UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MICHELE CORAT

Avaliação da estabilidade das antocianinas presentes na casca do fruto camu-camu (*Myrciaria dúbia*) em matrizes a base do amido e gelatina.

Pirassununga
2016

MICHELE CORAT

Avaliação da estabilidade das antocianinas presentes na casca do fruto camu-camu (*Myrciaria dúbia*) em matrizes a base do amido e gelatina.

(Versão Corrigida)

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

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho

Pirassununga

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C787a

CORAT, MICHELE
AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS ANTOCIANINAS PRESENTES NA CASCA DE CAMU-CAMU (MYRCIARIA DÚBIA) EM MATRIZES A BASE DE AMIDO E GELATINA / MICHELE CORAT ; orientadora ROSEMARY APARECIDA DE CARVALHO. -- Pirassununga, 2016.
74 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. ANTIOXIDANTES. 2. ANTOCIANINAS. 3. FRUTOS EXÓTICOS. 4. MACROMOLÉCULAS. 5. COMPOSTOS BIOATIVOS. I. CARVALHO, ROSEMARY APARECIDA DE, orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

MICHELE CORAT

Avaliação da estabilidade das antocianinas presentes na casca do fruto camu-camu (*Myrciaria dúbia*) em matrizes a base de amido e gelatina.

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

Área de Concentração: Ciência da Engenharia de Alimentos

Data de aprovação: 11/ 07/ 2016

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho
Presidente da Banca Examinadora
Universidade de São Paulo- Orientador(a)

Profa. Dra. Anna Cecilia Venturini
Universidade Federal de São Paulo

Pofa. Dra. Cristiana Maria Pedroso Yoshida
Universidade Federal de São Paulo

Dedico este trabalho aos meus pais, MARCO e LUCIANE,
que, mesmo em momentos difíceis, não mediram
esforços na realização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo amor, incentivo e carinho dedicados.

Ao meu filho, Eduardo, por ter me feito ver quais são as verdadeiras prioridades da vida. Agradeço pela felicidade e carinho que me proporciona, e pela compreensão nos momentos em que a dedicação aos estudos foi exclusiva.

Ao meu marido, Marcelo, pelo carinho, amor, dedicação e paciência. Obrigada pelo apoio, pelas ideias e discussões referentes ao trabalho. Obrigada por me fazer tão feliz.

Aos meus pais, Marco e Luciane, que são meus maiores exemplos de amor, profissionalismo, carinho e dedicação. Agradeço pelo apoio nos momentos difíceis, não me deixando desistir e me mostrando que posso chegar onde desejo, sem dúvida vocês foram quem me deram o maior incentivo para conseguir concluir esse trabalho.

A minha orientadora, Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho, por toda dedicação e carinho em suas orientações prestadas na elaboração deste trabalho me incentivando e colaborando no aprimoramento de minhas ideias.

Ao CNPq pelo apoio financeiro e bolsa PQ (R.A.C).

A todos os amigos, em especial a amiga Gisele Lourenço da Aparecida Makishi, pelo incentivo profissional e pessoal, força e amizade em todos os momentos.

Aos companheiros de laboratório, que enriqueceram minha experiência, dividindo conhecimentos, alegrias, tristezas e conversas durante esses anos, em especial a Camila e Vitor, por terem me apoiado e ajudado nesse trabalho.

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos e aos professores que ajudaram na minha formação.

À técnica do Laboratório Multiusuário de Análise de Alimentos, Carla Alves Monaco, pelos ensinamentos e auxilio na execução deste projeto.

Ao técnico do Laboratório de Produtos Funcionais, Marcelo Thomazini, pelo uso da centrífuga refrigerada e outros equipamentos, ensinamentos e auxilio em outras análises.

Ao técnico do Laboratório de Microscopia e Caracterização de Micropartículas, Rodrigo Vinícius Lourenço, pelas análises de MEV, ensinamentos e auxilio em outras análises.

Ao Laboratório de Análise de Alimentos (Bromatologia), pelas análises de caracterização nutricional e química.

Aos funcionários do ZEA, que foram sempre prestativos quando precisei.

Aos membros da seção de pós-graduação por toda a atenção e informações prestadas.

Aos funcionários da biblioteca pela atenção e ajuda.

Agradeço a Universidade de São Paulo (USP), por todo apoio durante a elaboração e desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

A TODOS QUE, DE ALGUMA MANEIRA, ME AJUDARAM A CONCLUIR ESTE TRABALHO E ME DERAM O INCENTIVO PARA LEVÁ-LO A DIANTE, MEU MUITO OBRIGADA!

“Mire, veja: o mais importante e bonito, do mundo, é isto: que as pessoas não estão sempre iguais, ainda não foram terminadas - mas que elas vão sempre mudando.”

Guimarães Rosa

RESUMO

CORAT, M. **Avaliação da estabilidade das antocianinas presentes na casca do fruto camu-camu (*Myrciaria dúbia*) em matrizes a base de amido e gelatina.** 2016. 74f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

O interesse em buscar fontes naturais para compostos antioxidantes aumentou os estudos sobre frutas, principalmente referente a presença das antocianinas. O camu-camu é um fruto oriundo da região amazônica que vem ganhando destaque nas indústrias de cosméticos, medicamento e alimentos por ser uma fonte rica em antocianinas, ácido ascórbico e minerais. O objetivo do trabalho foi avaliar a incorporação das antocianinas presentes na casca do camu-camu em filmes de desintegração oral à base de gelatina e amido. Os filmes foram produzidos pela técnica *casting* a partir de blendas de gelatina e amido, com diferentes concentrações (0:100; 25:75; 50:50; 75:25; 100:0), plastificante sorbitol e com a adição de diferentes concentrações do extrato aquoso da casca de camu-camu (0, 10,15 e 20 g/100g solução filmogênica). Foram analisadas as propriedades mecânicas pelo do teste de tração, cor e opacidade, ângulo de contato, tempo de desintegração, FTIR e MEV. Nos filmes com adição do extrato de camu-camu foram realizadas, adicionalmente, análises de pH de superfície, antocianinas totais e estudo da estabilidade. Com relação as propriedades mecânicas, verificou-se que as alterações nas concentrações de amido e gelatina (AMI:GEL) apresentou diferenças significativas para todos os parâmetros estudados (tensão na ruptura, elongação na ruptura e módulo elástico). O aumento da concentração de gelatina elevou a tensão de ruptura e o aumento da concentração de amido produziu filmes mais frágeis e quebradiços. A adição do extrato apresentou diminuição na tensão de ruptura e no módulo elástico, e aumento na elongação dos filmes. Das análises de cor e opacidade observou-se que com maiores concentrações de amido e do extrato, aumentam os valores da luminosidade, da croma a* e da opacidade, enquanto para a croma b* ocorre uma diminuição. Os ângulos de contato dos filmes diminuíram significativamente com o aumento da concentração de amido e aumentaram com maiores concentrações de extrato. Os filmes com extrato, apresentaram tempo de desintegração inferior, sendo observados tempos maiores com o aumento da

concentração de gelatina. Com relação a estabilidade, os filmes apresentaram elevada perda das quantidades de antocianinas para todas as formulações analisadas. Todos os filmes analisados apresentaram incorporação eficiente do extrato, dessa forma, conclui-se que a produção de filmes de desintegração oral com extrato de camu-camu é uma alternativa eficiente para o aproveitamento dos compostos funcionais presentes da casca.

Palavras-chave: antioxidantes, frutos exóticos, macromoléculas, antocianinas, compostos bioativos.

ABSTRACT

CORAT, M. **Stability evaluation of anthocyanins present in the shell of the camu-camu fruit (*Myrciaria dúbia*) in matrix the base starch and gelatin.** 2016. 74p. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

The interest in finding natural sources for antioxidants increased studies on fruit, especially regarding the presence of anthocyanins. Camu-camu is a fruit originating in the Amazon region that is gaining prominence in the cosmetics, medicine and food to be a rich source of anthocyanins, ascorbic acid and minerals. The objective was to evaluate the incorporation of anthocyanins present in the shell of the camu-camu in films orally disintegrating based gelatin and starch. The films were produced by *casting* from blends of gelatin and starch with different concentrations (0: 100, 25:75, 50:50, 75:25, 100: 0), plasticizer sorbitol and with the addition of different concentrations the aqueous extract of camu-camu peel (0, 10,15 and 20 g / 100 g film solution). The mechanical properties were analyzed using the tensile test, color, and opacity, contact angle, disintegration time, FTIR and SEM. In the films with the addition of camu-camu extract were performed, additionally, surface pH analysis, anthocyanins and stability. Regarding the mechanical properties, it has been found that changes in starch and gelatin concentrations (AMI:GEL) showed significant differences for all the studied parameters (stress, elongation and elastic modulus). The increase in the gelatin concentration to increased breakdown voltage and increased concentration of starch produced more fragile and brittle films. The addition of the extract showed a decrease in breakdown voltage and elastic modulus, and increased elongation of the films. Analysis of the color and opacity was observed that with higher concentrations of starch and the extract, increases the brightness values of a* chroma and opacity as to chroma b* is decreased. The contact angles of the films decreased significantly with increasing starch concentration and increased with higher extract concentrations. The films to extract showed disintegration time lower, longer times being observed with increasing concentration of gelatin. Regarding stability, the films showed high loss of the amounts of anthocyanins for all formulations analyzed. All samples show efficient incorporation films extract thus

concluded that the production of the orally disintegrable films with camu-camu extract is an effective alternative to the use of compounds of the functional shell.

Keywords: antioxidants, exotic fruits, macromolecules, anthocyanins, bioactive compounds.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura química básica dos flavonoides, onde A e B são anéis aromáticos e C é anel heterocíclico. 18
Figura 2 - Transformações estruturais de antocianinas com mudanças no pH do meio. 19
Figura 3 - Árvore de camu-camu em habitat natural. 22
Figura 4 - Fruta do camu-camu. 22
Figura 5 - Casca antes extração (a), casca após extração (b) e extrato (c). 35
Figura 6 - Filmes de desintegração oral durante tracionamento para análise das propriedades mecânicas (a) antes da ruptura e (b) após a ruptura. 38
Figura 7 - Extratos obtidos da casca de camu-camu diferentes solventes: (a) álcool etílico 95% e (b) água destilada. 43
Figura 8 - Comparação entre os solventes para temperatura de 6ºC de armazenamento na estabilidade das antocianinas presentes no extrato da casca de camu-camu. Valores expressos em mg equivalente de cianidina-3-glicosídeo / 100g de extrato. 45
Figura 9 - Comparação entre os solventes para temperatura de -18ºC de armazenamento na estabilidade das antocianinas presentes no extrato da casca de camu-camu. Valores expressos em mg equivalente de cianidina-3-glicosídeo / 100g de extrato. 45
Figura 10 - Modelo Cromático CIELAB. 50
Figura 11 - Representação do ângulo de contato pelo método da gota (a) maior do que 90º, (b) menor do que 90º e (c) espalhamento total. 53
Figura 12 - Análise do tempo de desintegração filme (a) antes e (b) depois da adição do solvente. 54
Figura 13 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) sem adição de extrato de casca de camu-camu (g/100g de solução filmogênica). 56
Figura 14 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) com adição de 10g de extrato de casca de camu-camu / 100g de solução filmogênica. 57

Figura 15 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) com adição de 15g de extrato de casca de camu-camu / 100g de solução filmogênica. 57
Figura 16 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) com adição de 20g de extrato de casca de camu-camu / 100g de solução filmogênica. 58
Figura 17 - Filmes de desintegração oral com adição de extrato da casca de camu-camu após 30 dias de armazenamento, com crescimento microbiano na superfície. 63

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Estrutura, nome e fontes das principais antocianinas presentes em alimentos. 20
Tabela 2 - Estudos sobre a presença de antocianinas em frutas. 21
Tabela 3 - Composição nutricional dos frutos de camu-camu. 24
Tabela 4 - Estudos envolvendo frutas e seus derivados como fontes de antocianinas. 25
Tabela 5 - Exemplo de filmes de desintegração oral: princípios ativos e aplicações. 29
Tabela 6 - Polímeros utilizados para produção de diferentes tipos de filmes orais. .. 30
Tabela 7 - Formulações estudadas em função da Variação das macromoléculas (amido/gelatina) nas formulações dos filmes de desintegração oral. 37
Tabela 8 - Resultados da análises físico-químicas da casca de camu-camu, expresso em base seca. 42
Tabela 9 - Aspectos visuais dos filmes de desintegração oral, em função da relação amido e gelatina (AMI:GEL) com diferentes concentrações de extrato aquoso de camu-camu (C_{ECC}, g/100g de solução filmogênica). 47
Tabela 10 - Propriedades mecânicas para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}). 48
Tabela 11 - Resultados de cor e opacidade para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}). 51
Tabela 12 - Ângulo de contato para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}). 52
Tabela 13 - Tempo de desintegração para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}). 54
Tabela 14 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de filmes de desintegração oral em função da relação amido e gelatina (AMI:GEL) e da variação na concentração de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC})..... 59
Tabela 15 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície interna de filmes de desintegração oral em função da relação amido e gelatina (AMI:GEL) e da variação na concentração de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC})..... 60

Tabela 16 - Valores de pH de superfície para os filmes de desintegração oral a base de amido e gelatina com diferentes concentrações de extrato da casca de camu-camu. 61
Tabela 17 - Quantificação das antocianinas (mg/100g de equivalente cianidina-3-glucosídeo) presentes nos filmes de desintegração oral com adição de extrato da casca de camu-camu. 61
Tabela 18 - Estabilidade das antocianinas (mg/100g de equivalente cianidina-3-glucosídeo) em função do tempo (dias) para os filmes de desintegração oral sem e com adição de extrato da casca de camu-camu. 62

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16

2.1. Compostos Fenólicos 16

2.1.1. Antocianinas 18

2.2. Camu-camu 21

2.2.1. Composição centesimal, fitoquímica e nutricional do camu-camu 23

2.2.2. Estudos visando a aplicação do camu-camu 26

2.3. Filmes de Desintegração Oral 27

2.3.1. Polímeros na produção de filmes de desintegração oral 29

2.3.2. Aplicação como veículo de compostos 31

3. MATERIAIS E MÉTODOS 33

3.1. Material 33

3.2. Preparação das soluções 33

3.2.1. Solução Tampão pH 1,0 33

3.2.2. Solução Tampão pH 4,5 33

3.2.3. Solução Tampão pH 6,8 34

3.3. Caracterização físico-química da casca de camu-camu 34

3.4. Extrato da casca de camu-camu 34

3.4.1. Estabilidade do extrato da casca de camu-camu 35

3.5. Produção dos filmes de desintegração oral (FDO) 35

3.6. Caracterização dos filmes de desintegração oral 37

3.6.1. Propriedades Mecânicas 37

3.6.2. Cor e Opacidade 38

3.6.3. Ângulo de Contato 39

3.6.4. Tempo de Desintegração 39

3.6.5. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ... 40

3.6.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 40

3.7. Caracterização dos filmes de desintegração oral com incorporação do extrato 41

3.7.1. pH de superfície 41

3.7.2. Antocianinas Totais 41

3.7.3. Estudo da Estabilidade 42

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES 42

4.1. Caracterização físico-química da casca de camu-camu 42
4.2. Extrato da casca de camu-camu 43
4.2.1. Aspectos Visuais 43
4.2.2. Estabilidade do extrato da casca de camu-camu 44
4.3. Caracterização dos filmes de desintegração oral 46
4.3.1. Aspectos Visuais 46
4.3.2. Propriedades Mecânicas 47
4.3.3. Cor e Opacidade 49
4.3.4. Ângulo de Contato 52
4.3.5. Tempo de Desintegração 53
4.3.6. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) ... 55
4.3.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 58
4.4. Caracterização dos filmes de desintegração oral com incorporação do extrato 60
4.4.1. pH de superfície 60
4.4.2. Antocianinas Totais 61
4.4.3. Estabilidade 62
5. CONCLUSÃO 63
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 64

1. INTRODUÇÃO

Diversos alimentos são estudados devido à presença de compostos com propriedades importantes, como atividade antioxidante. Os antioxidantes atuam na prevenção de processos oxidativos do organismo, oferecendo proteção contra diversas enfermidades, como câncer, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Diversos estudos na literatura da área reportam a presença de compostos bioativos nos mais diferentes produtos, tais como: manjericão e folhas louro (HINNEBURG; DAMIEN; RAIMO, 2006); pequi (LIMA et al., 2007), açaí (SCHULTZ, 2008); café (ABRAHÃO et. al., 2010); as castanhas (COSTA; JORGE, 2011) e nozes (SALCEDO; MISHIDA; NAZARENO, 2010).

A diversidade de frutas no Brasil favorece o desenvolvimento de pesquisas sobre a caracterização dos nutrientes, a identificação dos compostos funcionais e a influência do consumo para saúde da população (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO, 2004).

Adicionalmente, o aumento no consumo das polpas de frutas resulta em grandes volumes de resíduos, principalmente formados por casca e sementes. Os resíduos das frutas apresentam elevadas quantidades de vitaminas, fibras e compostos antioxidantes (SOUSA et. al., 2011).

O crescente interesse em fontes naturais de compostos ativos tem impulsionado o interesse nos mais diferentes frutos, aumentando o cultivo de frutos exóticos, como o camu-camu (PINEDO, 2007).

O camu-camu é espécie nativa brasileira encontrada em toda a Floresta Amazônia e que apresenta frutos redondos e pequenos de cor vermelho a roxo (AKTER et al., 2011; PINEDO, 2007). O interesse nos produtos do camu-camu está ligado ao mercado farmacêutico, uma vez que apresentam elevados níveis de vitamina C, compostos fenólicos e carotenoides, demonstrando importantes efeitos funcionais e biológicos (AZEVEDO et al., 2014).

A produção de filmes de desintegração oral para entrega de substâncias farmacêuticas e compostos funcionais é impulsionada pelas vantagens sobre os comprimidos, ou seja, melhor administração e maiores chances de conservação dos compostos, evitando as perdas de eficácia causadas pelo sistema gastrointestinal (SQUIER; KREMER, 2001; SUDHAKAR; KUOTSU; BANDYOPADHYAY, 2006).

A produção de filmes de desintegração oral com adição do extrato da casca de camu-camu apresentam uma possibilidade de aplicação interessante, considerando a relevância bioativa desse resíduo e a dificuldade do consumo da fruta *in natura* devido ao sabor ácido. Além disso, a degradação das antocianinas pode ser reduzida pela matriz polimérica.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de filmes de desintegração oral adicionados de extrato da casca de camu-camu. Foram avaliados os efeitos das diferentes concentrações das macromoléculas, gelatina e amido; e a influências das concentrações de extrato nas propriedades dos filmes. Avaliou-se a estabilidade das antocianinas, analisando a viabilidade dos compostos funcionais durante um determinado período de armazenamento dos filmes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos têm grande importância na indústria alimentícia e farmacêutica por apresentarem propriedades antioxidantes. Atualmente, diversos estudos estão sendo realizados utilizando fontes naturais ricas em compostos bioativos para o desenvolvimento de produtos com propriedades terapêuticas e preventivas. Os compostos bioativos são comumente aplicados como conservantes naturais e conferem propriedade funcional aos alimentos (LEE, et al., 2013; MORAES-DE-SOUZA et al., 2008).

