observados nas Tabelas 24 e 25, respectivamente. De modo geral, os valores reportados para o FDOs com adição de extrato foram inferiores quando comparados com os filmes sem adição de extrato, indicando uma tendência a coloração mais escura. Esta redução no valor do parâmetro L* pode estar relacionado com a coloração do extrato adicionado.

Os filmes com extrato seco de acerola (Tabela 24) apresentaram variações para o parâmetro de luminosidade (L*), diferindo significativamente entre si, porém não foi possível estabelecer uma correlação entre a adição de extrato e a luminosidade. Em relação aos cromas a* e b* não foram observadas diferenças significativas entre as formulações produzidas com extrato seco de acerola. De acordo com o sólido de cor (Figura 11) e os resultados obtidos observou-se uma tendência a coloração alaranjada, o que corrobora com o observado visualmente (Figura 22).

Tabela 24. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e diferentes concentrações de amido na luminosidade (L*), croma a* (a*), croma b* (b*) e opacidade.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	L	a*	b*	Opacidade
0	75,1±0,2[a]	6,1±0,4[a]	53,7±2,1[a]	1,4±0,1[a]
10	74,2±0,1[b]	6,3±0,2[a]	54,8±3,1[a]	1,4±0,1[a]
20	73,9±0,5[b]	6,4±0,5[a]	52,5±2,5[a]	1,5±0,1[a]
30	73,1±0,3[b]	6,5±0,4[a]	53,2±1,5[a]	1,3±0,1[a]
40	74,1±0,2[b]	6,7±0,5[a]	52,0±2,2[a]	1,4±0,1[a]
50	73,9±0,2[b]	6,2±0,1[a]	54,8±1,2[a]	1,5±0,1[a]
60	73,2±0,6[b]	6,5±0,4[a]	55,9±1,1[a]	1,5±0,1[a]
70	72,8±0,7[b]	6,4±0,2[a]	51,7±3,2[a]	1,7±0,1[b]
80	73,5±0,1[b]	6,3±0,6[a]	50,9±2,5[a]	2,1±0,1[b]
90	74,7±0,6[ab]	6,2±0,7[a]	52,3±1,7[a]	2,1±0,1[b]
100	74,6±0,8[ab]	6,5±0,5[a]	54,1±2,8[a]	2,2±0,1[b]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

De modo geral, não foram observadas diferenças para a luminosidade L* (Tabela 25) dos filmes de desintegração oral com a adição de extrato seco de camu-camu. Os filmes com adição de extrato seco de camu-camu apresentaram valores de luminosidade (L*) superiores aos reportados para os filmes sem adição de extrato (Tabela 24), indicando uma tendência a coloração mais próxima ao branco.

Em relação ao croma a* e croma b*, não foram observadas diferenças significativas. Os valores para os cromas a* e b* indicam uma coloração tendendo ao amarelo, associado à cor do extrato seco que foi adicionado (Tabela 14), o que corrobora com o observado visualmente (Figura 25).

Tabela 25. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na luminosidade (L*), croma a* (a*), croma b* (b*) e opacidade.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	L	a*	b*	Opacidade
0	96,5±0,1[a]	-0,9±0,1[a]	1,7±0,1[ab]	0,3±0,1[ab]
10	96,1±0,2[ab]	-0,9±0,1[a]	1,8±0,1[a]	0,2±0,2[b]
20	96,2±0,2[a]	-0,9±0,1[a]	1,7±0,1[ab]	0,2±0,3[b]
30	96,1±0,2[ab]	-0,9±0,1[a]	1,7±0,1[ab]	0,3±0,1[b]
40	96,2±0,1[a]	-0,9±0,1[a]	1,8±0,1[ab]	0,4±0,2[ab]
50	96,1±0,1[ab]	-0,9±0,1[a]	1,8±0,1[a]	0,4±0,1[a]
60	93,9±1,0[a]	-1,0±0,1[a]	1,8±0,1[a]	0,4±0,1[ab]
70	93,4±1,9[b]	-0,9±0,1[a]	1,8±0,1[a]	0,4±0,1[a]
80	95,4±0,6[a]	-0,9±0,1[a]	1,8±0,1[a]	0,4±0,1[ab]
90	96,2±0,1[ab]	-0,9±0,1[a]	1,6±0,1[bc]	0,4±0,1[a]
100	94,4±1,6[a]	-0,9±0,1[a]	1,6±0,1[b]	0,4±0,1[a]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Em relação à opacidade, de um modo geral, não foram reportadas diferenças significativas nas formulações produzidas com adição de extrato seco de acerola (Tabela 24) e camu-camu (Tabela 25), no entanto, quando comparado aos filmes de desintegração oral sem adição de extrato (Tabela 19), observou-se de modo geral, um aumento deste parâmetro nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e uma redução nos FDOs com adição de extrato seco de camu-camu, o que corrobora com os valores observados para a luminosidade (L*) e a coloração do extrato (Tabela 14).

De maneira geral, foi observado que os filmes com maior luminosidade apresentaram menor opacidade. Resultados semelhantes foram reportados por Bitencourt (2013) que avaliou a incorporação de extrato de cúrcuma em filmes a base de gelatina e observou redução da luminosidade (L*) e aumento da opacidade com o aumento da concentração de extrato.

4.4.3 Propriedades mecânicas dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

O efeito da adição de extrato seco de acerola e camu-camu nas propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral podem ser observados nas Tabelas 26 e 27, respectivamente. Para todas as formulações não foram observadas diferenças significativas em relação à espessura dos filmes de desintegração oral após a adição de extrato seco de acerola e camu-camu, indicando um controle eficiente durante o processo de produção dos filmes de desintegração oral.

Tabela 26. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na espessura, tensão na ruptura (TR), elongação (E) e módulo elástico (ME).

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Espessura	TR (MPa)	E (%)	ME (MPa)
0	0,069±0,005^{a}	16,1±1,6^{a}	35,8±6,6^{ed}	261,4±19,8^{a}
10	0,067±0,005^{a}	14,9±1,4^{a}	44,9±7,0^{cd}	221,5±45,0^{b}
20	0,070±0,004^{a}	12,3±1,4^{b}	36,6±8,0^{ed}	215,3±43,2^{b}
30	0,072±0,005^{a}	10,2±0,5^{cd}	26,8±8,8^{e}	213,1±27,2^{b}
40	0,068±0,005^{a}	10,5±1,0^{c}	38,2±14,2^{cd}	174,2±38,9^{c}
50	0,070±0,005^{a}	9,2±0,8^{d}	46,6±12,0^{cd}	152,7±28,5^{cd}
60	0,069±0,005^{a}	7,3±0,7^{e}	44,4±6,1^{cd}	136,1±13,4^{d}
70	0,068±0,005^{a}	7,2±0,6^{e}	48,2±9,4^{c}	129,2±17,5^{d}
80	0,071±0,005^{a}	2,3±0,1^{g}	73,3±7,5^{a}	39,9±8,45^{e}
90	0,069±0,005^{a}	2,2±0,2^{g}	57,9±11,9^{b}	39,2±6,6^{e}
100	0,071±0,006^{a}	3,9±0,1^{f}	71,3±1,7^{a}	70,2±7,8^{e}

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

A adição de extrato seco de acerola e camu-camu influenciou nas propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral, porém não foi possível estabelecer uma correlação das propriedades mecânicas com a adição de extrato. De modo geral, a adição de extrato seco de acerola (Tabela 26) e extrato seco de camu-camu (Tabela 27) acarretou uma redução na tensão de ruptura e módulo elástico, e aumento na elongação dos filmes de desintegração oral, quando comparados aos filmes de desintegração oral sem adição de extrato seco. Este comportamento pode estar relacionado com a ligação dos compostos dos extratos com a matriz de amido e gelatina, principalmente com relação aos açúcares e a vitamina C presentes naturalmente nos extratos, que podem resultar em um efeito plastificante reduzindo a tensão de ruptura e aumentando a elongação.

Tabela 27. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na espessura, tensão na ruptura (TR), elongação (E) e módulo elástico (ME).

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Espessura	TR (MPa)	E (%)	ME (MPa)
0	0,068±0,002^{a}	11,9±2,6^{e}	11,0±6,8^{a}	408,5±153,3^{d}
10	0,066±0,004^{a}	10,6±2,7^{e}	6,4±3,2^{b}	466,3±111,3^{d}
20	0,070±0,003^{a}	62,1±12,2^{a}	4,8±2,9^{bc}	2295,4±223,2^{a}
30	0,071±0,006^{a}	58,9±4,9^{a}	2,3±0,8^{c}	2650,3±336,6^{a}
40	0,069±0,002^{a}	47,3±9,0^{bc}	2,6±1,5^{c}	2016,4±782,2^{bc}
50	0,071±0,003^{a}	50,3±6,8^{b}	4,2±2,2^{bc}	2016,4±782,2^{ab}
60	0,069±0,002^{a}	41,5±7,7^{cd}	3,7±2,5^{bc}	1860,7±994,1^{c}
70	0,067±0,008^{a}	33,7±9,3^{d}	1,9±0,5^{c}	1910,4±567,3^{c}
80	0,070±0,005^{a}	37,6±8,1^{d}	1,8±0,6^{c}	1970,6±488,3^{c}
90	0,069±0,001^{a}	33,9±3,4^{d}	3,4±1,5^{bc}	2549,9±336,3^{ab}
100	0,070±0,002^{a}	33,7±3,8^{d}	2,1±0,8^{c}	1807,3±692,3^{c}

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

O ácido ascórbico apresenta 4 grupos hidroxilas, um grupo éter e um grupo cetona, que podem interagir com a molécula de amido (YOON, 2014). Yoon (2004) avaliou a utilização do ácido ascórbico em matriz de amido e álcool polivinílico para produção de filmes biodegradáveis e relataram redução da tensão na ruptura e aumento da elongação com a adição de ácido ascórbico, sugerindo a utilização do ácido ascórbico como agente plastificante.

Reis et al. (2015) investigaram a eficácia antioxidante, a barreira e alterações de propriedades mecânicas após a incorporação da polpa de manga e extrato aquoso de erva-mate em filmes comestíveis de amido utilizando a metodologia de superfície de resposta e também verificaram a redução da elongação dos filmes com a adição dos extratos, e atribuíram esta redução ao possível efeito plastificante dos açúcares livres na polpa de manga e erva mate, como glicose, frutose e sacarose.

Os valores referentes a propriedade mecânica variam muito na literatura para filmes de amido e/ou gelatina adicionados de extrato. Chottanom et al. (2014) avaliaram filmes comestíveis a base de amido e gelatina incorporados com extrato de *Kaempferia parviflora* e observarão valores entre 23,97 e 18,68 N de tensão na ruptura e 461,68 e 320,63 % de elongação. Borges e Carvalho (2015) observaram, para filmes de gelatina incorporados com extrato etanólico de própolis, tensão na ruptura e elongação de 35,9 N e 40,2 %, respectivamente. Bodini et al. (2013) avaliaram filmes biodegradáveis à base de gelatina incorporados com extrato de própolis e observaram tensão de ruptura e elongação de 31,7 N e 6,8 %, respectivamente.

4.4.4 Ângulo de contato e pH de superfície dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

O efeito da adição de extrato seco de acerola e camu-camu no ângulo de contato e pH de superfície dos filmes de desintegração oral podem ser observados na Tabela 28. De modo geral, houve um aumento no valor do ângulo de contato dos filmes de desintegração

oral com a adição de extrato seco de acerola (Tabela 28) em comparação com os filmes de desintegração oral sem adição de extrato seco, possivelmente este aumento pode estar relacionado à presença de alguns compostos com natureza hidrofóbica presentes no extrato.

Em relação aos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (Tabela 28), observou-se menores valores de ângulo de contato, indicando que os filmes desenvolvidos apresentaram características hidrofílicas, com ângulo de contato < 86° (ARKLES, 2014).

Tabela 28. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido no ângulo de contato (AC) e pH de superfície.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola		Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu	
	AC (°)	pH de superfície	AC (°)	pH de superfície
0	107,7±4,6^{a}	5,8±0,4^{a}	86,0±6,6^{a}	5,7±0,3^{a}
10	105,5±4,2^{ab}	6,1±0,1^{a}	78,3±9,0^{b}	5,6±0,1^{a}
20	104,0±5,6^{ab}	5,6±0,1^{a}	77,7±4,4^{b}	5,3±0,2^{b}
30	103,1±2,2^{ab}	6,1±0,1^{a}	70,9±8,9^{c}	5,2±0,2^{b}
40	102,5±2,0^{ab}	5,6±0,1^{a}	68,5±9,0^{c}	5,2±0,3^{b}
50	102,2±2,9^{ab}	6,0±0,1^{b}	58,8±4,7^{d}	5,1±0,2^{b}
60	101,8±2,2^{ab}	5,7±0,3^{b}	57,2±5,6^{d}	4,9±0,3^{c}
70	100,1±5,5^{b}	6,2±0,1^{b}	57,0±6,0^{d}	4,8±0,2^{c}
80	89,8±9,0^{c}	5,9±0,2^{b}	54,6±5,7^{de}	4,7±0,2^{c}
90	87,9±6,4^{c}	5,8±0,3^{b}	48,7±4,5^{ef}	4,9±0,1^{c}
100	89,1±8,6^{c}	6,1±0,2^{b}	45,1±1,8^{f}	4,9±0,1^{c}

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Após a adição de extrato seco de acerola e camu-camu os filmes de desintegração oral apresentaram valores do pH de superfície (Tabela 28) inferiores aos filmes de desintegração sem adição de extrato (Tabela 21). Nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola observou-se valores de pH de superfície na faixa de 6,1 – 5,6

(Tabela 28), permanecendo relativamente próximos ao pH bucal, não acarretando irritações na mucosa bucal.

Trabalhos na literatura reportaram a incorporação de diferentes extratos de fontes naturais e/ou sintéticas e relatam que os filmes de desintegração oral com pH de superfície próximo ao pH bucal não causam irritações na mucosa bucal, como extrato de gengibre (DAUD, BONDE e SAPKAL, 2011), amitriptilina (SALMAN et al., 2014), fluoxetina (CHEVALA et al., 2015), entre outros.

Os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu apresentaram pH de superfície mais ácido (Tabela 28) em relação aos filmes sem adição de extrato seco e com adição de extrato seco de acerola. Possivelmente o pH mais ácido pode estar relacionado à alguns compostos encontrados naturalmente na polpa da fruta. Entretanto, apesar de apresentar um pH de superfície mais ácido em relação ao filme sem adição de extrato, os valores observados foram superiores ao pH da fruta *in natura* (2,6) reportado na literatura (Maeda et al., 2007). De acordo com Vieira et al. (2010) o camu-camu apresenta baixo pH e acidez elevada, limitando seu consumo *in natura*. Desta forma, os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu pode uma alternativa para o consumo desta fonte vitamina C.

4.4.5 Determinação do tempo de desintegração dos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

4.4.5.1 Tempo de desintegração *In vitro*

Na Tabela 29 pode-se observar os resultados do tempo de desintegração *in vitro* para filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu. O tempo de desintegração com incorporação de extrato foram inferiores ao tempo de desintegração observados para os filmes controle, possivelmente os resultados estão associados a adição dos

extratos, possivelmente a concentração de ácido ascórbico presente nos extratos, que pode auxiliar na produção de saliva, pois de acordo com Dixit e Puthli (2009)o ácido ascórbico pode ser considerado um agente estimulante de saliva.

Os filmes de desintegração oral aditivados com extrato seco de acerola e camu-camu (Tabela 29) produzidos com a maior concentração de amido (100 g de amido / 100 g de polímeros) apresentaram o menor tempo de desintegração (9,1 e 10,3 segundos, respectivamente). O comportamento observado foi semelhante aos filmes sem adição de extrato que apresentaram o menor tempo de desintegração para o filme com maior concentração de amido (11,3 segundos).

Tabela 29. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido no tempo de desintegração *in vitro.*

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola	Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu
0	20,1±1,9[a]	20,4±0,8[a]
10	19,8±2,1[a]	19,8±1,5[ab]
20	19,4±2,1[a]	19,0±2,0[b]
30	19,0±1,1[a]	17,6±1,2[c]
40	18,7±1,6[ab]	15,9±1,1[b]
50	17,3±1,2[bc]	15,6±1,3[d]
60	16,6±0,5[cd]	14,1±1,2[d]
70	15,2±1,5[de]	12,9±1,0[e]
80	14,9±1,8[e]	12,7±1,5[e]
90	12,9±1,6[f]	11,4±0,8[f]
100	9,1±0,9[g]	10,3±0,8[f]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$). Fonte: Própria autoria.

Desta forma, os dois extratos poderiam ser utilizados para a produção de filmes de desintegração rápida, já que não apresentaram aumento do tempo de desintegração, mantendo-se inferior a 60 segundos, como proposto por Jyoti et al. (2011), para filmes de liberação rápida.

