



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

CAMYLA VIDAL ALVES

**NANOPARTÍCULA DE QUITOSANA FÚNGICA/ GOMA ARÁBICA CONTENDO
ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (*Vitis vinífera*) E CATEQUINA: PREPARAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

RECIFE- PE

2022

CAMYLA VIDAL ALVES

**NANOPARTÍCULA DE QUITOSANA FÚNGICA/ GOMA ARÁBICA CONTENDO
ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (*Vitis vinífera*) E CATEQUINA: PREPARAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Nutrição, área de concentração Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dra. Thayza C. Montenegro Stamford

Co-orientador: Prof^a. Dra. Rafaela de Siqueira Ferraz Carvalho

**RECIFE-PE
2022**

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Rodrigo Leopoldino Cavalcanti I, CRB4-1855

A474n Alves, Camyla Vidal.
Nanopartícula de quitosana fúngica / goma arábica contendo óleo de semente de uva (*Vitis vinífera*) e catequina: preparação, caracterização e atividade antimicrobiana / Camyla Vidal Alves. – 2022.
74 f. : il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora : Thayza C. Montenegro Stamford.
Coorientadora : Rafaela de Siqueira Ferraz Carvalho.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Compostos Bioativos. 2. Polifenóis. 3. Biopolímeros. 4. Óleos Vegetais. 5. Nanotecnologia. I. Stamford, Thayza C. Montenegro (Orientadora). II. Carvalho, Rafaela de Siqueira Ferraz (Coorientadora). III. Título.

613 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2022-221)

CAMYLA VIDAL ALVES

**NANOPARTÍCULA DE QUITOSANA FÚNGICA/ GOMA ARÁBICA CONTENDO
ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (*Vitis vinífera*) E CATEQUINA: PREPARAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição, área de concentração Ciência dos Alimentos.

Aprovada em: 10 de março de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Patrícia Moreira Azoubel (Membro interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior (Membro Externo)
Universidade Federal da Paraíba

Prof^a. Dra. Natalia Ferrão Castelo Branco Melo (Membro Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por iluminar minha vida, minhas escolhas e me proteger.

Agradeço a minha família pelo suporte em minhas escolhas, pelo apoio e por torcerem por mim. Sem vocês não teria chegado até aqui. Meu muitíssimo obrigada!

A minha orientadora Prof^a. Thayza que desde a graduação acreditou no meu potencial. Obrigada pela oportunidade concedida, orientação na execução deste trabalho e confiança depositada à minha pessoa nesse período.

A minha coorientadora Rafaela Ferraz que sempre se mostrou interessada e disposta a auxiliar na execução deste trabalho. Obrigada por ser tão dedicada e paciente, pelos ensinamentos e pela contribuição para meu aperfeiçoamento pessoal e profissional, bem como pela serenidade transmitida, amizade e confiança.

Aos laços de amizades que se formaram no mestrado Alessandra, Ihasmyn e Gerlane, tive muita sorte em encontrar pessoas tão boas em meu caminho e que sempre me ajudaram muito e incentivaram, e que também proporcionaram muitos momentos felizes deixando meus dias mais leves.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e a Pós-Graduação em Nutrição da UFPE por me dar a oportunidade e ferramentas para que eu pudesse realizar o mestrado. À Cecília e Andrea, pela disponibilidade para auxiliar quando precisei dos serviços da Secretaria da Pós-Graduação.

Ao laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) pela estrutura disponibilizada para que eu pudesse realizar essa pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade de participar, pelas contribuições e sugestões para melhoria deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa CNPq pelo apoio financeiro.

E a todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram na realização desse trabalho e que não foram citados, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

A produção de bebidas a base de uva pode gerar resíduos como o bagaço e as sementes, os quais são potenciais fontes de aproveitamento tecnológico para obtenção do óleo vegetal e de fitonutrientes. A catequina é um polifenol abundante nas uvas que apresenta diversas atividades importantes como antioxidante, antibacteriana, antifúngica e anti-inflamatória. Contudo, sua estrutura é quimicamente instável, o que torna importante a aplicação de técnicas de proteção como a nanoencapsulação. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar nanopartículas contendo óleo da semente de uva (*Vitis vinífera* L.) e catequina, utilizando quitosana e goma arábica como agentes encapsulantes, bem como avaliar a atividade antimicrobiana das nanopartículas. As nanopartículas foram produzidas pela técnica de coacervação complexa usando a proporção catequina:ácido ascórbico 1:1 (NP-OSU-Cat-1) caracterizadas por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), potencial Zeta, eficiência de encapsulação (EE%), espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A atividade antimicrobiana baseou-se na obtenção da concentração inibitória mínima (CIM) pela técnica de microdiluição em caldo. As partículas apresentaram tamanho nanométrico de $178,56 \pm 4$ nm, índice de polidispersão de 0,268, potencial zeta de $+16,56 \pm 1,01$ mV, EE% da catequina de 67,74%. As nanopartículas mantiveram-se estáveis, quanto às análises de DLS, potencial zeta e aspectos macroscópicos (ausência de mudança de coloração, formação de sedimentos e cremagem), por aproximadamente 20 dias a 4°C. Além disso, as análises de infravermelho confirmaram que ocorreu a formação das nanopartículas levando a obtenção de nanossistema que apresentou morfologia esférica bem definida segundo análises de MEV. As análises térmicas (DSC e TGA) indicaram deslocamento da temperatura de decomposição das nanopartículas comparado aos polímeros isolados, sendo superior a 200°C. As nanopartículas também apresentaram atividade antimicrobiana frente às bactérias de origem alimentar Gram-positivas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Listeria monocytogenes*) e Gram-negativas (*Salmonella enteric subsp. enterica serovar typhimurium* e *Escherichia coli*) com CIM de 1,50 mg/mL a 4,50 mg/mL para concentração equivalente do óleo da semente de uva nas nanopartículas e CIM de

0,20 mg/mL a 0,60 mg/mL para concentração equivalente da catequina nas nanopartículas. Os resultados obtidos sugerem que as nanopartículas de quitosana e goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina, tem elevado potencial para aplicação na indústria alimentícia para o desenvolvimento de alimentos com propriedades funcionais.

Palavras-chave: compostos bioativos; polifenol; biopolímeros; óleo vegetal; nanotecnologia.

ABSTRACT

The production of grape-based beverages can generate residues such as bagasse and seeds, which are potential sources of technological use to obtain vegetable oil and phytonutrients. Catechin is an abundant polyphenol in grapes that has several important activities such as antioxidant, antibacterial, antifungal and anti-inflammatory. However, its structure is chemically unstable, which makes it important to apply protection techniques such as nanoencapsulation. In view of the above, the objective of this work was to develop and characterize nanoparticles containing grape seed oil (*Vitis vinifera* L.) and catechin, using chitosan and gum arabic as encapsulating agents, as well as to evaluate the antimicrobial activity of the nanoparticles. The nanoparticles were produced by the complex coacervation technique using the catechin:ascorbic acid ratio 1:1 (NP-OSU-Cat-1) characterized by Dynamic Light Scattering (DLS), Zeta potential, encapsulation efficiency (EE%), spectroscopy in the infrared region (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetry (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). The antimicrobial activity was based on obtaining the minimum inhibitory concentration (MIC) by the broth microdilution technique. The particles had a nanometric size of $178,56 \pm 4$ nm, polydispersity index of 0,268, zeta potential of $+16,56 \pm 1,01$ mV, EE% of catechin of 67,74%. The nanoparticles remained stable, regarding the analysis of DLS, zeta potential and macroscopic aspects (absence of color change, sediment formation and cremation), for approximately 20 days at 4°C. In addition, the infrared analyzes confirmed that the formation of nanoparticles occurred, leading to the obtaining of a nanosystem that presented a well-defined spherical morphology according to SEM analysis. The thermal analyzes (DSC and TGA) indicated a shift in the decomposition temperature of the nanoparticles compared to the isolated polymers, being greater than 200°C. The nanoparticles also showed antimicrobial activity against Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faeciu* and *Listeria monocytogenes*) and Gram-negative bacteria (*Salmonella enteric subsp. enterica serovar typhimurium* and *Escherichia coli*) with MIC of 1, 50 mg/mL to 4,50 mg/mL for equivalent concentration of grape seed oil in the nanoparticles and MIC of 0,20 mg/mL to 0,60 mg/mL for equivalent concentration of catechin in the nanoparticles. The results obtained suggest that chitosan and gum arabic nanoparticles containing grape seed oil and catechin have high potential for

application in the food industry for the development of foods with functional properties.

Keywords: bioactive compounds; polyphenol; biopolymers; vegetal oil; nanotechnology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura geral dos flavonoides	21
Figura 2 – Estrutura química da catequina	22
Figura 3 – Representação das nanopartículas poliméricas: nanocápsulas e nanoesfera	27
Figura 4 – Estrutura da quitosana	29
Figura 5 – Estrutura química da goma arábica	33
Figura 6 – Imagens do aspecto visual das formulações de nanopartículas de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva (<i>Vitis vinifera</i>) e catequina, com e sem ácido ascórbico, após 16 dias de armazenamento	50
Figura 7 – Imagens de nanopartículas de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva (<i>Vitis vinifera</i>) e catequina (NP-OSU-Cat-1) (A) e (B) obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	52
Figura 8 – Espectros de infravermelho obtidos para nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1___), catequina (CAT___), nanopartículas sem catequina (NP-OSU___), óleo da semente de uva (OSU ___), goma arábica (GA___) e quitosana (QF___)	53
Figura 9 – Termograma (TGA) obtidos para nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1___), catequina (CAT ___), nanopartículas sem catequina (NP-OSU ___), óleo da semente de uva (OSU ___), goma arábica (GA ___) e quitosana (QF___)	56
Figura 10 – Termograma (DSC) obtidos para nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1 ___), catequina (CAT ___), nanopartículas sem catequina (NP-OSU ___), goma arábica (GA___) e quitosana (QF___)	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Trabalhos publicados sobre a síntese de nanossistemas contendo catequina	26
Tabela 2 – Composição das formulações	39
Tabela 3 – Estabilidade das nanopartículas de quitosana fúngica/ goma arábica contendo óleo de semente de uva (<i>Vitis vinifera</i>)	45
Tabela 4 – Estabilidade das nanopartículas de quitosana fúngica / goma arábica contendo óleo de semente de uva (<i>Vitis vinifera</i>) e catequina	46
Tabela 5 – Estabilidade das nanopartículas de quitosana fúngica / goma arábica contendo catequina e óleo de semente de uva (<i>Vitis vinifera</i>) com adição de ácido ascórbico	49
Tabela 6 – Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo da semente de uva (<i>Vitis vinifera</i>) (OSU), Catequina (CAT), nanopartícula de quitosana e goma arábica contendo óleo da semente de uva (NP-OSU) e nanopartícula de quitosana e goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1) para inibição de microrganismos patogênicos veiculados por alimentos	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS E ECO SUSTENTABILIDADE	16
2.2	APLICAÇÃO INDUSTRIAL DA UVA E SEUS COPRODUTOS.....	17
2.3	POLIFENÓIS DIETÉTICO	20
2.3.1	(+) - Catequina	21
2.4	NANOENCAPSULAÇÃO.....	27
2.5	POLÍMEROS NATURAIS ENCAPSULANTES.....	29
2.5.1	Quitosana	29
2.5.2	Goma arábica	32
2.6	COACERVAÇÃO.....	34
3	HIPÓTESE	36
4	OBJETIVOS	37
4.1	OBJETIVO GERAL.....	37
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
5	MATERIAIS E MÉTODOS	38
5.1	MATERIAIS	38
5.2	PREPARO DAS SOLUÇÕES DOS POLÍMEROS.....	38
5.3	PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA ARÁBICA CONTENDO CATEQUINA E ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (<i>Vitis vinífera</i> L.).....	39
5.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS.....	40
5.4.1	Aspectos macroscópicos	40
5.4.2	Análise do tamanho de partículas	40
5.4.3	Determinação do potencial zeta	41
5.4.4	pH das nanopartículas	41
5.4.5	Determinação da Eficiência de Encapsulação (EE%)	41
5.4.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	42
5.4.7	Estrutura química	42

5.4.8	Análise térmica.....	43
5.5	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	43
5.5.1	Cepas e preparação dos inóculos	43
5.5.2	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	44
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
6.1	PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (<i>Vitis vinífera</i> L.) E CATEQUINA.....	45
6.2	EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO (EE%).....	51
6.3	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	52
6.3.1	Morfologia	52
6.3.2	Estrutura química	53
6.3.3	Propriedades térmicas.....	55
6.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA (CIM).....	58
7	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

A uva (*Vitis vinífera* L.) é uma fruta pertencente à família Vitaceae, a qual apresenta excelente composição de macro e micronutrientes, como carboidratos, fibras, vitaminas e minerais, além de altos teores de fitonutrientes. Suas cascas e sementes apresentam uma diversidade de compostos polifenólicos como os flavonoides, ácidos fenólicos, resveratrol e antocianinas, que desempenham elevada capacidade antioxidante (NIRMALA; NARENDHIRAKANNAN, 2017). Os antioxidantes naturais apresentam elevada capacidade para serem utilizados ampliando o tempo de vida útil dos produtos na indústria alimentícia, como também podem diminuir o risco de patologias associadas ao estresse oxidativo, como neoplasias, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, assim proporcionando repercussões positivas a saúde do consumidor (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; DE CAMARGO et al., 2017).