Os antioxidantes atuam como interruptores de radicais livres, ou seja, doam elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, que se convertem em produtos termodinamicamente estáveis ou formam um complexo lipídio-antioxidante, que reage com outro radical livre (DECKER, 1998). Esse mecanismo é muito eficiente na prevenção da autoxidação, pois interage preferencialmente com o radical peroxil (DECKER, 1998; SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

A eficiência do antioxidante é determinada pelos grupos funcionais, sua posição no anel aromático e pelo tamanho da cadeia desses grupos (OLIVEIRA, 2014; JADHAV et al., 1995). Alguns fatores, como luz ultravioleta e altas

temperaturas, podem diminuir a eficiência da atuação desses compostos (OLIVEIRA, 2014; JADHAV et al., 1995).

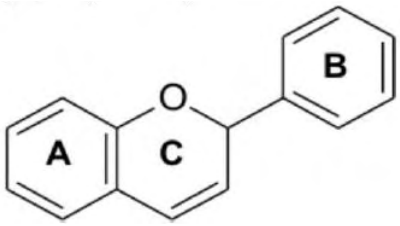
A presença de compostos antioxidantes tem um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos vegetais e animais (RAMARATHNAM et al., 1995). Os alimentos ricos em antioxidantes têm período de conservação maior e aumento na sua qualidade (RAMARATHNAM et al., 1995). A incorporação desses alimentos na dieta humana tem aumentado consideravelmente nos últimos anos devido aos efeitos benéficos de prevenção e redução de risco de várias doenças, como arteriosclerose e câncer (RAMARATHNAM et al., 1995).

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um grupo fenol (grupo hidroxila funcional em um anel aromático) (SCHULTZ, 2008).

Essa grande variedade na composição dos polifenóis ocorre devido ao alto número de combinações na natureza. Estas combinações fenólicas estão divididas em várias classes, nas quais destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural (HARBORNE; BAXTER; MOSS, 1999; KING; YOUNG, 1999; HARBORNE, 1989).

Os flavonoides são compostos fenólicos muito presentes no reino vegetal, na forma de glicosídeos ou agliconas (HARBORNE; BAXTER; MOSS, 1999). Sua estrutura química consiste em dois anéis aromáticos unidos por três carbonos, que formam um anel heterocíclico (Figura 1) (MERKEN; BEECHER, 2000). As variações do anel heterocíclico (C) originam as diferentes classes de flavonoides, sendo as principais: flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, isoflavonas e antocianinas. Enquanto as variações dos anéis aromáticos (A e B) resultam em diferentes compostos dentro de cada classe (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; ANGELO; JORGE, 2007; HOLLMAN; KATAN, 1999).

Figura 1 - Estrutura química básica dos flavonoides, onde A e B são anéis aromáticos e C é anel heterocíclico.



Fonte: ANGELO, P. M.; JORGE, N. **Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão.** Rev Inst Adolfo Lutz, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

O consumo diário de flavonoides, apesar da difícil quantificação pela falta de tabelas com dados que determinem sua distribuição nos alimentos, está estimado entre 26mg e 1g, e as principais fontes incluem frutas (uvas, maçã, morango, entre outras), hortaliças (pimenta, tomate, espinafre, entre outras), vinho tinto, chá preto, cerveja, grãos, nozes, sementes e especiarias (BEHLING et al., 2004; HERTOG; HOLLMAN; KATAN, 1992)

No grupo dos flavonoides, temos a presença das antocianinas, que são responsáveis pela pigmentação de diversas plantas com coloração azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

2.1.1. Antocianinas

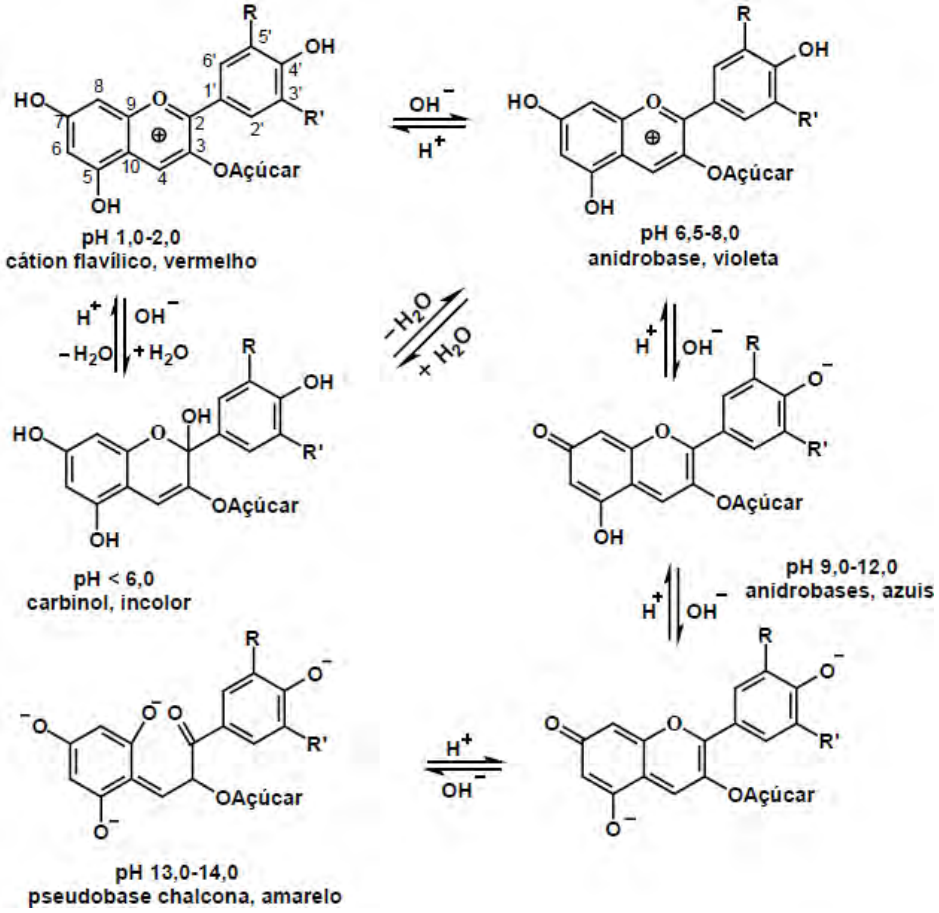
As antocianinas, de origem grega *anthos*, uma flor e *kyanos*, azul escuro, são um conhecido grupo de corantes vegetais, sendo o mais importante após a clorofila (BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997). As antocianinas, são consideradas o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008).

As antocianinas são pigmentos instáveis, por tratar-se de um cátion *flavinium* muito reativo, com maior estabilidade em condições ácidas e capazes de se complexarem com íon metálicos. Dessa forma, as antocianinas conseguem se aderir a macromoléculas, como as proteínas e os polissacarídeos, e atuar como antioxidante (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; SAAVEDRA, 2008).

Outra característica química importante das antocianinas é a sensibilidade ao pH do meio, que afeta a cor e a estabilidade das antocianinas (FAVARO, 2007). Na

Figura 2 pode-se observar as transformações estruturais de antocianinas com alteração no pH. Em meio ácido, as antocianinas apresentam coloração vermelho intenso, que diminiu com o aumento do pH. Em pH neutro apresenta-se incolor, devido a estrutura carbinol. Em meio alcalino, a coloração varia de violeta (pH 6,5-8) a azul (pH 9-12), porém são estruturas com menor estabilidade. Em meios fortemente alcalinos (pH 13-14), as antocianinas assumem a coloração amarela, resultante da ruptura do anel heterocíclico e formação das chalconas, sendo um processo irreversível (TERCI; LOPES, 2002).

Figura 2 - Transformações estruturais de antocianinas com mudanças no pH do meio.



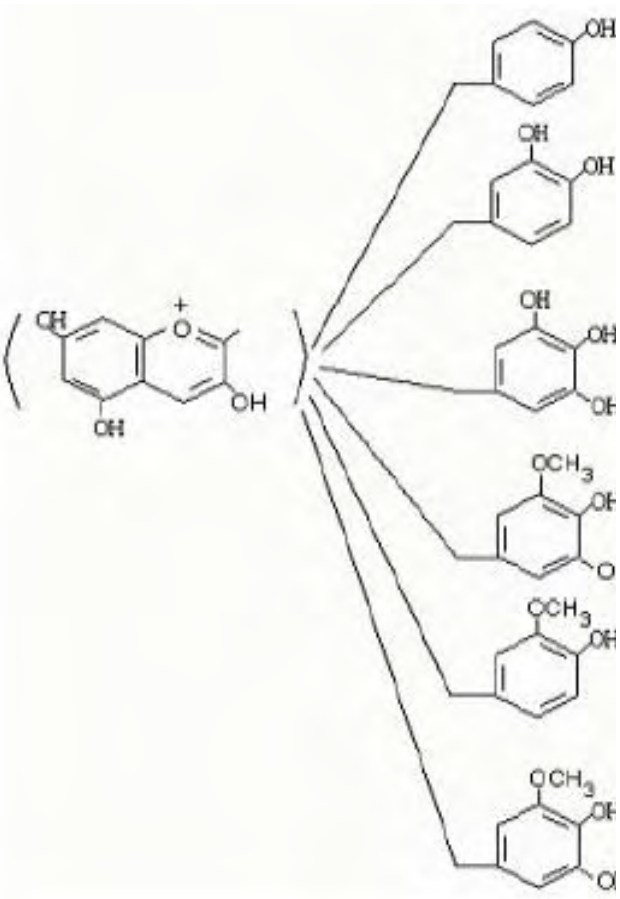
Fonte: FAVARO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes.** 2008. 94f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP). 2008.

A degradação das antocianinas pode ocorrer durante a extração, processamento e armazenamento do vegetal, sendo os principais fatores degradantes o pH, a temperatura e a concentração de oxigênio (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; LOPES et al., 2007). As reações de degradação

normalmente resultam na perda da coloração ou em alterações nas cores de frutas e hortaliças, o que quase sempre são indesejáveis no processamento dos alimentos (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

São conhecidos 20 tipos de antocianinas, mas apenas 6 são importantes na tecnologia de alimentos: pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina (BOBBIO; BOBBIO, 1995). Na Tabela 1 pode-se verificar as principais classes e as respectivas fontes destas antocianinas. As demais são relativamente raras e são normalmente encontradas em flores e folhas (MALACRIDA; MOTTA, 2006; BOBBIO; BOBBIO, 1995).

Tabela 1 - Estrutura, nome e fontes das principais antocianinas presentes em alimentos.

Estrutura cátion flavilium	Estrutura anel B	Nome	Glicosídeo encontrado em:
		Pelargonidina	Morango, amora vermelho, bananeira
		Cianidina	Jabuticaba, figo, cereja, uva, cacau, ameixa, jambolão, amora
		Delfinidina	Berinjela, romã, maracujá
		Malvidina	Uva, feijão
		Peonidina	Uva, cereja
		Petunidina	Frutas diversas, petúnias

Fonte: BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Química do Processamento de Alimentos.** 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 151 p. 1995.

Nas plantas, as antocianinas atuam primariamente para atrair insetos e promover a polinização e dispersão das sementes, desempenhando um papel importante na reprodução (LOPES et al. 2007). Também são responsáveis pela

proteção contra os raios ultravioletas e como antioxidantes dos tecidos vegetais (LOPES et al. 2007).

Segundo Degáspari e Waszczynskyj (2004), na tecnologia de alimentos o interesse pelas antocianinas se refere a aplicação como corantes naturais e antioxidante, comparado com os antioxidantes clássicos como alfa tocoferol (vitamina E), atuando na prevenção da autoxidação e peroxidação dos lipídeos.

O interesse pelas antocianinas na aplicação como compostos nutracêuticos é um grande incentivo para o aumento do cultivo, pesquisas e desenvolvimento agroindustrial do camu-camu (PINEDO, 2007).

Diversas frutas podem ser consideradas fontes de antocianinas. Alguns estudos envolvendo antocianinas presentes em frutas estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Estudos sobre a presença de antocianinas em frutas.

Frutas	Antocianinas Analisadas	Assunto	Referência
Pêssego	Cianidina 3-glucósideo	Utilizar a quantidade de antocianinas presentes na casca do pêssego para indicar um melhor desenvolvimento da fruta.	LIU et al, 2015
Maçã	Cianidina 3-galactosídeo	Verificar o amadurecimento dos frutos através da quantificação das antocianinas presentes na casca.	SUN et al., 2014
Jabuticaba	Cianidina 3-glucósideo	Produzir um pó com propriedades funcionais, a partir dos resíduos da jabuticaba, para atuar como corante alimentício.	SILVA et al, 2014
Camu-camu	Cianidina 3-glucósideo	Analisar a quantidade de antocianinas presentes na polpa desidratada de camu-camu e na farinha da casca e sementes do camu-camu, em comparação com a polpa e casca com sementes freca.	FRACASSETTI et al, 2013
Uva	Antocianinas Totais	Extração e encapsulamento das antocianinas presentes no bagaço da uva para aplicação como corante natural.	VALDUGA et al., 2008

2.2. Camu-camu

O camu-camu (*Myrciaria dúbia* H. B. K. Mc Vough), popularmente conhecido como caçari ou araça-d'água, é uma pequena árvore pertencente à família Myrtaceae, dispersa por toda a região Amazônica (YUYAMA; MENDES; VALENTE,

2011).

A árvore de camu-camu apresenta altura entre 4 a 8 metros, sendo naturalmente encontrada nas margens dos rios e áreas alagadas. A floração ocorre praticamente durante o ano inteiro, porém os frutos são pouco consumidos *in natura* devido seu sabor ácido (INPA, 2013; ZAMUDIO, 2007).

Figura 3 - Árvore de camu-camu em habitat natural.

Fonte: GLOBO ECOLOGIA. **Camu-camu rico em vitamina C, é utilizad para fazer sucos e geleias.** Disponível em: <http://s.glbimg.com/og/rg/f/original/2011/11/25/phot0023_291x218.jpg>. Acesso em: 16/mai./2016.

Os frutos do camu-camu são não climatéricos, ou seja, não atingem a maturidade total se colhidos no estado verde (PINEDO, 2002). Os frutos se caracterizam por serem redondos, com diâmetro variando de 10 a 32 mm, coloração de vermelho a roxo escuro, 2 a 3 sementes pequenas e polpa ácida (PINEDO, 2002).

Figura 4 - Fruta do camu-camu.

Fonte: PORTAL GUIAS MANAUS. **Frutas.** Disponível em: <http://sn.uagro.com.br/static//img/editor/d8c04046604733fa7a050e5096b3a6c5.jpg> Acesso em: 16/mai./2016.

A crescente busca por fontes naturais de compostos funcionais e bioativos vem aumentando o interesse no cultivo dos frutos de camu-camu, que apresentam altas concentrações de vitamina C e antocianinas (PINEDO, 2007).

O camu-camu tem elevada capacidade antioxidante, possivelmente resultante do alto teor de vitamina C, potássio, antocianinas e carotenoides, apresentando grande potencial como alimento funcional (ZAMUDIO, 2007).

A elevada acidez e a rápida degradação dos frutos reduz o consumo na forma *in natura*, sendo usado no preparo de sorvetes, geleias, doces, licores, tortas e sobremesas (INPA, 2013; PINEDO, 2002).

Além disso, o fruto ainda é pouco conhecido no Brasil e a comercialização é feita em pequena escala, em feiras na região produtora, e como polpa congelada. Grande parte da produção de camu-camu é exportada em contêineres refrigerados para países europeus, Estados Unidos e Japão (YUYAMA; MENDES; VALENTE, 2011).

A comercialização do camu-camu ocorre principalmente na forma de polpa congelada, usada como ingredientes para cosméticos e cápsulas de vitamina C (PINEDO, 2002).

2.2.1. Composição centesimal, fitoquímica e nutricional do camu-camu

A coloração vermelha púrpura a roxo escuro ocorre devido a presença de antocianinas, que se encontram concentradas no pericarpo (casca), sendo transferida parcialmente para a polpa durante o processamento (PINEDO, 2007).

Segundo Zanatta (2004), as quantidades de antocianinas encontradas no camu-camu variam de 30,1 a 56,4 mg/100g de polpa, dependendo da região onde o fruto foi cultivado. O mesmo estudo observou que a cianidina-3-glicosídio representava 88% das antocianinas presentes na polpa, sendo a mais comum em frutas vermelhas como o açaí, morango e jabuticaba (ZANATTA, 2004).

Em relação à concentração de vitamina C no fruto de camu-camu no estágio de maturação 4, Zamudio (2007) observou valor de 1,81 ± 0,13 g de ácido ascórbico/100 g de polpa, por outro lado, este valor foi inferior ao observado para a casca do camu-camu (2,50 ± 0,11 g de ácido ascórbico / 100 g de casca) no mesmo estágio de maturação.

Além da elevada concentração de antocianinas e ácido ascórbico, o camu-camu é uma fonte rica em minerais como o potássio, cálcio e zinco (YUYAMA et al., 2003). Na Tabela 3, pode-se observar a composição centesimal do camu-camu.

Atualmente, temos um crescente interesse nos compostos nutracêuticos, como o ácido ascórbico e as antocianinas, o que é um fator de incentivo para o desenvolvimento agroindustrial do camu-camu (PINEDO, 2007).

Tabela 3 - Composição nutricional dos frutos de camu-camu.

Umidade (g / 100 g)	94,1 ± 0,1
Proteínas (g / 100 g)	0,4 ± 0,0
Cinzas (g / 100 g)	0,3 ± 0,0
Fibra Bruta (g / 100 g)	0,1 ± 0,0
Lipídios (g / 100 g)	0,2 ± 0,0
Sódio (mg / kg)	111,3 ± 4,3
Potássio (mg / kg)	838,8 ± 36,2
Cálcio (mg / kg)	157,3 ± 4,4
Magnésio (mg / kg)	123,8 ± 8,7
Ferro (mg / kg)	5,3 ± 0,4
Manganês (mg / kg)	21,1 ± 1,1
Zinco (mg / kg)	3,6 ± 0,1
Cobre (mg / kg)	2,0 ± 0,2
TSS (ºBrix)	6,40 ± 0,0
Acidez titulável total (%)	2,86 ± 0,0
pH	2,44 ± 0,0
Glicose (g / kg de peso fresco)	8,16 ± 0,0
Frutose (g / kg de peso fresco)	9,51 ± 0,0
Açúcares Totais (%)	1,28 ± 0,0
Pectina Total (%)	0,21 ± 0,0
Amido (%)	0,44 ± 0,0

Fonte: AKTER, S.; OH, S.; EUN, J.; AHMED, M. **Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (myrciaria dubia) fruit: A review.** Food Research International, v.44, p.1728–1732, 2011.

A quantidade de vitamina C de 52,5 mg / 100 mL de suco de camu-camu mostra o potencial antioxidante do fruto (SILVA et al., 2012). Neves et al. (2015) confirmaram a elevada concentração de vitamina C e antocianinas na casca do camu-camu, indicando a necessidade de estudos que comprovem a função antioxidante da casca de camu-camu, que além de representar um aproveitamento do resíduo da despolpa da fruta, também tem elevado potencial funcional.

Assim como o camu-camu outras frutas podem ser consideradas fonte de antocianinas, na Tabela 4 pode-se verificar algumas das frutas que são consideradas fontes de antocianinas.

Tabela 4 - Estudos envolvendo frutas e seus derivados como fontes de antocianinas.