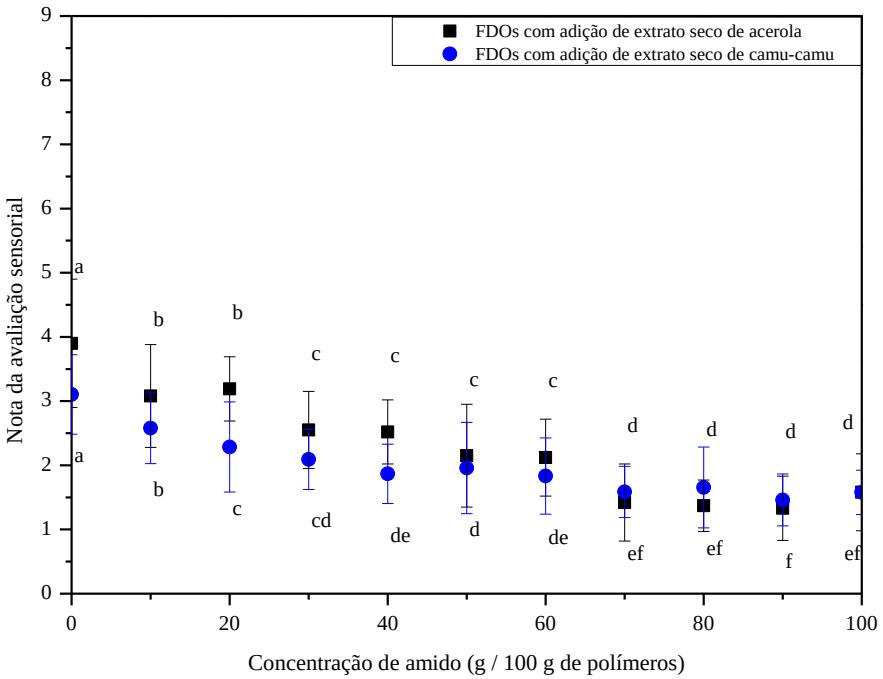
Os resultados obtidos em relação ao tempo de desintegração para os FDOs com a incorporação de extrato, foram inferiores aos reportados por Daud, Sapkal e Bonde (2011) que produziram filmes de desintegração oral à base de hidroxipropilmetil celulose, maltodextrina, pululano e álcool polivinílico, incorporados com extrato de gengibre e relataram que independente da concentração de polímeros os FDOs apresentaram um reduzido tempo de desintegração (< 62 segundos).

4.4.5.2 Tempo de desintegração *In vivo*

Na Figura 24 pode-se observar as notas atribuídas aos filmes de desintegração oral com a incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu. O comportamento dos filmes com incorporação de extrato seco (Figura 24) foi semelhante ao observado para os filmes sem adição de extrato (Figura 17), pois de maneira geral, os filmes apresentaram redução nas notas atribuídas com o aumento da concentração de amido. Os resultados observados para o teste *in vivo* corroboram com os resultados observados para o teste *in vitro*.

As notas atribuídas aos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu (Figura 24), foram semelhantes para a mesma concentração de amido. De acordo com Dixit e Puthli (2009) o ácido ascórbico pode ser utilizado como agente estimulante de saliva nos filmes de desintegração oral, acarretando uma maior produção de saliva, auxiliando na redução do tempo de desintegração. Os agentes estimulantes de saliva geralmente são de natureza ácida, para estimular a produção de saliva na cavidade oral (IRFAN et al., 2015).

Figura 24. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido no tempo de desintegração *in vivo*.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

4.4.6 Mucuadesividade dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

Na Tabela 30 pode-se observar os resultados de mucoadesividade para os filmes de desintegração com adição de extrato seco de acerola e camu-camu. Comparando-se as formulações desenvolvidas não foi observado diferenças significativas com a adição de extrato seco de acerola e/ou camu-camu na mucoadesividade. Como relatado anteriormente, o amido apresenta em sua estrutura molecular os grupos $–CH_2OH$ e OH (NAGAR, CHAUHAN e YASIR, 2011) e a gelatina CH_3, CH_2, NH_2 e COOH (BIALOPIOTROWICZ e JANCZUK, 2002), adicionalmente a vitamina C apresenta grupos OH, CO e -O (Yoon, 2014). Considerando os principais grupos funcionais presentes nos filmes de desintegração

aditivados, pode-se sugerir que ambas apresentam capacidade de formação de pontes de hidrogênio com o muco.

De acordo com Andrews et al. (2009) os polímeros que possuem grupos funcionais, tais como, carboxilo (COOH), hidroxi (OH), amida (NH_2) e grupos sulfato (SO_4H) pode ser mais favorável para interagir como a mucosa oral. A força mucoadesiva observada para os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu foi semelhante aos valores reportados para os filmes sem adição de extrato seco, indicando características mucoadesivas.

Tabela 30. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido na mucoadesividade.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola	Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu
	Mucoadesividade (N)	Mucoadesividade (N)
0	0,54±0,07[a]	0,67±0,06[a]
10	0,56±0,07[a]	0,66±0,08[a]
20	0,58±0,03[a]	0,59±0,08[a]
30	0,59±0,10[a]	0,64±0,07[a]
40	0,60±0,08[a]	0,54±0,02[a]
50	0,61±0,07[a]	0,55±0,13[a]
60	0,63±0,12[a]	0,53±0,06[a]
70	0,62±0,09[a]	0,56±0,07[a]
80	0,64±0,03[a]	0,54±0,03[a]
90	0,67±0,06[a]	0,63±0,04[a]
100	0,63±0,14[a]	0,63±0,09[a]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Na literatura da área são reportados diferentes valores de mucoadesividade. De um modo geral, os valores obtidos no presente trabalho foram da mesma ordem de grandeza.

Borges e Carvalho (2015) relataram para filmes à base de gelatina aditivados com extrato etanólico de própolis uma força mucoadesiva de 0,8 N. Mohamed, Haider e Ali (2011) avaliaram a produção de filmes mucoadesivos a partir de diferentes macromoléculas e reportaram valores entre 0,080 e 0,698 N, para os filmes à base de carboximetil celulose e hidroxipropilcelulose aditivados com cloridrato de diltiazem.

4.4.7 Espectroscopia de infravermelho (FT-IR)

Nas Figuras 25 e 26 pode-se observar os espetros de FT-IR dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu, respectivavemente. Em relação ao FDOs produzido à base de amido (100 g / 100 g de polímeros) observou-se bandas de absorção na região de 3289 cm^{-1}, 2927 cm^{-1}, 1721 cm^{-1}, 1407 cm^{-1} para os FDOs com adição de extrato seco de acerola (Figura 25.k) e bandas na região de 3296 cm^{-1}, 2926 cm^{-1}, 1634 cm^{-1}, 1542 cm^{-1} e 1240 cm^{-1}, para os filmes com adição de extrato seco de camu-camu (Figura 26.k). De acordo com Soares et al. (2005) bandas na faixa de 3000 cm^{-1} a 3600 cm^{-1} correspondem ao estiramento dos grupos OH. Na faixa de 1398 cm^{-1} a 2930 cm^{-1} podem ser atribuídas as vibrações do grupo CH (Biswall et al., 2004) e bandas na região de 1423 cm^{-1} e 1325 cm^{-1} podem ser atribuídas ao grupo CH2 e vibrações do C-OH (Biswall et al., 2004). Bandas próximas a 1740 cm^{-1} são relacionadas ao grupo carbonila (ZHONG et al., 2008).

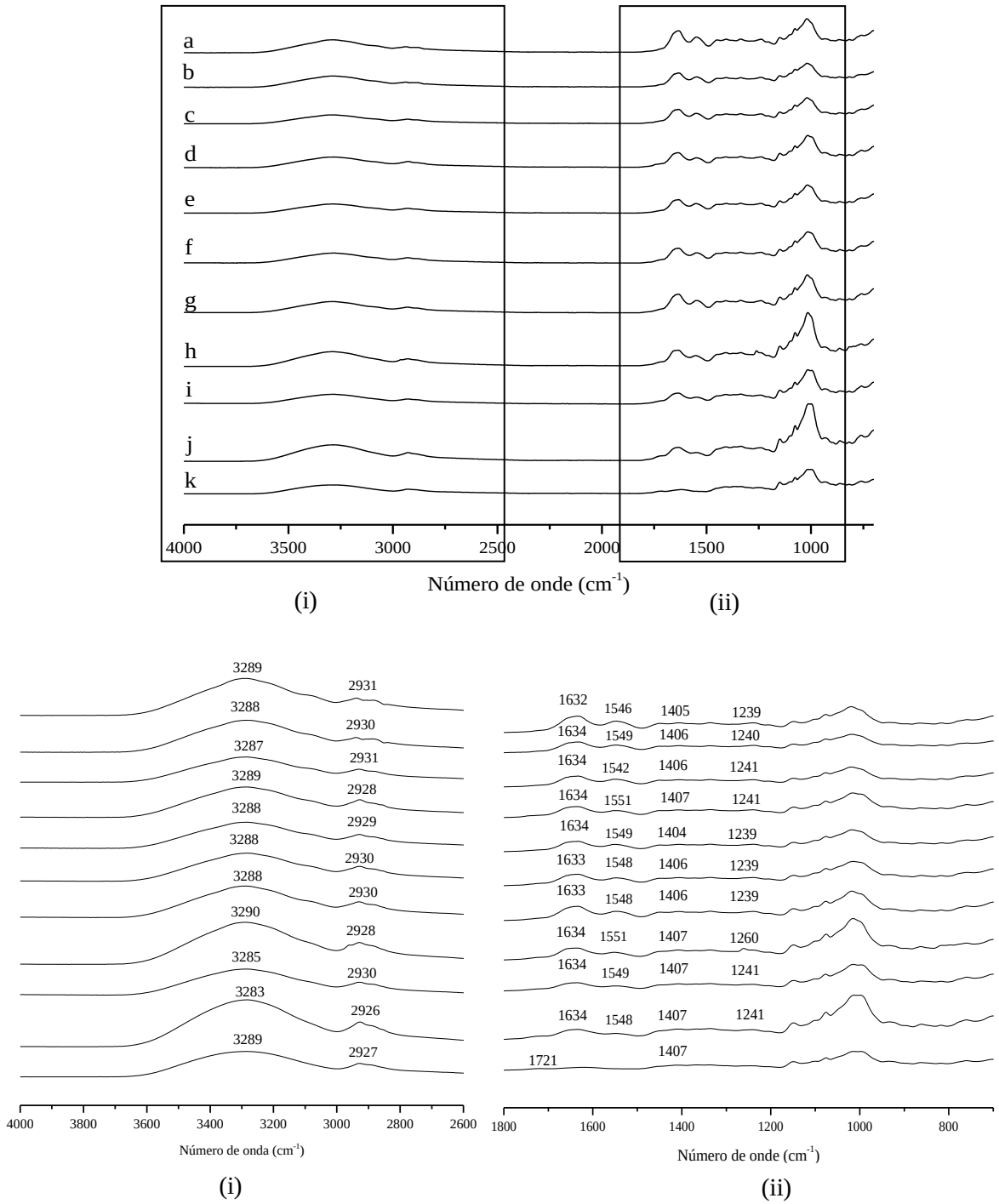
Nos filmes de desintegração oral de gelatina com adição de extrato seco de acerola (Figura 25.a) foram observadas bandas na faixa de 3289 cm^{-1}, 2931 cm^{-1}, 1632 cm^{-1}, 1546 cm^{-1}, 1405 cm^{-1} 3 1239 cm^{-1}, e nos FDOs com adição de extrato seco de camu-camu (Figura 26.a) observou-se bandas na faixa de 3298 cm^{-1}, 2928 cm^{-1}, 1634 cm^{-1}, 1542 cm^{-1}, 1408 cm^{-1} e 1237 cm^{-1}. Zhong et al. (2008) reportam que bandas na faixa de 3298 cm^{-1} e 2931 cm^{-1}, correspondem ao estiramento do grupo NH ou OH (amida A) e estiramento do grupo C-H. De

acordo com Yakimets et al. (2005) as bandas na faixa de 1630 a 1660 cm^{-1}, 1540 a 1570 cm^{-1} e 1241 cm^{-1}, correspondem à amida I, amida II e amida III.

Para os filmes produzidos à base de amido e gelatina com incorporação de extrato seco de acerola foram observadas bandas na faixa de 3283 cm^{-1} – 3290 cm^{-1}, 2926 cm^{-1} – 2931 cm^{-1}, 1633 cm^{-1} – 1634 cm^{-1}, 1542 cm^{-1} – 1551 cm^{-1}, 1404 cm^{-1} – 1407 cm^{-1} e 1239 cm^{-1} – 1260 cm^{-1}. Noss filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu observou-se bandas na região de 3286 cm^{-1} – 3297 cm^{-1}, 2925 cm^{-1} – 2930 cm^{-1},1635 cm^{-1} – 1654 cm^{-1}, 1542 cm^{-1} – 1547 cm^{-1}, 1407 cm^{-1} – 1412 cm^{-1},1237 cm^{-1} – 1246 cm^{-1}. Bandas características do estiramento do grupo NH ou OH (amida A) e estiramento do grupo C-H, relacionadas ao grupo carbonila e amida I, amida II e amida III, como relatado anteriormente.

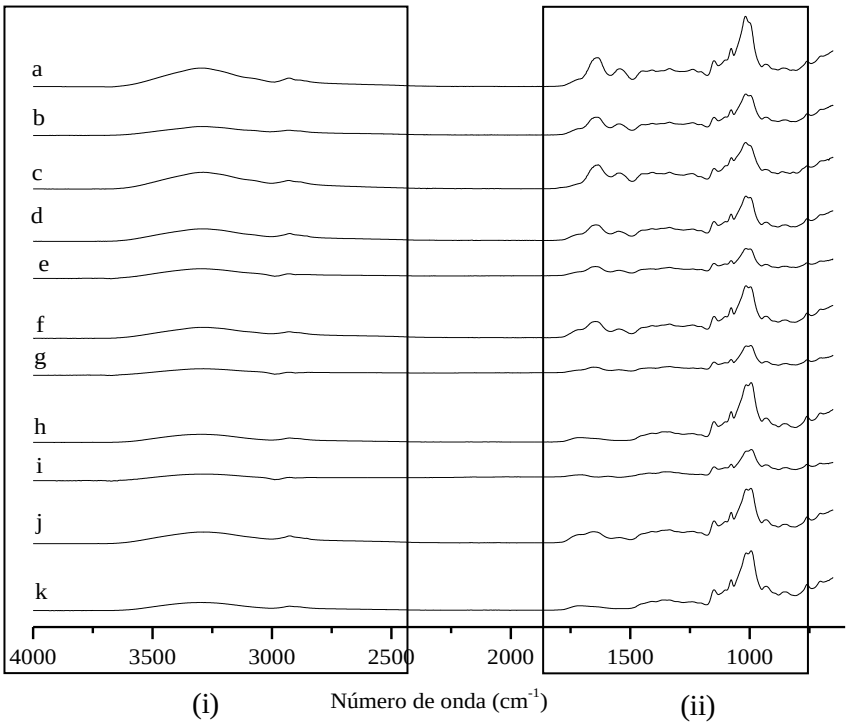
Todos os espectros de FT-IR obtidos a partir das blendas de amido e gelatina com adição de extrato seco de acerola e camu-camu apresentaram as mesmas bandas típicas dos FDOs de amido e gelatina, não foi observado de acordo com os espectros deslocamento de bandas referentes a adição dos extratos.

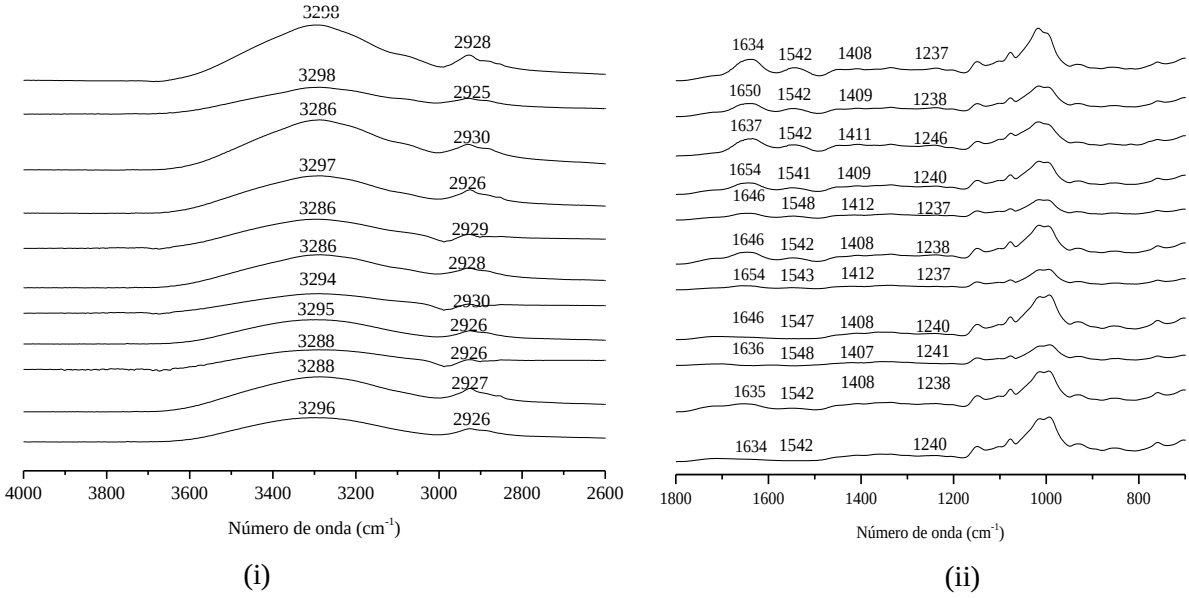
Figura 25. Efeito da adição de extrato seco de acerola nos filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) no espectro de absorção de infravermelho: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros) e extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Fonte: Própria autoria.

