

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

TATIANA KESLEI ALVARENGA DE ARAUJO ESPINDOLA

**PRODUÇÃO DE SUPLEMENTO ALIMENTAR NA FORMA DE COMPRIMIDOS
ORAIS DISPERSÍVEIS CONTENDO MICROPARTÍCULAS DE PROTEÍNA DO
SORO DO LEITE CARREGADAS COM RESVERATROL**

CAMPO MOURÃO

2022

TATIANA KESLEI ALVARENGA DE ARAUJO ESPINDOLA

**PRODUÇÃO DE SUPLEMENTO ALIMENTAR NA FORMA DE COMPRIMIDOS
ORAIS DISPERSÍVEIS CONTENDO MICROPARTÍCULAS DE PROTEÍNA DO
SORO DO LEITE CARREGADAS COM RESVERATROL**

**Production of orodispersible tablets food supplement containing whey protein
microparticles loaded with resveratrol**

Trabalho de Dissertação apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Dr. Odinei Hess Gonçalves.

Coorientadora: Dra. Rosana Aparecida da Silva Buzanello.

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



TATIANA KESLEI ALVARENGA DE ARAUJO ESPINDOLA

**PRODUÇÃO DE SUPLEMENTO ALIMENTAR NA FORMA DE COMPRIMIDOS ORAIS DISPERSÍVEIS
CONTENDO MICROPARTÍCULAS DE PROTEÍNA DO SORO DO LEITE CARREGADAS COM
RESVERATROL**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 30 de Novembro de 2022

Odinei Hess Goncalves, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi, Doutorado - Universidade Federal de Santa Catarina (Ufsc)

Regiane Da Silva Gonzalez, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 30/11/2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Dr. Odinei Hess Gonçalves, coorientadora Dra. Rosana Aparecida da Silva Buzanello e a todo corpo docente do PPGTA pela sabedoria com que me guiaram nesta trajetória.

À toda minha família, ao meu esposo Jhone de Souza Espindola, que me auxiliou e incentivou nesta conquista, juntos vamos crescendo e conquistando nossos sonhos.

Agradeço a todas as minhas amigas e colegas de trabalho que me ajudaram e me cobriram nos momentos de ausência, à minha supervisora Leticia Darlla Cordeiro por sempre me auxiliou a conciliar as cargas horárias das disciplinas com os horários de trabalho. Sem a ajuda de vocês eu não teria conseguido realizar o Mestrado.

Meu agradecimento aos laboratórios multiusuários de Campo Mourão (CAMulti-CM), Londrina (LabMult-LD) e Medianeira (CeanMed) da UTFPR, e ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O resveratrol é um composto natural que tem despertado interesse das indústrias alimentícia e farmacêutica devido à sua bioatividade. Uma forma de entrega de compostos bioativos para o consumidor que tem se popularizado são os comprimidos orodispersíveis (ODTs, do inglês), que tem por característica a rápida dissolução na boca e facilidade de uso. Contudo, o resveratrol possui forte amargor e solubilidade limitada em água, o que reduz sua biodisponibilidade. Sabe-se que estas limitações dificultam seu emprego em formulações de alimentos ou de suplementos alimentares. A técnica de microencapsulação por *spray-drying* torna-se uma ferramenta viável para melhorar as propriedades tecnológicas do resveratrol. A presente Dissertação de Mestrado teve por objetivo a obtenção de comprimidos orodispersíveis contendo resveratrol microencapsulado. Foram obtidas micropartículas nas proporções de resveratrol de 8% g/g_{whey} e 2,4% g/g_{whey} pela técnica de atomização por *spray-drying*. Estas foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura, Termogravimetria, Difração de Raio-X, Calorimetria Exploratória Diferencial e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier. A eficiência de encapsulação foi determinada por espectrometria UV-Vis em 306 nm. Os comprimidos foram obtidos pela mistura da base comercial e micropartículas em 0%, 1%, 3%, 10% e 20% em massa e submetidos a medida instrumental de cor, avaliação mecânica e teste de desintegração em solução salivar simulada. As partículas possuíam formato esférico enrugado formando aglomerações e com tamanhos entre 2 e 22 micrômetros. As micropartículas com a proporção 2,4% apresentaram as maiores temperaturas de degradação (156 e 205 °C), demonstrando o aumento da estabilidade térmica. Houve também atenuação da intensidade de bandas de FTIR do resveratrol nas micropartículas quando comparado aos espectros dos compostos individuais. A difração de raios-X demonstrou também atenuação dos picos do resveratrol indicando a sua encapsulação. As eficiências de encapsulação das micropartículas foram de (72 ± 8,5) % e (89 ± 4,1) % para as formulações de 8% e 2,4% respectivamente. Nos comprimidos foi observado que o aumento da concentração de micropartículas adicionadas resultou na tonalidade mais amarela dos comprimidos e ao maior tempo de desintegração oral. A dureza se mostrou estatisticamente similar para todas as formulações analisadas, indicando que a adição de micropartículas no comprimido não interferiu nas suas propriedades mecânicas. A técnica de microencapsulação por *spray-drying* com *whey protein* foi eficiente para a encapsulação do resveratrol. Os comprimidos apresentaram mudanças apenas nas propriedades de cor e desintegração oral, encorajando testes futuros para avaliações sensoriais.

Palavras-chave: microencapsulação; atomização; resveratrol; proteína do soro do leite; comprimidos orodispersíveis.

ABSTRACT

Resveratrol is a natural compound that has attracted the attention of the food and pharmaceutical industries due to its bioactivity. Orodispersible tablets (ODTs) are a promising alternative to deliver bioactive compounds to consumers which are known for the rapid dissolution in the mouth and ease of use. However, resveratrol presents a remarkable bitterness and limited water solubility, which reduces its bioavailability. These limitations hinder its use in food formulations and supplements. The microencapsulation technique by spray drying becomes a viable tool to improve the technological properties of resveratrol. Here, the results concerning the production and characterization of whey protein microparticles containing resveratrol are presented. Microparticles were obtained in the proportions of resveratrol 8% g/g_{whey} and 2.4% g/g_{whey} by the spray-drying atomization technique. The microparticles were characterized by Scanning Electron Microscopy, Thermogravimetric analysis, X-Ray Diffraction, Differential Scanning Calorimetry and Fourier Transform Infrared Spectroscopy. The encapsulation efficiency was determined by UV-Vis spectrometry at 306 nm. Tablets were obtained by the commercial mixture and microparticles at 0%, 1%, 3%, 10% and 20% mass concentration. The tablets were subjected to instrumental color measurement, mechanical evaluation and disintegration test in simulated salivary solution. The particles presented spherical, wrinkled shapes and were agglomerated with sizes from 2 to 22 micrometers. The microparticles with the 2.4% proportion showed the highest degradation temperatures (156 and 205°C) demonstrating increased thermal stability. There was also an attenuation in the intensity of FTIR bands of the whey in the microparticles when compared to the spectra of the individual compounds. X-ray diffraction also showed attenuation of resveratrol peaks indicating an efficient encapsulation. The encapsulation efficiency were $(72 \pm 8) \%$ e $(89 \pm 4) \%$ for the 8% and 2.4% formulations, respectively. In the tablets, it was observed that the higher the concentration of microparticles, the yellower the tablets appeared and the longer the oral disintegration time. The hardness was statistically similar for all the formulations analyzed, indicating that the addition of microparticles in the tablet did not affect the mechanical properties. The spray-drying microencapsulation technique with whey protein was efficient for the encapsulation of resveratrol. The tablets presented changes only in color and oral disintegration time which encourages future sensory tests.

Keywords: microencapsulation; atomization; resveratrol; whey protein. orodispersible tablets.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	9
2.1	Objetivos específicos	9
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1	Resveratrol	10
3.2	Microencapsulação	11
3.3	<i>Whey protein</i>	13
3.4	<i>Spray-drying</i>	20
3.5	Comprimidos orodispersíveis	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	Material	25
4.2	Microencapsulação de resveratrol em <i>whey protein</i> concentrado (WPC)	25
4.3	Caracterização das micropartículas	26
4.4	Eficiência de encapsulação (EE%) e <i>loading</i>	27
4.4.1	Procedimento de validação	27
4.4.2	Linearidade	28
4.4.3	Limite de quantificação e limite de detecção	29
4.4.4	Acurácia	29
4.4.5	Precisão Intermediária	29
4.5	Obtenção e caracterização dos comprimidos orodispersíveis	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1	Caracterização das micropartículas	32
5.2	Eficiência de encapsulação e <i>loading</i>	40
5.3	Caracterização dos comprimidos orodispersíveis	45
6	CONCLUSÕES	50
	REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

A crescente tendência de consumo de suplementos alimentares está diretamente relacionada com a procura por uma melhor qualidade de vida, hábitos alimentares mais saudáveis e melhora da resposta imunológica. Este movimento tem se intensificado nos últimos anos, principalmente no recente cenário pandêmico (BOMFIM; GONÇALVES, 2020). De acordo com a RDC nº 243 de 26 de julho de 2018, suplementos alimentares não são medicamentos, embora sejam considerados fármacos. Eles são um complemento para a alimentação de indivíduos saudáveis que englobam desde probióticos até formulações que forneçam nutrientes, substâncias bioativas ou enzimas (BRASIL, 2018).

Um composto aromático polifenólico que vem se destacando no ramo de suplementos é o resveratrol (3,5,4'-triidroxi-estilbeno (LEKLI; RAY; DAS, 2010; HUMINIECKI; HORBAŃCZUK, 2018), principalmente devido à suas propriedades bioativas (NAJAFI *et al.*, 2021). Atualmente, as principais fontes de extração do resveratrol são plantas e sementes de frutas vermelhas como uvas, oleaginosas como amendoim ou folhosas como a erva japonesa, ou ainda por meio de fermentação de algumas leveduras (KOBAYASHI *et al.*, 2022).

Apesar do resveratrol apresentar muitos benefícios à saúde e seu emprego como ingrediente demonstrar grande potencial de crescimento na indústria de alimentos e farmacêutica, ele possui instabilidade frente a diversos fatores externos (SHAO *et al.*, 2019), principalmente a luz que pode facilmente transformar o trans-resveratrol em seu isômero cis inativo, além de apresentar baixa solubilidade em água, dificuldade de aceitação sensorial devido ao seu amargor e sensação adstringente (SILVA *et al.*, 2013; KOGA *et al.*, 2015; GANI *et al.*, 2022). A microencapsulação pode ser uma alternativa viável às limitações do resveratrol, pois pode preservar a bioatividade e a biodisponibilidade, e aumentar a estabilidade de compostos naturais (LU *et al.*, 2021). No processo de microencapsulação, é necessário um encapsulante que possua características protetoras como é o caso do *whey protein*, que vem apresentando altos teores de eficiência de encapsulação, conservação e entrega controlada de diversos bioativos (TAN; ZHONG; LANGRISH, 2020).

Os comprimidos de desintegração oral (ODT's) são uma inovação no ramo de entrega de fármacos, indicados a todos públicos, incluindo os públicos geriátrico e infantil. São comprimidos que se dissolvem ao entrar em contato com a saliva com a

liberação rápida do ativo (entre 5 a 30 segundos), promovendo maior biodisponibilidade em relação a comprimidos convencionais (ELKHODAIRY; HASSAN; AFIFI, 2014). Porém, o amargor é um desafio recorrente nos ODT's e o método de microencapsulação por *spray-drying* pode ser uma estratégia para mascarar sabores indesejados de ingredientes ativos, pois o polímero encapsulante restringe o contato do ativo com o sistema gustativo do indivíduo (BRNIAK; MAŠLAK; JACHOWICZ, 2015; AMELIAN *et al.*, 2017).

2 OBJETIVOS

Obter comprimidos orodispersíveis (ODT's) contendo resveratrol microencapsulado em *whey protein*.

2.1 Objetivos específicos

- Microencapsular o resveratrol em *whey protein* pela técnica de *spray-drying* e analisar duas diferentes proporções de material de parede;
- Caracterizar as micropartículas em relação ao tamanho e morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV), o perfil espectroscópico por espectrofotometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), as características estruturais químicas por difração de raios-X (DRX) e estabilidade térmica, utilizando a técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA);
- Determinar a eficiência de encapsulação e *loading* por meio da análise de espectrofotometria de absorção no ultravioleta;
- Validar uma metodologia de espectroscopia no ultravioleta-visível para a determinação da eficiência de encapsulação;
- Incorporar as micropartículas em comprimidos orodispersíveis;
- Caracterizar os comprimidos orodispersíveis quanto as propriedades colorimétricas e dureza.

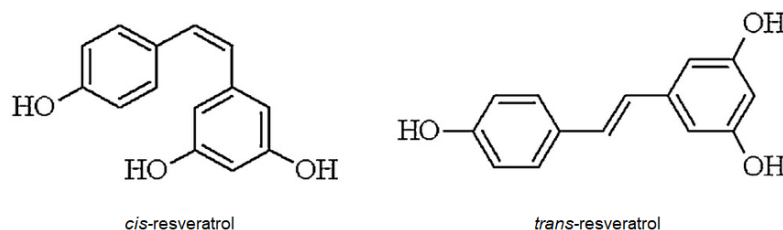
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

3.1 Resveratrol

O resveratrol é um bioativo que vem sendo amplamente estudado, principalmente por apresentar diversas propriedades benéficas a saúde, como atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos e vírus (VESTERGAARD; INGMER, 2019), antioxidante (ABBAS; KAMEL; EL-SAYED, 2018; GALLARDO *et al.*, 2019), e anti-inflamatória (ABBAS; KAMEL; EL-SAYED, 2018; SZKUDELSKA *et al.*, 2020).

O resveratrol possui fórmula química $C_{14}H_{12}O_3$ (Figura 1), e massa molar de 228,247 g/mol (VENUTI *et al.*, 2014), sendo um polifenol pertencente à família dos estilbenos, classificado como uma fitoalexina natural, um metabólito secundário produzido por cerca de 72 espécies de plantas para auto defesa ao ataque de bactérias, fungos ou resposta a estresse como radiação UV e ozônio (WANG *et al.*, 2010; JAYAN *et al.*, 2019; REPOSSI; DAS; EYNARD, 2020).

Figura 1. Estruturas químicas do cis e trans resveratrol.



Fonte: Venuti *et al.* (2014)

Nas plantas, o resveratrol pode ser encontrado nas folhas, raízes, caules, sementes e frutos. As principais fontes de resveratrol são alguns alimentos processados como os vinhos, sucos e chás e in natura em frutas como uvas, framboesas, amoras, mirtilos, *cranberry*, groselha preta, morangos, jacas e oleaginosas como amendoim (SESSA *et al.*, 2011; KOGA; LEE; LEE, 2016). Dentre todas, a casca e sementes de uva apresentam as maiores concentrações deste composto (REPOSSI; DAS; EYNARD, 2020).

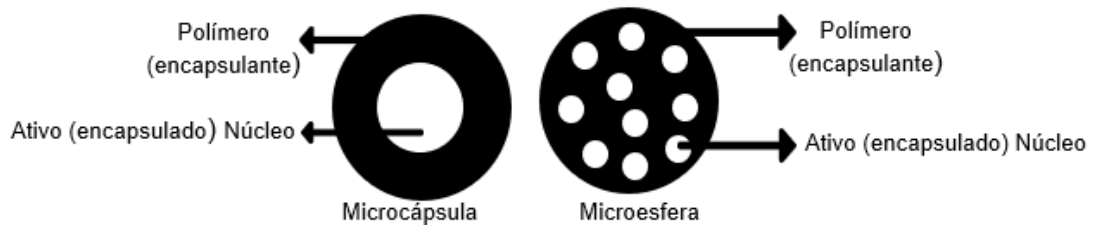
A Instrução Normativa - IN n° 102 (BRASIL, 2021), autorizou pela primeira vez o resveratrol para a utilização como constituinte em suplementos alimentares, exceto para lactentes (0 a 12 meses) ou crianças de primeira infância (1 a 3 anos), sendo a recomendação diária máxima de 165 mg para indivíduos maiores que 19 anos.

No entanto, este composto apresenta instabilidade química quando submetido à luz, calor, variações de pH e na presença de enzimas, contribuindo para a sua baixa biodisponibilidade (KOGA *et al.*, 2015; ZUPANČIČ; LAVRIČ; KRISTL, 2015; DAVIDOV-PARDO *et al.*, 2015; GANI *et al.*, 2022). O principal fator pelo qual o resveratrol apresenta baixa estabilidade está relacionado ao fato de sua molécula sofrer o fenômeno de isomerização, na qual com a posição *trans* de suas hidroxilas o composto apresenta bioatividade e na conformação *cis* encontra-se biologicamente inativo (CARDOSO *et al.*, 2019). Além disso, o resveratrol é altamente hidrofóbico, o que dificulta sua utilização em meio aquoso (solubilidade de 0,021 e 0,030 mg/mL), contudo é altamente solúvel em etanol (50 mg/mL) (DAVIDOV-PARDO; MCCLEMENTS, 2014).