Frutas	Antocianinas	Referência
Açaí (*Euterpe oleracea*)	Antocianinas Totais	BATISTA et al., 2016
Amora preta (*Rubus spp*.)	Cianidina-3-glucósido e cianidina-3-rutinoside	CHEN, Y. et al., 2016
Batata doce roxa (PSPs)	Antocianinas Totais	KUBOW et al., 2016
Jamelão (*Eugenia jambolana*)	Antocianinas Totais	SHARMA et al., 2016
Morango (*Fragaria spp*.)	Cianidina-3-glucósido e pelargonidina-3-glucósido	CHEN, J. et al., 2016
Uva	Cianidina 3-glucosídeo	STAFUSSA et al., 2016
Caju vermelho (Anacardium occidentale)	Antocianinas Totais	MOO-HUCHIN et al, 2015
Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)	Cianidina 3-glucosídeo	MERCALI et al., 2015
Pitanga da restinga (*Neomitranthes obscura*)	Cianidina 3-glucosídeo	GOUVÊA et al, 2015
Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)	Cianidina 3-glucosídeo	GURAK et al, 2014
Amora preta (*Rubus spp*.)	Cianidina-3-glucósido e cianidina-3-rutinoside	FERREIRA; ROSSO; MERCADANTE, 2010
Maçã Gala (cultivares Gala, Royal Gala e Galaxy Gala)	Cianidina 3-galactosídeo	ZARDO et al., 2009
Acerola (*Malpighia emarginata*)	Cianidina 3-ramnosido	ROSSO et al., 2008
Uva	Cianidina 3-glucosídeo	SOARES et al., 2008
Açaí (*Euterpe oleracea*)	Antocianinas Totais	KUSKOSKI et al., 2005

2.2.2. Estudos visando a aplicação do camu-camu

Em estudo realizado por Azevedo et al. (2014), foram investigadas as características físico-químicas, conteúdo bioativo (fenólicos, antocianinas e carotenoides), potencial antimicrobiano e atividades anti-diabéticos com os resíduos da despolpa do camu-camu fresco ou seco (ar quente seco e liofilizado). O resíduo do camu-camu seco apresentou potencial como composto bioativo devido a identificação de importantes flavonoides, elevada quantidade de ácido elágico, presença de ácido siringico, alfa-amilase e alfa-glucosidase, que apresentam atividades inibidoras.

Gonçalves et al. (2014) estudaram a aplicação da polpa congelada de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) para atenuar a hiperlipidemia e peroxidação lipídica de ratos diabéticos Tipo 1. Foram avaliados os efeitos *in vivo* de ingestão crônica de extratos de matérias derivadas da polpa congelada de camu-camu no perfil lipídico e estresse oxidativo. Verificou-se que a administração oral de extratos aumentou significativamente a atividade antioxidante do plasma, reduzido triacilglicerol e o colesterol total, e peroxidação lipídica. No entanto, nenhum efeito foi observado no metabolismo da glicose dos ratos diabéticos, provavelmente devido à gravidade desse modelo.

Fujita et al. (2013) verificaram o impacto da secagem por liofilização nos componentes bioativos, antioxidantes e antimicrobianos da polpa fresca de camu-camu. A polpa de camu-camu foi seca em temperaturas selecionadas com diferentes concentrações de maltodextrina (agente portador), sendo os pós comparados em relação à cor, capacidade antioxidante, fenólicos totais, ácido ascórbico e teor de antocianidinas. Apesar dos prejuízos causados pela secagem, verificou-se que os pós da polpa de camu-camu representam excelentes fontes de compostos bioativos com grande potencial para uso como ingredientes.

Silva et al. (2012) avaliaram a atividade antioxidante, o potencial genotóxico e antigenotóxico de suco de camu-camu em células sanguíneas de ratos após tratamentos agudos, subagudos e crônicos e, verificaram no ensaio *in vivo*, o efeito antigenotóxico do suco no tratamento agudo produziu os resultados mais significativos. Após os tratamentos, não houve evidência de toxicidade ou de morte.

Dessa forma, concluiu-se que o suco de camu-camu tem atividades antigenotóxicas e antioxidantes, embora sem genotoxicidade em células sanguíneas

Entre os estudos visando as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, Inoue et al. (2008) verificaram que a ingestão diária de suco de camu-camu em seres humanos, diagnosticados com acelerado estresse oxidativo. Após 7 dias, os marcadores de estresse oxidativo, tais como os níveis de urina de 8-hidroxi-desoxiguanosina, e o total de espécies reativas de oxigénio e marcadores inflamatórios, tais como os níveis séricos de alta sensibilidade da proteína C, interleucina (IL-6 e IL-8), diminuíram significativamente, porém não houve qualquer alteração no grupo de vitamina C. Os resultados sugerem que o suco de camu-camu tem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórios poderosas.

2.3. Filmes de Desintegração Oral

O desenvolvimento de formas farmacêuticas de entrega através da mucosa oral, principalmente entrega bucal e sublingual, é uma área promissora e uma grande oportunidade para realização de novas pesquisas (PATEL; LIU; BROWN, 2011).

A entrega oral de agentes terapêuticos é uma forma de administração muito atrativa, por apresentar baixo custo, facilidade de utilização, rápida absorção e maior aceitação dos pacientes. Adicionalmente, esta nova forma, pode evitar algumas barreiras encontradas pela forma tradicional de administração oral, como a degradação dos compostos por via gastrointestinal (SILVA et al., 2015).

As pesquisas relacionadas a entrega oral impulsionaram o desenvolvimento de melhorias nas formas convencionais (comprimidos, pastilhas, gomas de mascar, sprays) e de novas soluções, como adesivos e filmes, hidrogéis, fibras ocas e microesferas (SUDHAKAR; KUOTSU; BANDYOPADHYAY, 2006).

Os filmes de desintegração oral (FDO) são formas de dosagem que em contato com a saliva aderem a cavidade oral, desintegrando-se e liberando um princípio ativo, que é absorvido pela mucosa bucal, altamente vascularizada, e diretamente liberado na circulação sistêmica (NAGARAJU et al. 2013; KAREN et al, 2012)

As vantagens em relação aos comprimidos, são que os filmes têm maior

flexibilidade e menor espessura, tendem a ser menos intrusivos, mais fáceis de serem administrados e favorecem a alta disponibilidade do princípio ativo devido a rápida desintegração (XU et al., 2015; KAREN et al., 2012; DIXIT; PUTHLI, 2009; SQUIER; KREMER, 2001).

Porém, a fina espessura pode tornar o filme mais susceptível a sobrecarga de fluídos, não suportando elevadas dosagens, e a perda das propriedades adesivas (BALA et al., 2013; SQUIER; KREMER, 2001).

A produção dos filmes de desintegração oral é normalmente realizada pela preparação de uma solução de polímeros, plastificante, estabilizantes, corantes, edulcorantes, aromas e do composto terapêutico ou funcional, que é colocada sobre uma superfície para secagem e formação do filme (DIXIT; PUTHLI, 2009; SQUIER; KREMER, 2001). A formulação dos filmes de desintegração oral envolve características de desempenho, como mascarar o gosto, apresentar rápida dissolução, aparência física atrativa, sensação agradável na boca, entre outros (DIXIT; PUTHLI, 2009).

O agente farmacêutico ou princípio ativo adicionado ao filme de desintegração oral deve ser capaz de sofrer absorção e atravessar a mucosa pela via intracelular (SHAKYA et al., 2011). A Tabela 5 apresenta estudos sobre a adição e aplicação de princípios ativos em filmes de desintegração oral.

Para uso na produção de filmes de desintegração oral, os polímeros devem ser hidrofílicos, apresentar boas propriedades adesivas e dissolver-se rapidamente na boca ou cavidade bucal (DIXIT; PUTHLI, 2009).

Tabela 5 - Exemplo de filmes de desintegração oral: princípios ativos e aplicações.

Princípio Ativo	Aplicação	Referência
Aciclovir	Avaliação de filmes orais com adição de nanoesferas carregadas com aciclovir para melhorar a biodisponibilidade sistêmica	AL-DHUBIAB et al., 2015
Lidocaína	Desenvolvimento de um sistema mucoadesivo hidrogel biocompatível e promissor para a entrega bucal.	XU et al., 2015
Ácido 5-aminolevulínico	Desenvolvimento de película mucoadesiva à base de quitosana para promover uma maior retenção de 5-ALA no tecido bucal.	COSTA et al., 2014
Amlodipina	Adição em microcápsulas de dextrina para melhorar a administração em pacientes geriátricos.	JANG; BAE; OH, 2014
Enrofloxacina	Desenvolver filmes com matriz polimérica para aumentar a solubilidade e biodisponibilidade da enrofloxacina.	KUMAR et al., 2014
Acetominofeno	Desenvolvimento de películas finas farmacêuticas que se desintegram rapidamente na cavidade oral.	TAKEUCHI et al., 2013
Carvedilol	Desenvolver e caracterizar filmes mucoadesivos para a administração bucal de carvedilol.	MEHER et al., 2013
Benzoato de rizatriptano	Desenvolvimentos de filmes de xiloglucano de semente de tamarindo para entrega sistémica de benzoato de rizatriptano por via bucal.	AVACHAT; GUJAR; WAGH, 2013
Cloridrato de propanolol	Desenvolver e caracterizar filmes mucoadesivos para administração bucal de cloridrato de propranolol.	ABRUZZO et al., 2012
Cloridrato de tamsulosina	Otimizar a composição para a libertação controlada a partir de micropartículas destinados para comprimidos de desintegração oral.	MAEDA et al. 2011

2.3.1. Polímeros na produção de filmes de desintegração oral

Os polímeros compõem uma classe bastante ampla de biomateriais, com diversas pesquisas na área biomédica. Os polímeros podem ter origem natural ou sintética e sua principal característica para aplicação como biomaterial é a biodegradabilidade (JAHNO, 2005).

Atualmente os biopolímeros tem um amplo número de aplicações, tais como: suturas cirúrgicas, sistemas para liberação controlada de fármacos, *stents* e dispositivos ortopédicos (JAHNO, 2005).

Os materiais poliméricos, por sua variedade, versatilidade e propriedades, são a classe de materiais mais investigada no desenvolvimento de Sistemas de Liberação de Fármacos. Para essa finalidade, o polímero deve apresentar como

requisito fundamental que seus produtos de degradação não sejam tóxicos e/ou irritantes, desprovidos de impurezas lixiviáveis e apresentem boa biocompatibilidade (COIMBRA, 2010).

Segundo Russo et al. (2015), os polímeros podem ser utilizados sozinhos ou em combinação para garantir as propriedades desejadas aos filmes de desintegração oral, melhorando características como hidrofilicidade, flexibilidade, conforto na boca e a solubilidade.

Dentre suas vantagens, destacam-se o fácil controle de síntese; origem ilimitada; e biodegradabilidade. Porém, possuem pouca resistência mecânica, sofrem redução de tamanho ao longo do tempo, possuem superfície hidrofóbica e existe a possibilidade de reação tóxica local pela liberação de produtos ácidos de degradação local (ABUKAWA et al., 2006; OH et al., 2006).

Uma variedade de polímeros pode ser utilizada para a preparação de filmes, com propriedade de se desintegrar em segundos quando colocado em contato com a mucosa oral, entregando o composto ativo instantaneamente. Uma lista de polímeros e as suas aplicações são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Polímeros utilizados para produção de diferentes tipos de filmes orais.

Polímero	**Tipos de Filmes**	**Referência**
Alginato de Sódio	Microesferas mucoadesivas	KASSEM et al., 2015
Amido/Gelatina/ Carboximetilcelulose	Filmes Desintegração Oral	HEINEMANN; CARVALHO; FAVARO-TRINDADE, 2013
Colágeno	Filmes Desintegração Oral	BORGES et al., 2013
Gelatina/Quitosana	Filmes Mucoadesivos	ABRUZZO et al., 2012
HPMC	Filmes Mucoadesivos	GOVINDASAMY; KESAVAN; NARASIMHA, 2013
PVA	Películas de Hidrogel	ZHANG et al, 2015
Quitosana	Filmes Mucoadesivos	COSTA et al., 2014; GIOVINO et al., 2012; SOGIAS; WILLIAMS; KHUTORYANSKIY, 2012; MAZZARINO et al., 2012
Quitosana/ PVP/ HPMC K4M/ HPMC 100/ HEC	Filmes Mucoadesivos e Hidrogelatinosos	LOPES, 2013

2.3.2. Aplicação como veículo de compostos

O desenvolvimento de microesferas mucoadesivas utilizando alginato de sódio para entrega de resveratrol (Res) foi estudado por Kassem et al. (2015). O objetivo do trabalho foi produzir microesferas a base de alginato com forte mucoadesividade para liberação de resveratrol, auxiliando no tratamento local de bolsas periodontais. A liberação local do resveratrol através de microesferas buscou superar a fraca biodisponibilidade oral, atingindo altas concentrações intravasculares, e diminuindo os efeitos colaterais sistêmicos. O alginato tiolado (TA) foi sintetizado por conjugação de alginato de sódio (A) com ácido tioglicólico, sendo as microesferas preparadas com diferentes proporções de A:TA pelo do método de gelificação ionotrópica. As formulações preparadas foram otimizadas, verificando o potencial de mucoadesão, a eficácia de aprisionamento e a cinética de liberação da droga. Verificou-se que a formulação A / TA 1: 1 tem potencial para ser explorada como um dispositivo de liberação da droga prolongadas para o tratamento local de bolsas periodontais.

Costa et al. (2014) propuseram um sistema de entrega tópica através de películas mucoadesivas à base de quitosana contendo ácido 5-aminolevulínico, com objetivo de aumentar a retenção local e melhorar a eficiência no tratamento do câncer bucal. Os filmes de quitosana foram preparados sem e com adição de ácido 5-aminolevulínico, pela técnica “casting”, e os resultados obtidos foram comparados. Verificou-se que os filmes com adição de 10% de ácido 5-aminolevulínico apresentaram potencial para serem explorados no tratamento de tumores na mucosa oral, por apresentarem características apropriadas e favoreceram a retenção durante um tempo adequado.

O estudo do desenvolvimento de filmes de desintegração oral para liberação de fármacos foi realizado por Lopes (2013), com o objetivo de verificar a entrega oral de medicamentos para reduzir a dor e estimular a reepitelização do tecido em pacientes com mucosite oral. O mesmo verificou a importância de testes preliminares para avaliar a resistência mecânica, formando filmes flexíveis para evitar o agravamento das lesões. Os estudos preliminares realizados *in vivo* mostraram aderência na cavidade oral e erosão gradual dos filmes, sendo uma alternativa promissora na prevenção e tratamento da mucosite oral.

Outro estudo, realizado por Heinemann, Carvalho e Favaro-Trindade (2013), desenvolveu filmes de desintegração oral para liberação de microrganismos probióticos, buscando contribuir para a saúde bucal através da defesa contra patógenos. Os filmes analisados apresentaram elevada vida útil (durante 90 dias) com armazenamento em temperatura ambiente e sem vácuo, viabilizando a comercialização e distribuição. Dessa forma, o estudo concluiu o elevado potencial para o mercado, pelo baixo custo e facilidade de produção. Além disso, pode ser administrado por crianças e idosos, é um veículo simples e permite a ingestão regular de probióticos, promovendo benefícios à saúde.

Borges et al. (2013) desenvolveram filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de colágeno para liberação de compostos ativos da própolis. O estudo verificou a formação de matrizes resistentes e fáceis de manusear, e observou que o aumento do colágeno na concentração melhora a solubilidade, diminui o tempo de desintegração e reduz o ângulo de contato. Além disso, o processamento não degradou os compostos ativos da própolis, comprovados pelo alto teor de fenóis totais. Concluiu-se que os filmes de desintegração oral com maiores concentrações de colágeno são mais hidrofílicos e conservam as propriedades funcionais, o que favorece a utilização como veículo de entrega de compostos ativos na cavidade oral.

Em estudo de Mazzarino et al. (2012), filmes mucoadesivos foram elaborados com nanopartículas revestidas de quitosana e carregados com curcumina visando a entrega oral. As nanopartículas foram preparadas com êxito pelo método de nanoprecipitação, acompanhada pela adsorção de diferentes massas molares de quitosana. As condições de preparação dos filmes mucoadesivos foram otimizadas para obter uma distribuição de tamanhos e dispersão homogêneas de nanopartículas revestidas na superfície. O revestimento dessas nanopartículas com quitosana foi confirmado pelas alterações no tamanho de partícula, além de mostrar elevada carga eficiente de curcumina (99%).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material

A casca de camu-camu (*Myrciaria dúbia*) congelada foi fornecida, após despolpamento da fruta, pela EMBRAPA CPAFRR (Roraima). Os extratos foram produzidos utilizando água destilada e álcool etílico absoluto (Synth). Para produção dos filmes, foi usada a gelatina suína comercial do tipo A (260 Bloom / 40 MESH / Lote FLP 7466 P 11) adquirido da empresa GELITA do Brasil Ltda (São Paulo, Brasil), o amido de mandioca gelatinizado (Amidomax 3600 / Lote 1210063) fornecido pela CARGILL Brasil Ltda (Campinas, Brasil) e o plastificante sorbitol da Vetec Química Fina (Duque de Caxias, Brasil). Para preparo das soluções química usadas nas análises, foram utilizados os seguintes reagentes: cloreto de potássio (KCl / massa molecular =74,55 / Synth), cloreto de sódio (NaCl / massa molecular = 58,44 / Vetec Química Fina), acetato de sódio ($NaC_2H_3O_2.3H_2O$ / massa molecular =136,18 / Vetec), ácido clorídrico (HCl / massa molecular =36,46 / Synth), DPPH (2,2 Difenil-picril-hidrazilo / Lote STBC1252V / Aldrich Chemistry), fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4 / massa molecular =136,09 / Synth) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4 / P.M. 141,96 / Synth).

3.2. Preparação das soluções

3.2.1. Solução Tampão pH 1,0

A solução tampão foi preparada de acordo com Harris (2001). O pH foi medido utilizando um pHmetro (WTW pH3210 / Série 11210011), ajustando com ácido clorídrico (HCl).

3.2.2. Solução Tampão pH 4,5

A solução tampão foi preparada de acordo com Harris (2001), utilizando-se acetato de sódio. O pH foi medido com pHmetro (WTW pH3210 / Série 11210011) e

ajustado com ácido clorídrico. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 1L e o volume completado com água destilada.

3.2.3. Solução Tampão pH 6,8

A solução tampão foi preparada de acordo com Foger et al. (2008), utilizando a mistura dos sais cloreto de sódio (NaCl), fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4). O pH foi medido usando um pHmetro (WTW pH3210 / Série 11210011). A solução foi transferida para um balão volumétrico de 1L e o volume completado com água destilada.

3.3. Caracterização físico-química da casca de camu-camu

As análises para caraterização físico-química da casca de camu-camu foram realizadas pelo Laboratório de Bromatologia (FZEA/USP). As análises foram realizadas em duplicata segundo a metodologia AOAC (1990) e Silva & Queirós (2002), sendo os resultados representados em matéria seca à 105ºC.

A obtenção da matéria mineral foi realizada pelo aquecimento da amostra, à temperatura de 500 a 600ºC, até combustão total da matéria orgânica. A determinação de nitrogênio total foi realizada pelo método de Micro-kjeldahl e do extrato etéreo pela diferença de massa após a extração da gordura (Soxhlet) usando solvente éter. O teor de fibra bruta foi determinado pelo método de Weende (Van Soest, 1967).