Uma das principais aplicações da uva é na indústria vinícola, processo no qual são gerados resíduos, como o bagaço e as sementes. Estas últimas apresentam um teor de lipídeos variando de 13% a 19%, e podem ser aproveitadas para obtenção de óleo (CECCHI et al., 2019). O óleo da semente de uva tem sido citado na literatura científica em função dos seus benefícios, como regulação do metabolismo lipídico, redução da inflamação e obesidade, e pelo seu potencial nutricional (SHINAGAWA et al., 2015; MAHANA et al., 2019). Além disso, apresenta alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados e de vitamina E, indicando boa aplicabilidade tecnológica na indústria de alimentos (CECCHI et al., 2019).

A catequina é um composto polifenólico amplamente presente em bebidas, vegetais e frutas, como vinho tinto, maçã, uva, chocolate e em grande concentração nas folhas do chá verde (*Camellia sinensis*) (RASHIDINEJAD et al., 2014; AHMAD et al., 2019). É reconhecida por apresentar diversas atividades biológicas, como antioxidantes, antibacteriana, anti-inflamatória e antitumoral (LI et al., 2018; AHMAD et al., 2019). Sendo assim, possui elevado potencial para aplicação na indústria farmacêutica e alimentícia (HAN et al., 2022).

A catequina apresenta algumas limitações que dificultam a aplicação da molécula isolada nos produtos alimentícios, como sabor amargo e adstringente, instabilidade química mediante a presença de oxigênio, luz, pH alcalino e

temperaturas elevadas. Além de baixa biodisponibilidade, em função baixa permeabilidade e condições intestinais, como pH elevado. Diante disso, a nanoencapsulação pode ser um método eficiente para proteção da catequina contra degradação em condições ambientais desfavoráveis, bem como melhorar sua biodisponibilidade e bioatividade (LI et al., 2018; AHMAD et al., 2019; HAN et al., 2022).

Vários polímeros naturais podem ser utilizados como matéria prima para técnica de nanoencapsulação, entre eles a quitosana e a goma arábica, (TAN et al., 2016; KIM et al., 2021). A quitosana é um polissacarídeo de cadeia linear, produzido a partir da desacetilação parcial da quitina, a qual pode ser obtido de crustáceos, insetos e certos fungos. Pesquisas utilizando a quitosana vem crescendo, em função das suas características como biocompatibilidade, biodegradabilidade, capacidade adsorptiva, ação antimicrobiana de amplo espectro, ação antioxidante e de regeneração tecidual (DASH et al., 2011; DA ROSA et al., 2013; FERREIRA et al., 2014, RODRIGUES et al., 2020). Além disso, tem mostrado grande potencial para aplicação na medicina, indústria farmacêutica e de alimentos, sendo nesta última classificado como geralmente reconhecido como seguro -“GRAS” (DASH et al., 2011; DA ROSA et al., 2013).

Outro composto natural que pode ser utilizado no processo de encapsulação é a goma arábica. O polímero é obtido da árvore *Acacia senegal*, apresenta estrutura ramificada contendo resíduos de arabinose, ramnose, galactose e ácido glucorônico, o que proporciona maior sítios de interação. Além disso, é biodegradável e biocompatível (TAN et al., 2016; KIM et al., 2019). Este biopolímero se destaca pelo potencial de formação de filme e por ser responsável pela resistência da parede das nanocápsulas, sendo considerado um bom agente encapsulante (RIBEIRO et al., 2020).

Nanopartículas de materiais lipídicos e poliméricos têm sido utilizados como veículo para entrega de moléculas bioativas, como a catequina, proporcionando efeitos positivos na estabilidade térmica, proteção do processo digestivo, melhor biodisponibilidade e entrega direcionada. Além disso, pode contribuir para propriedades sensoriais e funcionais do composto (PIMENTEL-MORAL et al., 2018).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo preparar e caracterizar nanopartículas contendo óleo da semente de uva (*Vitis vinífera* L) e catequina, utilizando quitosana fúngica e goma arábica como agentes encapsulantes, bem

como avaliar a atividade antimicrobiana das nanopartículas. A consolidação desta pesquisa trará novos dados acerca do tema de estudo, e possibilitará o desenvolvimento e a fundamentação metodológica para o planejamento e execução de pesquisas com ênfase em nanoencapsulação de compostos polifenólicos em bases lipídicas para uma possível aplicação na indústria de alimentos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS E ECO SUSTENTABILIDADE

A procura por estilo de vida mais saudável tem mobilizado a população por uma alimentação mais equilibrada, assim, resultando em aumento da procura por alimentos funcionais (REIS et al., 2017). Estes alimentos são caracterizados por apresentarem, além dos macros e micronutrientes necessários para o funcionamento do organismo, compostos bioativos, como os polifenólicos. O consumo diário desses alimentos está associado à redução dos riscos de doenças crônicas associadas à dieta como doenças cardiovasculares, hipertensão, câncer, obesidade e diabetes (CERQUEIRA et al., 2017; REIS et al., 2017).

Como alternativa para suprir a demanda por alimentos ditos funcionais, a indústria de alimentos tem aumentado a atenção quanto ao aproveitamento de resíduos gerados durante o processamento de alimentos, principalmente na produção de frutos do mar, carnes, processamento de laticínio, vegetais, frutas e vinhos (ARUN et al., 2020; VODNAR et al., 2017). O setor agroindustrial é uma das áreas que produz elevadas quantidades de resíduos, os quais podem trazer grandes impactos ambientais, uma vez que, são destinados para locais inadequados, como aterros ou são queimados (ARUN et al., 2020; ZALAZAR-GARCIA et al., 2020).

Os resíduos industriais de origem vegetal são de grande interesse para indústria alimentícia, em função do baixo custo e da quantidade de matéria prima disponível (VODNAR et al., 2017). Esses subprodutos podem ser boas fontes de nutrientes e compostos bioativos como fibras, carboidratos, proteínas, ácidos graxos e compostos fenólicos, os quais podem ter diversas aplicações, em função do seu potencial, como alimentos com propriedades funcionais, nutracêuticos e farmacêuticos. Ainda, podem diversificar os alimentos disponíveis e evitar problemas decorrentes da sua eliminação (ZALAZAR-GARCIA et al., 2020).

Atualmente, o direcionamento dos resíduos agroindustriais que não seja a sua eliminação, tem sido alvo de inúmeras pesquisas. A busca pelo aproveitamento eco sustentável desses coprodutos está alcançando cada vez mais espaço, além de estar integrado a química verde (KAUR et al., 2018). Mediante este fator, um novo modelo de economia sustentável desenvolvido por economistas e pesquisadores, conhecido como economia circular, vem crescendo com o objetivo de minimizar os impactos desses resíduos no meio ambiente. Na economia circular, os resíduos

obtidos de um produto são utilizados na obtenção de uma nova matéria-prima (PRZYKAZA et al., 2021).

A criação de novas técnicas para obtenção e utilização desses compostos bioativos que apresentam alto valor agregado, são de grande interesse para sua aplicação, como na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. (RAVIDRAN; JAISWAL, 2016). A utilização de sementes de frutas para obtenção de novos produtos alimentícios como óleo vegetais tem aumentado, devido às consequências positivas para saúde em razão das suas propriedades nutricionais, bem como por fatores econômicos (PRZYKAZA et al., 2021). Além disso, os subprodutos obtidos após a extração do óleo, a torta de prensagem, podem ser utilizados como alternativa de proteínas vegetais com boa composição de aminoácidos essenciais e de compostos bioativos (SÁ et al., 2021). Subprodutos como cascas e sementes também, podem ser utilizadas pela indústria alimentícia como fonte de fibras solúveis, com potencial prebiótico, anti-inflamatório e antioxidante (ALBUQUERQUE et al., 2019).

2.2 APLICAÇÃO INDUSTRIAL DA UVA E SEUS COPRODUTOS

A produção de uva tem sido economicamente importante, uma vez que podem ser destinadas para produção de produtos alimentícios, como sucos e vinhos (MAHANNA et al., 2019). O gênero *Vitis* abrange 68 espécies, entre estas destaca-se a *Vitis vinífera* L., também conhecida como uva europeia ou para vinhos (FIDELIS et al., 2019).

Um dos grandes problemas da indústria de vinificação é a elevada quantidade de resíduos, como cascas e sementes, que são gerados e o destino desses subprodutos (MAHANNA et al., 2019). Segundo Cechi et al. (2019) na produção de uvas cerca de 20% são constituídos pelos subprodutos, desses aproximadamente 47% são sementes.

Os subprodutos das uvas destacam-se por serem boas fontes de compostos polifenólicos como ácido cafeico, ácido gálico, quercetina, catequina e epicatequina (DE CAMARGO et al., 2014). As concentrações de fenólicos totais nas uvas se distribuem aproximadamente 10% na polpa, 28% a 35% na casca e 60% a 70% nas sementes (FIDELIS et al., 2019).

A composição nutricional das sementes de uva apresentam aproximadamente 3% de minerais, 7% de água, 11% de proteína, 35% de fibra (SHINAGAWA et al.,

2015) e 13% a 19% de conteúdo lipídico. Destas sementes pode ser obtido o óleo, o qual pode ser utilizado para o consumo humano (MAIER et al., 2009; CECHI et al., 2019). A aplicação do óleo de semente de uva já é bem propagado em alguns países da Europa, e crescentemente tem ganhado notoriedade para utilização culinária (SHINAGAWA et al., 2015), isso porque sua composição contém majoritariamente ácidos graxos insaturados, destacando-se o ácido graxo do tipo oleico (C18:1 *n* - 9) com cerca de 10% a 20% e linoleico (C18:2 *n* - 6), o qual constitui mais de 70% (ROMBAUT et al., 2015; LI et al., 2020). Os ácidos graxos do tipo linoleico também são encontrados em grande proporção em outros óleos vegetais comercialmente vendidos, como o de milho, soja e girassol, que são bastante utilizados para fins alimentícios (SHINAGAWA et al., 2015). Os ácidos linoleicos são considerados ácidos graxos essenciais, de grande relevância para saúde, uma vez que atuam em diversos processos metabólicos, como efeitos hipolipemiante e hepatoprotetor (RIBEIRO et al., 2017).

Além de apresentar elevado percentual de ácidos graxos de importante valor agregado, o óleo da semente de uva também possui cerca de 10% de ácidos graxos saturados (C16:0, C18:0, C20:0). Esses proporcionam ao óleo elevado ponto de fumaça, 190 °C a 230 °C, o que pode ser interessante para aplicação culinária que utilizam elevadas temperaturas, como a fritura (ROMBAUT et al., 2015; MARTIN et al., 2020).

O óleo de semente de uva apresenta compostos bioativos como as catequinas, epicatequinas, trans-resveratrol, tocoferóis e tocotrienóis, isômeros da vitamina E, conhecido como γ -tocotrienol. O γ -tocotrienol é encontrado em grande proporção no óleo de semente de uva e dificilmente nos outros óleos comercialmente vendidos, a qual está associado a elevada capacidade antioxidante, o que pode possibilitar maior resistência à degradação lipídica do óleo (ROMBAUT et al., 2015; SHINAGAWA et al., 2015; ISMAIL; SALEM; EASSAWY, 2016).

Não apenas na preservação da qualidade do óleo é que esses compostos bioativos são importantes, mas também essa potente propriedade pode ser utilizada como mecanismo de proteção à saúde (ISMAIL; SALEM; EASSAWY, 2016). Nesse ponto de vista, alguns estudos verificaram atividades importantes do óleo de semente de uva (*Vitis vinífera*), como papel protetor sobre a lesão hepática aguda induzida por CCl₄ em ratos irradiados com raio γ (ISMAIL; SALEM; EASSAWY, 2016), atividade inibitória sobre a enzima PTP-1B, que tem elevada expressão na

diabetes tipo 2 (CECHI et al., 2019), e redução na inflamação, resistência à insulina e colesterol sérico em mulheres com sobrepeso ou obesas (IRANDOOST; EBRAHIMI-MAMEGHANI; PIROUZPANAH, 2013).

Devido ao perfil de ácidos graxos e compostos bioativos, estudos recentes têm aplicado o óleo da semente de uva como ingredientes em alguns produtos alimentícios, verificando efeitos positivos. Kokabian et al. (2020) aplicou o óleo em iogurtes desnatados, verificando que o melhor percentual deste óleo (1,5%) no produto promoveu características como textura e dureza semelhante ao iogurte integral, além de boa aceitação e maior teor de ácidos graxos insaturados. No trabalho de Kim et al. (2020), o óleo da semente de uva pré-emulsionado com gelatina e alginato foi aplicado como substituto de gordura animal em emulsão cárnea. Os autores verificaram que a substituição melhorou as características físico-químicas como textura, umidade e viscosidade, além de redução da oxidação lipídica comparada ao controle, podendo substituir parcialmente a gordura de porco na emulsão cárnea.

Diferentes técnicas podem ser utilizadas na obtenção do óleo, entre eles a extração por solvente e prensagem a frio (ROMBAUT et al., 2015). A extração por solventes traz um maior rendimento, em função da capacidade dos diferentes solventes em extrair as frações polares e apolares. Entretanto, podem alterar a composição do óleo, como o teor de compostos bioativos e estrutura dos ácidos graxos, em função da temperatura elevada, exposição ao oxigênio ou ao solvente, assim, produzindo óleos com menor estabilidade oxidativa. Além disso, o uso de solventes pode deixar resíduos tóxicos ao produto podendo ser prejudicial à saúde (PETROPOULOS et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Assim, a prensagem a frio é mais vantajosa comparada à utilização de solventes, uma vez que a extração do óleo é realizada pela força mecânica, sem utilização de reagentes ou temperaturas elevadas. É considerada uma técnica de extração verde, ou seja, que não traz prejuízos ao meio ambiente e a saúde. Contudo, neste método o rendimento do óleo é baixo (PETROPOULOS et al., 2018; LI et al., 2020).