Figura 26. Efeito da adição de extrato seco de camu-camu nos filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) no espectro de absorção de infravermelho: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



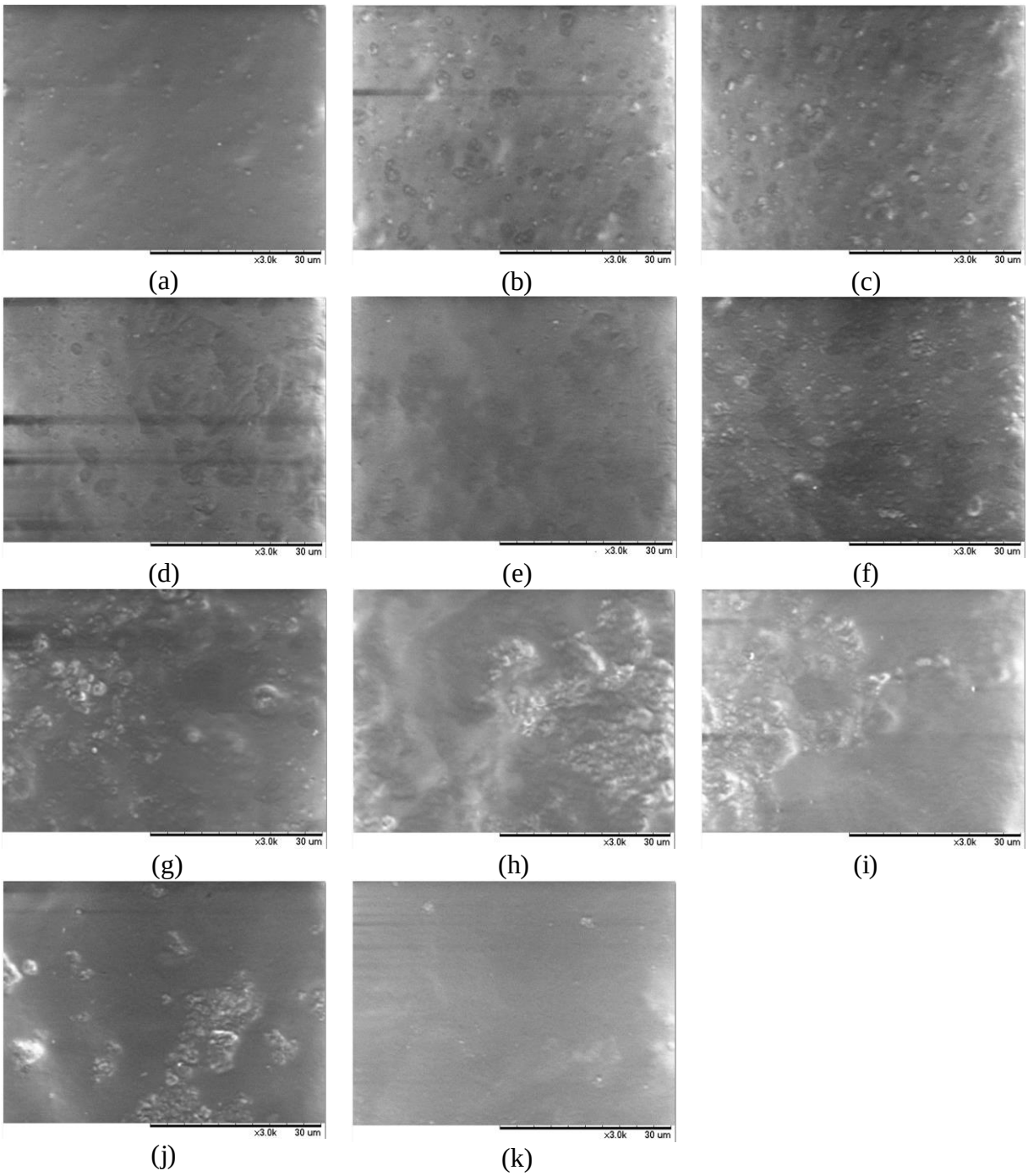


Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros) e extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Fonte: Própria autoria.

4.4.8 Microscopia eletrônica de varredura

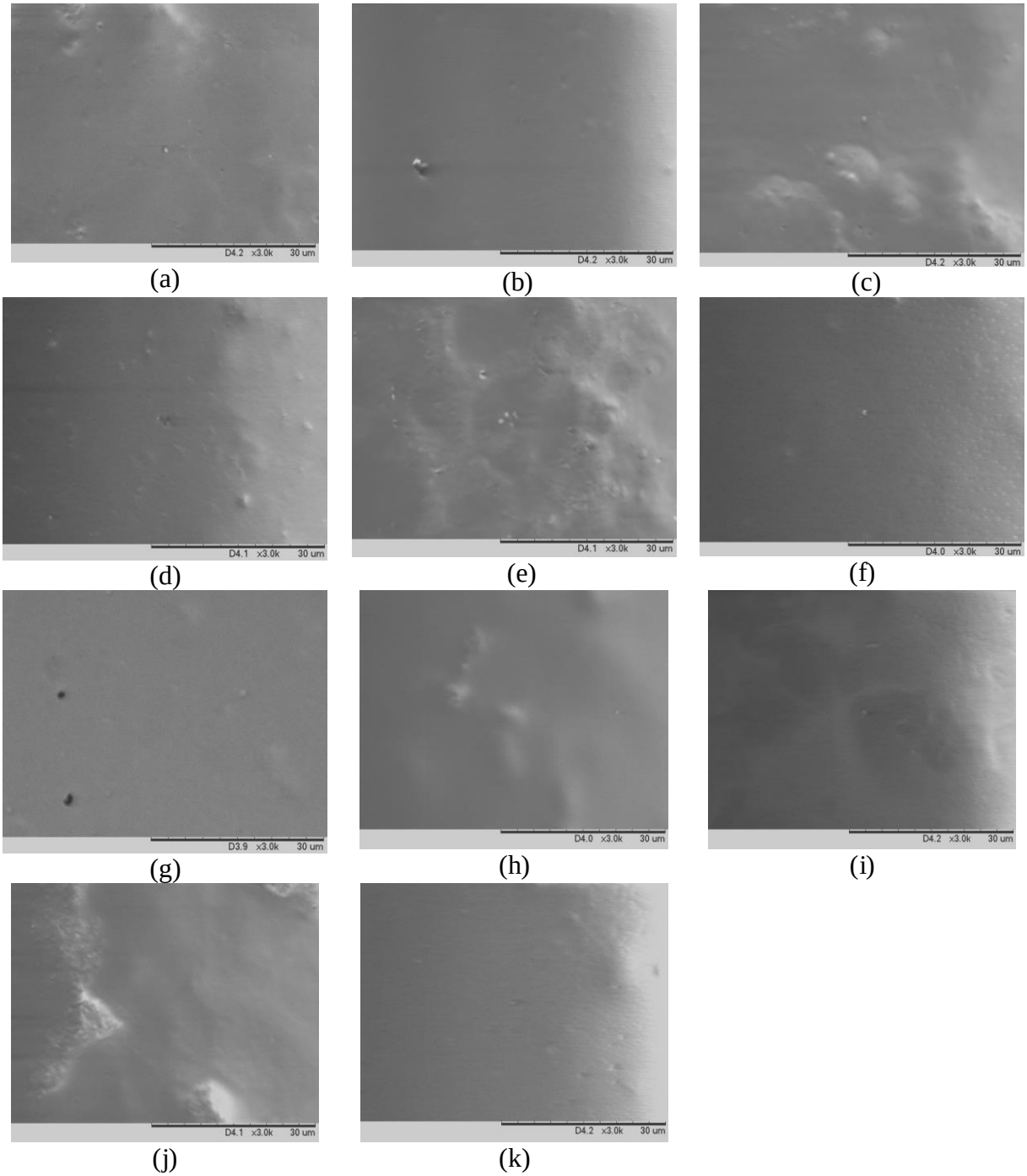
As micrografias da superfície dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu, podem ser observadas nas figuras 27 e 28, respectivamente. De modo geral, a incorporação de extrato seco de acerola (Figura 27) e camu-camu (Figura 28) acarretou a formação de zonas de saliências em todas as formulações, quando comparadas aos filmes de desintegração oral sem a adição de extrato (Figura 20). Estas zonas de saliências são mais acentuadas em relação aos filmes sem adição de extrato, possivelmente devido à presença do extrato, que acarretou uma maior separação de fases da matriz polimérica. Li et al. (2014) produziram filmes comestíveis à base de gelatina peixe e observaram o mesmo efeito nas micrografias após a adição de diferentes extratos como fontes antioxidantes (sementes de uva, gengibre, ginkgo biloba e gengibre).

Figura 27. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nas micrografias: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Figura 28. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) nas micrografias: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.

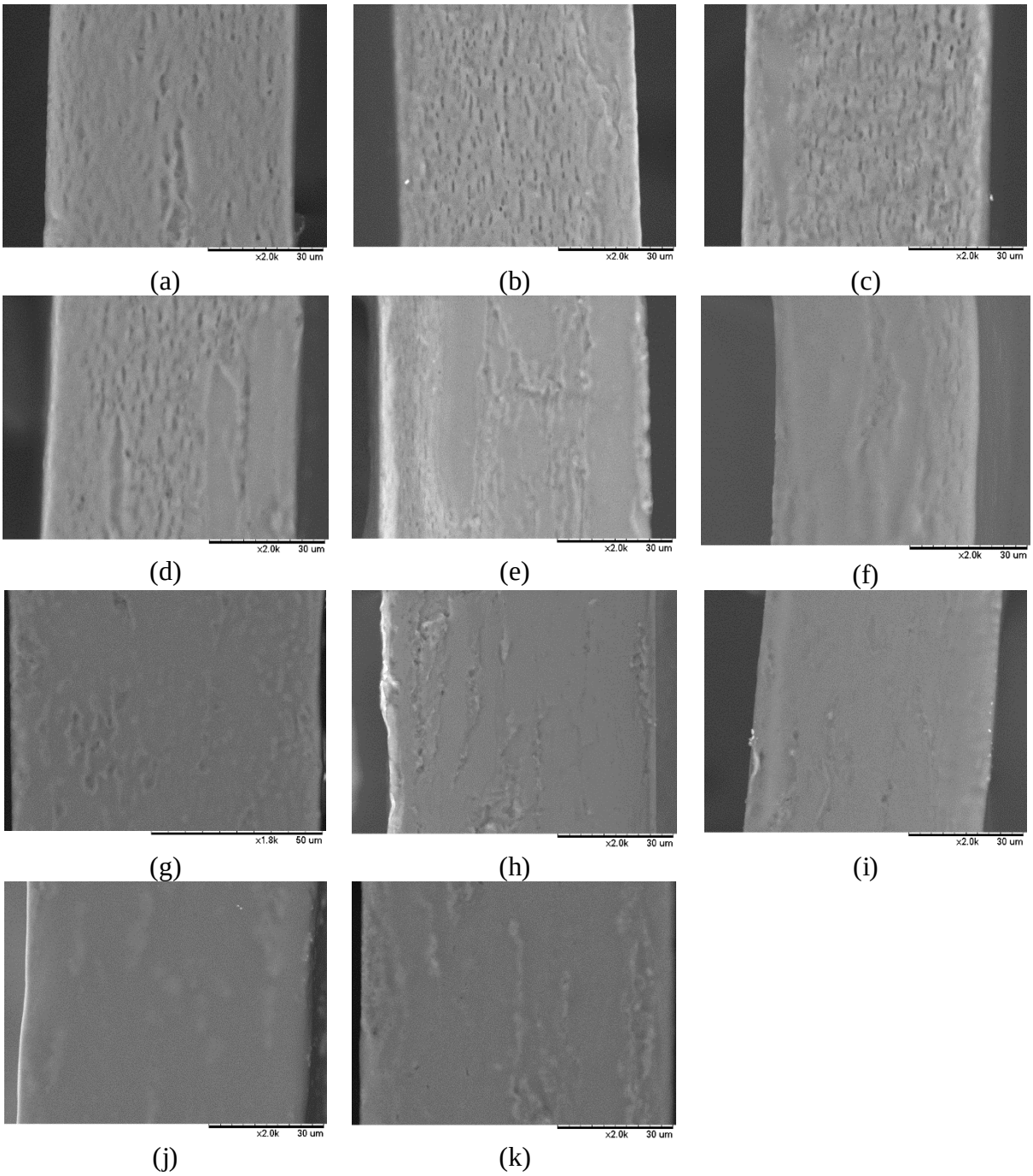


Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Em relação a estrutura interna dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu (Figura 29 e 30), observou-se uma estrutura heterogênea e formação de zonas de descontinuidade. Em comparação com os filmes de desintegração oral sem a adição de extrato seco (Figura 21), a formação de zonas de descontinuidade foi relativamente mais acentuada, podendo estar relacionada a separação de fases.

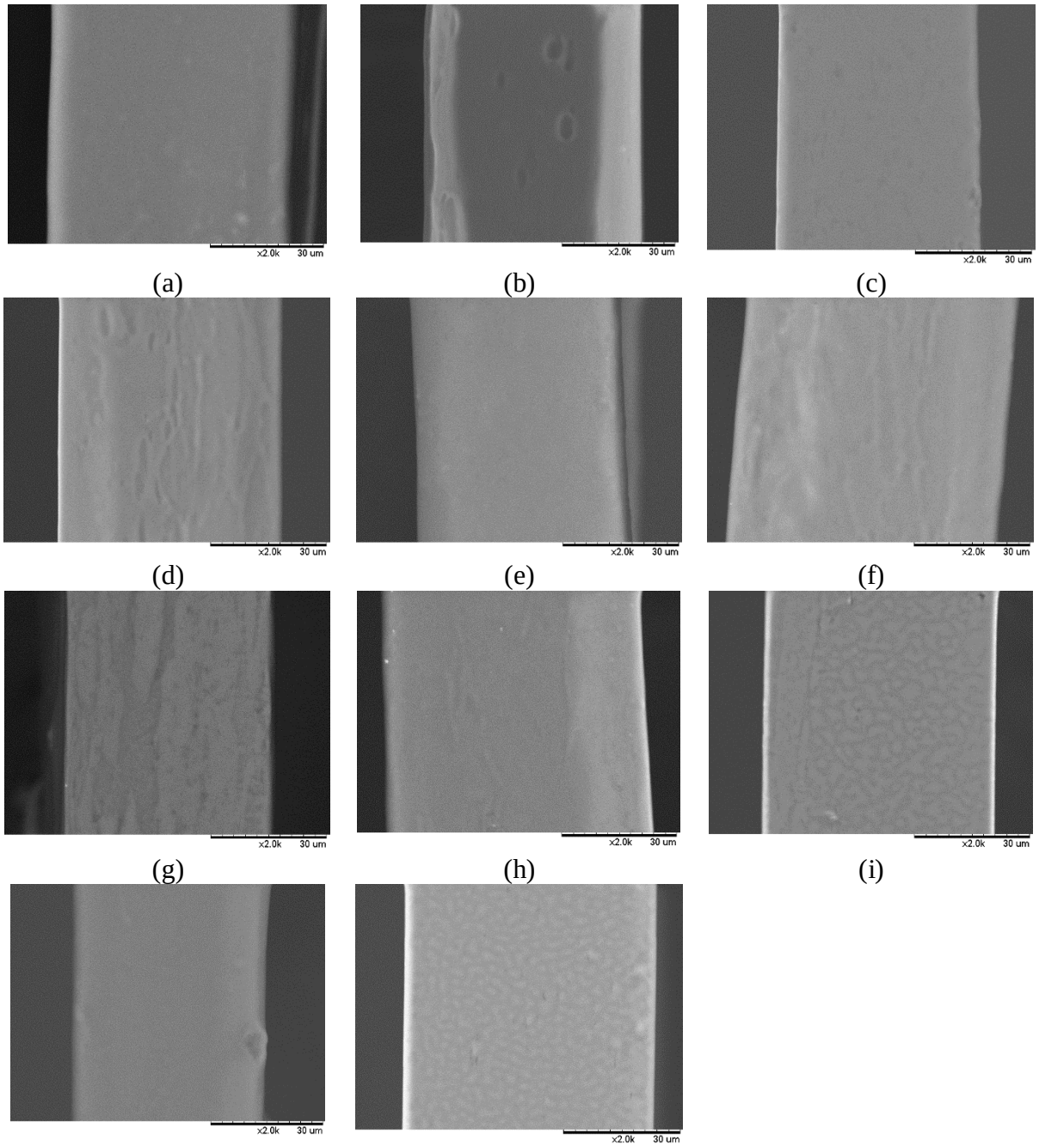
Na literatura não foram reportados trabalhos relacionados com a morfologia de filmes de desintegração oral com adição de extratos. No entanto, de maneira similar, Bitencourt et al. (2014) avaliaram a incorporação de extrato etanólico de cúrcuma em filmes biodegradáveis à base de gelatina e observaram que os filmes com extrato apresentaram uma estrutura interna mais heterogênea em relação ao controle.