A fibra em detergente neutro livre de cinzas e a fibra em detergente ácido foram determinadas por Van Soest et al. (1991).

3.4. Extrato da casca de camu-camu

Buscando otimizar a extração de antocianinas da casca de camu-camu, dois solventes formam utilizados e comparados, água destilada (AD) e álcool etílico 95% (ET). A partir dessa comparação foi determinado o melhor solvente para ser utilizado para o desenvolvimento das etapas posteriores.

As cascas foram descongeladas em temperatura ambiente (aproximadamente 12 horas). Após o total descongelamento, as cascas foram misturadas ao solvente

na proporção 1:2 (m/m) e mantidas em repouso e ao abrigo de luz durante 30 minutos.

Após esse período, a extração foi realizada segundo a metodologia proposta por SAMPAIO (2008). A mistura, casca e solvente, foi mantida em banho termostático à 55ºC sob agitação mecânica (Ultra-turrax IKA T18 Basic) na velocidade de 7.200 rpm durante 30 minutos.

Em seguida, a mistura passou por peneiração (Peneira 180 mm/µm / 80 MESH/ Bertel Indústria Metalúrgica Ltda), separando o extrato e as cascas. As cascas foram descartadas e o extrato foi armazenado congelado à -18ºC.

Anteriormente à utilização, o extrato foi descongelado durante 24 horas a temperatura refrigerada de 8ºC e o extrato centrifugado (Centrífuga 5430 R, Eppendort AG) à 8ºC durante 10 minutos, para retirada dos sólidos sobrenadantes.

3.4.1. Estabilidade do extrato da casca de camu-camu

A estabilidade dos extratos foi analisada segundo Silva (2013). Os extratos foram armazenados na ausência de luz e sob refrigeração em duas temperaturas diferentes: 6ºC e -18ºC, durante 28 dias.

Durante este período foram realizadas análises para quantificar as antocianinas nos dias 1, 7, 14 e 28.

3.5. Produção dos filmes de desintegração oral (FDO)

Os filmes de desintegração oral foram produzidos pela técnica “casting”.

A solução de amido (SA) foi elaborada dispersando-se o amido em água destilada, sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 30 minutos. Em seguida, a dispersão foi mantida em banho termostático à 90°C (MA 159, Marconi) por 10 minutos.

A solução de gelatina foi obtida pela hidratação da gelatina em água destilada por 30 minutos em temperatura ambiente e posterior solubilização da solução em banho à 90°C (MA 159, Marconi) por 10 minutos.

As soluções de amido e gelatina foram misturadas sob agitação magnética e mantidas a 90°C por 10 minutos. Posteriormente, foi acrescentado o plastificante

sorbitol, na concentração de 20g/100g de macromolécula, e a solução foi mantida sob agitação magnética por 2 minutos.

Para a produção dos filmes aditivados com extrato da casca de camu-camu (ECC) a solução filmogênica foi previamente resfriada sob agitação magnética até atingir a temperatura de 40°C, o extrato foi incorporado sob agitação magnética (IKA, T25) quando o extrato era adicionado.

As soluções tinham a concentração de 2g macromolécula / 100 g de solução filmogênica. A relação amido:gelatina e a concentração de extrato da casca de camu-camu foram variadas de acordo com o apresentado na Tabela 7.

As soluções filmogênicas foram dispersas em placas de acrílico e submetidas a desidratação em estufa com circulação de ar (Estufa MA-035, Marconi) à 30°C por 24 horas.

Após a secagem, os filmes foram acondicionados em dessecadores com solução salina saturada de brometo de sódio (UR=58%) à temperatura de 25°C por 5 dias, anteriormente à realização das análises. A espessura dos filmes foi mantida constante e controlada através da relação massa/área. A espessura foi dos filmes foi determinada utilizando-se um micrômetro eletrônico com precisão de ± 0,001 mm (Mitutoyo).

Tabela 7 - Formulações estudadas em função da Variação das macromoléculas (amido/gelatina) nas formulações dos filmes de desintegração oral.

Formulação	Amido:Gelatina	Extrato (g/100g de macromolécula)
1	0:100	0
2	25:75	0
3	50:50	0
4	75:25	0
5	100:0	0
6	0:100	10
7	25:75	10
8	50:50	10
9	75:25	10
10	100:0	10
11	0:100	15
12	25:75	15
13	50:50	15
14	75:25	15
15	100:0	15
16	0:100	20
17	25:75	20
18	50:50	20
19	75:25	20
20	100:0	20

3.6. Caracterização dos filmes de desintegração oral

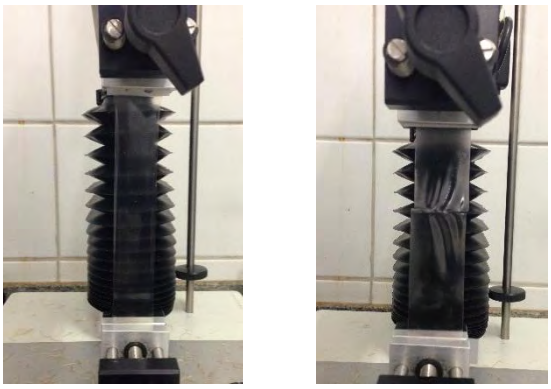
3.6.1. Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral foram avaliadas por testes de tração, utilizando um texturômetro TA.XT plus (Stable Micro Systems), de acordo com a metodologia da ASTM 2010.

Os filmes foram cortados em tiras de 25 x 100 mm e, posteriormente, acondicionados em NaBr por 5 dias. Para realização dos testes, os filmes foram fixados em probe específicos (*tensile grips*), posicionados a uma distância de 100 mm e com velocidade de 50 mm/min, esses parâmetros foram mantidos constantes para todas as análises. Os filmes foram tracionados até a ruptura, resultando em

uma curva de Tensão (MPa) versus Elongação (%), da qual foram obtidos os valores de tensão de ruptura (MPa), elongação (%) e módulo elástico (MPa). A análise foi realizada em 10 repetições.

Figura 5 - Filmes de desintegração oral durante tracionamento para análise das propriedades mecânicas (a) antes da ruptura e (b) após a ruptura.



(a) (b)

Fonte: Própria autoria.

3.6.2. Cor e Opacidade

A cor e opacidade foram realizadas com uso do colorímetro Miniscan XE (HunterLab), controlado pelo programa computacional *Universal Software*. Os filmes foram acondicionados em NaBr durante 5 dias.

A cor dos filmes de desintegração oral foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Gennadios et al. (1996), sendo expressa pelo parâmetro de diferença total de cor (ΔE^*).

A cor dos filmes foi determinada pelos parâmetros de croma a*, variação da cor verde (-) ao vermelho (+); croma b*, que indica a variação do azul (-) ao amarelo (+); e L*, que corresponde a luminosidade (0=preto e 100=branco).

A opacidade dos filmes foi determinada pela metodologia proposta por Sobral (2000), na qual o valor da opacidade (Opa) é calculado como a relação entre a opacidade do filme sobreposto sobre o padrão preto (Y_p) e sobre o padrão branco (Y_b) (Equação 1).

$$Opa = \frac{Y_p}{Y_b} \qquad (1)$$

Os resultados de cor e opacidade foram obtidos em triplicata a partir da leitura de 3 pontos aleatórios de cada amostra.

3.6.3. Ângulo de Contato

As medidas dos ângulos de contado foram obtidas utilizando-se um Tensiometro (KVS Instrument, Attension), de acordo com a metodologia de Bala et al. (2013).

Para a análise, os filmes foram cortados em retângulos de 20 x 40 mm e acondicionados em NaBr durante 5 dias. A determinação das espessuras ocorreu no quarto dia e foi calculada como a média aritmética de cinco medidas aleatórias sobre a área do filme.

Os filmes de desintegração oral foram fixados na base do aparelho e uma gota (5µL) foi depositada na superfície do filme. Com uso de software Attension Theta instalado em computador acoplado ao equipamento, a imagem da gota foi captada por uma câmera digital em intervalos de 2s, durante 30s. O valor do ângulo de contato médio foi calculado como a média das medidas do ângulo direito e esquerdo.

Os resultados de ângulo de contato foram obtidos em triplicata.

3.6.4. Tempo de Desintegração

Para análise do tempo de desintegração, os filmes de desintegração oral foram cortados em retângulos medindo 20 x 30 mm e acondicionados. As análises foram realizadas usando 2 solventes: solução tampão pH 6,8 e água destilada. A solução tampão de fosfato salino (pH=6,8) foi preparada segundo Perumal et al. (2008) para simular a saliva.

O método utilizado para determinar o tempo de desintegração foi descrito por Garsuch e Breitkreutz (2010), que buscou utilizar pequenas quantidades de solvente para simular o ambiente da cavidade oral. Os filmes foram encaixados em um quadro de slide e colocados sobre uma placa de Petri. Uma gota contendo 200µL do

solvente (solução tampão de fosfato salino à temperatura de 37ºC ou de água destilada à temperatura ambiente) foi depositada sobre o filme. O tempo de desintegração foi considerado como sendo o tempo necessário para que ocorre queda do filme, ou seja, quando o filme tocar a placa de Petri.

3.6.5. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para avaliar as interações entre os compostos presentes nos filmes de desintegração oral, foram realizadas análises de espectroscopia de infravermelho utilizando um espectrômetro Perkin Elmer (Spectrum One) de acordo com Vicentini et al. (2005).

Os filmes foram cortados em retângulos de 20 x 30 mm e acondicionados em dessecadores contendo sílica durante 10 dias, antes da realização das análises.

As amostras foram sobrepostas sobre a célula de leituras, onde ocorreram 16 varreduras em um ponto com uma resolução de 2 cm^{-1}, na faixa espectral de 400 - 4000 cm^{-1}. Os espectros de varredura foram coletados e analisados utilizando o programa *FTIR Spectrum Software*.

3.6.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As microestruturas interna e externa dos filmes de desintegração oral foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura, de acordo com Carvalho e Grosso (2004).

Os filmes foram cortados em tiras de 25 x 100 mm e acondicionados em dessecador contendo sílica gel pelo período de 10 dias.

A análise da microscopia foi realizada utilizando um microscópio eletrônico de varredura modelo TM-3000 (Hitachi). Para a determinação da estrutura interna, os filmes foram fraturados utilizando nitrogênio líquido.

Nas análises da estrutura interna foi utilizado feixe de elétrons de 15kV e nas análises de superfície foi utilizado feixe de elétrons de 5kV, ambas com aumento 2.000 vezes.

3.7. Caracterização dos filmes de desintegração oral com incorporação do extrato

3.7.1. pH de superfície

Os filmes foram cortados em quadrados de 2,5 x 2,5 mm e armazenados em dessecador contendo NaBr por 5 dias. O pH de superfície foi determinando segundo Prabhu et al. (2011).

Após esse período, os filmes foram colocados em tampas plásticas e umedecidos com 500µL de água destilada durante 30 segundos. Em seguida, o pH foi medido (pHmetro WTW pH3210 / Série 11210011) em contato com a superfície do filme até atingir o equilíbrio. Foram realizadas 3 medidas para cada formulação.

3.7.2. Antocianinas Totais

A determinação das antocianinas totais foi realizada pelo método de pH diferencial, através da metodologia AOAC 2005.02 (37.1.68). A análise de antocianinas totais foi realizada para o extrato e para os filmes.

Para análise das antocianinas, os extratos foram utilizados sem diluição e os filmes foram solubilizados em água durante 10 min em banho termostático a 55°C.

O extrato foi adicionado a tubos de ensaio formando as seguintes soluções: D_{pH1} (0,2mL extrato da casca de camu-camu ou filme de desintegração oral solubilizado em 4,8mL solução tampão pH 1,0) e a $D_{pH4,5}$ (0,2mL extrato da casca de camu-camu ou filme de desintegração oral solubilizado em 4,8mL solução tampão pH 4,5).

Em seguida, determinou a absorbância das amostras nos comprimentos de onda 520nm e 700nm. O resultado para antocianinas totais foi obtido através da Equação 2 e 3.

Os resultados obtidos foram convertidos para mg/100g de equivalente cianidana-3-glucosídeo e analisados estatisticamente. A análise foi realizada em triplicata.

$$AT = \frac{A\ P_M\ F_D\ 10^3}{\varepsilon} \qquad (2)$$

$$A = [(A_{520} - A_{700})_{pH1}] - [(A_{520} - A_{700})_{pH4,5}] \qquad (3)$$

Onde:

AT: Antocianinas Totais em mg/L de equivalente cianidana-3-glucosídeo;

A: Diferença entre as absorbâncias em pH1,0 e 4,5 (Equação 3);

P_M: peso molecular da cianidina-3-glicosídeo (449,2g/mol);

F_D: Fator de Diluição;

10^3: Conversão de g para mg;

ε: Coeficiente de Extinção Molar da cianidina-3-glicosídeo (26.900).

3.7.3. Estudo da Estabilidade

Os filmes foram acondicionados em dessecadores com umidade de 75% ± 5%, e mantidos em B.O.D (Marconi / MA 415) a temperatura de 30ºC durante 20 dias (DAUD; NIDHI; BONDE; 2011).

Durante este período foram realizadas análises, em triplicata, para quantificar as antocianinas, nos dias 1, 2, 5, 10 e 20 de armazenamento. ,

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Caracterização físico-química da casca de camu-camu

Os dados obtidos para caracterização físico-química da casca de camu-camu estão representados na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados da análises físico-químicas da casca de camu-camu, expresso em base seca.

Análise	g/100g de casca seca
Matéria Seca (MS)	87,82 ± 0,18
Matéria Mineral (MM)	1,67 ± 0,01
Proteína Bruta (PB)	4,81 ± 0,23
Extrato Etéreo (EE)	6,50 ± 0,00
Fibra Bruta (FB)	13,33 ± 0,28
Extrativo Não Nitrogenado (ENN)	73,70 ± 0,53
Fibra em Detergente Ácido (FDA)	20,08 ± 0,33
Fibra em Detergente Neutro livre de Cinzas (FDN)	30,92 ± 0,11

4.2. Extrato da casca de camu-camu

4.2.1. Aspectos Visuais

A extração das antocianinas, com os dois solventes utilizados, observou-se que após as extrações as cascas sofreram grande redução da pigmentação.

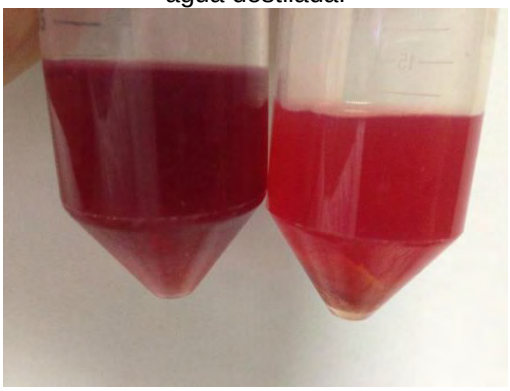
Figura 6 - Casca antes extração (a), casca após extração (b) e extrato (c).

(a) (b) (c)

Fonte: Própria autoria.

Os extratos formados apresentaram forte coloração vermelha, resultado da diluição das antocianinas. Visualmente, observa-se uma coloração mais escura para o uso do solvente álcool 95%, como observamos na Figura 7.

Figura 7 - Extratos obtidos da casca de camu-camu diferentes solventes: (a) álcool etílico 95% e (b) água destilada.



(a) (b)

Fonte: Própria autoria.

A diferença no pH das soluções pode ser responsável por essa diferença na coloração, visto que a quantidade de antocianinas não foi diferente significativamente entre os solventes utilizados.

Durante o período de armazenamento, não foi possível observar alterações visuais na coloração. Para o extrato utilizando-se água como solvente, após 30 dias de armazenamento refrigerado (6ºC) verificou-se o crescimento de microorganismos.

4.2.2. Estabilidade do extrato da casca de camu-camu

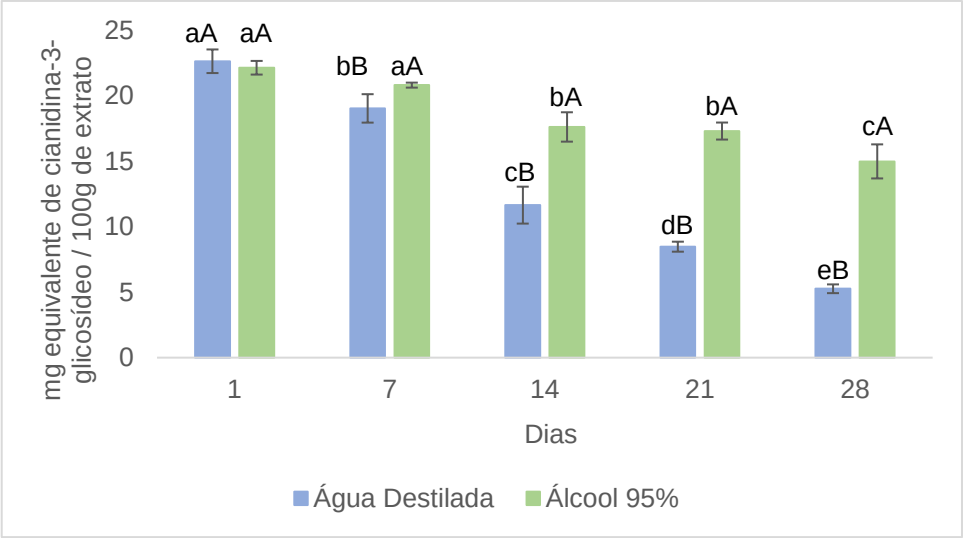
A estabilidade das antocianinas é um fator fundamental para escolha do solvente e das condições de armazenamento do extrato. Os resultados obtidos para a concentração de antocianinas totais nos extratos em função da temperatura de armazenamento, utilizando-se os dois solventes, podem ser observados no Figura 8 para o armazenamento a 6ºC e na Figura 9 para o armazenamento a -18ºC.

Analisando os resultados para antocianinas totais no dia da extração (dia 1), verificou-se que os valores obtidos para a concentração de antocianinas utilizando-se encontrados para água destilada (22,63 ± 0,90) e álcool 95% (22,14 ± 0,52) não apresentaram diferenças estatísticas, ou seja, apresentam a mesma eficiência na extração das antocianinas presentes na casca.

Para o extrato utilizando-se água como solvente, verificou-se redução significativa da concentração de antocianinas, em relação ao extrato utilizando-se solução alcóolica para a temperatura de armazenamento de 6ºC. Entretanto, quando os extratos armazenados à -18ºC não verificou-se variação significativa da concentração de antocianinas, podendo ser uma condição potencial para a estabilidade das antocianinas.

O uso de temperaturas elevadas para extração contribui para maior concentração de compostos fenólicos, porém pode acarretar perdas na quantidade principalmente devido a degradação das antocianinas (CREASY; CREASY, 1998; FRANKEL et al., 1998). A temperatura elevada durante o processamento e o armazenamento é uma das principais causas de degradação das antocianinas (MALACRIDA; MOTTA, 2005).

