UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MARCELA PEROZZI TEDESCO

**Desenvolvimento e caracterização de matrizes poliméricas como veículo de
componentes ativos do extrato etanólico da película de amendoim**

Pirassununga

2015

MARCELA PEROZZI TEDESCO

**Desenvolvimento e caracterização de matrizes poliméricas como veículo de
componentes ativos do extrato etanólico da película de amendoim**

(Versão corrigida)

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

Área de concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Aparecida de
Carvalho

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

T256d Tedesco, Marcela Perozzi
Desenvolvimento e caracterização de matrizes
poliméricas como veículo de componentes ativos do
extrato etanólico da película de amendoim / Marcela
Perozzi Tedesco. -- Pirassununga, 2015.
82f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Aparecida de
Carvalho.

1. Gelatina 2. Hidroxipropilmetilcelulose
3. Compostos fenólicos 4. Filmes de desintegração oral.
I. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Professora Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho, por todos ensinamentos, paciência e atenção.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financianeto a este projeto (Proc. 2013/08209-6).

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Agradeço aos meus pais, Silvia e Nilton, por sempre apoiarem minha educação.

Ao meu noivo, Fernando, pela paciência, compreensão e apoio ao longo desse período.

Aos meus companheiros de trabalho, em especial, Carla, Vitor, Renata, Monique, Julio, Josi e Camila.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia de Alimentos pela colaboração.

Enfim, obrigada a todos que participaram desse trabalho!

Muito obrigada!

RESUMO

TEDESCO, M.P. **Desenvolvimento e caracterização de matrizes poliméricas como veículo de componentes ativos do extrato etanólico da película de amendoim**. 2015. 82f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

A película de amendoim é um resíduo da indústria de alimentos. Esse resíduo é rico em compostos fenólicos como resveratrol e procianidinas e apresenta elevada atividade antioxidante e atividade farmacológica. Apesar de suas atividades farmacológicas, compostos fenólicos apresentam baixa biodisponibilidade devido à glucuronidação catalisada pelas enzimas UDP-glucuronosyltransferases (UGTs), que acontece na primeira passagem no intestino e/ou fígado, dificultando a utilização dos compostos fenólicos como agentes terapêuticos. Filmes de desintegração oral permitem que o princípio ativo seja absorvido no epitélio bucal diretamente pela circulação sistêmica podendo melhorar a biodisponibilidade desses compostos naturais. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi desenvolver um filme de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) incorporado com extrato de película de amendoim como um carreador de compostos bioativos. O extrato de película de amendoim foi produzido utilizando-se etanol (70%) como solvente (razão sólidos/solvente de 1:20) à temperatura ambiente sob agitação mecânica (10 minutos), sendo realizada três extrações consecutivas. O extrato foi liofilizado para ser caracterizado em relação à atividade antioxidante, fenólicos totais e aflatoxinas. Os filmes de desintegração oral com diferentes concentrações de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) foram produzidos por *casting* (2g de macromoléculas/100 g de solução filmogênica e 0,4g de sorbitol/100g de solução filmogênica). O extrato de película de

amendoim foi incorporado líquido e concentrado nas concentrações de 10, 20 e 30g/100g de solução filmogênica. Os filmes foram caracterizados em relação às propriedades mecânicas, ângulo de contato, tempo de desintegração, mucoadesividade, pH de superfície, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho. O extrato (liofilizado) apresentou concentração fenólica igual a 718,57 mg de equivalente em ácido gálico/g e EC_{50} igual a $146,07 \pm 8,37 \mu\text{g/mL}$ e 0,37 ng B₁/g. Os filmes sem adição de extrato, independente da formulação, apresentaram homogeneidade e, de um modo geral, os filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose apresentaram melhores propriedades mecânicas, hidrofiliabilidade superior, tempo de desintegração reduzido e mucoadesividade superior em relação aos filmes com gelatina em sua composição. Comportamento similar foi observado para os filmes de desintegração oral com adição de extrato. Entretanto, filmes com adição de extrato e altas concentrações de gelatina (100:0, 75:25) apresentaram formação de complexos insolúveis entre taninos e proteínas, aparentes visualmente. Em função dos resultados obtidos, os filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose (0:100) e com 20% de extrato de película de amendoim apresentaram propriedades mecânicas superiores (tensão na ruptura = 26,63 MPa, alongação = 4,97% e módulo elástico = 1284,82 MPa) e menor tempo de desintegração (17,87 segundos) em relação às demais formulações, sendo esta considerada a formulação otimizada como potencial aplicação para filmes de desintegração oral.

Palavras Chave: Gelatina, Hidroxipropilmetilcelulose, Compostos fenólicos, Filmes de desintegração oral

ABSTRACT

TEDESCO, M. P. **Development and characterization of polymer matrices as a vehicle for active components of the ethanol extract of peanut skin.** 2015. 82f. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Peanut skin is a food industry byproduct which is rich in phenolic compounds, such as resveratrol and procyanidins. Moreover, it has high antioxidant and pharmacological properties. Despite these activities, phenolic compounds have low oral bioavailability due to glucuronidation catalyzed by the enzyme UDP-glucuronosyltransferases (UGTs). This catalyze occurs in the first-pass metabolism (gut and/or liver) difficulting the use of phenolic compounds as therapeutic agents. For oral disintegrating films the active ingredient is directly absorbed into systemic circulation by oral epithelium improving the bioavailability of these natural compounds. The aim of this study was to develop oral disintegrating film composed of gelatin and hydroxypropyl methylcellulose (GEL: HPMC) added of peanut skin extract as a vehicle for bioactive compounds. The peanut skin extract was produced using ethanol (70%) as solvent (solid/solvent ratio 1:20) at room temperature under mechanical stirring (10 minutes) with three consecutive extractions. The extract was lyophilized to be characterized by antioxidant activity, total phenolic and aflatoxins. The oral disintegrating films were produced by casting (2g macromolecules/100 g filmogenic solution and 0.4g of sorbitol/100g of filmogenic solution) with different concentrations of gelatin and hydroxypropylmethylcellulose (GEL: HPMC). The peanut skin extract was added to films liquid and concentrated at concentrations of 10, 20 and 30g / 100g of filmogenic solution. The films were characterized by mechanical properties, contact angle, disintegrating time, mucoadesivity, surface pH, scanning electron microscopy and infrared spectroscopy. The

extract (lyophilized) showed phenolic concentration of 718.57 mg of gallic acid equivalent/g, EC_{50} of $146.07 \pm 8.37 \mu\text{g/mL}$ and 0.37 ng B₁/g. Films without extract, regardless of formulation were homogeneous. In general, hydroxypropyl methylcellulose films exhibited better mechanical properties, higher hydrophilicity and mucoadesivity and reduced disintegration time compared to films with gelatin in its composition. Similar behavior was observed for oral disintegrating films with addition of extract. Films formulation with high gelatin content (100: 0, 75:25) added of extract showed insoluble complexes formed between proteins and tannins. Hydroxypropyl methylcellulose films (0: 100) added of peanut skin extract (20%) showed superior mechanical properties (tensile strength = 26.63 MPa, elongation = 4.97% and elastic modulus = 1284.82 MPa) and lower disintegration time (17.87 seconds) compared with other formulations, which is considered the optimized formulation as a potential application for oral disintegrating films.

Keywords: Gelatin, hydroxypropyl methylcellulose, Phenolic compounds, Oral disintegrating films.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Informação nutricional do amendoim cru.	17
Tabela 2. Principais compostos fenólicos presentes na película do amendoim.	20
Tabela 3. Estudos farmacológicos envolvendo compostos bioativos do extrato da película de amendoim.	25
Tabela 4. Classificação dos filmes de desintegração oral (FDO) e suas propriedades.	31
Tabela 5. Condições de extrações testadas para a produção do extrato de película de amendoim.	34
Tabela 6. Condições cromatográficas para a determinação de compostos fenólicos presentes em extratos de pele de amendoim.	39
Tabela 7. Formulação dos filmes de desintegração oral a base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).	40
Tabela 8. Composição centesimal da película de amendoim.	45
Tabela 9. Concentração de fenólicos totais, atividade antioxidante (EC_{50}) e aflatoxinas no extrato liofilizado de pele de amendoim obtido a partir de diferentes condições de extração.	46
Tabela 10. Concentrações de catequina e procianidina B ₂ do extrato de película de amendoim obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência.	49
Tabela 11. Aspecto visual dos filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) com diferentes concentrações de extrato etanólico de película de amendoim (C_{EPA} , g de extrato líquido/100 g de solução filmogênica)	51
Tabela 12. Propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (EPA).	53
Tabela 13. Ângulo de contato dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (EPA).	55
Tabela 14. Tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).	58

Tabela 15. Mucoadesividade dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (EPA).	60
Tabela 16. pH de superfície dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}).	61
Tabela 17. Luminosidade (*L), cromas (a* e *b) e opacidade dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}).	62

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura da mucosa bucal	30
Figura 2. Estágios de contato e consolidação da mucoadesão.	32
Figura 3. Película de amendoim: (a) Fração descartada (não retida na peneira de <i>mesh</i> 10). 35	
Figura 4. Exemplo de sistema utilizado para avaliação do tempo de desintegração: (a) sistema utilizado para determinação do tempo de desintegração (<i>slide frame</i> , placa de petri e contador de colônias para facilitar a visualização do tempo no qual ocorre a desintegração); (b) orifício formado no filme.....	42
Figura 5. Sistema utilizado para o teste de mucoadesividade utilizando texturômetro.	43
Figura 6. Exemplo do cromatograma do extrato de película de amendoim obtido por cromatografia líquida de alta eficiência.	48
Figura 7. Filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) com diferentes concentrações de extrato etanólico de película de amendoim (C_{EPA}): (A) $C_{EPA} = 0/100$ g de solução filmogênica, (B) $C_{EPA} = 10/100$ g de solução filmogênica, (C) $C_{EPA} = 20/100$ g de solução filmogênica, (D) $C_{EPA} = 30/100$ g de solução filmogênica.....	50
Figura 8. Imagens dos filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim ($C_{EPA} =$ g/100g de solução filmogênica) obtidas utilizando-se microscópio (SZX7; Olympus, Tóquio, Japão) com uma câmera acoplada (U-TVO.5XC-3, Japão) com aumento de 0,8 vezes.....	52
Figura 9. Estrutura química da (a) hidroxipropilmetilcelulose, onde $R=H$, $-CH_3$ ou	56
Figura 10. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC): (a) superfície 100:0, (b) superfície interna de filmes 100:0, (c) superfície 75:25, (d) superfície interna 75:25.	63
Figura 11. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral com relação gelatina: hidroxipropilmetilcelulose GEL:HPMC 50:50 com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}) expressas em g de extrato/ 100 g de solução filmogênica.: (a) superfície $C_{EPA}=0$; (b) superfície interna	

C _{EPA} =0, (c) superfície C _{EPA} = 10 (d) superfície interna C _{EPA} =10, (e) superfície C _{EPA} = 20, (f) superfície interna C _{EPA} = 20, (g) superfície C _{EPA} = 30; (h) superfície interna C _{EPA} = 30. 64	
Figura 12. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral com relação gelatina: hidroxipropilmetilcelulose GEL:HPMC 25:75 com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}) expresso em g de extrato/100 g de solução filmogênica.: (a) superfície C _{EPA} =0; (b) superfície interna C _{EPA} =0, (c) superfície C _{EPA} = 10 (d) superfície interna C _{EPA} =10, (e) superfície C _{EPA} = 20, (f) superfície interna C _{EPA} = 20, (g) superfície C _{EPA} = 30; (h) superfície interna C _{EPA} = 30. 65	
Figura 13. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral com relação gelatina: hidroxipropilmetilcelulose GEL:HPMC 0:100 com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}) expresso em g de extrato/ 100 g de solução filmogênica.: (a) superfície C _{EPA} =0; (b) superfície interna C _{EPA} =0, (c) superfície C _{EPA} = 20, (d) superfície interna C _{EPA} = 20, (e) superfície C _{EPA} = 30; (f) superfície interna C _{EPA} = 30. 66	
Figura 14. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) sem adição de extrato de película de amendoim..... 68	
Figura 15. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral com relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) de 50:50 em diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}). 69	
Figura 16. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral com relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) de 25:75 em diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}). 70	
Figura 17. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral com relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) de 0:100 em diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C _{EPA}). 71	

Sumário

1.	Introdução	15
2.	Objetivos	16
3.	Revisão bibliográfica	17
3.1	Amendoim.....	17
3.2	Película de amendoim.....	18
3.2.1	Compostos bioativos da película de amendoim	19
3.2.2	Atividade farmacológica	24
3.2.3	Outros estudos com película de amendoim.....	27
3.3	Filmes de desintegração oral.....	28
3.3.1	Formulação e produção	29
3.3.2	Liberação do princípio ativo em filmes de desintegração oral.....	30
3.3.3	Filmes de desintegração oral como uma nova forma de nutracêuticos	32
4.	Materiais e métodos.....	33
4.1	Materiais	33
4.2	Métodos	33
4.2.1	Obtenção de extrato de película de amendoim.....	33
4.2.2	Caracterização da película de amendoim	36
4.2.3	Caracterização do extrato da película de amendoim.....	36
4.2.3.1	Fenólicos totais.....	36
4.2.3.2	Atividade antioxidante (Sequestro do radical livre DPPH').	37
4.2.3.3	Determinação da concentração de aflatoxinas	37
4.2.3.4	Determinação de compostos fenólicos do extrato de película de amendoim por cromatografia líquida de alta precisão com Detector Diode Array (DAD).....	38
4.2.4	Produção dos filmes de desintegração oral	39
4.2.5	Caracterização dos filmes de desintegração oral	41

4.2.5.1	Aspecto visual	41
4.2.5.2	Propriedades mecânicas.....	41
4.2.5.3	Ângulo de contato	41
4.2.5.4	Tempo de desintegração	42
4.2.5.5	Mucoadesividade.....	42
4.2.5.6	Determinação do pH de superfície	43
4.2.5.7	Cor e Opacidade	44
4.2.5.8	Morfologia	44
4.3	Análise Estatística	45
5.	Resultados e discussões	45
5.1	Caracterização da película de amendoim	45
5.2	Caracterização do extrato da película de amendoim	46
5.3	Caracterização dos filmes de desintegração oral	49
5.3.1	Aspecto visual.....	49
5.3.2	Propriedades Mecânicas.....	53
5.3.3	Ângulo de contato.....	55
5.3.4	Tempo de Desintegração.....	57
5.3.5	Mucoadesividade	59
5.3.6	pH de superfície	60
5.3.7	Cor e Opacidade	61
5.3.8	Morfologia.....	62
5.3.9	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	67
6.	Conclusões	72

1. Introdução

Grandes mudanças ocorreram na dieta e estilo de vida após a revolução industrial e idade moderna causando um descompasso com a fisiologia humana e aumentando o risco de doenças cardíacas, obesidade, hipertensão, diabetes tipo 2, câncer de células epiteliais, doenças autoimunes e osteoporose, por exemplo (Carrera-Bastos *et al.*, 2011).

Nesse contexto se fortaleceu a indústria dos nutracêuticos. Os nutracêuticos são substâncias encontradas nos alimentos e ervas que não são tecnicamente considerados nutrientes, mas podem ser usados no tratamento e na prevenção de doenças, reduzindo ou eliminando a necessidade de medicamentos convencionais (Singh *et al.*, 2012).

