



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA**



ESTHER EMILY SILVA FREITAS

**EFEITO DA NANOENCAPSULAÇÃO DE FRAÇÃO RICA EM
FLAVONOIDES DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE
Malpighia emarginata DC (ACEROLA) EM FILMES ATIVOS
ANTIOXIDANTES**

Feira de Santana, BA
2025

ESTHER EMILY SILVA FREITAS

**EFEITO DA NANOENCAPSULAÇÃO DE FRAÇÃO RICA EM
FLAVONOIDES DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE
Malpighia emarginata DC (ACEROLA) EM FILMES ATIVOS
ANTIOXIDANTES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da
Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito para
obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dr.^a Geany Peruch Camilloto.

Coorientador: Prof. Dr. Alessandro Branco.

Feira de Santana, BA
2025

F936e

Freitas, Esther Emily Silva

Efeito da nanoencapsulação de fração rica em flavonoides do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata* DC (acerola) em filmes ativos antioxidantes / Esther Emily Silva Freitas. – 2025. 105 f.: il.

Orientador: Geany Peruch Camilloto

Coorientador: Alexsandro Branco.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Feira de Santana, 2025.

1. Acerola. 2. Compostos bioativos. 3. Antioxidante natural. 4. Preservação de alimentos. 5. Nanopartículas. I. Camilloto, Geany Peruch, orient. II. Branco, Alexsandro, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU 634.3

ESTHER EMILY SILVA FREITAS

Efeito da nanoencapsulação de fração rica em flavonoides do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata* DC (acerola) em filmes ativos antioxidantes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de doutor, tendo sido aprovada pelos membros signatários abaixo.

Feira de Santana, Bahia, 28 de março de 2025.

Documento assinado digitalmente
 **GEANY PERUCH CAMILLOTO**
Data: 29/03/2025 17:26:29-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Orientadora: Profa. Dra. **Geany Peruch Camilloto**

UEFS

Documento assinado digitalmente
 **MARILIA LORDELO CARDOSO SILVA**
Data: 29/03/2025 21:04:02-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Profª. Drª. **Marília Lordêlo Cardoso Silva**

UEFS

Documento assinado digitalmente
 **MIRIANE MOREIRA FERNANDES SANTOS**
Data: 29/03/2025 21:29:11-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Profª. Drª. **Miriane Moreira Fernandes Santos**

UEFS

Documento assinado digitalmente
 **GUILHERME AUGUSTO FERREIRA**
Data: 30/03/2025 10:54:15-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Prof. Dr. **Guilherme Augusto Ferreira**

UFBA

Documento assinado digitalmente
 **LUCAS GUIMARAES CARDOSO**
Data: 30/03/2025 10:12:26-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Prof. Dr. **Lucas Guimarães Cardoso**

UFBA

Dedico este trabalho a Jeová Deus, por me sustentar e guiar em cada passo desta jornada, e aos meus pais, Selma e Carlito, pelo encorajamento constante e apoio incondicional dedicados a mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Jeová Deus pela saúde, pela oportunidade concedida e por ter colocado em meu caminho pessoas boas que me apoiaram para que este projeto se concretizasse.

Aos meus grandes incentivadores e exemplos, meus pais, Selma e Carlito (a quem a saudade é infinita e a lembrança, diária), sou grata pelo amor incondicional e por todos os esforços dedicados a mim.

À minha família, agradeço pelo apoio, especialmente ao meu marido, Myshell, por ser companheiro e compreensivo; ao meu bebê, Myshelzinho, por ser minha motivação e alegria; às minhas irmãs, Beatriz e Quezia, por estarem sempre dispostas a ajudar e torcer por mim; e à minha sogra e minha avó, Sira e Terezinha, por todo apoio e carinho.

À minha querida orientadora, Geany, sempre atenciosa e paciente, agradeço pelo conhecimento compartilhado, pelos esforços dedicados para a concretização desta pesquisa, por acreditar no meu potencial e por me proporcionar a oportunidade que resultou nesta tese.

Ao meu coorientador, Alexsandro, agradeço pela confiança em me conceder mais uma oportunidade e por contribuir para a realização desta pesquisa.

A todos os meus colegas do LABEA e do LABFITO, pelos grandes momentos e pelo aprendizado, expresso minha gratidão. Em especial, a Mara, Lais, Sthephane e Geise agradeço pela parceria e amizade.

Aos professores da UEFS, agradeço pelo apoio, especialmente a Renato, Ernesto, Hugo e Taís e por serem sempre solícitos.

Aos professores doutores da banca, Angélica, Miriane, Lucas, Guilherme, Marília e Elaine, agradeço pela disposição e por contribuírem com este trabalho.

À empresa de processamento de frutas Brasfrut, agradeço pela doação do resíduo de acerola. À empresa Purolite, agradeço por ceder a resina de adsorção, e à empresa Kuraray Poval, por fornecer a resina de poli(álcool vinílico) (PVOH), ambos materiais essenciais para a realização desta pesquisa.

À CAPES, agradeço pela concessão da bolsa, a qual foi essencial para o financiamento da pesquisa.

À UEFS, expresso minha gratidão por ser um ambiente acolhedor e aos funcionários envolvidos em sua manutenção.

A todos que contribuíram, o meu muito obrigada!

Gratidão!

“Levanto os meus olhos para os montes. De onde virá a minha ajuda?

Minha ajuda vem de Jeová, Aquele que fez o céu e a terra.”

Salmo 121:1-2; Bíblia Sagrada.

RESUMO

A incorporação de antioxidantes naturais em embalagens ativas é uma estratégia eficaz para mitigar a oxidação e preservar a qualidade dos alimentos. Nanopartículas são amplamente utilizadas para melhorar a dispersibilidade, estabilidade e eficácia desses antioxidantes em materiais de embalagem. Este estudo desenvolveu filmes antioxidantes de poli(álcool vinílico) (PVOH) incorporados com uma fração rica em flavonoides (FLA), obtida do extrato dos resíduos de *Malpighia emarginata* D.C (acerola) - (ERME), na forma livre e nanoencapsulada. A resina PuroSorb PAD950 foi aplicada para enriquecer flavonoides do ERME e em seguida, avaliou-se a sua nanoencapsulação utilizando nanocápsulas (NC), lipossomas (LP) e nanogéis (NG). A resina apresentou alta capacidade de adsorção ($19,20 \pm 0,93$ mg/g), com taxas de adsorção e dessorção de $74,83 \pm 1,80\%$ e $96,76 \pm 4,67\%$, respectivamente. O processo dinâmico produziu uma fração rica em flavonoides (FLA) com enriquecimento de flavonoides de até 20 vezes e atividade antioxidante aprimorada (7,8, 9,9 e 6,7 vezes nos ensaios DPPH, ABTS e FRAP), em comparação com o ERME bruto. FLA-LP apresentou o menor tamanho de partícula ($103,4 \pm 5,6$ nm) e o maior potencial zeta ($-54,87 \pm 1,21$ mV), enquanto FLA-NC apresentou o menor PDI ($0,0848 \pm 0,0166$) e a maior eficiência de encapsulamento ($81,43 \pm 0,98\%$). FLA-LP e FLA-NG melhoraram ainda mais a capacidade antioxidante em comparação com a fração não encapsulada. Os nanoencapsulados exibiram propriedades físicas adequadas para aplicações práticas e os resultados demonstraram atividade antioxidante aprimorada em comparação com a FLA livre. As FLA-NC foram selecionadas para aplicação aos filmes de PVOH, por apresentarem boas propriedades e a melhor compatibilidade com a solução filmogênica. Os filmes de PVOH foram produzidos pela técnica “casting”. Após a obtenção dos filmes de PVOH, controle (FC) e formulações com 1% (m/m) de FLA livre (FL) e nanoencapsulada (FN). Estes foram caracterizados quanto à migração dos flavonoides em meios simulantes e suas propriedades antioxidantes, mecânicas, de barreira, térmicas, estruturais e ópticas. A incorporação de FLA, livre e de suas nanopartículas, reduziu a cristalinidade dos filmes FL e FN, resultando em menor resistência à tração e maior permeabilidade ao vapor de água. Além disso, os filmes apresentaram maior opacidade, índice de amarelamento e proteção contra radiação UV-visível. As propriedades térmicas sofreram pequenas alterações, sem comprometer a aplicabilidade. Além disso, a incorporação bem-sucedida da fração rica (livre e nanoencapsulada) ampliou a funcionalidade antioxidante dos filmes, com destaque para FN, que promoveu a liberação controlada dos compostos bioativos. Esse comportamento reforça o potencial dos filmes desenvolvidos para embalagens ativas, especialmente na preservação de alimentos suscetíveis à oxidação.

Palavras-chave: Resíduos de *Malpighia emarginata* DC; Compostos bioativos; Atividade Antioxidante; Enriquecimento; Embalagem Ativa; Nanopartículas.

ABSTRACT

The incorporation of natural antioxidants into active packaging is an effective strategy to mitigate oxidation and preserve food quality. Nanoparticles are widely used to improve the dispersibility, stability and efficacy of these antioxidants in packaging materials. This study developed polyvinyl alcohol (PVOH) antioxidant films incorporated with a flavonoid-rich fraction (FLA), obtained from the *Malpighia emarginata* D.C (acerola) pomace extract - (MEPE) residues, in free and nanoencapsulated form. PuroSorb PAD950 resin was applied to enrich flavonoids from MEPE and then their nanoencapsulation using nanocapsules (NC), liposomes (LP) and nanogels (NG) was evaluated. The resin showed high adsorption capacity (19.20 ± 0.93 mg/g), with adsorption and desorption rates of $74.83 \pm 1.80\%$ and $96.76 \pm 4.67\%$, respectively. The dynamic process produced a flavonoid-rich fraction (FLA) with flavonoid enrichment up to 20-fold and enhanced antioxidant activity (7.8-, 9.9-, and 6.7-fold in DPPH, ABTS, and FRAP assays) compared to crude MEPE. FLA-LP showed the smallest particle size (103.4 ± 5.6 nm) and the highest zeta potential (-54.87 ± 1.21 mV), while FLA-NC showed the lowest PDI (0.0848 ± 0.0166) and the highest encapsulation efficiency ($81.43 \pm 0.98\%$). FLA-LP and FLA-NG further improved the antioxidant capacity compared to the non-encapsulated fraction. The nanoencapsulates exhibited suitable physical properties for practical applications and the results demonstrated enhanced antioxidant activity compared to free FLA. FLA-NC were selected for application to PVOH films because they showed good properties and the best compatibility with the film-forming solution. The PVOH films were produced by the casting technique. After obtaining the PVOH films, control (FC) and formulations with 1% (w/w) of free FLA (FL) and nanoencapsulated (FN). These were characterized regarding the migration of flavonoids in simulant media and their antioxidant, mechanical, barrier, thermal, structural and optical properties. The incorporation of free FLA and its nanoparticles reduced the crystallinity of the FL and FN films, resulting in lower tensile strength and greater permeability to water vapor. In addition, the films presented greater opacity, yellowing index and protection against UV-visible radiation. The thermal properties underwent minor changes, without compromising the applicability. In addition, the successful incorporation of the rich fraction (free and nanoencapsulated) expanded the antioxidant functionality of the films, with emphasis on FN, which promoted the controlled release of bioactive compounds. This behavior reinforces the potential of the films developed for active packaging, especially in the preservation of foods susceptible to oxidation.

Keywords: *Malpighia emarginata* DC pomace; Bioactive compounds; Antioxidant activity; Enrichment; Active packaging; Nanoparticles.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL		10
REFERÊNCIAS		14
CAPÍTULO 1	Adsorção e nanoencapsulação: estratégias inovadoras para recuperação e proteção de flavonoides do resíduo agroindustrial de <i>Malpighia emarginata</i> DC. (acerola)	16
1.	Introdução	20
2.	Materiais e Métodos	23
3.	Resultados e Discussão	34
4.	Conclusão	49
	Referências	50
	Apêndice	60
CAPÍTULO 2	Filmes antioxidantes à base de poli(álcool vinílico) (PVOH) ativados por uma fração rica em Flavonoides do Resíduo de <i>Malpighia emarginata</i> D.C. livre e nanoencapsulada	61
1.	Introdução	65
2.	Materiais e Métodos	68
3.	Resultados e Discussão	75
4.	Conclusão	94
	Referências	95
CONCLUSÃO GERAL		105

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola. Essa fruta é amplamente cultivada em todas as regiões do país, com menos intensidade no Sul, por ser uma região com temperatura média anual mais baixa que as demais. Devido às condições climáticas, condições de solo e à adaptação da aceroleira, a produção em larga escala concentra-se no Nordeste brasileiro (CARNEIRO FERREIRA *et al.*, 2021; SANTOS; LIMA, 2020). De acordo com o censo agropecuário de 2017, a Região Nordeste foi responsável por 64% da produção nacional de acerola, com destaque para os estados de Pernambuco, Ceará e Sergipe, que produziram, respectivamente, 21.351, 7.578 e 5.427 toneladas (IBGE, 2017).

Essa matéria-prima desperta o interesse de diversas empresas multinacionais devido ao seu alto potencial como fonte natural de vitamina C. Empresas como Dupont, Döhler, Duas Rodas, Amway e Diana Foods oferecem produtos de acerola para diversas aplicações industriais, incluindo alimentos e suplementos nutracêuticos, como comprimidos para ingestão diária (POLETTTO *et al.*, 2021). Esses produtos são amplamente utilizados para reforçar a resposta imunológica, o potencial antioxidante e necessidades nutricionais humanas (BELWAL *et al.*, 2018).

O processamento da acerola resulta em variados produtos, como polpas, sucos e geleias, mas também gera subprodutos, como sementes, cascas e bagaços, que frequentemente são descartados como resíduos orgânicos. De acordo com Duzzioni *et al.* (2013), cerca de 40% do volume da fruta é desperdiçado, contribuindo para o aumento da geração de resíduos e impactos ambientais negativos. No entanto, esses resíduos representam uma valiosa fonte de macronutrientes e compostos bioativos, ricos em antioxidantes, incluindo compostos fenólicos, carotenoides e vitamina C (POLETTTO *et al.*, 2021).

Ademais, a busca por estratégias de reaproveitamento sustentável dos resíduos agrícolas tem se intensificado, visando agregar valor aos compostos bioativos neles presentes (REZENDE, NOGUEIRA e NARAIN, 2018; GOMES *et al.*, 2020). Carvalho Gualberto *et al.* (2021) destacaram que os resíduos de acerola possuíam o maior rendimento de fenólicos totais, bem como atividade antioxidante em relação aos resíduos agroindustriais estudados, entres estes os de goiaba (*Psidium guajava* L.), de jenipapo (*Genipa americana* L.) e de umbu (*Spondias tuberosa* L.). Os resultados obtidos por Gomes *et al.* (2020) também mostraram que os subprodutos do processamento industrial da acerola podem ser utilizados para a obtenção de compostos ativos com alta capacidade antioxidante.

Entre esses compostos, os flavonoides são o principal grupo fenólico encontrado no extrato do resíduo da acerola. A peonidina 3-glicosídeo foi encontrada em maior teor, seguida por hesperidina, procianidina B2, quercetina 3-glicosídeo e kaempferol 3-glicosídeo (GOMES *et al.*, 2020). Rezende, Nogueira e Narain (2018) também destacaram a presença dos flavonoides, evidenciando que o resíduo de acerola representa uma fonte potencial desses compostos bioativos, caracterizados como antioxidantes naturais. A obtenção dos flavonoides, a partir de resíduos agroindustriais além de valorizar recursos de baixo valor agregado, representam uma alternativa ao uso de antioxidantes sintéticos para fins de conservação de alimentos, atendendo à crescente demanda por produtos naturais e seguros (FREITAS *et al.*, 2022).

Para a obtenção dos flavonoides a partir do extrato dos resíduos de *Malpighia emarginata* D.C. (ERME), a adsorção pode ser utilizada para purificar, concentrar ou estabilizar os flavonoides presentes em extratos vegetais, bem como para remover contaminantes indesejados. Esse processo é comumente aplicado para a recuperação e/ou separação de compostos bioativos. Nesta técnica os compostos bioativos são adsorvidos por interação eletrostática, onde os compostos ionizados são retidos na superfície de um sólido por ligação física (LUIZA KOOP *et al.*, 2022).

Existem muitas limitações para a aplicação de extratos de compostos bioativos em produtos alimentícios, incluindo sua baixa estabilidade, que é influenciada por solventes, pH, temperatura, oxigênio, luz e enzimas (ÇAM; İÇYER; ERDOĞAN, 2014). Para superar essas limitações, diversas estratégias de estabilização são empregadas, sendo a nanoencapsulação uma das mais promissoras. Essa técnica consiste no revestimento de compostos bioativos por materiais encapsulantes em escala nanométrica, proporcionando proteção contra fatores ambientais e liberação controlada dos compostos ativos (ASSADPOUR; JAFARI, 2019; LUIZA KOOP *et al.*, 2022). Por isso, a nanoencapsulação tem sido amplamente usada para melhorar a estabilidade e solubilidade de ingredientes pouco solúveis em água, usados como materiais internos, e pode ser usada para mascarar aromas e sabores desagradáveis na indústria alimentícia (REZA MOZAFARI *et al.*, 2008).

Neste contexto, a estratégia da nanoencapsulação dos compostos antioxidantes obtidos do ERME por adsorção, pode ser aplicada aos sistemas de embalagens ativas para alimentos, que se baseiam na interação com a superfície do alimento e os aditivos incorporados no material da embalagem são liberados gradativamente na matriz alimentar (YILDIRIM *et al.*, 2018). Os antioxidantes podem ser incorporados em nanopartículas para aumentar sua dispersibilidade, estabilidade e eficácia em materiais de embalagem, além disso podem controlar a retenção e

liberação desses antioxidantes, promovendo a inibição da oxidação durante o armazenamento (CHENG et al., 2024).

Nesse sentido, os compostos antioxidantes do (ERME) nanoencapsulados podem atuar como aditivo antioxidante no desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes, que são geralmente empregadas para alimentos ricos em lipídeos. Em que, os aditivos antioxidantes são aplicados para melhorar a estabilidade oxidativa destes alimentos (YILDIRIM *et al.*, 2018). Além disso, são uma das tecnologias mais promissoras para preservar alimentos sensíveis à oxidação, através da adição de compostos antioxidantes, como os presentes na fração rica em flavonoides do ERME, aos materiais de embalagem. Entre os polímeros utilizados no desenvolvimento das embalagens ativas, o poli(álcool vinílico) (PVOH) vêm recebendo destaque na literatura devido às suas características, como solubilidade em água, estabilidade química, biocompatibilidade, biodegradabilidade, além de não ser tóxico (COOPER, 2013; OUN *et al.*, 2022).

Diante da necessidade de prolongar a estabilidade oxidativa de alimentos durante o armazenamento e da crescente preocupação com o reaproveitamento de resíduos agroindustriais, este estudo visa o desenvolvimento de filmes antioxidantes à base de PVOH, incorporando nanopartículas de uma fração rica em flavonoides (FLA) extraída de resíduos de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). Para isso, foram utilizadas técnicas de enriquecimento por adsorção e estabilização dos flavonoides por nanoencapsulação. Por fim, foi investigado o efeito da incorporação das nanopartículas nos filmes de PVOH, avaliando seu impacto nas propriedades estruturais e funcionais dos filmes desenvolvidos. Além disso, a pesquisa abre perspectivas para estudos futuros sobre a aplicação dos filmes na conservação de alimentos suscetíveis à oxidação, como óleos vegetais, visando aumentar sua vida útil.

OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto da incorporação de nanopartículas de uma fração rica em flavonoides, obtida do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata* D.C, nas propriedades de filmes à base do polímero de poli(álcool vinílico).

Objetivos específicos

- Obter o extrato hidroetanólico do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata* D.C. (ERME);
- Enriquecer os flavonoides do extrato do ERME, por meio da técnica de adsorção em resina macroporosa;
- Identificar os flavonoides do extrato do ERME;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos flavonoides purificados;
- Produzir nanopartículas carregadas com os flavonoides selecionados;
- Caracterizar e avaliar a eficiência de nanoencapsulação das nanopartículas obtidas;
- Avaliar as propriedades físicas e antioxidantes das nanopartículas contendo os flavonoides;
- Produzir filmes à base de poli(álcool vinílico) (PVOH) incorporados com os flavonoides livres e com os nanoencapsulados;
- Caracterizar os filmes quanto às propriedades antioxidantes, mecânicas, de barreira, térmicas, estruturais e ópticas;
- Avaliar a liberação dos flavonoides dos filmes em meios simulantes alimentícios.

REFERÊNCIAS

- ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Nanoencapsulation. Em: **Nanomaterials for Food Applications**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 35–61.
- BELWAL, T. et al. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 74, p. 99–106, abr. 2018.
- ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 117–123, jan. 2014.
- CARNEIRO FERREIRA, I. et al. Brazilian varieties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) produced under tropical semi-arid conditions: Bioactive phenolic compounds, sugars, organic acids, and antioxidant capacity. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 8, ago. 2021.
- CARVALHO GUALBERTO, N. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities in the agro-industrial residues of acerola (*Malpighia emarginata* L.), guava (*Psidium guajava* L.), genipap (*Genipa americana* L.) and umbu (*Spondias tuberosa* L.) fruits assisted by ultrasonic or shaker extraction. **Food Research International**, v. 147, p. 110538, set. 2021.
- CHENG, H. et al. Recent advances in the application of nanotechnology to create antioxidant active food packaging materials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 64(10), 2890-2905. 2024.
- COOPER, T. A. Developments in plastic materials and recycling systems for packaging food, beverages and other fast-moving consumer goods. In **Trends in Packaging of Food, Beverages and Other Fast-Moving Consumer Goods** (FMCG), pp. 58–107, 2013.
- DUZZIONI, A. G. et al. Effect of drying kinetics on main bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue. **International Journal of Food Science & Technology**, 48(5), 1041–1047, 2013.
- FREITAS, P. A. V. et al. Antioxidant poly (lactic acid) films with rice straw extract for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, p. 101003, dez. 2022.
- GOMES, A. C. A. et al. Coatings with chitosan and phenolic-rich extract from acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) or jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) processing by-product to control rot caused by *Lasiodiplodia* spp. in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 331, p. 108694, out. 2020.
- IBGE. **Censo agro 2017**. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/acerola/br>>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- LUIZA KOOP, B. et al. Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. **Food Research International**, v. 153, p. 110929, mar. 2022.

OUN, A. et al. Recent advances in polyvinyl alcohol-based composite films and their applications in food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, 34, 100991, 2022.

POLETTTO, P. et al. Recovery of ascorbic acid, phenolic compounds and carotenoids from acerola by-products: An opportunity for their valorization. **LWT**, v. 146, p. 111654, jul. 2021.

REZA MOZAFARI, M. et al. Nanoliposomes and Their Applications in Food Nanotechnology. **Journal of Liposome Research**, v. 18, n. 4, p. 309–327, jan. 2008.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, p. 281–291, jul. 2018.

SANTOS, T. D. S. R. D.; LIMA, R. A. Cultivo de *Malpighia emarginata* L. no Brasil: uma revisão integrativa. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 8, n. 4, p. 333–338, 12 out. 2020.

YILDIRIM, S. et al. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 165–199, jan. 2018.

CAPÍTULO 1

Adsorção e nanoencapsulação: estratégias inovadoras para recuperação e proteção de flavonoides do resíduo agroindustrial de *Malpighia emarginata* DC. (acerola)

Adsorption and nanoencapsulation: innovative strategies for recovery and protection of flavonoids from agroindustrial residue of *Malpighia emarginata* DC. (acerola)

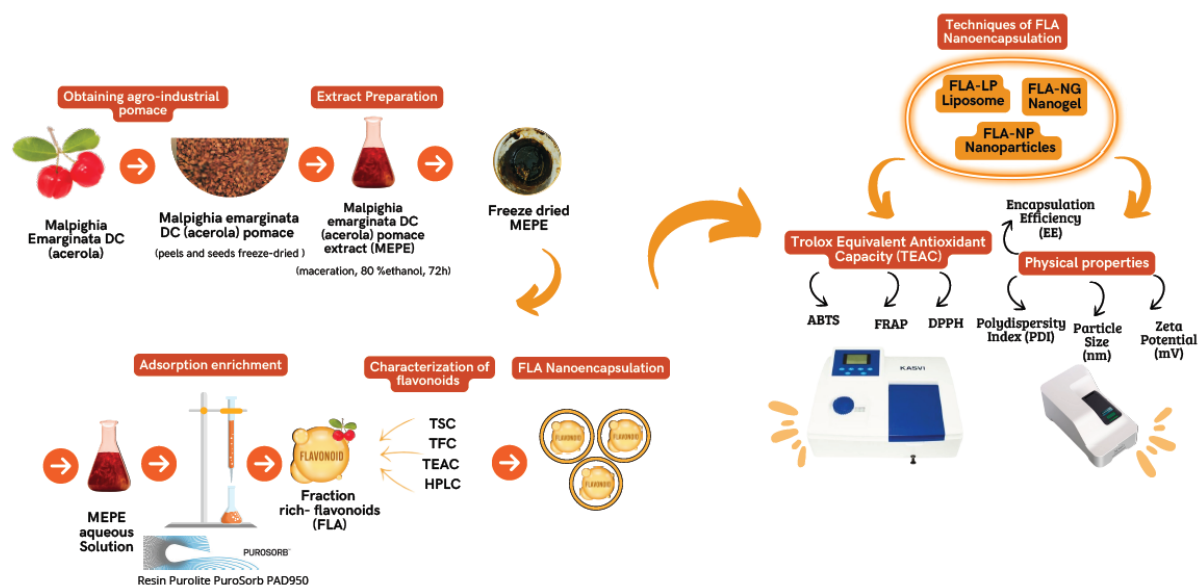
Esther Emily Silva Freitas^a; Laís Maciel Rodrigues^a, Isabella Mary Alves Reis^b; Êuder Reis Dias^b; Anabel Azevedo da Silva^b; Larissa Gonçalves Mascarenhas dos Santos^b; Carla Rodrigues Cardoso Branco^b, Renato Souza Cruz^a, Alexsandro Branco^b, Geany Peruch Camilloto^{a*}

a Laboratório de Embalagens de Alimentos, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Feira de Santana, BA, 44.036-900, Brasil.

b Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Feira de Santana, BA, 44.036-900, Brasil.