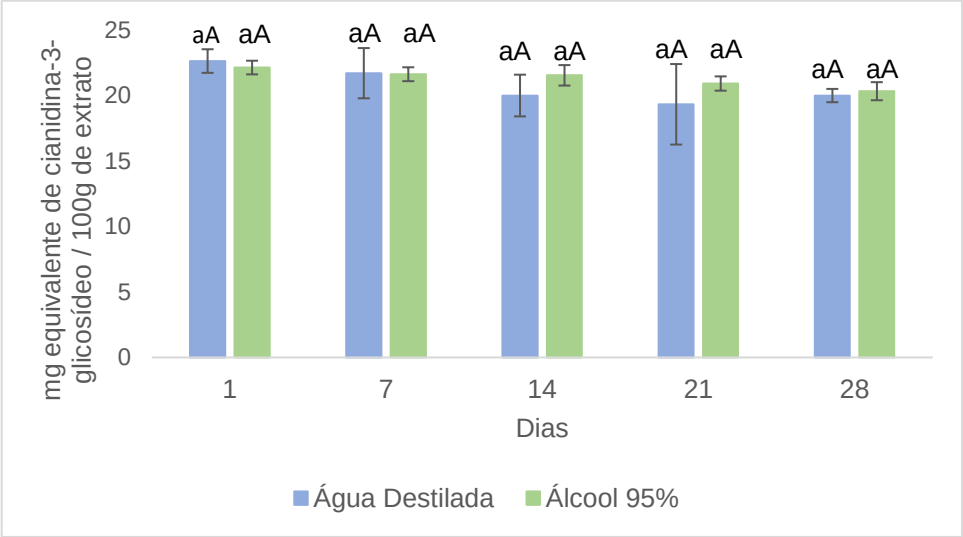
Figura 8 - Comparação entre os solventes para temperatura de 6ºC de armazenamento na estabilidade das antocianinas presentes no extrato da casca de camu-camu. Valores expressos em mg equivalente de cianidina-3-glicosídeo / 100g de extrato.



Letras minúsculas diferenças significativas (p<0,05) entre os dias de armazenamento para um mesmo solvente. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os solventes, para um mesmo dia de armazenamento. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS.

Quando utilizado o álcool 95% como solvente, observamos uma redução significativa das antocianinas apenas após o dia 14 para a temperatura de 6ºC. Assim como a água destilada, para a temperatura de -18ºC, o álcool 95% apresentou grande eficiência na estabilidade das antocianinas, não apresentando redução significativa durante todo o período de armazenamento.

Figura 9 - Comparação entre os solventes para temperatura de -18ºC de armazenamento na estabilidade das antocianinas presentes no extrato da casca de camu-camu. Valores expressos em mg equivalente de cianidina-3-glicosídeo / 100g de extrato.



Letras minúsculas diferenças significativas (p<0,05) entre os dias de armazenamento para um mesmo solvente. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os solventes, para um mesmo dia de armazenamento. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS

Para o armazenamento refrigerado a 6ºC, o uso do solvente álcool 95% foi mais eficiente, pois apresentou valores significativamente superior ao dos extratos de água destilada. Porém, os dois solventes apresentaram redução significativa nos níveis de antocianinas.

O armazenamento na temperatura de -18ºC, foi muito superior ao refrigerado, mantendo a quantidade de antocianinas sem redução significativa para os dois solventes utilizados.

Dessa forma, determinamos o uso de água destilada para realizar as extrações durante o trabalho desenvolvido, por ser um solvente mais simples e com menor custo. Além disso, após verificar os resultados obtidos para as temperaturas analisadas, o armazenamento dos extratos foi realizado na temperatura de -18ºC, que se mostrou mais eficiente na estabilidade das quantidades de antocianinas.

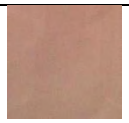
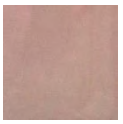
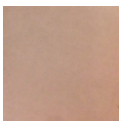
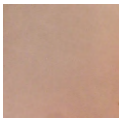
Tonon; Brabet; Hubinger (2010) estudaram a estabilidade das antocianinas do suco de açaí em pó durante um período de 120 dias. As amostras foram produzidas através de secagem por atomização e armazenadas nas temperaturas (25 e 35°C) e atividades de água (0,328 e 0,529), onde foram verificados os efeitos dessas condições sobre a degradação das antocianinas, sendo observada a estabilidade das antocianinas menor no período até 45-60 dias. Além disso estes autores verificaram que a temperatura afetou negativamente a estabilidade das antocianinas, devido a elevada sensibilidade desses pigmentos ao calor.

4.3. Caracterização dos filmes de desintegração oral

4.3.1. Aspectos Visuais

Todas as matrizes apresentaram superfície continua e homogênea. O aumento da concentração de extrato foi visível pela intensidade da coloração, quanto maior a concentração de extrato mais evidente a cor dos filmes. Essa alteração da coloração pode ser verificada pela Tabela 9.

Tabela 9 - Aspectos visuais dos filmes de desintegração oral, em função da relação amido e gelatina (AMI:GEL) com diferentes concentrações de extrato aquoso de camu-camu (C_{ECC}, g/100g de solução filmogênica).

Concentração de Amido (%)	C_{ECC} (g/100g solução filmogênica)			
	0	10	15	20
0				
25				
50				
75				
100				

4.3.2. Propriedades Mecânicas

Os efeitos das diferentes concentrações de amido nas propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral podem ser observados na Tabela 10. Foram observados os resultados de tensão na ruptura, elongação e módulo elástico.

Analisando os filmes de desintegração oral a base de gelatina e amido sem adição de extrato de camu-camu, observou-se uma redução na tensão de ruptura, na elongação de ruptura e no módulo elástico com o aumento da concentração de amido nos filmes.

A formulação que não continha amido, formada apenas por gelatina (T1), apresentou maiores valores de tensão (48,62 MPa), elongação (15,10%) e módulo elástico (16,80 MPa). O aumento nos valores da tração demonstra formação de filmes mais resistentes.

Tabela 10 - Propriedades mecânicas para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}).

Concentração de Amido (%)	C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)	Tensão na Ruptura (MPa)	Elongação (%)	Módulo Elástico (MPa)	Espessura (mm)
0	0	48,62 ± 3,70^{aA}	15,10 ± 1,45^{dA}	16,80 ± 1,67^{aA}	0,061 ± 0,002^{aA}
	10	36,64 ± 2,18^{bA}	30,04 ± 3,31^{cA}	8,47 ± 1,05^{bA}	0,060 ± 0,003^{aA}
	15	30,02 ± 2,50^{cA}	38,29 ± 4,81^{bA}	7,92 ± 0,80^{bA}	0,061 ± 0,003^{aA}
	20	24,17 ± 2,31^{dA}	43,17 ± 3,84^{aA}	6,40 ± 0,54^{cA}	0,059 ± 0,003^{aA}
25	0	43,23 ± 2,18^{aB}	14,06 ± 1,55^{dA}	15,60 ± 1,09^{Aa}	0,061 ± 0,004^{aA}
	10	23,28 ± 3,13^{bB}	19,70 ± 3,05^{cB}	8,55 ± 0,94^{bA}	0,060 ± 0,003^{aA}
	15	21,72 ± 2,15^{bB}	33,24 ± 3,25^{bB}	5,18 ± 0,54^{cB}	0,062 ± 0,002^{aA}
	20	21,34 ± 1,14^{bB}	36,41 ± 2,75^{aB}	5,08 ± 0,35^{cB}	0,061 ± 0,003^{aA}
50	0	37,31 ± 2,83^{aC}	11,74 ± 1,50^{cB}	13,13 ± 1,40^{aB}	0,061 ± 0,002^{aA}
	10	19,16 ± 1,66^{bC}	15,85 ± 1,52^{bC}	7,38 ± 0,74^{bB}	0,061 ± 0,003^{aA}
	15	18,79 ± 1,09^{bC}	30,44 ± 3,84^{bB}	5,08 ± 0,73^{cB}	0,062 ± 0,002^{aA}
	20	18,76 ± 1,07^{bC}	31,34 ± 1,93^{aC}	4,57 ± 0,43^{cC}	0,060 ± 0,002^{aA}
75	0	24,01 ± 1,91^{aD}	9,36 ± 0,58^{cC}	11,52 ± 1,56^{aC}	0,060 ± 0,003^{aA}
	10	16,64 ± 1,36^{bD}	14,98 ± 1,59^{bC}	7,30 ± 0,57^{bB}	0,059 ± 0,003^{aA}
	15	12,51 ± 1,57^{cD}	25,37 ± 3,64^{aC}	4,27 ± 0,77^{cC}	0,060 ± 0,002^{aA}
	20	11,15 ± 1,40^{cD}	25,57 ± 2,96^{aD}	3,77 ± 0,54^{cD}	0,060 ± 0,002^{aA}
100	0	22,44 ± 1,83^{aD}	2,58 ± 0,43^{cD}	11,40 ± 1,39^{aC}	0,061 ± 0,002^{aA}
	10	16,37 ± 1,75^{bD}	11,18 ± 1,69^{bD}	7,22 ± 0,96^{bB}	0,058 ± 0,003^{aA}
	15	8,07 ± 0,81^{cE}	12,78 ± 3,15^{abD}	3,11 ± 0,56^{cD}	0,061 ± 0,002^{aA}
	20	8,35 ± 0,96^{cE}	13,53 ± 1,66^{aE}	3,01 ± 0,54^{cE}	0,060 ± 0,002^{aA}

Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de extrato. Letras maiúsculas na mesma coluna para cada concentração de extrato indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de amido. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS.

As alterações nas formulações geraram diferenças significativas em todas as propriedades mecânicas analisadas. Os filmes produzidos exclusivamente com amido eram mais frágeis e quebradiços, o que demonstra baixa elasticidade em relação aos outros filmes analisados. Porém, com a adição da gelatina ocorreu uma melhora significativa nos valores de tensão de ruptura dos filmes de amido. Da mesma forma, um estudo realizado por Fakhouri et al. (2013) com filmes de amido de milho lipofílico, gelatina e plastificados com sorbitol observou que a adição de gelatina nos filmes de amido também resultou em aumento da tensão de ruptura.

Al-Hassan e Norziah (2012) realizaram um estudo para analisar as propriedades mecânicas de filmes comestíveis formados por blendas de gelatina de peixe e amido de sagu plastificados com sorbitol. Os filmes formados apenas por amido apresentaram os maiores valores de tensão (25,03 MPa), e foram próximos aos desse estudo (22,44 MPa). Porém, com a adição da proteína os valores observados para a tensão foram decrescentes, contrário do que se observou no

estudo atual, onde ocorreu um aumento da tensão de ruptura com o aumento da concentração de gelatina.

Isso pode ser explicado provavelmente pelas diferentes fontes de macromoléculas escolhidas, visto que o tamanho das cadeias das macromoléculas interfere nas formas de interação entre elas e podem levar ao aumento ou diminuição da tensão. O efeito do uso de diferentes macromoléculas para produção de filmes comestíveis foi observado em estudo realizado por Fakhouri et al. (2007), que avaliaram as propriedades mecânicas de filmes de gelatina com adição de diferentes tipos de amidos (trigo, sorgo, batata e arroz). Os valores de tensão para os filmes produzidos com trigo (104,62 MPa), sorgo (85,89 MPa) e batata (56,24 MPa) apresentaram diferenças significativas.

Quando analisada a adição de extrato de camu-camu nos filmes, observou-se que a adição de extrato a matriz polimérica provocou redução significativa da tensão de ruptura em todas as concentrações estudadas. Os valores de elongação na ruptura aumentaram significativamente com a adição de extrato na matriz polimérica. Todas as formulações com 20% de extrato apresentaram valores significativamente superiores em comparação as outras concentrações de extrato. A análise do módulo elástico, mostrou que a adição de extrato reduziu significativamente em todas as formulações.

Em estudo realizado por Giménez et al (2013), a adição de extrato aquoso de chá verde em filmes biodegradáveis com base de ágar-ágar e gelatina de peixe diminuiu resistência à tração e alongamento na ruptura. O mesmo efeito pode ser observado no presente estudo com relação a resistência a tensão de ruptura.

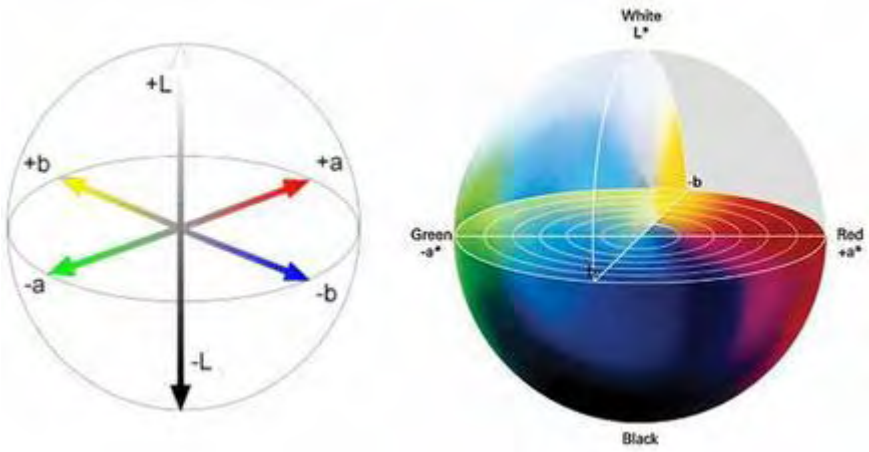
Não foram observadas diferenças estatística entre as espessuras das diferentes formulações. O controle desse parâmetro é importante pois influencia diretamente as propriedades mecânicas dos filmes. Além disso, a partir desses resultados demonstramos eficiência no controle da técnica de *casting*.

4.3.3. Cor e Opacidade

A determinação das cores de alguns materiais ou objetos podem apresentar diferenças dependendo da pessoa que o observa. Por isso, a CIE (Comissão Internacional de Iluminantes) criou uma determinação de cor e opacidade pelo

modelo CIELAB, uniformizando a representação das cores do sistema visual, o que e possibilita a comparação sem interferência da sensibilidade humana.

Figura 10 - Modelo Cromático CIELAB.



Fonte: Modelo CIE 1976 L*a*b*22/02/2011 - Memoria Gráfica by Esteban Jacobo
http://www.memoriagrafica.com/5/post/2011/02/modelo-cie-1976-lab.html

O parâmetro L* representa a luminosidade, onde o valor 0 determina a cor preta e o valor 100 a cor branca. O valor de croma a* representa a variação do verde (-80 a 0) ao vermelho (0 a 100) e o croma b* representa a variação de cor do azul (-100 a 0) para o amarelo (0 a 70) (SCHANDA, 2007; LEÃO, 2005).

Os valores para luminosidade dos filmes de gelatina e amido puros e com adição de extrato da casca de camu-camu estão apresentados na Tabela 11.

Os filmes controle apresentaram homogeneidade, independente da formulação, com ausência de partículas insolúveis ou zonas de descontinuidade. Em relação aos parâmetros de cor (L*, a* e b*), verificou-se um aumento significativo na luminosidade em filmes com maiores concentrações de amido, confirmado pela aparência visivelmente mais próxima a coloração branca.

Perazzo (2011) estudou filmes biodegradáveis à base de fécula de mandioca com incorporação de corante carotenóico natural (CCN), extraído do azeite de dendê (*Elaeis guineensis*) e de extrato do chá verde (ECV) (*Camelia sinensis*) para melhorar as propriedades antioxidantes e a conservação da manteiga. Os filmes controle, produzidos apenas com fécula de mandioca, apresentaram os seguintes resultados para L*, a* e b*, respectivamente, 92,00, -0,51 e 4,59. O resultado para luminosidade foi próximo ao valor encontrado para o filme produzido apenas com amido de mandioca (91,39 ± 1,01), porém foi bastante inferior ao valor de croma a*

Tabela 11 - Resultados de cor e opacidade para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}).

Concentração de Amido (%)	C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)	L*	a*	b*	Opacidade	Espessura (mm)
0	0	80,33 ± 1,21^{aC}	-0,99 ± 0,02^{dC}	1,90 ± 0,04^{dA}	0,22± 0,02^{aD}	0,060 ± 0,003^{aA}
	10	80,91 ± 3,07^{aC}	0,26 ± 0,03cD	39,05 ± 0,35^{aA}	0,21 ± 0,01^{abD}	0,061 ± 0,003^{aA}
	15	81,02 ± 2,51^{aD}	1,19 ± 0,02bE	36,71 ± 0,24^{bA}	0,19 ± 0,01^{bD}	0,061 ± 0,001^{aA}
	20	81,50 ± 1,78^{aE}	2,30 ± 0,02aE	16,97 ± 0,12^{cA}	0,19 ± 0,01^{bD}	0,061 ± 0,003^{aA}
25	0	81,25 ± 2,59^{bC}	-0,98 ± 0,02^{dC}	1,83 ± 0,01^{cB}	0,33 ± 0,03^{aC}	0,060 ± 0,004^{aA}
	10	81,81 ± 1,25^{abBC}	0,41 ± 0,05^{cC}	28,99 ± 0,13^{aB}	0,31 ± 0,03^{aC}	0,060 ± 0,003^{aA}
	15	82,94 ± 1,08^{abC}	1,63 ± 0,02^{bD}	29,08 ± 0,23^{aB}	0,31 ± 0,02^{aC}	0,063 ± 0,002^{aA}
	20	83,71 ± 0,50^{aD}	3,25 ± 0,03^{aD}	14,03 ± 0,14^{bB}	0,31 ± 0,03^{aC}	0,060 ± 0,003^{aA}
50	0	83,46 ± 1,13^{bB}	-0,94 ± 0,02^{dB}	1,82 ± 0,02dB	0,47 ± 0,04^{aB}	0,062 ± 0,002^{aA}
	10	83,60 ± 0,40^{bB}	0,41 ± 0,01^{cC}	26,21 ± 0,23^{aC}	0,34 ± 0,03^{bC}	0,061 ± 0,003^{aA}
	15	84,27 ± 1,54^{bC}	1,71 ± 0,02^{bC}	25,23 ± 0,25^{bC}	0,33 ± 0,02^{bC}	0,061 ± 0,002^{aA}
	20	86,30 ± 0,56^{aC}	5,59 ± 0,05^{aC}	12,56 ± 0,10^{cC}	0,32 ± 0,02^{bC}	0,062 ± 0,002^{aA}
75	0	91,27 ± 1,36^{aA}	-0,90 ± 0,01^{dA}	1,80 ± 0,02^{dC}	0,50 ± 0,03^{aB}	0,060 ± 0,003^{aA}
	10	90,25 ± 0,73^{bA}	0,51 ± 0,05^{cB}	16,06 ± 0,10^{bD}	0,48 ± 0,03^{aB}	0,060 ± 0,003^{aA}
	15	89,68 ± 0,54^{bB}	2,03 ± 0,03^{bB}	18,77 ± 0,18^{aD}	0,40 ± 0,02^{bB}	0,061 ± 0,002^{aA}
	20	89,53 ± 0,23^{bB}	7,60 ± 0,06^{aB}	9,03 ± 0,07^{cD}	0,37 ± 0,02^{bB}	0,058 ± 0,002^{aA}
100	0	91,39 ± 1,01^{aA}	-0,88 ± 0,03^{dA}	1,69 ± 0,01^{dD}	0,82 ± 0,07^{aA}	0,061 ± 0,004^{aA}
	10	91,61 ± 0,67^{aA}	0,69 ± 0,04^{cA}	10,64 ± 0,09^{bE}	0,80 ± 0,02^{aA}	0,061 ± 0,004^{aA}
	15	92,15 ± 0,84^{aA}	2,15 ± 0,02^{bA}	16,04 ± 0,14^{aE}	0,78 ± 0,04^{aA}	0,062 ± 0,003^{aA}
	20	92,38 ± 1,67^{aA}	8,61 ± 0,08^{aA}	6,05 ± 0,06^{cE}	0,61 ± 0,03^{bA}	0,061 ± 0,002^{aA}

Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de extrato. Letras maiúsculas na mesma coluna para cada concentração de extrato indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de amido. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS.