O óleo obtido da prensagem a frio pode conter um maior teor de compostos bioativos, como os fenólicos e antioxidantes, uma vez que não é utilizado tratamento térmico e solventes (SHINAGAWA et al., 2015). No entanto, os compostos bioativos apresentam baixa estabilidade a diferentes circunstâncias, como: processamento e armazenamento de alimentos, ambientes ácidos e alcalinos, luz, calor, oxigênio e

condições do trato gastrointestinal. Assim, restringindo suas aplicações, em função do comprometimento de seus benefícios. Uma das possíveis alternativas para superar essas limitações é incorporação desses compostos em matrizes de encapsulamento, como as nanopartículas (LIU et al., 2019; ROSTAMABADI et al., 2020).

2.3 POLIFENÓIS DIETÉTICO

A procura de produtos fontes de compostos bioativos como os fenólicos e/ou polifenólicos tem atraído cada vez mais a atenção por parte da indústria alimentícia e farmacêutica, e também dos consumidores, uma vez que podem atuar na promoção da saúde. Estes compostos têm sido associados a diversas atividades importantes como, proteção contra radiação, ação antimicrobiana, atividade antioxidante, proteção de doenças como as neurodegenerativas e cardiovasculares (DE CAMARGO et al., 2014; LIANG et al., 2016; PIMENTEL-MORAL et al., 2018), e também atividade prebiótica, que através da modulação da microbiota intestinal pode trazer benefícios ao hospedeiro, como redução do colesterol, e, controle da glicemia (DE ARAÚJO et al., 2021). Um fator determinante na ação dessas moléculas e suas atividades é sua estrutura química (DE CAMARGO et al., 2014).

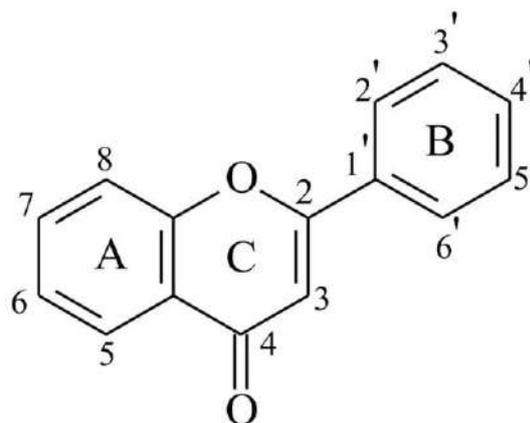
Os polifenóis estão presentes em alimentos, como frutas, chocolates, verduras, bebidas como sucos e vinhos (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; DE CAMARGO et al., 2017). Os polifenóis de origem natural têm sido procurados para aplicações em matrizes alimentares como ingrediente prebiótico, corante natural alimentar, elaboração de embalagens bioativas (DE ARAÚJO et al., 2021), aditivo antimicrobiano e antioxidante, uma vez que podem atuar na inibição da oxidação lipídica (DE CAMARGO et al., 2017).

Os compostos fenólicos e/ou polifenóis são metabólitos secundários sintetizados a partir de vias, como pentose fosfato, chiquimato e fenilpropanóide (DE ARAÚJO et al., 2021). Esses compostos são produzidos pelas plantas mediante a processos, como crescimento, pigmentação, polinização, e, também, como mecanismo de defesa a algum estresse ambiental, como pragas e/ou radiação ultravioleta. Na natureza existem aproximadamente 10000 tipos de fenólicos identificados. São formados por um ou mais fenol, anel benzênico ligado a uma

hidroxila (PIMENTEL-MORAL et al., 2018). Podem ser classificados, de acordo com a estrutura química, em simples ou complexa. Os compostos de estrutura simples são formados por apenas um fenol. Nesse grupo estão incluídos os fenólicos e ácidos fenólicos, sendo que este último apresenta um ácido carboxílico ligado ao fenol. Já os de estrutura complexa, os polifenóis, apresentam dois ou mais fenóis ligados a uma ou mais hidroxila. Dentre os polifenólicos destacam-se os taninos, estilbenos e flavonoides (FRAGA et al., 2010; LEOPOLDINI; RUSSO; TOSCANO, 2011).

Os flavonoides estão amplamente distribuídos nos alimentos naturais. Essas biomoléculas têm chamado atenção por desempenhar diversos efeitos biológicos, como antimicrobiano, vasodilatador, antialérgico e anti-inflamatório. De forma geral, os flavonoides apresentam em sua composição molecular (Figura 1) pelo menos 15 carbonos, C6-C3-C6, apresentando dois anéis benzênicos (A e B) ligados por uma cadeia de 3 carbonos, que pode formar um pirano heterocíclico (anel C). São encontrados aproximadamente 7000 tipos de flavonoides, dentre esses as subclasses mais conhecidas são as antocianidinas, isoflavona, flavona, flavanona, flavonol e flavanol (NABAVI et al., 2020). Dentre os flavonoides amplamente consumidos está a catequina, a qual pertence ao subgrupo dos flavanol (ou flavan-3-ols) (GADCARI; BALARMAN, 2015).

Figura 1 – Estrutura geral dos flavonoides



Fonte: (NABAVI et al., 2020)

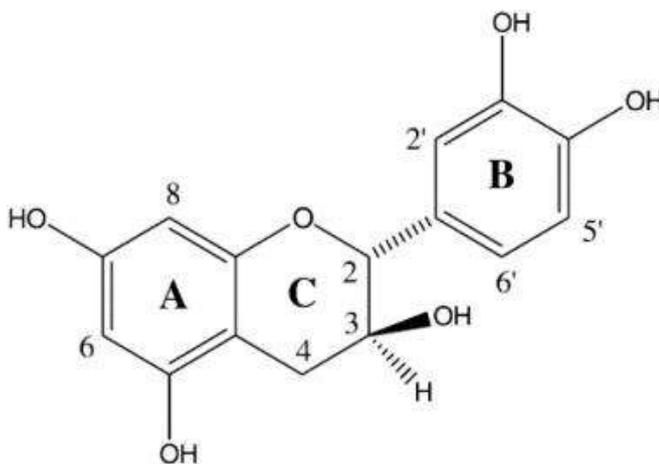
2.3.1 (+) - Catequina

O grupo das catequinas corresponde aproximadamente a 70% polifenóis, sendo de grande relevância devido aos efeitos positivos à saúde, como também por

suas características sensoriais (GADCARI;BALARMAN, 2015). Além disso, é certificada como segura pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA (HAN et al., 2022). A catequina está presentes em alimentos, como vinho tinto, uvas pretas, morango, maçã, damasco, (BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018; RASHIDINEJAD et al., 2021), chocolate amargo (KIRIMI; WILLIASON, 2015) e em grande proporção nas folhas do chá verde (*Camellia sinensis*) (GADCARI;BALARMAN, 2015; BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018).

A estrutura química da catequina (Figura 2) é composta por dois anéis aromáticos (anéis A e B) e um heterocíclico dihidropirano (anel C), associado a um grupo hidroxila no carbono 3. Em função da estrutura pode existir como dois isômeros geométricos, (+) e (-) - catequina ou (+) e (-) – epicatequina (BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018). Além disso, também podem se condensar com o grupo galato, através da esterificação, formando compostos como galato de epicatequina (ECG), epigalocatequina (EGC) e galato de epigalocatequina (EGCG) (GADCARI;BALARMAN, 2015; BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018).

Figura 2 – Estrutura química da catequina



Fonte: (HO et al., 2017)

Foi demonstrado através de estudos *in vitro* e/ou em modelo animal que a catequina exerce atividade antioxidante (KAUR et al., 2017), anticarcinogênica (JAIN et al., 2013), antifúngica (SAITO et al., 2013), antibacteriana (GOMES et al., 2018), anti-inflamatória (NAKANO et al., 2019; HODGES; SASAKI; BRUNO, 2020) neuroprotetora (EJAZ AHMED et al., 2013; SOLOMON JOSIAH et al., 2021),

hepatoprotetora (AKINMOLADUN et al., 2018; HODGES; SASAKI; BRUNO, 2020), de prevenção e tratamento da dermatite de contato (NAKANO et al., 2019), de redução do peso corporal por meio da regulação da microbiota intestinal (HUANG et al., 2016). Fora isso, também foi observado ação protetora sobre a citotoxicidade de produtos de glicação avançada, sendo estes produtos diretamente relacionados com respostas inflamatórias, aterogênicas e diabetogênicas (WU et al., 2021).

Grande parte dos efeitos benéficos apresentados se deve a elevada propriedade antioxidante da catequina. Tal atividade pode ocorrer por meio de mecanismos diretos ou indiretos (BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018). Diretamente em função da sua estrutura química, através da doação de elétrons aos radicais livres pelos grupos fenólicos OH, como também pela estabilização dos grupos aroxilas por meio da ressonância dos seus anéis aromáticos (FRAGA et al., 2010) ou como quelantes de metais, podendo inibir a reação de Feton (ZHANG; TSAO, 2016).

Indiretamente a catequina também pode exercer atividade antioxidante através da modulação de proteínas e vias de sinalização, como proteína ativadora-1 (AP-1) e vias de sinalização kappa B (NF- κ B), respectivamente. Outro mecanismo de ação da catequina é pela regulação de enzimas antioxidantes endógenas, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018).

Devido às suas propriedades antioxidantes a catequina pode auxiliar na prevenção e proteção de doenças mediadas pelo estresse oxidativo, que é caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção e eliminação dos radicais livres. A formação dessas moléculas instáveis ocorre naturalmente no corpo humano, no entanto a exposição a agentes como produtos químicos, poluição, metais pesados e radiação ionizante, pode aumentar a produção (ZHANG; TSAO, 2016; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2018).

O organismo tem o próprio sistema de defesa antioxidante endógeno, composto por enzimas (glutaciona redutase, superóxido dismutase catalase), antioxidantes de baixo peso molecular (albumina, ácido úrico, bilirrubina) e vitaminas (ácido ascórbico e tocoferóis), que quando não são suficientes para manter o equilíbrio entre a produção e eliminação de radicais livres, podem trazer danos a estruturas biomoleculares, como o DNA, carboidratos, proteínas e lipídeos. Devido a isso, estão relacionadas a diversas patologias como diabetes mellitus tipo 2, artrite,

doenças cardiovasculares, doenças autoimunes e doenças neurodegenerativas. O consumo de alimentos fontes de antioxidantes naturais pode atuar neutralizando esse desequilíbrio causado pelo estresse oxidativo (ZHANG; TSAO, 2016; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2018).

Não apenas nessa perspectiva de prevenção de doenças é que os antioxidantes naturais, como a catequina, têm sido estudados. Esses, também, podem atuar prolongando o tempo de prateleira dos alimentos, uma vez que reduzem reações de oxidação, assim, proporcionando maior duração de suas características sensoriais, como cor, aroma, sabor e valor nutricional (DE CAMARGO et al., 2017). A utilização desses compostos naturais a fim de obter uma maior durabilidade do produto alimentício tem sido cada vez mais procurada como alternativa pelo mercado consumidor, uma vez que antioxidantes sintéticos, como o hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT) e terc-butilhidroquinona (TBHQ) podem trazer consequências negativas à saúde como toxicidade hepática e possível ação carcinogênica (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; DE CAMARGO et al., 2017).

Nesse panorama, algumas pesquisas investigaram a aplicação da catequina em alimentos e a durabilidade das suas qualidades sensoriais. No trabalho de Kaewprachu et al (2015) foi produzido um filme biodegradável de gelatina contendo catequina-lisozima, com o objetivo de avaliar e comparar em relação ao filme comercialmente vendido de cloreto de polivinila (PVC) sobre a qualidade da carne de porco durante sete dias de armazenamento em refrigeração a 4 °C. Na pesquisa foi observada menor perda de peso, de coloração, e redução de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Também, foi verificada a inibição da oxidação lipídica e de crescimento de leveduras, bolores e bactérias.

Ku, Hong e Song (2008) estudaram a incorporação da catequina no filme comestível de alga vermelha (*Gelidium corneum*) como embalagem de salsicha durante doze dias em refrigeração a 4 °C. Os pesquisadores observaram a inibição do crescimento bacteriano contra dois tipos de bactérias patogênicas, *E. coli* e *L. monocytogenes*. Também foi verificado a inibição da oxidação lipídica do produto. Ambos os estudos associaram os resultados positivos às atividades antimicrobiana e antioxidante da catequina.

Outra aplicação da catequina em alimentos foi estudada por Zhao et al. (2019), que observaram o efeito inibitório do flavonoide sobre formação de

acrilamida. A acrilamida é um composto formado em alimentos submetidos a elevadas temperaturas durante a cocção, devido à reação de Maillard com asparagina e açúcares redutores. Este pode ser prejudicial à saúde, uma vez que está associado ao surgimento de câncer. No intuito de melhorar a estabilidade térmica e oxidativa da catequina, técnicas de encapsulação e materiais encapsulantes tem sido propostos.