*** G. P. Camilloto, Laboratório de Embalagens de Alimentos, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Feira de Santana, BA, 44.036-900, Brasil. E-mail: geanyperuch@uefs.br.

GRAPHICAL ABSTRACT



RESUMO

Este estudo avaliou o uso da resina PuroSorb PAD950 para enriquecer flavonoides do extrato dos resíduos de *Malpighia emarginata* DC (ERME) e sua nanoencapsulação utilizando nanocápsulas (NC), lipossomas (LP) e nanogéis (NG). A resina apresentou alta capacidade de adsorção ($19,20 \pm 0,93$ mg/g), com taxas de adsorção e dessorção de $74,83 \pm 1,80\%$ e $96,76 \pm 4,67\%$, respectivamente. O processo dinâmico produziu uma fração rica em flavonoides (FLA) com enriquecimento de flavonoides de até 20 vezes e atividade antioxidante aprimorada (7,8, 9,9 e 6,7 vezes nos ensaios DPPH, ABTS e FRAP), em comparação com o ERME. FLA-LP apresentou o menor tamanho de partícula ($103,4 \pm 5,6$ nm) e o maior potencial zeta ($-54,87 \pm 1,21$ mV), enquanto FLA-NC apresentou o menor PDI ($0,0848 \pm 0,0166$) e a maior eficiência de encapsulamento ($81,43 \pm 0,98\%$). FLA-LP e FLA-NG melhoraram ainda mais a capacidade antioxidante em comparação com a fração não encapsulada. Este estudo destaca uma abordagem sustentável para agregar valor a resíduos agroindustriais, ao mesmo tempo em que expande as aplicações práticas de compostos bioativos.

Palavras-chave: Resíduo de *Malpighia emarginata* DC, resina macroporosa; enriquecimento de flavonoides; nanopartículas, atividade antioxidante.

ABSTRACT

This study evaluated the use of PuroSorb PAD950 resin to enrich flavonoids from *Malpighia emarginata* DC pomace extract (MEPE) and their nanoencapsulation using nanocapsules (NC), liposomes (LP), and nanogels (NG). The resin exhibited high adsorption capacity (19.20 ± 0.93 mg/g), with adsorption and desorption rates of $74.83 \pm 1.80\%$ and $96.76 \pm 4.67\%$, respectively. The dynamic process yielded a flavonoid-rich fraction (FLA) with up to 20-fold flavonoid enrichment and enhanced antioxidant activity (7.8-, 9.9-, and 6.7-fold in DPPH, ABTS, and FRAP assays), compared to MEPE. FLA-LP showed the smallest particle size (103.4 ± 5.6 nm) and highest zeta potential (-54.87 ± 1.21 mV), while FLA-NC had the lowest PDI (0.0848 ± 0.0166) and highest encapsulation efficiency ($81.43 \pm 0.98\%$). FLA-LP and FLA-NG further improved antioxidant capacity compared to the non-encapsulated fraction. This study highlights a sustainable approach to add value to agro-industrial residues while expanding the practical applications of bioactive compounds.

Keywords: *Malpighia emarginata* DC residue, macroporous resin; flavonoid enrichment; nanoparticles, antioxidant activity.

1 INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) é altamente valorizada por suas propriedades nutricionais, sendo rica em vitamina C e compostos bioativos, incluindo aminoácidos, flavonoides, lipídios e terpenoides (Belwal et al., 2018; Teixeira et al., 2022; Xu et al., 2020). O processamento dos frutos de acerola gera subprodutos significativos, como sementes e cascas, que correspondem a aproximadamente 40% do volume total da fruta processada (Duzzioni et al., 2013). Quando descartados, esses subprodutos contribuem para grandes quantidades de resíduos orgânicos, resultando em potenciais impactos ambientais.

A composição química dos subprodutos da acerola inclui altos níveis de compostos bioativos, como ácido ascórbico, kaempferol, quercetina e isorhamnetina, que apresentam propriedades antioxidantes significativas (Freitas et al., 2023; Mesquita et al., 2022; Rezende et al., 2018). Os flavonoides são compostos bioativos amplamente reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, pois neutralizam efetivamente os radicais livres, reduzindo os danos oxidativos, tornando-os valiosos para melhorar a preservação e a segurança dos alimentos (Koop et al., 2022). Consequentemente, a extração desses compostos é de grande interesse.

A extração sólido-líquido convencional é o método mais comumente utilizado para a recuperação de compostos bioativos de matrizes sólidas de plantas devido à sua simplicidade e baixo custo. No entanto, tipicamente requer grandes volumes de solventes orgânicos e carece de seletividade, resultando na coextração de compostos indesejados, como açúcares, ácidos orgânicos, álcoois de açúcar, aminoácidos e proteínas (Câmara et al., 2020). Em contraste, a extração com fluido supercrítico, particularmente com CO₂, oferece uma alternativa mais limpa e ajustável. No entanto, envolve altas pressões operacionais, equipamentos caros e o uso de cosolventes para extrair eficientemente compostos polares, como flavonoides (Usman et al., 2023). Portanto, a seleção de um método de extração apropriado requer a consideração

cuidadosa de fatores como rendimento, custo, impacto ambiental, tempo de processamento e escalabilidade (Gaglianò et al., 2025).

Dado o alto potencial dos flavonoides dos subprodutos da acerola para aplicações nas indústrias alimentícia e farmacêutica, e considerando que os métodos convencionais de extração são mais viáveis em escala industrial, uma etapa adicional de purificação é essencial para a recuperação eficaz de compostos fenólicos. Resinas de adsorção macroporosas (MARs) surgiram como uma solução promissora para otimizar a purificação de flavonoides devido à sua capacidade de adsorver seletivamente compostos bioativos e facilitar a separação de interferentes orgânicos (Koop et al., 2022; Wang et al., 2022; Gagliano et al., 2025). Até o momento, nenhum estudo específico investigou o uso de MARs para enriquecimento de flavonoides em bagaço de acerola agroindustrial (*Malpighia emarginata* D.C.) – doravante denominado ERME. Resinas de adsorção macroporosas (MARs) são projetadas para otimizar a separação, purificação e/ou pré-concentração de compostos orgânicos e inorgânicos por meio de adsorção, um processo no qual moléculas ou íons são retidos em uma superfície sólida (adsorvente) por meio de ligação química ou física (Koop et al., 2022; Kelly et al., 2019). Essas resinas são materiais poliméricos funcionais caracterizados por características como polaridade, composição, tamanho de partícula, área superficial específica e diâmetro de poro. As MARs têm sido amplamente estudadas e aplicadas devido à sua estabilidade química, seletividade, alta capacidade de adsorção e baixa toxicidade, tornando-as particularmente atraentes para a recuperação de compostos bioativos. Em geral, elas são de custo relativamente baixo, fáceis de regenerar para múltiplos ciclos de adsorção/dessorção e passíveis de aplicações em larga escala (Zhao et al., 2011; dos Santos et al., 2022; Gordon et al., 2021). Devido a essas vantagens, os MARs têm sido destacados como ferramentas eficazes para o enriquecimento de flavonoides (Chang et al., 2021; Huang et al., 2017; Lv et al., 2018; Sun et al., 2022).

Após a recuperação dos flavonoides, garantir sua estabilidade e funcionalidade torna-se essencial. Apesar de seu reconhecido potencial antioxidante, os flavonoides enfrentam desafios como baixa solubilidade em água e instabilidade química, o que pode limitar sua incorporação em sistemas alimentícios e embalagens. Para lidar com essas limitações, o enriquecimento por adsorção pode ser estrategicamente combinado com o encapsulamento, uma técnica na qual compostos bioativos (extratos ou substâncias purificadas) são revestidos com materiais de parede ou agentes encapsulantes, proporcionando uma estratégia sustentável para sua proteção e preservação (Koop et al., 2022; Maqsoudlou et al., 2020). Dependendo da técnica e dos parâmetros utilizados, as partículas resultantes podem ser classificadas como micro ou nanométricas (Koop et al., 2022).

Técnicas de nanoencapsulação comumente utilizadas para ingredientes alimentícios incluem emulsificação, coacervação, nanoprecipitação, evaporação de solvente, secagem por atomização e liofilização (Shah et al., 2018). Essa abordagem tem sido amplamente aplicada para aumentar a estabilidade e a biodisponibilidade de ingredientes funcionais, como vitaminas, antioxidantes e probióticos, facilitando sua integração em diversos sistemas alimentares. Na área farmacêutica, a nanoencapsulação melhora a administração e a liberação controlada de fármacos, aumentando assim a eficácia terapêutica (Koop et al., 2022; Reque & Brandelli, 2021; Zhang et al., 2021; Shah et al., 2018). Além disso, a alta relação área de superfície/volume das nanopartículas aumenta o número de sítios químicos reativos, aprimorando as propriedades funcionais dos compostos encapsulados (Alves et al., 2021). Considerando esses benefícios, a nanoencapsulação de flavonoides e extratos antioxidantes de origem vegetal tem atraído crescente interesse (Franco et al., 2021; Huang et al., 2023; Kang et al., 2023; Ligarda-Samanez et al., 2023; Saha et al., 2020).

Com base nessas descobertas, este estudo tem como objetivo investigar o uso da resina de adsorção macroporosa PuroSorb PAD950 para o enriquecimento de flavonoides em extratos

de subprodutos de acerola. A PAD950 foi selecionada devido à sua comprovada eficiência de adsorção-dessorção para polifenóis (Mir-Cerdà et al., 2024; Gaglianoò et al., 2025), tornando-a particularmente adequada para a recuperação de flavonoides de matrizes vegetais complexas e corroborando para o seu uso no presente estudo. Esta resina metacrílica alifática não iônica apresenta baixa hidrofobicidade, uma característica que aumenta sua afinidade por compostos polifenólicos, como antocianinas e flavonoides (Ecolab, 2025). Além disso, este estudo propõe a nanoencapsulação desses flavonoides como uma estratégia para melhorar sua estabilidade antioxidante. Entre as técnicas avaliadas, nanoprecipitação, formação de lipossomas por hidratação de filme lipídico e preparação de nanogéis foram testadas para determinar a nanoestrutura mais eficaz para potencial aplicação dos extratos em formulações alimentícias e/ou embalagens ativas de alimentos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais e Reagentes

Todos os solventes usados para análises de CLAE eram de grau analítico: Acetonitrila e Metanol (LiChrosolv, Alemanha), água ultrapura obtida de um sistema Milli-Q (Millipore Corporation, EUA). Todos os solventes usados como fase móvel para CLAE foram filtrados usando um filtro de membrana de 0,45 µm e desgaseificados por ultrassonicação antes do uso.

Os reagentes Cloreto Férrico (FeCl_3), Nitrito de Sódio (NaNO_2), Cloreto de Alumínio (AlCl_3), Hidróxido de Sódio (NaOH), Antrona ($\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}$), Glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), Ácido Clorídrico (HCl), Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) e Etanol absoluto foram adquiridos da Dinâmica Química Contemporânea (Brasil). Os padrões ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) e Quercetina foram obtidos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Pectina cítrica comercial e lisozima também foram adquiridas da Sigma-Aldrich (#P9135 e #L6876, respectivamente), juntamente com colesterol, fosfatidilcolina, policaprolactona, Pluronic 127,

2,4,6-tris(2-piridil)-S-triazina (TPTZ), 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), 2,20-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS) e persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$).

2.2 Obtenção do Extrato

Os resíduos agroindustriais de *Malpighia emarginata* DC., compostos por cascas e sementes, foram doados pela Brasfrut, uma empresa local de processamento de polpas de frutas em Feira de Santana, Bahia, Brasil. Uma amostra (5 kg) do resíduo foi liofilizada (Liotop - L101) por aproximadamente 30 horas a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. O material seco foi moído e peneirado em peneira de aço inoxidável (ABNT/ASTM 40 - 35 Mesh) para posterior extração.

O extrato foi preparado utilizando o método de maceração, utilizando o resíduo seco e solvente hidroetanólico a 80% (etanol/água) em uma proporção de 1:3 (p/v) (resíduo (g)/solvente (L)). A mistura foi agitada com bastão de vidro e deixada em repouso por 72 horas, sem luz, para extração. Após esse período, a solução foi filtrada a vácuo, e o excesso de solvente foi removido utilizando um evaporador rotativo (IKA - RV 10) sob pressão reduzida e temperatura controlada ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$). O extrato hidroetanólico resultante foi armazenado em um frasco âmbar selado e liofilizado (Liotop - L101) por 72 horas a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. O extrato dos resíduos de *Malpighia emarginata* DC. - (ERME) foi armazenado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até as análises posteriores. A extração foi realizada em triplicata.

2.3 Enriquecimento por Adsorção em Resina Macroporosa

O adsorvente polimérico (PuroSorb PAD950) fornecido pela Purolite (EUA) é um tipo de resina de adsorção macroporosa não iônica (aparência: esférica, opaca, branca) com estrutura porosa, baixa hidrofobicidade, diâmetro de partícula (dp) de $120\text{ }\text{\AA}$, volume de poros de $0,6\text{ cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$ e área superficial de $450\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$. A resina demonstrou ser eficaz na adsorção de compostos polifenólicos (Mir-Cerdà et al., 2024). Antes de cada experimento, a resina foi pré-

tratada conforme as instruções do fornecedor. Após o pré-tratamento, o processo de adsorção do ERME na resina foi investigado por meio de testes estáticos e dinâmicos.

2.3.1 Testes Estáticos de Adsorção e Dessorção

O teste estático foi realizado utilizando a resina PuroSorb PAD950, seguindo o método descrito por Sun et al. (2015), para caracterizar os parâmetros de adsorção e dessorção de flavonoides. A resina (2 g) foi pré-tratada com lavagem em solução hidroetanólica a 50% para remoção de produtos químicos residuais e partículas finas, seguida de enxágue com água destilada por filtração. A resina foi então adicionada a um frasco Erlenmeyer (100 mL) contendo 50 mL de solução aquosa de ERME (50 mg/mL) obtida na Seção 2.2. Os frascos foram agitados a 120 rpm em agitador com controle de temperatura a 25 °C por 6 horas, baseado em testes preliminares. O teor total de flavonoides (TFT) foi monitorado em diversos intervalos de tempo (0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 5 e 6 horas) para observar o equilíbrio de adsorção, indicado por uma concentração constante de flavonoides na solução de adsorção.

O teste foi monitorado usando o método espectrofotométrico para conteúdo total de flavonoides (TFT), conforme descrito por Rebaya et al. (2015), com modificações adaptadas por Freitas et al. (2023) com quercetina (10–500 µg/mL) como composto de referência. A análise foi realizada em triplicata. Uma curva padrão de quercetina ($y = 0,001x + 0,018$, $R^2 = 0,997$) foi usada para calcular o TFT, expresso em microgramas de equivalentes de quercetina por mililitro de solução de ERME (µg QE/mL).

Após a adsorção, a resina passou por um processo de dessorção para a remoção dos compostos adsorvidos. A resina foi lavada com 100 mL de água destilada e, em seguida, submetida à dessorção utilizando 50 mL de solução hidroetanólica a 80% (v/v). Os frascos foram novamente agitados a 120 rpm e mantidos a 25 °C por 4 horas, com o TFT monitorado

em intervalos de 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3 e 4 horas. As seguintes equações foram utilizadas para quantificar a capacidade de adsorção e a taxa de adsorção:

$$Q_e = (C_0 - C_e) \cdot V_0 / W \quad \text{Equação (1)}$$

$$E = ((C_0 - C_e) / C_0) \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

onde Q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio de adsorção (mg/g resina); E é a taxa de adsorção (%), que é a porcentagem da quantidade adsorvida em relação à quantidade inicial em equilíbrio; C_0 e C_e são as concentrações iniciais e de equilíbrio de flavonoides nas soluções, respectivamente (mg/mL); V_0 é o volume inicial da solução do extrato (mL) e W é o peso da resina seca (g).

Avaliação de dessorção:

$$D = [(C_d \cdot V_d) / ((C_0 - C_e) \cdot V_0)] \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

onde D é a taxa de dessorção (%); que é a porcentagem da quantidade dessorvida em relação à quantidade total adsorvida até atingir o equilíbrio, C_d é a concentração de flavonoides na solução de dessorção (mg/mL); V_d é o volume da solução de dessorção (mL); C_0 , C_e e V_0 são iguais aos anteriores.

A seleção preliminar das condições para o teste dinâmico com a resina foi baseada na análise das taxas e capacidade de adsorção/dessorção dos flavonoides do ERME na RMA (PAD-950). Após a determinação dos parâmetros ideais, o teste dinâmico de adsorção/dessorção foi realizado, seguindo também as especificações fornecidas pelo fabricante da resina.

2.3.2 Teste de adsorção e dessorção dinâmica

O enriquecimento de flavonoides do ERME foi realizado usando um experimento dinâmico de adsorção/dessorção. Uma coluna de vidro foi embalada úmida com 23 g de resina

pré-tratada, resultando em um volume de leite (BV) de 34 mL, as condições do teste (ajuste de vazão de eluição, tempo de eluição, concentração do extrato e equilíbrio de adsorção) foram determinadas baseadas nos resultados do teste estático e em testes preliminares com a coluna dinâmica. Uma solução aquosa do extrato (50 mg/mL) foi preparada e percolada através da coluna a uma vazão de 1 mL/min. As frações de adsorção (Ad 1 – Ad 10) foram coletadas em volumes de 100 mL até que o equilíbrio de adsorção fosse atingido. Posteriormente, durante a fase de dessorção, a coluna foi lavada com água destilada (10 BV) e eluída usando solventes hidroetanólicos em proporções etanol/água de 80/20 e 100/0. Testes preliminares foram realizados para escolher o solvente mais eficiente para o processo de dessorção, com variação da polaridade do solvente hidroetanólico entre 60% e 100% de etanol. Observou-se maior recuperação de flavonoides do ERME com a solução de dessorção hidroetanólica a 80% de etanol, e para a remoção total dos compostos da resina, com a solução a 100% de etanol. As frações de dessorção (D1 – D6) foram coletadas a cada 10 min a uma vazão de 2 mL/min. Finalmente, as soluções de extrato e as frações coletadas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 45°C por 48 horas, e então os teores de flavonoides, açúcares totais e capacidade antioxidante foram determinados.

Após a secagem e análise dos resultados da caracterização das frações obtidas no teste dinâmico (Seção 2.4), as frações de dessorção D2, D3 e D4 foram selecionadas, então homogeneizadas e denominada “fração rica em flavonoides do ERME” (FLA). Esta fração também foi submetida à caracterização (Seção 2.4) e identificação de flavonoides por CLAE (Seção 2.3.4), seguida do estudo de nanoencapsulação usando três técnicas diferentes (Seção 2.5).

2.4 Caracterização das frações de adsorção e dessorção

A caracterização do extrato bruto, da fração rica em flavonoides do ERME (FLA), das frações de adsorção (Ad – 1 à 10) e de dessorção (D – 1 à 6) foi conduzida de acordo com as análises descritas nas Seções 2.4.1, 2.4.2 e 2.4.3.

2.4.1 Determinação do teor de açúcares totais (TAT)

Os açúcares totais foram determinados pelo método Antrona (Trevelyan e Harrison, 1952). Para isso, 2 mL de uma solução de antrona (1 mg/mL), preparada em ácido sulfúrico, foram acrescentadas a 1 mL de cada amostra. O sistema foi mantido em banho-maria (100°C, 3 minutos) e resfriado imediatamente. A absorbância foi medida a 620 nm em um espectrofotômetro (KASVI K37-UVVIS). Uma curva padrão, ($y = 0,03x + 0,26$, $R^2 = 0,99$) com soluções de glicose (0 – 40 µg/mL), foi obtida e os resultados foram expressos em microgramas de equivalentes de glicose por microgramas de fração seca (µg EG/ µg). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

2.4.2 Teor de Flavonoides totais (TFT)

A determinação do teor de flavonoides totais (TFT) foi realizada seguindo a metodologia descrita por Rebaya et al. (2014) com modificações, utilizando a Quercetina (10-500 µg/mL) como composto de referência (padrão). Foram misturados 120 µL de amostra, ou do padrão, com 75 µL de uma solução de nitrito de sódio (NaNO₂) (5%). Esta mistura ficou protegida da luz, durante 6 minutos. Após esse tempo, 150 µL de uma solução de cloreto de alumínio (AlCl₃) (10%) foram adicionados e o sistema deixado em repouso durante 5 minutos, adicionado de 750 µL de NaOH (1 M). O volume final da solução foi ajustado para 2,5 mL com água destilada, incubado, protegido da luz, durante 15 minutos e a absorbância foi lida a 420 nm em um espectrofotômetro (KASVI K37-UVVIS). A análise foi realizada em triplicata. Uma curva padrão de Quercetina ($y = 0,001x + 0,018$, $R^2 = 0,997$) foi utilizada para o cálculo do

TFT. O conteúdo total de flavonoides foi expresso em microgramas de equivalentes de quercetina por microgramas de amostra seca ($\mu\text{g EQ}/\mu\text{g}$).

2.4.3 Capacidade Antioxidante equivalente ao Trolox (CAET)

2.4.3.1 Ensaio ABTS [2,20 -Azinobis-(3-etilbenztiazolina-6-sulfonato)]

A capacidade antioxidante equivalente em Trolox (CAET) foi comprovada pelo ensaio ABTS relatado por Yin et al. (2019) com modificações. O ABTS● foi preparado pela preparação de uma solução aquosa de 7 mM de ABTS com 2,4 mM de persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). Em seguida, a mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 12 a 16 horas. A solução ABTS● foi então diluída com etanol até uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ em um comprimento de onda de 734 nm para produzir uma solução de trabalho ABTS. Após preparada, 2 mL da solução de trabalho ABTS● foram adicionadas a 50 uL soluções das amostras, de Trolox (0–400 μM) ou água destilada (branco), em triplicata. A reação ocorreu sob incubação por 10 min, a 30° C, no escuro, a absorbância foi medida em 734 nm usando um espectrofotômetro ultravioleta (KASVI K37-UVVIS). Uma curva padrão de trolox ($y = -0,003x + 0,670$, $R^2 = 0,996$) foi utilizada para o cálculo do CAET. Finalmente, as CAET foram calculadas e expressas em micromolar em equivalentes ao Trolox por micrograma de amostra seca ($\mu\text{M}/\mu\text{g}$).

2.4.3.2 Ensaio FRAP (Poder de redução aos íons metálicos do Ferro III)

A determinação da CAET para a redução de íons metálicos pelo método de FRAP foi realizado seguindo a metodologia proposta por Rumpf et al. (2023). O reagente FRAP foi preparado recentemente antes de cada medição misturando uma solução tampão de acetato de sódio (300 mM), TPTZ (10 mM em HCl (40 mM)) e FeCl_3 (20 mM em água destilada) em

uma proporção de 10:1:1 (v/ v/v). Para a análise, 2,7 mL mL de reagente FRAP foram misturados com 270 µL de água destilada e 90 µL de solução de amostra, e incubados a 37 °C por 10 min antes de medir a absorbância a 595 nm em espectrofotômetro (KASVI K37 - UVVIS). Uma curva de calibração ($y = 0,005x + 0,079$, $R^2 = 0,999$) com soluções padrão de Trolox (0-600 µM) utilizadas para a obtenção dos resultados. As CAET foram calculadas e expressas em micromolar em equivalentes ao Trolox por micrograma de amostra seca (µM/µg).

2.4.3.3 Ensaio DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

A CAET também foi determinada de acordo com o método colorimétrico do DPPH, baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, conforme metodologia descrita por XU et al. (2020). Para a reação, 0,5 mL de amostra foi adicionado a 2,5 mL de uma solução de etanol a 0,004% de DPPH. A absorbância a 517 nm foi determinada após 30 min e o trolox foi usado como padrão. Uma curva de calibração ($y = - 0,016x + 1,176$, $R^2 = 0,998$) foi preparada, e diferentes concentrações de Trolox (soluções padrão de trolox variando de 10 a 160 µM) também foram avaliadas contra o radical. O CAET foi expresso como micromolar de equivalentes ao Trolox por micrograma de amostra seca (µM/µg).

2.4.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Detecção por Arranjo de Diodos (CLAE-DAD)

As soluções metanólicas (50 mg/mL) do FLA e do ERME bruto foram filtradas usando um filtro de membrana de náilon e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD). Os solventes da fase móvel foram Acetonitrila (LiChrosolv, Darmstadt, Alemanha) e água ultrapura (H₂O) obtidas de um sistema Milli-Q (Millipore Corporation, Burlington, EUA). A CLAE foi realizada usando um cromatógrafo Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies), equipado com um detector de arranjo de diodos

(DAD-1260 Infinity II HS), uma bomba de solvente (1260 Infinity II) e uma coluna analítica Poroshell 120, EC-C18 (3 x 150 mm, 4 μ m), Agilent Technologies, Santa Clara, EUA).