3.2 Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica que apresenta um grande potencial para proteger e preservar ingredientes ativos, especialmente polifenólicos, durante processamento e armazenamento para uma posterior liberação e absorção no sistema trato gastrointestinal humano (YE; GEORGES; SELOMULYA, 2018) (ANNUNZIATA *et al.*, 2020). A técnica de microencapsulação é caracterizada pela produção de partículas em escala micrométrica, baseada na utilização de materiais poliméricos, denominados de encapsulante, carreador, casca ou matriz circundante, o objetivo é formar um invólucro em torno do material que se deseja aprisionar, chamado de encapsulado (PAULO; SANTOS, 2017). O tamanho das microcápsulas ou micropartículas deve apresentar escala de 1 a 1000 micrômetros (PAULO; SANTOS, 2017). As micropartículas podem ser diferenciadas em relação à disposição do encapsulado no material encapsulante, pode ser classificada em microcápsulas onde há a formação de uma casca em torno de um núcleo, ou em microesferas organizada em sistemas de pequenos reservatórios, em que o encapsulado fica disperso no material encapsulante formando uma partícula sólida maciça (Figura 2) (HERRERO-VANRELL *et al.*, 2014).

Figura 2. Diferenças morfológicas entre microcápsulas e microsferas.



Fonte: Adaptado de Herrero-Vanrell *et al.* (2014)

A microencapsulação pode ser uma alternativa para aumentar a estabilidade de compostos bioativos como o resveratrol. Augustin *et al.* (2011) tiveram por objetivo microencapsular a mistura de óleo de peixe, tributirina e resveratrol por meio de emulsão óleo-em-água e caseinato de sódio, glicose e amido modificado. Os autores também estudaram os efeitos no trânsito gastrointestinal de ratos e os resultados apontaram um aumento da disponibilidade dos ativos no gastrointestinal, sangue e no fígado dos animais.

Koga *et al.* (2015) produziram microcápsulas utilizando como material encapsulante o caseinato de sódio com e sem gordura anidra do leite, por meio de *spray-drying* para o mascaramento dos sabores indesejados do resveratrol. Os resultados apontaram que ambas as formulações foram eficazes para o mascarar o sabor do resveratrol. Também concluíram que a adição da gordura não apresentou efeitos significativos para a encapsulação do bioativo. Em um segundo trabalho (KOGA; LEE; LEE, 2016), os autores também microencapsularam o resveratrol em caseinato de sódio com a técnica de *spray-drying*, e na sequência adicionaram as microcápsulas em barras de cereais e gomas. As análises sensoriais apontaram que as barras de cereais incorporadas de micropartículas não apresentaram diferença significativa do controle, no entanto a goma apresentou menor preferência sensorial por parte dos avaliadores, quando comparado ao seu controle.

Cardoso *et al.* (2019) microencapsularam o resveratrol por meio de secagem com *spray-dryer* de emulsões com óleo de coco e goma arábica. Os resultados apontaram uma eficiência de encapsulação de 87%, obtendo melhores resultados de liberação do bioativo comparado ao não encapsulado.

Consoli *et al.* (2019) utilizaram conjugados de Maillard, aquecidos a diferentes tempos para produção de micropartículas carregadas de resveratrol, que foram produzidas por emulsões e secas por *spray-drying*. As micropartículas obtiveram de

80 a 100% de retenção e eficiência de encapsulação do resveratrol de cerca de 97%. Porém, notaram que os tempos de aquecimento afetaram de forma negativa a liberação do resveratrol nos ensaios de digestão *in vitro*.

Maria *et al.* (2020) prepararam micropartículas de alginato de sódio e carboximetilcelulose pelo método de secagem por *spray-drying* para entrega concomitante da curcumina e resveratrol. A eficiência de encapsulação foi avaliada e constatou-se 82,9% e 59,6% para o resveratrol e para curcumina, respectivamente. Concluíram também que o resveratrol se concentrou no núcleo e a curcumina formou uma camada mais externa nas partículas.

Chen *et al.* (2020) produziram micropartículas pela mistura extrusada de amido, resveratrol e α -amilase por meio de ultra-micropulverizador. Os autores concluíram que a estabilidade à luz do resveratrol foi melhorada e a α -amilase promoveu maior liberação controlada do resveratrol.

Song *et al.* (2021) elaboraram micropartículas de resveratrol pelo método liofilização. Os materiais de paredes usados foram misturas de amido de milho extrusado com e sem α -amilase, revestidos por quitosana. Os principais resultados apontaram que adição de α -amilase melhorou as características de encapsulação do amido e que o revestimento de quitosana aumentou o controle da liberação de resveratrol.

3.3 Whey protein

Os suplementos alimentares à base de proteínas do soro do leite (*whey protein*) se destacam pelo seu alto consumo entre atletas e praticantes de atividades físicas, assim como pela aceitação por parte de pacientes imunossuprimidos, idosos, adultos ou crianças em circunstâncias que não ocorra o consumo calórico diário satisfatório (BOMFIM; GONÇALVES, 2020). O *whey protein* são proteínas extraídas do soro de leite, um coproduto industrial obtido no processo de fabricação do queijo (TAN; ZHONG; LANGRISH, 2020). Sua ingestão apresenta benefícios à saúde, devido a suas propriedades bioativas e nutracêuticas (NG *et al.*, 2015; PATEL, 2015; DINIKA *et al.*, 2020; ZHAO; ASHAOLU, 2020). Geralmente, as proteínas que constituem o leite bovino são 80% de caseína e 20% de proteínas do soro. As principais proteínas do soro do leite são β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, imunoglobulinas, albumina do soro bovino, lactoferrina, lactoperoxidase,

glicomacropéptido entre outros constituintes menores (MADUREIRA *et al.*, 2007; NICOLÁS; FERREIRA; LASSALLE, 2019).

Como levantado por Mehra *et al.* (2021), o pó de proteína de soro de leite (WPP) é geralmente obtido por meio de clarificação, tratamento térmico e secagem do soro do leite até a um pó fino, cuja a porcentagem proteica, dependendo do produto comercial, pode variar de 11,0 a 14,5% e 63 a 75%. O concentrado de proteína de soro de leite (WPC) possui os menores teores de gordura, produzido a partir do WPP, com a fração de proteína podendo variar de 65 a 70%. No hidrolisado de proteína de soro de leite (WPH), as proteínas passam por um processo de quebra por meio de reação de hidrólise e o resultado são peptídeos e polipeptídeos menores que promovem um produto mais digerível e menos alergênico, com a porcentagem de proteína pode variar de 80 e 90%. Os isolados de proteína de soro de leite (WPI) são formas mais puras, pois o composto passa por processos extras de purificação para a retirada de lactose e gorduras, com teor de mais de 90% de proteínas.

Os principais benefícios do consumo de *whey protein*, de acordo com Akal (2017) são alto valor nutricional, atividade antioxidante, redução dos riscos de hipertensão e doenças cardiovasculares, controle de massa devido ao efeito de saciedade, efeito antimicrobiano, papel fisiológico no crescimento ósseo, cicatrização de feridas, inibição de inflamação, inibição da Hepatite C, propriedade de imunoreforço, assim como efeito anticarcinogênico (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Também possui efeitos positivos sobre anabolismo muscular, sobre o desempenho físico, redução de gordura corporal e hipertrofia muscular (HARAGUCHI; PAULA, 2006). A suplementação com *whey protein* pode reduzir a obesidade e o risco de doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares, colesterol alto no sangue e acidente vascular cerebral, assim como doenças relacionadas ao envelhecimento e sedentarismo (BADELY *et al.*, 2019; ZHAO; CHEN; ASHAOLU, 2022).

Dentre os materiais encapsulantes, o *whey protein* têm apresentado resultados promissores na eficiência de encapsulação, conservação e entrega controlada de bioativos, que pode estar relacionado a sua estabilidade das estruturas moleculares, devido aos arranjos globulares contendo pontes de dissulfeto (HARAGUCHI; PAULA, 2006). Além disso, o *whey protein* apresenta alta solubilidade em água e pode auxiliar na aplicação comercial de bioativos hidrofóbicos como o resveratrol (JAUREGI; GUO; ADELOYE, 2021).

O *whey protein* já foi utilizado na encapsulação de inúmeros compostos, valendo destacar a cafeína (MADADLOU; JABERIPOUR; ESKANDARI, 2014), o extrato do bagaço de cereja (TUMBAS ŠAPONJAC *et al.*, 2016), extrato de café verde (BUDRYN *et al.*, 2016), ácido fólico (ASSADPOUR *et al.*, 2016), ômega-3 (WANG, ADHIKARI, BARROW, 2019), carotenoides extraídos de espinheiro do mar (MIHALCEA *et al.*, 2017), probióticos *Lactobacillus casei* (ALEHOSSEINI *et al.*, 2019), tripsina *Tamarindus indica* L. tripsina extraída de sementes de tamarindo (DE QUEIROZ *et al.*, 2018), extrato da casca de frutas cítricas (HU *et al.*, 2019a), óleo e proteína de (KUHN *et al.*, 2019), extrato de folha de oliveira (SOLEIMANIFAR; JAFARI; ASSADPOUR, 2020), α -tocoferol (FANG *et al.*, 2019; NEVES *et al.*, 2020; BAO *et al.*, 2020) nobiletina (HU *et al.* 2019b), vitamina D₃ (LIU *et al.*, 2020), probióticos *Lactobacillus rhamnosus* (HERNÁNDEZ-BARRUETA *et al.*, 2020), β -caroteno (RODRIGUES *et al.*, 2020), óleos de pequi e buriti (COMUNIAN *et al.*, 2020a), bioativos do farelo de aveia (BANNIKOVA *et al.*, 2020), astaxantina (BOONLAO *et al.*, 2020), probióticos *L. acidophilus* (Etchepare *et al.*, 2020), curcumina (LV *et al.*, 2020), proteína de pólen de abelha (MAQSOU DLOU *et al.*, 2020).

Madadlou; Jaberipour; Eskandari, (2014) produziram nanocápsulas e nanoesferas de isolados de *whey protein* a partir de microemulsões com óleo de girassol e Span 80 por meio do método de gelificação a quente, com e sem a enzima transglutaminase para encapsular cafeína. As partículas e cápsulas obtidas tiveram tamanho reduzido, além de haver o aumento a temperatura de transição vítrea, assim como o formato esférico foi aumentada com a ação de reticulação enzimática causada pela transglutaminase.

Tumbas Šaponjac *et al.* (2016) realizaram o encapsulamento de bioativos extraídos do bagaço de cereja em *whey protein* e proteína de soja, por fim incorporados a farinhas de trigo para a produção de cookies. Durante quatro meses de acompanhamento, foi notado que a adição do encapsulado melhorou a estabilidade do produto formulado e o aumento do teor nutricional de polifenóis, além de aumentar a atividade antioxidante e melhora da cor.

Budryn *et al.*, (2016) analisaram a interação de ácidos hidroxicinâmico e clorogênico bioativos presentes em extrato de café verde, encapsulados com hidrolisados de proteínas de ovo albumina, *whey protein* e hidrolisados de proteínas de soja. As interações encontradas foram de caráter hidrofóbico e eletrostático que

resistiram aos processos de digestão proteolítica, contudo a biodisponibilidade do café verde foi reduzida.

Assadpour *et al.* (2016) tiveram por objetivo otimizar a produção de nanoemulsificação contendo ácido fólico disperso em óleo de canola em mistura de maltodextrina e *whey protein*, por meio técnica de emulsificação espontânea, contendo diferentes proporções de surfactante e concentrações de ácido fólico. As emulsões demonstraram alta eficiência de encapsulação, com melhor desempenho uma concentração de surfactante de 0,9% e conteúdo de ácido fólico de 3 mg/mL. Os resultados ainda apontaram que as maiores concentrações de surfactantes diminuíram o tamanho da gota, sendo fator determinante para a produção das nanocápsulas.

Wang, Adhikari e Barrow (2019) microencapsularam óleo de atum rico em ômega-3 a fim de reduzir a oxidação de seus bioativos. Foram utilizados os métodos de coacervação complexa de duplo núcleo, o primeiro com *whey protein* e ágar e o segundo com *whey protein* e goma gel, seguidas de secagem por *spray-drying*. Os resultados apontaram que as microcápsulas atuaram como barreiras de proteção ao óleo contra os fatores temperatura e oxigênio. Durante o armazenamento, a camada externa aumentou a estabilidade oxidativa do óleo encapsulado quando comparado a encapsulação simples de apenas uma camada.

Mihalcea *et al.* (2017) produziram micropartículas de *whey protein*, goma acácia com e sem a enzima transglutaminase, pelo método de coacervação complexa seguido de *freeze-drying*, para encapsular óleo extraídos de espinheiro do mar (*Hippophae rhamnoides L.*). Os autores concluíram que a enzima transglutaminase melhorou o desempenho de proteção dos materiais encapsulantes, aumentando a eficiência de encapsulação e atividade antifúngica.

Alehosseini *et al.* (2019) utilizaram uma mistura de concentrados e isolados de proteínas do leite, contendo enzima transglutaminase por meio da técnica de eletro-pulverização e liofilização para encapsular probióticos *Lactobacillus casei*. Os autores indicaram uma eficiência de encapsulação de 100% e sobrevivência dos microrganismos de 99,4%, aumentando a estabilidade no trato gastrointestinal e a vida de prateleira para a técnica de *eletrospray* comparados à liofilização.

Queiroz *et al.* (2018) em seu estudo tiveram como objetivo encapsular tripsina extraída de sementes de tamarindo (*Tamarindus indica L.*), utilizando quitosana e

whey protein, utilizando a técnica de nanoprecipitação. As nanocápsulas apresentaram alta estabilidade em diferentes níveis de pH e a combinação dos encapsulantes preservou a ação antifúngica da tripsina.

Hu *et al.* (2019) realizaram a extração de casca de frutas cítricas ponkan, ponkan de Taiwan, laranja azeda de Wulong e laranja vermelha de Guangxi (*Citrus reticulata* Blanco). Os extratos foram encapsulados em nanopartículas de concentrado de *whey protein*. As nanocápsulas modularam a liberação de flavonoides, a atividade antioxidante foi mantida, e as propriedades dos extraídos de citros variaram com as condições de pH e variedade dos citros.

Kuhn *et al.* (2019) propuseram produzir microesferas de *whey protein* pelo método de extrusão seguido por gelificação, a fim de encapsular óleo de linhaça e hidrolisado de proteína de linhaça. Concluíram que foi possível realizar a encapsulação dos bioativos das sementes de linhaça, e durante as análises *in vitro* as microesferas se mostraram resistentes a condições gástricas, mas não a condições intestinais simuladas.

Soleimanifar, Jafari e Assadpour (2020) produziram nanopartículas a partir de concentrado de *whey protein* via *electrospraying* para encapsular extrato de folha de oliveira. Os autores concluíram que a eficiência do encapsulamento aumentou quando a concentração de *whey protein* foi aumentada.

Fang *et al.* (2019) prepararam nanopartículas e emulsões com isolado de *whey protein*, para encapsular α -tocoferol. As emulsões tiveram melhores resultados quando comparadas com as partículas, com maior eficiência de encapsulação assim maior estabilidade coloidal. O α -tocoferol não afetou os tamanhos das gotas nas emulsões e propiciou maior estabilidade em 25 °C.

Hu *et al.* (2019b) produziram géis emulsionados de concentrado de proteína do leite com incorporação de íons Ca^{2+} (cloreto de cálcio) e hidroxipropilmetilcelulose na encapsulação do flavonoide nobiletina. O hidroxipropilmetilcelulose aumentou a biodisponibilidade da nobiletina, reduziu o tamanho das partículas e melhorou as a viscosidade, mas reduziu a elasticidade dos géis quando comparados com a adição Ca^{2+} .

Liu *et al.* (2020) encapsularam a vitamina D₃ em gel constituído proteína isolada de soro de leite, para aumentar gelificação do *whey protein*. O mesmo foi combinado com a amilopectina extraída de raiz de lótus, juntamente com a regulação do pH ideal que foi em torno de 7,0. Os autores concluíram que a encapsulação da

vitamina permitiu maior estabilidade de armazenamento, maior resistência à fotodegradação, além de maior biodisponibilidade nos testes com roedores e controle na liberação no intestino simulado.

Hernández-Barrueta *et al.* (2020) microencapsularam probióticos *Lactobacillus rhamnosus* e incorporaram em chá verde pronto para beber, utilizando uma mistura de *whey protein* e amido de huauzontle (planta comestível de origem no México) secos em *spray-drying*. Concluiu-se que a encapsulação junto a incorporação de ácido ascórbico manteve os probióticos vivos, evitou a fermentação da bebida e os bioativos polifenóis presentes permaneceram estáveis devido a provável formação de complexos insolúveis com a matriz da microcápsula. A microencapsulação foi eficaz em tornar a bebida altamente estável por 5 semanas de armazenamento à 4° C.