As catequinas são cristais incolores, polares e apresentam solubilidade em água e metanol (GADCARI; BALARMAN, 2015). A molécula apresenta sabor amargo e características adstringentes (HO et al., 2017; HO et al., 2019). Além disso, algumas condições, como teor de oxigênio, pH e iluminação, afetam a estabilidade da catequina, sendo mais suscetível a oxidação em meios alcalinos. (DUBE et al., 2010 a; LIANG et al., 2016). A concentração catequina não é totalmente disponível após a ingestão devido ao menor tempo no estômago, baixa solubilidade no intestino e sensibilidade a algumas circunstâncias do trato gastrointestinal, como interações com nutrientes, pH e presença de algumas enzimas (ZHANG; JUNG; ZHAO, 2016). Tais fatores dificultam sua aplicação para fortificação em produtos alimentares, uma vez que sua biodisponibilidade é afetada, além da baixa aceitação por parte dos consumidores devido suas características sensoriais (HO et al., 2017; HO et al., 2019).

Uma possível alternativa a fim de proteger a molécula da catequina dos fatores ambientais desfavoráveis e melhorar sua biodisponibilidade, é a nanoencapsulação (HO et al., 2017; HO et al., 2019). Em relação a isto, alguns sistemas de entregas utilizando a catequina foram desenvolvidos, descritos na Tabela 1, os quais demonstraram grande potencial quanto a proteção e entrega controlada.

Tabela 1 –. Trabalhos publicados sobre a síntese de nanossistemas contendo catequina.

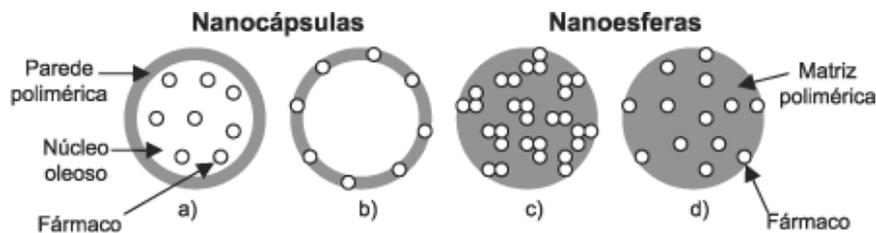
Nanocompostos	Principais resultados	Referência
Nanopartícula de catequina / β -ciclodextrina	As nanopartículas apresentaram-se estáveis em pH 4-9 e forneceram liberação sustentada em condições gastrointestinais simuladas. Além disso, a encapsulação aumentou a estabilidade da atividade antioxidante.	Han et al., (2022)
Nanoemulsões de catequina	As nanoemulsões de catequinas apresentaram-se estáveis em diferentes condições de processamento de alimentos, como pasteurização, esterilização e processamento de alta pressão. A incorporação em leite de coco processado a alta pressão prolongou sua vida útil e preservou a atividade antioxidante.	Ruengdech e Siripatrawan (2021)
Nanopartícula à base de quitosana que carregou simultaneamente catequina e quercetina	As nanopartículas obtidas apresentaram eficiência de encapsulação de 76,36% para catequina e 52,23% para quercetina. Além disso apresentaram liberação sustentada e maior atividade antioxidante e antibacteriana, comparda aos fármacos livres.	Li et al., (2018)
Encapsulação de catequina em β -ciclodextrina	O estudo verificou a estabilidade através da atividade antioxidante da catequina livre e encapsulada frente diversas condições de armazenamento (pH e umidade relativa) e de modelos alimentares (óleo, açúcar ou proteína). A catequina livre foi sensível ao pH alcalino e elevada umidade relativa, porém a catequina encapsulada não foi. Além disso, a catequina livre apresentou elevada degradação em modelo de proteína seguida do açúcar, mas quando encapsulada retardou.	Ho et al. (2017)
Lipossomas de lecitina de soja incorporados com catequina ou galato de epigalocatequina	O lipossoma apresentou alta eficiência de encapsulação e rendimento. A incorporação dos polifenóis aumentou a temperatura de transição de fase acima de 50 °C. Além disso, apresentou elevada retenção em queijos com baixo teor de gordura.	Rashidinejad et al., (2014)
Nanopartículas de quitosana-tripolifosfato carregado de (+) - catequina e (-) - galato de epigalocatequina	No trabalho foi comparada a eficácia da utilização de agentes redutores com a nanoencapsulação e propriedade de proteção da catequina em pH 7,4, simulando regiões alcalinas do trato gastrointestinal. A nanoencapsulação protegeu a catequina em meio alcalino, assim como a aplicação de agentes redutores.	Dube et al., (2010)

Fonte: A autora (2022)

2.4 NANOENCAPSULAÇÃO

Nanopartículas são partículas sólidas de tamanhos inferior a 1000 nm (KIM et al., 2021), podendo ser encontradas de duas formas: nanocápsulas e nanoesferas (Figura 3). As nanocápsulas são formadas por uma membrana polimérica com núcleo oleoso, já as nanoesferas são compostas por partículas com matéria-prima sólida (GALINDO-PÉREZ et al., 2018). Uma das finalidades do processo de encapsulação é a proteção do material do ambiente externo, bem como de possíveis modificações da composição, melhora da estabilidade e solubilidade do material encapsulado, como a solubilidade de compostos hidrofóbicos em matrizes hidrofílicas (LI et al., 2018). Segundo Cerqueira et al. (2017), uma das vantagens desse sistema em nanoescala comparado à micro e macroescala, é a melhora da biodisponibilidade desses compostos bioativos, em função do comportamento bioadesivo, tempo de trânsito gastrointestinal, maior área de contato, consequentemente melhor absorção.

Figura 3 – Representação das nanopartículas poliméricas: nanocápsulas e nanoesfera.



a) nanocápsulas com fármaco dissolvido no núcleo oleoso; b) fármaco adsorvido na parede polimérica da nanocápsula; c) fármaco preso na matriz polimérica da nanoesfera; d) fármaco adsorvido na matriz polimérica da nanoesfera.

Fonte: (SCHAFFAZICK et al., 2003)

O ingrediente encapsulado pode ser liberado de duas formas, forçada ou controlada. A liberação forçada ocorre através da ruptura do material encapsulante em função de condições térmicas ou mecânicas. Já a liberação controlada processa-se pela degradação da membrana do agente encapsulante ou difusão do composto encapsulado pela membrana (SOUZA et al., 2014). Em relação ao processo de entrega o sistema em nanoescala traz maiores vantagens quando comparada a partículas maiores, uma vez que apresenta melhores propriedades de absorção, óticas, térmicas e melhor estabilidade. Assim, torna-se promissor o uso de

nanocápsulas na elaboração de novos produtos funcionais e de sistema de embalagens (CERQUEIRA et al., 2017).

Hadidi et al.(2021) observaram resultados positivos na encapsulação do óleo essencial de hissopo em nano-complexo de proteína de ervilha-quitosana, como a redução da taxa de evaporação dos componentes voláteis do óleo, bem como melhor atividade antioxidante e maior eficiência da atividade antifúngica quando comparada com o óleo não encapsulado, constatando maior proteção do óleo quando encapsulado. Fora isso, foi testado *in vivo* coberturas com as nanopartículas em morangos infectados com *Botrytis cinera*, verificando a eficácia no controle da deterioração e retardo dos sintomas da doença do mofo cinzento e crescimento do *B. cinera* no tempo de armazenamento. A deterioração na cobertura com as nanopartículas começou no oitavo dia, enquanto no grupo controle no quarto dia.

No trabalho de Wang et al. (2018) foi utilizado nanopartículas de quitosana/tripolifosfato carregadas com ácido ascórbico como alternativa ao conservante sorbato de potássio na produção de linguiça. O produto alimentício foi armazenado pelo período de 72 dias a 20 °C, onde foi verificado que a linguiça com nanopartículas apresentou níveis significativamente mais baixos de bactérias, fungos e leveduras sobreviventes em relação aos controles, o que foi também atribuído à liberação controlada do ácido ascórbico na matriz alimentar.

Para a escolha dos materiais na elaboração das nanocápsulas alguns pontos devem ser levados em consideração, como características físicas e químicas do núcleo e sua compatibilidade com a parede do agente encapsulante, como também, não ser solúvel e nem reativo com o núcleo. Além disso, fatores como porosidade e solubilidade da parede, viscosidade, propriedades mecânicas, capacidade de formação de filme e vítreo transição (SOUZA et al., 2014).

Os polissacarídeos são os mais utilizados para obtenção de sistemas nanoencapsulados, a exemplo de alginato, quitosana e goma arábica (TAN et al., 2016; CERQUEIRA et al., 2017). Nessa perspectiva, alguns trabalhos apresentaram resultados positivos na elaboração de nanopartículas utilizando quitosana e goma arábica como materiais de parede. No trabalho de Tan et al. (2016) estudaram a aplicação de nanopartículas de quitosana e goma arábica na entrega de curcumina, onde foi verificada sua eficácia na encapsulação, estabilização e liberação controlada no trato gastrointestinal da curcumina. Além disso, a encapsulação aumentou a capacidade antioxidante do composto bioativo.

No estudo de Kim et al. (2019), foi constatado que as nanopartículas de quitosa e goma arábica carregadas com quercetina apresentaram maior adesão celular intestinal comparada à quercetina não encapsulada, e, conseqüentemente, maior absorção intestinal da quercetina encapsulada. Em virtude disso, apresentou maior atividade antioxidante *in vivo* comparada a quercetina livre.

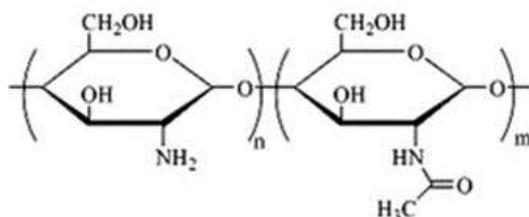
Han et al. (2020) produziram nanopartículas de quitosana e goma arábica com o objetivo de melhorar a estabilidade da emulsão Pickering (que são estabilizadas por partículas sólidas) contendo curcumina. Verificou-se que a maior incorporação de nanopartículas proporcionava maior estabilidade à emulsão. Além disso, as nanopartículas melhoraram a incorporação da curcumina, bem como maior propriedade de liberação controlada da molécula quando comparada a emulsão estabilizada com nanopartículas utilizando outros polímeros.

2.5 POLÍMEROS NATURAIS ENCAPSULANTES

2.5.1 Quitosana

A quitosana é um polímero natural de estrutura linear (Figura 4) de 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glicopirranose e 2-amino-2-desoxi- β -D-glicopirranose, que se ligam através de ligações (1 \rightarrow 4) - β -glicosídicas, podendo ser obtido através da desacetilação termoquímica da quitina. Esse processo ocorre por meio da purificação da quitina, através da acidificação e alcalinização das moléculas (DASH et al., 2011; RASHKI et al., 2021).

Figura 4 – Estrutura da quitosana



Fonte: (DASH et al., 2011)

A quitina pode ser encontrada em exoesqueletos de insetos, crustáceos e parede celular de fungos. Entretanto, algumas espécies de fungos como *Mucoraceae*, produzem naturalmente a quitosana em sua parede celular (DASH et al., 2011). A produção de quitina e quitosana por fungos torna-se uma alternativa

ecossustentável de obtenção do polímero, uma vez que esses fungos podem ser cultivados a partir de matérias-primas, como resíduos agroindustriais, assim reduzindo o custo da sua produção. Além disso, não dependem da sazonalidade, e não apresentam proteínas que desencadeiam reações alérgicas, tornando-se uma alternativa para indivíduos com alergias a crustáceos, bem como para aqueles que não consomem produtos de origem animal como os vegetarianos (GHORMADE; PATHAN; DESHPANDE, 2017; POVERENOV et al., 2018).

A quitosana é um polissacarídeo catiônico, de elevada adesão e biocompatibilidade, apresenta estrutura que permite excelentes características físico-químicas para aplicação em diversos campos da ciência e tecnologia, como na biomedicina, indústria química, farmacêutica e alimentícia, sendo declarado pela FDA dos EUA como geralmente reconhecido como seguro (GRAS) (DASH et al., 2011; RASHKI et al., 2021). Este polímero pode apresentar diferentes graus de desacetilação e de pesos moleculares, os quais estão diretamente associados à presença do grupamento amino, bem como a fonte. Essas variáveis atribuem a quitosana regulação de suas características físico-mecânicas e biológicas (DASH et al., 2011; RASHKI et al., 2021). O peso molecular está relacionado a degradação e solubilidade do polissacarídeo e, os níveis de desacetilação estão ligados à toxicidade, hidrofobicidade e solubilidade. Na produção de nanocápsulas de quitosana o grau de desacetilação e peso molecular são importantes, pois estão associados ao tamanho e a carga das partículas (RASHKI et al., 2021).

O caráter básico da quitosana contribui para insolubilidade em ambiente aquoso, além disso a existência de grupos amino, acetil e hidroxila na estrutura e o pK_a entre 6,2 e 7,0, fazem com que a quitosana seja insolúvel em meio neutro ou em pH elevado (KURAKULA; NAVEEN, 2020). Em função dos grupos polares presentes na cadeia, como OH e NH_2 , sua carga pode ser alterada em função do pH do meio, e conseqüentemente suas propriedades (DASH et al., 2011; DA ROSA et al., 2013). Assim, em pH superior a 6, as aminas perdem seus prótons passando a ser carregada negativamente e tornando-se insolúvel. Em contrapartida, em pH menores as aminas recebem prótons, tornando-se carregadas positivamente, o que a torna solúvel em água (DASH et al., 2011).