Produtos naturais são capazes de interagir com muitos alvos específicos dentro das células e durante muitos anos têm sido fonte ou inspiração para a maioria das drogas aprovadas pela FDA (*Food and Drug Administration*) no tratamento de doenças infecciosas e oncologia, por exemplo (Mishra & Tiwari, 2011).

Os compostos fenólicos, tais como os flavonóides, estilbenos, cumarinas e quinonas estão amplamente distribuídos nos produtos naturais, no entanto tais agentes administrados por via oral geralmente resultam na baixa biodisponibilidade em função da glucuronidação mediada pela UDP-glucuronosiltransferases (UGTs) que é uma importante via metabólica que facilita a eliminação de numerosos endobióticos e xenobióticos (Wu *et al.*, 2011)

Os filmes de desintegração oral incorporados de extratos naturais podem ser uma alternativa para a administração de compostos bioativos, já que sua absorção bucal permite que o princípio ativo entre direto na circulação sistêmica.

A película de amendoim é um resíduo das indústrias de alimentos que usam o amendoim como matéria prima. A película é rica em compostos fenólicos como resveratrol e procianidinas e apresenta elevada atividade antioxidante *in vitro* (YU *et al.*, 2005) e algumas

propriedades farmacológicas demonstradas *in vitro* e *in vivo*, dentre as quais podem ser citadas: atividade antialérgica (Tomochika *et al.*, 2011, White *et al.*, 2013), clareamento da pele (Galgut & Ali, 2011, Tatsuno *et al.*, 2012), atividade anti-inflamatória (Tatsuno *et al.*, 2012) e propriedades hipolipemiantes (Bansode *et al.*, 2012; Tamura *et al.*, 2012).

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo geral desenvolver e caracterizar filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose incorporados com extrato de película de amendoim como um veículo de compostos bioativos.

Os objetivos específicos foram:

1. Otimização das condições de extração de compostos fenólicos da película de amendoim, de modo a reduzir o teor de aflatoxinas presentes no extrato.
2. Avaliação do efeito da incorporação do extrato de película de amendoim no aspecto visual dos filmes e nas propriedades filme formadoras.
3. Caracterização dos filmes de desintegração oral produzidos em relação às propriedades mecânicas, ângulo de contato, tempo de desintegração, mucoadesividade, pH de superfície, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho.

3. Revisão bibliográfica

3.1 Amendoim

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma oleaginosa de alto valor nutricional (Tabela 1). O amendoim tem sido reconhecido como um alimento funcional devido ao seu benefícios nutricionais e seu óleo que apresenta mistura equilibrada de ácidos graxos e perfil antioxidante que oferecem proteção contra substâncias nocivas, especialmente radicais livres (Akhtar *et al.*, 2014).

Tabela 1. Informação nutricional do amendoim cru.

Principais componentes	Valor/100g
Água(g)	6,50
Proteína (g)	25,80
Lipídeos totais (g)	49, 24
Carboidratos (por diferença) (g)	16,13
Fibras totais (g)	8,5
Açúcares totais (g)	4,72
Energia	Valor/100g
Calorias (kcal)	567
Minerais	Valor/100g
Cálcio (mg)	92
Ferro (mg)	4,58
Magnésio (mg)	168
Fósforo (mg)	376
Potássio (mg)	705
Sódio (mg)	18
Zinco (mg)	3,27
Vitaminas	Valor/100g
Tiamina (mg)	0,640
Riboflavina (mg)	0,135
Niacina (mg)	12,066
Vitamina B-6 (mg)	0,348
Folato, DFE (µg)	240
Vitamina E (alfa-tocoferol) (mg)	8,33
Lipídeos	Valor/100g
Ácidos graxos, saturados totais (g)	6,279
Ácidos graxos, monoinsaturados totais (g)	24,426
Ácidos graxos, poliinsaturados totais (g)	15,558

Fonte: USDA, 2015.

O amendoim pode ser classificado em quatro grandes grupos comerciais: runner, spanish, virginia e valência de acordo com suas diferenças em tamanho, sabor e teor de óleo, sendo que os tipos runner e virginia são usados principalmente para a produção de *snacks* e

confeitos, enquanto o spanish é usado para a produção de óleo de amendoim e o tipo valência, apesar de ser o menos cultivado é vendido para consumo na forma de *snacks* (Chukwumah *et al.*, 2012).

3.2 Película de amendoim

O amendoim está entre os vegetais com alta concentração de compostos fenólicos (Chukwumah *et al.*, 2012). Esses compostos estão em grande concentração nas camadas externas do vegetal como pele e casca que protegem sua parte interna, o cotilédone (Francisco & Resurreccion, 2009a).

Anteriormente à utilização do amendoim como ingrediente na indústria de alimentos, a película que cobre o grão deve ser removida devido ao seu sabor adstringente (Bansode *et al.*, 2012). Essa remoção é feita pelo blanchamento, processo no qual o grão passa por uma diferença de temperatura (corrente de ar quente e ar frio) que faz com que o grão sofra expansão e contração provocando desprendimento da película do endosperma (grão), que então é removida por abrasão (Bergamaschi, 2010).

No período entre 2013/2014, a produção mundial de amendoim foi de 39.819.000 toneladas (USDA, 2014). De acordo com Sobolev & Cole (2003) a porcentagem em massa da película é de 2,6% da massa total do amendoim. Portanto, nesse período foram gerados aproximadamente 1.035.300 toneladas de película de amendoim. O valor comercial da película de amendoim é muito reduzido, desta forma, a mesma é geralmente descartada ou adicionada em pequenas proporções em ração para gado (Sobolev & Cole, 2003).

A película de amendoim apresenta em sua composição 18,64% de proteínas, 21,16% de fibras e 19,67% de gordura (Constanza *et al.*, 2012), sendo interessante sua utilização na alimentação animal como fonte de proteína em função do seu custo reduzido. Entretanto, a película de amendoim só pode ser acrescentada à ração animal em baixas concentrações

devido elevada concentração de taninos, que podem reagir com as proteínas formando complexos tanino-proteína não digeríveis, reduzindo a disponibilidade proteica (West *et al.*, 1993). Assim, elevadas concentrações de película de amendoim na ração podem causar deficiência proteica nos animais (Hill, 2002).

A película de amendoim é muito rica em compostos fenólicos (YU *et al.*, 2005; YU *et al.*, 2006; Francisco & Resurreccion, 2009a). Desta forma, alternativas para a utilização da película de amendoim tem despertado interesse no meio científico, visando um maior aproveitamento deste resíduo da indústria de alimentos.

Dentre as alternativas para a utilização da película de amendoim, a produção de extratos tem sido explorada. O extrato da película de amendoim pode ser usado em alimentos como ingrediente funcional para substituir os conservantes sintéticos (Yu *et al.*, 2005), uma vez que apresenta atividade antimicrobiana (Yu *et al.*, 2010) e alta atividade antioxidante (Yu *et al.*, 2005; Yu *et al.* 2006; Francisco & Resurreccion, 2009). Outra aplicação seria usá-lo como suplemento alimentar (Yu *et al.*, 2005), visto que recentemente estudos *in vivo* correlacionaram a administração de extrato de película de amendoim à propriedades farmacológicas como efeito hipolipemiante (Bansode *et al.*, 2012; Tamura *et al.*, 2012, Bansode *et al.*, 2014), por exemplo.

3.2.1 Compostos bioativos da película de amendoim

Estudos relatam a presença de vários compostos fenólicos na película de amendoim, na Tabela 2 podem-se observar os principais compostos provenientes de alguns tipos comerciais de amendoim.

Tabela 2. Principais compostos fenólicos presentes na película do amendoim.

Composto	Estrutura	Solvente extração/ Tipo comercial	Concentração (µg/g película seca)	Referência
(+)- Catequina		Etanol 70% - Runner Etanol 70% - Virginia Etanol 70% - Spanish	74,35 ± 13,14 535,03 ± 41,72 448,30 ± 36,47	Francisco & Resurreccion (2009b)
(-)- Epicatequina		Etanol 70% - Runner Etanol 70% - Virginia Etanol 70% - Spanish	60,06 ± 11,44 144,75 ± 1,42 238,55 ± 9,20	Francisco & Resurreccion (2009b)
(-) -Epigallocatequina		Etanol 70% - Runner Etanol 70% - Virginia Etanol 70% - Spanish	440,05 ± 16,70 1275,92 ± 77,10 1274,72 ± 67,50	Francisco & Resurreccion (2009b)
Procianidina A1		Água – Tipo comercial não especificado	NQ	Tatsuno <i>et al.</i> (2012)
Procianidina B2		Etanol 70% - Runner Etanol 70% - Virginia Etanol 70% - Spanish	20,67 ± 5,63 17,69 ± 1,61 107,00 ± 18,99	Francisco & Resurreccion (2009b)
Quercitina		Etanol 70% - Runner Etanol 70% - Virginia Etanol 70% - Spanish	20,14 ± 1,49 22,88 ± 2,92 27,99 ± 2,10	Francisco & Resurreccion (2009b)
Resveratrol		Etanol 70% - Runner Etanol 70% - Virginia Etanol 70% - Spanish	4,30 ± 0,10 3,66 ± 0,44 15,04 ± 1,57	Francisco & Resurreccion (2009b)

Legenda: NQ: Não quantificado

De acordo com Chukwumah *et al.* (2009), a diferença na coloração vermelha da película dos diferentes tipos comerciais de amendoim está fortemente relacionada à concentração de compostos fenólicos. Vale ressaltar, que embora os tipos comerciais apresentem diferenças em relação aos compostos fenólicos, em muitos estudos o grupo comercial do amendoim não é especificado.

Além das proantocianidinas (YU *et al.*, 2006), de acordo com YU *et al.* (2005) o extrato da película de amendoim apresenta diversos compostos fenólicos como ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido caféico, ácido cumárico e ácido ferúlico); estilbenos (resveratrol) e flavanóides (epigallocatequina, epicatequina, catequina galato, epicatequina galato).

As procianidinas são os compostos mais abundantes na película de amendoim e estão divididas em dois grupos: procianidinas monoméricas e oligoméricas. As procianidinas oligoméricas também são chamadas proantocianidinas (Yu *et al.*, 2006).

As procianidinas monoméricas são monômeros polihidroxiflavan-3-ols normalmente denominadas catequinas, nas quais podem ser citadas como exemplos catequina, epicatequina, galocatequina, epigallocatequina e seus ésters de ácido gálico (catequina galato e epicatequina galato) (Yu *et al.*, 2006).

As catequinas são formadas por 15 carbonos distribuídos em dois núcleos fenólicos (anel A e B) conectados por três unidades de carbono (C₂, C₃ e C₄) (Juneja *et al.*, 2000). A posição dos átomos de hidrogênio nos carbonos C₂ e C₃ define um isômero da catequina: a epicatequina (Daniel, 2006). Na molécula de catequina os átomos de hidrogênio estão em sua forma *trans* e para epicatequina os átomos de hidrogênio estão na forma *cis* (Daniel, 2006). Além disso, a natureza assimétrica dos carbonos C₂ e C₃ também confere atividade óptica à molécula: (+) catequina, (-) catequina e (+) epicatequina e (-) epicatequina (Daniel, 2006).

As procianidinas oligoméricas são procianidinas com grau de polimerização acima de duas unidades de monômeros flavan-3-ol. Procianidinas oligoméricas podem ser classificadas como tipo A ou tipo B: as procianidinas do tipo A são caracterizadas pela presença de uma ligação C-C [2→O→7, 4→8] ou [2→O→7, 4→6] entre duas unidades flavan-3-ol (Lou *et al.*, 1999), enquanto que as procianidinas do tipo B são resultantes de ligações C-C [4→8] ou [4→6] entre duas unidades flavan-3-ol (Yu *et al.*, 2006).

A concentração de fenólicos na película pode variar em função do solvente utilizado na extração. Nepote, Grosso & Guzman (2002) verificaram que os solventes metanol e etanol apresentaram melhores rendimentos na extração de compostos fenólicos da película de amendoim do que a água. O extrato de película de amendoim produzido utilizando-se a água como solvente apresentou o conteúdo de fenólicos igual a $58,5 \pm 2,4$ mg/g enquanto os produzidos utilizando-se como solventes o metanol e o etanol apresentaram concentrações de $148,7 \pm 3,6$ e $114,8 \pm 5,9$ mg de fenólicos/g de extrato liofilizado, respectivamente (Nepote, Grosso & Guzman, 2002).

Além do solvente da extração, o processo utilizado para remoção da película do amendoim pode afetar a concentração de fenólicos totais e grau de polimerização das procianidinas.

Yu *et al.* (2005) simularam as condições de blanchamento utilizada no beneficiamento do amendoim para remoção da película, submetendo os grãos de amendoim a aquecimento de 175°C por 5 min e resfriamento à temperatura ambiente. Os autores verificaram que a concentração de fenólicos após o processamento térmico (175°C/5 min) foi superior em 39,5% (utilizando-se álcool ou água como solventes na extração) quando comparada às extrações utilizando-se a película removida manualmente (sem emprego de calor). De acordo com Yu *et al.* (2005), o aquecimento ao qual a película foi submetida pode levar a degradação ou polimerização de polifenóis que são mais solúveis em água e etanol.

Adicionalmente, pode ocorrer formação de produtos da reação de *Maillard* que contribuem para o aumento de compostos fenólicos ou formação de complexos desses compostos que contribuam para maior absorção nas leituras espectrofotométricas (Yu *et al.*, 2005).

De acordo com Yu *et al.* (2006) películas de amendoim tratadas termicamente em condições similares ao do *blancheamento* (175°C/5 min) também diferem no grau de polimerização das procianidinas de película de amendoim que não passaram por tratamento térmico. O aquecimento sofrido pela película provocou redução nas concentrações de monômeros de procianidinas, dímeros do tipo B, trímeros do tipo A, tetrâmeros do tipo A e tetrâmeros tipo B enquanto que as concentrações dos dímeros tipo A e trímeros tipo B aumentaram. De acordo com os autores, a mudança no perfil das procianidinas após aquecimento pode ser em função da polimerização de monômeros ou da degradação de trímeros e tetrâmeros (Yu *et al.*, 2006).

Outros autores também verificaram alteração no grau de polimerização das procianidinas submetidas a tratamentos térmicos. Constanza *et al.* (2012) verificaram para extratos de película de amendoim submetidos à secagem em *spray dryer*, aumento de aproximadamente 2 vezes para procianidinas monoméricas e aumento de 1,5 vezes de procianidinas diméricas, acompanhado de redução das procianidinas com grau de polimerização igual a três e superiores a quatro, sugerindo que a secagem em *spray dryer* foi capaz de despolimerizar procianidinas de maior peso molecular (Constanza *et al.*, 2012).

Em relação à atividade antioxidante, diversos estudos indicaram que o extrato de película de amendoim apresentou atividade antioxidante superior à outras fontes já conhecidas. Yu *et al.* (2005) verificaram que a atividade antioxidante *in vitro* do extrato alcoólico de película de amendoim crua foi de 4,10 equivalente ao Trolox (mM Trolox/mM de fenólicos totais) enquanto que o extrato alcoólico de chá verde apresentou atividade antioxidante de 1,91 equivalente ao Trolox. Yu *et al.* (2006) também verificaram que extrato da película de

mendoim apresentou atividade antioxidante *in vitro* superior a Vitamina C e Trolox (vitamina E solúvel) em concentrações equivalentes.