Rodrigues *et al.* (2020) elaboraram nanocápsulas com *whey protein* para encapsular β -caroteno por meio da técnica de *electrospray*. Os autores utilizaram o etanol em diferentes concentrações afim de melhorar a solubilidade da biomolécula e facilitar a encapsulação. Os resultados apontaram que a técnica utilizada foi eficiente para formação das nanocápsulas e o etanol permitiu que o β -caroteno interagisse com o núcleo hidrofóbico das proteínas da cápsula.

Comunian *et al.* (2020a) encapsularam os óleos de pequi e buriti por emulsificação com *whey protein* aquecido e não aquecido, seguidos por liofilização. Concluiu-se que a emulsificação aquecida apresentou melhor estabilidade quanto análises de índice de instabilidade. Além disso, ambos os métodos foram eficazes quanto a melhorar a estabilidade oxidativa dos óleos, assim como aumentou a preservação dos bioativos carotenoides.

Bannikova *et al.* (2020) propuseram a produção de microesferas de *whey protein* juntamente com maltodextrina por meio do método de coacervação, para encapsular bioativos de farelo de aveia. Os autores concluíram que a proporção de 60:40 de *whey* e maltodextrina foi melhor para a produção das micropartículas. A microencapsulação também proporcionou maior estabilidade antioxidante e probiótica, mantendo-se estável por 8 meses de armazenamento. Durante estudo de digestão simulada, notou-se maior liberação de polifenóis.

Boonlao *et al.* (2020) encapsularam o carotenoide astaxantina, extraído de microalga *Haematococcus pluvialis*, por meio de emulsão óleo/água, utilizando como material de parede *whey protein* com goma xantana. As melhores foram obtidas com maior concentração de goma xantana (0,5%). A mistura *whey protein* com goma

xantana melhorou a estabilidade das astaxantina durante o armazenamento em temperaturas amenas, contudo houve diminuição da digestibilidade quando comparado ao *whey protein* puro.

Etchepare *et al.* (2020) produziram microcápsulas de alginato de cálcio para encapsular probióticos *acidophilus*, por meio de gelificação iônica. Em seguida foram revestidas em até três camadas, de uma mistura de *whey protein* e alginato de sódio. Embora a microencapsulação mais efetiva foi com apenas uma camada *whey protein* e alginato de sódio, a eficiência de encapsulação foi superior a 80% para todos os tratamentos. Os microrganismos se mantiveram viáveis quando expostos a condições que simulam o sistema trato gastrointestinal e tratamentos térmicos, quando comparados microrganismos não encapsulados.

Lv *et al.* (2020) prepararam partículas de gel de isolado de *whey protein* por meio dos métodos de alta pressão, e na sequência foram aplicadas em géis de emulsões de Pickering utilizadas para encapsular curcumina. Os géis de emulsão de Pickering tiveram a maior eficiência de retenção de curcumina e melhorou a liberação sob simulações gástricas, assim como melhor estabilidade contra a luz.

Maqsoudlou *et al.* (2020) propuseram microencapsular proteínas do pólen de abelha por *spray-drying* com os encapsulantes maltodextrina, *whey protein* e uma mistura de ambos os compostos. Os resultados apontaram que a mistura dos materiais de parede apresentou maior eficiência de encapsulação, e maior capacidade fotoproteção do encapsulado a radiação UV.

Neves *et al.* (2020) prepararam microcápsulas utilizando isolados de *whey protein* juntamente com mucilagem de ora-pro-nobis. Por meio de emulsões de óleo em água, utilizando óleo de canola ou óleo de coco como carreadores, seguido de liofilização, para encapsular α -tocoferol. Concluiu-se que o encapsulamento mais eficaz foi promovido pela mistura dos biopolímeros, juntamente em óleo de coco e em menores proporções de ora-pro-nobis. A bioacessibilidade do encapsulado foi maior com *whey protein*, ora-pro-nobis e óleo de canola e a liberação do α -tocoferol foi a mesma para todos os tratamentos.

Bao *et al.* (2020) produziram partículas coloidais de isolados de *whey protein* e emulsões de óleo de girassol para o encapsulamento de resveratrol e α -tocoferol. Os autores concluíram que a eficiência de encapsulamento 60% e 98% para resveratrol e α -tocoferol respectivamente e observaram que durante a digestão *in vitro* obtiveram liberação 100% dos bioativos presentes nos géis. Posteriormente, o

resveratrol indicou níveis mais altos de 50% a 85%, porém o α -tocoferol apenas 25% de resistência após a digestão.

3.4 *Spray-drying*

Para a realização da microencapsulação existem diferentes métodos, como relatado na revisão feita por Ozkan *et al.* (2019), como os físicos (secagem por pulverização, liofilização, super-precipitação crítica de fluidos e evaporação de solventes), físico-químicos (coacervação, lipossomas e gelificação iônica) e químicos (polimerização interfacial e inclusão molecular por complexação). O *spray-drying*, também conhecido por secagem por pulverização, é um dos métodos mais empregados em escala industrial, por apresentar maior viabilidade econômica (TALÓN *et al.*, 2019). Este método se dá pela transformação de uma solução ou suspensão líquida em um pó seco, por meio de atomização rápida, utilizando um injetor ligado a um fluxo de gás de secagem a quente, o equipamento é denominado *spray dryer* (AKHAVAN MAHDAVI *et al.*, 2016; TAN; ZHONG; LANGRISH, 2019).

Dentre os trabalhos realizados para encapsulação utilizando *spray-drying* e *whey protein* podem ser destacados a encapsulação do óleo essencial de chia (RODEA-GONZÁLEZ *et al.*, 2012), óleo de semente de urucum (SILVA *et al.*, 2016), óleo de *Moringa oleifera* (PREMI; SHARMA, 2017), extrato de alho (TAVARES; ZAPATA NOREÑA, 2019), eugenol (TALÓN *et al.*, 2019), resveratrol (KOGA *et al.*, 2016; SHAO *et al.*, 2019), pepsina (TAN; ZHONG; LANGRISH, 2019), extrato de cidra (MAHDI *et al.*, 2020), acetaminofeno (TAN; ZHONG; LANGRISH, 2020), óleo de tributirina (SHI *et al.*, 2020), e óleo de semente de romã (COMUNIAN *et al.*, 2020b).

Rodea-González *et al.* (2012) microencapsularam óleo essencial de chia, utilizando emulsões com mistura de *whey protein* e goma arábica ou algaroba em água, seguidas de secagem pelo método *spray-drying*. Os resultados apontaram que todos os encapsulamentos foram eficientes e o melhor desempenho foi para microcápsulas com menor nível de sólidos solúveis e maior proporção material de núcleo para parede. Além disso, o estudo demonstrou que a estabilidade da emulsão desempenha um papel fundamental na eficiência de encapsulação.

Silva *et al.* (2016) tiveram por objetivo de estudo produzir microcápsulas de isolados de *whey protein* e amido modificado, visando ao encapsulamento do óleo de semente de urucum por emulsificação assistida por ultrassom, seguidas de liofilização ou secagem por *spray-drying*. os autores concluíram que a utilização do ultrassom

auxiliou na estabilidade das emulsões, mas não foi capaz de reduzir o tamanho das gotas. Os autores conseguiram encapsular o óleo em ambos os métodos de secagem, assim como obtiveram a mesma capacidade de termoproteção e micropartículas em estado amorfo. Porém, o produto obtido por liofilização obteve maior eficiência de retenção (razão entre a massa total de curcumina encontrada nas microcápsulas e massa adicionada inicialmente). O amido modificado com o *spray-drying* resultou maior eficiência de encapsulação.

Premi e Sharma (2017) encapsularam o óleo de *Moringa oleifera* com diferentes agentes encapsulantes, como goma arábica, maltodextrina e *whey protein*, utilizando a técnica de *spray-drying*. Os resultados apontaram que a mistura de maltodextrina e goma foram mais eficazes no encapsulamento do que a mistura de maltodextrina com *whey protein*.

Tavares, Zapata e Noreña (2019) encapsularam o extrato aquoso de alho por meio de coacervação complexa com *whey protein* e quitosana, seguido por *spray-drying*. A maior eficiência de encapsulação foi para a proporção 0,2: 1 m/m quitosana e *whey protein* respectivamente, melhorando as propriedades antioxidantes e de retenção dos bioativos do extrato.

Talón *et al.* (2019) objetivaram encapsular o eugenol usando *whey protein* ou mistura de lecitina de soja e maltodextrina como materiais de parede, por meio de *spray-drying*. O efeito da incorporação do ácido oleico e quitosana, como estabilizador do encapsulamento também foram analisados. Os resultados apontaram que ambas as formulações de encapsulantes apresentarem eficiência de encapsulação de 95 a 98% e ação antibactericida. A incorporação do ácido oleico e quitosana não resultaram em nenhum benefício na encapsulação ou entrega do eugenol. Porém a mistura encapsulante lecitina com maltodextrina apresentaram maior ação termoprotetora.

Tan, Zhong e Langrish (2019) testaram a microencapsulação e a liberação controlada de pepsina obtidas por *spray-drying* sob diferentes temperaturas, com isolados *whey protein*, hidrolisado e gelificado. A taxa de conservação da pepsina foi entre 84,3 e 89,4% e foi reduzida com a elevação da temperatura de entrada, sendo a temperatura ideal a de 150°C. Os mesmos autores em 2020 microencapsularam acetaminofeno em partículas por *spray-drying* produzidas com isolados de *whey protein*. Uma pré-gelificação foi realizada a 80 °C sob diferentes períodos entre 0 e 5 horas. Observou-se que as microcápsulas apresentavam aspecto enrugado e que a

pré-gelificação em períodos mais longos aumentou o tempo de liberação do acetaminofeno. Os resultados sugeriram que a pré-gelificação pode reduzir a solubilidade de proteínas e facilitar microencapsulação por *spray-drying*.

Mahdi *et al.* (2020) microencapsularam o extrato de cidra dedilhado com goma arábica, amido modificado, proteína de soro de leite e maltodextrina utilizando *spray-drying*. eles obtiveram maior rendimento de encapsulação de 89,39% e eficiência de encapsulação de 87,20% e melhor desempenho em todas análises realizadas em relação ao não encapsulados.

Shi *et al.* (2020) produziram microcápsulas em pó de óleo de tributirina como isolados do leite *whey protein* como encapsulante, utilizando o *spray-drying*, também foram comparados o método de secagem com o dois ou três bicos injetores. Concluiu-se que embora as microcápsulas não possuíssem diferenças significativas, o melhor método de secagem foi o de três bicos, pois reduziu a quantidade de óleo superficial, além de promover maior estabilidade das partículas durante o armazenamento.

Comunian *et al.* (2020b) microencapsularam óleo de semente de romã com *whey protein* combinada com amido modificado pelo método por emulsificação seguida por *spray-drying*. Concluiu-se que o melhor encapsulante foi o isolado de *whey protein* sem aquecimento, pois promoveu maior retenção, conservação e proteção dos ácidos graxos presente no óleo quando comparado ao óleo não encapsulado.

Shao *et al.* (2019) em seu trabalho tiveram por objetivo analisar emulsões de *whey protein*, goma arábica e mistura de ambos, com e sem encapsulação de resveratrol. Concluíram que o *whey protein* e a mistura com goma arábica foram eficientes para encapsular resveratrol. No entanto, a mistura com goma a uma concentração de 0,2% melhorou a estabilidade da emulsificação, assim como o processo de encapsulação em geral.

3.5 Comprimidos orodispersíveis

A ingestão oral de medicamentos e suplementos ainda é considerada como meio padrão e a mais segura dentre os existentes para administração de substâncias ativas. Porém, as formas tradicionais de entrega de fármacos apresentam grandes dificuldades de aceitação pelo público infantil e geriátrico (BRNIAK; MAŠLAK; JACHOWICZ, 2015). Cápsulas e comprimidos apresentam dificuldade de deglutição,

enquanto medicamentos líquidos por apresentam amargor, trazendo a necessidade de aditivação com aromatizantes, saborizantes e conservantes (DENG *et al.*, 2021).

Tendo em vista esta demanda, surgiram os comprimidos de desintegração oral (ODTs), também conhecidos como orodispersíveis, sublinguais, comprimidos de desintegração, comprimidos de dissolução oral, comprimidos de dissolução rápida ou comprimidos de fusão rápida. São caracterizados por dissolverem rapidamente na boca, portanto unindo os benefícios e vantagens formas farmacêuticas sólidas e líquidas (AHMED, 2021; KOKOTT *et al.*, 2021).

Na entrega na forma de ODTs, o bioativo é absorvido na medida que a saliva passa pelo sistema digestório pré-tratogastrointestinal, incluindo boca, faringe e esôfago, levando a um aumento da biodisponibilidade (CHHA *et al.*, 2014). Isso está relacionado à redução das reações de degradação inicial do fármaco, o chamado efeito de primeira passagem (AHMED, 2021). Os comprimidos ODTs são produzidos usando celulose microcristalina e hidroxipropilcelulose e compostos que possuam características efervescentes devido à produção de dióxido de carbono, e os métodos utilizados para a sua obtenção se baseiam em por compressão direta, liofilização, moldagem, sublimação, secagem por *spray-drying*, extrusão, nanonização, compactação, método de transição de fase ou filmes de dissolução rápida (HANNAN *et al.*, 2016).

Yi *et al.* (2014) prepararam microcápsulas de citrato de sildenafil para mascarar o sabor amargo. As microcápsulas foram preparadas com um polímero gastrossolúvel, Eudragit®E100 (E100), usando uma técnica de *spray-drying* em quatro proporções. O E100 não foi eficaz para a liberação do fármaco no estômago, sendo observado que a adição do E100 aumentou a eficiência de mascarar o sabor indesejado dos ativos, tanto na análise *in vivo* como *in vitro* com língua eletrônica.

Brniak, Mašlak e Jachowicz (2015) produziram filmes e comprimidos orodispersíveis com micropartículas de prednisolona, em duas formulações baseadas em Eudragit E PO ou E 100 preparadas com a técnica de *spray-drying*. Nas duas formulações obtiveram resultados promissores sobre a resistência física e propriedades de desintegração. O microencapsulado incorporado nas formas orodispersíveis aumentou significativamente a liberação de prednisolona.

Wesoły *et al.* (2017) realizaram o estudo com língua eletrônica e por análise sensorial de microesferas contendo cetirizina. Os compostos comerciais *Kollocoat SmartSeal* e *Kollocoat Protect* foram utilizados como encapsulantes. Os resultados

apontaram que o *Kollocoat Protect* obteve o maior rendimento na produção das microesferas, o *Kollocoat SmartSeal* foi o melhor em relação à eficiência de encapsulação. Porém, a eficiência em mascarar o sabor dependeu das proporções de cetirizina com o material de parede, logo quanto menos polímero na formulação maior era o amargor. Concluíram que todas as formulações obtiveram resultados condizentes de levemente amargo na análise sensorial e em língua eletrônica.

Amelian *et al.* (2017) investigaram a produção de micropartículas contendo também dicloridrato de cetirizina para formular comprimidos de desintegração oral pelo método de compressão direta e por liofilização. As micropartículas foram produzidas por *spray-drying* utilizando o Eudragit E PO como encapsulantes. Os autores concluíram que todas as formulações foram eficazes para mascarar o sabor amargo do ativo, além de promover a redução do tempo de desintegração e melhorar as propriedades físico-químicas dos produtos formulados. Concluiu-se também que a técnica de microencapsulação promoveu uma maior aceitação sensorial, com resultados condizentes às análises realizadas com língua eletrônica.