A eluição da fase móvel, em gradiente, usando os solventes A (H_2O com 0,1% de ácido fórmico) e B (acetonitrila), seguiu a seguinte programação durante o tempo: 12% (B) de 3 a 6 minutos; 14% (B) de 7 a 15 minutos; 18% (B) de 17 a 23 minutos; 22% (B) de 24 a 29 minutos; mantido em 50% (B) de 30 a 40 minutos; e retornou a 0% (B) em 41 minutos, com uma retenção final em 45 minutos. O tempo total de execução foi de 45 minutos, com um volume de injeção de 20 μ L e uma taxa de fluxo de 1 mL/min. O DAD foi ajustado para monitorar a 360 nm, comprimento de onda de absorção da radiação UV dos flavonoides.

2.5 Preparação e Caracterização das nanopartículas carregadas com fração rica em flavonoides de ERME

2.5.1 Preparação de Lipossomas

Os lipossomas (LPs) foram preparados usando o método de hidratação de filme lipídico descrito por Miranda et al. (2021), para encapsular a FLA. Para a formação do filme lipídico, a fosfatidilcolina de soja (40 mg) e o colesterol (6 mg) foram dissolvidos em 10 mL de clorofórmio, e o solvente foi evaporado a 45 °C. Após a secagem completa, o filme foi hidratado com 10 mL de água destilada. Para gerar grandes vesículas multilamelares (LMVs), a suspensão passou por tratamento ultrassônico por 30 minutos. Então, foi adicionado 5 mL de uma solução da FLA (1 mg/mL) em tampão fosfato de sódio (PBS, pH 7,4, 0,01 M). O sistema foi mantido em agitação magnética por 1 hora para promover o encapsulamento de flavonoides. Subsequentemente, os lipossomas carregados com FLA (FLA-LPs) foram homogeneizados usando um sonicador de sonda (3 min, 550 W, pulsos de 2 segundos, Eco-Sonics, Ultrasonics).

2.5.2 Preparação de nanogéis

A montagem dos nanogéis (NGs) foi realizada seguindo o método descrito por Lin et al. (2015). Inicialmente, soluções padrão de pectina cítrica (1 mg/mL) e lisozima (1 mg/mL) foram preparadas (o pH foi ajustado para 7,0 usando NaOH 0,5 M ou HCl 0,5 M). FLA (20 mg) foi completamente dissolvido em 2 mL de solução de NaOH (0,04 M). Nanogéis carregados com FLA foram preparados adicionando a solução de FLA (10 mg/mL) a solução de lisozima (1 mg/mL) e depois de pectina (1 mg/mL) em uma proporção de 0,15:1:1 (v/v/v). O pH da mistura foi ajustado para 10,7 e mantido sob agitação magnética (300 rpm) à temperatura ambiente por 1 hora para formar FLA-NGs, e submetido a tratamento térmico a 80 °C por 30 minutos para estabilizar a estrutura do nanogel. Finalmente, o pH dos nanogéis carregados com FLA resultantes foi ajustado para 7,4.

2.5.3 Preparação de nanocápsulas

Nanocápsulas carregadas com FLA (FLA-NCs) foram preparadas através do método de nanoprecipitação descrito por Kumar et al. (2015). Neste procedimento, primeiramente foi preparada a fase orgânica, a policaprolactona (0,0375 g) foi dissolvida em acetona (10 mL) com o auxílio de um banho ultrassônico, por 10 minutos, em seguida foi adicionada da FLA (0,05 g) e homogeneizada com mais um ciclo no banho ultrassônico. Esta solução orgânica foi gradualmente gotejada (com o auxílio de uma bureta) na fase aquosa (20 mL de água destilada), que continha o surfactante hidrofílico Pluronic 127 (0,2 g) dissolvido, sob agitação magnética moderada. A acetona foi removida por evaporação a 40 °C, mantendo a agitação magnética para garantir a uniformidade.

2.5.4 Caracterização de nanopartículas

As nanopartículas carregadas da fração rica em flavonoides do ERME (FLA-LP, FLA-NG e FLA-NC) foram caracterizadas em termos de tamanho de partícula (nm), índice de polidispersão (PDI) e potencial Zeta (mV) foram avaliados por espectroscopia de correlação de fótons. Ambas as análises foram realizadas com um Zetasizer (Nano ZS, Malvern Instruments, Reino Unido). Para evitar efeitos de espelhamento múltiplo, as nanopartículas foram diluídas em água deionizada antes da medição. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

A eficiência de encapsulamento (EE) dos flavonoides foi determinada pelo cálculo da diferença entre seu conteúdo total e livre, de acordo com Mirzaei-Mohkam et al. (2020) com modificações. O conteúdo total de flavonoides foi quantificado pela dissolução de 1 mL da suspensão de nanopartículas em 10 mL de metanol, seguido por sonicação por 30 minutos e centrifugação a 4800 rpm por 30 minutos. A concentração de flavonoides em 1 mL do sobrenadante resultante foi quantificada usando o método TFT descrito anteriormente na subseção 2.3.1. Para o conteúdo de flavonoides livres, a suspensão de nanopartículas foi colocada em microtubos de filtro (10 kDa MCO, filtro Amicon, Merck) e submetida à ultrafiltração/centrifugação a 4800 rpm por 30 minutos. A concentração de flavonoides não encapsulados no filtrado foi então determinada pelo método TFT. Todas as medições foram realizadas em triplicata. A eficiência de encapsulamento (EE) foi expressa como uma porcentagem de TFT e calculada usando a Equação 4.

$$EE = (TFT_{total} - TFT_{livre}) / TFT_{total} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

As CAETs das nanopartículas descarregadas e carregadas com FLA foram também determinadas usando os métodos ABTS, FRAP e DPPH, seguindo as respectivas metodologias mencionadas anteriormente nos tópicos 2.4.3.1, 2.4.3.2 e 2.4.3.3, respectivamente.

A nanoestrutura, contendo os flavonoides do ERME, que apresentaram melhores características físicas e capacidades antioxidantes seguiram para incorporação aos filmes ativos antioxidantes à base do polímero de poli(álcool vinílico) (PVOH) – Capítulo 2.

2.6 Análise estatística

O experimento foi realizado três vezes em um delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram analisados por meio de Teste t de Student ou Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey no nível de confiança de 95% usando Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Testes de adsorção e dessorção estático

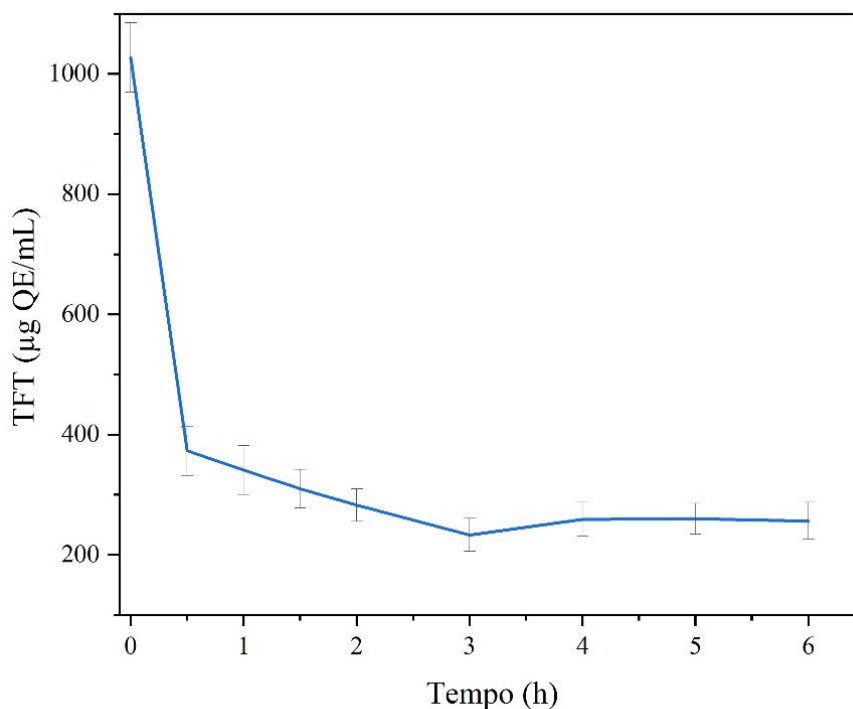
A resina PAD950 apresentou uma alta capacidade de adsorção de $19,20 \pm 0,93$ mg/g (miligramas de flavonoides por grama de resina) e também taxas de adsorção ($74,83 \pm 1,80$ %) e de dessorção dos flavonoides ($96,76\% \pm 4,67$ %). Esses resultados superaram significativamente aqueles relatados por Heravi et al. (2022), quando usaram a resina de polímero acrílico não iônico LXA-10 para enriquecer compostos fenólicos do extrato de bagaço de uva (*Vitis vinifera* L.), alcançando uma capacidade de adsorção de apenas 4,86 mg/g. Sun et al. (2022) relataram uma capacidade de adsorção de 8,47 mg/g para a resina AB-8, com uma taxa de adsorção de 72,62% e uma taxa de dessorção de 93,25%. A resina NKA-9 apresentou uma capacidade de adsorção ligeiramente maior de 8,77 mg/g e uma taxa de dessorção de 98,77%.

No geral, embora as taxas de adsorção e dessorção das resinas AB-8 e NKA-9 tenham demonstrado bom desempenho (Sun et al., 2022; Zhao et al., 2011), a capacidade de adsorção

alcançada pela resina PuroSorb PAD950 foi até quatro vezes maior do que a das resinas mencionadas anteriormente. Essa diferença de desempenho pode ser atribuída às propriedades físicas específicas do PuroSorb PAD950, como diâmetro médio dos poros, volume dos poros, área de superfície e alta compatibilidade com os adsorbatos ERME (Heravi et al., 2022; Zhao et al., 2011). Além disso, a composição química do polímero (polimetacrílico ou poliestireno-divinilbenzeno) parece desempenhar um papel determinante, uma vez que os sorventes à base de metacrílico exibem, em geral, boas capacidades de sorção (Mir-Cerdà et al., 2024). Essas características tornam o PuroSorb PAD950 uma escolha ideal para enriquecimento de flavonoides em extratos naturais, destacando seu potencial para aplicações industriais e científicas.

Durante o teste estático, observou-se que o equilíbrio de adsorção da resina foi atingido após quatro horas de contato com a solução de extrato ERME. Neste ponto, a liberação de flavonoides da estrutura da resina começou devido à saturação do sistema de adsorção. A Figura 1 ilustra esse comportamento, mostrando uma rápida redução no conteúdo de flavonoides nas soluções de adsorção durante a primeira hora, seguida por uma diminuição mais lenta até a terceira hora, então, após quatro horas o equilíbrio foi atingido. Essa adsorção inicial rápida provavelmente resulta de interações com mesoporos facilmente acessíveis nas esferas de resina, enquanto a fase de baixa transferência de massa ocorre dentro do volume da solução (Zhang et al., 2007). A fase de adsorção mais lenta sugere alta resistência à transferência de massa intrapartícula (Zhang et al., 2007). Essas descobertas indicam que a adsorção de flavonoides na resina ocorre predominantemente em mesoporos com diâmetros variando de 2 a 50 nm. Além de influenciar a área de superfície da resina, a estrutura do poro também atua como um mecanismo de peneiramento, separando e removendo moléculas maiores (Purolite Corporation, 2021).

Figura 1 - Curva de adsorção para os flavonoides do ERME obtida no teste estático.



Assim, a resina PuroSorb PAD950 provou ser uma alternativa conveniente para a adsorção de flavonoides do ERME, demonstrando alta eficiência em processos de adsorção e dessorção estáticos. Esse desempenho pode ser atribuído à similaridade de polaridade entre a resina e os compostos, o que favorece interações como forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações de van der Waals entre a resina e os compostos bioativos (Purolite Corporation, 2021).

3.2 Teste de adsorção e dessorção dinâmica

O extrato hidroetanólico de ERME, após evaporação rotativa e liofilização, rendeu $158,5 \pm 2,9$ g/kg. As frações de adsorção Ad1-Ad6 apresentaram os maiores rendimentos entre todas as frações obtidas no teste dinâmico, calculados em relação ao ERME bruto. As frações de dessorção D2, D3 e D4 apresentaram os maiores rendimentos mássicos entre todas as frações de dessorção, representando juntas aproximadamente 5,0% (Tabela 1).

Tabela 1 - Rendimento das frações de adsorção e dessorção do ERME obtidas no ensaio dinâmico.

Fração	Rendimento (%)	Fração	Rendimento (%)
Ad 1	10,21 ± 0,60	D 1	0,02 ± 0,00
Ad 2	13,31 ± 1,26	D 2	4,24 ± 0,01
Ad 3	13,11 ± 0,42	D 3	0,54 ± 0,17
Ad 4	14,19 ± 0,20	D 4	0,11 ± 0,07
Ad 5	13,80 ± 0,95	D 5	0,05 ± 0,03
Ad 6	14,24 ± 0,46	D 6	0,02 ± 0,01
Ad 7	2,12 ± 0,75		
Ad 8	0,32 ± 0,14		
Ad 9	0,26 ± 0,14		
Ad 10	0,15 ± 0,01		

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão.

A fração de dessorção D2 apresentou o maior teor total de flavonoides (TFT), seguida pelas demais frações de dessorção (D3 - D6) indicando maior recuperação de flavonoides nessas frações (Figura 2). Um comportamento inverso foi observado para o teor de açúcares totais (TAT), que não foi detectado (ND) nas frações de dessorção (D1 - D6) (Figura 3), demonstrando a separação desses compostos interferentes durante a fase de adsorção dinâmica.

Figura 2 – Conteúdo Total de Flavonoides (TFT) das frações obtidas no teste dinâmico.

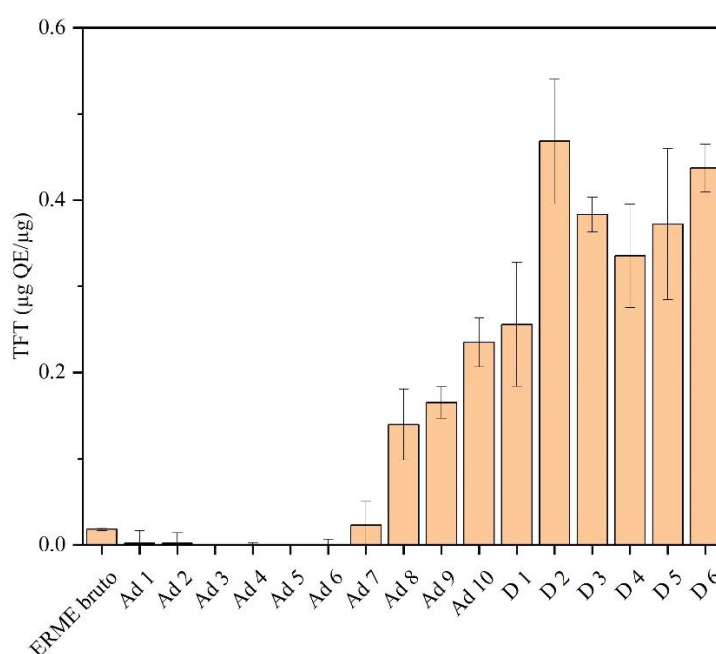
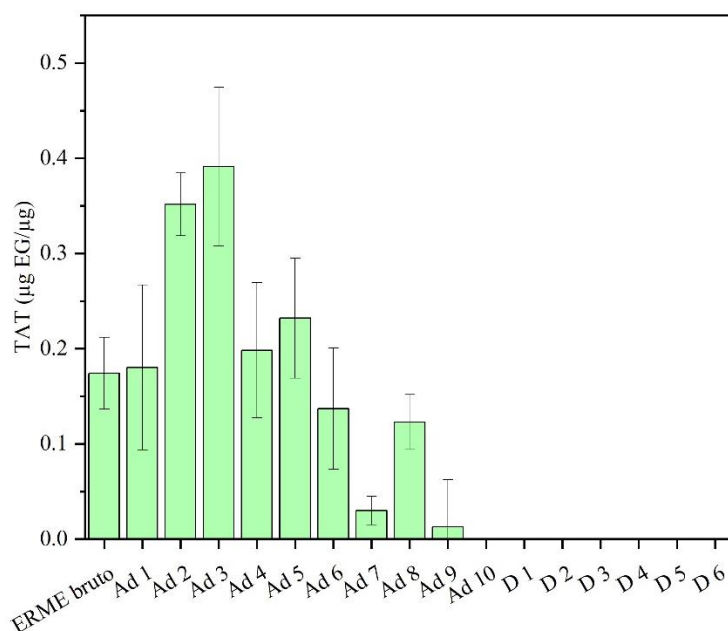


Figura 3 – Conteúdo Total de Açúcares (TAT) das frações obtidas no teste dinâmico.



Em consonância com esse resultado, o ERME bruto e as frações de adsorção Ad 1 - Ad 6 apresentaram baixos TFTs e altos teores de açúcares nessas soluções (Figuras 2 e 3). Nas frações Ad 7 - Ad 10, o TFT aumentou progressivamente, indicando o início da saturação da resina na fração Ad 7 e um aumento intenso de flavonoides na fração Ad10, com redução do TAT (Figuras 2 e 3). Portanto, o processo de adsorção/dessorção de flavonoides usando a resina PAD 950 foi eficaz para a separação de açúcares do extrato e os compostos de interesse foram /enriquecidos nas frações de dessorção.

Gaglianò et al. (2025) relataram que a composição química do PAD950 promove interações com compostos polares, como polifenóis, principalmente por meio de ligações de hidrogênio e interações dipolo-dipolo entre os grupos funcionais dos polifenóis e os grupos carbonila na matriz da resina. Para que uma molécula seja adsorvida na resina, ela deve primeiro ser transportada para a superfície por meio de fluxo convectivo, seguido por uma sequência de etapas de difusão e adsorção: (i) difusão através da camada limite que envolve a partícula de resina (difusão de filme); (ii) migração através dos canais de poros internos para atingir os sítios

disponíveis (difusão intrapartícula); e (iii) adsorção nos sítios ativos da superfície da resina. A taxa geral de adsorção pode ser governada pela mais lenta dessas etapas ou por uma combinação delas. A adsorção em nível de superfície pode envolver interações físicas, como forças de van der Waals ou atrações eletrostáticas (fisiossorção), embora, em alguns casos, interações químicas mais fortes (quimissorção) ou mecanismos intrapartículas possam desempenhar um papel significativo (Sumalinog et al., 2018; Sahoo & Prelot, 2020; Ledesma et al., 2023). Com base nesses mecanismos, os resultados deste estudo sugerem que, durante a fase de adsorção, os açúcares presentes na solução aquosa de ERME não foram retidos pelo PAD950. Esse comportamento provavelmente se deve à sua alta solubilidade e afinidade pela fase aquosa, o que lhes permite passar pela resina sem interação significativa, sendo, portanto, predominantemente coletados nas frações de adsorção (Ad1–Ad10). Em contraste, os flavonoides foram efetivamente adsorvidos na superfície da resina por meio das interações mencionadas anteriormente. Na fase de dessorção subsequente, os flavonoides retidos na estrutura da resina foram eluídos com sucesso usando 80% de etanol, o mesmo solvente usado na extração inicial do bagaço de acerola seco.

Com base nos resultados de CAET dos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Figuras 4, 5 e 6), observamos que o extrato bruto e as frações de adsorção Ad 1 - 7 obtiveram CAETs baixos nos três ensaios, enquanto as frações Ad 8 - 10 mostraram boa atividade antioxidante em todos os três ensaios. As frações de dessorção mostraram os maiores valores de CAET na seguinte ordem decrescente: D5, D2, D1, D3 e D4 exibiram os maiores valores de CAET no ensaio DPPH (Figura 4); D5, D2, D3 e D4 no ensaio FRAP (Figura 6). A fração D3 mostrou o maior CAET no ensaio ABTS, seguida pelas frações D4, D2 e D6 (Figura 5).

Figura 4 – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (CAET) para o ensaio DDPH das frações obtidas no teste dinâmico.

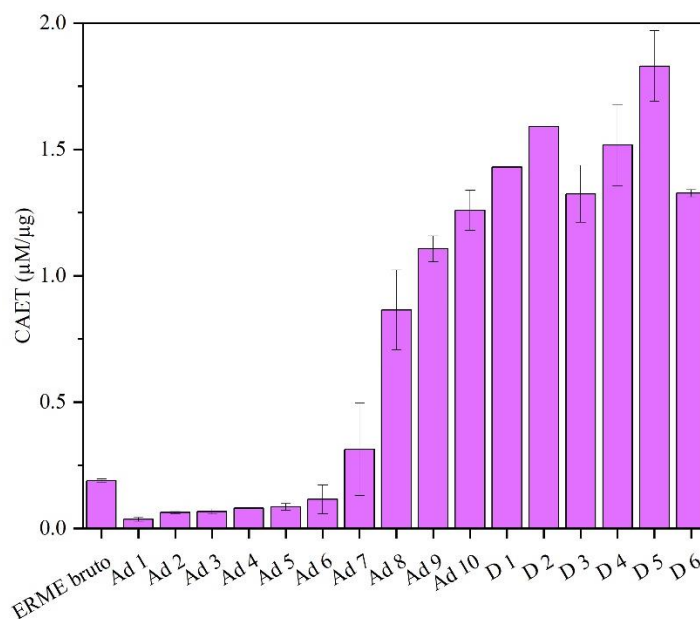


Figura 5 – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (CAET) para o ensaio ABTS das frações obtidas no teste dinâmico.

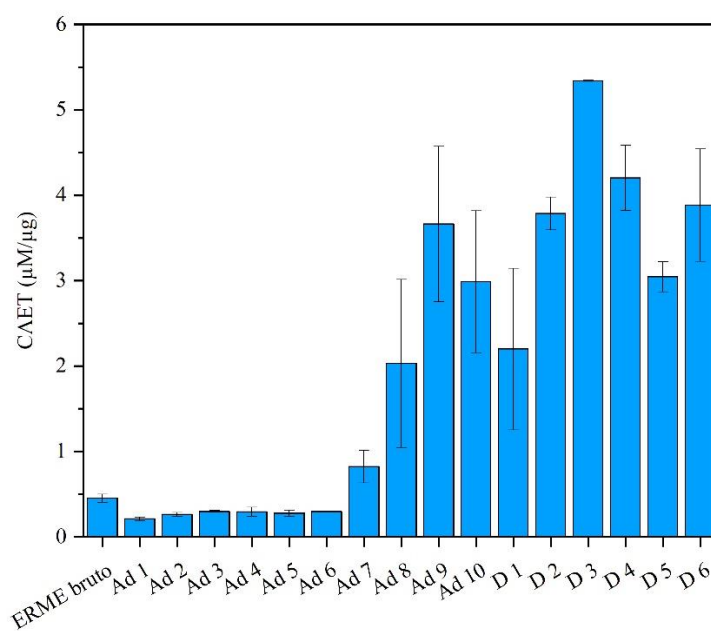
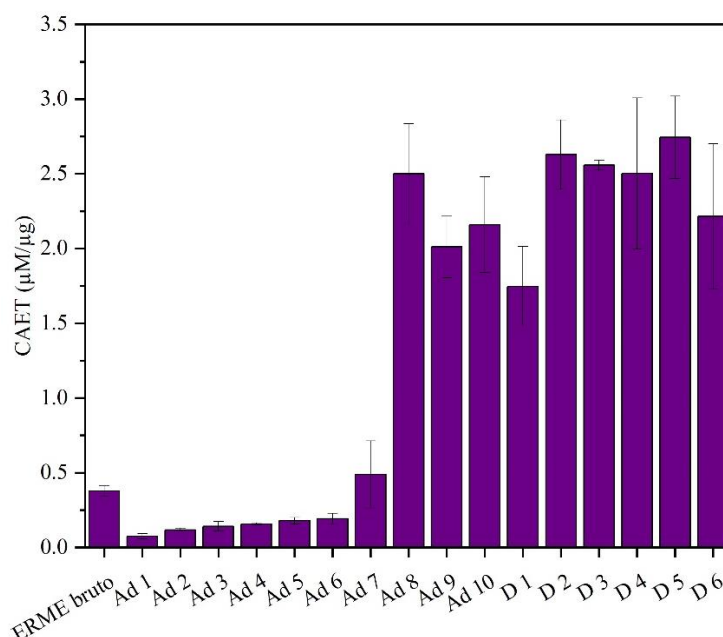


Figura 6 – Capacidade antioxidante equivalente a Trolox (CAET) para o ensaio FRAP das frações obtidas no teste dinâmico.