A quitosana apresenta diversas atividades biológicas importantes como antioxidante, antitumoral, imunomoduladora e antimicrobiana. A atividade antimicrobiana tem o poder inibitório sobre bactérias, fungos e alguns vírus, ainda

não estando bem estabelecido qual o mecanismo de ação. Contudo alguns autores sugerem certos mecanismos que são aceitos, como: rompimento da parede celular, e, conseqüentemente, a morte do microrganismo, através da interação entre a carga positiva da quitosana e a negativa da parede celular microbiana (MOREIRA; ROUCE; PONCE, 2011). Outro mecanismo é a ação quelante sobre alguns íons metálicos, inibindo a produção de toxinas e o crescimento do microrganismo (YOUNES et al., 2014). Uma outra ideia é a penetração da quitosana no núcleo do microrganismo, trazendo como consequência interação com o DNA e, assim, a inibição do RNA_m e de proteínas (WANG; XUE; MAO, 2020).

No trabalho de Poverenov et al. (2018) foi estudada a produção de quitosana fúngica produzidas a partir de resíduos de cogumelos, o qual observou ação antimicrobiana apresentando inibição do crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli*. Além disso, foi aplicado como revestimentos comestíveis sobre melões minimamente processado, verificando menor contagem de bactérias aeróbias, bolores e leveduras, comparados com o controle durante onze dias. Também foi observada a manutenção da textura, redução do acúmulo de CO₂ e concentração de vapor de etanol em função do efeito antimicrobiano do revestimento de quitosana. Moreira, Rouce e Ponce (2011) pesquisaram a aplicação da quitosana como revestimento em brócolis minimamente processado, verificando inibição de bactérias aeróbicas mesófilas, psicrotróficos e coliformes durante o armazenamento. Também foi verificado o efeito bactericida sobre *E. coli* inoculada nos brócolis.

A atividade antimicrobiana pode ser alterada mediante alguns fatores como peso molecular, grau de desacetilação e pH do meio (YOUNES et al., 2014). Os fatores peso molecular e desacetilação, também são importantes na atividade antioxidante da quitosana e seus derivados. Além disso, os grupos hidroxilas presentes na estrutura contribuem com a atividade, uma vez que reagem com o grupo OH por meio da substituição do hidrogênio, após a reação do OH com NH₂ livre, assim formando macromoléculas estáveis (WANG; XUE; MAO, 2020).

Já na obtenção de sistemas nanoencapsulados a quitosana estabelece ligações covalentes ou iônicas com o material encapsulado, assim, o composto fica retido em uma espécie de rede, fazendo com que o material seja liberado de maneira controlada (SOUZA et al., 2014). A eficiência de nanopartículas na entrega de alguma substância como fármaco, pode ser amplificada em função de alterações

nas suas características físico-química, como a adição de um ou mais polímeros (RASHKI et al., 2021). Um polímero que está sendo amplamente utilizado para obtenção de nanocápsulas pela associação com a quitosana é a goma arábica, uma vez que a diferença de carga entre os polímeros promove por coacervação a reticulação (TAN et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018; KIM et al., 2019; HAN et al. 2020; KIM et al., 2021).

2.5.2 Goma arábica

As gomas são substâncias de natureza orgânica, hidrofílicas e hidrofóbicas à solventes orgânicos. Suas principais características são ausência de toxicidade, sabor, cor e aroma. Diversas fontes podem dar origem a essas gomas, como algas marinhas, fungos, animais e plantas. Dentre as gomas comerciais de origem de plantas, destaca-se a goma arábica (TAHERI; JAFARI, 2019), que é uma matéria-prima natural extraída de exsudatos da árvore de *Senegalia senega* ou da árvore *Acacia senegal*, sendo o produto obtido após a secagem (TAN et al., 2016, SABET et al., 2021).

Em função das suas propriedades tecnológicas, como emulsificante, agente de textura, suspensão, de revestimento e encapsulante, a goma arábica tem atraído atenção para aplicação em diversas áreas, como nas indústrias farmacêuticas e de alimentos (TAN et al., 2016). Suas principais aplicações em produtos alimentícios são como aditivo, prevenindo a cristalização do açúcar, assim podendo ser aplicado em bebidas e produtos de confeitaria, como também para emulsificação de alimentos, estabilizante de espuma, encapsulação de agentes de sabor e aroma, estabilidade coloidal de vinhos, evitando a precipitação dos pigmentos, e para panificação (PADIL et al., 2018; TAHERI; JAFARI, 2019). Além disso, é considerada pela American Food and Drug Administration como ingrediente seguro para consumo humano (AL-BAADANI et al., 2021).

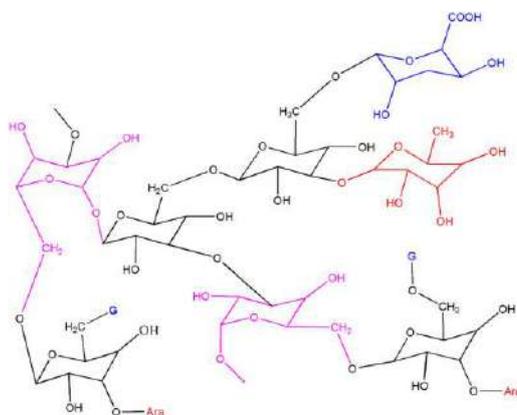
A goma arábica possui alto conteúdo de fibras alimentares do tipo solúvel, sendo uma grande fração fermentável, aproximadamente 850 g/kg. Assim, pode atuar como prebiótico, conferindo benefícios à saúde do consumidor (AL-BAADANI et al., 2021). Fora isso, também é relatado que o polímero apresenta ação antimicrobiana e antioxidante (EL-ADAWY et al., 2021). Atualmente, a goma arábica também tem sido estudada para aplicação como revestimento comestível. Tahir et al. (2018) verificou a aplicação em morangos, demonstrando aumento na vida útil

pós-colheita dos frutos preservando características, como cor, pH, firmeza da fruta, perda de peso e atividade antioxidante. Ali et al. (2013) observaram que o revestimento em tomates retardou o processo de amadurecimento e preservou a capacidade antioxidante.

A goma arábica apresenta estrutura ramificada (Figura 5), contendo cátions metálicos, cálcio, magnésio, potássio e um polissacarídeo complexo. A base molecular engloba partes β -D-galactopiranosil e segmentos α -L-arabinofuranosil, α -L-ranopiranosil, β -D-glucuronopiranosil e 4-O-metil- β -D-glucuronopiranosil. Sua estrutura é formada por três frações moleculares: arabinogalactano-peptídeo (aproximadamente 85-90% do seu peso), proteína arabinogalactana (aproximadamente 10% do seu peso) e glicoproteína (cerca de 2% do seu peso) (PADIL et al., 2018). Apresenta em sua composição cerca de 90% a 95% de carboidratos e aproximadamente, 1% a 3% de proteínas. Os principais aminoácidos presentes são serina, prolina, ácido aspártico, treonina e hidroxiprolina (SABET et al., 2021).

A goma arábica é estável em pH ácido e solúvel em água fria, apresenta fluxo newtoniano em solução com pH na faixa de 4,5 a 5,0. Além disso, comparada a outras gomas, a goma arábica apresenta baixa viscosidade, tornando-se mais viscosa em concentração entre 30% a 50% (TAHERI; JAFARI, 2019).

Figura 5 – Estrutura química da goma arábica



Ara: arabinose; G: galactose

Fonte: (ALI; NADA; AL-MOGHAZY, 2021)

A goma arábica apresenta grupos carboxil (COOH) e, quando dissolvida em pH neutro, sua estrutura torna-se aberta e ocorre dissociação dos íons hidrogênio (H^+), tornando-se negativo (COO^-), conseqüentemente, deixando mais sítios de interação disponíveis. Essa característica pode contribuir para capacidade de formação de filme viscoelástico e de superfície, bem como permite uma boa interação com outros polímeros de carga oposta, como a quitosana, através da interação eletrostática intermolecular para formação de complexos de polieletrólitos (TAN et al., 2016; KIM et al., 2019; TAHERI; JAFARI, 2019).

2.6 COACERVAÇÃO

A coacervação consiste na separação em duas fases líquidas de coloides, devido as condições do meio, como pH, temperatura, força iônica e solubilidade. A fase mais concentrada conhecida como “ricas em polímeros”, contém o coacervato. A outra fase é chamada de “pobres em polímeros” é composta pela solução de equilíbrio. A reação ocorre em solução aquosa com substâncias de cargas opostas (EGHBAL; CHOUDHARY, 2018; TIMILSENA et al., 2019).

A coacervação pode ser dividida em simples e complexa. Na simples apenas um polímero está envolvido no processo, os coacervados são obtidos pela desidratação causada pela adição de um sal ou líquido de dessolvatação, como álcool e acetona, que são também conhecidos como agentes da coacervação. Nesse processo, é alcançada uma fase com alta concentração da macromolécula e outra fase com alta proporção de água. Já a coacervação complexa, ocorre com a interação eletrostática entre os dois tipos de biopolímeros carregados com cargas oposta em um único solvente, mas que ficam separadas em duas ou mais fases, onde cada fase encontra-se os dois polímeros utilizados. Nesse processo existe um equilíbrio eletrostático na fase concentrada. Um dos fatores determinantes para a reação na coacervação complexa é a interação eletrostática entre as moléculas, no entanto, forças intermoleculares de Van Der Waals e interações hidrofóbicas, desempenham papéis importantes no método (EGHBAL; CHOUDHARY, 2018; TIMILSENA et al., 2019).

A coacervação complexa pode ser aplicada na produção de filmes de embalagens, emulsões ou géis de alimentos e nanocápsulas (EGHBAL; CHOUDHARY, 2018). No processo de encapsulação em micro e nanoescala, a técnica tem sido considerada uma das mais efetivas. Na encapsulação de

ingredientes alimentícios, normalmente são utilizados biopolímeros de cargas opostas, como as proteínas e polissacarídeos, onde esse ingrediente fica envolvido na membrana formada pelos dois biopolímeros (TIMILSENA et al., 2019).

Alguns fatores influenciam o processo de coacervação, como pH do meio, concentração de polímeros, densidade das cargas, peso molecular e temperatura. O pH e o grau de ionização de algumas moléculas são importantes para sua complexação, como na interação de proteínas e polissacarídeos, em função dos seus grupos funcionais, amino e carboxila respectivamente, sendo necessário o controle do pH. No entanto, esse controle de pH ideal é diferente para cada sistema de biopolímero. Outra condição relevante é a concentração de sal no meio, uma vez que elevadas quantidades enfraquecem a ligação eletrostática entre os polímeros. A alta concentração de polímeros suprime o movimento das moléculas, assim diminuindo o ganho de energia na coacervação, sendo considerado um fator negativo. O peso molecular dos polímeros da reação é relevante para o produto desejado. Elevado peso molecular formam géis ou autoprecipitado, já os polímeros com peso molecular muito baixo interagem entre si por emparelhamento iônico inibindo a coacervação. Já a baixa temperatura pode aumentar a interação entre solvente e solutos, aumentando o processo. Além disso, um fator importante que determina o tamanho do coacervado é a sua taxa de agitação durante o processo (TIMILSENA et al., 2019).

A técnica de coacervação complexa tem sido efetiva na elaboração de nanopartículas para indústria farmacêutica, eletrônica, têxteis e de alimentos (TIMILSENA et al., 2019). Alguns compostos hidrofóbicos e hidrofílicos, como fármacos, vitaminas, pigmentos, compostos polifenólicos e lipídeos, tem sido encapsulados com sucesso pela coacervação complexa utilizando a quitosana como material de parede (TIMILSENA et al., 2019; AKBARI-ALAVIJEH; SHADDEL; JAFARI, 2020). Diante do exposto, a encapsulação de ingredientes, como o óleo da semente de uva e da catequina, por coacervação complexa pode ser eficaz na produção de um nanossistema com propriedades funcionais para aplicação como um ingrediente funcional para indústria alimentícia.

3 HIPÓTESE

As nanopartículas de quitosana fúngica e goma arábica contendo óleo da semente de uva (*Vitis vinífera*) e catequina, obtida pela técnica de coacervação, apresentam-se estáveis, com tamanho nanométrico, baixo PDI, potencial zeta positivo e bom índice de encapsulação. Além de manter a estabilidade térmica da catequina encapsulada e apresentar atividade antimicrobiana frente a bactérias patogênicas de origem alimentar.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar nanopartículas de quitosana fúngica e goma arábica contendo catequina e óleo da semente de uva (*Vitis vinífera* L.), bem como avaliar sua atividade antimicrobiana.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar e caracterizar as nanopartículas de quitosana- goma arábica contendo óleo da semente de uva (*Vitis vinífera* L.) e catequina;
- Avaliar a eficiência de encapsulação nanopartículas contendo o catequina;
- Avaliar a estabilidade a longo prazo das nanopartículas obtidas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das nanopartículas obtidas.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), no Laboratório de Microbiologia Aplicada (LAMA_p) do Departamento de Medicina Tropical (LAMA_P) e na Central Analítica do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Polímeros e Nanoestrutura do Departamento de Energia Nuclear, ambos localizados na Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE. Também foram realizadas algumas análises no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA), localizados no Campus I da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB.