Deng *et al.* (2021) nanoencapsularam os compostos lopinavir e ritonavir a partir do copolímero Eudragit® E PO, utilizando o método de nanoprecipitação. Obtiveram 98% de eficiência de encapsulação para ambos compostos encapsulados, os comprimidos se dissolveram em apenas 7 segundos e permaneceram estáveis por até 3 meses de armazenamento. Os autores concluíram que a nanoencapsulação melhorou a biodisponibilidade dos fármacos quando comparado a um concorrente comercial, além de mascarar sabores indesejados de acordo com a análise com língua eletrônica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

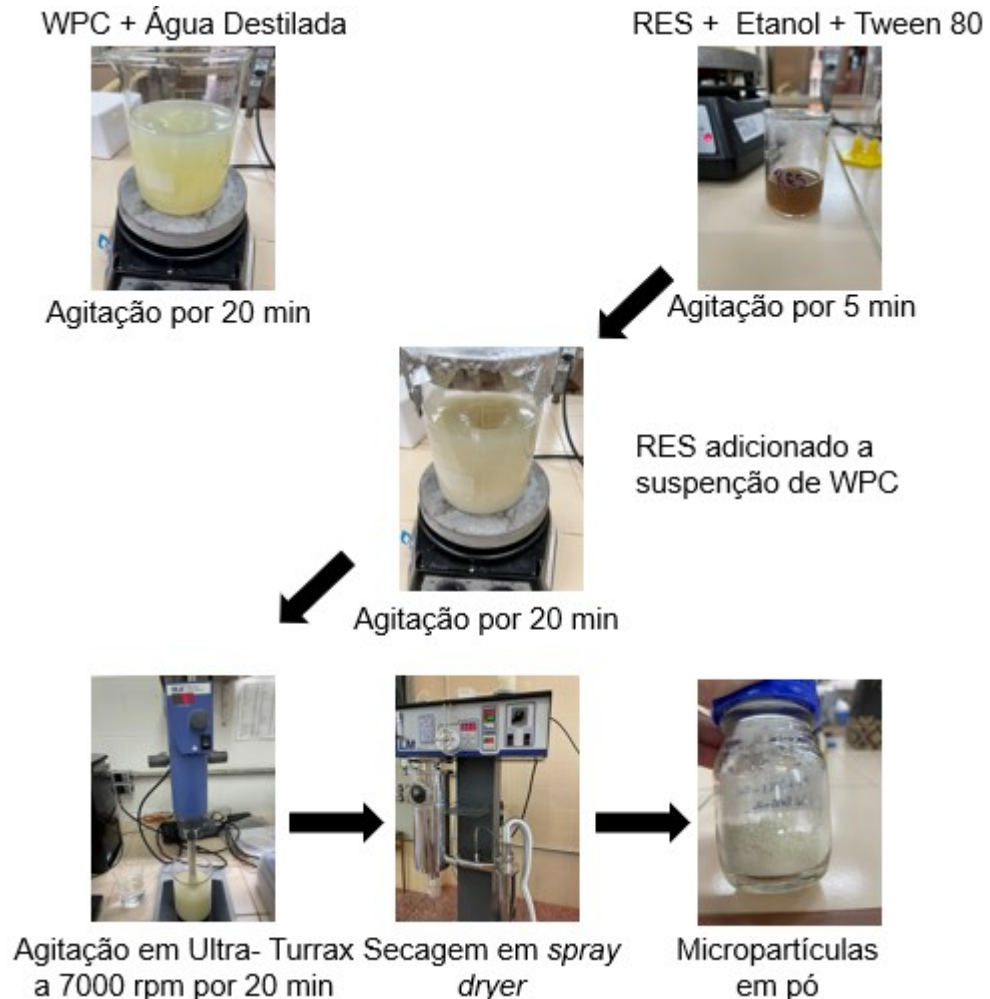
4.1 Material

Trans-resveratrol, extraído da fonte botânica *Polygonum cuspidatum*, (Changsha Huir Biological Techcol, 98,30%), o *whey protein* (81%, gorduras 5,5%, cinzas 5,0%, umidade 4,5%, GSG Nutrição Ltda), álcool etílico (Vetec, 99,5% de pureza) e Tween 80 P.S. (Dinâmica) foram utilizados na microencapsulação. Álcool etílico também foi utilizado na obtenção das curvas de calibração do resveratrol por Espectroscopia no UV-Vis. Base comercial Orotab foi utilizada como excipiente para a obtenção dos comprimidos orodispersíveis.

4.2 Microencapsulação de resveratrol em *whey protein* concentrado (WPC)

O processo de microencapsulação do resveratrol em WPC foi realizado utilizando as concentrações e condições experimentais de Scremin *et al.* (2018) e processo de microencapsulação do resveratrol em WPC foi realizado de acordo com as metodologias descritas por Banjare *et al.* (2019) com pequenas adaptações. Duas formulações de micropartículas foram obtidas de acordo com as concentrações de resveratrol (8% g/g_{whey} para a amostra MP1 e 2,4% g/g_{whey} para a amostra MP2). O WPC (12 g para MP1 ou 40 g para MP2) foi suspenso em água destilada (400 mL) e submetido à agitação vigorosa por 20 min. Resveratrol (1,060 g) foi solubilizado em 13 mL de etanol, adicionado de Tween 80 (0,160 g) e a solução obtida foi homogeneizada por 5 min. Em seguida, a solução de resveratrol foi lentamente adicionada à suspensão de proteína, sob agitação mecânica vigorosa mantida por 20 min. Em seguida, a suspensão foi submetida a agitação em Ultra-Turrax (T18, IKA, Alemanha) a 7000 rpm por 20 min. A suspensão final obtida foi submetida a secagem em um *spray dryer* (Labmaq-MSD 1.0, São Paulo, Brasil) com câmara de secagem de 500 mm x 150 mm, bico atomizador tipo duplo fluido, com orifício de 0,7 mm de diâmetro. A bomba peristáltica foi operada a 0,6 L h⁻¹ e uma temperatura de entrada de 150 °C, com uma vazão de ar de secagem operada a 35 cm³ h⁻¹, conforme esquema experimental Figura 3.

Figura 3. Esquema experimental utilizado na produção das micropartículas.



Fonte: Autoria própria (2022)

4.3 Caracterização das micropartículas

Para a análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (Carl Zeiss – EVO MA 15), as amostras foram revestidas com ouro e as imagens foram obtidas por detecção de elétrons retroespalhados. O objetivo desta análise foi observar o formato, tamanho das micropartículas e a possível formação ou não de aglomeração. Para a determinação do tamanho das micropartículas foi utilizado softer Sizer Meter 1.1, foi considerado o maior diâmetro das micropartículas para a demarcação com auxílio do mouse, foram avaliadas em média 320 partículas de cada tratamento. O *span*, foi

calculado a partir da Equação 1, trata do valor matemático definido como a medida da dispersão, que avalia a variação do volume de distribuição das partículas em relação ao diâmetro médio (CHEN; DAVIS, 2002).

$$Span = \frac{d_{(v,90)} - d_{(v,10)}}{d_{(v,50)}} \quad (1)$$

Os valores de $d_{(v,10)}$, $d_{(v,50)}$ e $d_{(v,90)}$, são os diâmetros das partículas referentes a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada para a amostra.

Os ensaios de Difração de Raios-X foram realizados em um difratômetro (Bruker, D8 Advance), operando com radiação de Cu-K α gerada a 40 kV e 35 mA, variando de 3° a 60° (2 θ) a uma taxa de 5,9° min⁻¹. O objetivo desta análise foi de avaliar qualitativamente a encapsulação do resveratrol.

As Análises Termogravimétricas (TGA) foram realizadas em um analisador termogravimétrico (modelo SDT Q600, TA Instruments, EUA) e as análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) em um analisador calorimétrico (modelo Q20, TA Instruments, EUA). Em ambas as análises, as amostras (aproximadamente 10 mg) foram inseridas em cadinhos de platina que foram aquecidos de 50 a 600 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio à vazão de 20 mL min⁻¹. Foram analisadas amostras de WPC e de resveratrol, as micropartículas correspondentes aos ensaios MP1 e MP2, bem como, a mistura física (MF) de WPC e resveratrol na mesma proporção do ensaio MP1.

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier no modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR) (Spectrum 100 S, Frontier PerkinElmer™, Reino Unido), foram realizadas para avaliar a presença de possíveis interações entre o encapsulante e o resveratrol. Os espectros FTIR-ATR foram determinados no intervalo de número de onda de 4000 a 600 cm⁻¹, com resolução de 2 cm⁻¹. Foi utilizada uma média de 32 acumulações para cada amostra analisada.

4.4 Eficiência de encapsulação (EE%) e loading

4.4.1 Procedimento de validação

A determinação da eficiência e validação dos métodos de encapsulação foi realizada de acordo com Silva *et al.* (2021) com pequenas modificações. As micropartículas contendo resveratrol (50 mg) foram lavadas com 5 mL de etanol por

15 segundos usando papel filtro Whatman n° 1 para retirada do resveratrol não encapsulado. A solução coletada foi submetida à espectrometria UV-Vis (OceanOptics, Red Tide USB 650 UV) em 306 nm. Uma curva de calibração foi obtida em triplicata e utilizada para determinar a concentração real de resveratrol não aprisionada nas micropartículas ($RES_{\text{não encapsulado}}$).

A eficiência de encapsulação (EE%) foi calculada pela Equação 2, levando em conta a concentração total de resveratrol adicionado na produção das micropartículas (RES_{total}). EE% está relacionada à quantidade de resveratrol encapsulado em comparação com a quantidade total adicionada. A capacidade de carregamento *loading* e a eficiência de encapsulamento (EE%) foram expressas em percentagem. Também foram lidos o resveratrol puro (RES) e micropartículas sem resveratrol (WPC) para o teste de especificidade.

$$EE\% = 100 \times \frac{RES_{\text{total}} - RES_{\text{não encapsulada}}}{RES_{\text{total}}} \quad (2)$$

O *loading* é a quantidade de resveratrol encapsulado em comparação com a quantidade de substâncias adicionadas à formulação (whey e resveratrol), Equação 3.

$$Loading = \frac{RES_{\text{total}} - RES_{\text{não encapsulada}}}{Micropartículas_{\text{total}}} \quad (3)$$

O método de determinação da eficiência de encapsulação foi validada de acordo com os parâmetros indicados pelo ICH (2005): linearidade, acurácia, precisão intermediária e determinação dos limites de detecção e quantificação.

4.4.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada por meio da leitura de soluções de resveratrol em etanol a $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ para $8,0 \text{ mg L}^{-1}$ em seis concentrações diferentes, analisadas em triplicata utilizando UV-Vis no comprimento de onda de 306 nm. A regressão linear foi avaliada usando os coeficientes de correlação (R^2) e de correlação ajustado (R^2_{adj}) da curva de calibração, com ou sem ajuste.

4.4.3 Limite de quantificação e limite de detecção

O limite de quantificação (QL) foi determinado de acordo com a Equação 4. O limite de detecção (DL) é determinado pela análise de amostras com níveis de analito conhecidos conforme indicado na Equação 5, onde em ambas as equações “b” representa o coeficiente angular da curva de calibração e “s” o desvio padrão calculado a partir de sete amostras em branco etanol (sem adição de analito).

$$QL = s \cdot \frac{10}{b} \quad (4)$$

$$DL = s \cdot \frac{3.3}{b} \quad (5)$$

4.4.4 Acurácia

A acurácia foi analisada pelo método de recuperação analisando em três diferentes concentrações de soluções de resveratrol em etanol (0,80, 2,0 e 7,5 mg L⁻¹), os espectrômetros foram avaliados em triplicata realizados entre dois dias diferentes e as concentrações foram calculadas por meio da curva de calibração adquirida anteriormente (Equipamento Ocean Optics, modelo USB-650-UV-VIS Red Tide).

4.4.5 Precisão Intermediária

A precisão intermediária (entre dias e analistas diferentes) e reprodutibilidade (equipamento diferente e mesmo analista) foram analisadas pela porcentagem de variação (RSD %) de seis varreduras de três soluções de resveratrol (0,80, 2,0 e 7,5 mg L⁻¹, Ocean Optics modelo USB-650-UV-VIS Red Tide). As análises de reprodutibilidade foram realizadas utilizando um segundo equipamento do mesmo modelo.

Para a validação do método foi utilizado um espectrofotômetro ultravioleta-visível (Ocean, USB-650-UV-VIS Red Tide) e a varredura foi realizada de 200 a 850 nm com resolução de 1 nm. Análise de variância (ANOVA), coeficiente de determinação ajustado e erro padrão de estimativa foram utilizados para avaliar a curva de calibração (p = 0,01). Os efeitos de concentração, dia e sua interação foram

testados por ANOVA fatorial ($p = 0,05$). *One-way* ANOVA foi implementado para determinar a influência do laboratório e do analista ($p = 0,05$).

4.5 Obtenção e caracterização dos comprimidos orodispersíveis

Os comprimidos orodispersíveis foram obtidos pela mistura do excipiente e as micropartículas nas proporções desejadas definidas com base em testes preliminares (Tabela 1) e prensados num tableteiro sublingual (Color Plus 120 Caps, Ideal Equipamentos). Os comprimidos foram levados ao forno a 100 °C por 10 minutos, sendo depois acondicionados em blísteres individuais.

Tabela 1. Formulações utilizadas na obtenção dos comprimidos orodispersíveis.

Concentração de Micropartículas nos ODTs (%m)	Massa de excipiente (mg)	Massa de micropartículas (mg)	Massa de resveratrol (mg)
0	190,0	0,0	0,0000
1	188,1	1,9	0,1539
3	184,3	5,7	0,4617
10	171	19,0	1,5390
20	152	38,0	3,0780

Fonte: Autoria própria (2022)

Os comprimidos foram submetidos ao teste de cor (colorímetro Konica Minolta CR-400) determinando os parâmetros de luminosidade (L^*); coordenadas (a^*) vermelho/verde, (b^*) amarelo/azul, (C^*) Chroma e (h^*) percepção de cor.

As propriedades mecânicas dos comprimidos foram avaliadas em texturômetro (TA.XT Express, Stable Micro Systems, célula de carga de 10 kg), utilizando *probe* de compressão em forma de disco de 35 mm de diâmetro, velocidade de retorno de 5 mm.s⁻¹, distância de penetração de 20 mm e força de contato de 0,0490 N. Foram analisadas 6 amostras de cada formulação e o parâmetro avaliado foi a dureza (N), definida como a força máxima necessária para rompimento do corpo de prova.

A análise de desintegração foi realizada pela imersão do comprimido em 250 mL de solução salivar simulada (tampão fosfato obtido pela dissolução de 2,38 g Na₂HPO₄, 0,19 g KH₂PO₄ e 8,00 g NaCl em 1 L de água destilada ajustada com ácido fosfórico para pH 6,8 de acordo com Mashru *et al.* (2005). O tempo de desintegração

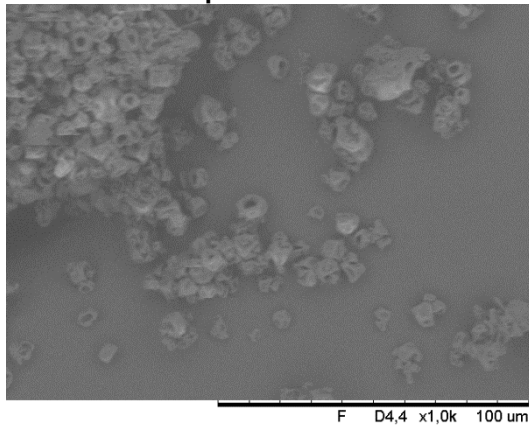
inicial e final foram determinados sob agitação de 250 rpm a 30 °C. Foi considerado desintegração inicial o instante em que houve a primeira fragmentação do comprimido e desintegração final até que todo comprimido estivesse dissolvido totalmente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

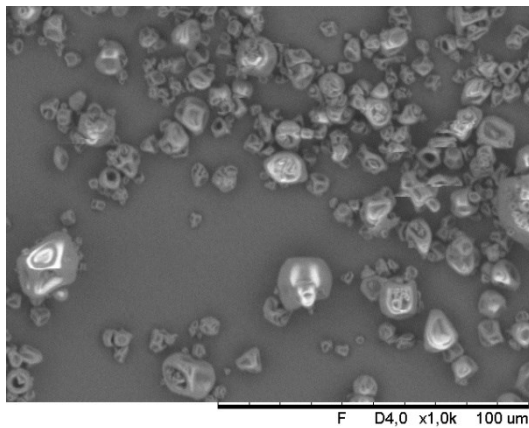
5.1 Caracterização das micropartículas

As imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas contendo resveratrol nas concentrações de 8% (MP1) e 2,4% (MP2), micropartículas sem resveratrol (WPC) e resveratrol sem encapsulação (RES) com aumento de 1000x estão apresentadas nas Figuras 4. A distribuição do tamanho das micropartículas contendo resveratrol e branco (sem adição de resveratrol) são apresentados na Figura 4 e na Tabela 2.

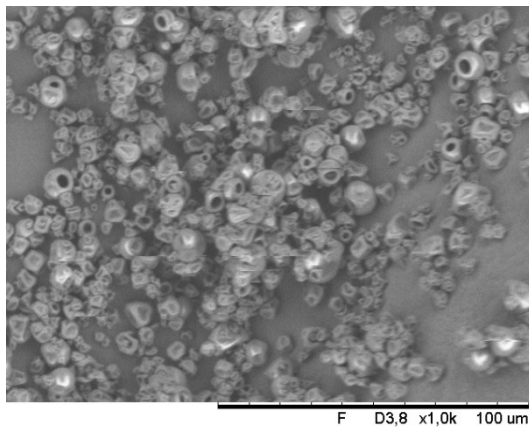
Figura 4. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das a) micropartículas e do resveratrol puro (aumentos de 1000x)



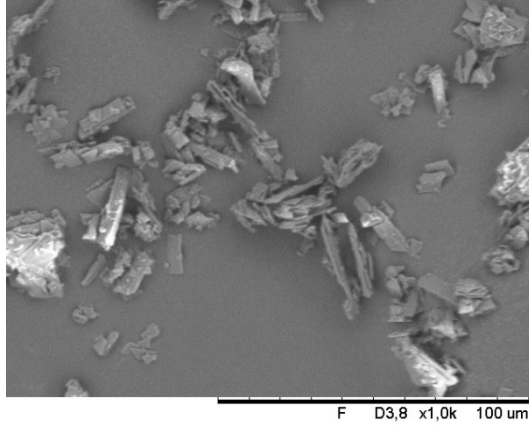
(a) Micropartículas contendo 8% de resveratrol (MP1).