3.2.2 Atividade farmacológica

Diversos estudos têm atribuído ao extrato da película de amendoim atividades farmacológicas tais como: propriedades antioxidantes, atividade anti-inflamatória, atividade antialérgica, propriedades hipolipemiantes, clareamento da pele, dentre outras.

Na Tabela 3 podem-se observar exemplos de estudos relacionados com as propriedades farmacológicas do extrato de película de amendoim.

Takano *et al.* (2007) não verificaram toxicidade do extrato de película de amendoim em função da alteração do peso corporal, peso do fígado e níveis plasmáticos da enzima marcadora hepática alanina aminotransferase em ratos que foram alimentados com 100 mg de extrato de película de amendoim/kg peso corpóreo/dia durante 21 dias.

Galgut & Ali (2011) observaram que o extrato etanólico da película de amendoim e seu ingrediente ativo, o resveratrol (puro) podem ser considerados compostos melanolíticos para o tratamento de hiperpigmentação, pois ambos induziram a agregação de melanina dos melanóforos da cauda de *B. melanostictus* levando ao clareamento da pele.

Tomochika *et al.* (2011) investigaram o extrato aquoso da película de amendoim e suas frações de alto e baixo peso molecular como agente terapêutico contra doenças alérgicas e avaliaram que a procianidina A1, composto majoritário da fração de baixo peso molecular, inibiu a degranulação de células de leucemia basofílica (RBL-2H3) de ratos induzidas com antígeno.

Tabela 3. Estudos farmacológicos envolvendo compostos bioativos do extrato da película de amendoim.

Propriedade farmacológica	Condições de extração	Resultados	Referência
Atividade antialérgica	Pel. Amendoim* Água Fervente Tipo comercial n.e.	Fração de EPA de alto e baixo peso molecular provocaram inibição contra IgE mediada pela liberação de β -hexosaminidase a partir de 0,05 e 0,15 mg/mL respectivamente	Tomochika <i>et al.</i> (2011)
Clareamento da pele	Pel. Amendoim* Maceração em etanol Tipo comercial n.e.	Indução da agregação de melanina provocada pelo extrato etanólico da película de amendoim e pelo resveratrol puro (1×10^{-6} a $6,4 \times 10^{-5}$ g/mL) levando ao clareamento da pele.	Galgut & Ali (2011)
Atividade Anti-melanogênica	Pel. Amendoim cru Maceração em água	Redução da síntese de melanina em células melanoma (HBMV-II)	Tatsuno <i>et al.</i> (2012)
Atividade Anti-inflamatória	Tipo comercial n.e.	Redução da produção de citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF)- α e interleucina (IL)-6 em THP-1	
Redução do colesterol sérico	Película de amendoim torrada Água fervente Tipo comercial n.e.	A fração de baixo peso molecular de EPA em ratos provocou uma redução de 35% do nível sérico de colesterol LDL e aumento de 54% na excreção do colesterol nas fezes.	Tamura <i>et al.</i> (2012)
Propriedades hipolipemiantes	Pel. Amendoim torrada Água Fervente Tipo comercial n.e.	Ingestão de EPA (300 mg/kg de peso corpóreo/dia) provocou em ratos redução do peso corporal, gordura epididimal, colesterol e triglicerídeos em 15,66%, 31,72%; 30,22%; 39%, respectivamente.	Bansode <i>et al.</i> (2012)
Inibição das dissacaridases intestinal	Pel. Amendoim* Acetona (70%) Tipo comercial n.e.	As procianidinas da película de amendoim apresentaram boa atividade de inibição nas dissacaridases intestinais com valores de EC_{50} entre 0,091 a >1 mg/mL para sucrose e de 0,088 a >1 mg/mL para maltase.	Zhang <i>et al.</i> (2013)
Atividade antialérgica	Pel. Amendoim cru Tampão Amendoim Runner	Apesar da pele de amendoim conter proteínas com potencial alergênico, a presença de compostos fenólicos podem atenuar este efeito, evitando a ligação entre as proteínas e Imunoglobulina E (IgE) específica.	White <i>et al.</i> (2013)
Propriedades hipolipemiantes	Pel. Amendoim torrada Água Fervente Tipo comercial n.e.	Ratos que receberam óleo complementado com extrato de pele de amendoim, por gavagem, apresentaram redução significativa dos níveis de triglicerídeos plasma e colesterol VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) dentro de 5 h.	Bansode <i>et al.</i> (2014)
Efeito anti-diabético	Pel. Amendoim torrada Acetona 70% Tipo comercial n.e.	A administração oral da fração polifenólica em ratos alimentados com amido de milho suprimiu significativamente o aumento nos níveis de glucose no sangue de um modo dependente da dose e retardou o aumento dos níveis de glicose no sangue quando esses foram alimentados com maltose ou sacarose.	Tsujita <i>et al.</i> (2014)

Legenda: n.e. = Não especificado; * não especificado se a película estava crua ou torrada, EPA = extrato de película de amendoim.

Bansode *et al.* (2012) avaliaram o efeito do extrato aquoso da película de amendoim em relação às suas propriedades hipolipemiantes alimentando ratos com uma dieta típica ocidental (com alto teor de gordura e colesterol) e verificaram que o grupo de ratos que recebeu extrato aquoso da película do amendoim (300 mg por kg de peso corpóreo por dia) apresentou redução no peso corporal final, gordura epididimal, colesterol total e triglicerídeos em relação aos ratos que receberam a mesma dieta mas não ingeriram extrato.

Tamura *et al.* (2012) verificaram que a ingestão da fração de baixo peso molecular do extrato aquoso de película de amendoim (0,23 % em massa da dieta total) provocou, em ratos, a diminuição do nível sérico de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) e aumento do colesterol excretado nas fezes, sendo que os testes *in vitro* indicaram que os polifenóis reduzem a solubilidade do colesterol nas micelas sem afetar a solubilidade da bile ácida.

Tatsuno *et al.* (2012) investigaram a atividade inibitória de proantocianidinas isoladas da pele de amendoim sobre a produção de citocinas inflamatórias e síntese de melanina em linhagem de células cultivadas e verificaram que proantocianidinas do tipo A, cinnamtannin D-1 e epicatequina-(2 β →O→7, 4 β →6)-[epicatequina-(4 β →8)]-catequina, podem ser úteis para prevenir a inflamação e síntese de melanina, que ocorrem durante os danos da pele ou como um resultado de doenças dermatológicas.

Zhang *et al.* (2013) avaliaram que as procianidinas da película de amendoim podem controlar a hiperglicemia pós-prandial, retardando a absorção intestinal de hidratos de carbono assim como a acarbose (fármaco anti-diabético), pois as mesmas apresentaram inibição considerável nas dissacaridases intestinais, maltase e sucrase.

White *et al.* (2013) verificaram que a presença de compostos fenólicos da película de amendoim pode atenuar efeitos potencialmente alergênicos de suas proteínas. Analisando o soro humano de pacientes alérgicos à amendoim, os autores observaram que as proteínas

extraídas a partir de pele de amendoim não se ligam a imunoglobulina E (IgE) específica quando estão na presença de compostos fenólicos, sugerindo que os compostos fenólicos se ligam a IgE ou se ligam às proteínas impedindo que ocorra a ligação entre proteína e IgE (White *et al.*, 2013).

Bansode *et al.* (2014) mostraram que os polifenóis da pele de amendoim podem conferir um papel-chave no efeito hipolipemiante, pois ratos que receberam em sua dieta óleo com incorporação de extrato de pele de amendoim, por gavagem, apresentaram redução significativa dos níveis de triglicerídeos plasmático e colesterol VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) dentro de 5 h.

Tsujita *et al.* (2014) sugerem que os polifenóis da pele de amendoim exercem um efeito anti-diabético por inibição da α -amilase, retardando a absorção de hidratos de carbono e reduzindo hiperglicemia pós-prandial. A administração oral da fração polifenólica em ratos alimentados com amido de milho suprimiu significativamente um aumento nos níveis de glucose no sangue de um modo dependente da dose e a administração da fração polifenólica em ratos alimentados com maltose ou sacarose retardou o aumento dos níveis de glicose no sangue (Tsujita *et al.*, 2014).

3.2.3 Outros estudos com película de amendoim

Além das atividades farmacológicas, estudos têm avaliado a eficiência da utilização do extrato de película de amendoim em sistemas alimentícios. Potencialmente, o extrato de pele de amendoim *in natura* ou seco além de ser uma fonte de polifenóis, pode evitar a oxidação em alimentos substituindo o uso de antioxidantes sintéticos (Constanza *et al.*, 2012).

Ma *et al.* (2013) avaliaram o efeito da incorporação da película de amendoim moída na formulação de manteiga de amendoim visando a fortificação das mesma em função da presença de procianidinas naturais da película e verificaram que a incorporação de até 3,75%

(m/m) de película de amendoim (obtida amento) provocou aumento da concentração de fenólicos em até 533%, embora tenham sido observadas algumas variações nas propriedades físicas da manteiga de amendoim.

Yu *et al.* (2010) verificaram que o extrato de película de amendoim foi capaz de conservar a cor da carne moída crua e impedir a oxidação lipídica na carne moída cozida durante seu armazenamento sob refrigeração, sendo que a adição de concentrações iguais ou superiores à 0,06% de extrato apresentou eficiência equivalente ao butilhidroxianisol/butilhidroxitolueno (BHA/BHT) à concentração de 0,02% na inibição da oxidação de lípidos.

Nepote, Mestrallet & Grosso (2004) compararam o uso do antioxidante natural (extrato alcoólico de película de amendoim) e o antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT), ambos a 0.02% (m/m) em solução de xarope (50% sucrose, 35% mel, and 15% água destilada) incorporado em amendoim torrado e verificaram que a adição de extrato de amendoim não afetou sensorialmente o produto e apresentou valores de peróxido estatisticamente iguais ao BHT ao longo de 63 dias de armazenamento.

3.3 Filmes de desintegração oral

Filmes de desintegração oral foram introduzidos no mercado como produtos de cuidados pessoais como o refrescante de hálito *pocket packs*TM (Listerine[®]) e também foram empregados para fins terapêuticos como tiras de alívio (Chloraseptic[®]) usadas para o tratamento de dores de garganta (Bala *et al.*, 2013).

O filme de desintegração oral (FDO) é uma forma de dosagem à base de um polímero hidrossolúvel, que quando em contato com a saliva hidrata-se rapidamente, aderindo-se à mucosa bucal e desintegrando-se em poucos segundos provocando a liberação do princípio ativo para a absorção bucal (Nagaraju *et al.*, 2013).

De acordo com Kumar *et al.* (2010), os filmes de desintegração oral são facilmente transportados, armazenados, manuseados e consumidos, não exigem necessidade de água

e são bem aceitos por pacientes disfágicos, pois estes apresentam maior dificuldade em deglutir comprimidos ou cápsulas.

Os filmes de desintegração oral devido sua grande área de superfície desintegram-se rapidamente na cavidade oral favorecendo uma alta disponibilidade do princípio ativo e, adicionalmente como a mucosa bucal é altamente vascularizada, a droga pode ser absorvida diretamente pela circulação sistêmica sem sofrer o metabolismo da primeira passagem hepática (Karen *et al.*, 2012).

Por outro lado, de acordo com Bala *et al.* (2013) o filme de desintegração oral não suporta a incorporação de elevadas dosagens do princípio ativo. Outra desvantagem do filme de desintegração oral é sua característica hidrofílica, que implica na utilização de embalagens especiais para manter a estabilidade do produto (Mahajan *et al.*, 2011).

3.3.1 Formulação e produção

A formulação dos filmes de desintegração oral envolvem materiais como polímero formador de filme, plastificante, ingrediente farmacêutico ativo, agente estimulante da saliva, aromatizante e corante, sendo que todos os excipientes devem ser listados como GRAS (*Generally Regarded as Safe*) e devem ser aprovados para uso em dosagens farmacêuticas orais (Kumar *et al.*, 2010).

Os filmes podem ser preparados pelo método de extrusão por fusão à quente ou por *casting* (Dixit & Puthli 2009).

A extrusão por fusão à quente não envolve uso de solvente, sendo utilizada para polímeros de baixo peso molecular e baixa viscosidade (Saini *et al.*, 2012). Entretanto, a extrusão por fusão à quente não pode ser utilizada quando na formulação dos filmes de desintegração oral estão compostos ativos instáveis ao calor, uma vez que este processo envolve altas temperaturas (Panda *et al.*, 2012).

A produção por *casting* envolve o uso de solventes, portanto o polímero deve ser solúvel em água ou solvente volátil e o teor de umidade deve ser controlado para que não haja variações nas propriedades mecânicas dos filmes (Panda *et al.*, 2012).

3.3.2 Liberação do princípio ativo em filmes de desintegração oral

A superfície externa da cavidade oral (Figura 1) é uma membrana mucosa formada por epitélio, lâmina basal e lâmina própria que recobre a submucosa que contém vasos sanguíneos e nervos (Sidiqui, 2011). As diferenças na permeabilidade são geralmente baseadas na espessura relativa, no fornecimento de sangue e no grau de queratinização destas membranas, sendo que a região sublingual da cavidade oral é a mais permeável seguida pela área bucal (bochecha) e a palatal (céu da boca) (Narang & Sharma, 2011).

Figura 1. Estrutura da mucosa bucal
Fonte: Kumria & Goomber (2011)

Os filmes de desintegração oral podem ser classificados em três categorias: liberação rápida, liberação mucoadesiva e mucoadesivo de liberação controlada (Jyoti *et al.*, 2011). As características de cada um podem ser observadas na Tabela 4.

Tabela 4. Classificação dos filmes de desintegração oral (FDO) e suas propriedades.

Propriedades	FDO de Liberação rápida	FDO de liberação mucoadesiva	FDO mucoadesivo de liberação controlada
Área (cm ²)	2-8	2-7	2-4
Espessura (µm)	20-70	50-500	50-250
Estrutura	Camada única	Única/Multicamada	Multicamada
Excipientes	Polímeros hidrofílicos solúveis	Polímeros hidrofílicos solúveis	Polímeros de baixa solubilidade/insolúveis
Fase da droga	Sólida	Sólida ou partículas de droga suspensas	Suspensão e/ou sólida
Aplicação	Palato superior	Gengival ou região bucal	Gengival (outra região da cavidade oral)
Tempo de desintegração	Inferior a 60 s	Em alguns minutos	Máximo de 8 - 10 h
Local de ação	Sistêmica ou local	Sistêmica ou local	Sistêmica ou local

Fonte: Jyoti *et al.* (2011)

Os filmes de desintegração oral que apresentam propriedade mucoadesiva facilitam o contato entre filme e mucosa, melhorando o desempenho terapêutico da droga (Boddupalli *et al.*, 2010).

De acordo com Smart (2005), a mucoadesão tem duas fases principais: contato e consolidação (Figura 2). Na primeira fase de contato, o filme começa a desidratar a mucosa ao mesmo tempo que se hidrata, iniciando a interpenetração entre as cadeias poliméricas e muco (Smart, 2005). Na segunda etapa, de consolidação, acontece a geleificação do polímero devido ao contato com o muco (colóide viscoso aquoso), resultando em um processo de transferência da água até que o equilíbrio seja alcançado entre as duas camadas, consolidando o contato entre o filme e muco que se manterá prolongando por tempo determinado (Smart, 2005). A força da ligação mucoadesiva é determinada pela intensidade do entrecruzamento que ocorre após migração da água até que o equilíbrio seja alcançado (Morales & McConville, 2011).