Figura 29. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na micrografia eletrônica da superfície interna: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Figura 30. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na micrografia eletrônica da superfície interna: (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 10; (c) C_{amido} = 20; (d) C_{amido} = 30; (e) C_{amido} = 40; (f) C_{amido} = 50; (g) C_{amido} = 60; (h) C_{amido} = 70; (i) C_{amido} = 80; (j) C_{amido} = 90; (k) C_{amido} = 100.

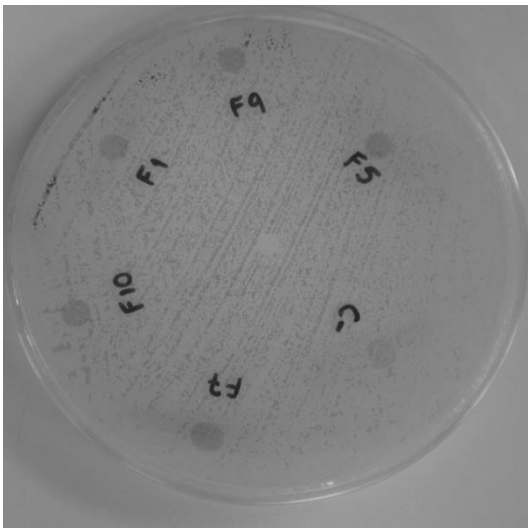


Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

4.4.9 Atividade antimicrobiana

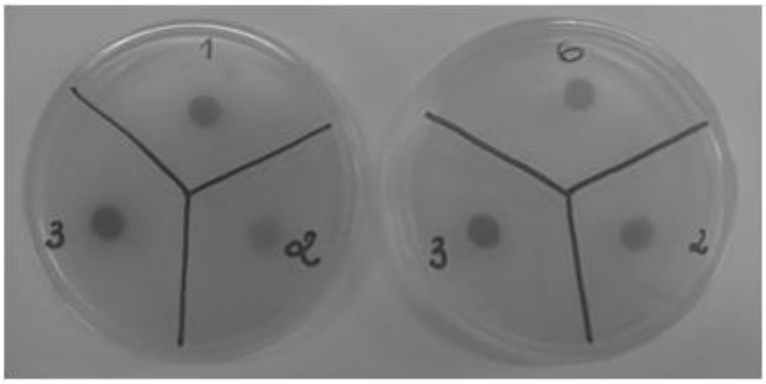
Nas Figuras 31 e 32, pode-se observar exemplos dos ensaios utilizando a técnica de discos de difusão para os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola contra *Cândida albicans* e *Streptococcus mutans*, respectivamente. Independente da formulação não foi observada a formação de halo de inibição contra *Cândida albicans* (Figura 31) e *Streptococcus mutans* (Figura 32), indicando que a concentração de extrato não apresentou atividade antimicrobiana.

Figura 31. Exemplo do efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Cândida albicans*: (F1) C_{amido} = 0; (F5) C_{amido} = 40; (F7) C_{amido} = 60; (F9) C_{amido} = 80; (F10) C_{amido} = 90; (C-) Controle negativo.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Figura 32. Exemplo do efeito da incorporação de extrato seco de acerola em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*: (1) C_{amido} = 0; (2) C_{amido} = 10; (3) C_{amido} = 20; (6) C_{amido} = 50.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu apresentaram atividade antimicrobiana segundo o teste de disco de difusão, como pode ser observada nas Figuras 33 e 34, contra *Cândida albicans* e *Streptococcus mutans*, respectivamente.

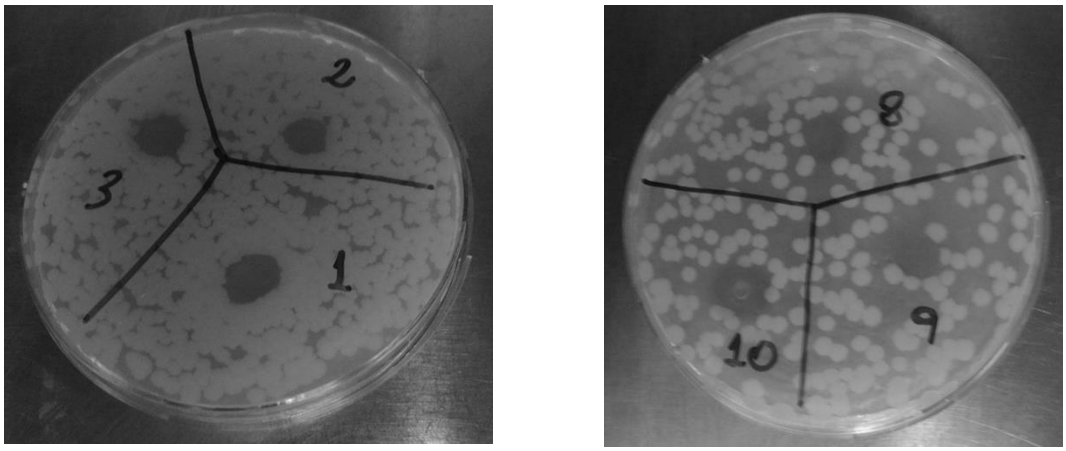
Na Tabela 31 pode-se observar os diâmetros de inibição dos filmes de desintegração oral. Os filmes apresentaram halo de inibição entre 10,5 e 11,7 mm e entre 13,3 e 16,3 para *Cândida albicans* e *Streptococcus mutans*.

Fugita et al. (2013) avaliaram a atividade antimicrobiana da polpa de camu-camu contra *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Listeria monocytogenes, Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis,* e observaram atividade antimicrobiana para *S.* aureus, atribuíram a presença de compostos fenólicos.

Juliano et al. (2007) desenvolveram filmes de desintegração oral de alginato de sódio, ágar e quitosana, com adição de própolis e também observaram atividade

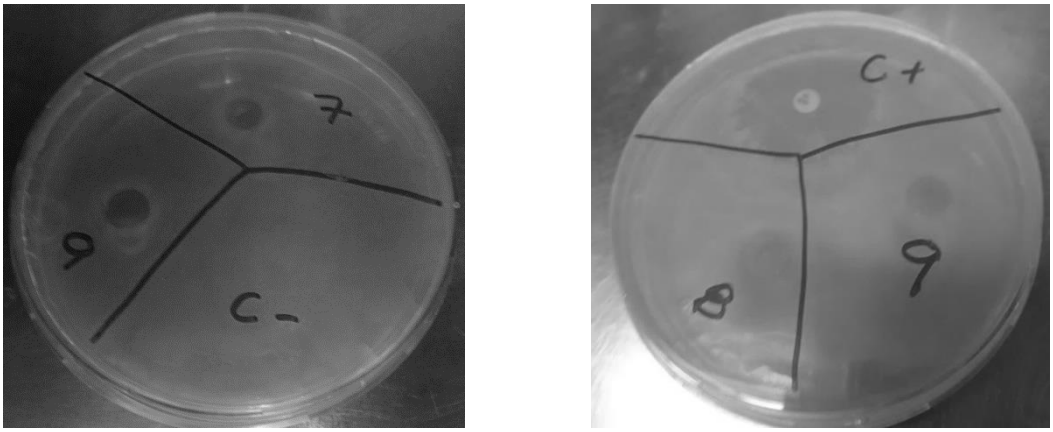
antimicrobiana dos filmes contra *Cândida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Figura 33. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Cândida albicans*: (1) C_{amido} = 0; (2) C_{amido} = 10; (3) C_{amido} = 20; (4) C_{amido} = 30; (8) C_{amido} = 70; (9) C_{amido} = 80; (10) C_{amido} = 90; (11) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Fonte: Própria autoria.

Figura 34. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu em filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) na atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*: (1) C_{amido} = 0; (2) C_{amido} = 10; (3) C_{amido} = 20; (4) C_{amido} = 30; (5) C_{amido} = 40; (6) C_{amido} = 50; (7) C_{amido} = 60; (8) C_{amido} = 70; (9) C_{amido} = 80; (10) C_{amido} = 90; (11) C_{amido} = 100.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Fonte: Própria autoria.

Tabela 31. Efeito da incorporação de extrato seco de camu-camu na atividade antimicrobiana contra *Cândida albicans* e *Streptococcus mutans* dos filmes de desintegração oral com aumento da concentração de amido.

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Diâmetro de inibição (mm)	
	Candida albicans	*Streptococcus mutans*
0	11,3±0,5[a]	14,0±1,4[c]
10	10,5±0,5[ab]	16,0±1,0[b]
20	11,5±0,5[a]	15,3±2,1[b]
30	10,5±0,5[ab]	15,0±1,4[b]
40	11,7±0,5[a]	16,3±2,5[b]
50	11,3±0,5[a]	13,5±1,7[c]
60	11,0±1,0[a]	13,3±1,5[c]
70	10,3±0,5[b]	15,0±2,8[b]
80	11,5±0,5[a]	14,0±1,0[b]
90	11,5±0,5[a]	14,5±2,1[b]
100	11,5±0,5[a]	13,5±0,7[c]

Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

4.5 Avaliação sensorial, atividade antioxidante e estabilidade dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

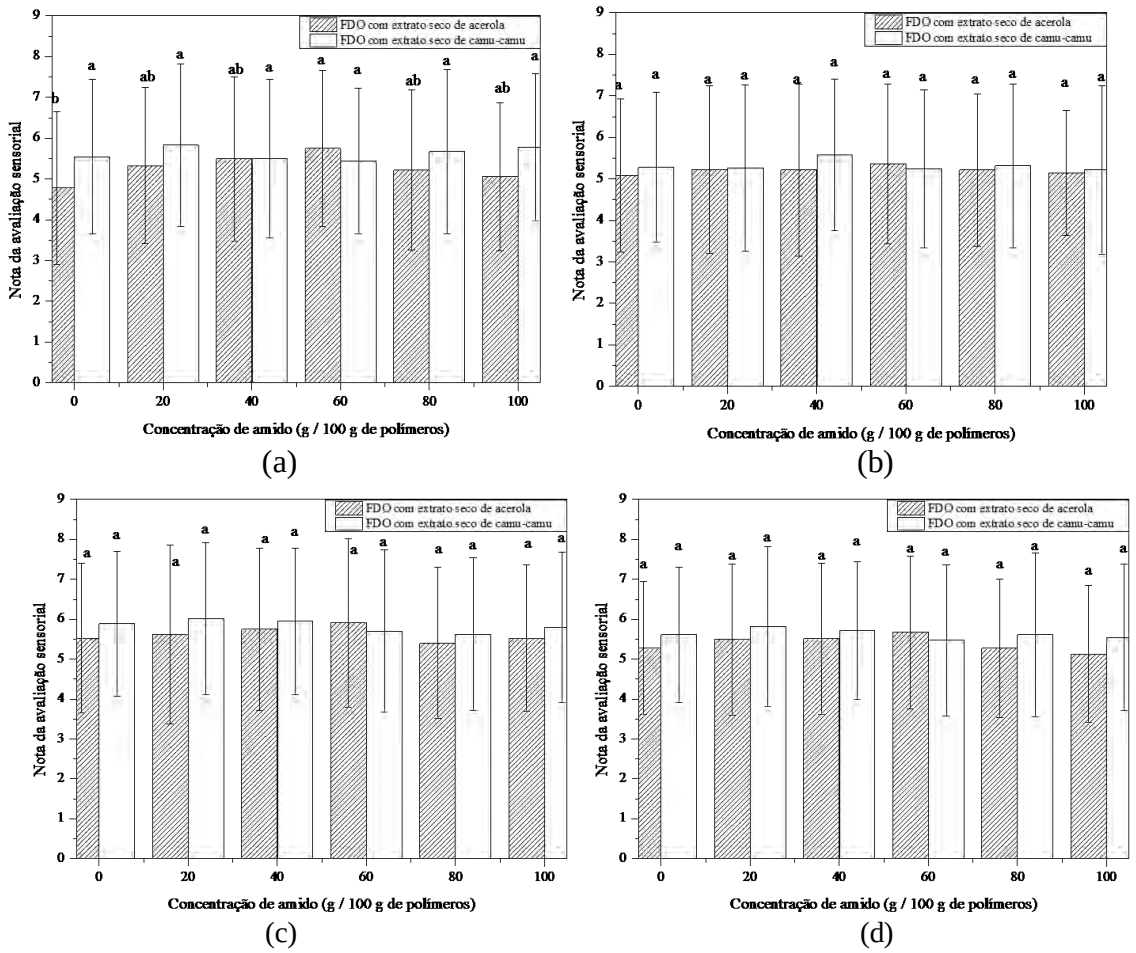
Considerando-se que os resultados para os filmes à base de amido e gelatina com incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu foram muito similares, a avaliação sensorial, atividade antioxidante e estabilidade dos filmes de desintegração foram realização apenas para as formulações com concentração de amido 0 g, 20 g, 40 g, 60 g, 80 g e 100 g de amido / 100 g de polímeros.

4.5.1 Avaliação sensorial dos FDO com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

Na Figura 35 observou-se os resultados da avaliação sensorial dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu. De um modo geral, não foram observadas diferenças significativas em relação aos atributos conforto, sabor, sensação e aceitação global dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu (Figura 35), isto pode ter ocorrido, pois em todas as formulações foi adicionada a mesma concentração de extrato seco de acerola (4g / 100g solução filmogênica) e/ou camu-camu (4g / 100g solução filmogênica).

Desta forma, podemos afirmar que o aumento da concentração de amido não influenciou de forma significativa nas características sensoriais dos filmes de desintegração oral em relação aos atributos avaliados. Adicionalmente, nos filmes com adição de extrato seco de acerola e camu-camu, observou-se um reduzido tempo de desintegração (Tabela 29), independente da formulação, o que poderia acarretar uma certa dificuldade para avaliar os características sensoriais dos FDOs.

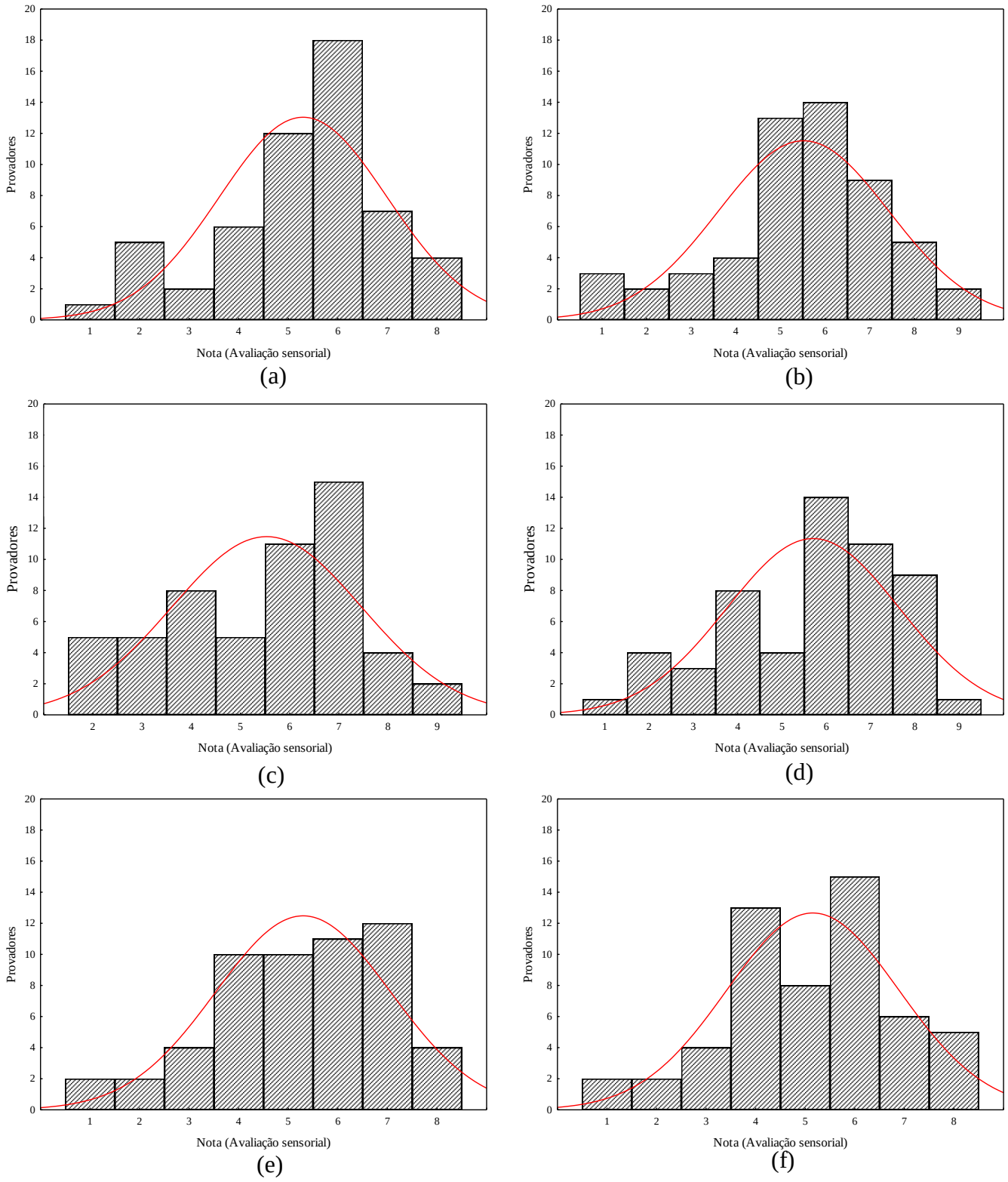
Figura 35. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu em filmes de desintegração oral na avaliação sensorial em relação aos atributos (a) Conforto; (b) Sabor; (c) Sensação; (d) Aceitação global.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica), extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