(b) Micropartículas contendo 2,4% de resveratrol (MP2).



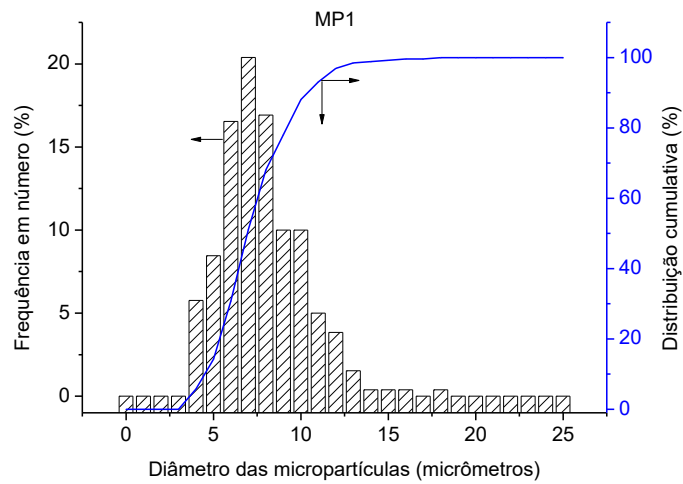
(c) Micropartículas sem adição de resveratrol (WPC).



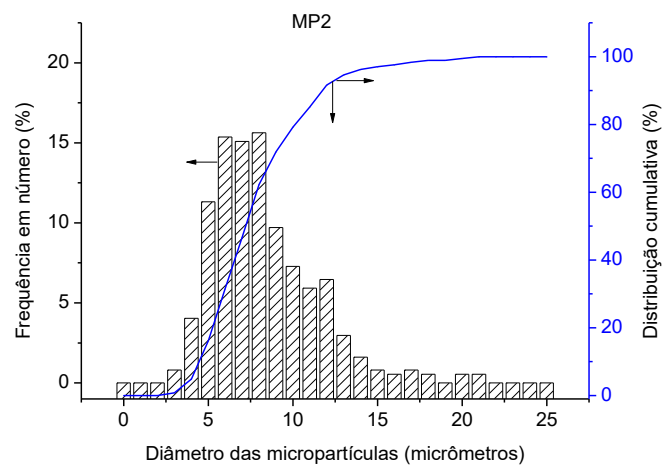
(d) Resveratrol.

Fonte: Autoria própria (2022)

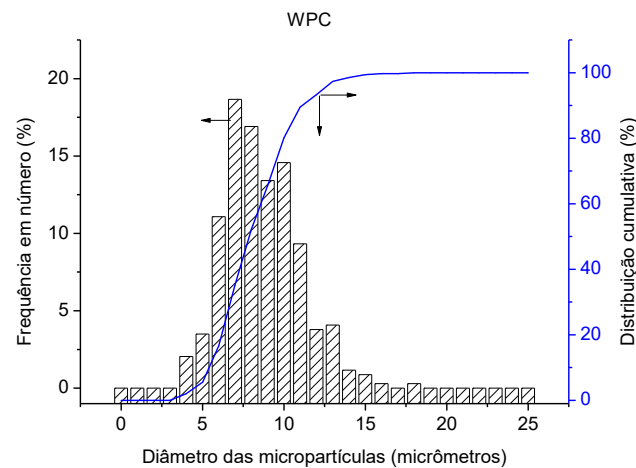
Figura 5. Distribuição dos tamanhos das micropartículas.



a) Micropartículas contendo 8% de resveratrol (MP1).



b) Micropartículas contendo 2,4% de resveratrol (MP2).



c) Micropartículas sem adição de resveratrol (WPC).

Fonte: autoria própria (2022)

Tabela 2. Diâmetros das micropartículas.

Amostras	Tamanhos			Span (-)
	$d_{(v,10)}$ (μm)	$d_{(v,50)}$ (μm)	$d_{(v,90)}$ (μm)	
MP1	$5,8 \pm 2,6$	$7,7 \pm 8,2$	$10,7 \pm 7,3$	0,60
MP2	$5,3 \pm 1,8$	$7,2 \pm 7,3$	$11,4 \pm 6,0$	0,85
WPC	$6,3 \pm 1,5$	$7,8 \pm 8,7$	$11,5 \pm 7,3$	0,67

Fonte: Autoria própria (2022)

As imagens de MEV mostraram que as partículas possuíam de 2 a 22 micrômetros, as maiores frequência de diâmetros foram de 20,4% para $7,0 \pm 6,1 \mu\text{m}$ em MP1, 15,6% para $8,0 \pm 5,3 \mu\text{m}$ em MP2 e 18,7% para $7,0 \pm 2,3 \mu\text{m}$ em WPC. Os valores de *span* se demonstraram relativamente baixos, isso indica homogeneidade morfológica, devido baixa dispersão na distribuição de tamanho das micropartículas (MENDES *et al.*, 2012).

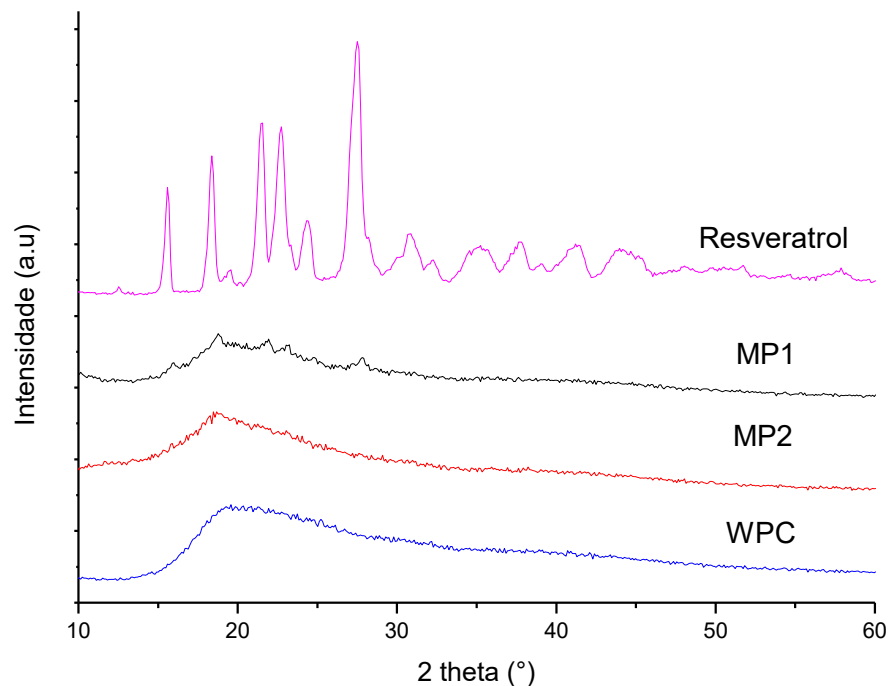
Também foi possível notar que as partículas apresentaram formato esférico enrugado apresentando aglomeração na sua maioria dos casos. Morfologia semelhante também foi obtida por Koga *et al.*, (2016) durante o encapsulamento do resveratrol com concentrado de *whey protein*, caseinato de sódio com ou sem gordura do leite anidra. Segundo os autores, o enrugamento e o surgimento de partículas ocas podem estar relacionados ao processo rápido processo de evaporação do solvente álcool no interior da gotícula formada durante o *spray drying*. Esse fenômeno também

foi relatado por Yi *et al.*, (2014) para a microencapsulação do citrato de sildenafil por *spray drying*.

O formato circular das micropartículas está relacionado à formação das gotas da solução de whey protein em água durante a nebulização na câmara de secagem, enquanto o resveratrol apresentou formato irregular provavelmente devido à sua natureza cristalina. Não foi observada a presença de cristais de resveratrol na superfície das partículas, sugerindo a sua encapsulação no interior das micropartículas. Em geral, micropartículas menores são desejáveis do ponto de vista sensorial, pois tendem a ser menos percebidas pelo consumidor.

A Figura 6 apresenta os difratogramas encontrados para as micropartículas contendo os resveratrol (MP1 e MP2) as micropartículas sem resveratrol (WPC) e resveratrol (RES).

Figura 6. Padrões de difração de Raios-X para as micropartículas MP1 e MP2, micropartículas de whey protein (WPC) e resveratrol (RES).



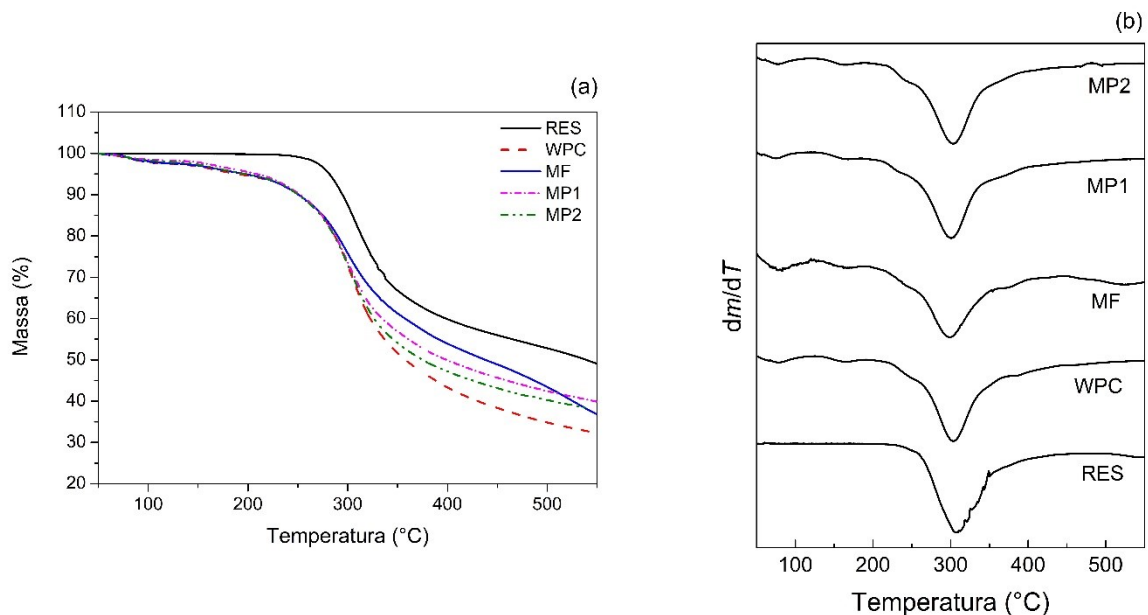
Fonte: Autoria própria (2022)

A difração de Raio-X foi utilizada para identificar o grau de cristalinidade atingida com os dois tratamentos de encapsulação em comparação com resveratrol puro (RES) e WPC. Foram observados diferentes picos relacionados com a estrutura cristalina do resveratrol (RES), sendo que os picos principais apareceram em $2\theta =$

15,7°, 18,30°, 21,5°, 22,7°, 24,3° e 27,5° confirmando a natureza cristalina do resveratrol. As micropartículas apresentaram picos menos intensos no caso da amostra MP1, que contém maior concentração de resveratrol. Resultados semelhantes também foram obtidos por Carletto *et al.* (2016) na nanoencapsulação do resveratrol em poli(ϵ -caprolactona) pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado. Segundo os autores, os resultados de DRX demonstraram a redução expressiva da intensidade dos picos de difração cristalina do resveratrol nanoencapsulado, resultando na obtenção de estruturas amorfas. A diminuição dos picos cristalinos também ocorreu na obtenção de micropartículas de poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) e poli(ϵ -caprolactona) contendo resveratrol obtidas por emulsão/evaporação de solvente (MENDES *et al.*, 2012), os autores concluíram que a semelhança entre os picos de micropartículas e material encapsulante indicam que o resveratrol encontrava-se disperso na matriz polimérica, corroborando uma morfologia tipo de microesfera.

Os resultados obtidos na análise termogravimétrica (TGA) são apresentados na Figura 7a. As curvas derivadas (DTG) correspondentes às curvas TGA das amostras (Figura 7b) também foram geradas para facilitar a visualização dos principais eventos térmicos.

Figura 7. (a) Curvas termogravimétricas (TGA) e (b) suas derivadas correspondentes (DTG) das amostras de resveratrol e *whey protein* concentrado (WPC), a mistura física (MF) de resveratrol e WPC e das micropartículas MP1 e MP2.



Fonte: Autoria própria (2022)

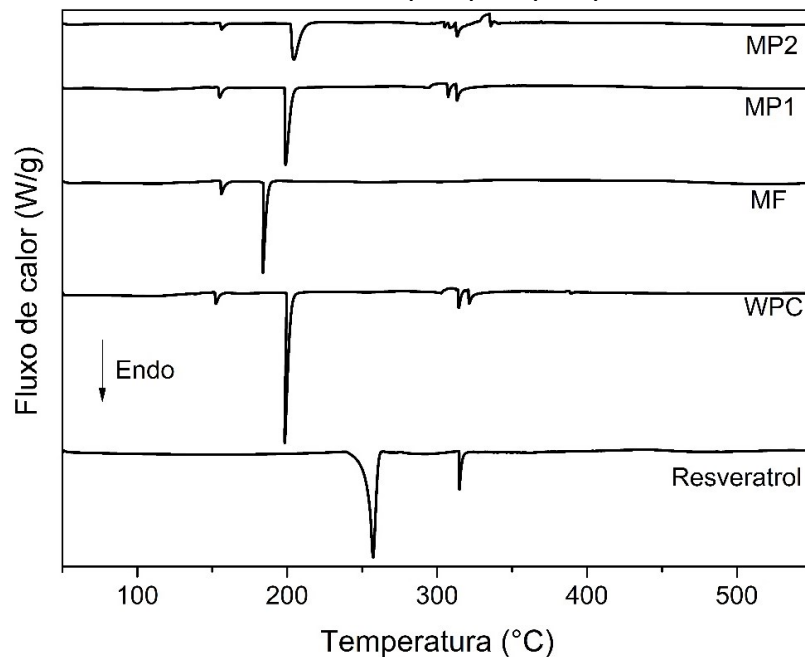
Observa-se que o resveratrol apresentou estabilidade térmica até cerca de 260 °C (2% de perda de massa), após, perdas de massa mais expressivas puderam ser identificadas. Uma perda de massa de 36% pode ser observada em 350 °C.

As amostras de WPC, a mistura física entre WPC e resveratrol (MF) e as micropartículas (MP1 e MP2) apresentaram comportamento térmico similar até 280 °C. Após, os valores de perda de massa variaram entre as amostras, sendo que, ao atingir 550 °C a massa residual foi de 32% para o WPC; 37% para a MF; 38% para MP2 e; 40% para MP1. Essa massa residual encontrada pode estar relacionada a fração inorgânica dos compostos presentes na amostra e parte dos compostos orgânicos ainda não degradados (CASSOL; NOREÑA, 2021).

As amostras de WPC, MF e micropartículas exibiram três eventos térmicos. O primeiro próximo a 80 °C, relacionado a temperatura de fusão da proteína, o segundo a 160 °C, correspondente ao início da temperatura de degradação e, o último a 300 °C, o maior pico, correspondente a degradação máxima da proteína (GHARANJIG *et al.*, 2020). O resveratrol exibiu um único evento entre 250 e 360 °C, correspondente a sua degradação.

A Figura 8 apresenta os resultados da análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Figura 8. Curvas calorimétricas exploratórias (DSC) das amostras de resveratrol e *whey protein* concentrado (WPC), a mistura física (MF) de resveratrol e WPC e das micropartículas dos ensaios 1 (MP1) e 2 (MP2).