Figura 2. Estágios de contato e consolidação da mucoadesão.
Fonte: (Morales & McConville, 2011)

3.3.3 Filmes de desintegração oral como uma nova forma de nutracêuticos

Os compostos fenólicos são amplamente distribuídas na natureza e suas atividades farmacológicas incluem, principalmente, atividade antioxidante, anti-inflamatória e anti-câncer (Espín *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2011). Embora os compostos fenólicos mostrem diversas potencialidades farmacológicas, os mesmos apresentam baixa biodisponibilidade devido a glucuronidação catalisada pelas enzimas UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) que acontece na primeira passagem no intestino e no fígado, o que dificulta a eficiência destes compostos como agentes terapêuticos (Wu *et al.*, 2011) .

No caso de filmes de desintegração oral, o princípio ativo é absorvido diretamente pela circulação sistêmica, através do epitélio bucal, evitando as condições do trato gastrointestinal, tais como pH gástrico, teor de enzimas e o efeito de primeira passagem devido à passagem pela veia porta (Morales & McConville, 2011). Assim, espera-se que a incorporação de compostos fenólicos em filmes de desintegração oral possa aumentar a disponibilidade desses compostos. Entretanto não foram encontrados na literatura estudos comparativos da absorção bucal e intestinal de compostos naturais.

Alguns autores incorporaram extratos em filmes de desintegração oral para explorar propriedades funcionais de compostos fitoterápicos. Filmes de HPMC com extrato de

gengibre tiveram bom desempenho *in vitro* e *in vivo* no tratamento de problemas estomacais como náuseas (Daud *et al.*, 2011). Filmes de gelatina e colágeno hidrolisado aditivados com extrato de própolis mostraram-se como bom carreadores de componentes ativos para liberação na cavidade oral (Borges *et al.*, 2013).

4. Materiais e métodos

4.1 Materiais

A película de amendoim Runner (variedade IAC886), ano-safra 2013, foi doada pela Cooperativa dos Plantadores de Cana da Zona de Guariba (COPLANA) (Jaboticabal, SP, Brasil). A película foi obtida por processo de blanchamento. A película foi estocada à temperatura de -4°C. A gelatina (260 Bloom/40 Mesh) e a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC E15) utilizadas na produção dos filmes de desintegração oral foram doadas pelas empresas Gelnex (Araguaína, TO, Brasil) e (Colorcon, Midland, MI, USA), respectivamente. O plastificante utilizado na produção dos filmes de desintegração oral foi o sorbitol (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Adicionalmente foram utilizados os seguintes reagentes: etanol (Synth, Diadema, SP, Brasil), Folin-ciocalteu (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA), carbonato de sódio (Synth, Diadema, SP, Brasil), ácido gálico (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EUA) e 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•], Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EUA).

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção de extrato de película de amendoim

A produção do extrato de película de amendoim foi realizada utilizando-se os parâmetros de extração definidos por Nepote, Grosso & Guzman (2005). Pele de amendoim (20g) foi dispersa em 400 mL de solvente, segundo a Tabela 5. A dispersão foi mantida sob agitação mecânica (RW20 digital, IKA, Alemanha) à 500 rpm por 10 min (temperatura ambiente). O

resíduo foi submetido a mais duas extrações nas mesmas condições. O extrato resultante das três extrações foi concentrado em rotoevaporador (IKA, Campinas, SP, Brasil) a 40 ° C (Duh e Yen, 1997) sob vácuo até 30% do volume original e filtrado.

Aflatoxinas são contaminantes naturais em amendoins. Em função disso, foram avaliadas quatro condições de extração (Tabela 5), visando-se minimizar a presença de aflatoxinas no extrato de película de amendoim. Os parâmetros avaliados na extração foram solvente de extração e seleção da película de amendoim.

Tabela 5. Condições de extrações testadas para a produção do extrato de película de amendoim.

	Extração 1	Extração 2	Extração 3	Extração 4
Película de amendoim	Não selecionada	Selecionada*	Selecionada*	Selecionada*
Solvente	Etanol 70%	Etanol 70%	Água	Etanol 70%
Filtração do Extrato	Papel comum	Centrifugação	Centrifugação	Filtro Whatman nº1 Membrana Fibra de vidro

* Selecionada: seleção prévia da película de amendoim para remoção de fragmentos de amendoim presentes na mesma, que poderiam ser fonte de aflatoxinas.

Dessa forma, foram avaliadas extrações da película não selecionada (nas mesmas condições em que foi recebida da beneficiadora, a qual continha fragmentos de amendoim resultantes da abrasão que o grão sofre para retirada da pele após o processo de *blancheamento*) e selecionada (remoção dos fragmentos de amendoim).

No caso da película selecionada, os fragmentos de amendoim foram removidos com o auxílio de uma peneira (*mesh* 10). A fração não retida na peneira foi descartada em função da quantidade excessiva de fragmentos de amendoim (Figura 3a). O material retido foi utilizado para a extração mediante uma seleção manual para remoção de fragmentos de amendoins remanescentes (Figura 3b) e foi denominado como selecionado.

Figura 3. Película de amendoim: (a) Fração descartada (não retida na peneira de *mesh* 10). (b) Fração retida na peneira (*mesh* 10), anterior à seleção manual para remoção de fragmentos de amendoim.

Utilizando-se a matéria prima selecionada, foram realizadas extrações (mesmo processo de extração) utilizando-se como solventes etanol (70%) e água (Extração 2 e 3). A água foi testada como solvente para investigar se a mudança na polaridade do solvente afetaria a capacidade de extração de antioxidantes e de aflatoxinas presentes na película de amendoim. O procedimento de extração foi o mesmo que o anterior, mas dessa vez ao invés de papel de filtro usou-se a centrifugação (4.000 rpm, 15 min) por conta de que o extrato aquoso não se adequava à filtração.

Na Extração 4, utilizou-se como solvente o etanol (70%) usando a matéria prima selecionada (ausente de fragmentos de amendoim). Entretanto, foram adicionadas duas etapas de filtração (papel de filtro Whatman nº1 e membrana fibra de vidro Sartorius 47 mm).

Para a incorporação do extrato nos filmes de desintegração oral, o extrato foi previamente concentrado (30% do volume inicial de solvente usado na extração) utilizando-se rotaevaporador (IKA, Campinas, SP, Brasil) a 40 ° C (Duh e Yen, 1997) sob vácuo até 30% do volume original e filtrado.

Para caracterização do extrato de película de amendoim, o mesmo foi liofilizado. Os extratos liofilizados foram embalados e armazenados em freezer a -22°C, anteriormente à

sua caracterização. Os extratos liofilizados foram caracterizados em relação aos fenólicos totais, atividade antioxidante (DPPH^{*}) e aflatoxinas.

4.2.2 Caracterização da película de amendoim

A composição centesimal da película de amendoim foi realizada no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de acordo com a AOAC (1990) e Silva & Queiroz (2002). A matéria mineral foi obtida após o aquecimento da amostra, à temperatura de 500 a 600°C até a combustão total da matéria orgânica. A determinação da matéria seca foi determinada a 105°C. O extrato etéreo foi obtido por diferença de massa após extração de gordura (Soxhlet) usando éter como solvente. A determinação de nitrogênio total foi realizada pelo método Micro-kjeldahl.

O teor de fibra bruta foi determinado pelo método de Weende (Van Soest, 1967). A determinação da fibra em detergente neutro e de fibra em detergente ácido foi realizada de acordo com o proposto por Van Soest *et al.* (1991).

4.2.3 Caracterização do extrato da película de amendoim

4.2.3.1 Fenólicos totais

A concentração de fenólicos totais do extrato de pele de amendoim foi determinada pelo método de Folin - Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). A amostra do extrato (0,5 mL) foi adicionada ao reagente de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) (2,5 mL). Após 5 minutos, 2 mL de solução de carbonato de sódio (7,5:100 m/v) foi adicionada à solução e esta submetida à agitação em vórtex (IKA, Alemanha). Anteriormente a determinação da absorbância a solução foi mantida na ausência de luz (temperatura ambiente) por 2 horas. A absorbância da solução resultante foi determinada em espectrofotômetro (Lambda 35 UV/Vis Spectrophotometer, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) à 760 nm. A quantificação de

fenólicos totais foi realizada utilizando-se curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG)/grama de extrato.

4.2.3.2 Atividade antioxidante (Sequestro do radical livre DPPH[•]).

A atividade sequestradora de radicais livres foi determinada pelo método de Brand-Williams *et al.* (1995). O extrato de película de amendoim previamente diluído (0,1 mL) foi adicionado à 3,9 mL solução etanólica de 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) (6×10^{-5} M) e homogeneizado em vórtex (IKA, Alemanha). O mesmo procedimento foi realizado para o controle (etanol). As soluções foram mantidas na ausência de luz à temperatura ambiente por 60 minutos anteriormente à determinação da absorbância. A absorbância da solução resultante foi determinada em espectrofotômetro (Lambda 35 UV/Vis Spectrophotometer, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) à 515 nm.

A atividade antioxidante (AA) da amostra foi calculada utilizando-se a Equação 1.

$$AA(\%) = \frac{(A_c - A_a) \cdot 100}{A_c} \quad (1)$$

Onde: AA = atividade antioxidante (% de inibição do radical DPPH[•]),
A_c = absorbância do controle, A_a = absorbância do extrato de película de amendoim.

Esse procedimento foi realizado utilizando-se seis diluições diferentes de extrato de película de amendoim para obtenção do EC₅₀ (concentração da amostra em mg/mL capaz de reduzir em 50% o DPPH[•]) calculado a partir da equação da reta do gráfico de concentração de extrato *versus* atividade antioxidante.

4.2.3.3 Determinação da concentração de aflatoxinas

A presença de aflatoxinas no extrato foi determinada no Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de

Alimentos utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência de acordo com Vicam (1999) com modificações de acordo com Scott (1990). A amostra foi extraída com 10 mL de metanol (70%) e centrifugada. Ao filtrado adicionou-se 2 mL de água Milli-Q, sendo esta solução filtrada. Uma alíquota da solução filtrada (10 mL) foi eluída em coluna de imunoafinidade (Vicom, Watertown, MA, USA). A coluna foi lavada com 10 mL de água Milli-Q e as toxinas retinas na coluna foram removidas utilizando-se 1 mL de metanol. O eluato foi seco, derivatizado em 200 µL de n-hexano e 100 µL de TFA (ác. trifluoracético), seco novamente e ressuspendido em 500 µL de MeOH 50%. A mostra obtida foi injetada em um cromatógrafo Shimadzu 10VP (Kyoto, Japan) com detector de fluorescência (excitação em 360 nm e emissão acima de 440 nm) e coluna Kinetex C18 (6 x 150 mm, 2,6 mm de tamanho de partícula, Phenomenex, Torrance, CA, USA) de separação. Como fase móvel foi utilizada solução de metanol/água/acetonitrila (60:20:20, v/v/v), sendo a eluição isocrática com vazão de 0,50 mL min⁻¹. Os picos foram identificados por comparação com os padrões analíticos das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.

4.2.3.4 Determinação de compostos fenólicos do extrato de película de amendoim por cromatografia líquida de alta precisão com Detector Diode Array (DAD)

A determinação dos principais compostos fenólicos presentes no extrato de película de amendoim foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Análise Instrumental da Escola Superior de Agricultura Luiz De Queiroz utilizando-se cromatógrafo líquido (SCL10AVP , Shimadzu, Kyoto, Japan) acoplado a um detector de arranjo de diodos (SPD-M10AVP). As condições de separação estão ilustradas na Tabela 6. Os picos foram identificados utilizando-se como padrões analíticos o ácido gálico, epicatequina, catequina, procianidinas B1 e B2, ácido p-cumárico, epicatequina galato, hesperidina, quercetina 3-b D-glucosídeo.

Tabela 6. Condições cromatográficas para a determinação de compostos fenólicos presentes em extratos de pele de amendoim.

Condições Cromatográficas	
Coluna de separação	Coluna Agilent Zorbax C-18 (250mm x 4,6mm d.i. x 5µm tamanho de partícula), protegida por uma coluna de guarda de 10mm.
Temperatura da coluna	Coluna foi mantida à 30°C.
Fase móvel	A fase móvel consistiu em dois solventes: Solvente A foi uma mistura de água/ácido fórmico (99,9/0,1 v/v), Solvente B foi acetonitrila/ácido fórmico (99,9/0,1 v/v).
Eluição	Gradiente: O gradiente de eluição iniciou com 95% do solvente A e atingiu 93% em 7 minutos; a concentração passou de 93 para 80% em 50 minutos; de 80 a 55% em 70 minutos; de 55 a 0% em 85 minutos permanecendo nessa concentração até 95 minutos e retornou para 95% em 100 minutos.
Fluxo	O fluxo constante de 0,8mL/min
Detector	O detector operou na faixa de 190 a 800nm
Volume de Injeção	10 µL

4.2.4 Produção dos filmes de desintegração oral

Os filmes de desintegração oral foram produzidos pelo método de *casting*, variando-se a relação de gelatina (GEL): hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) de acordo com a (Tabela 7). A concentração de macromoléculas foi mantida constante em 2g/100g de solução filmogênica. O sorbitol foi utilizado como plastificante e sua concentração fixada em 0,4g/100g de solução filmogênica. O extrato líquido e concentrado de película de amendoim foi adicionado nas concentrações de 10, 20 e 30g /100 g de solução filmogênica.

Tabela 7. Formulação dos filmes de desintegração oral a base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).

Relação Gelatina:HPMC	Macromoléculas (2g/100g de solução filmogênica)	
	Massa de gelatina (g)	Massa de HPMC (g)
100:0	2	0
75:25	1,5	0,5
50:50	1	1
25:75	0,5	1,5
0:100	0	2

Para a produção dos filmes de desintegração oral foram preparadas soluções filmogênicas de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose. Para a solução de gelatina, a mesma foi hidratada em água destilada por 30 minutos à temperatura ambiente e solubilizada em banho termostatizado (MA 127, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) na temperatura de 50°C por 10 min. No caso da solução de hidroxipropilmetilcelulose, a mesma foi dispersa em água destilada a 90°C visando evitar a formação de aglomerados, em seguida a dispersão foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos. No caso das blendas, as soluções filmogênicas de hidroxipropilmetilcelulose e gelatina foram produzidas separadamente de acordo com as proporções definidas na Tabela 7, misturadas e homogeneizadas em agitador magnético à temperatura ambiente por 30 minutos. O plastificante sorbitol foi previamente solubilizado em água e adicionado à solução filmogênica sob agitação magnética por 10 minutos à temperatura ambiente. O extrato líquido e concentrado de película de amendoim foi incorporado na solução filmogênica à temperatura ambiente sob agitação magnética por 10 minutos.

A solução filmogênica foi dispersa em placas (12 x 12 cm) e submetidas a secagem em estufa de circulação forçada (Estufa MA-035, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) à 30°C por 24h. A espessura dos filmes foi mantida constante ($0,050 \pm 0,005$ mm) controlando-se a relação de massa/área do suporte. Os filmes foram acondicionados em dessecadores contendo solução saturada de NaBr (58% de umidade relativa) por 5 dias à temperatura ambiente anteriormente à sua caracterização. Para as análises de espectroscopia de infravermelho e

microscopia eletrônica de varredura, os filmes foram acondicionados em dessecadores contendo sílica à temperatura ambiente por um período de 10 dias.