Com relação ao aumento da opacidade nos filmes com maior concentração de amido, isso pode ser justificado pois durante o processo de gelatinização do amido ocorre mudança na coloração devido à perda da estrutura e cristalinidade dos grânulos, formando-se um gel com certa opacidade (SILVA et al., 2007).

A adição de extrato aumentou visivelmente a coloração vermelha dos filmes, conforme esperado pela forte coloração do extrato. Para os filmes com adição de extrato verificou-se algumas variações significativas entre algumas concentrações. Os resultados observados estão de acordo com a cor característica do extrato da casca de camu-camu.

Eça (2015) desenvolveu revestimentos ativos de pectina incorporados com extratos de frutas (acerola, caju, mamão, morango e pequi) e observou que com relação as propriedades ópticas, os filmes apresentaram as cores características dos extratos adicionados. Além disso, verificou-se diminuição da luminosidade, coloração mais intensa e ligeiramente mais opacos que o filme controle. Essas variações estão associadas diretamente ao tipo de fruta utilizada na produção do extrato.

4.3.4. Ângulo de Contato

Os resultados obtidos para ângulo de contato dos filmes de desintegração oral sem e com adição de extrato da casca de camu-camu estão representados na Tabela 12.

Os filmes de desintegração oral sem adição de extrato apresentaram valores de 68,81° a 98,06°.

A variação no ângulo de contato indica a molhabilidade da superfície. O molhamento do sólido pelo líquido pode ocorrer de acordo com a variação do ângulo de contato (Figura 11): θ > 90º não ocorre o espalhamento do líquido, θ < 90º o líquido se espalha espontaneamente, ou θ ≈ 0º o líquido se espalha indefinidamente sobre o sólido contato (LUZ; RIBEIRO; PANDOLFELLI et al., 2008; WOLF et al., 2006).

Tabela 12 - Ângulo de contato para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}).

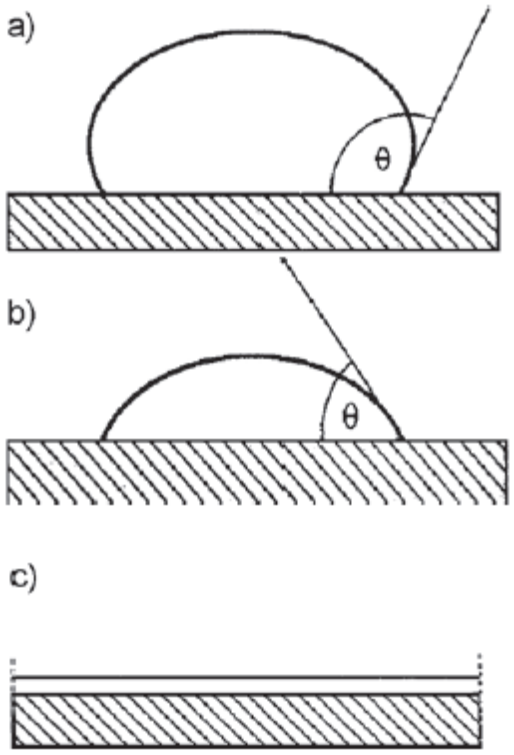
Concentração de Amido (%)	C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)	Ângulo de Contato (º)	Espessura (mm)
0	0	98,06 ± 3,98^{bA}	0,059 ± 0,003^{aA}
	10	102,68 ± 5,36^{abA}	0,061 ± 0,003^{aA}
	15	104,41 ± 7,66^{aA}	0,060 ± 0,003^{aA}
	20	107,24 ± 6,16^{aA}	0,060 ± 0,003^{aA}
25	0	94,51 ± 5,75^{bAB}	0,059 ± 0,003^{aA}
	10	101,93 ± 7,52^{aA}	0,061 ± 0,003^{aA}
	15	103,49 ± 6,73^{aA}	0,060 ± 0,002^{aA}
	20	104,80 ± 7,68^{aAB}	0,059 ± 0,003^{aA}
50	0	89,32 ± 3,35^{bBC}	0,058 ± 0,002^{aA}
	10	90,42 ± 3,17^{bB}	0,061 ± 0,002^{aA}
	15	98,30 ± 8,00^{aAB}	0,060 ± 0,002^{aA}
	20	100,44 ± 5,09^{aBC}	0,059 ± 0,003^{aA}
75	0	86,83 ± 4,62^{bC}	0,059 ± 0,002^{aA}
	10	89,70 ± 3,31^{bB}	0,059 ± 0,003^{aA}
	15	94,94 ± 4,12^{aB}	0,059 ± 0,003^{aA}
	20	95,69 ± 4,43^{aC}	0,058 ± 0,003^{aA}
100	0	68,81 ± 8,56^{aD}	0,060 ± 0,003^{aA}
	10	74,10 ± 8,88^{aC}	0,058 ± 0,002^{aA}
	15	76,34 ± 5,63^{aC}	0,058 ± 0,002^{aA}
	20	74,68 ± 6,46^{aD}	0,060 ± 0,004^{aA}

Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as concentrações de extrato. Letras maiúsculas na mesma coluna para cada concentração de extrato indicam diferenças significativas (p<0,05) entre as concentrações de amido. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS.

Observou-se que o aumento na concentração de amido diminui significativamente o ângulo de contato, indicando uma maior molhabilidade da superfície. Esse resultado confirma à natureza hidrofílica dos filmes de amido sendo observada nas formulações apenas de amido uma rápida absorção de água.

Com relação aos filmes com adição de extrato, o ângulo de contato aumentou significativamente com a elevação da concentração de extrato, apresentando valores variando de 74,10º a 107,24º.

Figura 11 - Representação do ângulo de contato pelo método da gota (a) maior do que 90º, (b) menor do que 90º e (c) espalhamento total.

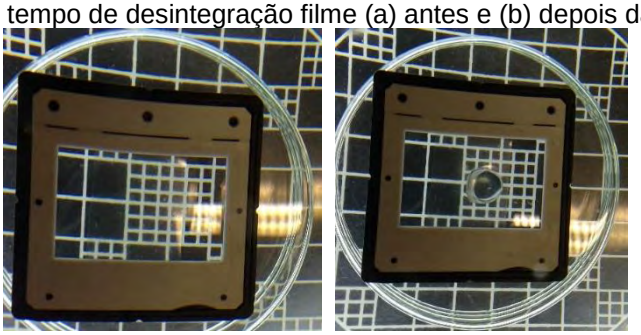


Fonte: LUZ, A. P. et al. Artigo revisão: uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. Cerâmica, v. 54, p. 174-183, 2008.

4.3.5. Tempo de Desintegração

A Figura 12 mostra o filme antes e depois da adição do solvente, o tempo de desintegração foi considerado o momento em que o solvente rompe o filme e entra em contato com a placa de Petri.

Figura 12 - Análise do tempo de desintegração filme (a) antes e (b) depois da adição do solvente.



(a) (b)

Fonte: Própria autoria.

Na tabela 13 observa-se os resultados do tempo de desintegração para os filmes de desintegração oral, com ou sem extrato, para os dois solventes utilizados: água destilada e solução pH 6,8.

Tabela 13 - Tempo de desintegração para os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de amido (AMI) e de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}).

Concentração de Amido (%)	C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)	Água Destilada		Solução pH 6,8	
		Tempo (s)	Espessura (mm)	Tempo (s)	Espessura (mm)
0	0	24,35 ± 0,92^{aA}	0,058 ± 0,003^{aA}	23,27 ± 0,99	0,059 ± 0,003^{aA}
	10	22,74 ± 1,72^{abA}	0,060 ± 0,004^{aA}	19,16 ± 1,60	0,058 ± 0,002^{aA}
	15	22,50 ± 1,76^{bA}	0,061 ± 0,003^{aA}	17,25 ± 1,30	0,061 ± 0,002^{aA}
	20	20,37 ± 2,13^{cA}	0,060 ± 0,002^{aA}	15,04 ± 1,06	0,061 ± 0,004^{aA}
25	0	23,03 ± 1,71^{aB}	0,060 ± 0,004^{aA}	21,40 ± 1,63	0,058 ± 0,003^{aA}
	10	19,73 ± 0,82^{bB}	0,061 ± 0,003^{aA}	17,32 ± 1,71	0,059 ± 0,001^{aA}
	15	18,19 ± 1,46^{cB}	0,060 ± 0,002^{aA}	16,40 ± 0,97	0,058 ± 0,003^{aA}
	20	17,45 ± 1,62^{cB}	0,061 ± 0,004^{aA}	13,07 ± 1,54	0,061 ± 0,004^{aA}
50	0	21,19 ± 0,82^{aC}	0,058 ± 0,003^{aA}	19,85 ± 1,06	0,059 ± 0,002^{aA}
	10	19,52 ± 1,44^{bB}	0,059 ± 0,003^{aA}	17,15 ± 1,04	0,061 ± 0,002^{aA}
	15	18,13 ± 1,94b^{cB}	0,063 ± 0,002^{aA}	15,73 ± 0,83	0,058 ± 0,003^{aA}
	20	17,02 ± 1,51^{cB}	0,061 ± 0,003^{aA}	13,07 ± 1,37	0,061 ± 0,003^{aA}
75	0	20,10 ± 1,73^{aC}	0,059 ± 0,003^{aA}	18,40 ± 1,41	0,059 ± 0,003^{aA}
	10	17,45 ± 1,04^{bC}	0,060 ± 0,003^{aA}	16,52 ± 0,71	0,058 ± 0,003^{aA}
	15	14,66 ± 1,43^{bC}	0,060 ± 0,002^{aA}	14,65 ± 1,30	0,060 ± 0,003^{aA}
	20	16,31 ± 1,09^{cB}	0,061 ± 0,002^{aA}	12,72 ± 0,90	0,060 ± 0,001^{aA}
100	0	15,55 ± 1,41^{aD}	0,060 ± 0,003^{aA}	15,70 ± 1,31	0,060 ± 0,002^{aA}
	10	13,57 ± 0,86^{bD}	0,061 ± 0,003^{aA}	13,06 ± 0,95	0,060 ± 0,003^{aA}
	15	12,34 ± 1,14^{cD}	0,062 ± 0,002^{aA}	11,82 ± 0,95	0,060 ± 0,001^{aA}
	20	9,23 ± 0,92^{dC}	0,061 ± 0,006^{aA}	7,89 ± 0,48	0,061 ± 0,002^{aA}

Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de extrato. Letras maiúsculas na mesma coluna para cada concentração de extrato indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de amido. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS.

Os solventes utilizados (água destilada e solução pH 6,8), apresentaram o mesmo efeito sobre o tempo de desintegração dos filmes.

O aumento na concentração de amido dos filmes de desintegração oral foi responsável pela redução significativa no tempo de desintegração, variando de 24,35s a 15,55s nos filmes sem adição de extrato para solvente água destilada. O mesmo resultado foi observado para o solvente de solução pH 6,8, sendo a variação de 23,27s a 15,70s nos filmes sem adição de extrato.

A redução no tempo de desintegração pode ser explicada pela natureza hidrofílica do amido, pois polímeros com maior afinidade com a água tendem a desintegrar mais rapidamente.

A adição do extrato também resultou em um efeito significativo no tempo de desintegração dos filmes, sendo observada uma redução com o aumento da concentração de extrato. As variações dos filmes com adição de extrato são de 22,74s a 9,23s para a água destilada, e 19,16s a 7,89s para a solução pH 6,8.

Os filmes analisados apresentaram tempo de desintegração inferior a 30 segundos, sendo classificados como filmes de rápida desintegração (DIXIT; PUTHLI, 2009).

4.3.6. Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 13 pode-se observar os espectros de absorção na zona do infravermelho médio (500 a 4000 cm^{-1}) para filmes de desintegração oral sem adição de extrato. As figuras 14, 15 e 16 apresentam os espectros de absorção na zona do infravermelho médio (500 a 4000 cm^{-1}) para filmes de desintegração oral com adição de 10, 15 e 20 g de extrato/100g de solução filmogênica, respectivamente.

Podemos observar nos espectros zonas típicas da presença da proteína (amido e gelatina), como as ligações N-H da amida A (3600-2300 cm^{-1}), as vibrações relacionadas ao estiramento do C=O da amida I (1656-1644 cm^{-1}), ao estiramento do grupo C-N da amida II (1560-1335 cm^{-1}) e bandas relacionadas a amida III (1240-670 cm^{-1}) (YAKIMETS et al., 2005).

Algumas ligações observadas são comuns ao amido, como as bandas próximas a 3440 cm^{-1}, em função do estiramento dos grupos O-H, e a 2940 cm^{-1}, atribuída as vibrações do grupo C-H (NUNES, 2014).

Não foi observada a formação de novas bandas nos espectros dos filmes, independente da composição, sendo verificadas diferenças apenas nas intensidades. A ausência de novas bandas indica separação dos polímeros (ZHANG et al., 2013).

Não foram observadas variações ou deslocamentos das bandas devido a incorporação do extrato da casca de camu-camu.

Figura 13 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) sem adição de extrato de casca de camu-camu (g/100g de solução filmogênica).

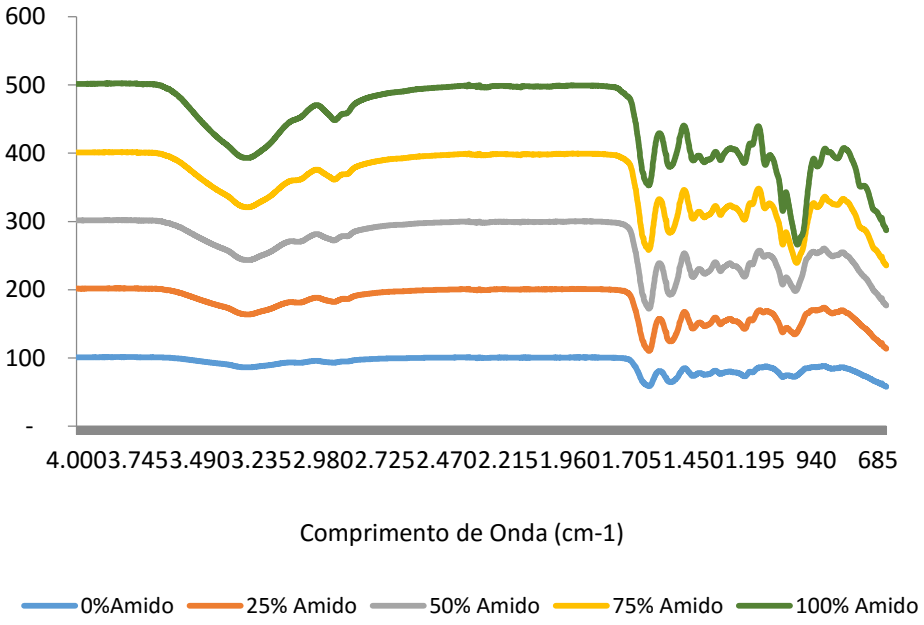


Figura 14 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) com adição de 10g de extrato de casca de camu-camu / 100g de solução filmogênica.

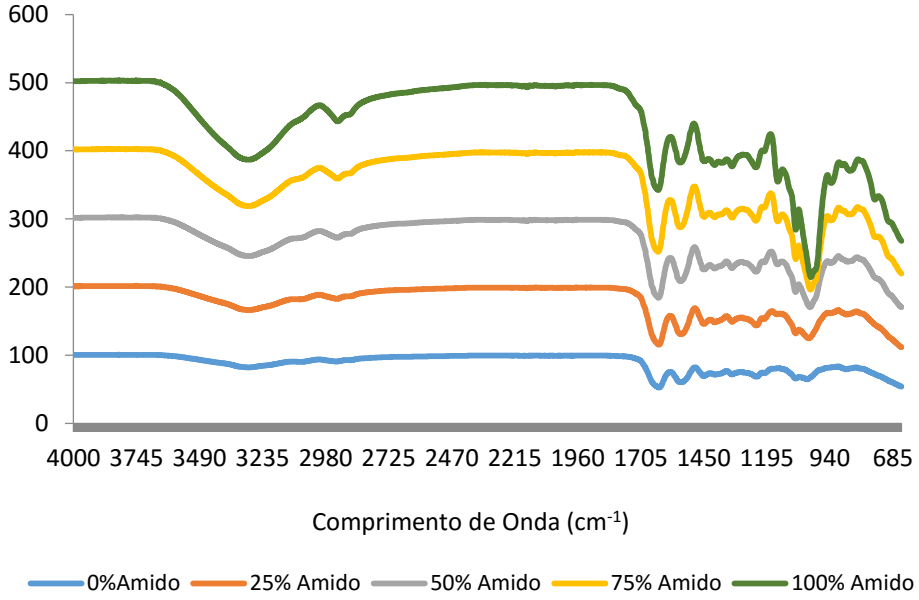


Figura 15 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) com adição de 15g de extrato de casca de camu-camu / 100g de solução filmogênica.

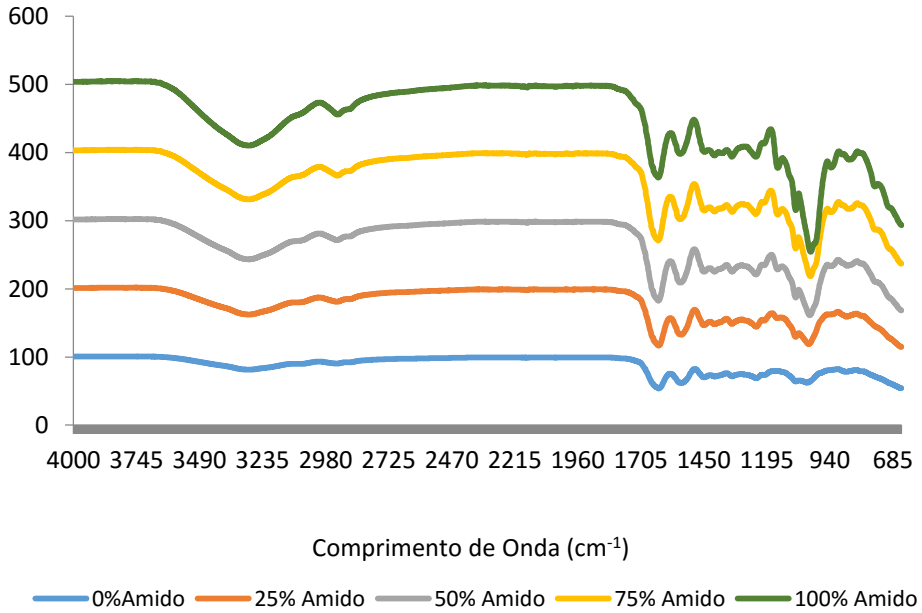
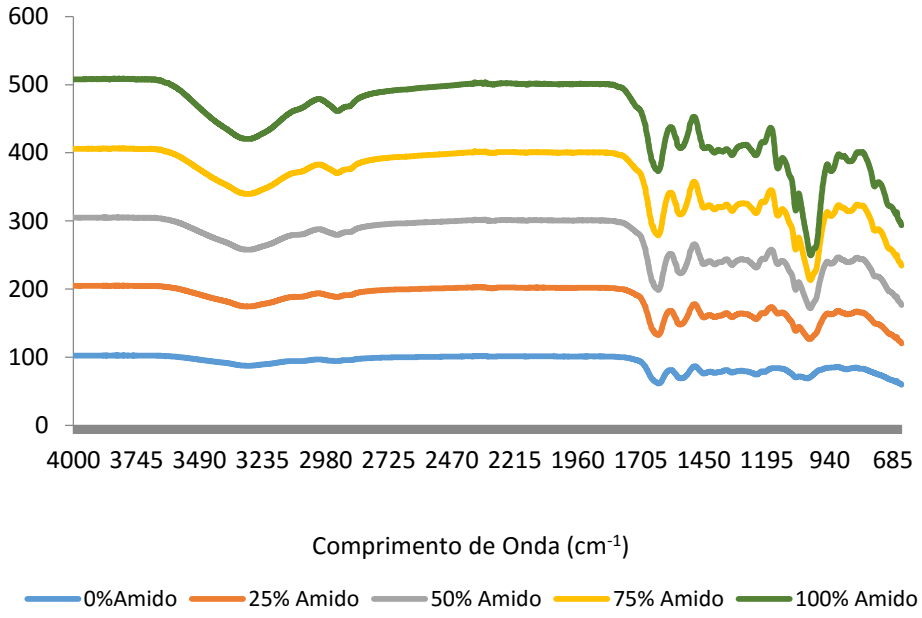


Figura 16 - Espectros de absorção de infravermelho para diferentes concentrações de macromoléculas (AMI:GEL) com adição de 20g de extrato de casca de camu-camu / 100g de solução filmogênica.