5.1 MATERIAIS

O óleo da semente de uva (*Vitis vinífera* L.) (lote 0363) extraído por prensagem a frio, foi obtido da empresa Indústria Brasileira Serra da Mantiqueira (São Lourenço/MG). O (+) – hidrato de catequina ($\geq 96\%$ de pureza) e Tween 80(HLB 14,9) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (França). A quitosana fúngica extraída de *Aspergillus niger* geneticamente não modificado foi obtido da Chibio® (China) com grau de desacetilação de $85 \pm 5 \%$ e baixo peso molar (80 ± 10 KDa), goma arábica adquirida da empresa Dinâmica Química Contemporânea LTDA (Brasil), Ácido Acético Glacial P.A obtido da empresa Êxodo científica (Sumaré/SP) e o metanol P. A. obtida da empresa NEON (Suzano/SP). Água ultrapura foi obtida de um sistema de purificação Millipore (Milli-Q plus, Millipore, St Quentin em Yvelines, França).

5.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES DOS POLÍMEROS

A quitosana foi dissolvida em solução de ácido acético (1% v/v), a qual foi deixada sob agitação magnética (500 rpm) 17 horas, obtendo a solução de quitosana (1% p/v, pH ~4,0). Paralelamente, foi preparada uma solução de goma arábica (2% p/v, pH ~5,0) em água Milli-Q, ficando sob agitação magnética (500 rpm) até completa dissolução.

5.3 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA ARÁBICA CONTENDO CATEQUINA E ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (*Vitis vinífera* L.)

As nanopartículas contendo óleo da semente de uva (NP-OSU) e catequina (NP-OSU-Cat-1) foram preparadas pela técnica de coacervação complexa, seguindo as metodologias propostas por Tan et al. (2016) e Dube et al. (2010), com adaptações. Resumidamente, diferentes proporções catequina:ácido ascórbico (1:1; 1:2 e 1:3,52) (p/p) foram adicionados à 15 mL da solução de quitosana (1% p/v), previamente preparada como descrito anteriormente no tópico 5.2, sob agitação magnética (500 rpm) até estar bem dissolvido, aproximadamente 30 minutos. Posteriormente, foram adicionados o Tween 80 e o óleo da semente de uva sob agitação em Ultraturrax (T25, IKA, Alemanha) a 9500 rpm por 5 minutos. Em seguida, esse sistema ficou sob agitação magnética (500 rpm) por 30 minutos. Após, 15 mL da solução de goma arábica (2% p/v) foi adicionada à suspensão coloidal previamente formada (quitosana- catequina- ácido ascórbico- óleo -Tween 80) por gotejamento, com o auxílio de uma seringa adaptada a uma ponteira, permanecendo sob agitação magnética (700 rpm) por 30 minutos, sendo, em seguida centrifugada a 2000 rpm por 10 minutos. As nanopartícula sem catequina (NP-OSU) foram preparadas conforme descrito anteriormente, mas sem adição do polifenol. Após o preparo, as nanopartículas foram protegidas da luz e mantidas em armazenamento a 4 °C durante todo o período do experimento.

Tabela 2 – Composição das formulações.

FORMULAÇÃO	POLÍMEROS (material de parede)				OSU (mg)	Tween 80 (mg)	CAT:AA (p/p)	CAT (mg)	AA (mg)
	POL:OSU (p/p)	QF (mg)	GA (mg)	Total (mg)					
NP-OSU	1:0,50	150	300	450	225	130	-	0	0
NP-OSU-Cat-1	1:0,50	150	300	450	225	130	1:1	30	30
NP-OSU-Cat-2	1:0,50	150	300	450	225	130	1:2	30	60
NP-OSU-Cat-3	1:0,50	150	300	450	225	130	1:3,52	30	105,6

POL: polímero, OSU: óleo da semente de uva, QF: quitosana fúngica, GA: goma arábica, CAT: catequina, AA: ácido ascórbico, - sem proporção da catequina e ácido ascórbico.

Fonte: A autora (2022)

A estabilidade das nanopartículas desenvolvidas ocorreu através da avaliação das análises de tamanho de partícula (TP), índice de polidispersidade (PDI), potencial zeta (PZ), pH, e também pela inspeção visual dos aspectos macroscópicos, como descrito nos tópicos seguintes. As amostras foram armazenadas sob refrigeração (4°C) e analisadas durante 30 dias (0,15, 21 e 30 dias) para as formulações NP-OSU e NP-OSU-Cat e 16 dias (1, 4, 8, 12 e 16 dias) para as formulações NP-OSU-Cat-1, NP-OSU-Cat-2 e NP-OSU-Cat-3, para acompanhar possíveis mudanças nos parâmetros.

No presente estudo, inicialmente foram desenvolvidas e avaliadas a estabilidade das nanopartículas contendo OSU (NP-OSU), posteriormente as nanopartículas contendo catequina (NP-OSU-Cat), que subsequentemente foi formulada com adição do ácido ascórbico, devido à oxidação. Três formulações com diferentes razões (p/p) catequina:ácido ascórbico (Tabela 2) foram obtidas e avaliadas quanto a estabilidade, sendo escolhida a formulação NP-OSU-Cat-1 para caracterização e realização da análise antimicrobiana.

5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS

5.4.1 Aspectos macroscópicos

Os aspectos macroscópicos foram avaliados visualmente. Foram analisadas características como a cor, mudança de cor ao longo dos dias (oxidação da catequina), translucência azulada, separação de fases, presença de óleo livre na superfície ou aderidas ao frasco, formação de cremagem, grumos e sedimentação de resíduos (CAVALCANTI et al., 2015).

5.4.2 Análise do tamanho de partículas

A determinação do diâmetro médio hidrodinâmico das nanocápsulas foi realizada usando o equipamento Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd, Orsay, França) pela técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), a 25 ° C com ângulo disperso fixado a 90° e comprimento de onda de 633 nm. As amostras foram diluídas (1:10), em de água Milli® Q filtrada (Millex® 0,22 µm) antes da análise. A amostra diluída foi transferida para a cubeta de poliestireno para determinação de tamanho de partícula (TP) e índice de polidispersidade (PDI). As determinações

foram repetidas três vezes e os resultados expressos como média \pm desvio padrão (TAN et al., 2016).

5.4.3 Determinação do potencial zeta

O potencial zeta das nanocápsulas foi realizado através da medição da determinação da mobilidade eletroforética (Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd, Orsay, França) a 25 ° C. As amostras foram diluídas (1:10) em água Milli® Q filtrada (Millex® 0,22 μ m) antes da análise. As determinações de mobilidade eletroforética foram instantaneamente convertidos em potencial Zeta (mV), as medições foram repetidas três vezes e os resultados expressos em média \pm desvio padrão (TAN et al., 2016).

5.4.4 pH das nanopartículas

A avaliação do pH das suspensões de nanopartículas foi realizado através pHmetro digital PHS3BW (Bel Engineering, Monza, Itália) acoplado com eletrodo de vidro e sensor de temperatura, a 25°C .

5.4.5 Determinação da Eficiência de Encapsulação (EE%)

Inicialmente foi obtida a curva de calibração da catequina para obtenção do seu gradiente de concentração (Equação 1). Para tanto, diferentes concentrações de soluções de catequina 30, 20, 10, 5 e 2 μ g/mL, obtidas através da dissolução do polifenol em metanol, foram utilizadas como padrão. As leituras foram realizadas usando espectrofotômetro UV-vis (Ultrospec® 3000, Armsham Pharmaceutical) a 280 nm.

$$Y=0,015X + 0,00759, R^2=0,999 \quad (1)$$

Onde: Y é a absorvância da solução de catequina e X é a concentração de catequina em μ g / ml. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão.

A eficiência de encapsulação da catequina nas nanopartículas foi realizada pela técnica de ultrafiltração-centrifugação proposta por Valencia et al. (2021), com

adaptações. Resumidamente, 400µL das nanopartículas contendo catequina sem adição do ácido ascórbico (NP-OSU-Cat) foram inseridas em unidades filtrantes (Amicon Ultra-10.000 Da, Millipore®) e centrifugadas a 10000 rpm por 60 minutos a 4 °C (Tomy Seyko TX-160 , Rotor TMA-24). O ultrafiltrado (CL) e a suspensão de nanopartículas contendo catequina (CT), separadamente, foram diluídas em metanol e a catequina quantificada usando espectrofotômetro UV-vis (Ultrospec® 3000, Armsham Pharmaceutical) a 280 nm. A concentração da catequina foi calculada usando a Equação 1.

A eficiência de encapsulação (EE%) da catequina foi calculada usando a seguinte equação (2):

$$EE\% = \frac{CT - CL}{CT} \times 100 \quad (2)$$

Onde: CT é concentração da catequina (µg / ml) obtida da suspensão de nanopartículas contendo catequina e CL é a concentração de catequina livre (µg / ml) obtida no ultrafiltrado.

5.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia da superfície das nanopartículas NP-OSU-Cat-1 foi observada com microscópio eletrônico de varredura EVO LS15 (ZEISS, Oberkochen, Alemanha) em diferentes ampliações. A suspensão de nanopartículas foi gotejada e fixada em um suporte metálico com fita adesiva dupla-face de carbono, secas em temperatura ambiente pelo período de 24 horas e revestidas com ouro-paládio após o período. As amostras revestidas foram visualizadas no microscópio eletrônico de varredura operando a uma voltagem de aceleração de 10 kV e magnificação entre 5.000 e 20.000x. A análise seguiu a metodologia de Ahmed et al. (2019) com adaptações.

5.4.7 Estrutura química

Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da catequina, óleo da semente de uva, quitosana, goma arábica e das nanopartículas (NP-OSU e NP-OSU-Cat-1, previamente liofilizadas) foram registrados em espectrofotômetro FT-IR (modelo 4600, Jasco, Japão) acoplado aos acessórios de refletância atenuada Pro One (FT-IR-ATR) com ângulo de incidência central de 45 °, com objetivo de

analisar suas estruturas química e possíveis interações entre eles. Para tanto, as amostras foram trituradas com brometo de potássio (KBr) e pastilhas foram formadas para realizar a medição. Os espectros foram varridos na região entre 4.000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . A análise seguiu a metodologia proposta por Li et al.(2018).

5.4.8 Análise térmica

A estabilidade térmica da catequina óleo da semente de uva, quitosana, goma arábica e das nanopartículas NP-OSU e NP-OSU-Cat-1, previamente liofilizadas) foram avaliadas através das análises de termogravimetria (TGA) e de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Para análise de TGA utilizou-se um analisador térmico (TGA 50-H). Aproximadamente 5 mg de cada material foi colocado em cadinhos de platina e aquecidos de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $900\text{ }^{\circ}\text{C}$, a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, sob atmosfera de nitrogênio $50\text{ mL}/\text{min}$ (VALENCIA et al.;2021).

Na análise de DSC foi utilizado o analisador térmico (DSC-50, Mettler Toledo, Suíça). Para isso, 2 mg de cada amostra foram aquecidas em cadinhos de alumínio na faixa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $450\text{ }^{\circ}\text{C}$, a uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, com um fluxo de nitrogênio de $50\text{ mL}/\text{min}$ (VALENCIA et al.;2021).

5.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

5.5.1 Cepas e preparação dos inóculos

As bactérias patogênicas veiculadas por alimentos Gram positivas (*Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 15656, *Enterococcus faeciu* ATCC 19433, *Listeria monocytogenes* ATCC 7664) e Gram negativas (*Salmonella enteric subsp. enterica serovar typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922) foram cedidas pela coleção de microrganismos do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), pertencente ao departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife/PE.

As bactérias foram cultivadas em caldo Brain Heart Infuion (BHI) e incubadas por 24 horas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após este período, $100\text{ }\mu\text{L}$ de cada linhagem de bactérias foram adicionadas a solução salina 0,9% estéril. A concentração dos pré-inóculos foram padronizados de acordo com a escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8\text{ UFC}/\text{mL}$).

5.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A avaliação da atividade antibacteriana do OSU, CAT e das nanopartículas com e sem CAT baseou-se na obtenção da CIM dessas substâncias frente as bactérias patogênicas citadas no item 5.5.1. Para tanto foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo utilizando uma placa de 96 poços e seguiu a metodologia citada por Valencia et al. (2021), com adaptações.

Para esse teste, o OSU foi emulsificado na concentração utilizada nas formulações NP-OSU e NP-OSU-Cat-1 (7,5 mg/mL). Essa solução foi preparada com água destilada estéril, Tween 80 1% (p/p) e DMSO 1% (p/p). Na sequência foi homogeneizado por 3 minutos em ultraturrax na velocidade de 9500 rpm. A água ultra-pura para preparação das nanopartículas e soluções, bem como as vidrarias para o preparo foram previamente esterilizadas por calor úmido em autoclave.