4.2.5 Caracterização dos filmes de desintegração oral

4.2.5.1 Aspecto visual

O aspecto visual da superfície dos filmes foi avaliado utilizando-se um microscópio (SZX7; Olympus, Tóquio, Japão) com câmera acoplada (U-TVO.5XC-3, Japão). As imagens foram capturadas utilizando-se um aumento de 0,8 vezes.

4.2.5.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral foram determinadas de acordo com a metodologia ASTM (2010) utilizando-se um texturômetro TA.XTPlus (StableMicroSystems, Godalming, Surrey, UK) equipado com uma célula de carga de 50 kg. Amostras dos filmes (25 mm x 100 mm), livre de imperfeições físicas, foram fixadas ao probe (*tensile grips*), sendo a distância de separação inicial igual a 100 mm. A velocidade de realização do teste foi fixada em $0,83 \text{ mm.s}^{-1}$. A tensão na ruptura e a elongação foram obtidas a partir da curva de tensão (MPa) *versus* elongação (%). O módulo elástico foi determinado pelo coeficiente angular da curva de tensão (MPa) *versus* elongação (%).

4.2.5.3 Ângulo de contato

A hidrofiliabilidade dos filmes de desintegração oral foi determinada utilizando-se o tensiômetro Attension Theta Lite (Biolin Scientific AB, Suécia) através da medida de ângulo de contato. Uma gota de água ultrapura (5µL) foi depositada na superfície dos filmes com auxílio de uma microseringa de precisão. A imagem da deposição de gota na superfície do filme foi registrada após 10 segundos como sugerido por Bala *et al.* (2013) e o ângulo de contato calculado através do software de análise Attension Theta (Versão 4.1.9.8).

4.2.5.4 Tempo de desintegração

O teste de desintegração foi realizado de acordo com Garsuch & Breitzkreutz (2010). Filmes de desintegração oral (3 x 2 cm) foram fixados a um suporte (*slide frame*) e uma gota foi depositada em sua superfície (Figura 4a). Cronometrou-se o tempo necessário para a gota dissolver totalmente o filme formando um orifício (Figura 4b). Para a realização do teste foi utilizada solução de tampão fosfato salino (pH 6,75) a 37°C para simular a saliva de acordo com Wong *et al.* (1999).

Figura 4. Exemplo de sistema utilizado para avaliação do tempo de desintegração: (a) sistema utilizado para determinação do tempo de desintegração (*slide frame*, placa de petri e contador de colônias para facilitar a visualização do tempo no qual ocorre a desintegração); (b) orifício formado no filme.

4.2.5.5 Mucoadesividade

A mucoadesividade dos filmes de desintegração oral foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Wong *et al.* (1999) utilizando-se um texturômetro TA.XTPlus (StableMicroSystems, Godalming, Surrey, UK) equipado com uma célula de carga de 20 kg e superfície interna da pele de galinha fresca como tecido modelo.

A pele de galinha e o filme foram fixados com fita dupla face espuma (3M) aos probes cilíndricos (2 cm de diâmetro), inferior e superior respectivamente, para proporcionar um efeito de amortecimento. A Figura 5 mostra o sistema utilizado para o teste de mucoadesividade.

Figura 5. Sistema utilizado para o teste de mucoadesividade utilizando texturômetro.

Para a realização do teste foram utilizados os parâmetros modificados por Peh e Wong (1999): a cada medição 100 μ L de tampão fosfato salino (pH 6,75) foi uniformemente distribuído sobre a pele de galinha, em seguida o probe, com o filme fixado, desceu a velocidade de 0,5 mm/s e manteve-se em contato por 10 segundos a uma força de 1 N com a pele de galinha (fixada ao probe inferior), em seguida o probe subiu a uma velocidade de 1,0 mm/s até uma distância de 15 mm (Peh e Wong, 1999). A força mucoadesiva dos filmes foi obtida pela força máxima necessária para separação entre filme e tecido.

4.2.5.6 Determinação do pH de superfície

O pH de superfície foi determinado de acordo com Prabhu *et al.* (2011), utilizando-se tampão fosfato salino (pH 6.75) de acordo com Wong *et al.* (1999) para simulação da saliva. Amostra do filme (3x2 cm) foi colocada em um recipiente contendo 0,5 mL de solução tampão. Após 30 segundos, o eletrodo foi colocado em contato com a superfície do filme e o pH determinado após 1 minuto (tempo no qual não ocorre mais variação do pH).

4.2.5.7 Cor e Opacidade

Os filmes foram caracterizados em relação aos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e a opacidade utilizando-se colorímetro Miniscan XE (HunterLab), com iluminante D65, controlado pelo programa computacional *Universal Software*. A opacidade foi determinada de acordo com Sobral (1999) e calculada como a relação entre a opacidade do filme sobreposto ao padrão preto (P_{preto}) e a opacidade sobre o padrão branco (P_{branco}) de acordo com a Equação (2).

$$Opacidade = \frac{Y_{\text{preto}}}{Y_{\text{branco}}} \quad (2)$$

4.2.5.8 Morfologia

A morfologia (superfície e estrutura interna) dos filmes foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura utilizando-se um microscópio TM300 (Hitachi, Japan). Para avaliar as superfícies, as amostras foram fixadas à superfície do suporte utilizando-se fita adesiva dupla face. Para a análise da estrutura interna os filmes foram fraturados em nitrogênio líquido e fixados ao suporte, utilizando-se fita dupla face, de modo a facilitar a observação da fratura. As imagens foram capturadas utilizando-se um aumento de 3000x. A voltagem de aceleração foi fixada em de 5 kV e 15 kV para as análises da superfície e estrutura interna, respectivamente.

4.2.5.9 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A avaliação das interações entre os componentes do filme de desintegração oral foi realizada utilizando-se a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier de acordo com Vicentini *et al.* (2005). A análise das amostras foi conduzida em um espectrofotômetro Spectrum One (Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA),

sendo realizadas 16 varreduras para cada amostra na faixa espectral de 650 a 4000 cm^{-1} . A resolução utilizada foi igual a 2 cm^{-1} .

4.3 Análise Estatística

Todas as análises realizadas neste trabalho foram realizadas ao menos em triplicata. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SAS (Versão 9.2, SAS, Inc.). A diferença entre as médias foi determinada pelo teste de Duncan (intervalo de confiança de 95%).

5. Resultados e discussões

5.1 Caracterização da película de amendoim

Na Tabela 8 pode-se observar os resultados da composição centesimal da película de amendoim.

Tabela 8. Composição centesimal da película de amendoim.

Composição centesimal	g/100g de película de amendoim seca
Matéria seca	89,19 $\pm$ 0,34
Matéria mineral	2,22 $\pm$ 0,02
Proteína bruta	16,63 $\pm$ 0,33
Extrato etéreo	13,99 $\pm$ 0,33
Extrato não nitrogenado	47,00 $\pm$ 1,05
Fibra bruta	20,17 $\pm$ 0,41
Fibra em detergente ácido	37,75 $\pm$ 1,02
Fibra em detergente neutro livre de cinzas	54,63 $\pm$ 0,03
Hemicelulose	17,73 $\pm$ 0,21

Constanza *et al.* (2012) também realizaram a composição centesimal da película de amendoim e observaram valores de gordura, proteína, fibras e cinzas iguais a 19,67; 18,64; 18,12 e 2,15%, sendo esses valores similares aos verificados nesse estudo.

5.2 Caracterização do extrato da película de amendoim

5.2.1.1 Fenólicos totais, atividade antioxidante e teor de aflatoxinas

Visando-se minimizar a concentração de aflatoxinas no extrato de película de amendoim, quatro extrações diferentes foram estudadas, em que variou-se os parâmetros de processamento da matéria prima e o solvente de extração. Na Tabela 9 pode-se observar a concentração de compostos fenólicos, atividade antioxidante e aflatoxinas nos extratos liofilizados de película de amendoim.

Tabela 9. Concentração de fenólicos totais, atividade antioxidante (EC₅₀) e aflatoxinas no extrato liofilizado de pele de amendoim obtido a partir de diferentes condições de extração.

		Extração 1	Extração 2	Extração 3	Extração 4
		Película não selecionada ¹	Película selecionada ²	Película selecionada ²	Película selecionada ² e extrato filtrado ³
		Etanol 70%	Etanol 70%	Água	Etanol 70%
Fenólicos (mg EAG ^{**} /g EPA)		486,34 ± 6,64 ^c	648,54 ± 11,48 ^b	645,34 ± 13,34 ^b	718,57 ± 14,25 ^a
EC ₅₀ ^{***} (µg EPA/mL)		147,81 ± 1,49 ^b	158,66 ± 7,46 ^a	165,22 ± 3,73 ^{ab}	146,07 ± 8,37 ^b
Aflatoxinas (ng/g)	B1	15,40 ^a	0,75 ± 0,41 ^b	1,12 ± 0,50 ^b	0,37 ± 0,40 ^b
	B2	3,91	ND*	ND*	ND*
	G1	5,49 ^a	ND*	0,10 ± 0,15 ^b	0,24 ± 0,12 ^b
	G2	ND*	ND*	ND*	0,37 ± 0,65

*ND = não detectada (limite de detecção do método é igual a 0,2 ng/g); AGE = ácido gálico equivalente; EC₅₀: concentração de extrato de película de amendoim responsável por reduzir em 50% a o radical DPPH•, letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos; ¹ película de amendoim usada na extração nas mesmas condições em que foi recebida da beneficiadora (apresentava fragmentos de amendoim); ² película de amendoim após processo de seleção para remoção de fragmentos de amendoim presentes no material; ³ extrato filtrado em papel de filtro Whatman n°1 e membrana com fibra de vidro (Sartorius, 47 mm).

A concentração de fenólicos totais, nos extratos obtidos a partir da película selecionada, aumentou independente do solvente utilizado em relação ao extrato com a película não selecionada (Tabela 9). Provavelmente o aumento da concentração de fenólicos esta relacionado com o aumento da massa de película na extração, pois na extração sem

seleção prévia, grande parte da massa correspondia ao amendoim fragmentado, que possui densidade superior à película. A concentração de fenólicos totais não apresentou diferença significativa em função do tipo de solvente utilizado (água e álcool). Após filtração (papel de filtro e membrana fibra de vidro) o teor de fenólicos totais aumentou significativamente, possivelmente em função da retenção de resíduos oleosos presentes na amostra. A filtração realizada no extrato refrigerado facilitou a retenção do óleo, o que aumentou a porcentagem de fenólicos totais em massa do extrato de película de amendoim.

A atividade antioxidante calculada pelo EC₅₀ (concentração de extrato responsável por reduzir em 50% o radical DPPH[•]) apesar de algumas diferenças estatísticas manteve-se próxima em todos os casos.

Em relação à concentração de aflatoxinas, para a extração realizada com etanol 70% utilizando-se a película de amendoim *in natura* (mesmas condições que foi recebida da beneficiadora, Extração 1) verificou-se elevada concentração da aflatoxina B₁ (15,4 ng B₁/g de extrato seco). A *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 2014) classifica as aflatoxinas como pertencente à classe 1 (carcinógeno humano).

A seleção da matéria prima provocou grande redução no teor de aflatoxinas (Tabela 9), indicando que a elevada concentração de aflatoxina, observada na Extração 1 estava concentrada nos fragmentos de amendoim. No entanto, o solvente não interferiu significativamente na quantidade de aflatoxinas extraídas (Extração 2 e 3).

Não existe uma legislação específica para película de amendoim, mas o valor encontrado está abaixo da concentração de 20 µg de aflatoxinas (B₁+B₂+G₁+G₂)/kg de amendoim que a legislação prevê (Brasil, 2011). Contudo, é necessário evitar a presença de aflatoxinas na película através da aplicação de boas práticas agrícolas desde a produção do grão. Também podem ser estudadas alternativas de remoção de aflatoxinas como uso de adsorventes no processo de extração, por exemplo.

A partir dos resultados das três primeiras extrações, optou-se por usar a película selecionada e etanol como solvente para realização da extração, pois nessas condições houve baixo teor de aflatoxinas e bons resultados de fenólicos e atividade antioxidante. No entanto, ao aplicar o extrato de película de amendoim nos filmes de desintegração oral, notou-se a necessidade de acrescentar uma nova etapa de filtração. Logo, a Extração 4 foi padronizada como procedimento para obtenção do extrato de película de amendoim.

4.1.2 Cromatografia líquida de alta precisão com detector Diode Array (DAD)

Na Figura 6 pode-se observar o cromatograma do extrato da película de amendoim, no qual apenas a catequina e procianidina B₂ foram identificadas e quantificadas (Tabela 10).

Figura 6. Exemplo do cromatograma do extrato de película de amendoim obtido por cromatografia líquida de alta eficiência.

O cromatograma também indica a presença de outros compostos fenólicos na amostra, no entanto não foi possível identificá-los, pois grande parte dos compostos apresentaram espectro semelhante. Para melhor determinação dos compostos fenólicos é necessário

aperfeiçoar a metodologia, principalmente na etapa de preparo de amostra para que haja melhor resolução dos picos.

Tabela 10. Concentrações de catequina e procianidina B₂ do extrato de película de amendoim obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência.

Fenólicos	µg/mg de extrato	Tempo de retenção (minutos)
Catequina	0,68 ± 0,068	23,4
Procianidina B2	0,96 ± 0,044	28,3

5.3 Caracterização dos filmes de desintegração oral

5.3.1 Aspecto visual

Na Figura 7 podem-se observar os filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato de película de amendoim.

Os filmes sem adição de extrato de película de amendoim produzidos apenas com uma macromolécula (100:0 e 0:100) formaram filmes totalmente transparentes, enquanto as blendas (25:75, 50:50 e 75:25) foram opacos. Os filmes aditivados com extrato de pele de amendoim apresentaram coloração alaranjada sendo que a medida que se aumentou a concentração de extrato a coloração tornou-se mais intensa.

Figura 7. Filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) com diferentes concentrações de extrato etanólico de película de amendoim (C_{EPA}): (A) $C_{EPA} = 0/100$ g de solução filmogênica, (B) $C_{EPA} = 10/100$ g de solução filmogênica, (C) $C_{EPA} = 20/100$ g de solução filmogênica, (D) $C_{EPA} = 30/100$ g de solução filmogênica.

Em função das características visuais (Tabela 11) foram descartadas sete formulações (100:0 e 75:25 em quaisquer concentrações de extrato e 0:100 com 10% de extrato de película de amendoim) que apresentaram aparência visual inadequada e afetariam negativamente na aceitabilidade do consumidor. Desta forma, os filmes produzidos com as formulações descartadas não foram caracterizados.

As formulações de filmes de desintegração oral GEL:HPMC 100:0 e 75:25 aditivados com extrato de película de amendoim apresentaram partículas insolúveis aparentemente visíveis.