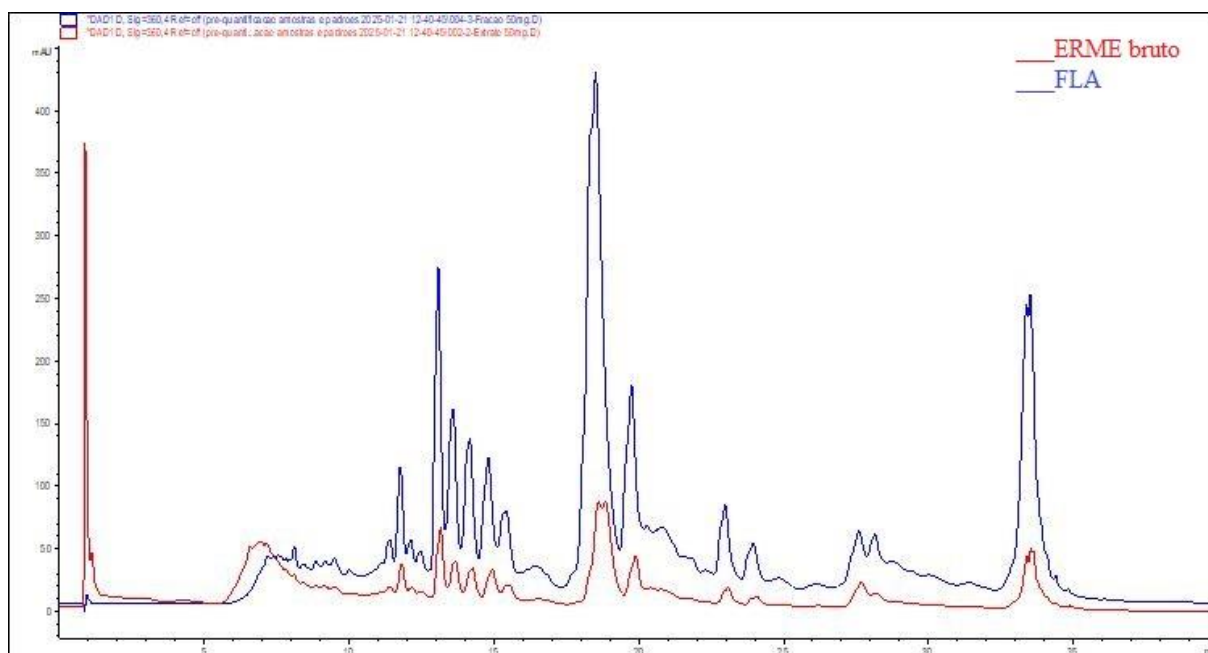
Estudos recentes mostraram que o aumento da atividade antioxidante após a remoção do açúcar em extratos de resíduos de frutas enriquecidos via resina macroporosa é devido ao acúmulo de flavonoides presentes nos extratos (Chen et al., 2021; Shen et al., 2022; Mohammadi et al., 2024). Com base nos resultados, as frações D2, D3 e D4 foram selecionadas por sua excelente atividade antioxidante, que foi aumentada pela remoção de impurezas indesejáveis, conforme indicado pelo aumento do teor de flavonoides nessas frações em comparação ao extrato. Além disso, essas frações exibiram os maiores rendimentos de massa entre as frações de dessorção (Tabela 1), sem teor de açúcar detectável. Após a seleção, as frações foram homogeneizadas e designadas como a “fração rica em flavonoides de ERME” (FLA).

3.3 Caracterização da fração rica em flavonoides (FLA)

Os cromatogramas obtidos do extrato bruto antes e depois do enriquecimento com resina PuroSorb PAD 950 são mostrados na Figura 7. Uma comparação revela a amplificação dos

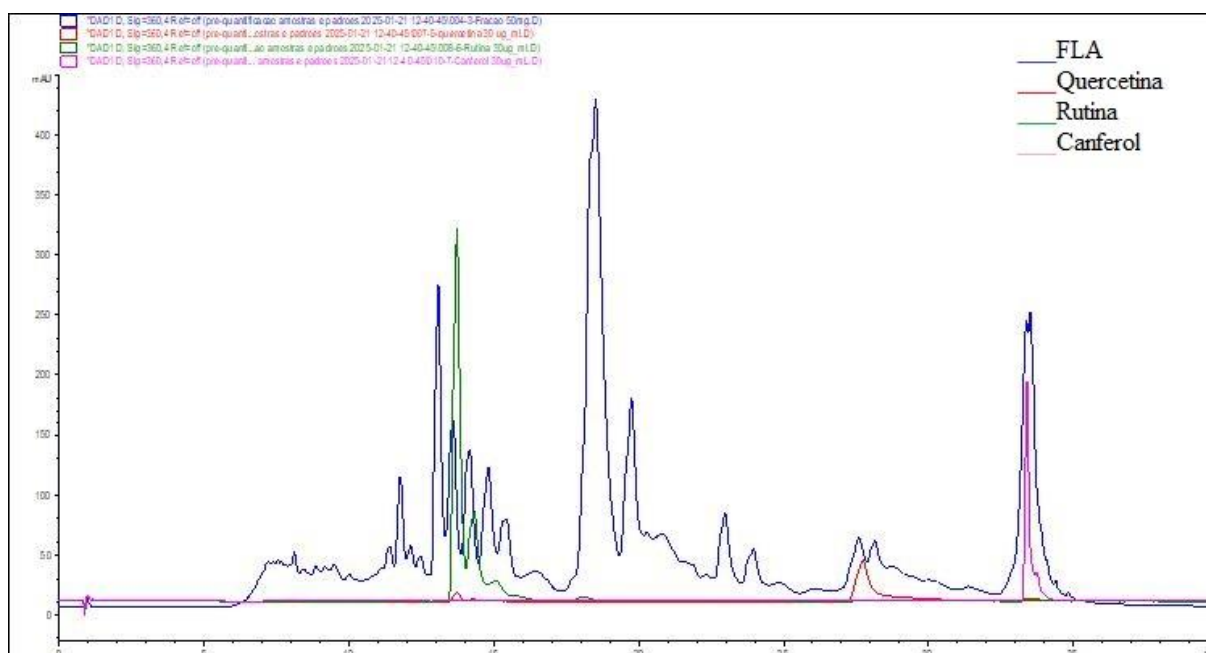
picos correspondentes aos flavonoides após o enriquecimento com resina PuroSorb PAD 950, destacando a concentração dos compostos na FLA.

Figura 7 – Cromatogramas do extrato bruto de bagaço de *Malpighia emarginata* DC (ERME) e da fração rica em flavonoides do ERME (FLA) registrados a 360 nm.



Em análise dos espectros de absorção UV (Apêndice A) dos picos no cromatograma (Figura 8), uma predominância de flavonóis foi observada na FLA. Os flavonóis, uma subclasse de flavonóides, exibem a banda de absorção UV I entre 350 e 385 nm (Simões et al., 2016). Além disso, dois flavonóis (quercetina e kaempferol) e uma flavona (rutina) foram confirmados na fração enriquecida por meio do tempo de retenção e comparação dos espectros de absorção UV. Quercetina, rutina e Canferol foram identificados como picos 2, 7 e 8 na amostra (Figura 8), respectivamente (Apêndices A e B).

Figura 8 - Cromatogramas da fração rica em flavonoides do ERME (FLA) ao lado dos respectivos padrões de flavonoides, registrados a 360 nm.



Os flavonoides são classificados em diferentes subclasses, incluindo flavonas (por exemplo, rutina, crisina, apigenina e luteolina), flavonóis (por exemplo, quercetina, kaempferol, miricetina e fisetina), flavan-3-óis (por exemplo, proantocianidinas, catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavanonas (por exemplo, flavanona, hesperetina, naringina e naringenina), isoflavonoides (por exemplo, genisteína e daidzeína) e antocianidinas (por exemplo, apigenidina, malvidina, cianidina e delphinidin) (Karak, 2019). Esses compostos exibem atividades biológicas *in vivo*, como modulação da atividade enzimática e inibição da proliferação celular, bem como efeitos antioxidantes *in vitro* e *in vivo* (Romani et al., 2020).

A FLA exibiu conteúdo total de flavonoides (TFT) aproximadamente 20 vezes maior do que o do extrato bruto (Tabela 2). Além disso, houve um aumento de 7,8, 9,9 e 6,7 vezes nas Capacidades Antioxidantes Equivalentes de Trolox (CAET) nos ensaios DPPH•, ABTS• e FRAP, respectivamente (Tabela 2), com diferenças significativas entre o extrato bruto (ERME) e a fração enriquecida (FLA) em todos os três testes.

Tabela 2 – Caracterização do ERME bruto antes e depois da adsorção em teste dinâmico.

EXTRATO	TFT* ($\mu\text{G QE}/\mu\text{G}$)	DPPH* ($\mu\text{M}/\text{mg}$)	ABTS* ($\mu\text{M}/\text{mg}$)	FRAP* ($\mu\text{M}/\text{mg}$)
BRUTO	$0,02 \pm 0,00$	$0,19 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,05$	$0,38 \pm 0,04$
ENRIQUECIDO (FLA)	$0,40 \pm 0,07$	$1,48 \pm 0,14$	$4,44 \pm 0,80$	$2,56 \pm 0,06$

*As médias do extrato bruto e enriquecido são estatisticamente diferentes ao nível de 5% de probabilidade pelos testes t de Student.

Assim, após o processo de adsorção/dessorção de flavonoides usando a resina PuroSorb PAD950, os açúcares foram eficientemente separados e removidos do extrato, enriquecendo os compostos alvo na fração. Como resultado, os compostos fenólicos antioxidantes permaneceram livres de substâncias interferentes, o que também aumentou seus valores de CAET. Essas descobertas são consistentes com as de Tassoult et al. (2021), que relataram uma correlação negativa entre o teor total de açúcar e a atividade antioxidante (ensaios DPPH e FRAP) em extratos de tâmaras de seis diferentes cultivares Argelinas.

O papel da resina macroporosa no aumento da atividade antioxidante de compostos fenólicos derivados de bagaço de maçã foi destacado por Mohammadi et al. (2024). Além disso, a etapa de purificação parcial neste estudo contribuiu para a remoção de impurezas indesejáveis, conforme evidenciado pelo aumento da concentração de compostos fenólicos na fração enriquecida.

Essas descobertas destacam a importância da resina PuroSorb PAD-950 no enriquecimento e obtenção de uma fração antioxidante rica em flavonoides de grau alimentício, posicionando-a como um ingrediente sustentável. Essas observações se alinham com as de Freitas et al. (2023), que observaram que a atividade antioxidante de extratos brutos de subprodutos de *Malpighia emarginata* DC estava associada aos seus constituintes fenólicos.

A alta eficiência da resina PuroSorb PAD-950 no enriquecimento de flavonoides pode ser atribuída à sua natureza não iônica, que estabelece fortes interações com moléculas que possuem grupos aromáticos ou cadeias alquílicas (Mir-Cerdà et al., 2024). Este adsorvente metacrílico, composto por um copolímero de éster, atua como um material hidrofóbico ideal

para compostos hidrofóbicos, facilitando a eluição simplificada de polifenóis (Ecolab, 2025). Além disso, sua grande área de superfície facilita a remoção seletiva e eficiente de moléculas orgânicas, como açúcares e ácidos orgânicos, do ERME, especialmente em meios aquosos.

3.4 Caracterização das nanopartículas contendo a fração enriquecida

3.4.1 Características físicas

As nanopartículas de policaprolactona carregadas com flavonoides do ERME (FLA-NC) alcançaram uma alta eficiência de encapsulamento (EE) de $81,32 \pm 1,00\%$, superando a EE dos FLA-LPs e FLA-NGs, que apresentaram EE entre 70% e 74%, sem diferenças estatísticas (Tabela 3). O FLA-LP exibiu os menores tamanhos de partícula entre os sistemas e a maior carga superficial, mostrando diferenças significativas ($p < 0,05$), seguido por NG e NC, com as nanocápsulas apresentando a menor carga superficial de $-34,45 \pm 1,72$ (Tabela 3). Além disso, todas as nanopartículas apresentaram altas cargas superficiais, contribuindo para a estabilidade coloidal (Tabela 3). Essa carga negativa contribui significativamente para a estabilidade coloidal ao impedir a agregação de partículas por meio de forças de repulsão eletrostática (Rosales & Fabi, 2023).

Os índices de polidispersão de ambos os sistemas estavam dentro da faixa considerada homogênea (0–0,3), pois valores acima de 0,3 indicam alta heterogeneidade na distribuição coloidal. FLA-NCs também apresentaram o menor índice de polidispersão (PDI) com diferenças significativas em comparação com as outras nanopartículas produzidas (Tabela 3), refletindo uma distribuição de tamanho estreita e alta uniformidade (Kumar et al., 2015). Uma distribuição de tamanho muito estreita é crítica para a estabilidade coloidal, pois minimiza o risco de agregação e sedimentação de partículas, aumentando assim a estabilidade geral da dispersão (Zhuang et al., 2024).

Essas descobertas confirmam que as nanopartículas contendo os flavonoides do ERME têm propriedades físicas adequadas para aplicações práticas, oferecendo estabilidade e eficiência no encapsulamento de flavonoides em sistemas coloidais.

Tabela 3 - Características físicas de produtos nanoencapsulados carregados com FLA.

Nanopartícula	Tamanho (nm)	PDI	Potencial Zeta (mV)	EE (%)
LP	103,4 ± 5,6 ^b	0,2361 ± 0,0078 ^a	-54,87 ± 1,21 ^a	74,30 ± 2,60 ^b
NG	180,3 ± 11,1 ^a	0,2243 ± 0,0443 ^a	-39,63 ± 0,64 ^b	70,78 ± 0,78 ^b
NC	157,0 ± 10,1 ^a	0,0848 ± 0,0166 ^b	-34,45 ± 1,72 ^c	81,43 ± 0,98 ^a

Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si no nível de probabilidade de 5% pelo teste de Tukey.

3.4.2 Capacidade antioxidante

As nanopartículas descarregadas não apresentaram atividade antioxidante detectável em nenhum dos ensaios. Lipossomas e nanogéis carregados com FLA exibiram as maiores capacidades antioxidantes tanto no ensaio DPPH quanto no ABTS, superando as nanocápsulas (Tabela 4). No ensaio FRAP, os valores de CAET das três formulações de nanopartículas não mostraram diferenças significativas. FLA-LP e FLA-NG demonstraram um aumento maior em CAET, com aumentos de aproximadamente 6,5 vezes e 1,7 vezes, respectivamente, em comparação com a FLA nos ensaios DPPH e ABTS (Tabelas 2 e 4).

Tabela 4 - Capacidades antioxidantes equivalentes a Trolox (CAET) dos produtos nanoencapsulados carregados com FLA.

Nanopartícula	DPPH (μM /mg)	ABTS (μM /mg)	FRAP (μM /mg)
LP	10,48 ± 1,37 ^a	7,67 ± 0,55 ^a	3,94 ± 0,22 ^a
NG	8,96 ± 0,52 ^a	8,14 ± 0,49 ^a	3,91 ± 0,91 ^a
NC	5,99 ± 0,22 ^b	4,64 ± 0,15 ^b	3,03 ± 0,13 ^a

Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si no nível de probabilidade de 5% pelo teste de Tukey.

De acordo com Kang et al. (2023), a nanoencapsulação também melhorou a estabilidade e a solubilidade de antioxidantes pouco solúveis em água, como os flavonoides quercetina (QUE) e isoquercetina (IQUE). Após a nanoencapsulação, as atividades antioxidantes desses

compostos aumentaram substancialmente, com um aumento de 2,5 vezes para QUE e um aumento de 3,5 vezes para IQUE (Kang et al., 2023).

A atividade antioxidante in vitro superior dos FLA-LPs pode ser atribuída à presença de fosfatidilcolina nos lipossomas e seu menor tamanho de partícula (~100 nm) (Tabela 3). De acordo com Kang et al. (2023), partículas menores geralmente aumentam a relação entre área de superfície e volume, o que pode levar a uma maior interação com radicais livres, melhorando assim a capacidade antioxidante.

Além disso, a natureza anfifílica da fosfatidilcolina permite o encapsulamento de compostos hidrofílicos e hidrofóbicos, expandindo a gama de antioxidantes que podem ser efetivamente administrados e utilizados. Este fosfolípido também aumenta a integridade e a rigidez da membrana lipossomal, aumentando assim a estabilidade e evitando o vazamento de compostos encapsulados. Posteriormente, a fosfatidilcolina pode proteger os antioxidantes da degradação e melhorar sua biodisponibilidade, aumentando a eficácia antioxidante geral dos lipossomas (Tripathy & Srivastav, 2023).

A boa atividade antioxidante dos nanogéis também pode ser explicada por sua composição estrutural. Nanogéis à base de pectina fornecem um ambiente protetor para compostos bioativos, evitando que sejam degradados por fatores ambientais como luz e oxigênio. A capacidade da pectina de interagir com várias macromoléculas alimentares pode resultar em efeitos sinérgicos, onde as atividades antioxidantes combinadas de diferentes compostos são maiores do que seus efeitos individuais (Rosales & Fabi, 2023).

As pectinas podem interagir eletrostaticamente com outros biopolímeros de reticulação catiônica para formar nanocomplexos, devido à predominância de cargas negativas em pH neutro (Rosales & Fabi, 2023). Quando esses biopolímeros são homogeneizados em uma solução aquosa, ocorrem interações eletrostáticas levando à automontagem, complexando assim os biopolímeros (Li, et al. 2021). O processo de automontagem ocorre por meio da

organização espontânea e ordenada de componentes individuais (átomos, moléculas, colóides, polímeros), que interagem de maneiras predefinidas e resultam em estruturas diferentes dos outros componentes (Nie & Kumacheva, 2010). Essa interação pode aumentar a capacidade antioxidante geral da formulação FLA-NG.

Por outro lado, a atividade antioxidante das nanopartículas pode ser afetada por seu potencial zeta. Os CAETs mais baixos dos NCs podem ser atribuídos à sua menor carga superficial; nanopartículas com baixo potencial zeta podem se agregar, levando a uma diminuição na área de superfície e, conseqüentemente, uma redução em sua capacidade antioxidante. Essa agregação pode dificultar a interação das nanopartículas com radicais livres (Kang et al., 2023).

Embora o FLA-NC também tenha mostrado aumentos no CAET em comparação aos flavonoides livres (Tabelas 2 e 4), os resultados para FLA-LP e FLA-NG destacam sua superioridade como uma estratégia eficaz para melhorar a solubilidade e, conseqüentemente, a atividade antioxidante da FLA. Essas descobertas destacam o papel promissor da nanoencapsulação como uma técnica capaz de maximizar o potencial antioxidante de compostos bioativos, com ampla aplicabilidade em formulações farmacêuticas, alimentos funcionais e suas embalagens.

Ao comparar a atividade antioxidante da fração rica em flavonoides (FLA) e das nanopartículas, comportamentos distintos foram observados dependendo do ensaio utilizado. Enquanto a FLA exibiu maior capacidade antioxidante no ensaio ABTS, as nanopartículas demonstraram desempenho superior no ensaio DPPH. Essas diferenças podem ser atribuídas a variações na composição do solvente e nas condições de pH usadas para a preparação da amostra, que são conhecidas por influenciar os mecanismos de sequestro de radicais. É importante enfatizar que a atividade antioxidante não é determinada apenas pela estrutura química dos compostos, mas também é modulada por vários fatores externos, incluindo

concentração, temperatura, natureza do radical ou oxidante e as características físico-químicas do meio de reação, como teor de água, polaridade do solvente e presença de íons metálicos ou prótons (Olszowy, 2019; Olszowy-Tomczyk, 2020; Skrovankova & Mlcek, 2025). Portanto, as diferenças observadas nos valores de TEAC entre amostras e ensaios provavelmente refletem a influência combinada do ambiente químico e da formulação da amostra.

4 CONCLUSÃO

O processo de enriquecimento de flavonoides do bagaço de *Malpighia emarginata* D.C. usando a resina Purolite PuroSorb PAD-950 demonstrou alta eficiência de adsorção e dessorção estática e uma alta capacidade de adsorção. O processo de adsorção dinâmica resultou em uma fração enriquecida, com o conteúdo de flavonoides aumentando em até 20 vezes e uma atividade antioxidante aprimorada (7,8, 9,9 e 6,7 vezes nos ensaios DPPH, ABTS e FRAP) em relação ao ERME bruto.

A nanoencapsulação de flavonoides maximiza sua capacidade antioxidante. As FLA-NP, FLA-NG e FLA-LP exibiram propriedades físicas adequadas para aplicações práticas. Enquanto as nanopartículas de policaprolactona alcançaram uma alta eficiência de encapsulamento (EE), os lipossomas carregados com flavonoides (FLA-LPs) demonstraram o menor tamanho de partícula. As FLA-LP e FLA-NG demonstraram um aumento significativo na atividade antioxidante em comparação com o FLA livre/nativo. Este desempenho sugere seu potencial para várias aplicações industriais, incluindo o aumento da estabilidade oxidativa em produtos alimentícios durante o armazenamento.

O uso de RMAs oferece uma abordagem sustentável e eficiente para valorizar resíduos agroindustriais ricos em compostos bioativos, reduzindo o desperdício e agregando valor aos subprodutos da acerola. Ao combinar técnicas de enriquecimento com nanoencapsulação de flavonoides, não apenas melhora sua estabilidade e eficácia antioxidante, mas também abre

novas perspectivas para sua aplicação em todas as indústrias, contribuindo para práticas mais sustentáveis e inovadoras.

Financiamento: Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES [Código de Financiamento 001] [número do processo 88887.569089/2020-00].

Agradecimentos: Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS); Brasfrut Frutos do Brasil e Purolite do Brasil Ltda.

Referências

- Alves, M. J. dos S., Chacon, W. D. C., Gagliardi, T. R., Agudelo Henao, A. C., Monteiro, A. R., & Ayala Valencia, G. (2021). Food Applications of Starch Nanomaterials: A Review. *Starch/Staerke*, 73, 11–12. <https://doi.org/10.1002/star.202100046>.
- Belwal, T., Devkota, H. P., Hassan, H. A., Ahluwalia, S., Ramadan, M. F., Mocan, A., & Atanasov, A. G. (2018). Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. *Trends in Food Science & Technology*, 74, 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.014>.
- Câmara, J. S., Albuquerque, B. R., Aguiar, J., Corrêa, R. C. G., Gonçalves, J. L., Granato, D., . . . Ferreira, I. C. F. R. (2020). Food Bioactive Compounds and Emerging Techniques for Their Extraction: Polyphenols as a Case Study. *Foods*, 10(1), 37. <https://doi.org/10.3390/foods10010037>.

- Chang, T., Bi, Y., Jing, L., Liu, X., Fan, M., Yao, S., . . . Zhao, Y. (2021). Simultaneous adsorption of acid and flavonoids from hawthorn juice onto resins. *Journal of Food Engineering*, 291, 110195. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110195>.
- Chen, N., Xiang, J., Liu, Y., Li, H., & Yang, B. (2021). Preparation and characterization of antioxidant flavonoid-enriched extract from saffron by-product: A combination of ultrasound-assisted extraction and macroporous resin purification. *Chemical Papers*, 75, 2749-2763.
- Duzzioni, A. G., Lenton, V. M., Silva, D. I. S., & Barrozo, M. A. S. (2013). Effect of drying kinetics on main bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(5), 1041–1047. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12060>
- Ecolab® (2025). Polymeric Adsorbent Purolite™ Resins for Industrial Applications. Retrieved from <https://www.purolite.com/dam/jcr:f016dec-bf8a-4b06-b5f7-1673fad6b255/industrial-adsorbents-brochure.pdf>. Accessed May 10, 2025.
- Franco, J. G., Cefali, L. C., Ataide, J. A., Santini, A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G. (2021). Effect of nanoencapsulation of blueberry (*Vaccinium myrtillus*): A green source of flavonoids with antioxidant and photoprotective properties. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 23, 100515. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100515>.
- Freitas, E. E. S., Dias, Ê. R., Albuquerque, M. M. S., Biondi, I. B., Branco, C. R. C., Cruz, R. S., . . . Camilloto, G. P. (2023). Antioxidant films based on poly(lactic acid) incorporated with crude extract from *Malpighia emarginata* DC pomace for use in food packaging. *Packaging Technology and Science*, 37(1), 39-50. <https://doi.org/10.1002/pts.2778>.
- Gaglianò, M., Rodrigues-Lopes, A. D., Conidi, C., Cassano, A., De Luca, G., & Garcia-Castello, E. M. (2025). Assessment of the polyphenol recovery from white wine lees via non-ionic polymeric resins. *Journal of Food Engineering*, 397, Article 112576. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2025.112576>.

Gordon, R. M., Washington, T. L., Sims, C. A., Goodrich-Schneider, R., Baker, S. M., Yagiz, Y., & Gu, L. (2021). Performance of macroporous resins for debittering HLB-affected grapefruit juice and its impacts on furanocoumarin and consumer sensory acceptability. *Food Chemistry*, 352, 129367. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129367>.

Heravi, S., Rahimi, M., Shahriari, M., & Nejad Ebrahimi, S. (2022). Enrichment of phenolic compounds from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace extract using a macroporous resin and response surface methodology. *Chemical Engineering Research and Design*, 183, 382-397. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.05.011>.

Huang, P., Zhang, Q., Pan, H., Luan, L., Liu, X., & Wu, Y. (2017). Optimization of integrated extraction-adsorption process for the extraction and purification of total flavonoids from *Scutellariae barbatae herba*. *Separation and Purification Technology*, 175, 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.11.031>.

Huang, X., Li, T., & Li, S. (2023). Encapsulation of vitexin-rhamnoside based on zein/pectin nanoparticles improved its stability and bioavailability. *Current Research in Food Science*, 6, 100419. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.100419>.

Kang, M. J., Kim, D.-Y., Baek, Y., & Lee, H. G. (2023). Enhancement of antioxidant activities and stabilities of quercetin and isoquercetin through the combination of nanoencapsulation and hydrogel incorporation. *Food Bioscience*, 55, 102963. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102963>.

Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4), 1567-1574.

Kelly, N. P., Kelly, A. L., & O'Mahony, J. A. (2019). Strategies for enrichment and purification of polyphenols from fruit-based materials. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 248-258. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.010>.

Koop, B. L., Nascimento da Silva, M., Diniz da Silva, F., Thayres dos Santos Lima, K., Santos Soares, L., José de Andrade, C., . . . Rodrigues Monteiro, A. (2022). Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. *Food Research International*, 153, 110929. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110929>.

Kumar, V. D., Verma, P. R. P., & Singh, S. K. (2015). Development and evaluation of biodegradable polymeric nanoparticles for the effective delivery of quercetin using a quality by design approach. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 330-338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.020>.