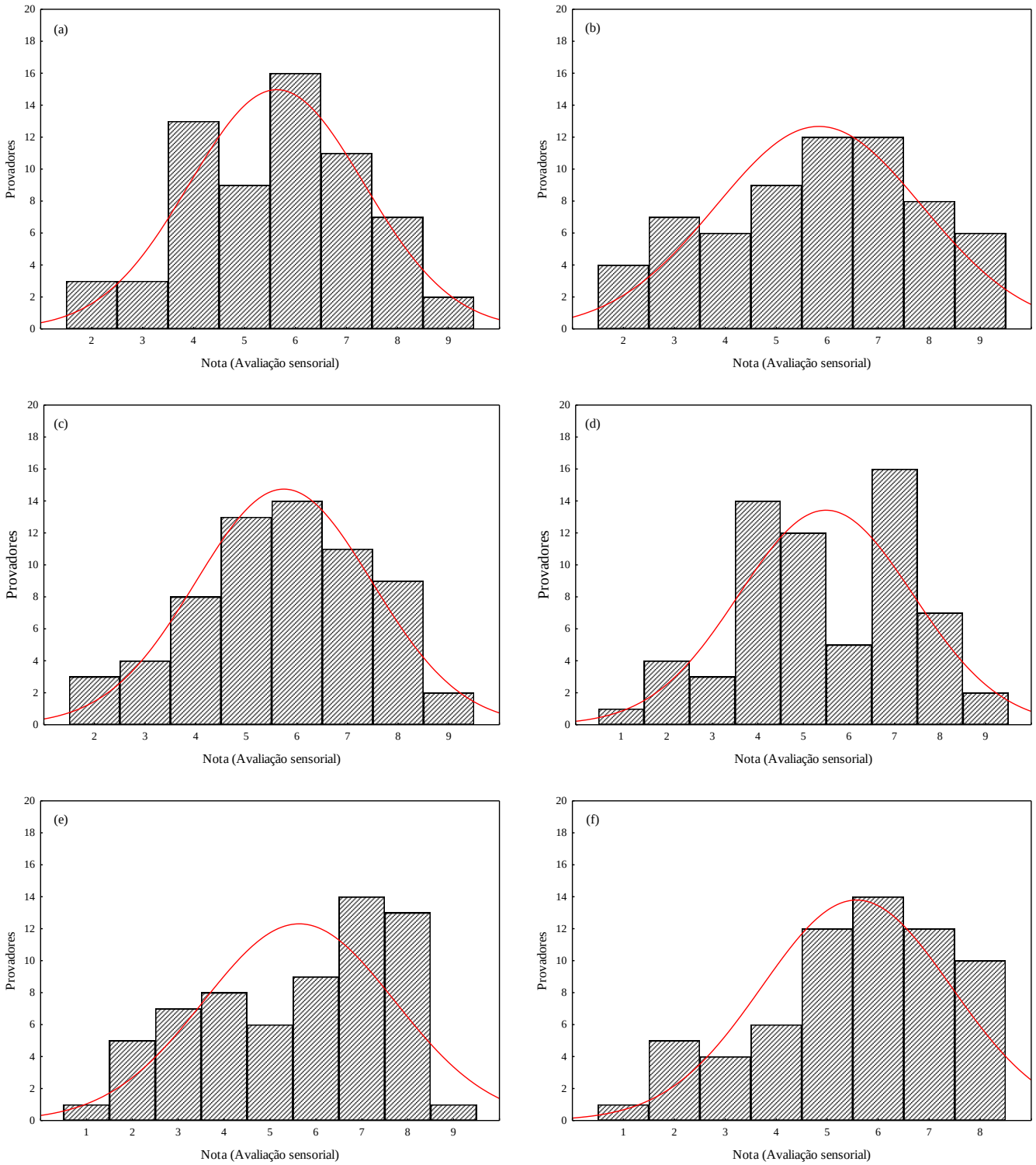
De acordo com o histograma dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (Figura 36) e camu-camu (Figura 37) em relação às notas de aceitação global, observou-se que todas as formulações apresentaram uma boa aceitação, indicando que nenhuma formulação foi selecionada pelos provadores em relação aos atributos avaliados.

Figura 36. Histograma entre o número de consumidores e as notas obtidas em relação a incorporação de extrato seco de acerola e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) avaliando o atributo de aceitação global. (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 20; (c) C_{amido} = 40; (d) C_{amido} = 60; (e) C_{amido} = 80; (f) C_{amido} = 100.



Fonte: Própria autoria.

Figura 37. Histograma entre o número de consumidores e as notas obtidas em relação a incorporação de extrato seco de camu-camu e aumento da concentração de amido (C_{amido} = g/100 g de polímeros) avaliando o atributo de aceitação global. (a) C_{amido} = 0; (b) C_{amido} = 20; (c) C_{amido} = 40; (d) C_{amido} = 60; (e) C_{amido} = 80; (f) C_{amido} = 100.



Fonte: Própria autoria.

4.5.2 Atividade antioxidante dos FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu pelo método do sequestro do radical $ABTS^{\bullet+}$ e redução do ferro (FRAP).

A atividade antioxidante dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu pode ser observada na Figura 32.

Para o método do radical $ABTS^{\bullet+}$ os filmes de desintegração com adição de extrato seco de acerola e camu-camu não apresentaram diferenças significativas entre as diferentes concentrações de amido, o que era esperando, já que foram adicionadas em todas as formulações a mesma concentração de extrato seco. Pode-se observar que os filmes com extrato de camu-camu apresentaram maior potencial antioxidante, o que corrobora com os resultados obtidos para os extratos.

O potencial de sequestro do radical $ABTS^{\bullet+}$ foi relativamente baixo, embora tenha sido observado uma alta concentração de vitamina C nos extratos de acerola e camu-camu. Isto pode estar relacionado a baixa capacidade da vitamina C de sequestrar este radical.

Tabela 32. Efeito da incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu na em filmes de desintegração oral e aumento da concentração de amido na atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ e poder redutor do ferro (FRAP).

Concentração de amido (g / 100 g de polímeros)	Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola		Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu	
	$ABTS^{\bullet+}$	FRAP	$ABTS^{\bullet+}$	FRAP
0	$1,1\pm0,1^{aA}$	$108,1\pm5,6^{aB}$	$1,4\pm0,3^{aA}$	$273,6\pm11,5^{aA}$
20	$1,2\pm0,1^{aA}$	$108,8\pm6,2^{aB}$	$1,3\pm0,4^{aA}$	$249,8\pm36,4^{aA}$
40	$1,1\pm0,1^{aA}$	$106,8\pm9,4^{aB}$	$1,1\pm0,3^{aA}$	$279,1\pm31,2^{aA}$
60	$1,1\pm0,1^{aA}$	$110,2\pm10,8^{aB}$	$1,3\pm0,4^{aA}$	$287,2\pm18,9^{aA}$
80	$1,1\pm0,1^{aA}$	$108,4\pm9,8^{aB}$	$1,3\pm0,3^{aA}$	$271,5\pm34,1^{aA}$
100	$1,2\pm0,1^{aB}$	$109,8\pm5,8^{aB}$	$1,5\pm0,1^{aA}$	$279,9\pm28,9^{aA}$

Nota: µMol de trolox equivalente / g filme
Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros), extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$) e maiúsculas indicam diferença significativa em relação à mesma formulação para os diferentes métodos avaliados.
Fonte: Própria autoria.

Os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu não apresentaram diferenças significativas para poder redutor de ferro em relação ao aumento da concentração de extrato, semelhante ao observado para o método do radical $ABTS^{\bullet+}$.

O poder redutor de ferro do FDOs com adição de extrato seco de camu-camu foi relativamente superior ao FDOs com adição de extrato seco de acerola (Figura 32). A atividade antioxidante pelo método FRAP pode ser atribuída a presença de vitamina C nos extratos incorporados nos FDOs, pois a redução do peróxido de hidrogênio por Fe^{+} a radical hidroxila é favorecida na presença de vitamina C (CERQUEIRA et al., 2007). Possivelmente isto justifique os maiores percentuais de poder redutor de ferro dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu, quando comparado aos FDOs com adição de extrato seco de acerola.

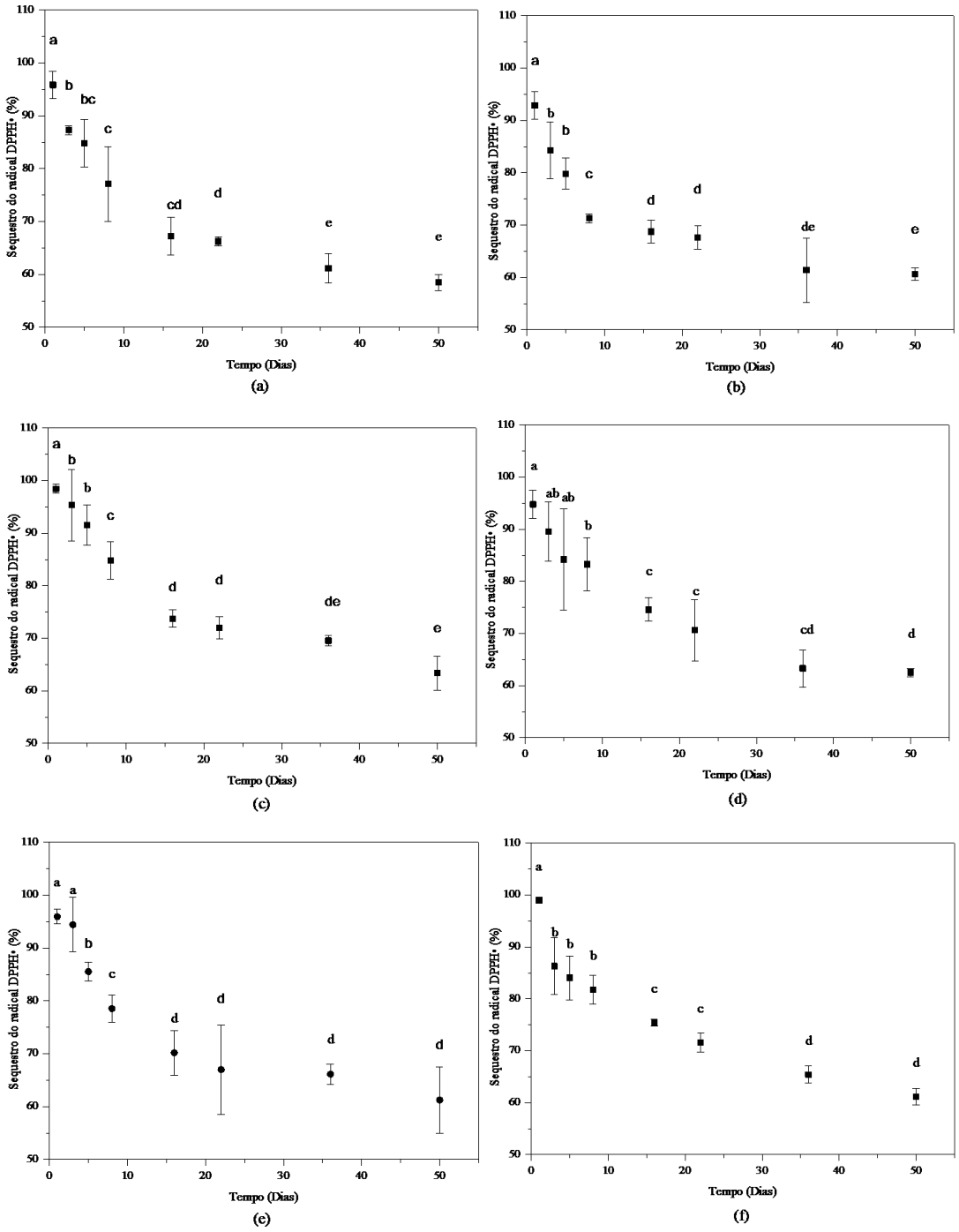
4.5.3 Avaliação da estabilidade dos Filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu em função da capacidade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH•

Nas Figuras 38 e 39 podem-se observar a estabilidade em relação ao sequestro do radical DPPH• dos filmes de desintegração com adição de extrato seco de acerola e camu-camu, respectivamente, em função do tempo de armazenamento (dias). De modo geral, todas as formulações com adição de extrato seco de acerola (Figura 38) e camu-camu (Figura 39) apresentaram estabilidade aos compostos antioxidantes determinados pelo método DPPH•, independente da concentração de amido.

Alguns fatores como a temperatura podem acelerar a perda dos compostos antioxidantes e a utilização de polímeros podem minimizar está perda, auxiliando na conservação dos compostos antioxidantes. Os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola apresentaram estabilidade dos compostos antioxidantes por um período de 50 dias e os FDOs com adição de extrato seco de camu-camu por 60 dias, possivelmente os filmes tenham auxiliado na proteção dos compostos antioxidantes. Possivelmente o maior tempo de estabilidade observado para os filmes de camu-camu esteja relacionada a maior quantidade de compostos antioxidantes presentes no extrato, como relatado anteriormente (Tabela 142).

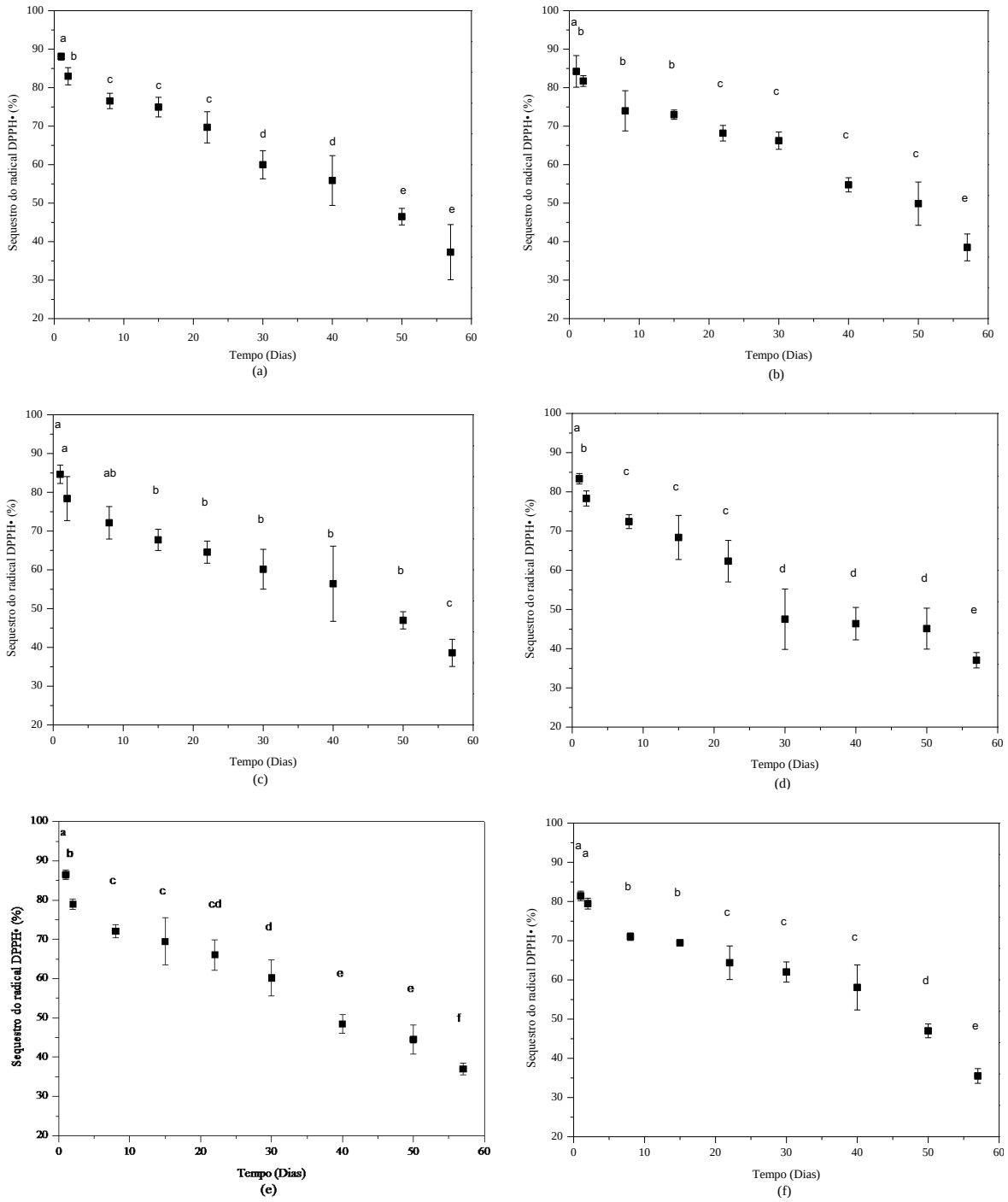
Apesar da diminuição da capacidade antioxidante observada em todas as formulações, os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola podem ser considerados uma fonte de compostos antioxidantes, pois, ao final do tempo de estabilidade apresentaram uma alta atividade antioxidante (aproximadamente 50 %), assim como os FDOs com adição de extrato seco de camu-camu, aproximadamente 35 %, após 55 dias de armazenamento.