Tabela 11. Aspecto visual dos filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) com diferentes concentrações de extrato etanólico de película de amendoim (C_{EPA}, g de extrato líquido/100 g de solução filmogênica)

Rel. GEL:HPMC	C _{EPA}	Formação de filme	Homegeniedade	Presença de complexos insolúveis	Observação
100:0	0	Sim	Ruim	-	
	10	Sim	Ruim	+++	Descartada
	20	Sim	Ruim	++++	Descartada
	30	Sim	Ruim	+++++	Descartada
75:25	0	Sim	Boa	-	
	10	Sim	Boa	+	Descartada
	20	Sim	Boa	++	Descartada
	30	Sim	Boa	+++	Descartada
50:50	0	Sim	Boa	-	
	10	Sim	Boa	-	
	20	Sim	Boa	-	
	30	Sim	Boa	-	
75:25	0	Sim	Boa	-	
	10	Sim	Boa	-	
	20	Sim	Boa	-	
	30	Sim	Boa	-	
0:100	0	Sim	Boa	-	Descartada
	10	Sim	Ruim	-	
	20	Sim	Boa	-	
	30	Sim	Boa	-	

De acordo com Hagerman & Butler (1981), proantocianidinas ou taninos condensados têm grande afinidade com proteínas e se ligam formando complexos solúveis e insolúveis. Filmes com alta concentração de gelatina e extrato de película de amendoim apresentaram complexos insolúveis aparentes visualmente, possivelmente associados à presença de taninos do extrato que levaram a uma complexação e insolubilização da gelatina. Na Figura 8 podem ser observadas imagens dos filmes de desintegração oral obtidas utilizando-se microscópio (SZX7; Olympus, Tóquio, Japão) com uma câmera

acoplada (U-TVO.5XC-3, Japão) com aumento de 0,8 vezes para melhor visualização dos complexos insolúveis formados pela ligação de proteínas e taninos.

Os filmes de HPMC (0:100) adicionados de 10% de extrato de película de amendoim se mostraram heterogêneos por apresentarem separação de fase aparente entre macromolécula e extrato.

Figura 8. Imagens dos filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}= g/100g de solução filmogênica) obtidas utilizando-se microscópio (SZX7; Olympus, Tóquio, Japão) com uma câmera acoplada (U-TVO.5XC-3, Japão) com aumento de 0,8 vezes.

5.3.2 Propriedades Mecânicas

Na Tabela 12 podem-se observar os resultados de tensão na ruptura, alongação e módulo elástico dos filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato de película de amendoim.

Tabela 12. Propriedades mecânicas dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (EPA).

Relação GEL:HPMC	C _{EPA}	Tensão na Ruptura (MPa)	Elongação (%)	Módulo Elástico (MPa)
100:0	0	51,52 ± 4,07 ^A	2,82 ± 0,22 ^C	2153,16 ± 119,12 ^A
75:25	0	38,18 ± 2,28 ^B	2,66 ± 0,23 ^C	1628,40 ± 145,35 ^B
	0	33,90 ± 1,97 ^{Ca}	11,27 ± 1,43 ^{Ba}	1383,36 ± 65,4 ^{Ca}
50:50	10	25,14 ± 1,68 ^{Ab}	8,58 ± 1,57 ^{Ab}	1017,58 ± 134,45 ^{Ab}
	20	20,49 ± 1,31 ^{Bc}	3,27 ± 0,26 ^{Bc}	974,7364 ± 92,13 ^{Cb}
	30	12,30 ± 2,27 ^{Bd}	1,83 ± 0,47 ^{Bd}	798,10 ± 140,01 ^{Bc}
	0	30,92 ± 1,54 ^{CDa}	11,70 ± 0,84 ^{Aa}	1169,72 ± 83,55 ^{Da}
25:75	10	22,41 ± 2,49 ^{Ab}	3,74 ± 0,45 ^{Bb}	1000,32 ± 127,64 ^{Ab}
	20	21,32 ± 2,69 ^{Bb}	3,23 ± 0,46 ^{Bb}	1074,36 ± 119,90 ^{Bba}
	30	11,40 ± 2,07 ^{Bc}	1,73 ± 0,36 ^{Bc}	753,11 ± 153,57 ^{Bc}
	0	29,54 ± 0,95 ^{Da}	12,67 ± 1,28 ^{Aa}	1364,24 ± 118,19 ^{Ca}
0:100	20	26,63 ± 1,89 ^{Ab}	4,97 ± 0,41 ^{Ab}	1284,82 ± 110,04 ^{Aa}
	30	23,24 ± 2,56 ^{Ac}	3,82 ± 0,43 ^{Ac}	1100,33 ± 100,50 ^{Ab}

C_{EPA} = g de extrato/100g de solução filmogênica. Letras maiúscula diferentes, na mesma coluna para cada concentração de C_{EPA}, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes relações de gelatina e HPMC; letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada relações de gelatina e HPMC, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes C_{EPA}. Diferença entre médias obtidas através do teste Duncan, utilizando-se o programa computacional SAS.

Analisando os filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose sem adição de extrato de película de amendoim (Tabela 11) verificou-se que os filmes contendo apenas gelatina em sua formulação (100:0) apresentaram valores de tensão na ruptura e módulo elástico superiores e valores de alongação inferiores aos filmes contendo apenas HPMC. Por outro lado, o aumento da concentração de HPMC nos filmes de

desintegração oral provocou redução da tensão na ruptura e do módulo elástico e aumento da elongação.

Os filmes de HPMC apresentam maior elongação e menor tensão na ruptura possivelmente devido sua interação com plastificante. De acordo com Saringat *et al.*, (2005) os segmentos adjacentes de HPMC entremeiam o plastificante através da formação de pontes de hidrogênio dando mobilidade segmental ao material.

Os filmes de gelatina secos à temperaturas inferiores à temperatura de transição helix-coil (gelatina '*cold-cast*') são capazes de reconstruir parcialmente a estrutura terciária, ao passo que filmes secos acima do nível crítico de temperatura (gelatina '*hot-cast*') são completamente amorfos (Fraga & Willians, 1985). No entanto, a adição de plastificantes e umidade relativa intermediária (50 a 84%) aumenta ligeiramente a mobilidade da matriz de gelatina (Lukasik & Ludescher, 2006), melhorando suas propriedades mecânicas.

Para os filmes de desintegração oral com adição de extrato de película de amendoim verificou-se, de um modo geral, redução da tensão na ruptura, elongação e do módulo elástico dos filmes.

Filmes devem apresentar resistência suficiente para resistir a danos mecânicos durante a produção, manuseamento e aplicação (Yoo *et al.*, 2006), as quais são determinadas por avaliação das propriedades mecânicas. Por exemplo, filmes de desintegração oral devem apresentar valores relativamente elevados para tensão na ruptura e elongação na ruptura, mas um baixo módulo elástico (Peh & Wong, 1999). Logo, filmes com maior teor de HPMC (100:0) e concentrações intermediárias de extrato de película de amendoim ($C_{EPA} = 20\text{g de extrato}/100\text{g}$) são mais adequados para a aplicação.

5.3.3 Ângulo de contato

Na Tabela 13 podem-se observar os resultados de ângulo de contato para filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato de película de amendoim.

Tabela 13. Ângulo de contato dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (EPA).

Relação GEL:HPMC	C _{EPA}	Ângulo de contato (°)
100:0	0	104,53 ± 3,01 ^A
	75:25	84,06 ± 3,93 ^B
50:50	0	85,35 ± 2,18 ^{Bab}
	10	90,28 ± 5,21 ^{Aa}
	20	85,99 ± 6,83 ^{Aab}
	30	82,98 ± 3,77 ^{Ab}
	0	67,28 ± 5,99 ^{Cb}
25:75	10	77,24 ± 7,10 ^{Ba}
	20	76,62 ± 4,30 ^{Ba}
	30	78,42 ± 3,26 ^{Ba}
	0	54,30 ± 2,84 ^{Db}
0:100	20	67,17 ± 4,57 ^{Ca}
	30	68,20 ± 6,06 ^{Ca}

C_{EPA} = g de extrato/100g de solução filmogênica. Letras maiúscula diferentes, na mesma coluna para cada concentração de C_{EPA}, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes relações de gelatina e HPMC; letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada relações de gelatina e HPMC, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes C_{EPA}. Diferença entre médias obtidas através do teste Duncan, utilizando-se o programa computacional SAS.

Os filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose sem adição de extrato de película de amendoim apresentaram ângulo de contato entre 54,3 e 104,4°. Os filmes de HPMC (0:100) apresentaram menor ângulo de contato sugerindo maior afinidade com a água do que os filmes de gelatina.

A diferença de hidrofiliidade entre os dois polímeros pode ser explicada por suas estruturas químicas. A hidroxipropilmetilcelulose (Figura 9a) é um éter de celulose. A hidroxipropilmetilcelulose utilizada nesse estudo (Methocel E15) apresenta grau de substituição dos grupos metoxil e hidroxipropil de 29% e 8,5% (em massa), respectivamente (Colorcon, 2009). O grupo metoxil (-OCH₃) é o maior substituinte das unidades de

anidroglicose da celulose e, o grupo hidroxipropil ($-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$) contém ainda um grupo hidroxila secundário (Fahs *et al.*, 2010). Sua característica química o torna com grande afinidade pela água, devido ao número de hidroxilas presentes em sua estrutura. Dessa forma, as características químicas da hidroxipropilmetilcelulose favorecem sua afinidade pela água.

A gelatina (Figura 9b) contém principalmente glicina, prolina e 4-hidroxiprolina (para a gelatina da pele de porco 33%, 13% e 9%, respectivamente) (Fakirov & Bhattacharyya, 2007) nas quais estão presentes grupos polares (Karnnet *et al.*, 2005).

(a)

(b)

Figura 9. Estrutura química da (a) hidroxipropilmetilcelulose, onde $\text{R}=\text{H}$, $-\text{CH}_3$ ou $-(\text{OCH}_2\text{CHCH}_3)_x\text{OH}$ (Fahs *et al.*, 2010) e (b) gelatina (Peña *et al.*, 2010).

Apesar de ambos apresentarem grupos polares em sua estrutura, na hidroxipropilmetilcelulose esses grupos são mais representativos do que na gelatina, tornando-a mais hidrofílica. Portanto o aumento da concentração de hidroxipropilmetilcelulose nos filmes de desintegração oral provocou redução significativa do ângulo de contato em função da maior hidrofiliidade da hidroxipropilmetilcelulose.

Por outro lado, a incorporação do extrato da película de amendoim provocou aumento do ângulo de contato dos filmes em todas formulações analisadas sugerindo menor hidrofiliidade dos filmes com o princípio ativo. Apesar do extrato ter diminuído o ângulo de contato dos filmes, na maioria das formulações não houve diferença significativa quando variou-se a concentração do extrato de película de amendoim na formulação dos filmes. Provavelmente, houve alguma interação dos compostos fenólicos com grupos polares das macromoléculas (gelatina e hidroxipropilmetilcelulose), tornando-os menos susceptíveis à afinidade com água.

5.3.4 Tempo de Desintegração

Na Tabela 14 podem-se observar os resultados do tempo de desintegração para filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato de película de amendoim.

O tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral foi inferior a 60 segundos independente da formulação, classificando-os como de liberação rápida (Jyoti *et al.*, 2011).

Analisando-se os filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose sem adição de extrato de película de amendoim, verificou-se que o aumento da concentração de HPMC nos filmes reduziu o tempo de desintegração dos mesmos. A saliva é 99,5% água (Cohen & Khalaila, 2014), logo polímeros com maior afinidade pela água tendem a se desintegrar mais rápido. Os resultados obtidos para tempo de desintegração estão de acordo com os resultados observados para o ângulo de contato, que

indicam que os filmes com maior concentração de HPMC apresentam maior caráter hidrofílico.

Tabela 14. Tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).

Relação GEL:HPMC	C _{EPA}	Tempo de desintegração (s)
100:0	0	34,43 ± 3,19 ^A
	0	21,64 ± 0,81 ^B
75:25	0	19,86 ± 1,05 ^{BCb}
	10	25,15 ± 1,97 ^{Aa}
	20	25,94 ± 2,99 ^{Aa}
	30	27,41 ± 2,13 ^{Aa}
	0	18,17 ± 0,79 ^{Cb}
50:50	10	24,99 ± 1,72 ^{Aa}
	20	23,01 ± 1,80 ^{Aa}
	30	23,33 ± 1,66 ^{Aa}
	0	9,92 ± 0,63 ^{Db}
25:75	20	17,87 ± 1,77 ^{Ba}
	30	16,95 ± 1,52 ^{Ba}
	0	
0:100	20	
	30	

C_{EPA} = g de extrato/100g de solução filmogênica, Letras maiúscula diferentes, na mesma coluna para cada concentração de C_{EPA}, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes relações de gelatina e HPMC; letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada relações de gelatina e HPMC, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes C_{EPA}, Diferença entre médias obtidas através do teste Duncan, utilizando-se o programa computacional SAS.

A incorporação do extrato da película de amendoim provocou aumento significativo no tempo de desintegração quando comparados aos filmes controles para todas as formulações, independente da razão de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose. Apesar disso, não foram observadas diferenças significativas para uma mesma formulação quando variou-se a concentração de extrato de película de amendoim. O comportamento do tempo de desintegração dos filmes de desintegração oral incorporados com extrato de película de amendoim também estão coerentes com os de ângulo de contato.

5.3.5 Mucoadesividade

Na Tabela 15 podem-se observar os resultados de mucoadesividade para filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato de película de amendoim.

Comparando-se as diferentes relações de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose dos filmes de desintegração oral sem adição de extrato, a força de desprendimento foi maior para os filmes de hidroxipropilmetilcelulose (0:100).

Para ocorrer a mucoadesão os polímeros devem ter grupos funcionais que são capazes de formar ligações de hidrogênio com o muco e apresentar boa flexibilidade, pois as cadeias de polímero devem ser suficientemente flexível de modo a formar entrelaçamento com o maior número de pontes de hidrogénio possível (Park & Robinson, 1987). Os filmes de HPMC demonstraram melhor mucoadesividade, possivelmente porque apresentam hidroxilas que podem fazer ligações de hidrogênio com o muco, além de apresentarem maior flexibilidade.

A adição de extrato de película de amendoim diminuiu a mucoadesividade dos filmes independente da relação de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose. No caso da formulação 0:100, por exemplo, para a maior concentração de extrato de película de amendoim (30%) houve uma diminuição de aproximadamente 80% na força necessária para desprender filme e muco, implicando em menor mucoadesividade.

Tabela 15. Mucoadesividade dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (EPA).

Relação GEL:HPMC	C _{EPA}	Força de desprendimento (N)
100:0	0	0,519 ± 0,046 ^B
75:25	0	0,522 ± 0,018 ^B
50:50	0	0,436 ± 0,029 ^{Ca}
	10	0,114 ± 0,014 ^{Ab}
	20	0,115 ± 0,011 ^{Bb}
	30	0,161 ± 0,041 ^{Ab}
25:75	0	0,397 ± 0,032 ^{Ca}
	10	0,215 ± 0,012 ^{Bb}
	20	0,144 ± 0,027 ^{Bc}
	30	0,167 ± 0,020 ^{Abc}
0:100	0	0,870 ± 0,035 ^{Aa}
	20	0,323 ± 0,033 ^{Ab}
	30	0,158 ± 0,021 ^{Ac}

C_{EPA} = g de extrato/100g de solução filmogênica. Letras maiúscula diferentes, na mesma coluna para cada concentração de C_{EPA}, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes relações de gelatina e HPMC; letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada relações de gelatina e HPMC, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes C_{EPA}. Diferença entre médias obtidas através do teste Duncan, utilizando-se o programa computacional SAS.

5.3.6 pH de superfície

Na Tabela 16 pode-se observar os resultados de pH de superfície para filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato de película de amendoim. Apesar de algumas diferenças significativas, todas as formulações apresentaram pH de superfície próximo à neutralidade, independente da concentração de extrato de película de amendoim. Sugerindo, assim, que nenhuma das formulações testadas irá causar desconforto ou irritação na mucosa do consumidor, pois de acordo com Bottenberg *et al.* (1991), pH extremos podem causar irritação à mucosa bucal.