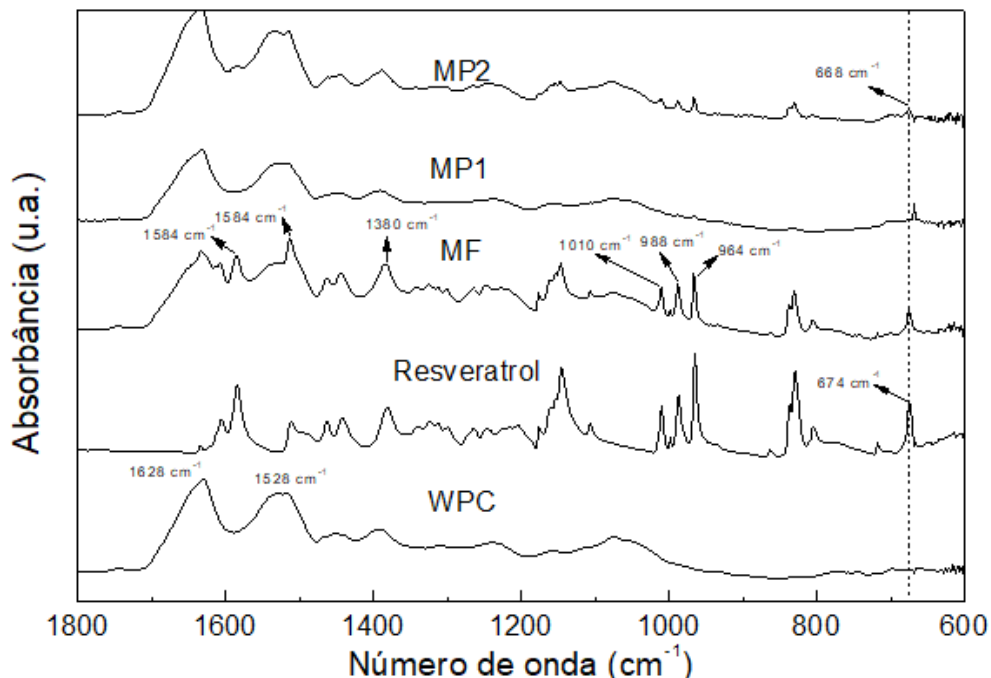


Fonte: Autoria própria (2022)

O resveratrol apresentou um pico endotérmico na temperatura de 258 °C e outro a 315 °C, podendo estar relacionados aos eventos de fusão cristalina e degradação máxima, respectivamente (BERTACCHE *et al.*, 2006; MARIA *et al.*, 2020; MENDES *et al.*, 2012). O WPC exibiu picos endotérmicos a 153 °C e a 198 °C, podendo estar relacionados às etapas de degradação da proteína. A MF exibiu o primeiro pico endotérmico de 157 °C, superior ao do WPC, e o segundo de 184 °C, inferior ao observado no WPC. As micropartículas exibiram comportamento térmico similar do WPC, contudo, MP2 exibiu temperaturas de degradação superiores (156 e 205 °C, respectivamente). Estes resultados sugerem a eficiência de encapsulação do resveratrol em WPC.

Na Figura 9 são apresentados os espectros FTIR-ATR das amostras de concentrado proteico de soro de leite (WPC) e resveratrol bem como das micropartículas contendo resveratrol correspondentes aos ensaios 1 (MP1) e 2 (MP2), além da mistura física (MF) entre WPC e resveratrol.

Figura 9. Espectros FTIR-ATR das amostras de resveratrol e *whey protein* concentrado (WPC), da mistura física de resveratrol e WPC (MF) e micropartículas de resveratrol encapsulado em WPC por *spray-drying* correspondentes aos ensaios 1 (MP1) e 2 (MP2).



Fonte: Autoria própria (2022)

Observando a região entre 1800 e 600 cm^{-1} são obtidas maiores informações sobre a encapsulação do resveratrol. Bandas características de amida I e amida II (KARRAR *et al.*, 2021; TAVARES; ZAPATA NOREÑA, 2019) foram observadas no espectro FTIR-ATR do WPC em 1628 cm^{-1} e 1528 cm^{-1} , respectivamente. Estas mesmas bandas foram identificadas nos espectros FTIR-ATR das amostras de micropartículas de resveratrol. No espectro FTIR-ATR da MF estas bandas também são observadas, contudo, nota-se concomitantemente a presença de bandas características do resveratrol que se sobressaem a estas.

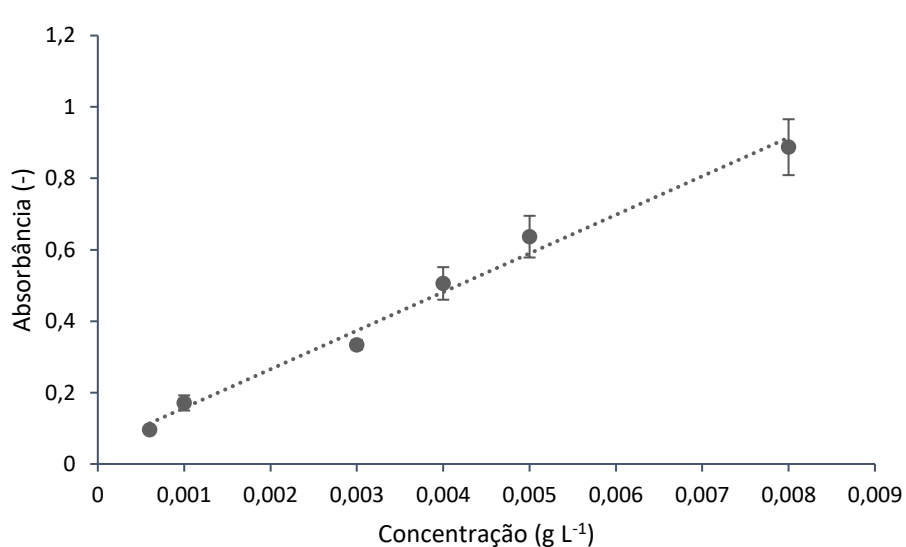
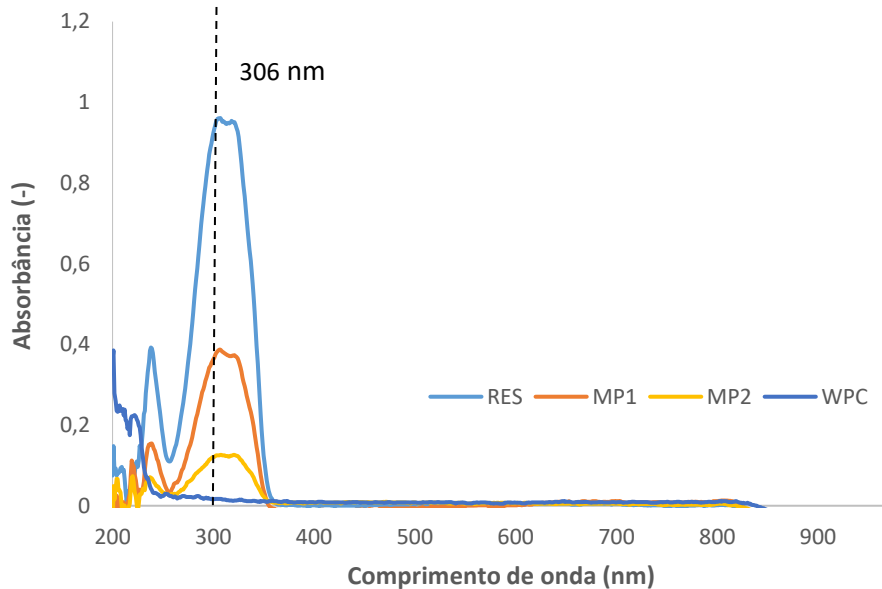
Observando o espectro FTIR-ATR do resveratrol pode-se destacar a presença das seguintes bandas: 1604 cm^{-1} (alongamento C-C dupla ligação aromática); 1584 cm^{-1} (alongamento oleofínico C-C); 1512 cm^{-1} e 1460 cm^{-1} (alongamento C=C devido ao anel aromático); 1380 cm^{-1} (vibração C-O), 1010 cm^{-1} , 988 cm^{-1} e 964 cm^{-1} correspondentes as bandas *trans* oleofínicas do resveratrol (BERTACCHE *et al.*, 2006b; PUJARA *et al.*, 2017). As referidas bandas também estão presentes na amostra da MF.

As micropartículas MP1 e MP2 exibiram espectros FTIR-ATR similares ao do WPC, demonstrando a predominância característica do material encapsulante. Bandas características do resveratrol previamente descritas (1584, 1512, 1010, 964 e 828 cm^{-1}) também puderam ser identificadas no espectro da amostra MP2, contudo, em menor intensidade. Para a amostra MP1, as referidas bandas apresentaram intensidade ainda menor, contudo, em 668 cm^{-1} foi identificada uma banda possivelmente correspondente à banda em 674 cm^{-1} do resveratrol, característico da vibração =C-H de grupos oleofínicos (PORTO *et al.*, 2018). O desaparecimento, a redução da intensidade de bandas características do composto bioativo de interesse e/ou seu deslocamento, quando observados os espectros das micropartículas em comparação ao composto bioativo puro, podem ser indicativos da eficiência de encapsulação (KARRAR *et al.*, 2021; TAVARES; ZAPATA NOREÑA, 2019).

5. 2 Eficiência de encapsulação e *loading*

A especificidade do método de determinação do resveratrol foi avaliada, obtendo-se os espectros UV-Vis do resveratrol (0,7 mg.L^{-1}) e do *whey protein* em etanol e do etanol coletado após extração do resveratrol que se encontrava fora das micropartículas (Figura 10a). A Figura 10b apresenta a curva de calibração obtidas em triplicata (são representados os pontos médios de cada concentração).

Figura 10. (a) Espectros obtidos por UV-Vis do resveratrol (RES 0,7 mg.mL⁻¹), *whey protein* (WPC) e a lavagem das micropartículas contendo resveratrol (MP1 e MP2, 100 mg.mL⁻¹), e (b) curva de calibração do resveratrol em etanol.



Fonte: Autoria própria (2022)

Foi observado pico máximo localizado em 306 nm correspondendo ao comprimento de onda característico para a detecção de resveratrol (KOLOUCHOVÁ-HANZLÍKOVÁ *et al.*, 2004; SHAO *et al.*, 2019). O espectro relativo ao *whey protein* não apresentou sinal em 306 nm, indicando que o método é seletivo para o resveratrol. As leituras das micropartículas indicaram a presença do resveratrol. A relação linear entre a absorbância e a concentração de resveratrol foi determinada na faixa de 0,6 a

8,0 mg L⁻¹ e a curva de calibração média obtida foi $ABS = 108,14 * C_{resv} + 0,049$ sendo ABS a absorbância da solução em 306 nm e C_{resv} a concentração de resveratrol da solução. Com $R^2 = 0,9874 (\pm 0,005)$ e $R_{adj} = 0,9801$, indicando linearidade. Os coeficientes linear e angular foram de $0,049 \pm 0,02$ e $108,14 \pm 8,29$ g L⁻¹ respectivamente. A análise estatística ANOVA demonstrou que o valor de F calculado foi 346 vezes maior que o valor crítico de F a um nível de significância de 1%, a regressão linear foi significativa nas faixas de concentração estudadas ($p = 1,60 \times 10^{-17}$) e o modelo matemático do resveratrol não apresentou falta de ajuste ($p = < 0,01$) mostrando-se adequado para realizar quantificações. O erro padrão da estimativa foi de 0,008 g L⁻¹ o que significa que a linearidade pode ser assumida.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (QL) encontrados foram de 0,1 (mg L⁻¹) e 0,3 (mg L⁻¹) respectivamente. Juan *et al.*, (1999) validaram a determinação de trans-resveratrol por HPLC e obtiveram DL = 7 e QL = 20 (µg.L⁻¹), os autores Gao; Chu; Ye, (2002) obtiveram DL = 0,01 e QL = 0,03 (mg.L⁻¹) para determinação do trans-resveratrol em vinhos, ervas e alimentos saudáveis por UV-VIS.

Na Tabela 3 são apresentados os dados usados para calcular as taxas de recuperação e a precisão.

De acordo com Harron, (2013) que durante a validação de um método é importante expressar os valores de desvio padrão, coeficiente de variação e o intervalo de confiança, logo os valores da taxa de recuperação variaram de 93,34% a 87,32% e RSD% de 0,0003 a 0,0002%. Os valores foram considerados aceitáveis pois estão dentro da faixa de recomendação de 70% a 120% (SILVA-BUZANELLO *et al.*, 2015), e 80% a 110% (GONZÁLEZ; HERRADOR; ASUERO, 2010).

Tabela 3. Estudo de acurácia para validação analítica do método de determinação de resveratrol.

Concentração de resveratrol mg L ⁻¹ adicionada	Amostra (dia)	Concentração encontrada mg L ⁻¹	Média das concentrações encontradas mg L ⁻¹	Taxa de recuperação média (%) (intervalo de confiança 95%)
7,5	1	8,1	7,8 ± 0,0003 RSD% = 3,82%	93,34% ± 0,04 RSD% = 0,0003%
	1	8,1		
	1	8,1		
	2	7,5		
	2	7,6		
	2	7,5		
2,0	1	2,2	2,0 ± 0,0002 RSD% = 7,6%	87,32% ± 0,03 RSD% = 0,0002%
	1	2,1		
	1	2,2		
	2	1,9		
	2	1,9		
	2	1,9		
0,8	1	0,8	0,8 ± 0,00004 RSD% = 5,57%	90,38% ± 0,007 RSD% = 0,0002%
	1	0,8		
	1	0,8		
	2	0,7		
	2	0,7		
	2	0,7		

Fonte: Autoria própria (2022)

Na Tabela 4 são apresentados os resultados para repetibilidade (intra-dia), precisão intermediária (inter-dia) e reprodutibilidade (intra-laboratório). Os ensaios de repetibilidade foram realizados pelo mesmo analista no mesmo dia (Analista I, 1º dia) e os valores de RSD% permaneceram entre 0,62% e 2,54%. O valor máximo do desvio padrão relativo obtido em ensaios de precisão intermediária (entre analistas) foi de 0,038% e em ensaios de reprodutibilidade (entre laboratórios) foi de 0,030%. Os valores de RSD% das concentrações alto (7,5 mg L⁻¹), intermediário (2 mg L⁻¹) baixo (1 mg L⁻¹) do resveratrol foram baixos e semelhantes, esses resultados são satisfatórios para quantificação do resveratrol em sistemas de encapsulamento,

conforme recomendação máxima de 16%, para a maior concentração e 22,6% para a concentração intermediária e baixa de RSD% (GONZÁLEZ; HERRADOR; ASUERO, 2010).

Tabela 4. Níveis de precisão (precisão e reprodutibilidade intermediárias) para a validação analítica do método de determinação de resveratrol.

Laboratório I					
Concentração de resveratrol mg L ⁻¹	Analista I		Entre dias (n=6) RSD (%)	Analista 2	Reprodutibilidade entre analistas 1° RSD% (%)
	1° RSD% (%)	2° RSD% (%)		1° RSD% (%)	
	7,5	0,62	1,77	0,053	
2,0	2,04	1,76	0,021	2,264	0,0044
0,8	2,54	1,90	0,086	6,778	0,038

Laboratório II		
Concentração de resveratrol mg L ⁻¹	1° RSD% (%)	Reprodutibilidade Interlaboratorial
7,5	0,44	0,030
2,0	1,88	0,003
0,8	2,16	0,0008

Fonte: Autoria própria (2022)

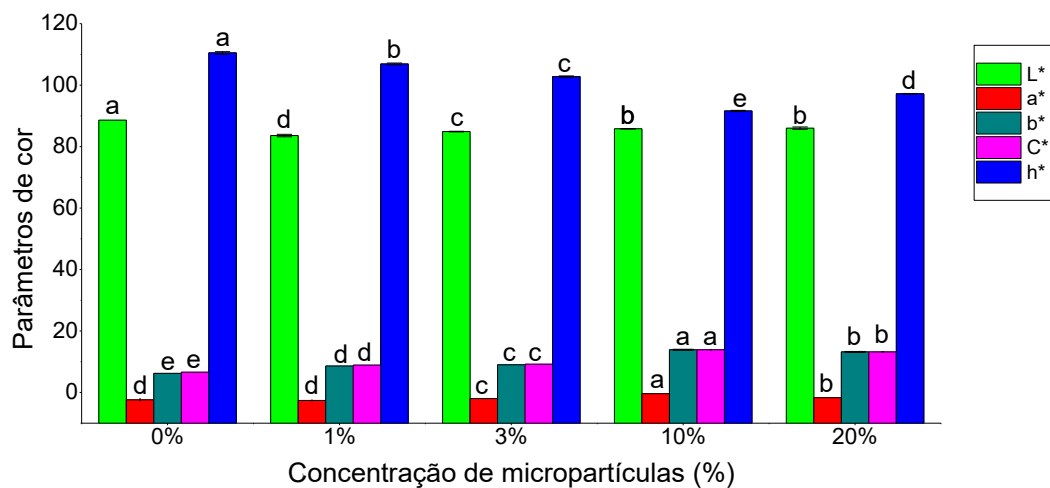
A eficiência de encapsulação e *loading* das micropartículas carregadas de resveratrol foi de (72 ± 8), (57±7) % e (89 ± 4), (23±2) % para o MP1 e MP2, respectivamente corroborando com os resultados das análises térmicas, DRX e FTIR realizadas, contudo o MP2 apresentou maior eficiência encapsulação, isso pode estar relacionado a maior proporção de material de parede adicionado na confecção da micropartícula. No estudo de Shao *et al.* (2019), os autores obtiveram uma eficiência de encapsulação menor do resveratrol, em torno de 50% com a mistura dos materiais de parede *whey protein* e goma arábica. Os autores Cardoso *et al.* (2019) notaram que a eficiência variou de acordo com a proporção de goma arábica e óleo de coco, utilizados como encapsulantes em emulsões secas por *spray-drying*, que foi de 82% e 87%, para micropartículas preparadas com 10%-15% e 20% (p/V) de goma arábica respectivamente. Maria *et al.* (2020) obtiveram eficiência de encapsulação de 82,91% para o resveratrol e 59,64% para a curcumina, como os encapsulantes alginato de sódio e carboximetilcelulose secos por *spray-drying*. Concluindo que a eficiência de encapsulação dos bioativos aumentaram quando foi utilizado a pulverização com três bocais quando comparado ao método convencional de dois bocais. No trabalho de

Koga *et al.* (2016), os resultados indicaram que *whey protein* obteve o maior percentual de eficiência (83%), em seguida a mistura de *whey protein* mais gordura do leite anidra de 77%, e por fim caseinato de sódio nas formulações com ou sem gordura anidra do leite de 68% de eficiência, todos secos por *spray-drying*.