4.3.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície e da fratura dos filmes encontram-se nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.

Os filmes sem adição de extrato foram mais homogêneos e sem fissuras na superfície quando formados por apenas uma macromolécula. Os filmes formados pelas blendas apresentaram zonas de descontinuidade principalmente na relação 50:50. O mesmo efeito foi observado na superfície interna dos filmes.

Isso pode ser explicado pela ausência de interações fortes entre as macromoléculas. Segundo Oliveira (2009), a ausência de interações fortes e a presença de rugosidades é ideal para os processos de incorporação e liberação de princípios ativos.

A adição do extrato melhorou a homogeneidade dos filmes, que apresentaram redução nas zonas de descontinuidade em todas as concentrações adicionadas.

Tabela 14 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de filmes de desintegração oral em função da relação amido e gelatina (AMI:GEL) e da variação na concentração de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}).

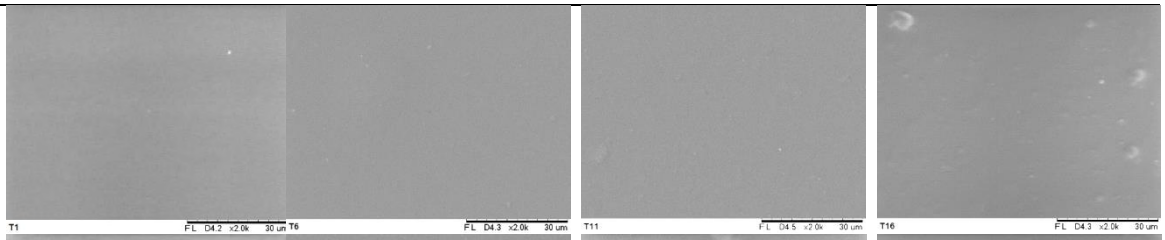
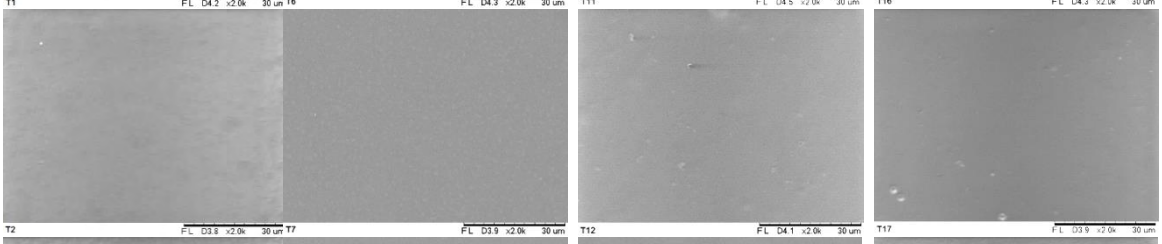
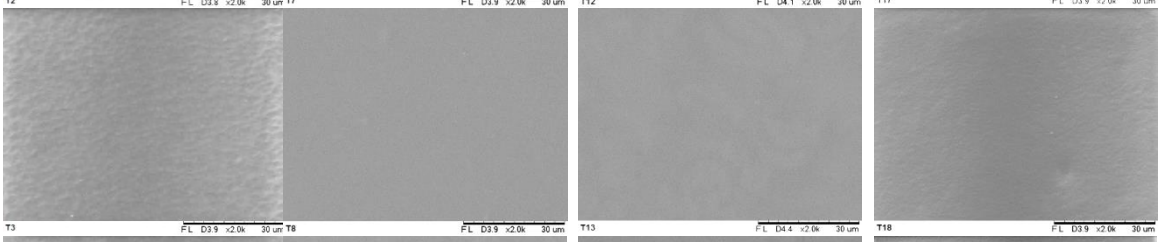
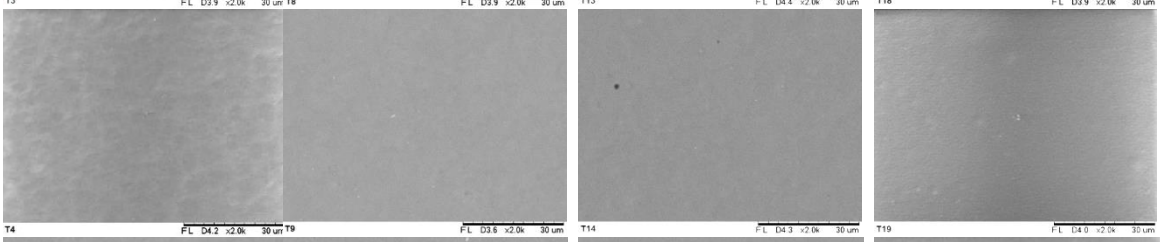
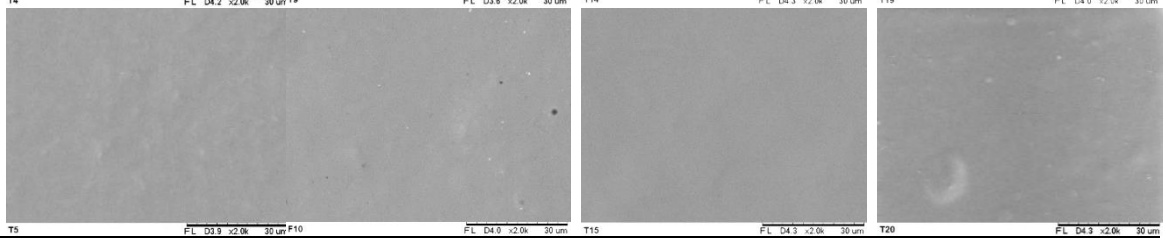
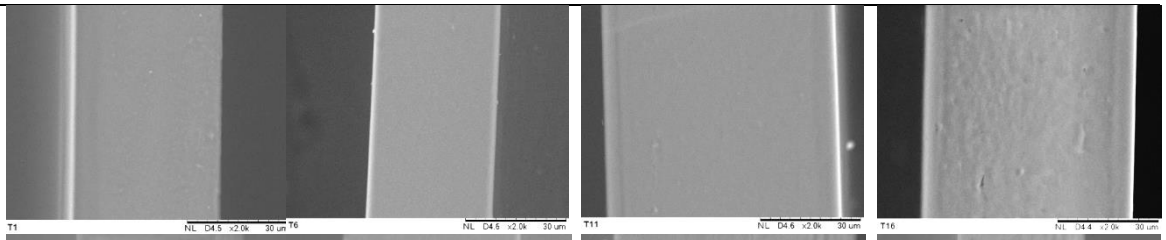
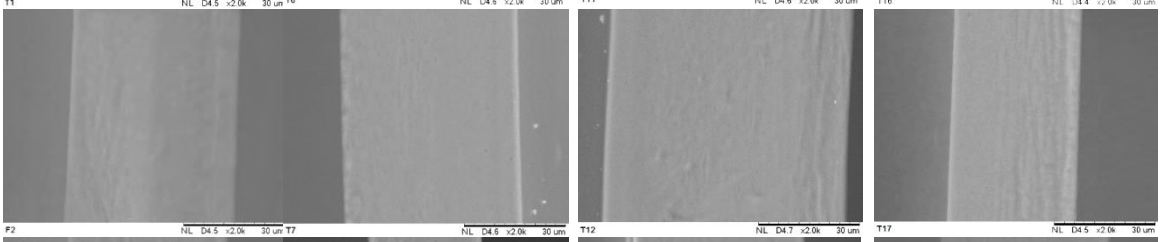
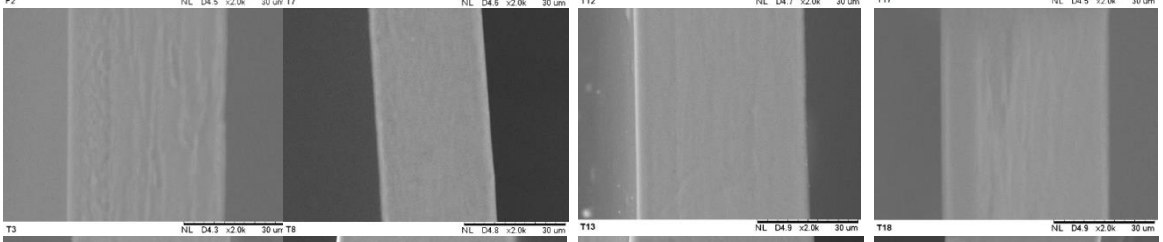
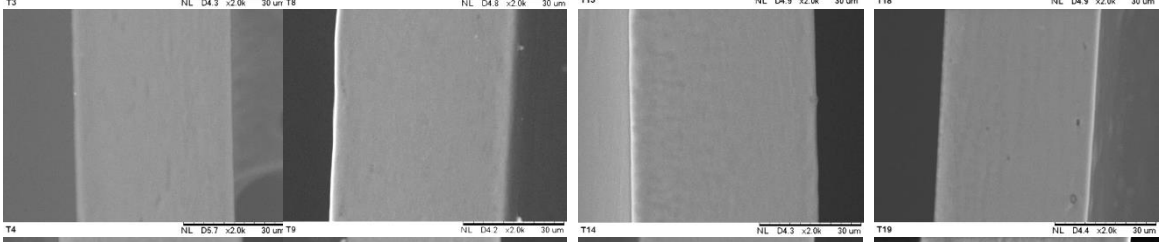
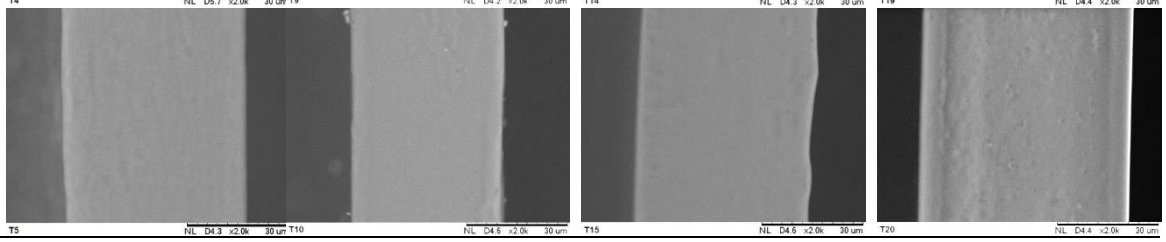
Relação AMI:GEL	**C_{ECC} (g/100g solução filmogênica)**			
	0	10	15	20
0:100				
25:75				
50:50				
75:25				
100:0				

Tabela 15 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície interna de filmes de desintegração oral em função da relação amido e gelatina (AMI:GEL) e da variação na concentração de extrato da casca de camu-camu (C_{ECC}).

Relação AMI:GEL	**C_{ECC} (g/100g solução filmogênica)** 0	10	15	20
0:100				
25:75				
50:50				
75:25				
100:0				

4.4. Caracterização dos filmes de desintegração oral com incorporação do extrato

4.4.1. pH de superfície

Na Tabela 16 estão representados os resultados de pH de superfície para os filmes de desintegração oral, cem e com a adição de extrato da casca de camu-camu.

Tabela 16 - Valores de pH de superfície para os filmes de desintegração oral a base de amido e gelatina com diferentes concentrações de extrato da casca de camu-camu.

Concentração de Amido (%)	C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)		
	10	15	20
0	$5,35 \pm 0,30^{aA}$	$5,11 \pm 0,27^{aA}$	$5,03 \pm 0,29^{aA}$
50	$5,13 \pm 0,33^{aA}$	$5,06 \pm 0,26^{aA}$	$4,64 \pm 0,38^{bAB}$
100	$5,11 \pm 0,19^{aA}$	$4,68 \pm 0,15^{bB}$	$4,45 \pm 0,46^{bB}$

Letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as concentrações de extrato para uma mesma formulação. Letras maiúsculas na mesma coluna para cada concentração de extrato indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre as macromoléculas. Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando=se o programa computacional SAS.

Com relação a variação das formulações, não foram observadas diferenças entre as concentrações de extrato para a formulação formada apenas por gelatina. Para as outras formulações analisadas, observou-se uma redução significativa dos valores, indicando maior acidez dos filmes.

As formulações analisadas apresentaram pH levemente ácido, sendo menor quanto maior a adição de extrato. Isso provavelmente é explicado pela acidez característica do fruto.

4.4.2. Antocianinas Totais

Os valores quantitativos das antocianinas totais presentes nos filmes de desintegração oral com adição de extrato da casca de camu-camu estão descritos na Tabela 17.

Tabela 17 - Quantificação das antocianinas (mg/100g de equivalente cianidina-3-glucosídeo) presentes nos filmes de desintegração oral com adição de extrato da casca de camu-camu.

C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)	Concentração de Amido (%)	Antocianinas Totais (mg/100g de equivalente cianidina-3-glucosídeo)
10	**0**	$0,81 \pm 0,08^{C}$
	50	$0,98 \pm 0,09^{B}$
	100	$1,13 \pm 0,13^{A}$
15	**0**	$1,18 \pm 0,06^{B}$
	50	$1,36 \pm 0,17^{A}$
	100	$1,52 \pm 0,13^{A}$
20	**0**	$3,04 \pm 0,19^{B}$
	50	$3,39 \pm 0,19^{B}$
	100	$3,51 \pm 0,28^{A}$

Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando-se o programa computacional SAS.

Observou-se que os filmes com maiores concentrações de amido obtiveram melhor incorporação do extrato e, consequentemente, apresentam maiores concentrações de antocianinas.

A menor quantidade de antocianinas nos filmes com maiores concentrações de gelatina pode ser explicada pois a presença de gelatina na formação de matrizes poliméricas impedi a liberação de compostos fenólicos totais, catequinas e flavonoides em água (GIMÉNEZ et al, 2013). Dessa forma, a liberação das antocianinas pelos filmes foi inferior no caso das películas que contêm gelatina.

O aumentou da incorporação de extrato nos filmes foi eficiente, não sendo observadas separações de fase, zonas de descontinuidade ou separação de fases. Além disso, o aumento da adição de extrato nos filmes resultou em uma maior quantidade de antocianinas.

4.4.3. Estabilidade

A avaliação da estabilidade dos filmes foi realizada em função das quantidades de antocianinas durante um período de armazenamento de 20 dias. Os resultados para todas as formulações podem ser observados na Tabela 18.

Podemos observar que todas as formulações apresentaram grande redução da estabilidade, com perdas significativas nas quantidades de antocianinas para o período avaliado. Isso se deve a alta sensibilidade das antocianinas ao calor e a luz.

Tabela 18 - Estabilidade das antocianinas (mg/100g de equivalente cianidina-3-glucosídeo) em função do tempo (dias) para os filmes de desintegração oral sem e com adição de extrato da casca de camu-camu.

C_{ECC} (g/100g de solução filmogênica)	Concentração de Amido (%)	Tempo (Dias)				
		1	2	5	10	20
10	0	$0,81 \pm 0,08^{A}$	$0,69 \pm 0,07^{B}$	$0,52 \pm 0,03^{C}$	$0,41 \pm 0,03^{D}$	$0,31 \pm 0,09^{E}$
	50	$0,98 \pm 0,09^{A}$	$0,75 \pm 0,05^{B}$	$0,63 \pm 0,03^{C}$	$0,47 \pm 0,05^{D}$	$0,33 \pm 0,03^{E}$
	100	$1,13 \pm 0,13^{A}$	$0,92 \pm 0,04^{B}$	$0,72 \pm 0,06^{C}$	$0,58 \pm 0,02^{D}$	$0,37 \pm 0,02^{E}$
15	0	$1,18 \pm 0,06^{A}$	$0,98 \pm 0,07^{B}$	$0,78 \pm 0,03^{C}$	$0,63 \pm 0,03^{D}$	$0,36 \pm 0,09^{E}$
	50	$1,36 \pm 0,17^{A}$	$1,05 \pm 0,10^{B}$	$0,79 \pm 0,07^{C}$	$0,68 \pm 0,07^{C}$	$0,45 \pm 0,06^{D}$
	100	$1,13 \pm 0,13^{A}$	$0,92 \pm 0,04^{B}$	$0,72 \pm 0,06^{C}$	$0,58 \pm 0,02^{D}$	$0,37 \pm 0,02^{E}$
20	0	$3,04 \pm 0,19^{A}$	$2,71 \pm 0,15^{B}$	$1,74 \pm 0,07^{C}$	$0,99 \pm 0,09^{D}$	$0,40 \pm 0,03^{E}$
	50	$3,39 \pm 0,19^{A}$	$2,83 \pm 0,12^{B}$	$1,88 \pm 0,04^{C}$	$0,72 \pm 0,05^{D}$	$0,41 \pm 0,02^{E}$
	100	$3,51 \pm 0,28^{A}$	$2,98 \pm 0,25^{B}$	$2,11 \pm 0,26^{C}$	$1,03 \pm 0,13^{D}$	$0,56 \pm 0,05^{E}$

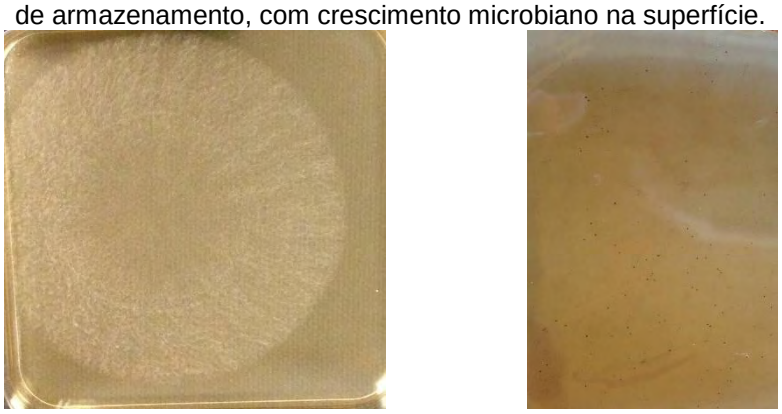
Diferença entre médias obtidas através do teste Ducan, utilizando-se o programa computacional SAS.