Tabela 16. pH de superfície dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).

Relação GEL:HPMC	C _{EPA}	pH superfície
100:0	0	6,51 ± 0,27 ^{AB}
	0	6,21 ± 0,05 ^B
75:25	0	6,73 ± 0,23 ^{Aab}
	10	6,54 ± 0,21 ^{Ab}
	20	6,88 ± 0,13 ^{Aa}
	30	6,73 ± 0,06 ^{Aab}
50:50	0	6,39 ± 0,17 ^{Aba}
	10	6,48 ± 0,16 ^{Aa}
	20	6,42 ± 0,10 ^{Ba}
	30	6,62 ± 0,14 ^{Aa}
25:75	0	6,57 ± 0,11 ^{Aba}
	20	6,36 ± 0,16 ^{Bb}
	30	6,39 ± 0,06 ^{Bab}
	30	6,39 ± 0,06 ^{Bab}

C_{EPA} = g de extrato/100g de solução filmogênica. Letras maiúscula diferentes, na mesma coluna para cada concentração de C_{EPA}, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes relações de gelatina e HPMC; letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada relações de gelatina e HPMC, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes C_{EPA}. Diferença entre médias obtidas através do teste Duncan, utilizando-se o programa computacional SAS.

5.3.7 Cor e Opacidade

Em relação aos parâmetros de cor (L*, a* e b*), para os filmes sem a adição de extrato, foram observadas algumas diferenças significativas em função da variação da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (Tabela 17), entretanto, não foi possível estabelecer uma correlação. Por outro lado, em relação a opacidade dos filmes sem incorporação de extrato (Tabela 17), verificou-se que os aos filmes à base de gelatina ou hidroxipropilmetilcelulose (100:0 e 0:100) apresentaram opacidade reduzida em relação aos filmes à base de blendas dos polímeros (75:25, 50:50 e 25:75). De acordo com Kundu *et al.* (2008) a opacidade é comum em caso de filmes de blendas heterogêneas em consequência da diferente dispersão da luz de cada fase.

Para os filmes com adição de extrato de película de amendoim, verificou-se que o aumento da concentração do extrato de película de amendoim, para as diferentes relações de

gelatina:hidroxipropilmetilcelulose, provocou diminuição de L* e aumento de a* e b*. Os resultados estão de acordo com a cor característica do extrato de película de amendoim.

Tabela 17. Luminosidade (*L), cromas (a* e *b) e opacidade dos filmes de desintegração oral de gelatina (GEL) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).

Relação GEL:HPMC	C _{EPA}	L*	a*	b*	Opacidade
100:0	0	90,27 ± 0,05 ^{AB}	-0,97 ± 0,04 ^{AB}	1,88 ± 0,12 ^B	0,17 ± 0,3 ^D
75:25	0	87,76 ± 1,39 ^C	-1,11 ± 0,09 ^C	2,05 ± 0,28 ^B	5,41 ± 0,34 ^A
	0	89,62 ± 0,44 ^{Ba}	-1,05 ± 0,02 ^{CBd}	2,62 ± 0,08 ^{Ac}	4,57 ± 0,30 ^{Bc}
50:50	10	83,39 ± 0,96 ^{Ab}	2,96 ± 0,28 ^{Ac}	12,96 ± 0,70 ^{Ab}	7,63 ± 0,56 ^{Aa}
	20	80,01 ± 1,57 ^{Bc}	4,98 ± 0,59 ^{Ab}	17,42 ± 1,28 ^{Aa}	6,13 ± 0,43 ^{Ab}
	30	78,54 ± 1,48 ^{Bc}	6,52 ± 1,14 ^{Aa}	19,54 ± 1,98 ^{Aa}	7,11 ± 0,65 ^{Aa}
	0	90,46 ± 0,29 ^{ABa}	-1,0 ± 0,02 ^{ABd}	2,38 ± 0,23 ^{Ad}	3,76 ± 0,13 ^{Cb}
25:75	10	84,73 ± 0,90 ^{Ab}	2,49 ± 0,14 ^{Ac}	11,57 ± 0,20 ^{Bc}	4,79 ± 0,58 ^{Ba}
	20	83,39 ± 0,54 ^{Ac}	3,54 ± 0,34 ^{Bb}	12,98 ± 0,74 ^{Cb}	4,61 ± 0,55 ^{Ba}
	30	79,42 ± 0,84 ^{Bd}	5,79 ± 0,28 ^{Aa}	20,02 ± 0,87 ^{Aa}	4,54 ± 0,18 ^{Bab}
	0	91,00 ± 0,16 ^{Aa}	-0,91 ± 0,01 ^{Ac}	1,40 ± 0,04 ^{Cc}	0,11 ± 0,01 ^{Dc}
0:100	20	85,27 ± 0,10 ^{Ab}	2,19 ± 0,08 ^{Cb}	15,10 ± 0,21 ^{Bb}	0,89 ± 0,06 ^{Cb}
	30	82,80 ± 0,21 ^{Ac}	3,66 ± 0,16 ^{Ba}	18,19 ± 0,38 ^{Aa}	1,78 ± 0,17 ^{Ca}

C_{EPA} = g de extrato/100g de solução filmogênica. Letras maiúscula diferentes, na mesma coluna para cada concentração de C_{EPA}, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes relações de gelatina e HPMC; letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para cada relações de gelatina e HPMC, indicam diferença significativa (p<0,05) entre as diferentes C_{EPA}. Diferença entre médias obtidas através do teste Duncan, utilizando-se o programa computacional SAS.

5.3.8 Morfologia

As micrografias das superfícies e da superfície interna dos filmes de desintegração oral à base de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose com e sem adição de extrato podem ser observadas nas Figuras 10, 11, 12 e 13. Para os filmes puros 100:0 e 0:100 as superfícies mostraram-se perfeitamente lisas, enquanto as blendas mostraram-se heterogêneas.

Em relação a estrutura interna dos filmes de desintegração oral, os filmes à base de polímeros puros apresentaram homogeneidade. A mistura dos dois polímeros provocou a formação de zonas de descontinuidades, que aumentaram a medida que aumentou-se a concentração de hidroxipropilmetilcelulose.

A adição de extrato provocou alterações nas estruturas internas e de superfície dos filmes. De modo geral, pode-se observar que a adição de extrato provocou diminuição das áreas de descontinuidade na estrutura interna dos filmes. Na superfície também pode-se notar o mesmo comportamento.

Figura 10. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC): (a) superfície 100:0, (b) superfície interna de filmes 100:0, (c) superfície 75:25, (d) superfície interna 75:25.

Figura 11. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral com relação gelatina: hidroxipropilmetilcelulose GEL:HPMC 50:50 com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}) expressas em g de extrato/ 100 g de solução filmogênica.: (a) superfície $C_{EPA} = 0$; (b) superfície interna $C_{EPA} = 0$, (c) superfície $C_{EPA} = 10$ (d) superfície interna $C_{EPA} = 10$, (e) superfície $C_{EPA} = 20$, (f) superfície interna $C_{EPA} = 20$, (g) superfície $C_{EPA} = 30$; (h) superfície interna $C_{EPA} = 30$.

Figura 12. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral com relação gelatina: hidroxipropilmetilcelulose GEL:HPMC 25:75 com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}) expresso em g de extrato/100 g de solução filmogênica.: (a) superfície $C_{EPA} = 0$; (b) superfície interna $C_{EPA} = 0$, (c) superfície $C_{EPA} = 10$ (d) superfície interna $C_{EPA} = 10$, (e) superfície $C_{EPA} = 20$, (f) superfície interna $C_{EPA} = 20$, (g) superfície $C_{EPA} = 30$; (h) superfície interna $C_{EPA} = 30$.

Figura 13. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície e superfície interna de filmes de desintegração oral com relação gelatina: hidroxipropilmetilcelulose GEL:HPMC 0:100 com diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}) expresso em g de extrato/ 100 g de solução filmogênica.: (a) superfície $C_{EPA} = 0$; (b) superfície interna $C_{EPA} = 0$, (c) superfície $C_{EPA} = 20$, (d) superfície interna $C_{EPA} = 20$, (e) superfície $C_{EPA} = 30$; (f) superfície interna $C_{EPA} = 30$.

5.3.9 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectro de absorção de infravermelho da hidroxipropilmetilcelulose apresenta banda na região 1400 e 900 cm^{-1} , sendo que o pico mais intenso representa vibrações fora de fase associadas com o grupo alquila substituído no anel cíclico contendo ligações de éter (Akinoshod *et al.*, 2013).

O espectro de absorção de infravermelho da gelatina apresenta quatro regiões típicas: 3600-2300 cm^{-1} (amida A), 1656-1644 cm^{-1} (amida I), 1560-1335 cm^{-1} (amida II) e 1240-670 cm^{-1} (amida III) (Hashim *et al.*, 2010). A banda da Amida III quase não aparece devido a perda do estado de tripla hélice durante a extração de gelatina à alta temperatura e a banda da amida A pode se fundir com a banda do CH_2 prevista para ocorrer em cerca de 2930 cm^{-1} quando a gelatina é extraída à alta temperatura (Muyonga *et al.*, 2004).

A Figura 14 apresenta os espectros de absorção de infravermelho para os filmes de desintegração oral sem adição de extrato. A formulação de gelatina (100:0) apresentou picos máximos em 1632 e 1544 cm^{-1} para amida I e amida II. Quando houve incorporação de HPMC houve um ligeiro deslocamento dos picos indicando possivelmente uma ligação entre os polímeros. Nas Figuras 15, 16 e 17 podem-se observar os espectros de absorção de infravermelho dos filmes de desintegração oral sem e com adição de extrato de película de amendoim para as diferentes relações de gelatina e hidroxipropilmetilcelulose. Na Figura 17, pode-se observar que não houve deslocamento nos picos de absorção máxima que correspondem ao HPMC (1051 cm^{-1}). Na Figura 15 e Figura 16, observou-se que os picos correspondentes à amida I e amida II apresentaram ligeiros deslocamentos, os quais podem estar associados a interação desses grupos com os polifenóis presentes no extrato.

Proantocianidinas ou taninos condensados tem grande afinidade com proteínas e se ligam formando complexos solúveis e insolúveis (Hagerman & Butler, 1981). Podem ocorrer diferentes interações entre gelatina e tanino como ligações de hidrogênio entre os grupos

hidroxila de tanino e os grupos polares de gelatina (amida e carbonilo do esqueleto peptídico) e interações hidrofóbicas entre núcleos aromáticos dos taninos e as cadeias laterais alifáticas e aromáticas dos aminoácidos proteína (Yi et al, 2006; Oh *et al.*, 1980).

Figura 14. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral em função da relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) sem adição de extrato de película de amendoim.

Figura 15. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral com relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) de 50:50 em diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).

Figura 16. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral com relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) de 25:75 em diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).

Figura 17. Espectros de absorção de infravermelho de filmes de desintegração oral com relação gelatina:hidroxipropilmetilcelulose (GEL:HPMC) de 0:100 em diferentes concentrações de extrato de película de amendoim (C_{EPA}).

Segundo Yi *et al.* (2006) a interação hidrofóbica é força motriz na reação entre taninos e gelatina. A formação dos complexos inicia-se com uma forte interação hidrofóbica em que os núcleos aromáticos das moléculas de tanino entram nas áreas hidrofóbicas da gelatina. Esse núcleo aromático do tanino permite a interação por pontes de hidrogênio com os grupos polares da gelatina. Em seguida, as áreas hidrofóbicas são formadas por taninos combinados com sítios das moléculas de proteína por ligação de hidrogênio e assim complexos de tanino e gelatina começam a precipitar (Yi *et al.*, 2006).

Na Figura 17, pode-se observar que não houve deslocamento da banda característica do HPMC nos espectros de absorção de infravermelho e nem houve aparecimento de nenhum novo pico, podendo indicar de que não houve interação química entre extrato e polímero.

6. Conclusões

O extrato de película de amendoim apresentou elevada atividade antioxidante e elevada concentração de compostos fenólicos. Entretanto os resultados indicaram a presença de aflatoxinas, embora esta seja inferior à concentração máxima permitida pela legislação.

De modo geral, a incorporação de hidroxipropilmetilcelulose nos filmes provocou alteração das propriedades funcionais dos mesmos melhorando propriedades mecânicas, aumentando hidroflicidade, mucoadesividade e reduzindo tempo de desintegração em relação aos filmes com gelatina em sua composição.

O extrato de película de amendoim devido a presença de taninos provocou formação de complexos insolúveis nos filmes de desintegração oral com alta concentração de gelatina. Nos filmes com menores concentrações de gelatina, a incorporação do extrato provocou redução das propriedades mecânicas, aumento do tempo de desintegração e diminuição da mucoadesividade dos filmes.

Os filmes de desintegração oral incorporados de extratos naturais podem ser uma forma inovadora de veiculação de compostos bioativos, pois podem impulsionar a disponibilidade de compostos bioativos naturais, uma vez que podem ser absorvidos na mucosa bucal sem passar pela primeira via hepática.

Dentre as formulações estudadas, o filme de hidroxipropilmetilcelulose com 20% de extrato de película de amendoim mostrou boas propriedades funcionais: baixo tempo de desintegração, boas propriedades mecânicas e nenhuma interação química entre polímero e princípio ativo (extrato) podendo ser uma boa alternativa para a administração dos compostos fenólicos da película de amendoim.

Referências

- Akhtar, S.; Khalid ,N.; Ahmed, I.; Shahzad, A.; Ansar, H.; Suleria, R. (2014). Physicochemical Characteristics, Functional Properties, and Nutritional Benefits of Peanut Oil: A Review, *Critical Reviews in, Food Science and Nutrition*, v. 54(12), p. 1562-1575.
- Akinoshod, H.; Hawkinsb, S.; Wicker, L. (2013). Hydroxypropyl methylcellulose substituent analysis and rheological Properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 98, p. 276– 281.
- Association of Official Analytical Chemists (1990). *Official Methods of Analysis*. 15 ed. Arlington: AOAC.
- ASTM. ASTM D 882 – 10 (2010). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, Filadélfia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Bala, R.; Pawar, P.; Khanna, S.; Arora, S. (2013). Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system. *Int J Pharm Investig.*, v.3(2), p.67–76
- Bansode, R. R; Randolph, P.; Hurley, S.; Ahmedna, M. (2012). Evaluation of hypolipidemic effects of peanut skin-derived polyphenols in rats on Western-diet. *Food Chemistry*, v. 135, p.1659–1666.
- Bansode, R.R., Randolph, P.; Ahmedna, M.; Hurley, S.; Hanner, T.; Baxter, S A. S., Johnston, T. A; Su, M.; Holmes, B. M., Yu, J.; Williams, L. L. (2014). Bioavailability of polyphenols from peanut skin extract associated with plasma lipid lowering function, *Food Chemistry*, v. 148, p. 24–29.
- Bergamaschi, K. B. (2010). Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento. Tese (doutorado) - Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP.