Ledesma, B., Sabio, E., González-García, C., Román, S., Fernandez, M.E., Bonelli, P., & Cukierman, A.L. (2023). Batch and continuous column adsorption of p-nitrophenol onto activated carbons with different particle sizes. *Processes*, 11 (7), 2045. <https://doi.org/10.3390/pr11072045>.

Li, X. L., Xie, Q. T., Liu, W. J., Xu, B. C., & Zhang, B. (2021). Self-assembled pea protein isolate nanoparticles with various sizes: Explore the formation mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(34), 9905-9914.

Ligarda-Samanez, C. A., Choque-Quispe, D., Moscoso-Moscoso, E., Palomino-Rincón, H., Taipe-Pardo, F., Aguirre Landa, J. P. A., . . . Guzmán Gutiérrez, R. J. (2023). Nanoencapsulation of Phenolic Extracts from Native Potato Clones (*Solanum tuberosum* spp. andigena) by Spray Drying. *Molecules*, 28(13), 4961. <https://doi.org/10.3390/molecules28134961>.

Lin, L., Xu, W., Liang, H., He, L., Liu, S., Li, Y., Li, B., & Chen, Y. (2015). Construction of pH-sensitive lysozyme/pectin nanogel for tumor methotrexate delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 126, 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.12.051>

- Lv, C., Yang, J., Liu, R., Lu, Q., Ding, Y., Zhang, J., & Deng, J. (2018). A comparative study on the adsorption and desorption characteristics of flavonoids from honey by six resins. *Food Chemistry*, 268, 424-430. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.100>.
- Maqsoudlou, A., Assadpour, E., Mohebodini, H., & Jafari, S. M. (2020). Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. *Advances in Colloid and Interface Science*, 278, Article 102122. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102122>.
- Mesquita, P. C., Rodrigues, L. G. G., Mazzutti, S., Ribeiro, P. R. V., de Brito, E. S., & Lanza, M. (2022). Untargeted metabolomic profile of recovered bioactive compounds by subcritical water extraction of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) pomace. *Food Chemistry*, 397, 133718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133718>.
- Miranda, Í. K. S. P. B., Santana, F. R., Camilloto, G. P., Detoni, C. B., Souza, F. V. D., Cabral-Albuquerque, E. C. d. M., . . . Assis, S. A. d. (2021). Development of membranes based on carboxymethyl cellulose/acetylated arrowroot starch containing bromelain extract carried on nanoparticles and liposomes. *Journal of Pharmaceutical Science*, 110(6), 2372-2378. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.02.031>.
- Mir-Cerdà, A., Ramos-Calero, V., Beltrán, J. L., Cortina, J. L., Saurina, J., Sentellas, S., & Granados, M. (2024). Towards a sustainable recovery of polyphenols from agrifood waste: Performance of polymeric sorbents with natural deep eutectic solvent extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 207, 116632. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116632>.
- Mirzaei-Mohkam, A., Garavand, F., Dehnad, D., Keramat, J., & Nasirpour, A. (2020). Physical, mechanical, thermal and structural characteristics of nanoencapsulated vitamin E loaded carboxymethyl cellulose films. *Progress in Organic Coatings*, 138, 105383.
- Mohammadi, N., Guo, Y., Wang, K., & Granato, D. (2024). Macroporous resin purification of phenolics from Irish apple pomace: Chemical characterization, and cellular antioxidant and

anti-inflammatory activities. *Food Chemistry*, 437, 137815.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137815>.

Nie, Z., Petukhova, A., & Kumacheva, E. (2010). Properties and emerging applications of self-assembled structures made from inorganic nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, 5(1), 15-25.

Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant activity of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135–143.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.039>.

Olszowy-Tomczyk, M. (2020). Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures. *Phytochemistry Review*, 19, 63–103. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09658-4>.

Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E., . . . Ayadi, M. T. (2015). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(01), 052-057. <https://doi.org/10.7324/japs.2015.50110>.

Reque, P. M., & Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 1–10.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>

Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254, 281-291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>.

Romani, A., Campo, M., Urciuoli, S., Marrone, G., Noce, A., & Bernini, R. (2020). An industrial and sustainable platform for the production of bioactive micronized powders and extracts enriched in polyphenols from *Olea europaea* L. and *Vitis vinifera* L. wastes. *Frontiers in Nutrition*, 7, 120. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00120>.

- Rosales, T. K. O., & Fabi, J. P. (2023). Pectin-based nanoencapsulation strategy to improve the bioavailability of bioactive compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 229, 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.292>.
- Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123470. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>.
- Saha, S., Kundu, J., Verma, R. J., & Chowdhury, P. K. (2020). Albumin coated polymer nanoparticles loaded with plant extract derived quercetin for modulation of inflammation. *Materialia*, 9, 100605. <https://doi.org/10.1016/j.mtla.2020.100605>.
- Sahoo, T.R., & Prelot, B. (2020). Adsorption processes for the removal of contaminants from wastewater: the perspective role of nanomaterials and nanotechnology. In: *Nanomaterials for the Detection and Removal of Wastewater Pollutants*. Elsevier Inc, pp. 161–222. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818489-9.00007-4>.
- Santos, F. K. F., de Rezende, C. M., & da Veiga Júnior, V. F. (2022). Macroporous polymeric resins as a tool to obtain bioactive compounds in food and food-waste: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 114, 104703. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104703>.
- Shah, M. A., Mir, S. A., & Bashir, M. (2018). Nanoencapsulation of Food Ingredients. In M. Khosrow-Pour (Ed), *Food Science and Nutrition: Breakthroughs in Research and Practice* (pp. 218-234). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-5207-9.ch011>.
- Shen, D., Labreche, F., Wu, C., Fan, G., Li, T., Dou, J., & Zhu, J. (2022). Ultrasound-assisted adsorption/desorption of jujube peel flavonoids using macroporous resins. *Food Chemistry*, 368, 130800.
- Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., de Mello, J. C. P., Mentz, L. A., & Petrovick, P. R. (2016). *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Artmed Editora.

- Skrovankova, S., & Mlcek, J. (2025). Antioxidant Potential and Its Changes Caused by Various Factors in Lesser-Known Medicinal and Aromatic Plants. *Horticulturae*, 11(1), 104. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11010104>
- Sumalinog, D.A.G., Capareda, S.C., & de Luna, M.D.G. (2018). Evaluation of the effectiveness and mechanisms of acetaminophen and methylene blue dye adsorption on activated biochar derived from municipal solid wastes. *Journal of Environmental Management*, 210, 255–262. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.010>.
- Sun, N., Xie, J., Xie, J., Chen, Y., Hu, X., & Yu, Q. (2022). Purification, composition and activity of bound polyphenols from mung bean coat dietary fiber. *Food Research International*, 162, 111997. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111997>.
- Sun, P.-C., Liu, Y., Yi, Y.-T., Li, H.-J., Fan, P., & Xia, C.-H. (2015). Preliminary enrichment and separation of chlorogenic acid from *Helianthus tuberosus* L. leaves extract by macroporous resins. *Food Chemistry*, 168, 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.038>.
- Tassoult, M., Kati, D. E., Fernández-Prior, M. A., Bermúdez-Oria, A., Fernandez-Bolanos, J., & Rodríguez-Gutiérrez, G. (2021). Antioxidant Capacity and Phenolic and Sugar Profiles of Date Fruits Extracts from Six Different Algerian Cultivars as Influenced by Ripening Stages and Extraction Systems. *Foods*, 10, 503. <https://doi.org/10.3390/foods10030503>.
- Teixeira, B. F., Aranha, J. B., & Vieira, T. M. F. d. S. (2022). Replacing synthetic antioxidants in food emulsions with microparticles from green acerola (*Malpighia emarginata*). *Future Foods*, 5, 100130. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100130>.
- Trevelyan, W. E., Forrest, R. S., & Harrison, J. S. (1952). Determination of Yeast Carbohydrates with the Anthrone Reagent. *Nature*, 170(4328), 626–627. <https://doi.org/10.1038/170626a0>
- Tripathy, S., & Srivastav, P. P. (2023). Encapsulation of *Centella asiatica* leaf extract in liposome: Study on structural stability, degradation kinetics and fate of bioactive compounds

during storage. *Food Chemistry Advances*, 2, 100202.

<https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100202>.

Usman, M., Cheng, S., Boonyubol, S., & Cross, J. (2023). Evaluating Green Solvents for Bio-Oil Extraction: Advancements, Challenges, and Future Perspectives. *Energies*, 16(15), 5852. <https://doi.org/10.3390/en16155852>.

Wang, Y., Zhang, Y., Cheng, J., Zhao, J., Shi, R., He, L., . . . Chen, Y. (2022). Efficient purification of flavonoids from bamboo shoot residues of *Phyllostachys edulis* by macroporous resin and their hypoglycemic activity. *Food Chemistry X*, 16, 100505. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100505>.

Xu, M., Shen, C., Zheng, H., Xu, Y., Xue, C., Zhu, B., & Hu, J. (2020). Metabolomic analysis of acerola cherry (*Malpighia emarginata*) fruit during ripening development via UPLC-Q-TOF and contribution to the antioxidant activity. *Food Research International*, 130, 108915. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108915>.

Yin, P., Yang, L., Li, K., Fan, H., Xue, Q., Li, X., Sun, L., & Liu, Y. (2019). Bioactive components and antioxidant activities of oak cup crude extract and its four partially purified fractions by HPD-100 macroporous resin chromatography. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(2), 249–261. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.018>

Zhang, Y., Hai, Y., Miao, Y., Qi, X., Xue, W., Luo, Y., ... Yue, T. (2021). The toxicity mechanism of different sized iron nanoparticles on human breast cancer (MCF7) cells. *Food Chemistry*, 341, Article 128263. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128263>.

Zhang, Y., Li, S., Wu, X., & Zhao, X. (2007). Macroporous Resin Adsorption for Purification of Flavonoids in *Houttuynia cordata* Thunb. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 15(6), 872-876. [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(08\)60017-8](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(08)60017-8).

Zhao, Z., Dong, L., Wu, Y., & Lin, F. (2011). Preliminary separation and purification of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Siebold extracts by macroporous resins. *Food and Bioprocess Processing*, 89(4), 266-272. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.11.001>.

Zhuang, D., Li, R., Zhang, M., Wang, S., Ahmad, H. N., & Zhu, J. (2024). Photodynamic-responsive gelatin-based coating with high utilization curcumin loaded bilayer nanoencapsulation: A promising environmental food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 128476. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128476>.

Apêndice

Apêndice A – Comprimentos de onda de absorção UV dos picos representados no cromatograma da FLA (Figura 8).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Comprimento de onda UV (nm)	
		Banda II	Banda I
1	13.06	260	355
2	13.58	255	355
3	14.78	255	355
4	15.43	265	350
5	18.37	255	350
6	23.91	255	355
7	27.79	255	370
8	33.38	265	370

Apêndice B - Comprimentos de onda de absorção UV dos padrões dos flavonoides (Figura 8) identificados no FLA.

Padrão do Flavonoides	Tempo de Retenção (min)	Comprimento de onda UV (nm)	
		Banda II	Banda I
Rutina	13.73	255	355
Quercetina	27.71	255	370
Canferol	33.05	265	370

CAPÍTULO 2

Filmes antioxidantes à base de poli(álcool vinílico) (PVOH) contendo uma fração rica em Flavonoides do Resíduo de *Malpighia emarginata* D.C. livre e nanoencapsulada

Antioxidant Films Based on Poly(vinyl alcohol) (PVOH) Activated by a Flavonoid-Rich Fraction from *Malpighia emarginata* D.C. Residue in Free and Nanoencapsulated Forms

Esther Emily Silva Freitas^a; Indira Sardinha Caló Esteves^b; Lais Maciel Rodrigues^a; Adriane Santana Bomfim^a; Sthefane Pires dos Santos^a; Renato Souza Cruz^a; Alexsandro Branco^c; Geany Peruch Camilloto^a;

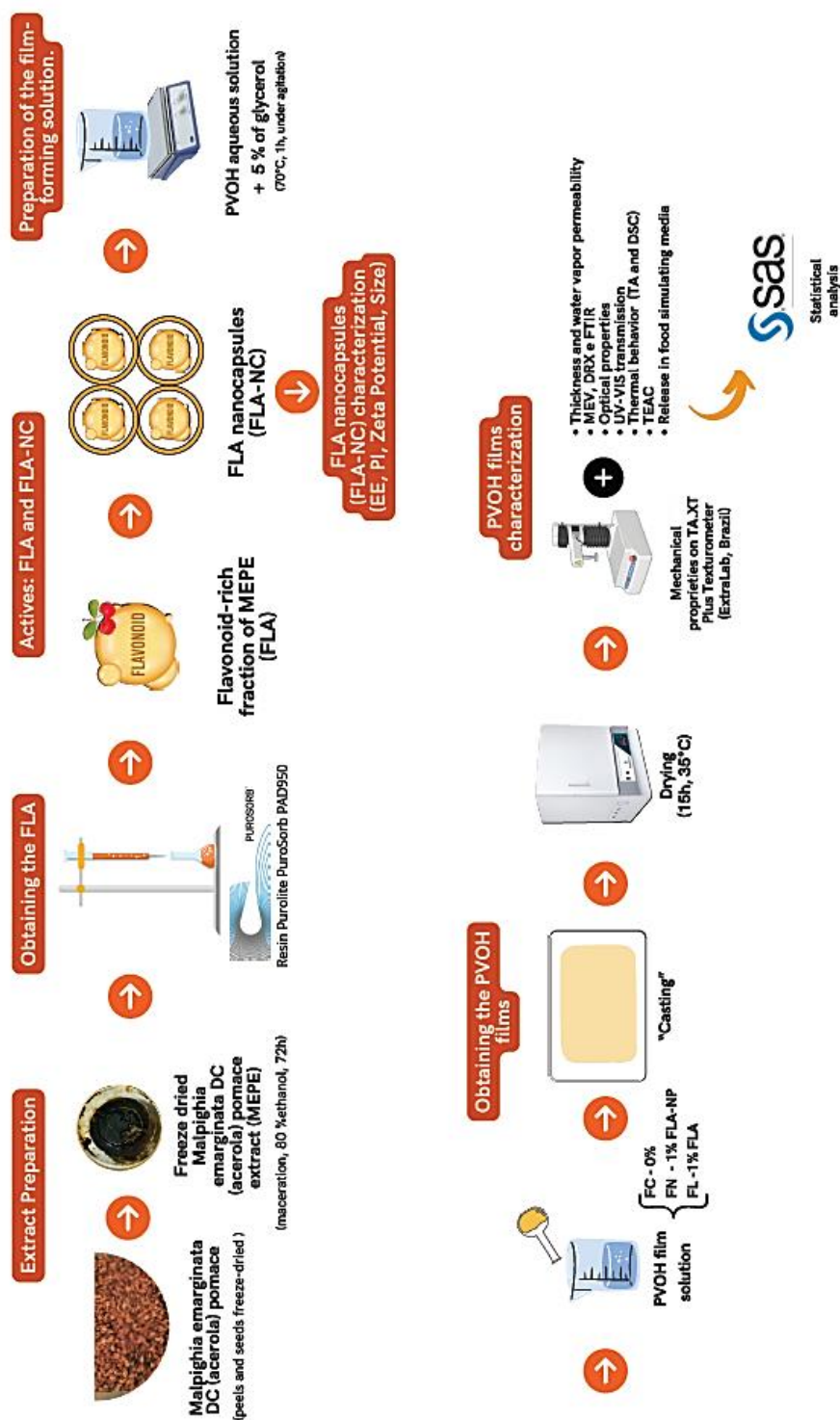
a Laboratório de Embalagens de Alimentos, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Feira de Santana, BA, 44.036-900, Brasil.

b Escola Politécnica, Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Rua Aristides Novis, 40210-630 Salvador, BA, Brazil

c Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Feira de Santana, BA, 44.036-900, Brasil.

* G. P. Camilloto, Laboratório de Embalagens de Alimentos, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n, Feira de Santana, BA, 44.036-900, Brasil. E-mail: geanyperuch@uefs.br.

GRAPHICAL ABSTRACT



RESUMO

As embalagens ativas incorporadas com antioxidantes naturais têm sido amplamente estudadas para reduzir a perda de qualidade e garantir a segurança dos alimentos. Os antioxidantes do extrato de resíduos de *Malpighia emarginata* DC (acerola) (ERME) podem ser incorporados em nanopartículas para aumentar sua dispersibilidade, estabilidade e eficácia em materiais de embalagem. Este estudo avaliou o efeito da incorporação de nanopartículas de uma fração rica em flavonoides (FLA), obtida por adsorção do ERME, nas propriedades estruturais, morfológicas, físico-mecânicas, térmicas, ópticas e antioxidantes de filmes de poli(álcool vinílico) (PVOH). Foram produzidos, por “*casting*”, filmes controle (FC) e incorporados com 1% (m/m) de FLA livre (FL) e nanoencapsulada FLA-NC (FN). A incorporação de FLA, livre e de suas nanopartículas, reduziu a cristalinidade dos filmes FL e FN, resultando em menor resistência à tração e maior permeabilidade ao vapor de água. Além disso, os filmes apresentaram maior opacidade, índice de amarelamento e proteção contra radiação UV-visível. As propriedades térmicas sofreram pequenas alterações, sem comprometer a aplicabilidade. Os filmes ativos apresentaram funcionalidade antioxidante ampliada, com destaque para FN, que promoveu a liberação controlada dos compostos bioativos. Esse comportamento reforça seu potencial para embalagens ativas na preservação de alimentos suscetíveis à oxidação.

Palavras-Chave: Filmes Ativos, Nanotecnologia, Polímeros, Compostos Bioativos, Resíduos Agroindustriais.

ABSTRACT

Active packaging incorporated with natural antioxidants has been widely studied to reduce quality loss and ensure food safety. Antioxidants from *Malpighia emarginata* DC (acerola) waste extract (ERME) can be incorporated into nanoparticles to increase their dispersibility, stability and efficacy in packaging materials. This study evaluated the effect of incorporating nanoparticles of a flavonoid-rich fraction (FLA), obtained by adsorption of ERME, on the structural, morphological, physical-mechanical, thermal, optical and antioxidant properties of Poly(vinyl alcohol) (PVOH) films. Control films (FC) and films incorporated with 1% (w/w) of free FLA (FL) and nanoencapsulated FLA-NC (FN) were produced by casting. The incorporation of free FLA and FLA-NC reduced the crystallinity of the FL and FN films, resulting in lower tensile strength and higher water vapor permeability. Furthermore, the films presented higher opacity, yellowing index and protection against UV-visible radiation. Thermal properties underwent subtle changes, without compromising applicability. The active films presented enhanced antioxidant functionality, with emphasis on FN, which promoted the controlled release of bioactive compounds. This behavior reinforces their potential for active packaging in the preservation of foods susceptible to oxidation.

Keywords: Active Films, Nanotechnology, Polymers, Bioactive Compounds, Agro-Industrial Waste.

1 INTRODUÇÃO

A perda de qualidade e a segurança dos alimentos são desafios cruciais para a indústria alimentícia. Entre os fatores que comprometem a estabilidade dos alimentos, as reações de oxidação destacam-se como uma das principais causas de degradação, alterando atributos desejáveis, como aparência, propriedades de retenção de água e textura (Al-Dalali, Li e Xu, 2022). O controle dessas reações pode ser realizado por meio da remoção de pró-oxidantes, adição de antioxidantes, otimização das condições de armazenamento, aplicação de abordagens de design estrutural e uso de materiais de embalagem (Cheng et al., 2024).

A valorização de subprodutos da indústria agroalimentar, ricos em compostos fenólicos com elevada atividade antioxidante, têm potencial para agregar valor aos produtos desenvolvidos a partir dessas matérias-primas (Carneiro et al., 2020). Entre esses subprodutos, os extratos de resíduos de *Malpighia emarginata* DC (ERME) são fontes promissoras de compostos fenólicos bioativos (Freitas et al., 2023). Os flavonoides do ERME se destacam por sua capacidade antioxidante, que pode ser aprimorada por processos de adsorção e nanoencapsulação. Os flavonoides são amplamente reconhecidos por sua alta atividade e podem inibir ou retardar efetivamente as reações de oxidação após sua liberação nas superfícies dos alimentos (Roedig-Penman e Gordon, 1998).

A incorporação de agentes antioxidantes em materiais de embalagem é uma estratégia eficaz para prolongar a vida útil de alimentos perecíveis (De Lima Silva et al., 2021). Nesse contexto, as embalagens ativas antioxidantes emergem como uma solução inovadora, consistindo na incorporação de aditivos antioxidantes em filmes plásticos, papéis ou sachês, que atuam inibindo as reações de oxidação ao interagir com radicais livres e peróxidos (Yildirim et al., 2018). Há um interesse crescente no uso de antioxidantes naturais em detrimento dos sintéticos devido a preocupações com saúde e sustentabilidade, entre produtores e consumidores (Cheng et al., 2024). Como resultado, as embalagens ativas formuladas com

antioxidantes naturais têm recebido ampla atenção na busca por soluções para reduzir perdas e desperdícios alimentares (Freitas et al., 2023; Li et al., 2024; Liu et al., 2024; Qin et al., 2024).

No entanto, vários tipos de aditivos naturais possuem problemas de incorporação em sistemas de embalagens devido à oxidação pela luz, baixa estabilidade térmica, alta volatilidade, entre outros. Neste contexto, a nanoencapsulação, que consiste no aprisionamento de moléculas de uma substância dentro de cápsulas de tamanho nanométrico, tem sido uma técnica usada para superar os desafios de solubilidade e estabilidade de compostos bioativos, bem como para aumentar a bioatividade e possibilitar a criação de dispositivos de liberação controlada de compostos ativos em embalagens ativas (Mirzaei-Mohkam et al., 2020; Bazana, Codevilla, Menezes, 2019; Liu et al., 2017).

Os antioxidantes do ERME podem ser incorporados em nanopartículas para aumentar sua dispersibilidade, estabilidade e eficácia em materiais de embalagem (Cheng et al. 2024). Os nanomateriais também podem ser projetados para controlar a retenção e liberação de antioxidantes de materiais de embalagem, promovendo assim a inibição sustentada da oxidação durante o armazenamento (Gómez-Estaca et al. 2014). Além disso, a incorporação de materiais nanométricos na matriz polimérica pode melhorar propriedades térmicas, mecânicas e de barreira a gases em filmes ativos (Mahmud et al., 2022).

As nanopartículas são atualmente os nanomateriais mais comuns usados em embalagens de alimentos antioxidantes ativos (Cheng et al. 2024). A introdução de nanopartículas de policaprolactona carregadas com α -tocoferol em filmes de carboximetilcelulose demonstrou melhorar sua atividade de eliminação de radicais livres (Mirzaei-Mohkam et al. 2019). Portanto, as nanopartículas são propícias para melhorar as propriedades antioxidantes de embalagens de alimentos antioxidantes ativas (Zhang e Jiang 2020; Sun et al. 2021; Ma et al. 2022). Adicionalmente, o uso de nanopartículas baseadas em polímeros biodegradáveis, como a policaprolactona, é uma alternativa segura e pode minimizar as preocupações sobre o impacto

ambiental e a segurança das nanopartículas metálicas, que apesar de serem comumente usadas em embalagens ativas antioxidantes de alimentos, ainda não possuem a segurança do uso esclarecida, além do seu alto custo (Cheng et al. 2024).

Estudos sobre a aplicação de ativos antioxidantes, antimicrobianos e nanopartículas em filmes à base de poli(álcool vinílico) (PVOH) tem avançado consideravelmente (Andrade, González-Martínez e Chiralt, 2021; Majumdar et al., 2023; Sharma et al., 2024; Tanwar et al., 2021; Yaqoob et al., 2023), devido à sua solubilidade em água, estabilidade química, biocompatibilidade e biodegradabilidade, tornando-o uma alternativa viável para aplicações sustentáveis (Oun et al., 2022).

Apesar dos avanços no desenvolvimento de embalagens ativas, não há registros na literatura sobre a avaliação do efeito da incorporação de nanopartículas contendo uma fração rica em flavonoides (FLA), extraída de resíduos de *Malpighia emarginata* DC (acerola) (ERME), em filmes de PVOH. Dessa forma, este estudo tem como objetivo desenvolver e caracterizar filmes antioxidantes de PVOH ativados por uma fração rica em flavonoides do resíduo de *Malpighia emarginata* D.C., comparando os efeitos da sua incorporação nas formas livre e nanoencapsulada.

Dessa forma, esta pesquisa não apenas contribui para a inovação em embalagens ativas, mas também promove a sustentabilidade ao valorizar subprodutos agroindustriais e reduzir o impacto ambiental. O estudo proposto está alinhado às tendências atuais de segurança alimentar e desenvolvimento de soluções sustentáveis, oferecendo uma abordagem promissora para a preservação da qualidade dos alimentos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais e reagentes

Os produtos químicos, Resina de álcool polivinílico PVOH, parcialmente hidrolisada (> 94%), foi gentilmente cedida pela Kuraray Poval (Houston, Texas, USA). Os reagentes Cloreto Férrico (FeCl_3), Nitrito de Sódio (NaNO_2), Cloreto de Alumínio (AlCl_3), Hidróxido de Sódio (NaOH), Antrona ($\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}$), Glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), Ácido Clorídrico (HCl), Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) e Etanol absoluto foram adquiridos da Dinâmica Química Contemporânea (Brasil). Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), Quercetina, 2,4,6-Tris(2-Piridil)-S-Triazina (TPTZ), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), 2,20-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS) e Persulfato de Potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha).