Adicionou-se em cada poço as substâncias testes OSU, CAT, NP-OSU e NP-OSU-Cat-1 (em cada amostra o volume variou de 60 μ L a 10 μ L) e posteriormente o caldo BHI (variado de 20 μ L a 70 μ L) e o inóculo (20 μ L em cada poço) de cada uma das bactérias, de forma que o volume final de cada poço fosse de 100 μ L. A concentração final nos poços de cada substância teste variou OSU (0,75 a 4,50 mg/mL), CAT (0,10 a 0,60 mg/mL), NP-OSU (0,75 a 4,50 mg/mL para OSU) e NP-OSU-Cat-1 (0,75 a 4,50 mg/mL para OSU e de 0,10 a 0,60 mg/mL de CAT). A fim de garantir o controle de esterilidade e controle, negativo, alguns poços foram preenchidos com meio de cultura e substâncias teste e outros completados apenas com meio e inóculo, respectivamente. Em seguida, o sistema foi agitado suavemente, e incubado por 24 horas a 37 °C. Após o período de incubação, foram adicionados 30 μ L de resazurina, preparada em solução aquosa (0,01%), em todos os poços e reincubadas a 37 °C por 60 minutos. O crescimento foi observado pela mudança de cor de roxo escuro (células inviáveis) para rosa (células viáveis). Onde, a CIM foi verificada na concentração mais baixa onde ocorreu a inibição do crescimento microbiano. O teste foi realizado em duplicata.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se testes de estatística descritiva (média e desvio padrão).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E GOMA ARÁBICA CONTENDO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA (*Vitis vinífera* L.) E CATEQUINA

A técnica utilizada para elaboração das nanopartículas no presente trabalho foi a coacervação complexa. O processo consiste em duas etapas, sendo a primeira é caracterizada pela formação da emulsão com o óleo e a quitosana com a adição da catequina. Segundo Butstraen e Sabaün (2014) essa etapa determina o tamanho nanossistema, o qual pode estar relacionado com fatores como velocidade de agitação, volume e composição química das duas fases (polímero e óleo). A segunda etapa ocorre pela formação das partículas coacervadas resultantes da interação iônica entre os dois polímeros, por meio dos grupos amins presentes na estrutura da quitosana e de grupos carboxilas da goma arábica.

Inicialmente, nanopartículas contendo OSU foram desenvolvidas e avaliadas durante 30 dias (0,15, 21 e 30 dias) para determinar a estabilidade (Tabela 3).

Tabela 3 – Estabilidade das nanopartículas de quitosana fúngica / goma arábica contendo óleo de semente de uva (*Vitis vinífera*).

FORMULAÇÃO	DIAS	TP	PDI	PZ	pH
		(nm±DP)		(mV±DP)	
NP-OSU	0	155,7±1,65	0,267	+16,93±5,58	4,23±0,06
	15	155,7±1,59	0,276	+23,00±1,65	4,33±0,06
	21	149,2±1,50	0,256	+19,76±18,10	4,20±0,17
	30	162,2±1,73	0,275	+26,17±1,63	4,27±0,12

NP-OSU: nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo da semente de uva; TP: tamanho de partícula; PDI: índice de polidispersão; PZ: potencial zeta. Resultados representados como valor médio ± desvio-padrão.

Fonte: A autora (2022).

Verificou-se que a formulação obtida utilizando a proporção 1:0,5 (p/p) de polímero:óleo permaneceu estável durante o período analisado, mantendo TP, PDI e pH com valores próximos ao longo do armazenamento, além do potencial zeta positivo. O TP apresentou diâmetro médio menor comparado a outros estudos de nanopartículas de quitosana contendo óleo, como para as nanopartículas de quitosana e óleo essencial de manjeriço 241,8 nm a 373,4 nm (CAI et al., 2022) e nanopartículas de quitosana contendo óleo essencial de orégano 309,8 nm a

402,2 nm (HOSSEINI et al., 2013). O PDI foi abaixo de 0,276 mantendo-se com valores próximos durante o período, indicando baixa variação no TP e diâmetro médio uniforme (CAI et al., 2022). O PZ apresentou carga positiva com intervalo de +16,93 mV a +26,17 mV, resultado semelhante a outros trabalhos sobre nanopartícula de quitosana contendo óleo. No trabalho de Mondéjar-Lopez et al. (2022) com nanopartículas de quitosana contendo óleo essencial de alho mostrou a mesma tendência +19,8 mV a +32,6 mV, o mesmo foi verificado na pesquisa de Cai et al. (2022) com nanopartículas de quitosana e óleo essencial de manjeriço +24,9 mV a +34,5 mV.

Em relação aos aspectos visuais, a suspensão apresentou coloração leitosa levemente azulada, indicativo de formação de nanopartículas, sem formação de cremagem e sem presença de gotículas de óleo na superfície.

A partir dos resultados obtidos com a NP-OSU, foi produzida uma nova formulação com adição de um novo composto, a (+) – catequina, a qual também foi avaliada quanto ao TP, PDI, PZ e pH, além dos aspectos visuais como cor, formação de cremagem e presença de gotículas de óleo, durante 30 dias.

Tabela 4 – Estabilidade das nanopartículas de quitosana fúngica / goma arábica contendo óleo de semente de uva (*Vitis vinifera*) e catequina.

FORMULAÇÃO	DIAS	TP	PDI	PZ	pH
		(nm±DP)		(mV±DP)	
NP-OSU-Cat	0	154,3±6,47	0,298	+14,40±0,90	3,90±0,17
	15	166,16±0,41	0,289	+23,00±0,61	4,03±0,12
	21	164,06± 1,62	0,272	+28,40±0,26	3,93±0,12
	30	178,16±6,008	0,290	+29,09±0,71	4,03±0,15

NP-OSU-Cat: nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina; TP: tamanho de partícula; PDI: índice de polidispersão; PZ: potencial zeta. Resultados representados como valor médio ± desvio-padrão.

Fonte: A autora (2022).

O TP variou de 154,3 nm a 178,16 nm, esse aumento no TP ao longo do tempo pode estar relacionado ao intumescimento da camada de quitosana (HOSSEINI et al., 2013). A faixa de TP nos resultados obtidos são favoráveis, uma vez que partículas com tamanhos inferiores a 500 nm parecem ter melhor adesão a superfícies das células intestinais (DUBE et al., 2010). Devido a esse

comportamento bioadesivo os compostos encapsulados podem apresentar melhor biodisponibilidade (CERQUEIRA et al., 2017). Comparando-se as nanopartículas com OSU (NP-OSU) e com catequina (NP-OSU-Cat) verificou-se que as nanopartículas durante o período de 30 dias apresentaram TP com valores próximos.

O PDI ficou no intervalo de 0,272 a 0,298. O PDI pode ter valores entre 0 e 1, sendo que valores iguais ou acima de 0,4 indicam baixa homogeneidade das partículas (VALENCIA et al., 2021). Assim, os resultados foram positivos apresentando distribuição do tamanho de partícula homogênea na formulação. O resultado obtido também é semelhante ao encontrado para formulação NP-OSU.

O pH da formulação ficou na faixa de 3,90 a 4,03 durante o tempo de armazenamento. Esses resultados são semelhantes a faixa de pH ideal de outras pesquisas com nanopartículas de quitosana e goma arábica (ESPINOSA-ANDREWS et al., 2007; TAN et al., 2016). Espinosa-Andrews e colaboradores (2007) verificaram que no pH entre 3,5 e 5,0 coacervatos de quitosana-goma arábica apresentaram melhor rendimento, o qual pode estar relacionado ao equilíbrio estequiométrico da densidade de cargas dos polímeros.

O PZ mede a carga em mV da superfície das nanopartículas. A nanopartícula apresentou PZ com carga positiva, assim como foi observado para a formulação NP-OSU. A formulação (NP-OSU-Cat) apresentou PZ compreendido entre +14,40mV a +29,09 mV, fator importante para estabilidade da suspensão, visto que a carga superficial mais elevada pode impedir que as nanopartículas se agreguem e formem partículas maiores, devido a redução das forças de Van Der Waals ou movimento browniano (AHMAD et al., 2019; VALENCIA et al., 2021). No entanto, a formulação apresentou variação do PZ ficando mais positivo ao longo do tempo. Um dos possíveis motivos para variação do PZ está relacionada com a mudança iônica do meio (OLIVEIRA et al., 2018). Além disso, a interação da catequina e quitosana através de ligações covalente e de hidrogênio pode acarretar no aprisionamento da catequina não apenas na matriz da nanopartícula, como também adesão na parte mais superficial, o que pode promover essa variação no potencial zeta (LIU et al., 2018).

Quanto aos aspectos macroscópicos não foi observada a presença de cremagem, grumos ou gotículas de óleo na suspensão. No entanto, foi observada a mudança de cor (Figura 6 - A) da formulação após alguns dias, de leitosa levemente

marrom para marrom escuro. A catequina apresenta estrutura química instável, e, fatores como concentração de oxigênio e pH podem levar a oxidação da molécula em função da perda de hidrogênio na sua estrutura, podendo formar intermediários do radical semiquinona e produtos oxidados por quinona (DUBE et al., 2010).

Um dos recursos mais utilizados a fim de proteger a catequina da degradação é a adição do ácido L-ascórbico (AA) (DUBE et al., 2010, ADITYA et al., 2015). O AA é uma vitamina hidrossolúvel, vitamina C, muito utilizado pela indústria de alimentos como aditivo em função de suas propriedades redutoras (MAHMOUD et al., 2014). Diante disso, e com base no que foi observado na literatura científica sobre as metodologias aplicadas e concentrações de AA, três formulações com diferentes razões (p/p) catequina:ácido ascórbico foram testadas e avaliadas quanto ao TP, PDI, Zeta, pH e visualmente (fotos). A Tabela 5 apresenta os resultados do acompanhamento da estabilidade das formulações durante 16 dias.

Tabela 5 – Estabilidade das nanopartículas de quitosana fúngica / goma arábica contendo catequina e óleo de semente de uva (*Vitis vinifera*) com adição de ácido ascórbico.

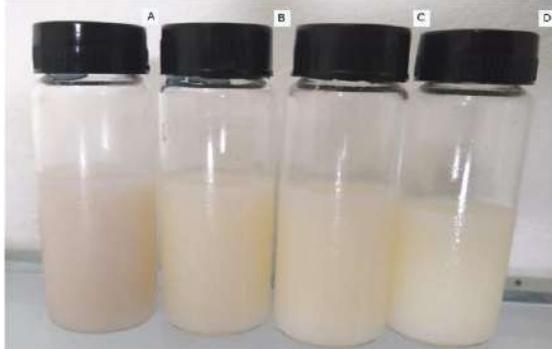
FORMULAÇÃO	DIAS	TP (nm±DP)	PDI	PZ (mV±DP)	pH
NP-OSU-Cat-1	1	178,56±4,00	0,268	+16,56±1,01	4,27±0,06
	4	174,16±1,60	0,255	+19,16±2,07	4,37±0,06
	8	162,53±3,64	0,233	+13,63±11,80	4,30±0,10
	12	186,30±0,98	0,241	+28,10±3,10	4,37±0,12
	16	222,56±6,13	0,264	+32,13±0,80	4,43±0,23
NP-OSU-Cat-2	1	165,26±2,58	0,276	+18,83±2,02	4,03±0,12
	4	162,96±2,85	0,269	+17,83±1,36	4,07±0,21
	8	156,33±2,63	0,247	+17,70±1,57	4,03±0,23
	12	190,93±2,57	0,264	+29,33±0,72	3,93±0,23
	16	224,86±10,4	0,284	+31,76±1,10	4,10±0,17
NP-OSU-Cat-3	1	154,5±4,01	0,276	+18,06±5,54	4,07±,12
	4	149,63±2,88	0,268	+16,40±2,45	4,03±0,25
	8	141,40±2,87	0,253	+12,93±0,56	3,97±0,29
	12	161,73±2,57	0,264	+23,46±3,85	4,00±0,16
	16	186,50±0,96	0,271	+22,03±1,01	4,03±0,25

NP-OSU-Cat-1: nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina(proporção catequina:ácido ascórbico 1:1); NP-OSU-Cat-2 nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina(proporção catequina:ácido ascórbico 1:2); NP-OSU-Cat-3: nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina(proporção catequina:ácido ascórbico 1:3,52);TP: tamanho de partícula; PDI: índice de polidispersão; PZ: potencial zeta. Resultados representados como valor médio ± desvio-padrão.

Fonte: A autora (2022).

A adição do AA não alterou as dispersões de nanopartículas, que apresentaram-se estáveis sem formação de cremagem, todas com a mesma coloração, leitosa levemente amarela, conforme é apresentado na Figura 6.

Figura 6 – Imagens do aspecto visual das formulações de nanopartículas de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva (*Vitis vinifera*) e catequina, com e sem ácido ascórbico, após 16 dias de armazenamento.



A: (NP-OSU-Cat) nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina (sem ácido ascórbico); B: (NP-OSU-Cat-1) nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina(proporção catequina:ácido ascórbico 1:1); C: (NP-OSU-Cat-2) nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina(proporção catequina:ácido ascórbico 1:2); D: (NP-OSU-Cat-3) nanopartícula de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva e catequina(proporção catequina:ácido ascórbico 1:3,52)

Fonte: A autora (2022)

As nanopartículas apresentaram TP e PDI, com valores próximos entre si e das outras formulações, NP-OSU e NP-OSU-Cat. O PZ das formulações NP-OSU-Cat-1 e NP-OSU-Cat-2 estão mais positivas comparadas a NP-OSU-Cat-3. Essa diferença, pode estar relacionada a maior concentração de ácido ascórbico presente na formulação NP-OSU-Cat-3 (KEAWCHAOON; YOKSAN, 2011). Keawchaoon e Yoksan (2011) relatam resultados semelhantes no seu trabalho, verificando a redução do potencial zeta com o aumento da concentração inicial de carvacrol nas nanopartículas de quitosana. Após o vigésimo dia todas as soluções apresentaram sedimentos e escureceram. Assim, pode-se perceber que o tempo de vida de todas as formulações foi aproximadamente 20 dias em suspensão. Com base nos resultados obtidos, a formulação NP-OSU-Cat-1 foi escolhida, devido a menor quantidade de ácido ascórbico, conseqüentemente, reduzindo a quantidade de reagentes utilizada e, portanto os custos do processo.