- Boddupalli, B. M.; Mohammed, Z. N. K.; Nath, R. A.; Banji, D. (2010) Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *J Adv Pharm Technol Res.* Oct-Dec; v. 1(4), p. 381–387.
- Borges, J. G.; Tagliamento, M.; Silva, A. G.; Sobral, P. J. A.; Carvalho, R. A. (2013). Development and characterization of orally-disintegrating films for propolis delivery. *Ciênc.Tecnol.Aliment.*, v. 33, p. 28-33.
- Bottenberg, P., Cleymaet, R., Muynck, C.D., Renon, J., Coomans, D., Slop, Y. (1991). Development and testing of bioadhesive, fluoride-containing slow release tablets for oral use. *J. Pharm. Pharmacol.* v. 43, p. 457–464.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, v. 28(1), p. 25–30.
- BRASIL, 2011. Resolução RDC N° 7, de 18 de fevereiro de 2011. *Diário Oficial da União e Seção 1*, n 37, 22 de fevereiro de 2011.
- Carrera-Bastos, P.; Fontes-Villalba, M.; O’Keefe, J. H.; Lindeberg, S.; Cordain, L. (2011) The western diet and lifestyle and diseases of civilization, *Research Reports in Clinical Cardiology*, v.2, p. 15–35.
- Chukwumah, Y., Walker, L., Vogler, B., Verghese, M. (2012). Profiling of bioactive compounds in cultivars of Runner and Valencia peanut market-types using liquid chromatography/APCI mass spectrometry, *Food Chemistry*, v. 132, p. 525–531.
- Chukwumah, Y.; Walker, L. T.; Verghese, M. (2009). Peanut Skin Color: A Biomarker for Total Polyphenolic Content and Antioxidative Capacities of Peanut Cultivars. *Int. J. Mol. Sci.*, v.10, p. 4941-4952.
- Colorcon (2009). Methocel – Product information: General Properties of METHOCEL™, Premium Cellulose Ethers, pi_methocel_gen_prop_v2_07_2009.

- Cohen M., Khalaila, R., Saliva pH as a biomarker of exam stress and a predictor of exam performance, *Journal of Psychosomatic Research* (2014).
- Constanza, K.E.; White B.L.; Davis J.P.; Sanders T.H.; Dean L.L. (2012). Value-added processing of peanut skins: antioxidant capacity, total phenolics, and procyanidin content of spray-dried extracts. *J Agric Food Chem.*, v. 60, p. 10776–10783.
- Daniel, M. (2006) *Medical Plants in Medicinal Plants Chemistry and Properties*, Science Publishers, p. 140–191.
- Daud, A. S.; Sapkal, N. P.; Bonde, M. N. Development of *Zingiber officinale* in oral dissolving films: effect of polymers on in vitro, in vivo parameters and clinical efficacy (2011). *Asian Journal of Pharmaceutics, Madhya Pradesh*, v. 5, n. 3, p. 183-189.
- Dixit, R.P. & Puthli, S.P. (2009). Oral strip technology: Overview and future potential. *Journal of Controlled Release*, v.139, p. 94–107.
- Duh, P. & Yen, G.(1997). Antioxidant Efficacy of Methanolic Extracts of Peanut Hulls in Soybean and Peanut Oils. *JAOCs*, Vol. 74(6), p. 745-748.
- Espín, J.C., García-Conesa, M.T.; Tomás-Barberá N.F.A., (2007). Nutraceuticals: Facts and fiction, *Phytochemistry*, v. 68, p. 2986–3008.
- Fahs, A. Brogly, M.; Bistac, S.; Schmitt, M. (2010). Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) formulated films: Relevance to adhesion and friction surface properties, *Carbohydrate Polymers*, v. 80, p. 105–114
- Fakirov, S., Bhattacharyya, D., (2007). *Handbook of Engineering Biopolymers. Homopolymers, Blends and Composites*. Carl Hanser Verlag, Munich.
- Fraga, N. & Williams, R. J.J. (1985) Thermal properties of gelatin films. *Polymer*, Volume v. 26(1), p. 113–118.

- Francisco, M. Dl. & Resurreccion, A.V.A., (2009a). Total phenolics and antioxidant capacity of heat-treated peanut skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 22, p. 16–24.
- Francisco, M. Dl. & Resurreccion, A.V.A., (2009b). Development of a reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) procedure for the simultaneous determination of phenolic compounds in peanut skin extracts. *Food Chemistry*, v. 117, p. 356–363.
- Galgut, J.M.; Ali. S.A., (2011). Effect and mechanism of action of resveratrol: a novel melanolytic compound from the peanut skin of *Arachis hypogaea*. *J Recept Signal Transduct Res.*, v. 31(5), p.374–380.
- Garsuch, V. & Breitzkreutz, J. (2010). Comparative investigations on different polymers for the preparation of fast-dissolving oral films. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 62, p. 539–545.
- Hagerman, A. E. & Butler, L. G. (1981). The Specificity of Proanthocyanidin-Protein Interactions. *The Journal Of Biological Chemistry*, v. 256 (9), p. 4444-4497.
- Hashim, D.M.; Cheman, Y.B.; Norakasha, R.; Shuhaimi, M.; Salmah, Y.; Syahariza, Z.A. (2010). Potencial use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins *Food Chemistry*, v.118, p. 856–860
- Hill, G. M. (2002) Peanut by-products fed to cattle. *Vet Clin Food Anim* v. 18, p. 295–315.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. (2014). Agents Classified by the *IARC Monographs*, Volumes 1–111, Last update: 17 October 2014.
- Juneja, L. R. ; Okubo, T .; Hung, P . Catechins in Natural Food Antimicrobial Systems Edited by A . S . Naidu, CRC Press.
- Jyoti, A., Gurpreet, S., Seema, S., & Rana, A. C. (2011). Fast dissolving films: A novel approach to oral drug delivery. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(12), p-69-74.

- Karen, H. D.; Patel, D. M; Jasakiya, A. R.; Patel, C. N. A Review on Oral Strip (2012). Am. J. PharmTech Res.; v. 2(3).
- Karnnet, S., Potiyaraj, P., Pimpan, V. (2005). Preparation and properties of biodegradable stearic acid-modified gelatin films. Polym. Degrad. Stabil., v. 90,p. 106–110.
- Kumar, S. V.; Gavaskar, B.; Sharan, G; Rao, Y. M. (2010) Overview on fast dissolving films.Int J Pharmacy and Pharm Sci, V. 2(3), p. 29-33.
- Kumria, R.; Goomber, G. Emerging trends in insulin delivery: Buccal route (2011). Journal of Diabetology; v.2(1).
- Kundu, J.; Patra, C.; Kundu, S.C. (2008). Design, fabrication and characterization of silk fibroin-HPMC-PEG blended films as vehicle for transmucosal delivery. Materials Science and Engineering C, v. 28, p. 1376–1380.
- Lou, H., Yamazaki, Y., Sasaki, T., Uchida, M., Tanaka, H., & Oka, S. (1999). A-type proanthocyanidins from peanut skins. Phytochemistry, v. 51, p. 297–308.
- Lukasik, K. V. & Ludesche, R. D. (2006). Molecular mobility in water and glycerol plasticized cold- and hot cast gelatin films, Food Hydrocolloid, v. 20, p. 96–105.
- Ma, Y.; Kerr, W. L.; Cavender, G. A.; Swanson, R. B.; Hargrove, J. L.; Pegg, R. B. (2013). Effect of peanut skin incorporation on the color, texture and total phenolics content of peanut butters. J. Food Process Eng., p. 316–328.
- Mahajan, A.; Chhabra, N.; Aggarwal, G. (2011) Formulation and Characterization of Fast Dissolving Buccal Films: A Review. Der Pharmacia Lettre, v. 3(1), p.152-165.
- Mishra, B.B. & Tiwari, V.K. (2011). Natural products: An evolving role in future drug discovery. European Journal of Medicinal Chemistry, v.46, p. 4769-4807.
- Morales, J. O.; McConville, J.T. (2011) Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 77, p. 187–199.

- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, v. 86, p. 325–332.
- Nagaraju, T.; Gowthami, R.; Rajashekar, M.; Sandeep, S.; Mallesham, M.; Sathish, D.; Kumar, Y. S. (2013). Comprehensive Review On Oral Disintegrating Films. *Current Drug Delivery*, v. 10, p. 96-108.
- Narang, N. & Sharma, J. (2011). Sublingual mucosa as a route for systemic drug delivery. *Int J Pharm Pharm Sci*, v. 3(2), p. 18-22.
- Nepote, V., Grosso, N., & Guzman, C. (2002). Extraction of antioxidant components from peanut skins. *Grasas y Aceites*, v. 53, p. 391–395.
- Nepote, V.; Grosso, N R; Guzán, C A. (2005). Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins. *J Sci Food Agric* v. 85, p. 33–38.
- Nepote, V.; Mestrallet, M.G.; Grosso, N.R. (2004). Natural Antioxidant Effect from Peanut Skins in Honey-roasted Peanuts. *Journal of Food Science*, v. 69 (7), p. 295–300.
- Oh, H.; Hoff, J. E; Armstrong, G. S. ; Haff, L. A. (1980). Hydrophobic Interaction in Tannin-Protein Complexes. *J. Agric. Food Chem.*, v.28, p. 394-398
- Panda, B.P; Dey, N.S; Rao , M.E.B (2012). Development of Innovative orally Disintegrating Film Dosage Form: A Review, *International journals of Pharmaceutical Science and Nanotechnology*, v. 5(2), p. 1668.
- Park, H & Robinson, JR. (1987) Mechanisms of mucoadhesion of poly(acrylic acid) hydrogels. *Pharm Res.*, v.4(6), p.457-64.
- Peh, K. K. & Wong, C. F. (1999). Polymeric films as vehicle for buccal delivery: swelling, mechanical, and bioadhesive properties, *Pharm Pharmaceut Sci*, v. 2 (2), p. 53-61.

- Peña, C.; Caba, K.; Eceiza, A.; Ruseckaite, R.; Mondragon, I. (2010). Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 6836–6842
- Prabhu, P.; Malli, R.; Koland, M; Vijaynarayana, K ; D’Souza, U.; Harish, N.M., Shastry, CS; Charyulu, RN. (2011). Formulation and evaluation of fast dissolving films of levocitrizine di hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, v.1(2).
- Saini, S.; Kumar, A.; Sharma, P.; Visht, S.(2012). Fast Disintegrating Oral Films: A Recent Trend of Drug Delivery. *Int. J. Drug Dev. & Res.*, v. 4 (4), p. 80-94
- Saringat, H. B.; Alfadol, K. I.; Khan, G. M. (2005) The influence of different plasticizers on some physical and mechanical properties of hydroxypropyl methylcellulose free films. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, v. 18(3), p.25-38.
- Scott, P.M. (1990) Natural poisons. In: HELRICH, K. (Ed). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), p. 1184-1213.
- Siddiqui, M.D. N.; Garg, G.; Sharma, P. K. (2011). A Short Review on “A Novel Approach in Oral Fast Dissolving. *Advances in Biological Research*, v.5 (6), p. 291-303.
- Silva, D. J.; Queiroz, A. C. (2002) *Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos*, 3. ed. Viçosa:UFV., p. 235.
- Singh, A.; Dubey, R.; Paliwal, R T; Saraogi, G. K; Singhai, A K. Nutraceuticals-an emerging era in the treatment and prevention of diseases, *Int J Pharm Pharm Sci*, v.4(4), p. 39-43.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods In Enzymology*, v. 299, p. 152-178.

- Smart, J. (2005) The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.57, p. 1556–1568.
- Sobolev, V., & Cole, R. J. (2003). Note on utilization of peanut seed testa. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 84, p. 105-111.
- Sobral, P. J. A. (1999) Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. *Ciência & Engenharia*, v. 8(1), p. 60-7.
- Takano, F; Takata, T.; Yoshihara, A. Nakamura, Y.; Arima, Y ; Ohta, T. (2007). Aqueous Extract of Peanut Skin and Its Main Constituent Procyanidin A1 Suppress Serum IgE and IgG1 Levels in Mice-Immunized with Ovalbumin, *Biol. Pharm. Bull.*, v. 30(5), p. 922—927.
- Tamura T, Inoue N, Ozawa M, Shimizu-Ibuka A, Arai S, Abe N, Koshino H, Mura K, 2012. Peanut-skin polyphenols, procyanidin A1 and epicatechin-(4 β $\rightarrow$ 6)-epicatechin-(2 β $\rightarrow$ O $\rightarrow$ 7, 4 β $\rightarrow$ 8)-catechin, exert cholesterol micelle-degrading activity in vitro. *Biosci Biotechnol Biochem.*, v. 77(6), p. 1306-9.
- Tatsuno T, Jinno M, Arima Y, Kawabata T, Hasegawa T, Yahagi N, Takano F, Ohta T., 2012 Anti-inflammatory and anti-melanogenic proanthocyanidin oligomers from peanut skin. *Biol Pharm Bull.*, v. 35(6), p. 909-16.
- Tomochika, K, Shimizu-Ibuka, A, Tamura, T, Mura, K, Abe N, Onose J, Arai S. 2011 Effects of peanut-skin procyanidin A1 on degranulation of RBL-2H3 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.*, v. 75(9), p. 1644-8.
- Tsujita, T.; Shintani, T.; Sato, H. (2014) Preparation and characterisation of peanut seed skin polyphenols, *Food Chemistry*, v. 151, p.15–20.
- USDA - United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. Production, Supply and Distribution. Disponível em <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. Acesso em 22 de julho de 2014.

- USDA - United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. Production, Supply and Distribution. Disponível em <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4800?fg=&man=&lfacet=&format=Abridged&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=peanut>>. Acesso em 04 de fevereiro de 2015.
- Van Soest, P. J. (1967) Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. *Journal of Animal Science*, v. 26(1), p. 119-128.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B.; Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. In: *Symposium Carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle*. *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 3583-3797.
- Vicam, LP Aflatest (1999). Instruction manual. Watertown, MA USA.
- Vicentini, N. M. *et al.* (2005). Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. *Spectroscopy Letters*, New York, v. 38(6), p. 749-767.
- West, J.W.; Hill, G.M.; Utley, P.R. (1993) Peanut Skins as a Feed Ingredient for Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, v. 76 (2), p. 590–599.
- White B.I., Gökce E, Nepomuceno A.I., Muddiman D.C., Sanders T.H., Davis J.P. (2013) Comparative Proteomic Analysis and IgE Binding Properties of Peanut Seed and Testa (Skin). *J Agric Food Chem.*, v. 61, p. 3957–3968.
- Wong, C. F.; Yuen, K. H.; Peh, K. K. (1999) Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 178, p. 11–22.
- Wu, B.; Kulkarni, K.; Basu, S.; Zhang, S.; Hu, M (2011). First-Pass Metabolism via UDP-Glucuronosyltransferase: a Barrier to Oral Bioavailability of Phenolics, *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, v. 100(9), p. 3654-3681.

- Yi, K., Cheng, G., Xing, F. (2006). Gelatin/tannin complex nanospheres via molecular assembly. *J. Appl. Polym. Sci.* v. 101, p. 3125–3130.
- Yoo, J.; Dharmala, K.; Lee, C. H. (2006). The physiodynamic properties of mucoadhesive polymeric films developed as female controlled drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 309, p.139–145.
- Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, v. 90(1–2), p. 199–206.
- Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I., & Dai, J. (2006). Peanut skin procyanidins: Composition and antioxidant activities as affected by processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 19(4), p. 364–371.
- Yu, J.; Ahmedna, M.; Goktepe, I (2010). Potential of peanut skin phenolic extract as antioxidative and antibacterial agent in cooked and raw ground beef. *International Journal of Food Science & Technology*, v.45 (7), p. 1337–1344.
- Zhang H, Ye R, Yang Y, Ma C.(2013). Structures, Antioxidant and Intestinal Disaccharidase Inhibitory Activities of A-type Proanthocyanidins from Peanut Skin. *J Agric Food Chem.*, v. 18;61(37), p. 8814-20.