5.3 Caracterização dos comprimidos orodispersíveis

As amostras de comprimidos adicionadas de micropartículas e controle (sem adição de micropartículas), foram analisadas em calorímetro, avaliados estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e estão representadas nas Figuras 11. Na Figura 12 estão apresentadas as fotos do WPC, RES e micropartículas e Figura 13 os comprimidos produzidos.

Figura 11. Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h^*) dos comprimidos sem adição de micropartículas 0% e com micropartículas de 1 %, 3 %, 10% e 20% em massa (letras diferentes no mesmo parâmetro indicam diferença significativa ($p < 0,05$)).



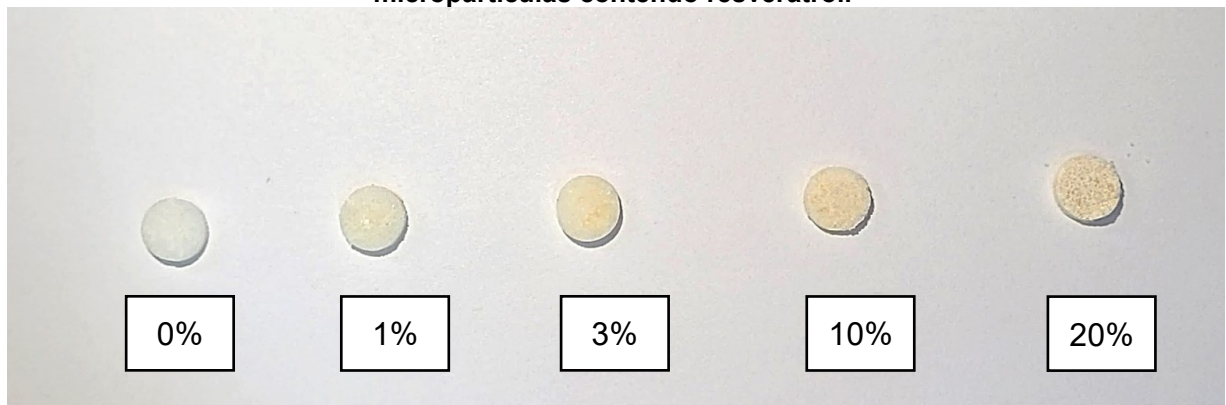
Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 12. Imagem do 1) WPC (*whey protein*), 2) RES (resveratrol) e 3) micropartículas contendo resveratrol.



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 13. Imagem dos comprimidos adicionados de 0%, 1%, 3%, 10% e 20% de micropartículas contendo resveratrol.



Fonte: autoria própria (2022)

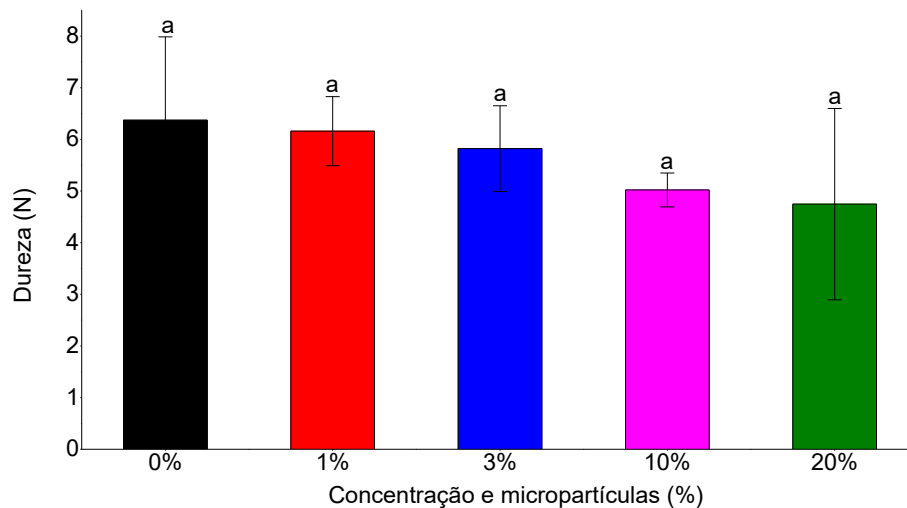
Avaliando a Figura 11, de forma geral foi possível notar diferenças significativas entre as formulações. Todas as amostras apresentaram alta luminosidade, baixa tendência ao verde ($-a^*$) e ao amarelo ($+b^*$), intensidade de cor relativamente baixa (C^*) e ângulo hue (h°) que variou do verde ao amarelo para as formulações mais concentradas, cor observada a olho nu no produto formulado Figura 12 e 13.

Nota-se que houve uma relação entre o aumento da concentração de micropartículas e valores de luminosidade, comprimidos com 10% e 20% foram o segundo mais luminosos após a formulação de 0%, seguidos de 3% e 1% respectivamente. Isso indica que quanto maior a concentração de micropartículas nos comprimidos mais a luminosidade se assemelha ao controle de 0%. Em relação ao parâmetro a^* todas as amostras apresentaram valores negativos indicando tendência

ao verde, porém houve diferenças significativas entre todas as formulações 10%, 20%, 3%, 1% e 0% respectivamente. Demonstrando que as formulações mais concentradas são ligeiramente mais avermelhadas. No parâmetro b^* todas as formulações apresentaram diferenças significativas com valores positivos, indicando tendência ao amarelo 10%, 20%, 3%, 1% e 0%, logo podemos observar que ao aumentar a concentração de micropartículas, mais amarelo os comprimidos se apresentaram, consequentemente indicando maior intensidade de cor conforme o parâmetro C^* . Assim como na percepção de cor h^* , todas as formulações divergiram, mas os comprimidos com as menores concentrações de micropartículas 0% 1% e 3% se aproximaram de 120° indicando estarem na região verde, e os mais concentrados 10% e 20%, próximos de 80° indicando região amarela.

A dureza dos comprimidos é apresentada na Figura 14. Análise de controle de qualidade e teste de desintegração estão dispostos na Tabela 6.

Figura 14. Valores do parâmetro dureza dos comprimidos orodispersíveis, sem adição de micropartículas 0% e com micropartículas de 1 %, 3 %, 10% e 20% em massa (letras diferentes no mesmo parâmetro indicam diferença significativa ($p < 0,05$)).



Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 5. Análise de controle de qualidade e teste de desintegração.

Parâmetro	Concentração de micropartículas				
	0%	1%	3%	10%	20%
Espessura (mm)	2,0a ±0,06	1,9a ±0,01	1,9a ±0,02	2,0a ±0,01	1,9a ±0,01
Massa (mg)	95,3a±0,001	95,2a±0,002	95,3a±0,002	95,0a ±0,001	95,6a±0,003
Desintegração inicial em saliva simulada pH 6,8 (s)	19,6bc±1,53	21c±2	19,6bc±2,1	14,0a ±1,0	15,0ab±2,0
Desintegração total em saliva simulada pH 6,8 (s)	59,3a±1,5	60,8a ±0,9	61,0ab±0,7	61,8ab±0,6	65,2c±2,5

Fonte: Autoria própria (2022)

A dureza das amostras se mostrou estatisticamente similar ($p > 0,05$) para todas as formulações analisadas que ficou entorno de 5 a 6,5 N. indicando que a adição de micropartículas no comprimido não interferiu no perfil mecânico dos comprimidos. As formulações mantiveram dureza similar ao controle, indicando que a adição de até 20% de micropartículas no comprimido pode ser realizada sem riscos de esfarelamento ou quebras dos comprimidos formulados.

A espessura média dos comprimidos obtidos foi de $2,0 \pm 0,1$ mm e massa de 95 ± 2 mg e não apresentaram diferença estatisticamente do controle 0% em todas formulações (Tabela 5). De acordo com Amelian *et al.*, (2017) a espessura e massa dos comprimidos influenciam diretamente na correta dosagem do fármaco. Assim como análises de textura, podem indicar se os comprimidos possuem resistência mecânica apropriada para prevenir o esfarelamento e ruptura durante o seu manuseio ou armazenamento. Outra relação importante na produção de comprimidos ODTs destacado por Kokott *et al.*, (2021) ocorre entre a resistência ideal do comprimido e a redução do tempo desintegração oral, que podem minimizar a percepção sensorial do ativo quando na dissolvido na boca, promovendo maior adesão dos comprimidos por parte dos consumidores. Os comprimidos apresentaram diferenças significativas apenas nos tempos de desintegração, nas proporções mais elevadas foi observado que iniciou-se a desintegração mais rapidamente, mas adição das micropartículas influenciou no aumento do tempo da desintegração total. Apesar dos comprimidos apresentarem diferenças estatísticas significativas, o tempo de desintegração foi inferior a 3 minutos e podem ser considerados orodispersíveis de acordo com a farmacopeia (AHMED *et al.*, 2020).

Resultados semelhantes foram encontrados durante a caracterização cor e textura de comprimidos ODT's adicionados nanopartículas de berberina em 1, 3, 10 e 20 % em Souza, (2020) que embora o aumento da concentração de nanopartículas de berberina promoveu a redução luminosidade dos comprimidos, também promoveu a elevação da tonalidade amarela a partir da concentra 3%. Os autores também identificaram nas análises de textura, que o parâmetro dureza não apresentou resultados significativos frente as diferentes concentrações de nanopartículas de berberina adicionadas aos comprimidos orodispersíveis.

O mesmo foi observado em Rojas *et al.* (2019) onde a adição micropartículas de óleo de chia, abóbora e baru adicionadas em maionese nas concentrações de 2,5%, 5% e 7,5% promoveu em todas alta luminosidade, tendência ao verde, e ao amarelo intensidade de cor relativamente baixa e ângulo hue próximo de 80°, representando o amarelo, não apresentaram diferenças significativas com o controle, assim como a adição de até 7,5% de micropartículas não interferiu no perfil de textura das maioneses formuladas.

Brniak; Mašlak; Jachowicz, (2015) também obteve resistência mecânica adequada de 62,6 N e friabilidade de 0,12%, mantendo excelentes propriedades de desintegração de 27,2 s (método farmacopeia), 18,5 s (água destilada), 18,8 s (tampão de fosfato pH 6,8), 17,1 (tampão de fosfato 7,4) e fluido salivar simulado pH 6,8) em comprimidos ODT's de micropartículas de prednisolona. Amelian *et al.*, (2017) identificaram que a dureza ideal foi de 56,9 N e friabilidade 0,59%, que promoveram o menor tempo de desintegração de apenas 10 s em comprimidos adicionados de micropartículas de dicloridrato de cetirizina.

6 CONCLUSÕES

A técnica de microencapsulação por *spray-drying* utilizando o *whey protein* como material de parede foi eficiente para a encapsulação do resveratrol, destacando a recomendação da proporção 8,0% de resveratrol em relação ao material de parede *whey protein* pois promoveram o aumento da estabilidade térmica devido a elevação das temperaturas de degradação e possui a maior concentração de resveratrol. Os resultados obtidos nas análises de MEV, TGA, DSC, FTIR e DR-X indicaram uma interação significativas entre o resveratrol e o *whey protein*, o que foi corroborado pelas altas eficiências de encapsulação encontradas. Os comprimidos apresentaram alterações apenas nas propriedades de cor e desintegração oral, logo a dureza pode influenciar positivamente na escolha do consumidor.

Para trabalhos futuros, sugere-se a realização de análises sensoriais com os comprimidos, além de realizar testes mais aprofundados de dissolução e de liberação modificada do resveratrol dos comprimidos e das micropartículas.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, H.; KAMEL, R.; EL-SAYED, N. Dermal anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-aging effects of Compritol ATO-based Resveratrol colloidal carriers prepared using mixed surfactants. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 541, n. 1–2, p. 37–47, 2018.
- AHMED, T. A. et al. Rosuvastatin lyophilized tablets loaded with flexible chitosomes for improved drug bioavailability, anti-hyperlipidemic and anti-oxidant activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 588, n. June, 2020.
- AHMED, T. A. Study the pharmacokinetics, pharmacodynamics and hepatoprotective activity of rosuvastatin from drug loaded lyophilized orodispersible tablets containing transferrin nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, n. March, p. 102489, 2021.
- AKAL, C. **Benefits of whey proteins on human health**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.
- AKHAVAN MAHDAVI, S. et al. Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. **Journal of Food Engineering**, v. 181, p. 59–66, 2016.
- ALEHOSSEINI, A. et al. **Electro-encapsulation of Lactobacillus casei in high-resistant capsules of whey protein containing transglutaminase enzyme**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2019. v. 102
- ALQUISIRAS-BURGOS, I. et al. Resveratrol reduces cerebral edema through inhibition of de novo SUR1 expression induced after focal ischemia. **Experimental Neurology**, v. 330, n. 113353, p. 1–12, 2020.
- AMELIAN, A. et al. Taste-masking assessment of orally disintegrating tablets and lyophilisates with cetirizine dihydrochloride microparticles. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 8, p. 1144–1150, 2017.
- ANNUNZIATA, G. et al. Microencapsulation as a tool to counteract the typical low bioavailability of polyphenols in the management of diabetes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 139, p. 111248, 1 maio 2020.
- ANVISA. Agência nacional de vigilância sanitária. **Farmacopeia brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.
- ASSADPOUR, E. et al. Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 197–207, 2016.
- AUGUSTIN, M. A. et al. Effects of microencapsulation on the gastrointestinal transit and tissue distribution of a bioactive mixture of fish oil, tributyrin and resveratrol. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 1, p. 25–37, 1 jan. 2011.
- BADELY, M. et al. The effect of whey protein on the components of metabolic syndrome in overweight and obese individuals; a systematic review and meta-

analysis. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 13, n. 6, p. 3121–3131, 1 nov. 2019.

BANJARE, I. S. et al. Optimization of spray-drying conditions for the preparation of whey protein concentrate–iron complex using response surface methodology. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 1411–1424, 2019.

BANNIKOVA, A. et al. Microencapsulation of polyphenols and xylooligosaccharides from oat bran in whey protein-maltodextrin complex coacervates: In-vitro evaluation and controlled release. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 23, p. 100236, 2020.

BAO, H. et al. α -Tocopherol and resveratrol in emulsion-filled whey protein gels: Co-encapsulation and in vitro digestion. **International Dairy Journal**, v. 104, 2020.

BERTACCHE, V. et al. Host-guest interaction study of resveratrol with natural and modified cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 55, n. 3–4, p. 279–287, 2006.

BHULLAR, K. S.; UDENIGWE, C. C. Clinical evidence of resveratrol bioactivity in cardiovascular disease. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 68–73, 2016.

BOMFIM, J. H. G. G.; GONÇALVES, J. D. S. Suplementos alimentares, imunidade e COVID-19: qual a evidência? **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 10–21, 2020.

BOONLAO, N. et al. Influence of whey protein-xanthan gum stabilized emulsion on stability and in vitro digestibility of encapsulated astaxanthin. **Journal of Food Engineering**, v. 272, n. October 2019, p. 109859, 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 243, de 26 de julho de 2018**. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Diário Oficial Uniao; Seção 1:100. 27 jul 2018. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9610.htm. Acesso em: 20 dez. 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução normativa - IN nº 102, de 15 de outubro de 2021**. Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. Publicado em: 20/10/2021, Edição: 198, Seção: 1, Página: 113. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-102-de-15-de-outubro-de-2021-353319501>. Acesso em: 20 dez. 2022

BRNIAK, W.; MAŠLAK, E.; JACHOWICZ, R. Orodispersible films and tablets with prednisolone microparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 75, n. April, p. 81–90, 2015.

BUDRYN, G. et al. Interactions of free and encapsulated hydroxycinnamic acids from green coffee with egg ovalbumin, whey and soy protein hydrolysates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 823–831, 2016.

CARDOSO, T. et al. Potential food application of resveratrol microparticles: Characterization and controlled release studies. **Powder Technology**, v. 355, p. 593–601, 2019.

CARLETTO, B. et al. Resveratrol-loaded nanocapsules inhibit murine melanoma tumor growth. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 144, n. August, p. 65–72, 2016.

CASSOL, L.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation and accelerated stability testing of bioactive compounds of Hibiscus sabdariffa. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 2, p. 1599–1610, 2021.