Durante o armazenamento observou-se um processo de degradação, onde as antocianinas sofreram alterações da sua coloração: tornaram-se gradativamente

menos intensas e com mudança da tonalidade pela formação de compostos de degradação, resultando em cores diferentes do original.

Após 20 dias de armazenamento verificou-se crescimento microbiológico na superfície dos filmes, sendo maior nos com quantidades elevadas de extrato.

Figura 17 - Filmes de desintegração oral com adição de extrato da casca de camu-camu após 30 dias de armazenamento, com crescimento microbiano na superfície.



Fonte: Própria autoria.

A estabilidade das antocianinas totais obtidas a partir da casca de jabuticaba foi avaliada por Silva et al. (2010). Os pigmentos naturais desse fruto foram associados a dois veículos estabilizantes (maltodextrina e goma arábica) em três proporções diferente, submetidos ao processo de atomização e expostos a luz a uma temperatura de 25 ± 2°C, comparando-se com amostras controle não expostas a luz, armazenadas a 10 ± 2°C. Assim como no presente estudo, os corantes apresentaram elevados teores de antocianinas e grande degradação durante o período de armazenamento. As maiores degradações nas amostras armazenadas foram observadas sob incidência de luz a 25°C, evidenciando o efeito deletério da luz e da temperatura sob esses compostos.

5. CONCLUSÃO

A extração das antocianinas foi eficiente com os dois solventes utilizados (água destilada e álcool 95%), apresentando forte coloração vermelha, resultado da diluição das antocianinas. A escolha pelo uso de água destilada para realização das extrações foi por se tratar de um solvente mais simples e com menor custo. Além disso, determinou-se o armazenamento na temperatura de -18ºC, que se mostrou mais eficiente na estabilidade das quantidades de antocianinas.

Todos os filmes produzidos apresentaram superfície continua e homogênea, com coloração evidente conforme quantidade de extrato adicionada.

O aumento da quantidade de amido nos filmes de desintegração oral provou diferenças significativas com relação as propriedades mecânicas e funcionais. Os filmes com maiores quantidades de amido apresentaram redução das propriedades mecânicas, aumento da luminosidade e opacidade, redução do ângulo de contato dos filmes e maior capacidade de incorporação e liberação das antocianinas.

A incorporação do extrato também apresentou alterações das propriedades dos filmes, como coloração característica, diminuição do tempo de desintegração e pH de superfície mais ácido. Quanto a estabilidade, verificou-se uma elevada perda das quantidades de antocianinas presentes nos filmes, devido a degradação pela temperatura e luz.

Os filmes de desintegração oral à base de gelatina e amido incorporados de extrato da casca de camu-camu são uma alternativa promissora como veículo para liberação de antocianinas na cavidade oral, pois apresentam baixo tempo de desintegração, boas propriedades mecânicas e reduzida interação entre as macromoléculas utilizadas e o extrato.

Para trabalhos futuros seria interessante estudo de outros parâmetros de armazenamento, a fim de diminuir as perdas nas quantidades de antocianinas e, dessa forma, melhorar as propriedades funcionais dos filmes de desintegração oral. Além disso, a aplicação de testes *in vivo* seria importante para confirmar a eficiência na liberação dos compostos ativos na cavidade oral.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciências Agrotecnológicas**, v. 34, n. 2, p. 414-420, 2010.

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

ABUKAWA, H. et al. The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: a review of biomaterials for scaffolds and implant coatings. **Dental Clinics of**

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

AL-DHUBIAB, B. E. et al. Formulation and evaluation of nano based drug delivery system forthe buccal delivery of acyclovir. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 878–884, 2015.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

Association of Official Analytical Chemists (1990) **Official Methods of Analysis**. 15ed. Arlington: AOAC, 1990.

ASTM. ASTM D 882 – 10 (2010). **Standart test method for tensile proprieties of thin plastic sheeting**, Filadélfia, PA: American Society for Testing and Materials.

AVACHAT, A. M.; GUJAR, K. N.; WAGH, K. V. Development and evaluation of tamarind seed xyloglucan-based mucoadhesive buccal films of rizatriptan benzoate. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 537– 542, 2013.

AZEVEDO, J. C. S. et al. Dried camu-camu (Myrciaria dubia H.B.K. McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional atributes. **Food Research International**, v. 62, p. 934–940, 2014.

BALA, R. et al**.** Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 3, n. 2, p. 67–76, 2013.

BATISTA, C. C. R. et al. Supercritical CO_2 extraction of açaí (*Euterpe oleracea*) berry oil: Global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 364–369, 2016.

BEHLING, E. B. et al. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimento e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Química do Processamento de Alimentos.** 2ed., São Paulo: Livraria Varela, 151 p. 1995.

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. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 33 (Supl. 1), p. 28-33, 2013.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F**. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 103-109, 1997.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Characterization of gelatina based films modified with transglutaminase glyoxal and formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 5, p. 717-726, 2004.

CHEN, J. et al. Involvement of abscisic acid in postharvest water-deficit stress associated with the accumulation of anthocyanins in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 99–105, 2016.

CHEN, Y. et al. Adsorption properties of macroporous adsorbent resins for separation of anthocyanins from mulberry. **Food Chemistry**, v. 194, p. 712–722, 2016.

COIMBRA, P. M. A. **Preparação e caracterização de sistemas de liberação como biomaterial.** 2005. Dissertação (Mestre em Engenharia), Escola de Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.

COSTA, I. S. M. et al. Chitosan-based mucoadhesive films containing 5-aminolevulinic acid for buccal cancer's treatment. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 140, p. 266–275, 2014.

COSTA, T.; JORGE, N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **Cientifica, Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 3, p. 195-203, 2011.

CREASY, L.L.; CREASY, M.T. Grape chemistry and the significance of resveratrol: an overview. **Pharm. Biol.**, v. 36, p. 8-13, 1998.

DAUD, A.; NIDHI, S.; BONDE, M. Development of *Zingiber officinale* in oral dissolving films: effect of polymers o in vitro, in vivo parameters and clinical efficacy. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 5, n. 3 p. 183, 2011.

DECKER, E. A. Strategies for manipulantig the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. **Trends Food Science Technology**, v. 9, n. 6, p. 241-248, 1998.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DIXIT, R.P.; PUTHLI, S.P. Oral strip technology: Overview and future potential. **Journal of Controlled Release**, v. 139, p. 94–107, 2009.
Engenharia, UFRGS. Porto Alegre, 2005.

FAKHOURI, F. M. et al. Comparative study of processing methods for starch/gelatina films. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 681-689, 2013.

FAKHOURI, F. M. et al. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007.

FAVARO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes.** 2008. 94f. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP). 2008.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ed., Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.

FOGER, F. et al. Correlation of in vitro and vivo models for the oral absorption of peptides drugs. **Amino Acids**, v.35, p.233-241, 2008.

FRACASSETTI et al. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 139, p. 578–588, 2013.

FRANKEL, E.N. et al. Commercial grape juice inhibits the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agriculture, Food and Chemistry**, v. 46, p. 834-838, 1998.

FUJITA, A. et al. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 495–500, 2013.

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

GENNADIOS, A. et al. Mechanical and barrier proprieties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, v. 61, p. 585-589, 1996.

GIMÉNEZ, B. et al. Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 264-271, 2013.

GIOVINO, C. et al. Development and characterisation of chitosan films impregnated with insulin loaded PEG-b-PLA nanoparticles (NPs): A potential approach for buccal delivery of macromolecules. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 428, p.143– 151, 2012.

GONÇALVES, A. E. S. S. et al. Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type 1 diabetic rats. **Food Research International**, v. 64, p. 1–8, 2014.

GOUVÊA, A. C. M. S. et al. Identification and quantification of anthocyanins in fruits from *Neomitranthes obscura* (DC.) N. Silveira an endemic specie from Brazil by comparison of chromatographic methodologies. **Food Chemistry**, v. 185, p. 277–283, 2015.

GOVINDASAMY, P.; KESAVAN, B. R.; NARASIMHA, J. K. Formulation of unidirectional release buccal patches of carbamazepine and study of permeation through porcine buccal mucosa. **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 12, p. 995-1002, 2013.

GURAK, P. D. et al. Jaboticaba Pomace Powder Obtained as a Co-product of Juice Extraction: A Comparative Study of Powder Obtained from Peel and Whole Fruit. **Food Research International**, v. 62, p. 786–792, 2014.

HARBORNE, J. B. **General procedures and measurement of total phenolics.** In: Methods in plant biochemistry: Volume 1 - Plant phenolics. London: Academic Press; p. 1-28, 1989.

HARBORNE, J. B.; BAXTER, H.; MOSS, G. P. **Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants.** 2ed. London: Taylor & Francis; 1999.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa.** 5ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2001.

HEINEMANN, R. J. B.; CARVALHO, R. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Orally disintegrating film (ODF) for delivery of probiotics in the oral cavity — Development of a novel product for oral health. Innovative **Food Science and Emerging Technologies**, v. 19, p. 227–232, 2013.

HERTOG, M. G. L.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Contend of potentially anticarcinogenic flavonoids in28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in theNetherlands. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2379-2883,1992.

HINNEBURG, I.; DAMIEN, H. J.; RAIMO H. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 122-129, 2006.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailabilty. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 9-10, p. 937-942, 1999.

INOUE, T. et al. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **Journal of Cardiology**, v. 52, n. 2, p. 127–132, 2008.

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA. **Cultivo do Camu-Camu.** Disponível em: <https://www.inpa.gov.br/cpca/areas/camu-camu.html>. Acesso em: 21/dez./2013.

JADHAV S. J. et al. **Lipid oxidation in biological and foods systems.** In: Food antioxidants: technological, toxicological and healthperspectives. New York: Marcel Dekker, p. 5-62, 1995.

JANG, D.; BAE, S. K.; OH, E. Coated dextrin microcapsules of amlodipine incorporable into orally disintegrating tablets for geriatric patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 68, p. 1117–1124, 2014.

KAREN, H. D. et al. A review on oral strip. **American Journal of Pharmtech Research**, v. 2, n. 3, 2012.

KASSEM, A. A. et al. Development of mucoadhesive microbeads using thiolated sodium alginate for intrapocket delivery of resveratrol. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 487, n. 1-2, p. 305-313, 2015.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 50, n. 2, p. 213-218, 1999.

KUBOW, S. et al. Biotransformation of anthocyanins from two purple-fleshed sweet potato accessions in a dynamic gastrointestinal system. **Food Chemistry**, v. 192, p. 171–177, 2016.

KUMAR, G. P. et al. Polyvinylpyrrolidone oral films of enrofloxacin: Film characterization and drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 471, p. 146–152, 2014.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LEÃO, A. C. **Gerenciamento de cores para imagens digitais.** 2005. 135 f. Dissertação (Mestrado em Artes Visuais) - Curso de Mestrado em Artes Visuais, Escola de Belas Artes, Belo Horizonte, 2005.

LEE, J. H. et al. Identification, characterisation, and quantification of phenolic compounds in the antioxidant activity-containing fraction from the seeds of Korean perilla (*Perilla frutescens*) cultivars. **Food Chemistry**. v. 136, n. 2, p. 843-852, 2013.

LIMA, A. et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LIU, T. et al. Improved peach peel color development by fruit bagging. Enhancedexpression of anthocyanin biosynthetic and regulatory genes usingwhite non-woven polypropylene as replacement for yellow paper. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 142–148, 2015.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MAEDA, A. et al. Evaluating tamsulosin hydrochloride-released microparticles prepared using single-step matrix coating. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 84–90, 2011.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.

MAZZARINO, L et al. Elaboration of chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications. **Journal of Colloid and Interface Science,** v. 370, p. 58–66, 2012.

MEHER, J. G. et al. Development and characterization of cellulose–polymethacrylate mucoadhesive film for buccal delivery of carvedilol. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 172– 180, 2013.

MERCALI, G. D.; GURAK, P. D.; SCHMITZ, F.; MARCZAK, L. D. F. Evaluation of non-thermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice. **Food Chemistry**, v. 171, p. 200–205, 2015.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liqui chromatography: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 577-599, 2000.

MOO-HUCHIN, V. M. et al. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic contente in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 166, p. 17–22, 2015.

MORAES-DE-SOUZA, R. A. et al. Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 6, p. 41-47, 2008.

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

NEVES, L. C. et al. Determining the harvest time of camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.)McVaugh] using measured pre-harvest attributes. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 15–23, 2015.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela brasileira de composição de alimentos.** Campinas: NEPA/UNICAMP, 2004. 42p.

OH, S. et al. Bioceramics for tissue engineering applications – a review. **North America**, v. 50, p. 205-216, 2006.

OLIVEIRA, D. S. **Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos.** 2014. 138f. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG). 2014.

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

PERAZZO, K. K. N. C. L. Filme biodegradável à base de fécula de mandioca incorporado de compostos naturais para a conservação de manteiga: desenvolvimento, caracterização e avaliação da ação antioxidante. 2011. 192f. Dissertação (Mestre em Ciências de Alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

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

PINEDO, A. R. **Manutenção dos atributos de qualidade do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) desidratado, durante o armazenamento.** 2002. 96f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP). 2002.

PINEDO, R. A. **Estudo da estabilização da polpa de Camu-Camu (Myrciaria dubia (H.B.K.) Mc Vaugh) congelada visando a manutenção de ácido ascórbico e de antocianinas.** 2007. 180f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas (SP). 2007.

PRABHU, P. et al. Formulation and evaluation of fast dissolving films of levocitirizine di hydrochloride. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 1, n. 1, p. 99-104, 2011.

RAMARATHNAM N. et al. The contribution of plant food antioxidants to humans health. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.3, p.75-82, 1995.

ROSSO, V. V. et al. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 291–299, 2008.

RUSSO, E. et al. A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. xxx, p. 1-13, 2015.

SAAVEDRA, T. A . **Constituintes polifenólicos e propriedades antioxidantes da polpa do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis*).** 2008. 125 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas (SP). 2008.

SALCEDO, C. L.; MISHIDA, B. A. L.; NAZARENO, M. A. Walnuts and almonds as model systems of foods constituted by oxidisable, pro-oxidant and antioxidant factors. **Food Research International**, v. 43, n. 4, p. 1187-1197, 2010.

SAMPAIO, P. G. **Otimização da extração, esterilização e identificação de antocianinas obtidas a partir de frutas.** 2008. Dissertação (Mestre em Química Analítica), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

SCHANDA, J. **Colorimetry: Understanding the CIE system.** Wiley, Hoboken, p. 87, 2007.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açaís de *Euterpe edulis Martius* e *Euterpe oleracea Martius* submetidos a**

tratamento para sua conservação. 2008. 52f. Trabalho de Conclusão (Curso de Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Food Science and Nutrition**, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHAKYA, P. et al. Palatal mucosa as a route for systemic drug delivery: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 151, p. 2–9, 2011.

SHARMA, R. J. et al. Stability of anthocyanins- and anthocyanidins-enriched extracts, and formulations of fruit pulp of *Eugenia jambolana* (‘jamun’). **Food Chemistry**, v. 190, p. 808–817, 2016.

SILVA, B. M. A. et al. Mucoadhesive oral films: The potential for unmet needs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 494, p. 537–551, 2015.

SILVA, D. J.; QUEIRÓS, A. C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**, 3.ed Viçosa: UFV, p.235, 2002.

SILVA, F. C. et al. Antigenotoxic effect of acute, subacute and chronic treatments with Amazonian camu–camu (*Myrciaria dubia*) juice on mice blood cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 7, p. 2275–2281, 2012.

SILVA, M. C. et al. Use of the jabuticaba (Myrciaria cauliflora) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **Food Science and Technology**, v. 55, p. 203-209, 2014.

SILVA, P. P. M. **Conservação de polpa de juçara (Euterpe edulis) submetidas à radiação gama, pasteurização, liofilização e atomização.** 2013. 259f. Tese (Doutorado em Ciências), Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

SILVA, W. A. et al. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. **Ciências Agrotecnológicas**, v. 31, n. 1, p. 154-163, 2007.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

SOGIAS, I. A.; WILLIAMS, A. C.; KHUTORYANSKIY, V. V. Chitosan-based mucoadhesive tablets for oral delivery of ibuprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p. 602– 610, 2012.

SOUSA, M. S. B. et al. Nutritional characterization and antioxidant compounds in pulp residues of tropical fruits. **Ciências Agrotecnológicas**, v.35, n.3, p.554-559, 2011.

SQUIER, C. A.; KREMER, M. J. Biology of oral mucosa and esophagus. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, v. 29, p. 7–15, 2001.

STAFUSSA, A. P. et al. Biosorption of anthocyanins from grape pomace extracts by waste yeast: kinetic and isotherm studies. **Journal of Food Engineering**, v. 169, p. 53–60, 2016.

SUDHAKAR, Y.; KUOTSU, K.; BANDYOPADHYAY, A. K. Buccal bioadhesive drug delivery – a promising option for orally less efficient drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 15–40, 2006.

SUN, S. et al. Response of phenolic compounds in 'Golden Delicious' and 'RedDelicious' apples peel to fruit bagging and subsequent sunlightre-exposure. **Scientia Horticulturae**, v. 168, p. 161–167, 2014.

TAKEUCHI, H. et al. Design of rapidly disintegrating drug delivery films for oral doses with hydoxypropyl methylcellulose. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 23, n. 5, p. 471–475, 2013.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de ph: usar papel ou solução? **Química Nova***,* v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, V.43, p.907–914, 2010.

VALDUGA, E. et al. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca*). **Ciências agrotécnicas**, v. 32, n. 5, p. 1568-1574, 2008.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. **Journal of animal Science**, v. 26, n. 1, p. 119-128, 1967.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. **Methods for dietary fiber, neutral detergente fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition.** In: Symposium Carbohydrate metodology, metabolismo and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p.3583-3797, 1991.

VICENTINI, N. M. et al. Prediction of cassava starch edible film proprieties by chenometric analysis of infrared spectra. **Spectroscopy Letters**, v. 38, n. 6, p. 749-767, 2005.

XU, J. et al Genipin-crosslinked catechol-chitosan mucoadhesive hydrogels for buccal drug delivery. **Biomaterials**, v. 37, p. 395-404, 2015.

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

YUYAMA, K.; MENDES, N. B.; VALENTE, J. P. Longevidade de sementes de camu-camu submetidas a diferentes ambientes e formas de conservação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 601-607, 2011.

YUYAMA, L. K. O. et al. Teores de elementos minerais de algumas populações de camu-camu. **Acta Amazônica**, v. 33, n. 1, p. 169-174, 2003.

ZAMUDIO, L. H. B. **Caracterização de vitamina C em frutos de camu-camu *Myrciaria dúbia* HBK em diferentes estágios de maturação do Banco Ativo de Germoplasma de EMBRAPA.** 2007. 104f. Monografia (Especialização), Departamento de Nutrição Humana, Universidade de Brasília, Brasília. 2007.

ZANATTA, C. F. **Determinação da composição de carotenoides e antocianinas de Camu-Camu (Myrciaria dúbia).** 2004. 144p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas (SP). 2004.

ZARDO, D. M. et al. Intensidade de pigmentação vermelha em maçãs e sua relação com os teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidativa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p.148-154, 2009.

ZHANG, D.. et al. Carboxyl-modified poly(vinyl alcohol)-crosslinked chitosan hydrogelfilms for potential wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 125, p. 189–199, 2015.