2.2 Obtenção da fração rica em flavonoides do ERME

O enriquecimento de flavonoides do ERME bruto foi realizado usando um experimento dinâmico de adsorção/dessorção. Uma solução aquosa do extrato do ERME (50 mg/mL) foi percolada por uma coluna empacotada com a resina PuroSorb PAD950. Neste processo, uma fração rica em flavonoides do ERME – (FLA) foi obtida, durante o tempo de 10-40 minutos na fase de dessorção, em solvente hidroetanólico (Etanol 80%). Essa fração foi selecionada por apresentar um teor de flavonoides superior ao do extrato, resultando em uma atividade antioxidante aprimorada. Além disso, destacou-se pelo bom rendimento entre as frações de dessorção obtidas (Capítulo 1).

2.3 Nanoencapsulação da fração rica em flavonoides do ERME (FLA)

Nanocápsulas carregadas com FLA (FLA - NC) foram preparadas através do método de nanoprecipitação descrito por Kumar et al. (2015). Neste procedimento, primeiramente foi

preparada a fase orgânica, a policaprolactona (0,0375 g) foi dissolvida em acetona (10 mL) com o auxílio de um banho ultrassônico, por 10 minutos, em seguida foi adicionada da FLA (0,05 g) e homogeneizada com mais um ciclo no banho ultrassônico. Esta solução orgânica foi gradualmente gotejada (com o auxílio de uma bureta) na fase aquosa (20 mL de água destilada), que continha o surfactante hidrofílico Pluronic 127 (0,2 g) dissolvido, sob agitação magnética moderada. A acetona foi removida por evaporação a 40 °C, mantendo a agitação magnética para garantir a uniformidade.

2.4 Caracterização das nanopartículas

As nanopartículas carregadas da FLA (FLA-NC) foram caracterizadas em termos de tamanho de partícula (nm), índice de polidispersão (PDI) e Zeta potencial (mV) foram avaliados por espalhamento dinâmico de luz. Ambas as análises foram realizadas com um Zetasizer (Nano ZS, Malvern Instruments, Reino Unido). Para evitar efeitos de espelhamento múltiplo, as nanopartículas foram diluídas em água deionizada antes da medição. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

A eficiência de encapsulamento (EE) da FLA foi determinada pelo cálculo da diferença entre seu conteúdo total e livre, de acordo com Mirzaei-Mohkam et al. (2020) com modificações. O conteúdo total de flavonoides foi quantificado pela dissolução de 1 mL da suspensão de nanopartículas em 10 mL de metanol, seguido por sonicação por 30 minutos e centrifugação a 4800 rpm por 30 minutos. A concentração de FLA em 1 mL do sobrenadante resultante foi analisada pelo conteúdo de flavonoides totais (TFT) descrito por Rebaya et al. (2014). Para o conteúdo de flavonoides livres, a suspensão de nanopartículas foi colocada em microtubos de filtro (10 kDa MCO, filtro Amicon, Merck) e submetida à ultrafiltração/centrifugação a 4800 rpm por 30 minutos. A concentração de flavonoides não

encapsulados no filtrado foi então determinada pelo método TFT, em triplicata. O EE foi expresso como uma porcentagem de TFT e calculado usando a Equação 1.

$$EE = (TFT_{total} - TFT_{livre})/TFT_{total} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

2.5 Produção dos filmes ativos antioxidantes

Os filmes de PVOH, controle (FC) e incorporados com 1% (m/m) de FLA livre (FL) e com FLA nanoencapsulada (FN), foram produzidos pela técnica “casting”. As soluções filmogênicas foram preparadas por meio da solubilização da matriz polimérica de PVOH (5g) e do glicerol (5% em relação ao polímero), em 100 ml de água deionizada, sob agitação constante a 70 °C por 1 h. Após a solubilização, a solução foi resfriada até atingir temperatura ambiente e, em seguida, foi adicionada de 1% (m/m) de FLA ou FLA-NC, para produção de FL e FN, respectivamente. Além disso, foi produzido um filme controle (FC), sem a adição da FLA. Os filmes foram formados por meio do espalhamento da solução filmogênica em placas de vidro com bordas (20 x 30 cm) e secos em estufa à 35 °C, por 15 h. Os filmes foram retirados das placas, acondicionados em embalagens plásticas de polietileno e armazenados sob refrigeração e proteção da luz. A produção dos filmes foi realizada em três repetições.

2.6 Caracterização dos filmes de PVOH

2.6.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos filmes foi avaliada nos sentidos longitudinal e transversal usando um microscópio eletrônico de varredura (JSM-6610lv Jeol, Tokyo, Japan) operando a uma tensão de aceleração de 10,0 kV sob condição de alto vácuo. As amostras foram fixadas no suporte por uma fita de alumínio e depois revestidas com uma fina camada de ouro. As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica (LAMUME), Instituto de Física, Universidade Federal da Bahia.

2.6.2 Análise de difração de raios X (DRX)

Os padrões de raios X para cada formulação dos filmes de PVOH (FC, FN e FL) foram analisados por difratometria de raios X com radiação Cu k- α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) a 30 kV e 15 mA (D2 PHASER, Bruker / LABMAT-UEFS). Amostras de filme (2cm^2) foram colocados no suporte da amostra e fixados por fita adesiva. Cada amostra foi digitalizada entre $2\theta = 3-60^\circ$ a uma taxa de digitalização de $0,04^\circ/\text{s}$.

O Índice de Cristalinidade (em porcentagem) foi calculado a partir da Equação 2,

$$\text{IC (\%)} = \frac{A_c}{(A_c + A_a)} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde IC é o índice de cristalinidade, A_c é a área da região cristalina, e A_a é a área da região amorfa.

2.6.3 Análise estrutural por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os grupos funcionais dos filmes foram analisadas através do modo de reflexão total atenuada (ATR) em Espectrômetro no Infravermelho com Transformada de Fourier (IRPrestige-21, Shimadzu, Central Analítica PPEQ-UFBA). Tiras de filme de aproximadamente 1 cm^2 foram colocadas no suporte de amostra do Smart iTR ATR. Os espectros FTIR foram registrados de 600 a 4000 cm^{-1} com uma resolução de 8 cm^{-1} com um total de 32 digitalizações.

2.6.4 Propriedades ópticas

A cor do filme foi determinada usando um colorímetro Konica Minolta CM-5 (Minolta Camara Co., Ltd, Osaka, Japão) de acordo com método descrito por Mendes et al. (2021). O brilho (L^*) e os parâmetros de cromaticidade a^* (vermelho para verde) e b^* (amarelo para azul)

foram determinados em pelo menos três posições aleatórias ao longo das superfícies dos filmes. Uma placa de cor padrão branca ($L^* = 92,92$, $a^* = 0,46$, $b^* = 4,88$) foi usada para calibração e como plano de fundo para calcular a diferença de cor total (ΔE) pela Eq. (3) e o índice de amarelamento (YI) foi calculado pela Eq. (4).

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{Equação 3})$$

$$YI = \frac{142.86 \cdot b^*}{L} \quad (\text{Equação 4})$$

2.6.5 Transmissão de luz

As propriedades da barreira de luz ultravioleta (UV) e visível (Vis) foram medidas usando um espectrofotômetro (KASVI K37-UVVIS) de acordo com o descrito por Rangaraj et al. (2021). Tiras de filme de 1 x 4 cm foram cortadas e colocadas diretamente em uma célula de teste para filmes. A transmissão de luz (%) dos filmes foi determinada em uma faixa de comprimentos de onda selecionados (200-800 nm) e um teste de/ célula vazio foi usado como referência. As análises foram realizadas em triplicata, para cada repetição e para todos os tratamentos e a opacidade dos filmes foi calculada de acordo com a Equação 5:

$$\text{Opacidade} = -\log T_{600} / x \quad (\text{Equação 5})$$

Onde,

T é a transmissão (%) a 600 nm;

x é a espessura do filme (mm).

2.6.6 Espessura, propriedades mecânicas e de barreira

A espessura dos filmes foi medida usando um micrômetro (Mitutoyo, Japão) com precisão de 0,01 mm. O valor da espessura foi dado pela média de 10 medições, feitas em pontos selecionados aleatoriamente.

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas por meio do teste de tração em texturômetro TA.XT Plus, com célula de carga de 50 kg, velocidade e distância de separação entre as garras de 500 mm/min e 50 mm, respectivamente. Para cada filme, foram analisados dez corpos de prova com dimensões de 20 mm x 100 mm (ASTM, 2009). Dados de força e alongamento foram registrados e utilizados na determinação da resistência máxima a tração (RMT), alongamento na ruptura (AR) e módulo de Young (MY) dos filmes.

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada por meio do método dessecante, segundo a metodologia ASTM E 96-00 (ASTM, 2000). Os filmes foram aplicados em cápsulas contendo sílica gel azul porosa como substância dessecante e vedadas (para que a migração de umidade ocorresse apenas através do filme). Todo o conjunto foi colocado em uma câmara dessecadora com temperatura em torno de $27,0 \pm 0,3$ °C, numa umidade relativa de $73,0 \pm 2,4\%$, obtida através de uma solução saturada de NaCl (cloreto de sódio). O ganho de umidade foi determinado durante 8 dias através de duas pesagens por dia a intervalos de tempo adequados. Os testes foram realizados em triplicata. O termo g/t foi obtido através de regressão linear e o coeficiente de permeabilidade foi calculado em (g.mm/m².dia.kPa), conforme Equação 6:

$$PVA = \frac{g \cdot e}{A \cdot t \cdot \Delta P} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

g é o ganho de massa;

e a espessura média do corpo de prova (mm);

A é a área de permeação;

t o tempo (dia);

ΔP é a diferença entre a pressão relativa no interior da câmara e a pressão relativa no interior da cápsula (kPa).

2.6.7 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As transições térmicas dos filmes foram obtidas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC-60 Plus, Shimadzu / Central Analítica PPEQ-UFBA). Aproximadamente 6 mg ($\pm 0,001$ mg) de filme foi cortado em pedaços pequenos e selados em placas de alumínio. Cada amostra foi aquecida a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ de 30 a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uma placa de alumínio vazia foi usada como referência. A temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de fusão (T_m) foram obtidas a partir dos termogramas.

2.6.8 Análise Termogravimétrica (TG)

O perfil de degradação térmica dos filmes (FC, FL e FN), do polímero de PVOH, dos flavonoides livres (FLA) e da FLA nanoencapsulada (FLA - NC) foram realizadas em analisador termogravimétrico (TGA, Pyris 1, Massachusetts, EUA). Amostras de 8-10 mg foram acondicionadas em cápsula de platina e analisadas sob atmosfera de gás nitrogênio, com fluxo de $20\text{ mL}.\text{min}^{-1}$, a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, entre 25 e 800°C .

2.6.9 Capacidade antioxidante dos filmes

A capacidade antioxidante dos filmes em equivalentes ao Trolox (CAET) foi avaliada de acordo com os métodos DPPH, ABTS e FRAP (poder de redução de íons férricos) descritos por XU *et al.* (2020), Yin *et al.* (2019) e Rumpf *et al.* (2023), respectivamente. Amostras de filme (4 cm^2) foram colocadas em tubo de ensaio contendo 10 mL de água, após 24h, as soluções foram homogeneizadas e então avaliadas. As CAET foram calculadas e expressas em micromolar em equivalentes ao Trolox por grama de filme ($\mu\text{M/g}$).

2.6.10 Liberação dos flavonoides em diferentes simulantes alimentares

A cinética de liberação dos flavonoides dos filmes foi realizada durante 10 dias para dois tipos de simuladores alimentares. Assim, os simuladores alimentares A (etanol 10% (v/v)) e B (etanol 95% (v/v)) foram selecionados para simular alimentos aquosos e gordurosos, respectivamente, conforme a European Commission (2011). Amostras de filmes controle e ativos foram cortados (50 cm²) e imersos em 20 mL do simulador correspondente e mantidos sob agitação (80 rpm) a 40 °C. Uma alíquota dos meios foi analisada quanto ao Teor de Flavonoides Totais (TFT), nos tempos 24, 72, 144 e 240 h, conforme descrito por Rebaya et al. (2014). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os valores de TFT foram referidos por miligramas de quercetina por grama de filme (mg de QE/g filme).

2.7 Análise estatística

Os experimentos foram realizados em 3 repetições, em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram analisados por meio de Teste t de Student ou Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey no nível de confiança de 95% usando Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características físicas das nanocápsulas FLA-NC

As nanopartículas de policaprolactona carregadas com flavonoides do ERME (FLA-NC) alcançaram uma alta eficiência de encapsulamento (EE) de $81,43 \pm 0,98$ % e um tamanho de partícula de $157,0 \pm 10,1$ nm. FLA-NCs exibiram também baixo PDI ($0,0848 \pm 0,0166$), indicando uma distribuição de tamanho mais estreita e maior uniformidade (Kumar et al., 2015). Uma distribuição de tamanho muito estreita é crítica para a estabilidade coloidal, pois minimiza o risco de agregação e sedimentação de partículas, aumentando assim a estabilidade geral da

dispersão (Zhuang et al., 2024). O índice de polidispersão (PDI) do sistema estava dentro da faixa considerada homogênea (0–0,3), pois valores acima de 0,3 indicam alta heterogeneidade na distribuição coloidal.

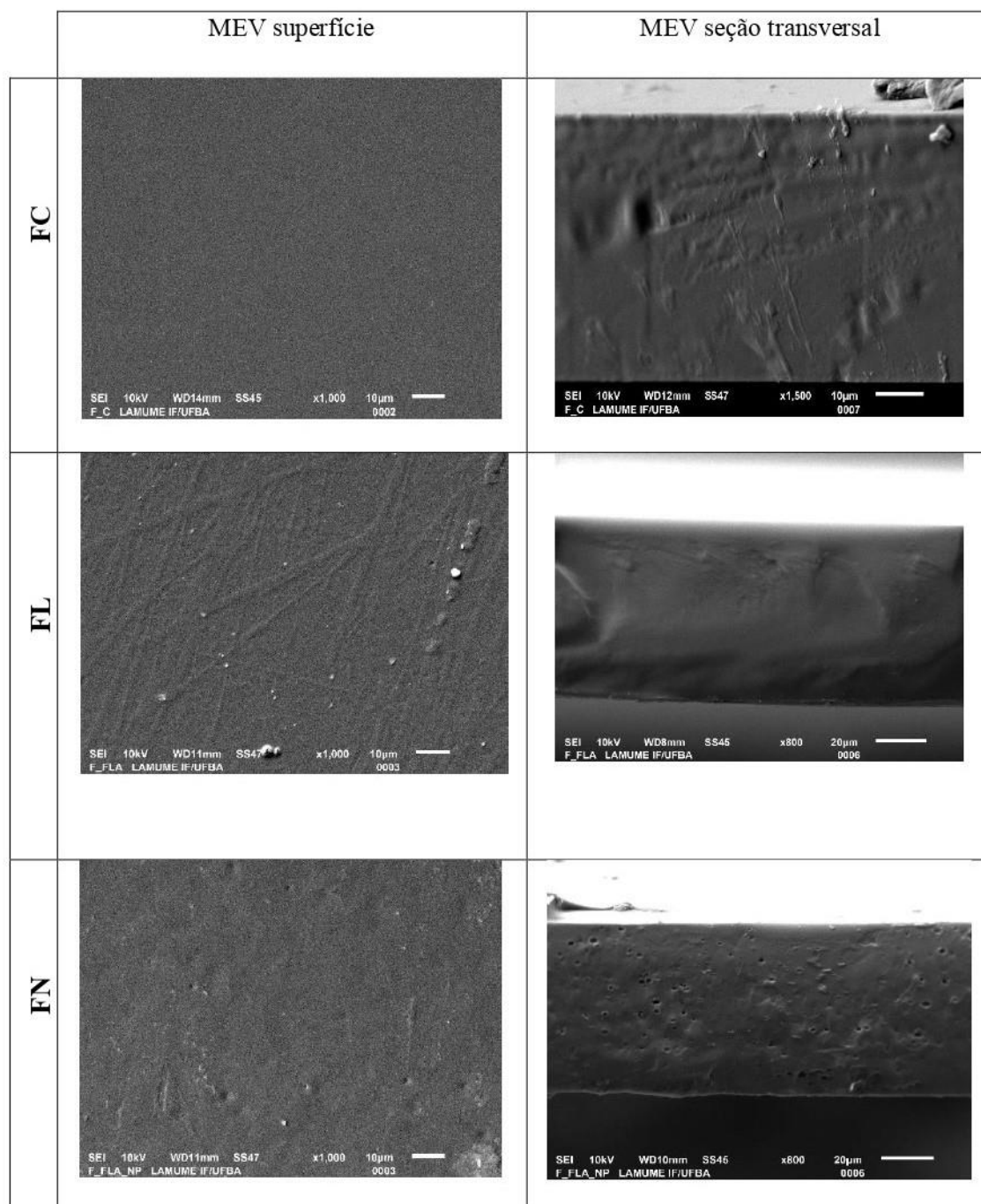
Além disso, as nanopartículas exibiram alta carga de superfície (potencial zeta = $-34,45 \pm 1,72$ mV), contribuindo para a estabilidade coloidal. Essa carga negativa desempenha um papel crucial na prevenção da agregação de partículas ao induzir forças de repulsão eletrostática (Rosales & Fabi, 2023).

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura dos filmes

A análise de MEV é fundamental para examinar a microestrutura e as características morfológicas dos filmes (Sharma et al., 2024). A Figura 1 apresenta as imagens da superfície e da seção transversal dos filmes (FC, TL, FN). O filme controle (FC) revelou uma matriz homogênea e uma estrutura uniforme, densa, coesa e firme. Semelhante ao relatado por Sharma et al. (2024), a superfície do FC mostrou-se contínua e livre de microporos ou rachaduras.

Por outro lado, o FL exibiu rugosidades na sua estrutura (Figura 1), possivelmente resultantes de irregularidades ou ranhuras nas placas de vidro usadas para secagem dos filmes. Além disso, observou-se a presença de pontos branco na superfície desses filmes, sugerindo a precipitação/aglomeração de parte da FLA livre tornando-a parcialmente imiscível na matriz polimérica. Andrade et al. (2022) explica que a aglomeração ou precipitação localizada de moléculas de ácidos fenólicos durante a secagem do filme de PVOH pode ser atribuída à supersaturação desses compostos na solução polimérica, associada à progressiva perda de água.

Figura 1 - Micrografias eletrônicas de varredura de superfície e transversal dos filmes de PVOH, controle (FC), incorporado com FLA livre (FL) e incorporado com FLA nanoencapsulada (FN).



A superfície do FN mostrou-se mais homogênea quando comparada ao FL, indicando que a nanoencapsulação da FLA melhora sua miscibilidade no polímero. A presença de

microbolhas na fotomicrografia da seção transversal do FN pode estar relacionada à estabilização de bolhas de ar formadas durante o processo de produção dos filmes. Esse efeito pode ser atribuído à ação do surfactante Pluronic 127, utilizado no preparo das nanocápsulas de FLA, que reduz a tensão superficial e favorece a manutenção das bolhas dentro da matriz polimérica. Alterações similares foram observados na microestrutura de filmes de PVOH quando adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e extrato de casca de toranja (GFPE), o filme contendo as AgNPs e o GFPE apresentou-se mais áspero e poroso com partículas de tamanhos irregulares que foram agregadas em diferentes áreas do filme (Yaqoob et al., 2023). De acordo com Mirzaei-Mohkam et al. (2020) as ligações e agregações geradas entre o material nanoestruturado e a matriz dos filmes afetaram a estrutura dos filmes, ocasionando alta porosidade em toda a matriz do filme de CMC contendo as nanocápsulas de policaprolactona carregadas com vitamina E (Mirzaei-Mohkam et al., 2020).

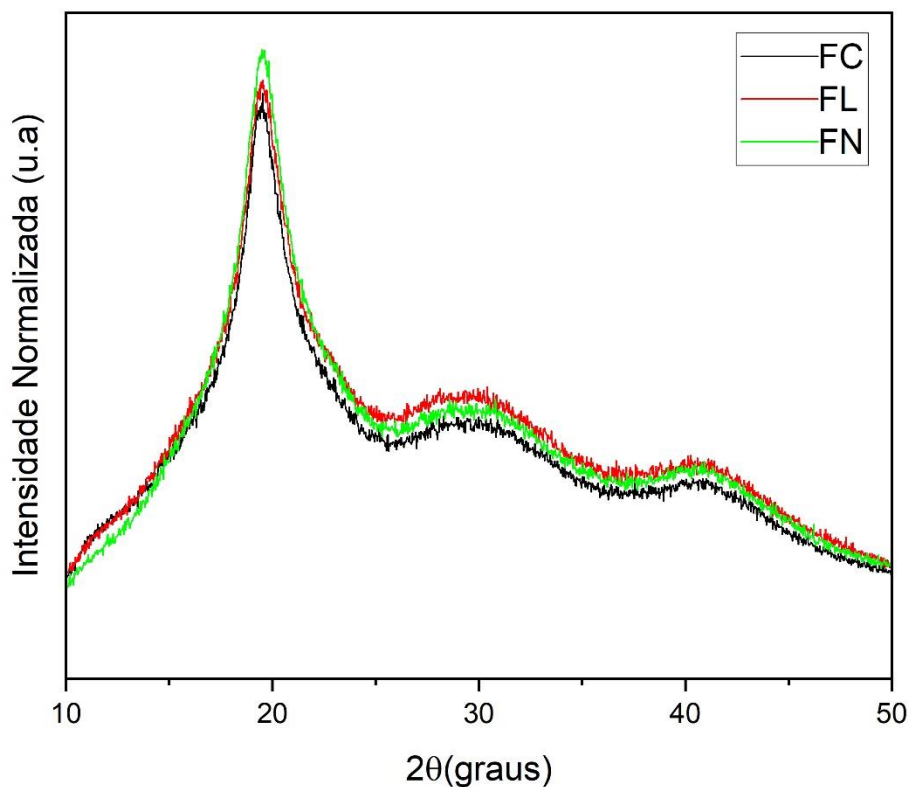
A incorporação de nanocristais de celulose (CNC) e extrato da fruta *Ficus auriculata* em filmes de PVOH também levou a uma mudança significativa na superfície do filme, que foi alterada de lisa para áspera, juntamente com alguma aglomeração aparente. A extensão da aglomeração também aumentou à medida que a proporção de CNC aumenta de 1% para 7%, que é o que causou a rugosidade da superfície (Sharma et al., 2024). Esse comportamento é comum em filmes compostos por múltiplos componentes, em função das interações entre materiais solúveis e insolúveis durante o processo de secagem (Mendes et al., 2021).

3.3 Análise de difração de raios X (DRX)

Os difratogramas obtidos a partir da análise de difração de raios X dos filmes estão apresentados na Figura 2. Todos os filmes apresentaram três picos em $2\theta = 19,8^\circ$, 30° e $40,7^\circ$.

A presença do pico em $2\theta = 19,8^\circ$ (Figura 2) é característico de PVOH e corresponde a estrutura cristalina. (Atta et al., 2023).

Figura 2 - Difração de raios X dos filmes de PVOH controle (FC), incorporado com FLA livre (FL) e incorporado com FLA nanoencapsulada (FN).



Os difratogramas de raios X não mostraram alterações significativas nos padrões de difração entre os filmes ativos e o filme controle. No entanto, foi observada uma leve redução no índice de cristalinidade com a incorporação da FLA, livre e nanoencapsulada. Os valores de cristalinidade dos filmes FC, FL e FN foram de 33,3%, 32,9% e 31,6%, respectivamente, sugerindo que a presença da FLA, particularmente na forma nanoestruturada, interfere na organização das cadeias poliméricas, resultando em uma estrutura ligeiramente mais amorfa. A redução da cristalinidade dos filmes ativos pode estar relacionada a diferentes fatores estruturais. No caso do FL, a aglomeração da FLA livre pode ter dificultado o alinhamento ordenado das cadeias poliméricas, enquanto, para o FN, a presença de microbolhas pode ter atuado como pontos de descontinuidade na matriz polimérica, conforme observado nas imagens de MEV.

A análise por DRX de filmes de PVOH normalmente revela uma estrutura semicristalina, caracterizada por picos de difração distintos. Essa organização estrutural desempenha um papel crucial na resistência mecânica e nas propriedades de barreira dos filmes (Atta et al., 2023).

Filmes produzidos por técnicas de fundição geralmente apresentam uma menor cristalinidade quando comparados aqueles termoprocessados, o que pode ser atribuído à rápida evaporação dos solventes durante o processo de secagem. Esse fenômeno resulta em um arranjo molecular menos ordenado, contribuindo para a presença de picos amorfos nos difratogramas de XRD (Mendes et al., 2021).