CHEN, J.; DAVIS, S. S. The release of diazepam from poly(hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 19, n. 2, p. 191–201, 2002.

CHEN, S. et al. Improvement of resveratrol release performance and stability in extruded microparticle by the α -amylase incorporation. **Journal of Food Engineering**, v. 274, p. 109842, 1 jun. 2020.

CHHA, H. P. et al. Development and Evaluation of Mucoadhesive Patch Using a Natural Polysaccharide Isolated from Cordia dichotoma Fruit. **Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research**, v. 02, n. 03, p. 91–98, 2014.

COMUNIAN, T. A. et al. Reducing carotenoid loss during storage by co-encapsulation of pequi and buriti oils in oil-in-water emulsions followed by freeze-drying: Use of heated and unheated whey protein isolates as emulsifiers. **Food Research International**, v. 130, n. 108901, p. 1–8, 2020a.

COMUNIAN, T. A. et al. Influence of heated, unheated whey protein isolate and its combination with modified starch on improvement of encapsulated pomegranate seed oil oxidative stability. **Food Chemistry**, v. 326, p. 126995, 2020b.

CONSOLI, L. et al. Resveratrol-loaded microparticles: Assessing Maillard conjugates as encapsulating matrices. **Powder Technology**, v. 353, p. 247–256, 15 jul. 2019.

DA SILVA, T. B. V. et al. Analytical validation of an ultraviolet–visible procedure for determining vitamin D3 in vitamin D3-loaded microparticles and toxicogenetic studies for incorporation into food. **Food Chemistry**, v. 360, n. March, 2021.

DAVIDOV-PARDO, G.; MCCLEMENTS, D. J. Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. **Trends in Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 88–103, 2014.

DE ARAÚJO ETCHEPARE, M. et al. Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. **Lwt**, v. 117, n. September 2019, p. 108601, 2020.

DE QUEIROZ, J. L. C. et al. Chitosan-whey protein nanoparticles improve encapsulation efficiency and stability of a trypsin inhibitor isolated from Tamarindus indica L. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 247–256, 2018.

DENG, Y. et al. Development of nanoparticle-based orodispersible palatable pediatric formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 596, n. December 2020, p. 120206, 2021.

DINIKA, I. et al. Potential of cheese whey bioactive proteins and peptides in the development of antimicrobial edible film composite: A review of recent trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 103, n. June, p. 57–67, 2020.

ELKHODAIRY, K. A.; HASSAN, M. A.; AFIFI, S. A. Formulation and optimization of orodispersible tablets of flutamide. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 22, n. 1, p. 53–61, 2014.

FANG, Z. et al. Comparison of whey protein particles and emulsions for the encapsulation and protection of α -tocopherol. **Journal of Food Engineering**, v. 247, p. 56–63, 2019.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**. [online]. vol.38, n.2, p. 109-112, 2014. Disponível em: Acesso em: 11 set 2022.

GALLARDO, M. J. et al. Antioxidant effect of resveratrol in single red blood cells measured by thermal fluctuation spectroscopy. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 665, n. December 2018, p. 30–35, 2019.

GANI, A. et al. Extraction of protein from churpi of yak milk origin: Size reduction, nutraceutical potential and as a wall material for resveratrol. **Food Bioscience**, p. 101612, 14 fev. 2022.

GAO, L.; CHU, Q.; YE, J. Determination of trans-Resveratrol in wines, herbs and health food by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Food Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 255–260, 2002.

GHARANJIG, H. et al. **Differential scanning calorimetry (DSC) of nanoencapsulated food ingredients**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. Á.; ASUERO, A. G. Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards. **Talanta**, v. 82, n. 5, p. 1995–1998, 2010.

HANNAN, P. A. et al. Oral dispersible system: A new approach in drug delivery system. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, n. 1, p. 2–7, 2016.

HARAGUCHI FK, ABREU WC, PAULA H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista Nutrição**. Ago;19(4):479-88, 2006.

HARRON, D. W. G. Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process. **The Textbook of Pharmaceutical Medicine**, v. 1994, n. October 1994, p. 447–460, 2013.

HERNÁNDEZ-BARRUETA, T. et al. Encapsulation of probiotics in whey protein isolate and modified huauzontle's starch: An approach to avoid fermentation and

stabilize polyphenol compounds in a ready-to-drink probiotic green tea. **Lwt**, v. 124, n. January, p. 109131, 2020.

HERRERO-VANRELL, R. et al. The potential of using biodegradable microspheres in retinal diseases and other intraocular pathologies. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 42, n. May, p. 27–43, 2014.

HSU, S. C. et al. Resveratrol increases anti-aging Klotho gene expression via the activating transcription factor 3/c-Jun complex-mediated signaling pathway. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 53, p. 361–371, 2014.

HU, Y. et al. Protection and delivery of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) peel extracts by encapsulation of whey protein concentrate nanoparticles. **Lwt**, v. 99, n. May 2018, p. 24–33, 2019a.

HU, Y. et al. Ca²⁺-induced whey protein emulgels for the encapsulation of crystalline nobiletin: Effect of nobiletin crystals on the viscoelasticity. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. November 2018, p. 57–62, 2019b.

HUANG, X. TAO et al. Resveratrol: Review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics. **Chemico-Biological Interactions**, v. 306, n. April, p. 29–38, 2019.

HUMINIECKI, L.; HORBAŃCZUK, J. The functional genomic studies of resveratrol in respect to its anti-cancer effects. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 6, p. 1699–1708, 2018.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology q2(r1). International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, 1–17

JAUREGI, P.; GUO, Y.; ADELOYE, J. B. Whey proteins-polyphenols interactions can be exploited to reduce astringency or increase solubility and stability of bioactives in foods. **Food Research International**, v. 141, p. 110019, 1 mar. 2021.

JAYAN, H. et al. Improvement of bioavailability for resveratrol through encapsulation in zein using electrospraying technique. **Journal of Functional Foods**, v. 57, n. January, p. 417–424, 2019.

JUAN, M. E. et al. Determination of trans-resveratrol in plasma by HPLC. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 3, p. 747–750, 1999.

KARRAR, E. et al. Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gurun seed oil using a spray-drying method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 171, p. 208–216, 2021.

KASIOTIS, K. M. et al. Resveratrol and related stilbenes: Their anti-aging and anti-angiogenic properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 112–120, 2013.

KHAFAGA, A. F.; NORELDIN, A. E.; TAHA, A. E. The adaptogenic anti-ageing potential of resveratrol against heat stress-mediated liver injury in aged rats: Role of HSP70 and NF- κ B signalling. **Journal of Thermal Biology**, v. 83, n. May, p. 8–21, 2019.

KOBAYASHI, Y. et al. Resveratrol production of a recombinant *Scheffersomyces stipitis* strain from molasses. **Biotechnology Notes**, v. 3, n. September 2021, p. 1–7, 2022.

KOGA, C. C. et al. Taste Detection Thresholds of Resveratrol. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 9, p. 2064–2070, 2015.

KOGA, C. C. et al. Stability of Trans-Resveratrol Encapsulated in a Protein Matrix Produced Using Spray Drying to UV Light Stress and Simulated Gastro-Intestinal Digestion. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 2, p. C292–C300, 2016.

KOKOTT, M. et al. Evaluation of two novel co-processed excipients for direct compression of orodispersible tablets and mini-tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 168, n. May, p. 122–130, 2021a.

KOLOUCHOVÁ-HANZLÍKOVÁ, I. et al. Rapid method for resveratrol determination by HPLC with electrochemical and UV detections in wines. **Food Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 151–158, 2004.

KOMOROWSKA, J.; WĄTROBA, M.; SZUKIEWICZ, D. Review of beneficial effects of resveratrol in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. **Advances in Medical Sciences**, v. 65, n. 2, p. 415–423, 2020.

KUHN, K. R. et al. Production of whey protein isolate – gellan microbeads for encapsulation and release of flaxseed bioactive compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 247, n. August 2018, p. 104–114, 2019.

LEKLI, I.; RAY, D.; DAS, D. K. Longevity nutrients resveratrol, wines and grapes. **Genes and Nutrition**, v. 5, n. 1, p. 55–60, 2010.

LIU, K. et al. Stability and bioavailability of vitamin D3 encapsulated in composite gels of whey protein isolate and lotus root amylopectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, n. July 2019, p. 115337, 2020.

LU, W. et al. Choosing the appropriate wall materials for spray-drying microencapsulation of natural bioactive ingredients: Taking phenolic compounds as examples. **Powder Technology**, v. 394, p. 562–574, 1 dez. 2021.

LV, P. et al. Pickering emulsion gels stabilized by high hydrostatic pressure-induced whey protein isolate gel particles: Characterization and encapsulation of curcumin. **Food Research International**, v. 132, n. January, p. 109032, 2020.

MA, B. NING; LI, X. JIAOYANG. Resveratrol extracted from Chinese herbal medicines: A novel therapeutic strategy for lung diseases. **Chinese Herbal Medicines**, n. 1, 2020.

- MADADLOU, A.; JABERIPOUR, S.; ESKANDARI, M. H. Nanoparticulation of enzymatically cross-linked whey proteins to encapsulate caffeine via microemulsification/heat gelation procedure. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 725–730, 2014.
- MADUREIRA, A. R. et al. Bovine whey proteins - Overview on their main biological properties. **Food Research International**, v. 40, n. 10, p. 1197–1211, 2007.
- MAHDI, A. A. et al. Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 152, p. 1125–1134, 2020.
- MAQSOUDELOU, A. et al. Stability and structural properties of bee pollen protein hydrolysate microencapsulated using maltodextrin and whey protein concentrate. **Heliyon**, v. 6, n. 5, p. e03731, 2020.
- MARIA LEENA, M. et al. Three fluid nozzle spray drying for co-encapsulation and controlled release of curcumin and resveratrol. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 57, n. March, p. 101678, 2020.
- MASHRU, R. C. et al. Development and Evaluation of Fast-Dissolving Film of Salbutamol Sulphate. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 31, n. 1, p. 25–34, 2005.
- MEHRA, R. et al. Whey proteins processing and emergent derivatives: An insight perspective from constituents, bioactivities, functionalities to therapeutic applications. **Journal of Functional Foods**, v. 87, 2021.
- MENDES, J. B. E. et al. PHBV/PCL microparticles for controlled release of resveratrol: Physicochemical characterization, antioxidant potential, and effect on hemolysis of human erythrocytes. **The Scientific World Journal**, v. 2012, n. c, 2012.
- MIHALCEA, L. et al. Encapsulation of carotenoids from sea buckthorn extracted by CO₂ supercritical fluids method within whey proteins isolates matrices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 42, p. 120–129, 2017.
- NAJAFI, M. et al. A comprehensive insight into the potential effects of resveratrol supplementation on SIRT-1: A systematic review. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 15, n. 5, p. 13–18, 2021.
- NEVES, I. C. O. et al. Effect of carrier oil on α -tocopherol encapsulation in ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage-whey protein isolate microparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 105, n. January, 2020.
- NG, T. B. et al. Antiviral activities of whey proteins. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 17, p. 6997–7008, 2015.
- NICOLÁS, P.; FERREIRA, M. L.; LASSALLE, V. A review of magnetic separation of whey proteins and potential application to whey proteins recovery, isolation and utilization. **Journal of Food Engineering**, v. 246, p. 7–15, 2019.

OZKAN, G. et al. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, n. August 2018, p. 494–506, 2019.

PATEL, S. Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 308–319, 2015.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1327–1340, 2017.

PORTILLO, M. P. et al. Resveratrol y prevención de la obesidad. **Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietetica**, v. 15, n. 3, p. 121–122, 2011.

PORTO, I. C. C. M. et al. Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin–resin interface. **European Journal of Oral Sciences**, v. 126, n. 2, p. 146–158, 2018.

PREMI, M.; SHARMA, H. K. Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1232–1240, 2017.

PUJARA, N. et al. Enhanced colloidal stability, solubility and rapid dissolution of resveratrol by nanocomplexation with soy protein isolate. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 488, p. 303–308, 2017.

QIAN, W. et al. Resveratrol slows the tumourigenesis of pancreatic cancer by inhibiting NFkB activation. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 127, n. January, p. 110116, 2020.

REPOSSI, G.; DAS, U. N.; EYNARD, A. R. Molecular Basis of the Beneficial Actions of Resveratrol. **Archives of Medical Research**, v. 51, n. 2, p. 105–114, 2020.

RODEA-GONZÁLEZ, D. A. et al. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102–109, 2012.

RODRIGUES, R. M. et al. Electrospayed whey protein-based nanocapsules for β -carotene encapsulation. **Food Chemistry**, v. 314, n. January, p. 126157, 2020.

ROJAS, V. M. et al. Formulation of mayonnaises containing PUFAs by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils. **Food Chemistry**, v. 274, n. September 2018, p. 220–227, 2019.

LIU, K. et al. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2014.

SCREMIN, F. R. et al. Synthesis and characterization of protein microcapsules for eugenol storage. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, n. 1, p. 653–660, 2018.

- SESSA, M. et al. Evaluation of the stability and antioxidant activity of nanoencapsulated resveratrol during in vitro digestion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 23, p. 12352–12360, 2011.
- SHAO, P. et al. Improved emulsion stability and resveratrol encapsulation by whey protein/gum arabic interaction at oil-water interface. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 466–472, 2019.
- SHI, M. et al. Oxidative stability of spray dried matcha-tuna oil powders. **Food Research International**, v. 132, n. February, p. 109050, 2020.
- SILVA, E. K. et al. Ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil: Whey protein isolate versus modified starch. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 71–83, 2016.
- SILVA-BUZANELLO, R. A. DA et al. Validation of an Ultraviolet-visible (UV-Vis) technique for the quantitative determination of curcumin in poly(l-lactic acid) nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 172, p. 99–104, 2015.
- SOLEIMANIFAR, M.; JAFARI, S. M.; ASSADPOUR, E. Encapsulation of olive leaf phenolics within electrosprayed whey protein nanoparticles; production and characterization. **Food Hydrocolloids**, v. 101, 2020.
- SONG, J. et al. Microparticle prepared by chitosan coating on the extruded mixture of corn starch, resveratrol, and α -amylase controlled the resveratrol release. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 185, p. 773–781, 31 ago. 2021.
- SOUZA, L. B. Obtenção de suplemento alimentar na forma de comprimidos orais dispersíveis (ODT'S) contendo berberina nanoencapsulada. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira**, p. 1–38, 2020.
- SRIVANI, G. et al. Resveratrol binds and inhibits transcription factor HIF-1 α in pancreatic cancer. **Experimental Cell Research**, v. 394, n. 1, p. 112126, 2020.
- SZKUDELSKA, K. et al. Resveratrol ameliorates inflammatory and oxidative stress in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 125, n. February, p. 110026, 2020.
- TALÓN, E. et al. Encapsulation of eugenol by spray-drying using whey protein isolate or lecithin: Release kinetics, antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 295, n. January, p. 588–598, 2019.
- TAN, S.; ZHONG, C.; LANGRISH, T. Microencapsulation of pepsin in the spray-dried WPI (whey protein isolates) matrices for controlled release. **Journal of Food Engineering**, v. 263, n. March, p. 147–154, 2019.
- TAN, S.; ZHONG, C.; LANGRISH, T. Pre-gelation assisted spray drying of whey protein isolates (WPI) for microencapsulation and controlled release. **Lwt**, v. 117, n. July 2019, p. 108625, 2020.

TAVARES, L.; ZAPATA NOREÑA, C. P. Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray drying. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 360–369, 2019.

TEIXEIRA, F. J. et al. Whey protein in cancer therapy: A narrative review. **Pharmacological Research**, v. 144, p. 245–256, 1 jun. 2019.

TUMBAS ŠAPONJAC, V. et al. Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. **Food Chemistry**, v. 207, p. 27–33, 2016.

VENUTI, V. et al. A characterization study of resveratrol/sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex and in vitro anticancer activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 115, n. February 2018, p. 22–28, 2014.

VESTERGAARD, M.; INGMER, H. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 53, n. 6, p. 716–723, 2019.

WANG, B.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Highly stable spray dried tuna oil powders encapsulated in double shells of whey protein isolate-agar gum and gellan gum complex coacervates. **Powder Technology**, v. 358, p. 79–86, 2019.

WANG, W. et al. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 2–3, p. 142–152, 2010.

WESOŁY, M. et al. Tasting cetirizine-based microspheres with an electronic tongue. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 238, p. 1190–1198, 2017.

YE, Q.; GEORGES, N.; SELOMULYA, C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 78, p. 167–179, 2018.

YI, E. J. et al. Preparation of sildenafil citrate microcapsules and in vitro/in vivo evaluation of taste masking efficiency. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 466, n. 1–2, p. 286–295, 2014.

ZHAO, C.; ASHAOLU, T. J. Bioactivity and safety of whey peptides. **Lwt**, v. 134, n. September, p. 109935, 2020.

ZUPANČIČ, Š.; LAVRIČ, Z.; KRISTL, J. Stability and solubility of trans-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 196–204, 2015.