Figura 38. Avaliação da capacidade de sequestro do radical DPPH• (%) em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido: (a) 0; (b) 20; (c) 40; (d) 60; (e) 80; (f) 100 g / 100 g de polímeros.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

Figura 39. Avaliação da capacidade de sequestro do radical DPPH• (%) em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido: (a) 0; (b) 20; (c) 40; (d) 60; (e) 80; (f) 100 g / 100 g de polímeros.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$).
Fonte: Própria autoria.

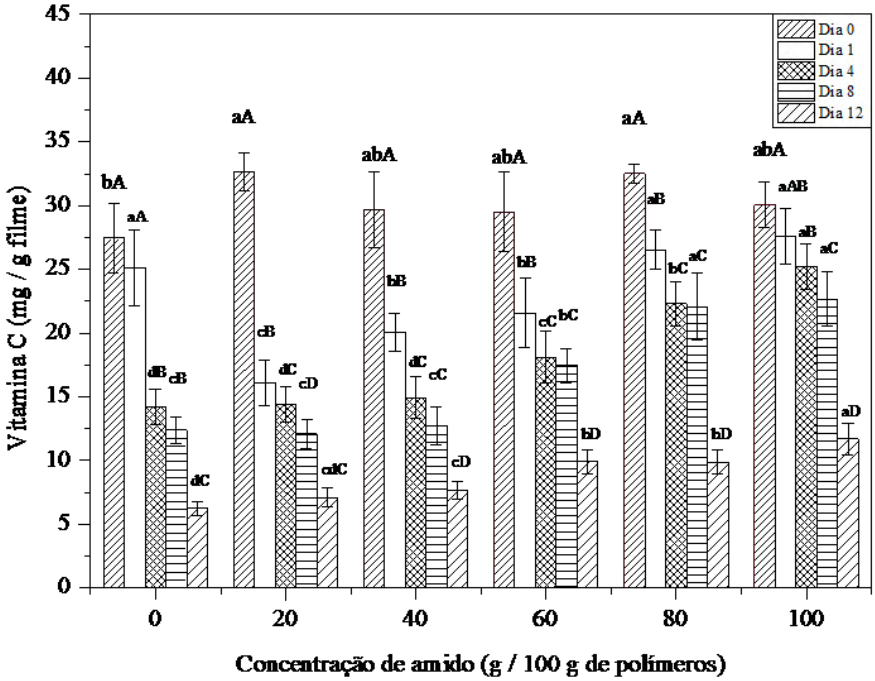
4.5.4 Avaliação da estabilidade dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu em função da Vitamina C

A avaliação da estabilidade dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu em função da vitamina C podem-se ser observadas nas Figuras 40 e 41, respectivamente. Os filmes de desintegração oral de acerola (Figura 40) apresentaram uma reduzida estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento. Após 12 dias, não foi possível a quantificação da vitamina C independente da formulação avaliada. Possivelmente esteja relacionado a menor concentração de vitamina C.

Por outro lado, os filmes com maior concentração de amido (100 g de amido / 100 g de polímeros, Figura 40) apresentaram maior estabilidade em relação a concentração de vitamina C, diferindo significativamente em relação as formulações produzidas com maiores concentrações de gelatina (0, 20, 40, 60 g de amido / 100 g de polímeros) após o primeiro dia de armazenamento.

Schmidt et al. (2013) relaram que filmes de amido apresentam boas propriedades de barreira ao oxigênio, porém são sensíveis a umidade. Sabe-se que o oxigênio, temperatura e o pH são os principais fatores que podem influenciar na velocidade de degradação da vitamina C (FENNEMA, 1993). Desta forma pode-se dizer que os FDOs desenvolvidos como uma maior concentração de amido, podem minimizar o processo de degradação da vitamina C, principalmente nos primeiros dias de armazenamento.

Figura 40. Avaliação da estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$) em relação às formulações dos filmes de desintegração oral no mesmo dia de armazenamento e letras maiúsculas indicam diferença significativa em relação aos dias de armazenamento, da mesma formulação.
Fonte: Própria autoria.

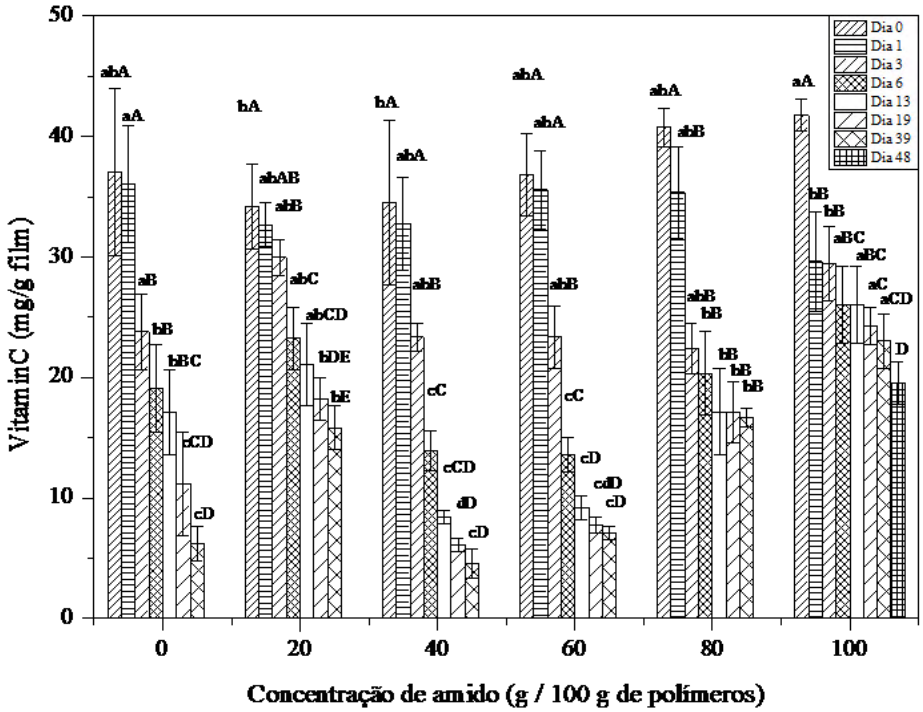
Observou-se nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (Figura 41) uma maior estabilidade em relação a concentração de vitamina C, sendo possível a quantificação em 39 dias de armazenamento. De um modo geral todas as formulações apresentaram redução da concentração de vitamina C em relação ao tempo de armazenamento (0, 1, 3, 6, 13, 19 e 39 dias), no entanto, avaliando a concentração de vitamina C entre as formulações desenvolvidas a formulação com maior concentração de amido (100 g / 100 g polímeros), apresentou a maior estabilidade em relação a concentração de vitamina C

diferindo significativamente das outras formulações após o 13 ° dia. Este efeito também foi relatado para os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola.

Observou nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola uma redução de aproximadamente 70 % em relação à concentração inicial de vitamina C e os FDOs com adição de extrato seco de camu-camu de aproximadamente 74 %, indicando que o reduzido tempo de armazenamento dos FDOs aditivados com extrato seco de acerola pode ser justificado pela concentração de vitamina C inicial.

Yamashita et al. (2003) relataram que a temperatura de armazenamento é um dos principais fatores que afetam a degradação da vitamina C, desta forma possivelmente os filmes armazenados em temperaturas reduzidas (temperatura ambiente) poderiam conservar a vitamina C por um período maior, consequentemente atribuindo maiores características antioxidantes aos FDOs com adição dos extratos naturais.

Figura 41. Avaliação da estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$) em relação às formulações dos filmes de desintegração oral no mesmo dia de armazenamento e letras maiúsculas indicam diferença significativa em relação aos dias de armazenamento, da mesma formulação.
Fonte: Própria autoria.

Não foram entrados na literatura a avaliação da estabilidade de filmes de desintegração oral em função da concentração de vitamina C. Liew et al. (2012) avaliaram a estabilidade de filmes de desintegração oral produzidos a partir de hidroxipropil metilcelulose e amido de milho, incorporados com donepezil, e verificaram que após 6 meses de armazenamento os filmes não apresentaram variações em relação ao peso e aparência, com concentração de donepezil de 9,51 ± 0,17 mg / g de filme.

Chandrasekhar et al. (2009) relataram que o desenvolvimento de filmes de desintegração oral com matrizes que tornem os compostos ativos estáveis, minimiza os custos com embalagens para proteção dos compostos incorporados. Desta forma os filmes de

desintegração oral desenvolvidos, apresentaram uma boa estabilidade do composto ativo incorporado, pois foram estáveis por dias, sem a presença de embalagens para proteção.

4.6 Otimização dos filmes de desintegração oral incorporados com extrato seco de acerola e camu-camu à base de amido e gelatina

Após a avaliação dos resultados, a formulação de filme de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu produzida apenas à base de amido (100 g de amido / 100 g de polímeros) apresentou o menor tempo de desintegração e maior estabilidade na concentração de vitamina C (T 30 °C, UR 75 %). Desta forma, a formulação (100 g de amido / 100 g de polímeros) foi selecionada para avaliar a distribuição do fármaco no filme de desintegração oral e estabilidade na temperatura de 40 °C e umidade relativa 75 %.

4.6.1 Uniformidade da vitamina C nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

Os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola apresentaram uma taxa de uniformidade na distribuição da vitamina C de 9,28±0,62 mg / g de FDO e os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu 28,53±3,16 mg/ g de FDO. Estes resultados indicam que o extrato seco adicionado para a produção dos filmes de desintegração oral está uniformemente distribuído na matriz polimérica.

Na Tabela 33 pode-se observar os valores de aceitação das doses unitárias calculadas de acordo com a Farmacopéia (2010), sendo para a dose declarada considerada os valores estabelecidos pela FAO/WHO (Food Agriculture Organization) para ingestão diária recomendada de vitamina C para adultos (45 mg/dia).

Para o teste de aceitação, de acordo com a Farmacopéia (2010), o produto cumpre as normas se o valor de aceitação calculado para as dez unidades não for superior ao L1 (VA < L1). Na Tabela 33, observou-se os valores de aceitação dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu. Verificou-se, portanto que as doses unitárias

dos FDOs com adição de extrato seco de acerola estão em de acordo com o teste de aceitação estabelecido pela Farmacopeia (2010).

Tabela 33. Valores de aceitação das doses unitárias dos filmes de desintegração com adição de extrato seco de acerola e camu-camu para a formulação com 100% de amido.

Filmes de desintegração oral	Dose declarada (mg / dia)[1]	X (%)[2]	VA[3]	L1[4]
Acerola	45,00	20,63	37,21	25,00
Camu-camu	45,00	55,33	22,94	25,00

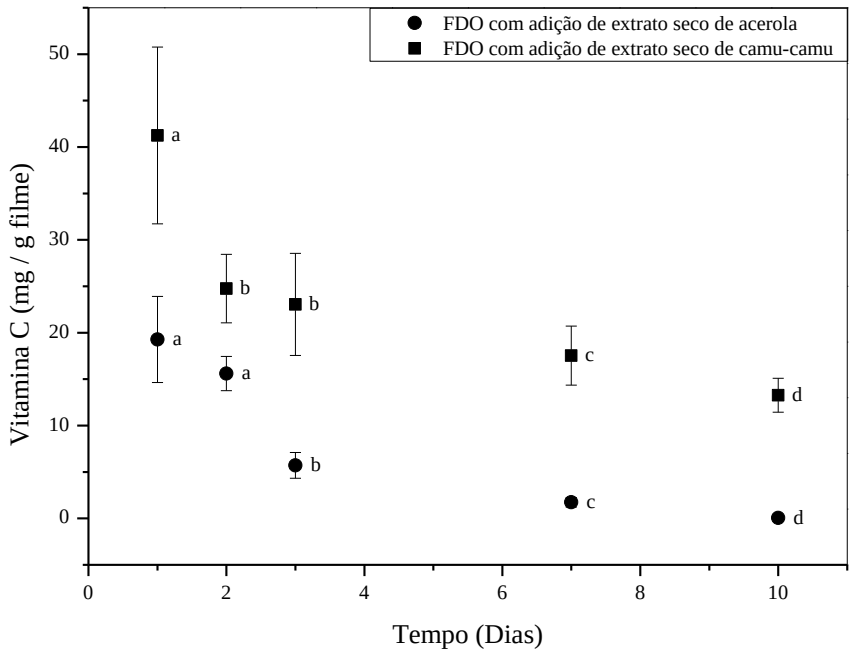
[1]Dose declarada de acordo com a ANVISA para suprir a necessidade diária de vitamina C para adultos.
[2]Porcentagem da dose declarada presente no filme de desintegração oral
[3]Valor de aceitação
[4]Valor fornecido pela Farmacopéia (2010) para doses especificadas. Fonte: Própria autoria.

4.6.2 Estabilidade da vitamina C nos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu

A estabilidade da vitamina C, nas condições de 40 ºC e 75% de umidade relativa, dos filmes desintegração oral de amido (100 g de amido /100 g de polímero) com adição de extrato seco de camu-camu e acerola podem ser observados na Figura 42. Para as duas formulações analisadas não foram possíveis quantificar a concentração de vitamina C em apenas 10 dias de armazenamento. Isso pode estar relacionado à baixa estabilidade da vitamina C em temperatura mais elevadas de armazenamento, pois quando os filmes foram armazenados na temperatura de 30 ºC (UR 75 %) foi possível quantificar a vitamina C nos filmes de amido (100 g/100 g de polímero), com extrato seco de acerola e camu-camu, com 12 e 48 dias de armazenamento, respectivamente. Desta forma, a condições de armazenamento são muito importantes para a estabilidade da vitamina C.

Oliveira e Almeida (2010) analisaram a estabilidade de ácido ascórbico em suco de caju em relação ao tempo e a temperatura de armazenamento, e verificaram a redução da concentração do ácido ascórbico com o aumento da temperatura.

Figura 42. Avaliação da estabilidade da vitamina C em função do tempo de armazenamento (dias) dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola (4 g / 100 g de solução filmogênica) e camu-camu (4 g / 100 g de solução filmogênica) e diferentes concentrações de amido.



Nota: Concentração de polímeros (amido + gelatina) constante em 2 g / 100 g de solução filmogênica, plastificante (20 g de sorbitol / 100 g de polímeros).
Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$) em relação a mesma formulação.
Fonte: Própria autoria.

5. CONCLUSÕES

Nos extratos secos de acerola e camu-camu produzidos por *spray dryer* observou-se atividade antioxidante e alta concentração de vitamina C. Na estabilidade em relação a concentração de vitamina C, denotou-se uma maior velocidade de degradação nos extratos armazenados na temperatura de 40 °C.

De modo geral, os filmes de desintegração oral produzidos a partir dos polímeros amido e gelatina apresentaram uma alta capacidade filme-formadora e o aumento da concentração de amido nas formulações acarretou redução nos valores do tempo de desintegração nos testes *in vitro* e *in vivo* e independente da formulação o pH de superfície permaneceu próximo ao pH bucal.

Após incorporação dos extratos secos de acerola e camu-camu, os FDOs apresentaram atividade antioxidante, podendo ser considerados como fontes de compostos antioxidantes. Em relação a estabilidade ao sequestro do radical DPPH• observou-se que os filmes apresentaram atividade antioxidante ao longo do tempo.

De forma geral, a adição de extrato seco de acerola e camu-camu reduziram o tempo de desintegração dos FDOs nos testes *in vitro* e *in vivo*. A análise sensorial demonstrou que os FDOs com adição de extrato seco de acerola e camu-camu não apresentaram diferenças significativa em relação aos atributos avaliados (conforto, sabor, sensação, aceitação global).

Dentre as formulações estudadas os filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola e camu-camu, produzido apenas com amido (100 g de amido / 100 g de polímeros) apresentaram as propriedades desejadas para os FDOs: reduzido tempo de desintegração (*In vitro* e *In vivo* – Equipe treinada), alta concentração de vitamina C, estabilidade em relação ao compostos antioxidantes (DPPH) e vitamina C, além de distribuição uniforme da vitamina C.

Assim podemos concluir os filmes de desintegração oral produzidos à base de amido e gelatina, com incorporação de extrato seco de acerola e camu-camu, podem ser caracterizados como uma forma de dosagem inovadora de compostos ativos naturais, devido à incorporação do extrato seco de acerola e camu-camu, podendo ser considerados como carreadores de vitamina C, auxiliando no seu consumo diário.