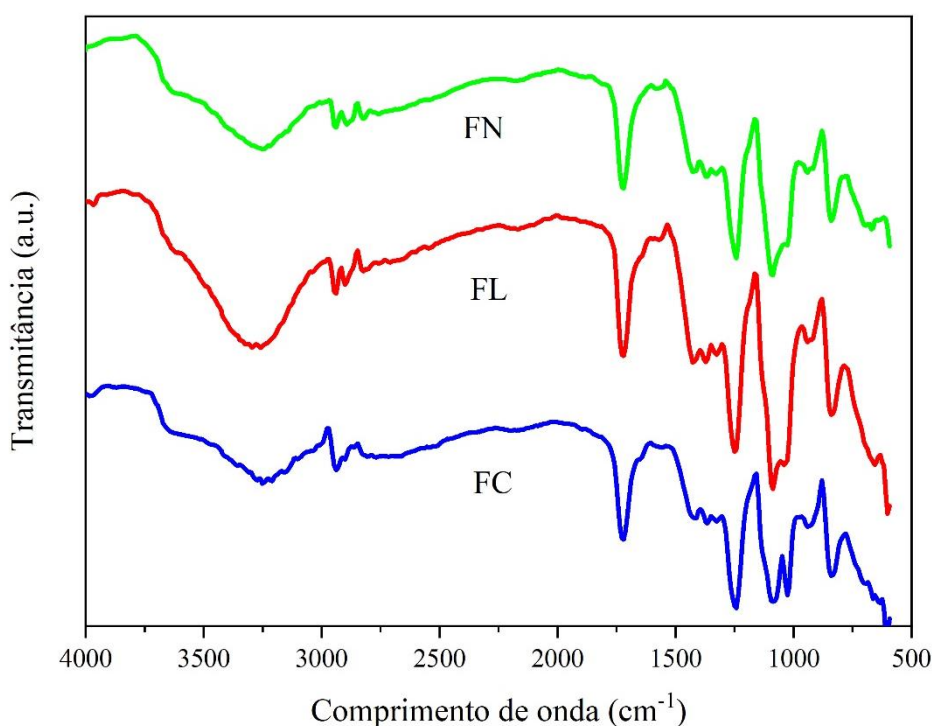
3.4 FTIR dos filmes ativos

Os espectros de FTIR dos filmes, da FLA e FLA_NC são mostrados na Figura 3. Os espectros dos filmes apresentam as bandas típicas do PVOH. Para os filmes ativos (FL e FN) (Figura 3A), pequenas mudanças nos espectros foram observadas, quando comparado a filmes de PVOH controle.

Uma banda larga em 3270 cm^{-1} está associado à ligação de hidrogênio intermolecular e à vibração de estiramento do grupo hidroxila (O-H). Picos consecutivos entre 3000 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} são atribuídos às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico das ligações C-H em grupos metila ($-\text{CH}_3$) e metileno ($-\text{CH}_2-$). Os picos em 1410 cm^{-1} , 1310 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} e 825 cm^{-1} estão relacionados à flexão do grupo CH_2 , movimento do esqueleto de carbono (C-H) e vibrações de estiramento das ligações C-O e C-C, respectivamente. A presença de grupos acetato residuais na cadeia polimérica é evidenciada pelos picos em 1737 cm^{-1} , 1365 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} e 1706 cm^{-1} , que estão associados às bandas de vibração de estiramento dos grupos carbonila e acetila (De Lima Silva et al., 2021; Andrade, González-Martínez e Chiralt, 2021).

Os espectros FTIR dos filmes apresentam perfis semelhantes, com pequenas variações na intensidade de alguns picos, indicando a incorporação bem-sucedida dos ativos na matriz de PVOH.

Figura 3. Espectros FTIR para os filmes de PVOH controle (FC), incorporado com FLA livre (FL) e incorporado com FLA-NC (FN).



3.5 Propriedades ópticas e proteção UV

Os parâmetros de cor fornecem informações relevantes sobre as características visuais dos filmes, sendo cruciais para sua aplicação em embalagens de alimentos (De Lima Silva et al., 2021). A diferença de cor (ΔE) dos filmes ativos (FL e FN) foi significativamente maior em comparação ao FC ($p < 0,05$), o que pode estar associado aos compostos da FLA (Tabela 1).

O índice de amarelamento (YI) dos filmes FC, FL e FN apresentou diferenças significativas entre si ($p < 0,05$), com maior valor observado para FL, seguido por FN, indicando que a incorporação da FLA, tanto na forma livre quanto nanoencapsulada, influencia na tonalidade amarela dos filmes. Estes compostos são considerados pigmentos responsáveis

pela tonalidade das flores e folhas no outono, nas cores amarelo, laranja e vermelho. Alguns flavonoides são incolores, e também variam seu espectro de coloração do verde ao azul, as variações cromáticas são determinadas pela estrutura química desses compostos (Almeida et al., 2016). De maneira semelhante, o índice de amarelamento (YI) aumentou em filmes de quitosana contendo nanopartículas de quercetina, efeito atribuído principalmente à coloração amarela da quercetina (Roy e Rhim, 2021).

O maior YI observado nos filmes FL e FN comparados ao controle pode ser associado à pigmentação dos flavonoides presentes na FLA. Por outro lado, o menor YI do FN em relação ao FL pode ser atribuído à proteção dos compostos da FLA pela nanoencapsulação, o que altera a forma como esses compostos interagem com a luz. Essa característica pode ser vantajosa para aplicações em embalagens de alimentos, onde tons amarelados podem ser percebidos como esteticamente atrativos ou como indicativos de características naturais do produto (De Lima Silva et al., 2021).

Tabela 1 – Parâmetros de cor dos filmes de PVOH ativos em comparação ao filme controle.

Tratamento*	Delta E	YI	Transparência
FC	0,47 ± 0,09 ^b	7,48 ± 0,03 ^c	0,62 ± 0,08 ^c
FL	7,41 ± 0,70 ^a	32,92 ± 2,61 ^a	1,20 ± 0,21 ^b
FN	6,20 ± 0,59 ^a	27,62 ± 2,04 ^b	4,61 ± 0,27 ^a

*Filme controle (FC); Filme incorporado com FLA livre (FL) e com FLA-NC (FN). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A transparência dos filmes também variou significativamente entre os tratamentos ($p < 0,05$), com o filme incorporado com a FLA nanoencapsulada (FN) apresentando menor transparência, seguido pelo filme com flavonoides livres (FL). O filme controle (FC) exibiu a maior transparência entre os tratamentos (Tabela 1). A maior opacidade do FN pode ser explicada pela dispersão da luz causada pelas nanopartículas (Xu et al., 2025) ou pela presença de bolhas de ar observadas nas fotomicrografias da seção transversal desse filme, as quais dificultam a passagem de luz através do filme. Embora FL contenha pontos de FLA não

solubilizada, conforme observado na fotomicrografia da superfície deste filme, a análise da seção transversal revela uma estrutura mais homogênea, sem a presença de elementos que possam dispersar a luz, o que explica a menor alteração na transparência do FL. Parâmetros como transparência são particularmente relevantes para aplicações em embalagens de alimentos, pois influenciam tanto a visibilidade do produto quanto a percepção do consumidor sobre sua qualidade (Mendes et al., 2021).

Além da transparência, a transmissão de luz (%) é um fator essencial para avaliar a eficácia dos filmes como barreiras em embalagens alimentares, especialmente para a proteção de produtos sensíveis à luz. A exposição à radiação UV-Vis pode desencadear reações de oxidação em alimentos embalados, levando à perda de nutrientes, alteração da cor e modificação do sabor (Mirzaei-Mohkam et al., 2020). Os resultados da transmissão de luz (%) dos filmes (FC, FL e FN) em comprimentos de onda UV (200 - 400 nm) e Visível (400 – 800 nm) estão apresentados na Tabela 2. Observou-se que os filmes contendo FLA (FL e FN) apresentaram menores valores de transmitância nas regiões UV e Visível, em comparação ao FC, com reduções mais pronunciadas na região UV (Tabela 2). Esse resultado pode ser atribuído a incorporação dos flavonoides em filmes de PVOH, que cria uma barreira aos raios UV-VIS, indicando que os filmes ativos podem contribuir para a proteção de alimentos contra foto-oxidação de lipídeos. A presença de ligações duplas ou anéis aromáticos na estrutura molecular dos flavonoides lhes confere propriedades de absorção de UV na faixa de 200–400 nm, como exemplo, temos a presença da quercetina na FLA (Capítulo 1) maximizando a absorção na faixa de 280-320 nm (UV-B) (Li, et al. 2023). O FN destacou-se como o tratamento com maior barreira na região Visível, provavelmente devido a maior opacidade desse filme (Tabela 2).

Tabela 2 – Transmissão de luz UV (%) dos filmes de PVOH, controle (FC) e incorporados com FLA livre (FL) e com a FLA nanoencapsulada (FN).

	800	700	600	500	400	350	280
FC	92,91 ± 0,93	92,72 ± 1,14	92,39 ± 1,19	91,77 ± 1,31	91,36 ± 1,73	89,84 ± 1,86	86,50 ± 1,84
FL	92,16 ± 0,85	91,22 ± 1,10	86,89 ± 1,92	80,10 ± 3,48	48,62 ± 7,37	29,56 ± 10,04	11,64 ± 6,61
FN	77,27 ± 3,15	74,40 ± 3,35	69,79 ± 3,60	63,06 ± 3,94	42,99 ± 4,74	29,83 ± 5,97	16,08 ± 4,87

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão.

Em estudos anteriores foram relatados que a adição de extratos vegetais ricos em compostos polifenólicos naturais, flavonoides nativos e suas formas nanoencapsuladas, quando incorporados em filmes ativos, promoveram o bloqueio dos raios UV (Li et al., 2024; Kaewprachu et al., 2017; Rangaraj et al., 2021; Roy e Rhim, 2021). Vale ressaltar que a forte absorção de luz dos filmes adicionados de FLA, bloqueando a transmissão de luz UV-B (abaixo de 320 nm), é devido principalmente à absorção de luz ultravioleta pelos compostos fenólicos aromáticos derivados de quercetina (Narasagoudr et al., 2020).

3.6 Espessura, Propriedades mecânicas e PVA

A espessura média dos filmes não variou significativamente entre os tratamentos (FC, FL e FN) ($p > 0,05$), apresentando um valor médio de $0,08 \pm 0,02$ mm. O alto coeficiente de variação ($0,02 > 20\%$ da espessura média) observado sugere que os filmes não possuem espessura homogênea. O resultado pode ser atribuído dificuldade no nivelamento da estufa utilizada para secagem dos filmes, afetando assim a uniformidade da espessura. A espessura dos filmes é um parâmetro crítico, pois afeta diretamente suas propriedades de barreira e desempenho mecânico, aspectos essenciais para aplicações em embalagens e preservação de alimentos (Mendes et al., 2021).

Os filmes de PVOH apresentaram uma porcentagem de alongamento (AR) média de $279,05 \pm 22,35\%$, demonstrando um comportamento uniforme na ruptura, sem diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os filmes. No entanto, a resistência máxima à tração (RMT) dos

filmes diminuiu ($p < 0,05$) com a incorporação da FLA, tanto na forma livre quanto na nanoencapsulada. Além disso, o módulo de Young do filme incorporado com FLA-NC foi menor ($p < 0,05$) em comparação ao FC. (Tabela 3).

Tabela 3 – Resistência à tração (RMT), módulo de Young (MY) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de PVOH controle e ativos.

Tratamento dos filmes*	RMT (MPa)	MY (MPa)	PVA (g.mm/m ² .dia.kPa)
FC	34,31 ± 5,34 ^a	37,87 ± 8,19 ^a	1,21 ± 0,1 ^b
FL	28,34 ± 1,69 ^b	28,39 ± 1,06 ^{a,b}	1,45 ± 0,03 ^a
FN	28,21 ± 1,52 ^b	26,06 ± 3,34 ^b	1,59 ± 0,06 ^a

*Filme controle (FC); Filme incorporados com FLA livre (FL) e com FLA nanoencapsulada (FN). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O filme controle de PVOH apresentou uma resistência à tração média de 34,31 ± 5,34 MPa (Tabela 3), com um valor próximo ao relatado por Liu et al. (2024) para filmes de PVOH puro, que foi de 32,77 MPa. Uma redução de RMT e MY também foi observada com a incorporação de nanocápsulas de α -tocoferol em filmes de carboximetilcelulose (Mirzaei-Mohkam et al., 2020) e nanolipossomas de nisina em filmes de hidroxipropilmetilcelulose (Imran et al., 2012). Esse comportamento é atribuído à modificação da uniformidade estrutural da matriz polimérica devido à incorporação de novos compostos, o que pode gerar descontinuidades na rede polimérica e reduzir as interações intermoleculares entre as cadeias, comprometendo a coesão estrutural do material (Imran et al., 2012; Mirzaei-Mohkam et al., 2020), tornando-o menos resistente e mais flexível.

A interrupção da uniformidade estrutural do polímero pela incorporação de FLA, tanto na forma livre quanto nanoencapsulada, pode ser evidenciada pela redução da cristalinidade dos filmes FL e FN, conforme observado na análise de DRX. No caso dos filmes FN, a maior flexibilidade pode ser explicada também pelo efeito dos surfactantes utilizados na preparação das nanocápsulas (Shah, Mir e Bashir, 2018). Essa característica é particularmente vantajosa

em aplicações como filmes ativos para alimentos, que demandam materiais com maior maleabilidade e capacidade de adaptação a diferentes formas.

Apesar da influência da incorporação de FLA, tanto na forma livre quanto nanoencapsulada, na uniformidade estrutural da matriz polimérica de PVOH, essa modificação não foi suficiente para comprometer significativamente a capacidade do material de se deformar antes da ruptura.

A permeabilidade ao vapor d'água (PVA) dos filmes aumentou ($p < 0,05$) com a incorporação da FLA, livre e nanoencapsulada, em comparação ao filme controle. Apesar disso, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos FL e FN (Tabela 3). Os resultados estão em concordância com os obtidos nos testes de tração e DRX, reforçando a hipótese de que a incorporação de FLA e FLA-NC gera descontinuidades na rede polimérica e reduz as interações intermoleculares entre as cadeias. Esse efeito compromete a coesão estrutural do material, resultando no aumento de espaços vazios e, consequentemente, na elevação da permeabilidade ao vapor de água. A redução das propriedades de barreira ao vapor de água de filmes nanocompósitos de quitosana foi justificada pela formação de uma estrutura porosa resultante da incorporação de nanopartículas de quercetina (QCNP), levando a formação de uma fase descontínua entre a nanopartícula e a matriz do polímero, resultando em vazios no filme, aumentando ligeiramente a PVA do filme, especialmente quando um maior teor de QCNP ($> 2\%$ em peso) foi adicionado (Roy e Rhim, 2021). De forma similar, um aumento da PVA também foi relatado em filmes à base de gelatina com a adição de quercetina (Ezati & Rhim, 2021). Esses achados reforçam a influência da interação entre compostos bioativos e a matriz polimérica nas propriedades de barreira.

Os valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) observados nesse estudo são comparáveis aos de plásticos convencionais à base de fósseis, como o polietileno de baixa

densidade (LDPE, 1,49 g.mm/m².dia.kPa) (Sangroniz Agudo et al., 2019), indicando que os filmes ativos de PVOH atendem aos requisitos para utilização como materiais de embalagem.

3.7 Propriedades térmicas (TG e DSC)

As técnicas de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TG) são frequentemente utilizadas para avaliar as transições de fase e a estabilidade térmica de diferentes materiais (Matos e Machado, 2004). A temperatura de transição vítrea (T_g) dos filme controle de PVOH foi de 35,48°C, enquanto os filmes FN e o FL apresentaram um aumento na T_g para 41,96°C e 37,49°C, respectivamente, que pode estar associado à interações intermoleculares entre as moléculas de FLA, livre e nanoencapsulada, e as cadeias de PVOH, restringindo a mobilidade das cadeias poliméricas e exigindo uma temperatura mais alta para que ocorra a transição vítrea. Em relação aos valores da temperatura de fusão (T_m), observou-se uma redução desta nos filmes FL ($T_m = 185,17^\circ\text{C}$) e FN ($T_m = 188,43^\circ\text{C}$) em comparação ao FC ($T_m = 190,72^\circ\text{C}$) (Figura 4). A redução da T_m causada pela incorporação de FLA e FLA-NC nos filmes de PVOH está diretamente associada à diminuição da cristalinidade, conforme observado nos ensaios de DRX. Esse comportamento está em concordância com os resultados de Mirzaei-Mohkam et al. (2020), que relataram que a adição de nanocápsulas de α -tocoferol reduziu a T_m , sugerindo que as nanocápsulas diminuem o acúmulo de cadeias de CMC, resultando em estruturas finais com menor grau de cristalinidade. Segundo Sharma et al., (2024), a redução nos valores de T_m pode estar correlacionada com o princípio da depressão no ponto de fusão com a adição de impurezas.

Figura 4. Espectros DSC para os filmes de PVOH controle e ativos.

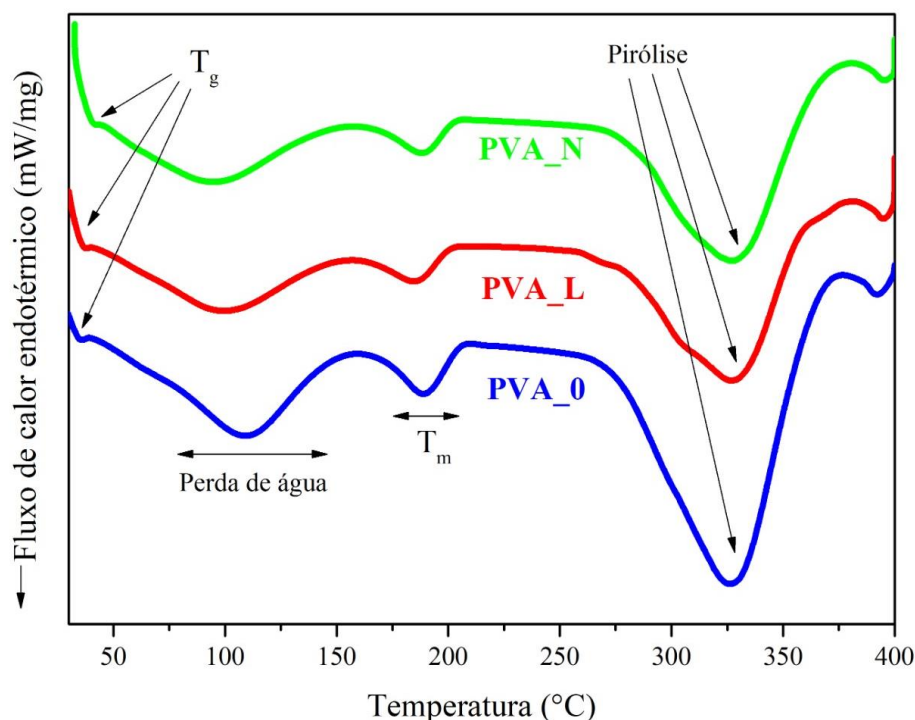


Fig. 4 - PVA_0 - Filme controle; PVA_L - Filme contendo FLA livre; PVA_N - Filme contendo FLA-NC.

A perda de água nos filmes ocorreu em uma faixa de temperatura entre 75 e 125 °C, enquanto a temperatura do pico da pirólise variou entre 323 – 326 °C, mostrando a decomposição completa do material.

A termoestabilidade dos filmes foi investigada por meio da análise termogravimétrica (TG). Conforme demonstrado na Figura 5, as curvas de TG e dTG dos filmes apresentaram múltiplos estágios de degradação térmica, com a temperatura variando de 40 a 500 °C. O estágio inicial de perda de massa (40–130 °C) deve-se a evaporação de água da matriz do filme. Posteriormente, um segundo estágio de perda de massa ocorreu na faixa de temperatura de 150 a 250 °C, atribuído à degradação das cadeias de glicerol e PVOH (Liu et al., 2024). O terceiro estágio, entre 250 e 400 °C, corresponde à maior perda de massa, associada à degradação adicional das cadeias de PVOH. No estágio final, a carbonização da matriz do polímero ocorreu durante 350–500 °C, levando a uma estabilização da perda de massa dos filmes. Não foram observados eventos isolados de degradação térmica relacionados à FLA e FLA-NC nos filmes,

pois sua degradação ocorre na mesma faixa de temperatura do polímero. Como consequência, os picos de degradação se sobrepõem, dificultando a distinção dos eventos térmicos individuais. A sobreposição das curvas termogravimétricas dos filmes FC, FL e FN sugere que a incorporação de FLA, tanto na forma livre quanto nanoencapsulada, não influenciou significativamente a estabilidade térmica dos filmes de PVOH. No geral, as análises de DSC e TG indicam que as modificações nas propriedades térmicas dos filmes resultantes da incorporação de FLA e FLA-NC são sutis e não comprometem sua aplicabilidade.

Figura 5. Curvas de TG e DTG para os filmes de PVOH e para seus ativos.

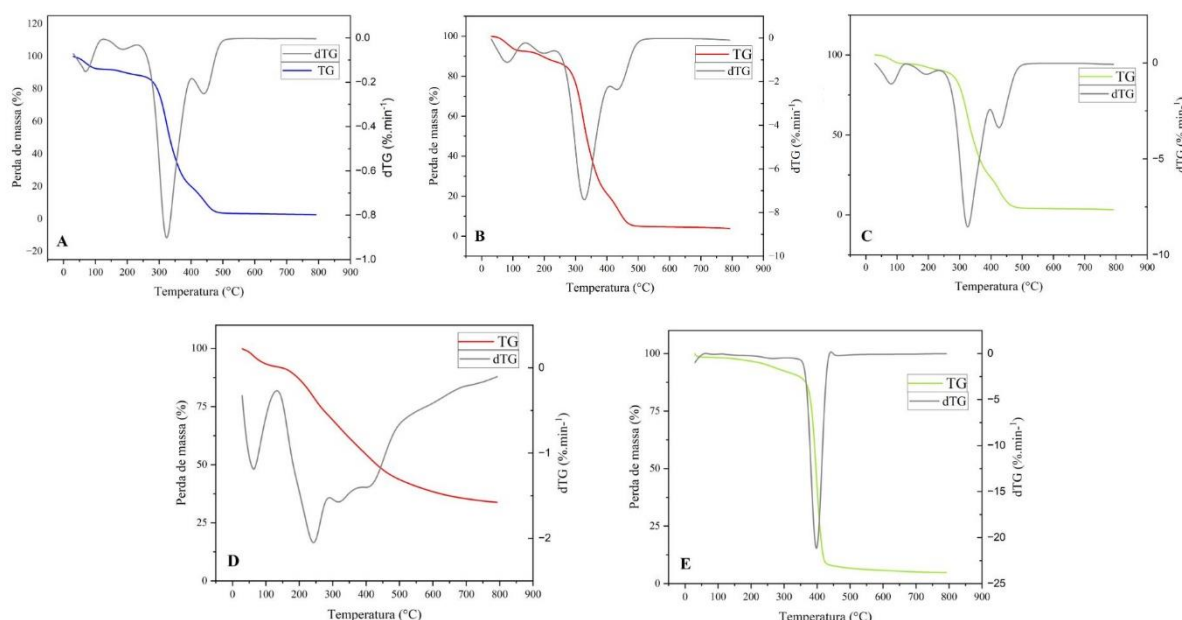


Figura 5 - Curvas de TG e dTG: (A) Filme controle (FC), (B) Filme com FLA livre (FL), (C) Filme com FLA-NC (FN), (D) FLA livre (E) FLA-NC.

3.8 Capacidade Antioxidante

A Tabela 4 apresenta os valores das capacidades antioxidantes equivalente ao Trolox (CAET), pelos métodos de sequestro de radicais livres ABTS, DPPH e através da redução de íons metálicos (FRAP) para os filmes. A partir dos ensaios, os filmes FL e FN não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$) para o método ABTS, porém mostraram-se diferentes

($p < 0,05$) para os testes DPPH e FRAP. O filme incorporado com a FLA livre apresentou maiores valores de CAET para os métodos DPPH e FRAP.

Tabela 4 – Capacidades antioxidantes dos filmes de PVOH incorporados com a FLA livre e nanoencapsulada comparados ao filme controle.

Tratamento	Capacidades antioxidantes em equivalentes ao Trolox (μM /g de filme)		
	ABTS	DPPH	FRAP
FC	$2,92 \pm 0,65^b$	ND	ND
FL	$31,77 \pm 1,72^a$	$10,85 \pm 0,46^a$	$18,22 \pm 1,11^a$
FN	$35,93 \pm 4,40^a$	$8,57 \pm 0,35^b$	$9,15 \pm 0,83^b$

Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes entre os resultados por coluna indicam uma diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$). N.D.= Não detectado.

As diferenças nos valores de CAET entre os filmes FL e FN, obtidas pelos três métodos, podem ser atribuídas à seletividade específica de cada ensaio, que influencia a interação dos antioxidantes com os radicais livres e íons metálicos, dependendo da forma da FLA (livre ou nanoencapsulada). Além disso, as interações entre antioxidantes e outros componentes em materiais de embalagem de alimentos, como a matriz polimérica, nanocarreadores e plastificantes, também podem influenciar sua eficácia alterando sua partição ou difusão dentro de filmes ou revestimentos (Ganiari, Choulitoudi e Oreopoulou 2017). Apesar das diferenças nos resultados, os filmes FL e FN apresentaram valores promissores de CAET, que indicam que os filmes desenvolvidos apresentam potencial para aplicação como embalagens ativas antioxidantes.

Em um estudo anterior a eliminação de radicais DPPH aumentou em até 50,75% em filmes de PVOH, atribuída ao conteúdo fenólico do extrato GFPE adicionado (Yaqoob et al., 2023). O poder de redução (FRAP) também foi significativamente melhorado pela incorporação de AgNPs e GFPE, e foi correlacionado com a quantidade de constituintes antioxidantes presentes no sistema (Yaqoob et al., 2023).

A presença de flavonoides nos filmes ativos de PVOH é de grande importância devido às suas propriedades antioxidantes. Esses compostos atuam como sequestro efetivo de radicais livres e também são responsáveis por quelar íons metálicos, protegendo os sistemas da peroxidação lipídica e radicais livres (Amicé et al., 2014). O teor de flavonoides e as CAET para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP relatados anteriormente (Capítulo 1) para a FLA proveniente do ERME, ressalta a importância do seu potencial antioxidante. E, apesar da baixa concentração de incorporação (1%), a atividade foi preservada nos filmes ativos (Tabela 4).