6. REFERÊNCIAS

ABBAS, S. et al. Ascorbic acid: microencapsulation techniques and trends – a review. **Food Reviews International,** New York, v. 28, p. 343-374, 2012.

ABRUZZO, A. et al. Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propranolol hydrochloride. **Carbohydrate Polymers,** Kidlington, v. 87, p. 581-588, 2012.

ACINO, A.G. Oral zerfallender Film zur therapeutischen Anwendung von Antiparasitika bei Tieren, Patente nº DE 202008017304 U1. 27 de ago. 2009.

ACOSTA, S.; JIMÉNEZ, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTINEZ, C.; CHÁFER, M. Mechanical, barrier and microstructural properties of films based on cassava starch gelatin blends: effect of aging and lipid addition. **InsideFood Symposium**, Leuven, v. 2013, p. 1-6, 2013.

AKTER, M. S. et al. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**, Kidlington, v. 44, p. 1728-1732, 2011.

ALBERTINO, A.; BARGE, A.; CRAVOTTO, G.; GENZINI, L.; GOBETTO, R. Natural origin of ascorbic acid: Validation by ^{13}C NMR and IRMS. **Food Chemistry**, Amsterdam v. 112, n. 3, p. 715-720, 2009.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch-gelatin edible films: Water vapor permwability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids,** v. 26, p. 108-117, 2012.

ALI, S.; QUADIR, A. High molecular weight povidone polymer-based films for fast-dissolving drug delivery applications. **Drug Delivery Technology**, v. 7, p. 36-43, 2007.

ALVES, R. E. et al. Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): A rich natural source of vitamin C. **Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 46, p. 11-13, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Designation D882-01: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**. Philadelphia: ASTM International, 2010.

ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdam , v. 71, p. 505-518, 2009.

ARAI, T. Oral preparation. Patente nº WO 2012029913 A1, 8 mar. 2012.

ARKLES, B. Water, water everywhere is the refrain from the rhyme of the ancient mariner and a concern of every modern coatings technologist. Hydrophobicity, Hydrophilicity and Silanes. 2014.

ARYA, A. et al. Fast dissolving oral films: an innovative drug delivery system and dosage form. **International Journal of ChemTech Research,** Mumbai, v. 2, p. 576-583, 2010.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 74, p. 133-137, 2001.

BALA, R.; PAWAR, P.; KHANNA, S.; ARORA, S. Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 3, n. 2, p. 67-76, 2013.

BALDEON, E. O. et al. Voltammetry pulse array developed to determine the antioxidant activit of camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaug) and tumbo (*Passiflora mollisima* (Kunth) L.H. Bailey) juice employing. **Food Control**, Guildford, v. 54, p. 181-187, 2015.

BASTOS, C. T. R. M.; LADEIRA, T. M. S.; ROGEZ, H.; PENA, R. S. Estudo da eficiência da pasteurização da polpa de taperebá (*Spondias mombin*). **Alimentos e Nutrição**, Araraqusra, v. 19, n. 2, p. 123-131, 2008.

BELL, L. N.; LAPUZA, T. P. Composition influence on the pH of reduced-moisture solutions. **Journal Food Science**, v. 57, n. 1, p. 732 – 734, 1992.

BENDICH, A.; COHEN, M. Ascorbic acid safety: analysis of factors affecting iron absorption. **Toxicology Letters**, v. 51, p. 189-201, 1990.

BENDICH, A. Vitamin C safety in humans. In: PACKER L.; FUCHS, J. (Eds.). **Vitamin C in health and disease**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 367-379.

BENZIE, I. F. F.; STRAINM, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BET, M. R.; GOISSIS, G.; LACERDA, C. A. Characterization of polyanionic collagen prepared by selective hydrolysis of asparagine and glutamine carboxyamide side chains. **Biomacromolecules**, Washington, v. 2, p. 1074-1079, 2001

BIALOPIOTROWICZ, T.; JANCZUK, B. Surface Properties of Gelatin Films. **Langmuir,** v. 18, n. 1, p. 9462-9468, 2002.

BISWALL, D. R.; SINGH, R. P. Characterization of carboxymethyl cellulose and polyacrylamide graft copolymer. **Carbohydrate Polymers**, Kidlington, v. 57, p. 379-387, 2004.

BITENCOURT, C. M.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; SOBRAL. P. J. A.; CARVALHO, R. A. Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 40, p. 145-152, 2014.

BORGES, J. G.; CARVALHO, R. A. Orally disintegrating films containing propolis: properties and release profile. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Easton, v. 104, p. 1431-1439, 2015.

BORGES, J. G.; TAGLIAMENTO, M.; SILVA, A. G.; SOBRAL, P. J. A.; CARVALHO, R. A. Development and characterization of orally-disintegrating films for propolis delivery. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. Supl.1, p. 28-33, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology,** London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRITO, E. S. et al. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara and guajiru. **Journal Agricultural and Food Chemistry,** Washington, v. 55, p. 9389- 9394, 2007.

BRNIAK, W.; MASLAK, E.; JACHOWICS, R. Orodispersible films and tablets with prednisolone microparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 75, p. 81-90, 2015.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. Cadeia produtiva de frutos. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. v.7, 102p., 2007.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, Oxford, v. 65, n. 6, 2000.

CARDOSO, P. C. et al. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry,** Amsterdam, v. 126, p. 411- 416, 2011.

CARRINGTON, C. M. S.; KING, R. A. G. Fruit development and ripening in Barbados cherry. *Malpighia emarginata* D. C. **Scientia Horticulturae,** Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 1-7, 2002.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHAGAS et al., 2012

CHANDRASEKHAR, R. et al. The role of formulation excipients in the development of lyophilised fast-disintegrating tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, n. 1, p..119 – 129, 2009.

CHEVALA, N. T. et al. Design and development of fluoxetine hydrocholoride oro flash films to alleviate major depressive disorder. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 45, p. 493-501, 2015.

CHIRINOS, R. et al. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu-camu (Myrciaria dubia (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 120, p. 1019-1024, 2010.

CILURZO, F. et al. Diclofenac fast-dissolving film: suppression of bitterness by a taste-sensing system. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 37, p. 252-259, 2011.

CILURZO, F. et al. Fast dissolving films made of maltodextrins. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** Amsterdam, v. 70, p. 895-900, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**: Approved Standard. 8nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003. (NCCLS document M2-A8).

CORREA, S. I. et al. Vitamin C content in fruits of camu-camu Myrciaria dubia (H.B.K) Mc Vaugh, in four states of maturation, coming from the Collection of Germoplasma of the INIA Loreto, Peru. **Scientia Agropecuaria**, Peru, v. 2, p. 123-130, 2011.

Costantini et al. (2011

DAUD, A.; BONDE, M.; SAPKAL, N. Development of *Zingiber officinale* in oral dissolving films: effect of polymers on *in vitro*, *in vivo* parameters and clinical efficacy. **Asian Journal of Pharmaceutics**,Mumbai, v. 5, p. 183-187, 2011.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid, composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia punicifolia* L.) from two harvest. **Food Research International**, v. 38, p. 1073-1077, 2005.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

DIB TAXI, C. M. A. et al. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. **Journal Microencapsulation**, London, v. 20, p. 443-448, 2003.

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

EPKA et al., 2005;

FAKHOURY, F. M.; MARTELLI, S. M.; BERTAN, L. C.; YAMASHITA, F.; MEI, L. H.; QUEIROZ, F. P. C. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin – Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 49, p. 149-154, 2012.

FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements apud Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R. Caracterização físico-química de filmes comestiíveis de amido adicionado de acerola (*Mapighia punicifolia* D.C.). **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 546-552, 2012.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. **Anvisa,** v. 1, 5 ed. Brasília, 2010.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; SANTANA, A. S.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; TRINDADE, M. A.; NETTO, F. M. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of caserin hydrolysate. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 336-340, 2010.

FENNEMA, O. R.; et al. Química de Alimentos de Fennema. Artmed, 2010. 1095p.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C. P.; AGUIRRE, J. M. Secagem por atomização de polpa de amora-preta usando maltodextrina como agente carreador. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 157-165, 2012.

FERRARI, M. S. L.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, E. C. B. A. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Mapighia punicifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v.2015, p. 1-9, 2015.

FRACASSETTI, D.; COSTA, C.; MOULAY, L.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Ellagic acid derivatives, ellatitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 139, p. 578-588, 2013.

FREIRE, J. M. et al. Quantificação de compostos fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 43, n. 12, p. 2291-2296, 2013.

FUGITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B. D. G.; GENOVESE, M. I. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozem pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). **Food Research International**, Kidlington, v. 54, p. 495-500, 2013.

GAISFORD, S. et al. Monitoring crystallisation of drugs from fast-dissolving oral films with isothermal calorimetry. **International Journal of Pharmaceutics,** Amsterdam, v. 380, p. 105-111, 2009.

GARDNER, P. T.; WHITE, T. A. C.; MCPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juice, **Food Chemistry**, Amsterdam v. 68, p. 471-474, 2000.

GARSUCH, V.; BREITKREUTZ, J. Comparative investigations on different polymers for the preparation of fast-dissolving oral films. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Chichester, v. 62, p. 539-545, 2010.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A.; FRONING, G. W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, p. 585-589, 1996.

GENOVESE, M. I.; PINTO, M. D. S.; GONÇALVES, A. E. D. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International,** London, v. 14, p. 207-214, 2008.

GHORWADE, V. et al. Development and evaluation of fast-dissolving film of montelukast sodium. **World Journal of Medical Pharmaceutical and Biological Sciences,** Bidar, v. 1, p. 6-12, 2011.

GONZÁLEZ-RAMÍREZ, M. et al. Anticonvulsive effect of vitamin C on pentylenetetrazol-induced seizures in immature rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Philadelphia, v. 97, p. 267-272, 2010.

HAN, R. et al. Functions, applications and production of 2-O-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid. **Applied Microbiology and Biotechnology,** Heidelberg, v. 95, p. 313-320, 2012.

HAQUE, S. E.; SHEELA, A. Development of polymer-bound fast-dissolving metformin buccal film with disintegrants. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 199-205, 2015.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Vitamin C: An introduction. In PACKER, L.; TRABER, M. G.; KRAEMER, K..; FREI, B. **The antioxidant vitamins C and E**, AOCS Press: Champaig, 2002.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Vitamin C: An Introduction. 2002.

HUANG, M.; XU, Q.; DENG, X-X. L-Ascorbic acid metabolism during fruit development in an ascorbate-rich fruit crop chestnut rose (*Rosa roxburghii* Tratt). **Journal of Plant Physiology,** v. 171, p. 1205-1216, 2014.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Washington, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

HULSE, D. J.; ELLIS, S. R.; HENDERSON, Carnitine biosynthesis. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 253, n. 5, p. 1654 – 1659, 1978.

IRFAN, M.; RABEL, S.; BUKHTAR, Q.; QADIR, M. I.; JABEEN, F.; KHAN, A. Orally disintegrating films: A modern expansion in drug delivery system. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Article In Press, 2015

JAFFE, G. M. Vitamin C. In: MACHLIN L. (Ed.). **Handbook of vitamins.** New York: Marcel Dekker, 1984. p. 199-244.

JANßEN, E. A.; SCHLIEPHACKE, R.; BREITENBACH, A.; BREITKREUTZ, J. Drug-printing by flexographic printing technology – A new manufacturing process for orodispersible film. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 441, p. 818-825, 2013.

JULIANO, C.; PALA, C. L.; COSSU, M. Preparation and characterization of polymeric films containing propolis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 17, n. 3, p. 177-180, 2007.

JUSTI, K. C. et al. Nutritional composition and vitamin C stability in stored Camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición,** Caracas, v. 50, p. 405-408, 2000.

JYOTI, A.; GURPREET, S.; SEEMA, S.; RANA, A. C. Fast dissolving films: a novel approach to oral drug delivery. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 12, p. 69-74, 2011.

KALYAN, S.; BANSAL, M. Rencent trends in the development of oral dissolving film. **International Journal of PharmTech Research,** Mumbai, v. 4, p. 725-733, 2012.

KAREN, H. D.; PATEL, D. M.; JASAKIYA, A. R.; PATEL, C. N. A review on oral strip. **American Journal of Pharmtech Research**, v. 2, n. 3, p.60-70 2012

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 36, p. 703-725, 2001.

KHATOON, N.; RAO, N. G. R.; REDDY, B. M. Overview on fast dissolving oral films. **International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 1, 2013.

KULKARNI, A. S.; DEOKULE, H. A.; MANE, M. S.; GHADGE, D. M. Exploration of different polymers for use in the formulation of oral fast dissolving strips. **Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 1, p. 33-35, 2010.

KUMAR et al. Formulation development & evaluation of carvedilol bioerodable buccal mucoadhesive patches. **Pharmacie Globale**, v. 3, n. 1, p. 1 – 5, 2010.

KUMAR, G. P. et al. Polyvinylpyrrolidone oral films of enrofloxacin: Film characterization and drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 4714, p. 146-152, 2014.

LEFFA, D. D. et al. Corrective effects of acerola (*Malpighia emaginata* DC.) juice intake on biochemical and genotoxical parameters in mice fed on a high-fat diet. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 770, p. 144-152, 2014

LI, J-H.; MIAO, J.; WU, J-L.; CHEN, S-F.; ZHANG, Q-Q. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.

LIEW, K. B.; TAN, Y. T. F.; PEH, K. K. Characterization of oral disintegrating film containing donepezil for Alzheimer disease. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, Arlington, v. 13, n. 1, p. 134-142, 2012.

MAEDA, R. N. et al. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dúbia* Mc Vaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 26, p. 70-74, 2006.

MAEDA, R. N. et al. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H. B. K.) Mc Vaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 27, p. 313-316, 2007.

MANHAR, S.; SURESH, P. K. Diltiazem-loaded buccoadhesive patches for oral mucosal delivery: Formulation and *in vitro* charactetization. **Journal of Applied Pharmaceutical Science,** v. 3, n. 8, p. 075-079, 2013.

MARQUES, L. G.; FERREIRA, M. C.; FREIRE, J. T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 451-457, 2007.

MERCALI, G. D. et al. Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 47, p. 91-95, 2012.

MERCALI, G. D.; SCHWARTZ, S.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; SASTRY, S. Ascorbic degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: Effect of electric field frequency. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 123, p. 1-7, 2014.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 21, p. 282-290, 2008.

MILANI, P. G.; PRATO, A. M.; MONTEIRO, A. R. G.; MAIORAL, M. F.; MACHI, L. B.; COSTA, S. C. Assessment of operating parameters, membrane *fouling* and juice quality during acerola ultrafiltration. **Chemical Engineering Transactions**, v. 44, p. 325-330, 2015.

MOHAMED, HAIDER e ALI, 2011

MOHAMED, M. I.; HAIDER, M.; ALI, M. A. M. Buccal mucoadhesive films containing antihypertensive drug: *in vitro* / *in vivo* evaluation. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research,** Jaipur, v. 3, p. 665-668, 2011.

MOREIRA, G. E. G.; AZEREDO, H. M. C.; MEDEIROS, M. F. D.; BRITO, E. S.; SOUZA, A. C. R. Ascorbic acid and anthocyanin retention during spray drying of acerola pomace extract. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 34, p. 915-925, 2010.

MOREIRA, G. E. G; COSTA, M. G. M.; SOUZA, A. C. R.; BRITO, E. S.; MEDEIROS, M. F. D.; AZEREDO, H. M. C. Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **LWT – Food science and Technology**, London, v. 42, p. 641-645, 2009.

MÜLLER, L. ET al. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. **LWT – Food Science and Technology**, London**,** v. 43, p. 992-999, 2010.

MURA, P. et al. Development of mucoadhesive films for buccal administration of flufenamic acid: Effect of cyclodextrin complexation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, v. 99, n.7, 2010.

MURATA, Y. et al. Preparation of fast dissolving films for oral dosage from natural polysaccharides. **Materials,** Basel, v. 3, p. 4291-4299, 2010.

MUZIBI, Y. I.; KUMARI, K. S. Mucoadhesive buccal films of glibenclamide: Development and evaluation. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 1, n. 1, 2011.

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

NAGARAJU, T. et al. Comprehensive review on oral disintegration films**. Current Drug Delivery**, v. 10, p. 96-108, 2013.

NAIDU, K. A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. **Nutrition Journal**, v. 2, p. 1-10, 2003.

NEVES, L. C.; SILVA, V. X.; PONTIS, J. A.; FLACH, A.; ROBERTO, S. R. Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc. Vaugh] fruits. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 186, p. 223-229, 2015.

NISHIKIMI, M. et al. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfuctional gene for L-gulono-γ-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. **The Journal of Biological Chemistry**, New, York, v. 269, n. 18, p. 13685-13688, 1994.

NÓBREGA, E. M.; OLIVEIRA, E. L.; GENOVESE, M. I.; CORREIA, R. T. P. The impact of hot air drying on the physical-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malphigia emarginata*) residue. **Journal of Food Processing and Preservation**, WestPort, v. 39, p. 131-141, 2015.