3.9 Liberação em meios simulantes alimentares

A liberação dos compostos ativos dos filmes foi avaliada por meio do perfil de liberação do teor de flavonoides totais (TFT), quantificando a migração dos flavonoides para os diferentes meios simulantes de alimentos, (A) e (B), ao longo de 10 dias (Figuras 6 e 7, respectivamente).

O comportamento de liberação de compostos bioativos é influenciado tanto pela composição do filme quanto pelas condições ambientais (Rangaraj et al. 2021). No meio simulante aquoso (A), o perfil de liberação dos TFTs apresentou uma fase inicial de liberação rápida, nas primeiras 24 h, seguida por uma fase mais lenta (Figura 6). Nas primeiras 24 horas, o FL apresentou a maior liberação de flavonoides, igualando-se à do FN entre 72 e 144 horas. Após esse período, a liberação de flavonoides foi maior no FN. O TFT estabilizou-se após 72 horas para o FL, enquanto a liberação de flavonoides no FN manteve uma tendência de crescimento, resultando em um maior TFT ao final de 240 horas.

Esses resultados podem ser explicados pelo tamanho e a estabilidade das FLA-NC, que apresentaram excelentes características, com um tamanho estreito de partícula e excelente estabilidade coloidal. O tamanho e a estabilidade das nanopartículas desempenham um papel crítico na determinação da taxa de liberação de compostos ativos. Partículas menores fornecem uma área de superfície maior, o que pode aumentar a difusão de ativos no meio circundante,

levando a uma liberação mais controlada e sustentada (Acevedo-Fani et al., 2017). Além disso, a presença de outros componentes no meio, como surfactantes ou polímeros adicionais, pode modificar o comportamento de liberação aumentando ou inibindo a difusão dos ativos encapsulados, levando a taxas de liberação variadas (Acevedo-Fani et al., 2017). As interações entre antioxidantes e outros componentes em materiais de embalagem de alimentos, como a matriz de polímero, nanocarreadores e plastificantes, também podem influenciar sua eficácia alterando sua partição ou difusão dentro de filmes (Ganiari, Choulitoudi e Oreopoulou 2017).

O comportamento de liberação controlado e gradual dos flavonoides observado no FN é considerado ideal para filmes ativos, pois permite uma liberação prolongada dos compostos bioativos, garantindo maior estabilidade e eficácia ao longo do tempo, o que é essencial para aplicações em embalagens ativas e sistemas de liberação controlada (Rangaraj et al. 2021).

Figura 6. Curva de liberação dos flavonoides dos filmes de PVOH no meio simulante aquoso (A).

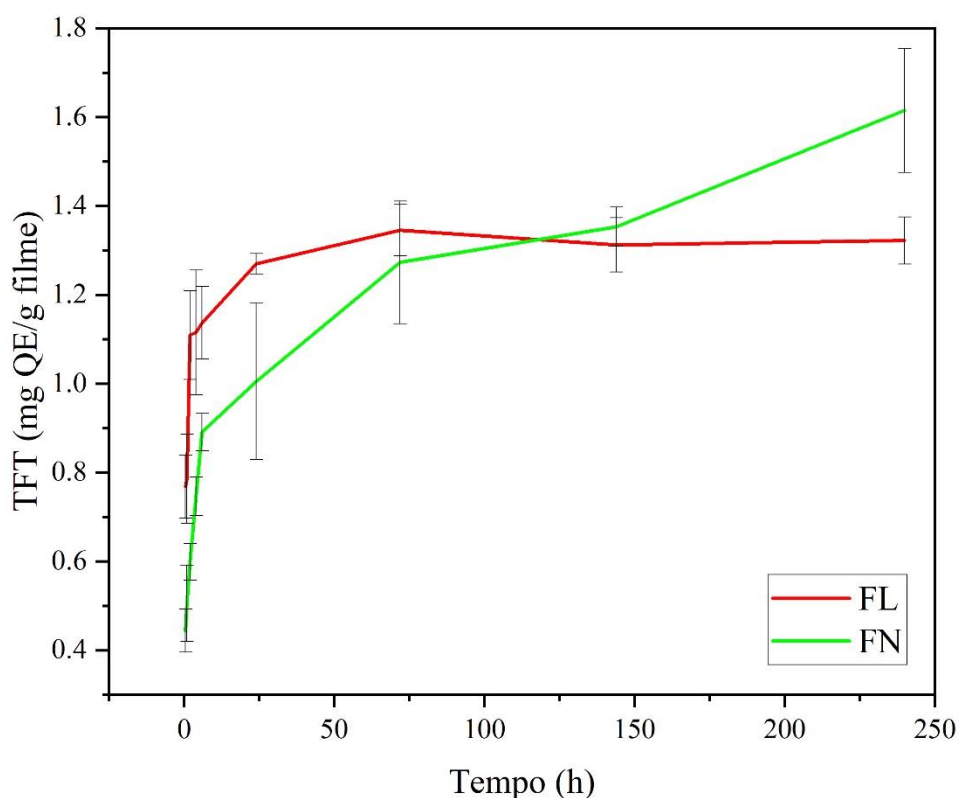
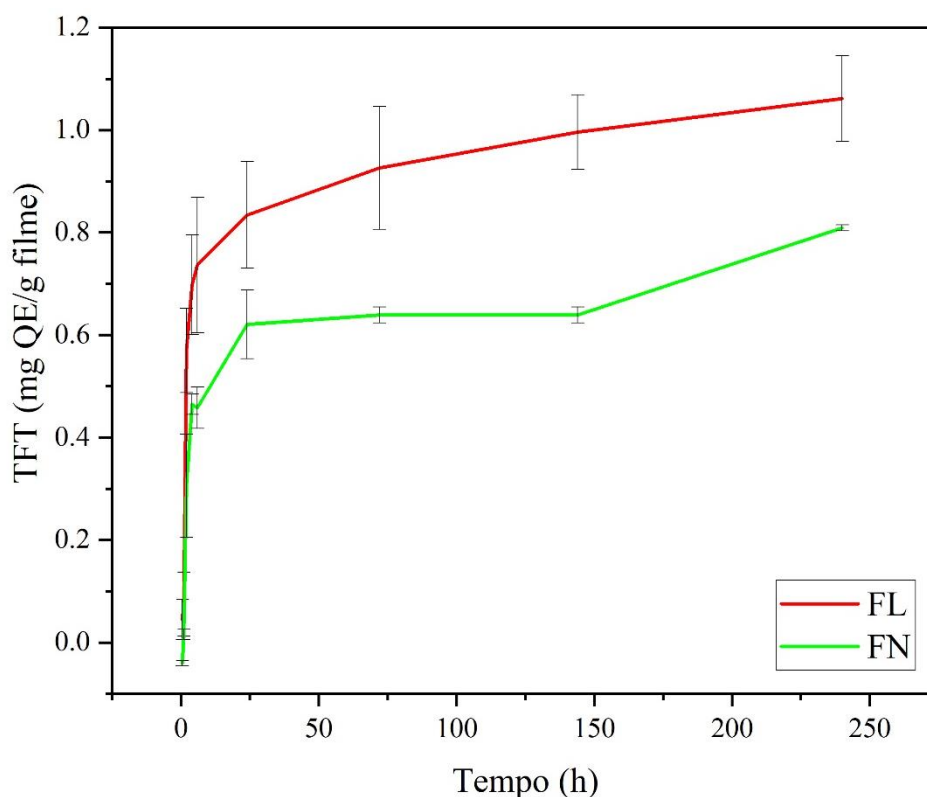


Figura 7. Curva de liberação dos flavonoides dos filmes de PVOH no meio simulante gorduroso (B).



No meio simulante de alimentos gordurosos (B), os filmes FL e FN apresentam perfis semelhantes de liberação de flavonoides. No entanto, após 2 horas, o TFT liberado é maior no FL em comparação ao FN (Figura 7). Flavonoides como a quercetina são solúveis em álcool, o que resulta em uma liberação mais rápida em soluções alcoólicas do que em meio aquoso (Narasagoudr et al., 2020; Roy & Rhim, 2021). Assim, a natureza mais lipofílica desses compostos favoreceu sua migração para o solvente B (95% de etanol), acelerando o processo de liberação ao longo do tempo, em relação as nanocápsulas FLA-NC.

A solução com baixo teor alcoólico (etanol 10%) e maior proporção de água dissolveu o polímero sintético de PVOH, bem como os flavonoides livres e nanoencapsulados dos filmes, resultando em uma liberação mais rápida e total dos flavonoides no simulante A. No caso do FN, a liberação atingiu até 1,60 (mg de QE/g filme), representando o dobro do teor liberado no

simulante B (Figura 6). Em contraste, no simulante B (etanol 95%), os filmes permaneceram estruturalmente íntegros após 240 h, devido à sua insolubilidade nesse meio. Como resultado, a liberação de flavonoides pelo FL foi de até 1,06 (mg de QE/g filme), cerca de 24% a mais do que no FN no solvente B e equivalente a 80% do total liberado no simulante A (Figura 7), indicando que no solvente B a liberação seria prolongada além do tempo monitorado, em ambos filmes ativos.

De acordo com Roy & Rhim (2020), a liberação dos compostos ativos dos filmes depende de diversos fatores, incluindo o tipo de solvente, a solubilidade do ativo, a integridade e a expansão da matriz polimérica, além da diferença na taxa de difusão dos compostos dentro da estrutura do filme. O filme FN, desenvolvido neste estudo apresentou um perfil de liberação gradual dos flavonoides ao longo do tempo, sugerindo uma liberação sustentada que pode potencializar as propriedades antioxidantes dos produtos alimentícios, particularmente para produtos à base de lipídios que são propensos à oxidação.

4. CONCLUSÃO

As propriedades dos filmes de PVOH foram modificadas pela incorporação de uma fração rica em flavonoides, obtida a partir do extrato do resíduo de *Malpighia emarginata* DC, tanto na forma livre quanto nanoencapsulada. A análise morfológica dos filmes demonstrou que a incorporação da fração rica em flavonoides, tanto na forma livre quanto nanoencapsulada, promoveu modificações na estrutura da matriz polimérica, resultando em uma redução da cristalinidade dos filmes FL e FN. Essa alteração estrutural levou à diminuição da resistência máxima à tração e do módulo de Young, além do aumento da permeabilidade ao vapor de água, evidenciando o impacto da adição dos flavonoides nas propriedades físico-mecânicas e de barreira dos filmes. A incorporação da FLA e FLA-NC em filmes de PVOH resultou na redução da transferência de radiações UV e visíveis, além do aumento da opacidade e índice de

amarelamento. As propriedades térmicas dos filmes ativos (FL e FN) apresentaram modificações sutis em relação ao filme controle, porém sem comprometer sua aplicabilidade.

Embora os filmes ativos à base de PVOH tenham apresentado uma funcionalidade antioxidante ampliada para o FL, o FN também demonstrou capacidade antioxidante significativa. Os filmes FN se destacaram como sistemas mais eficientes para liberação controlada dos flavonoides do ERME, promovendo uma liberação gradual dos compostos bioativos. Esse comportamento reforça o alto potencial dos filmes FN para aplicações em embalagens ativas, especialmente na preservação de alimentos ricos em lipídios, que são altamente suscetíveis à oxidação.

Financiamento: Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Agradecimentos: Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS); Universidade Federal da Bahia (UFBA) e Kuraray Poval (Alemanha).

Referências

- Acevedo-Fani, A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2017). Nanostructured emulsions and nanolaminates for delivery of active ingredients: Improving food safety and functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 60, 12–22 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.027>
- Almeida, J. R. G. S., Lima, J. T. de, Nunes, X. P., Cerqueira, G. S., & Figueiredo, C. S. de. (2016). Flavonóides da dieta e sua importância para a saúde humana. *Revista de Saúde da Facene/Famene*, 3(1), 58-64. Disponível em: <<https://revista.facene.com.br/index.php/revistane/article/download/246/155/1401>>

ASTM - American Society for Testing and Materials. (2000). *Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96-00)*. Philadelphia, PA: ASTM.

ASTM - American Society for Testing and Materials. (2008). *Standard test method for slow rate penetration resistance of flexible barrier films and laminates (F 1306)*. Philadelphia, PA: ASTM.

ASTM - American Society for Testing and Materials. (2009). *Standard test method for tensile properties of plastics (D 638)*. Philadelphia, PA: ASTM.

Al-Dalali, S., Li, C., & Xu, B. (2022). Effect of frozen storage on the lipid oxidation, protein oxidation, and flavor profile of marinated raw beef meat. *Food Chemistry*, 376, 131881. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131881>

Amić, A., Marković, Z., Dimitrić Marković, J. M., Stepanić, V., Lučić, B., & Amić, D. (2014). Towards an improved prediction of the free radical scavenging potency of flavonoids: The significance of double PCET mechanisms. *Food Chemistry*, 152, 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.025>

Andrade, J., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2021). Effect of phenolic acids on the properties of films from Poly (vinyl alcohol) of different molecular characteristics. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100711. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100711>

Atta, A., Alotiby, M. F., Al-Harbi, N., El-Aassar, M. R., Uosif, M. A. M., & Rabia, M. (2023). Fabrication, Structural Properties, and Electrical Characterization of Polymer Nanocomposite Materials for Dielectric Applications. *Polymers*, 15(14), 3067. <https://doi.org/10.3390/polym15143067>

Bazana, M. T., Codevilla, C. F., & De Menezes, C. R. (2019). Nanoencapsulation of bioactive compounds: Challenges and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, 26, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.005>

- Carneiro, A. P. D. G., Aguiar, A. L. L. D., Silva, R. B. C. D., Richter, A. R., Sousa, P. H. M. D., Silva, L. M. R. D., & Figueiredo, R. W. D. (2020). Acerola by-product as a renewable source of bioactive compounds: Arabic gum and maltodextrin nanocapsules. *Food Science and Technology*, 40(suppl 2), Article suppl 2. <https://doi.org/10.1590/fst.22819>
- Chen, Y., Yi, X., Pan, M., Chiou, Y., Li, Z., Wei, S., Yin, X., & Ding, B. (2021). The interaction mechanism between liposome and whey protein: Effect of liposomal vesicles concentration. *Journal of Food Science*, 86(6), 2491–2498. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15708>
- Cheng, H., Chen, L., McClements, D. J., Xu, H., Long, J., Zhao, J., ... & Jin, Z. (2024). Recent advances in the application of nanotechnology to create antioxidant active food packaging materials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(10), 2890-2905. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2128035>
- Cooper, T. A. (2013). Developments in plastic materials and recycling systems for packaging food, beverages and other fast-moving consumer goods. In *Trends in Packaging of Food, Beverages and Other Fast-Moving Consumer Goods (FMCG)* (pp. 58–107). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857098979.58>
- De Lima Silva, I. D., Luiz, E., Pessoa, T., De Moraes, F., Caetano, V. F., De Andrade, M. F., Hallwass, F., Monteiro, A., Brito, S. S., & Vinhas, M. G. (2021). Development of PVA films with antioxidant activity using plant extract of *Caesalpinia ferrea* Martius. *LWT*, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111215>
- Dinesh Kumar, V., Verma, P. R. P., & Singh, S. K. (2015). Development and evaluation of biodegradable polymeric nanoparticles for the effective delivery of quercetin using a quality by design approach. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.020>

European Commission. (2011). Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. *Official Journal of the European Union*, L 12, 1–89.

Ezati, P., & Rhim, J.-W. (2020). pH-responsive chitosan-based film incorporated with alizarin for intelligent packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 102, 105629. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105629>

Farris, S., & Piergiovanni, L. (2012). Emerging coating technologies for food and beverage packaging materials. In *Emerging Food Packaging Technologies* (pp. 274–302). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857095664.3.274>

Freitas, E. E. S., Dias, Ê. R., Albuquerque, M. M. S., Biondi, I. B., Branco, C. R. C., Cruz, R. S., Branco, A., & Camilloto, G. P. (2024). Antioxidant films based on poly(lactic acid) incorporated with crude extract from *Malpighia emarginata* DC pomace for use in food packaging. *Packaging Technology and Science*, 37(1), Article 1. <https://doi.org/10.1002/pts.2778>

Ganiari, S., Choulitoudi, E., & Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.009>

Gómez-Estaca, J., C. López-de-Dicastillo, P. Hernández-Muñoz, R. Catalá, and R. Gavara. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology* 35 (1):42–51. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.008>

Kaewprachu, P., Osako, K., Rungraeng, N., & Rawdkuen, S. (2018). Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1463–1473. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.011>

- Li, L., Chong, L., Huang, T., Ma, Y., Li, Y., & Ding, H. (2023). Natural products and extracts from plants as natural UV filters for sunscreens: A review. *Animal Models and Experimental Medicine*, 6(3), 183-195. <https://doi.org/10.1002/ame2.12295>
- Li, X., Zhang, X., Lv, J., Zhang, X., Li, Y., Han, X., & Zhang, W. (2024). Development of starch-based films reinforced with curcumin-loaded nanocomplexes: Characterization and application in the preservation of blueberries. *International Journal of Biological Macromolecules*, 264, 130464. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130464>
- Liu, F., Avena-Bustillos, R. J., Chiou, B.-S., Li, Y., Ma, Y., Williams, T. G., Wood, D. F., McHugh, T. H., & Zhong, F. (2017). Controlled-release of tea polyphenol from gelatin films incorporated with different ratios of free/nanoencapsulated tea polyphenols into fatty food simulants. *Food Hydrocolloids*, 62, 212–221. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.004>
- Liu, J., Fauconnier, M.-L., Richel, A., & Jin, Y. (2024). Preparation of active films with antioxidant and antimicrobial properties by combining ginger essential oil nanoemulsion with xylan and polyvinyl alcohol. *International Journal of Biological Macromolecules*, 281, 135780. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135780>.
- Mahmud, J., Sarmast, E., Shankar, S., & Lacroix, M. (2022). Advantages of nanotechnology developments in active food packaging. *Food Research International*, 154, 111023. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111023>
- Ma, Y., H. Zhao, Q. Ma, D. Cheng, Y. Zhang, W. Wang, J. Wang, and J. Sun. (2022). Development of chitosan/potato peel polyphenols nanoparticles driven extended-release antioxidant films based on potato starch. *Food Packaging and Shelf Life*. 31:100793. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100793>.
- Majumdar, R., Mishra, U., Mahata, N., Shah, M. P., Mondal, A., & Bhunia, B. (2023). Preparation, characterization, and performance evaluation of composite films of polyvinyl

alcohol/ cellulose nanofiber extracted from *Imperata cylindrica*. *Chemosphere*, 337, 139370.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139370>

Matos, J. do R., & Machado, L. D. B. (2004). Análise térmica – Termogravimetria. In *Técnicas de caracterização de polímeros* (pp. 1–20). São Paulo: Artliber Editora.

Mendes, J. F., Norcino, L. B., Martins, H. H., Manrich, A., Otoni, C. G., Carvalho, E. E. N., Piccolli, R. H., Oliveira, J. E., Pinheiro, A. C. M., & Mattoso, L. H. C. (2021). Development of quaternary nanocomposites made up of cassava starch, cocoa butter, lemongrass essential oil nanoemulsion, and brewery spent grain fibers. *Journal of Food Science*, 86(5), 1979–1996.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.15689>

Mirzaei-Mohkam, A., F. Garavand, D. Dehnad, J. Keramat, and A. Nasirpour. (2019). Optimisation, antioxidant attributes, stability and release behaviour of carboxymethyl cellulose films incorporated with nanoencapsulated vitamin E. *Progress in Organic Coatings* 134:333–

41. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.05.026>

Mirzaei-Mohkam, A., Garavand, F., Dehnad, D., Keramat, J., & Nasirpour, A. (2020). Physical, mechanical, thermal and structural characteristics of nanoencapsulated vitamin E loaded carboxymethyl cellulose films. *Progress in Organic Coatings*, 138, 105383.

<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105383>

Narasagoudr, S. S., Hegde, V. G., Chougale, R. B., Masti, S. P., Vootla, S., & Malabadi, R. B. (2020). Physico-chemical and functional properties of rutin induced chitosan/poly (vinyl alcohol) bioactive films for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 109, 106096.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106096>

Oun, A. A., Shin, G. H., Rhim, J.-W., & Kim, J. T. (2022). Recent advances in polyvinyl alcohol-based composite films and their applications in food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100991.

<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100991>

- Qin, J., Huang, X., Xu, Q., & Jin, L. (2024). Active polyvinyl alcohol films with enhanced strength, antioxidant and antibacterial properties by incorporating nanocellulose and tannin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 283, 137873. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137873>
- Rangaraj, V. M., Rambabu, K., Banat, F., & Mittal, V. (2021). Effect of date fruit waste extract as an antioxidant additive on the properties of active gelatin films. *Food Chemistry*, 355, 129631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129631>
- Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E., . . . Ayadi, M. T. (2015). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/japs.2015.50110>
- Roedig-Penman, A., & Gordon, M. H. (1998). Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 169–180. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0029-4>
- Rosales, T. K. O., & Fabi, J. P. (2023). Pectin-based nanoencapsulation strategy to improve the bioavailability of bioactive compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 229, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.292>
- Roy, S., & Rhim, J.-W. (2021). Fabrication of chitosan-based functional nanocomposite films: Effect of quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 121, 107065. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107065>
- Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123470. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>
- Sangroniz, A., Zhu, J.-B., Tang, X., Etxeberria, A., Chen, E. Y.-X., & Sardon, H. (2019). Packaging materials with desired mechanical and barrier properties and full chemical

recyclability. *Nature Communications*, 10(1), 3559. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11525-x>

Shah, M. A., Mir, S. A., & Bashir, M. (2018). Nanoencapsulation of Food Ingredients. In M. Khosrow-Pour (Ed), *Food Science and Nutrition: Breakthroughs in Research and Practice* (pp. 218-234). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-5207-9.ch011>

Sharma, T., Bawa, S., Kumar, S., Manik, G., & Negi, Y. S. (2024). Bioactive enhancement of PVA films through CNC reinforcement and *Ficus auriculata* fruit extract: A novel synthesis for sustainable applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 275, 133338. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133338>

Silva, I. D. D. L., Moraes Filho, L. E. P. T. D., Caetano, V. F., Andrade, M. F. D., Hallwass, F., Brito, A. M. S. S., & Vinhas, G. M. (2021). Development of antioxidant active PVA films with plant extract of *Caesalpinia ferrea* Martius. *LWT*, 144, 111215. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111215>

Sun, X., H. Zhang, J. Wang, M. Dong, P. Jia, T. Bu, Q. Wang, and L. Wang. (2021). Sodium alginate-based nanocomposite films with Strong antioxidant and antibacterial properties enhanced by polyphenol-rich kiwi peel extracts bio-reduced silver nanoparticles. *Food Packaging and Shelf Life* 29:100741. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100741>

Tanwar, R., Gupta, V., Kumar, P., Kumar, A., Singh, S., & Gaikwad, K. K. (2021). Development and characterization of PVA-starch incorporated with coconut shell extract and sepiolite clay as an antioxidant film for active food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 185, 451–461. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.179>

Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). (2015). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50110>

- Xu, M., Shen, C., Zheng, H., Xu, Y., Xue, C., Zhu, B., & Hu, J. (2020). Metabolomic analysis of acerola cherry (*Malpighia emarginata*) fruit during ripening development via UPLC-Q-TOF and contribution to the antioxidant activity. *Food Research International*, 130, 108915. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108915>
- Xu, X., Dai, D., Yan, H., Du, J., Zhang, Y., & Chen, T. (2025). Enhancing mechanical and blocking properties of gelatin films using zein-quercetin nanoparticle and applications for strawberry preservation. *Food Chemistry*, 464, 141895. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141895>
- Yaqoob, N., Zahira, A., Kamal, S., Almas, M., & Rehman, S. (2023). Development of multifunctional bioactive food packaging based on silver nanoparticles/grape fruit peel extract reinforced PVA composites. *Materials Today Communications*, 37, 107529. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.107529>
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusin, T., Suminska, P., Marcos, B., & Coma, V. (2018). Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>
- Yin, P., Yang, L., Li, K., Fan, H., Xue, Q., Li, X., Sun, L., & Liu, Y. (2019). Bioactive components and antioxidant activities of oak cup crude extract and its four partially purified fractions by HPD-100 macroporous resin chromatography. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(2), 249–261. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.018>
- Zhang, W., & W. Jiang. (2020). Antioxidant and antibacterial chitosan film with tea polyphenols-mediated green synthesis silver nanoparticle via a novel one-pot method. *International Journal of Biological Macromolecules* 155:1252–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.093>.

Zhuang, D., Li, R., Zhang, M., Wang, S., Ahmad, H. N., & Zhu, J. (2024). Photodynamic-responsive gelatin-based coating with high utilization curcumin loaded bilayer nanoencapsulation: A promising environmental food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 128476. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128476>

CONCLUSÃO GERAL

O ERME representa uma fonte promissora de antioxidantes naturais, da classe dos flavonoides. As estratégias de adsorção e nanoencapsulamento utilizadas aprimoraram sua função antioxidante, aumentando a proteção, a solubilidade e a estabilidade dos compostos bioativos. Além disso, abre novas perspectivas para a aplicação industrial, contribuindo para práticas mais sustentáveis e inovadoras.

Os filmes ativos à base de PVOH desenvolvidos atenderam aos requisitos necessários para aplicação como material de embalagem. Os filmes FN se destacaram como sistemas mais eficientes para liberação controlada dos flavonoides do ERME, promovendo uma liberação gradual dos compostos bioativos. Os resultados encontrados nesta pesquisa reforçam o alto potencial dos filmes FN para aplicações em embalagens ativas, especialmente na preservação de alimentos ricos em lipídios, que são altamente suscetíveis à oxidação.