OLIVEIRA, M. E. B.; ALMEIDA, R. F. Estabilidade de ácido ascórbico em suco de caju em função da temperatura, dulcificação e tempo de armazenamento. **Congresso Brasileiro de fruticultura**, Sociedade Brasileira de Fruticultura, Natal, 2010,

PATEL, V. M.; PRAJAPATI, B. G.; PATEL, M. M. Effect of hydrophilic polymers on buccoadhesive eudragit patches of propranolol hydrochloride using factorial design. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, p. E1-E8, 2007.

PATEL, A. R.; PREJAPATI, D. S.; RAVAL, J. A. Fast dissolving films (FDFs) as a newer venture in fast dissolving dosage forms. **International Journal of Drug Development & Research**, v. 2, n. 2, p. 232-246, 2010.

PATEL, V. F.; LIU, F.; BROWN, M. B. Advances in oral transmucosal drug delivery. **Journal of Controlled Release,** Amsterdam, v. 153, p. 106-116, 2011.

PEH, K. K.; WONG, C. F Polymeric films as vehicle for buccal delivery: Swelling, mechanical, and bioadhesive properties. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 2, p. 53-61, 1999.

PELLEGRINI, N. et al. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: Efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 87, p. 103-111, 2007.

PERUMAL, V. A. et al. Formulation of monolayered films with drug and polymers of opposing solubilities. **International Journal of Pharmaceutics,** Amsterdam, v. 358, p. 184-191, 2008.

PIMPARADE, M. B. et al. Development of taste masked caffeine citrate formulations utilizing hot melt extrusion technology and *in vitro-in vivo* evaluations. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam , v. 487, p. 167-176, 2015.

PRABHU, P.; et al. Formulation and evaluation of fast dissolving films of levocitirizine di dydrochloride. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 1, n. 2, 2011.

PRANOTO, Y.; LEE, C. M.; PARK, H. J. Characterization of fish gelatin films added with gellan and κ-carrageenan. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 40, p. 766-774, 2007.

PREIS. M.; PEIN, M.; BREITKREUTZ, J. Development of a taste-masked orodispersible film containing dimenhydrinate. **Pharmaceutics**, v. 4, p. 551-562, 2012.

RAJU, S. et al. Flash release oral films of metoclopramide hydrochloride for pediatric use: formulation and *in-vitro* evaluation. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research,** Jaipur, v. 3, p. 636-646, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REIS, L. C. B.; SOUZA, C. O.; SILVA, J. B. A.; MARTINS, A. C.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 94, p. 382-391, 2015.

RIGHETTO, A. M.; MARIA NETTO, F. Effect of encapsulating materials on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. **International Journal of Food Properties**, New York, v. 8, p. 337-346, 2005.

RITZINGER, C. G.; RESENDE, J. V.; GIAROLA, T. M. O. Relationship between the thermal conductivity and rheological behavior of acerola pulp: Effect of concertration and temperature. **LWT- Food Science and Technology**, London, v. 58, p. 446-453, 2003.

ROJAS-BARQUERA, D.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E. Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totals y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en colombia. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 9, p. 2336-2340, 2009.

ROSA, J. S. et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 837-846, 2007.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: Determinação de atividade antioxidante total em frutas pela captura de radical livre DPPH. **Comunicado Técnico – Embrapa**, p. 1-4, 2007.

RUFINO, M. D. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry,** Amsterdam, v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. Açaí (*Euterpe oleraceae*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidante dietary fiber and high antioxidante capacity oil. **Food Research International**, Kidlington, v. 44, p. 2100-2106, 2011.

SAINI, P.; KUMAR, A.; SHARMA, P.; VISHT, S. Fast disintegrating oral films: A recent trend of drug delivery. **International Journal of Drug Development & Research**, v. 4, n. 4, p. 80-94, 2012.

SALMAN, Z. D.; MARAIE, N. K.; ALABBASSI, M. G.; GHAREEB, M. M. *In vitro/in vivo* evaluation and bioavailability study of amitriptyline hydrochloride from the optimized oral fast dissolving films. **UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences**, London, v. 2, n. 6, p. 32-42, 2014.

SANTOS, P. H. S.; SILVA, M. A. Retention of vitamin C in drying processes of fruits and vegetables – A review. **Drying Technology: An international Journal**, London, v. 26, n. 12, p. 1421-1437, 2008.

SAPKAL, N. P. et al. Development of fast dissolving oral thin films of ambroxol hydrochloride: Effect of formulation variables. **Journal of Advanced Pharmaceutical Research,** Berhampur, v. 2, p. 102-109, 2011.

SAYED, S.; IBRAHIM, H. K.; MOHAMED, M. I.; EL-MILLITI, M. F. Fast-dissolving sublingual films of terbutaline sulfate: Formulation and *in vitro*/*in vivo* evaluation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 8, p. 2942-2974, 2013.

SCHAFFN, F. Hepatic drug metabolism and adverse hepatic drug reactions. **Veterinary Pathology**, Washington v. 12, p. 145-156, 1975.

SCHMIDT, et al. Water vapor barrier and mechanical properties of starch films containing stearic acid. **Industrial Crops and Products**, v. 41, n. 1, p. 227 – 234, 2013.

SCHWERTZ, et al. Hypolipidemic effect of camu-camu juice in rats. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 1, p. 35 – 42, 2012.

SEAGER, H. Drug-delivery products and the Zydis fast-dissolving dosage form. **Journal of Pharmacy and Pharmacoogy**, London, v.50, p. 375-382, 1997.

SENTHIL, V.; KHATWAL, R. B.; RATHI, V.; VENKATA, S. T. Levocetirizine dihydrochloride and ambroxol hydrochloride oral soluble films: Design, optimization and patient compliance study on healthy volunteers. **International Journal of Health & Allied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 246-255, 2013.

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

SIDDIQUI, M. D. N.; GARG, G.; SHARMA, P. K. A short review on “A novel approach in oral fast dissolving drug delivery system and their patents”. **Advances in Biological Research**, Faisalabad, v. 5, p. 291-303, 2011.

SILVA, B. A. et al. Antioxidant capacity and phenolics of *Pouteria macrophylla*, an under-utilized fruit from Brazilian Amazon. **European Food Research and Technology,** v. 234, p. 761 – 768, 2012.

SILVA, G. O.; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; FRANCO, C. M. L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas de amido modificado de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 188-197, 2006.

SILVA, M. R.; SILVA, M. S.; OLIVEIRA, J. S. Estabilidade do ácido ascórbico em pseudofrutos de caju-do-cerrado refrigerados e congelados. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 34, p. 9-14, 2004.

SOARES, R. M. D.; SCREMIN, F. F.; SOLDI, V. Thermal stability of biodegradable films based on soy protein and corn starch. **Macromolecular Symposia**, v. 229, p. 258-265, 2005.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia,** v. 8, n. 1, p. 60 – 67, 1999.

SOBRAL, P. J. A. et al. Mechanical, water vapor barrier and termal properties of gelatina based edible films. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1251-1259, 2000.

SOUZA, A. L. R. Estabilização de moléculas bioativas presents em suco de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh) pela integraçãop dos processos de osmose inversa, evaporação osmótica e atomização. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2012.

SOUZA, C. O. et al. Mango and Acerola pulps as antioxidant additives in Cassava Starch bio-based film. **Journal Agricultural and Food Chemistry,** Washington, v. 59, p. 2248-2254, 2011.

SRAM, R. J.; BINKOVA, B.; ROSSNER, P. Jr. Vitamin C for DNA damage prevention. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 733, p. 39-49, 2012.

TONGDEEESOONTORN, W.; MAUER, L. J.; WONGRUONG, S.; SRIBURI, P.; RACHTANAPUN, P. Mechanical and physical properties of cassava starch-gelatin composite films. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, London, v. 61, p. 778-792, 2012.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Enterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 88, p. 411-418, 2008.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperature do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 444-450, 2009.

TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gun Arabic. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 169-176, 2000.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry,** Amsterdam, v. 71, p. 195-198, 2000.

VIDIGAL, M. C. T. R. et al. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açaí (Euterpe oleracea Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa Arruda*). **Food Research International**, Kidlington, v. 44, p. 1988-1996, 2011.

VIKRAM, V.B.; RAMESH, M. N.; PRAPULLA, S. G. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 69, p. 31-40, 2005.

VISSOTTO, L. C.; RODRIGUES, E.; CHISTÉ, R. C.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Correlation, by multivariate statistical analysis, between the scavenging capacity against reactive oxygen species and the bioactive compounds from frozen fruit pulps. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. Supl. 1, p. 57-65, 2013.

WATANABE, S.; SUEMARU, K.; YAMAGUCHI, T.; HIDAKA, N.; SAKANAKA, M.; ARAKI, H. Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 616, p. 281-286, 2009.

YAKIMETS, I. et al. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, London, v. 46, n. 26, p. 12577-12585, 2005.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Productos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 92-94, 2003.

YAYAMA, K.; AGUIAR, J. P. L; YUYAMA, L. K. O. Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 32, n. 1, p. 169-174, 2002.

YOON, S-D. Cross-linked potato starch-based blend films using ascorbic acid as a plasticizer. **Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 62, p. 1755-1764, 2014.

ZAPATA, S. M.; DUFOUR, J. P. Camu-camu myrciaria dubia (HBK) McVaugh chemical composition of fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 61, p. 349-351, 1993.

ZHANG, H.; HAN, M-G.; WANG, Y.; ZHANG, J.; HAN, Z-M.; LI, S-J. Development of oral fast-disintegrating levothyroxine films for management of hypothyroidism in pediatrics. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 10, p. 1755-1762, 2015.

ZHANG, N.; LIU, X.; YU, L.; SHANKS, R.; PETINAKS, E.; LIU, H. Phase composition and interface of starch-gelatin blends studied by synchrotron FTIR micro-spectroscopy, **Carbohydrate Polymers**, Kidlington, v. 95, p. 649-653, 2013.

ZHONG, Q-P.; XIA, W-S. Physicochemical properties of edible and preservative films from chitosan/cassava starch/gelatin blend plasticized with glycerol. **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, n. 3, p. 262-269, 2008.

7. ANEXOS

7.1 Parecer consubstanciado do CEP – Aprovação para realização da Análise sensorial

FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO SENSORIAL DE FILMES DE DESINTEGRAÇÃO ORAL COMO VEICULO DE COMPOSTOS BIOATIVOS
Pesquisador: Rosemary Aparecida de Carvalho
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 16840613.0.0000.5422
Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 359.878
Data da Relatoria: 14/08/2013

Apresentação do Projeto:
O projeto está bem apresentado e consiste em uma pesquisa que utilizará seres humanos para avaliar as características sensoriais de filmes de dissolução oral produzidos com diferentes materiais (macromoléculas) e adicionados de diferentes compostos bioativos. Serão realizados dois diferentes testes sensoriais:
- Análise descritiva quantitativa (ADQ) para selecionar a melhor formulação em relação às características de tempo de desintegração e sensação na boca, utilizando equipe de aproximadamente 15 pessoas
- Teste de aceitação global dos filmes de desintegração oral com adição de extratos naturais, com cerca de 60 provadores.

Objetivo da Pesquisa:
O objetivo do trabalho é avaliar sensorialmente diferentes formulações de filmes de desintegração oral, produzidos a partir das macromoléculas amido, gelatina, goma arábica e hidroxipropilmetil celulose com adição dos seguintes compostos bioativos: extratos de acerola, jucara, camu-camu, cúrcuma e erva baleeira.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
O estudo não oferece nenhum tipo de risco aos provadores participantes desta pesquisa. Os filmes

produzidos na FZEA/USP serão formulados com ingredientes (amido, gelatina, hidroxipropilmetil celulose, goma arábica e sorbitol) que apresentam grau alimentício e que são amplamente utilizados nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Em relação aos extratos, que são provenientes de fontes naturais e já consumidas pela população
brasileira também não há nenhum risco, as frutas camu-camu e juçara são comumente comercializadas em diversas regiões do Brasil, principalmente na forma de polpa para produção de sucos, sorvete e shakes sendo representado comercialmente por empresas como Palmabrás, Cupuama e Juçai. As polpas utilizadas para desenvolvimento dos filmes de desintegração oral irão passar por tratamento térmico como a pasteurização para assegurarmos que o fruto estará livre de microrganismos patogênicos. A hidroxipropilmetil celulose (HPMC) é um dos polímeros mais utilizados para a preparação de matrizes hidrofílicas utilizadas para a liberação prolongada de princípios ativos farmacêuticos, devido à sua natureza não tóxica. A erva baleeira é amplamente comercializadas em farmácias de manipulação, na forma de extratos e cápsulas, sendo regulamentado seuuso pela ANVISA. A cúrcuma é também utilizada como especiaria na culinária doméstica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
As dúvidas iniciais quanto à inocuidade dos compostos utilizados, e que serão minsitrados a seres humanos, foram sanadas nesta resubmissão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
O TCLE apresentado está adequado, contendo todas as informações necessárias para os sujeitos da pesquisa (somente da etapa com consumo de amostras). A Folha de Rosto contém todas as informações e assinaturas necessárias.

Recomendações:
Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
Não existem pendências.

Situação do Parecer:
Aprovado

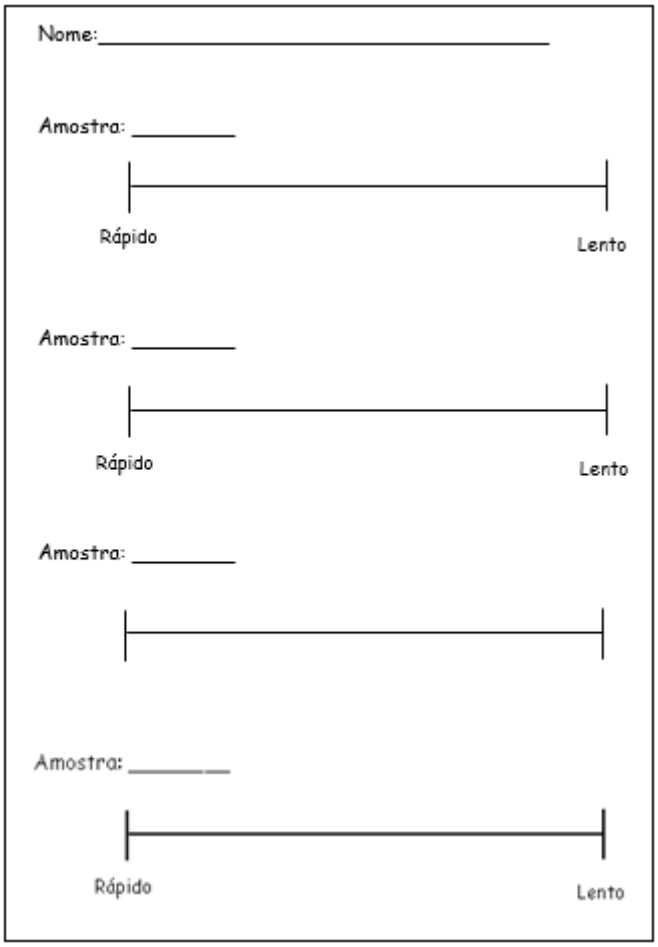
Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Considerações Finais a critério do CEP:
Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA por unanimidade de votos.

PIRASSUNUNGA, 14 de Agosto de 2013

Assinador por:
Marco Antonio Trindade
(Coordenador)

7.2 Modelo de Ficha (escala não estruturada) utilizada para treinamento da equipe para avaliação do tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral



7.3 Modelo da Ficha utilizado na análise sensorial dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola

Filme de desintegração oral com adição de extrato seco de acerola

Nome:_____ Idade:_____

Por favor, avalie as amostras de Filme de desintegração oral (FDO) com adição de extrato seco de acerola utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou, em relação ao conforto, sabor, sensação após administração, textura e aceitabilidade global destas.

Conforto: Conveniência da forma de ingestão e rapidez no tempo de desintegração.
Sensação: Algum resíduo na boca após a ingestão.

Amostra n°.: _____

Conforto:	
Sabor:	
Sensação:	
Aceitabilidade Global	

1. Detestei
2. Desgostei muito
3. Desgostei regularmente
4. Desgostei ligeiramente
5. Indiferente
6. Gostei ligeiramente
7. Gostei regularmente
8. Gostei muito
9. Adorei

Você compraria este produto? ( ) Sim ( ) Não

Comentários: _____

7.4 Modelo da Ficha utilizado na análise sensorial dos filmes de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu

Filme de desintegração oral com adição de extrato seco de camu-camu

Nome:_____ Idade:_____ 25/02/2014

Por favor, avalie as amostras de Filme de desintegração oral (FDO) com adição de extrato seco de acerola utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou, em relação ao conforto, sabor, sensação após administração, textura e aceitabilidade global destas.

Conforto: Conveniência da forma de ingestão e rapidez no tempo de desintegração.
Sensação: Algum resíduo na boca após a ingestão.

Amostra n°.: _____

Conforto:	
Sabor:	
Sensação:	
Aceitabilidade Global	

1. Detestei
2. Desgostei muito
3. Desgostei regularmente
4. Desgostei ligeiramente
5. Indiferente
6. Gostei ligeiramente
7. Gostei regularmente
8. Gostei muito
9. Adorei

Você compraria este produto como fonte de vitamina C? ( ) Sim ( ) Não

Comentários: _____