A formulação NP-OSU-Cat-1 apresentou tamanho nanométrico 162,53 nm a 222,56 nm. O valor do TP da formulação apresentou tamanhos menores, comparados a outros estudos que utilizavam quitosana e goma arábica como polímeros encapsulantes, a exemplo das nanopartículas carregada com quercetina 482,7 nm (KIM et al., 2021) e nanopartículas carregadas com curcumina 296,3 nm a

555,3 nm (TAN et al., 2016). Comparado a outros trabalhos com nanopartículas carregadas com catequina o resultado obtido no presente estudo apresentou valores próximos, como nanopartículas de quitosana carregadas com catequina-quercetina 190,7 nm (LI et al., 2018) e nanopartículas de quitosana / TPP carregadas com catequina 163 nm (DUBE et al., 2010).

O PDI da formulação exibiu valores próximos no período de armazenamento 0,233 a 0,268. A formulação apresentou valores de PZ positivos, acima de + 13,63 mV. O valor médio do PZ em nanopartículas de quitosana se encontra na faixa de +30 mV a +50 mV, em função dos grupos aminos protonados presente na quitosana em meio ácido (TAN et al.,2016; VALENCIA et al.,2021) . No entanto, os resultados encontrados no trabalho foram abaixo de +30 mV, os quais podem estar relacionados com a interação entre a catequina e quitosana (LI et al., 2018).

Durante o período de avaliação da estabilidade não foi observada mudanças do pH. Alterações no pH onde as nanopartículas estão dispersas pode afetar a intensidade de carga entre os materiais de parede que a constitui, consequentemente afetando a interação eletrostática de ambos, podendo influenciar na estrutura dessas nanopartículas (KIM et al., 2019).

6.2 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO (EE%)

A eficiência de encapsulação (EE%) avalia a capacidade dos materiais de encapsulação em reter o composto ativo dentro da sua estrutura. Fatores como polaridade da molécula bioativa encapsulada, composição molecular dos polímeros encapsulantes, métodos de obtenção e menor tamanho das nanopartículas, são relevantes para determinação da eficiência de encapsulação (AHMAD et al., 2019; VALENCIA et al.,2021).

No presente estudo, foi obtida EE% da catequina nas nanopartículas de 67,74% que foi próximo ao relatado por Li et al., (2018) com EE% de 76,35% nas nanopartículas de quitosana carregadas com catequina e quercetina modificada com genipina. O valor também foi próximo ao reportado por Ahmad et al., (2019) com EE% de 48,03% nas nanopartículas de amido de castanha da Índia carregadas com catequina, EE% de 55% nas nanopartículas de amido do caule de lótus carregadas com catequina e EE% de 57% nas nanopartículas de amido de castanha d'água carregadas com catequina. Esse último estudo as diferentes concentrações da

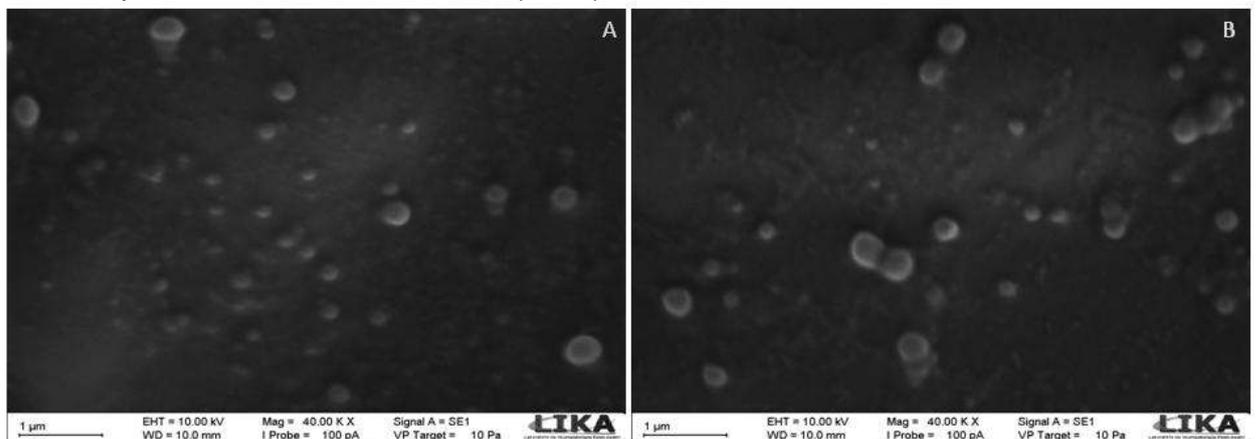
eficiência de encapsulação foi atribuída aos diferentes tipos de amido e sua interação com a catequina.

6.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

6.3.1 Morfologia

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada com objetivo de determinar a morfologia da superfície da suspensão da NP-OSU-Cat-1, a qual está apresentada na Figura 7.

Figura 7 – Imagens de nanopartículas de quitosana/ goma arábica contendo óleo de semente de uva (*Vitis vinifera*) e catequina (NP-OSU-Cat-1) (A) e (B) obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).



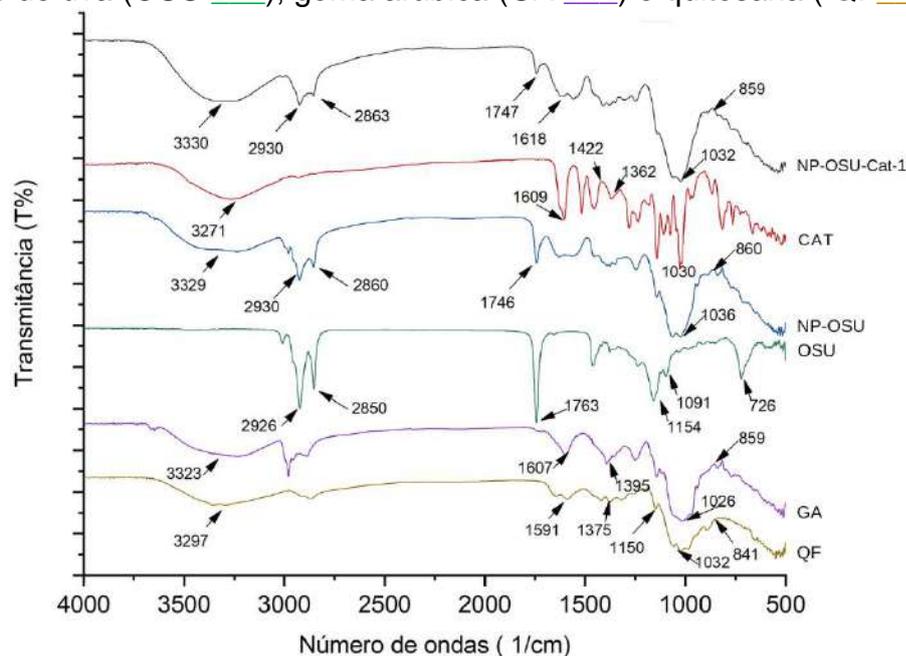
Fonte: A autora (2022)

As nanopartículas apresentaram morfologia esférica bem definidas e superfície lisa, também não foi observada a presença de cristais da catequina ou agregação das nanopartículas. Fora isso, também foi possível detectar que as nanopartículas apresentaram tamanhos nanométricos, como está apresentado nas Figuras 7 (A e B). Assim, os resultados obtidos estão de acordo com as análises de DLS (Tabela 4), onde elas apresentaram faixa de tamanho variando de 178,56 nm a 222,56 nm. Comparado a outros estudos de nanopartículas de quitosana contendo óleo, o mesmo padrão foi observado para nanopartículas de quitosana/tripolifosfato contendo óleo essencial de cravo (HADIDI et al., 2020) e nanopartículas de quitosana/ goma arábica contendo geraniol (OLIVEIRA et al., 2018). Para nanopartículas de catequina, resultados similares foram observados krishnaswamy, Orsat e Thangavel (2012) para nanoencapsulação de catequina com beta-ciclodextrina.

6.3.2 Estrutura química

Os espectros na região do infravermelho das nanopartículas carregadas com catequina (NP-OSU-Cat-1), da catequina, nanopartícula sem catequina (NP-OSU), do óleo de semente de uva, da goma arábica e da quitosana estão ilustrados na Figura 8.

Figura 8 – Espectros de infravermelho obtidos para nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1 ___), catequina (CAT ___), nanopartículas sem catequina (NP-OSU ___), óleo da semente de uva (OSU ___), goma arábica (GA ___) e quitosana (QF ___).



Fonte: A autora (2022)

Os espectros da QF e GA apresentaram banda típica em 3297 cm^{-1} e 3323 cm^{-1} , o qual corresponde vibração de alongamento da ligação —OH (ESPINOSA-ANDREWS et al., 2010; TAN et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018; RAJABI et al., 2019). Os picos de absorção 1591 cm^{-1} e 1375 cm^{-1} , correspondem a vibração da flexão em —NH_3^+ e de alongamento em C—N . (HAN et al., 2020). E a banda em 1032 cm^{-1} refere-se à vibração de alongamento de ligações CO , que também foi comum para GA em 1026 cm^{-1} (ESPINOSA-ANDREWS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2018).

Nos espectros da GA as bandas em 1607 cm^{-1} e 1395 cm^{-1} estão relacionadas as vibrações de alongamento assimétrico e simétrico, respectivamente, sal de ácido carboxílico —COO (RAJABI et al., 2019).

O óleo de semente de uva exibiu espectros com picos característicos em 2926 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} , os quais estão relacionados às vibrações de alongamento - C-H em -CH₃ e -CH₂ das cadeias alifáticas dos triglicerídeos. O pico em 1763 cm^{-1} está associado às vibrações de C = O (grupo carbonila) dos ésteres. Já a banda presente em 1154 cm^{-1} é correlacionada aos ésteres saturados e a banda em 1091 cm^{-1} aos alcoóis primários O - C - O. As vibrações entre 900 cm^{-1} e 650 cm^{-1} , no nosso trabalho em 726 cm^{-1} , correspondem as vibrações de balanço em - (CH₂)_n- e -HC = CH-(estrutura *cis*) e a vibração de deformação em -HC= CH- (estrutura *cis*) (VLADIMÍR et al., 2021).

O espectro da nanopartícula branca (NP-OSU) apresentou banda característica do complexo entre a QF e GA em 3329 cm^{-1} relacionada à vibração de alongamento, onde o -OH se sobrepõe à banda de alongamento de -NH₂, decorrente da interação entre os polímeros (ESPINOSA-ANDREWS et al., 2010; TAN et al., 2016). Também foi observado que o pico característico na faixa de 1036 cm^{-1} associado a vibração de alongamento do grupamento -CO-, comum à QF e GA. No entanto, na nanopartícula tornaram-se mais fortes, apresentando picos maiores (ESPINOSA-ANDREWS et al., 2010; BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014; OLIVEIRA et al., 2018; HAN et al., 2020).

No espectro das nanopartículas sem fármaco também foi observada a presença do pico na faixa de 2930 cm^{-1} que também é comum no espectro do óleo de semente de uva, porém nas nanopartículas se apresentaram menos intensas. O mesmo foi verificado nos picos na faixa de 1746 cm^{-1} para as nanopartículas e 1763 cm^{-1} para o óleo. Esses resultados podem indicar a incorporação do óleo nas nanopartículas formadas. O espectro das nanopartículas sem fármaco comparando-se com os espectros da QF e GA, mostrou alterações nas regiões carbonil e amida. Percebeu-se que os picos em 1592 cm^{-1} e 1609 cm^{-1} foram suprimidos nas nanopartículas. Essa mudança é uma indicação de formação das nanopartículas, onde um dos processos de complexação se deu através da interação eletrostática entre -NH₃⁺ da QF e -COO⁻ da GA. Resultados semelhantes foram observados nos trabalhos de Espinosa-Andrews et al. (2010) e Han et al. (2020).

A catequina apresentou pico específico em 3271 cm^{-1} relacionado à absorção grupo aril-álquil-éter e dos grupos 1,3 e 1,2 hidroxila (JUNIOR et al., 2017), também mostrou picos específicos em 1609 cm^{-1} e 1422 cm^{-1} , que correspondem às vibrações de alongamento no anel aromático em C = C. O pico em 1362 cm^{-1}

corresponde as vibrações de flexão de —OH (JIANG et al., 2021). O pico em 1030 cm^{-1} está associado a absorção nas ligações C—O—C do grupo aril-álquil-éter (JUNIOR et al., 2017).

No espectro das nanopartículas contendo CAT foi verificada a banda característica na região 3330 cm^{-1} , atribuída ao grupamento —OH sobreposto ao —NH_2 , o qual se apresenta mais forte comparada as nanopartículas brancas. O mesmo ocorreu para o pico característico em 1030 cm^{-1} , ficando mais intenso nas nanopartículas contendo CAT. Também foi observado o deslocamento da vibração em 1609 cm^{-1} para catequina e 1618 cm^{-1} para as nanopartículas, mostrando-se mais intensa nas nanopartículas. Assim, indicando que ocorreu encapsulamento da catequina nas nanopartículas, como também foi observado no trabalho de Liu et al. (2018).

Através das análises dos espectros infravermelho foi possível verificar a formação das nanopartículas de quitosana e goma arábica contendo óleo da semente de uva, bem como das nanopartículas de quitosana e goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina por coacervação complexa.

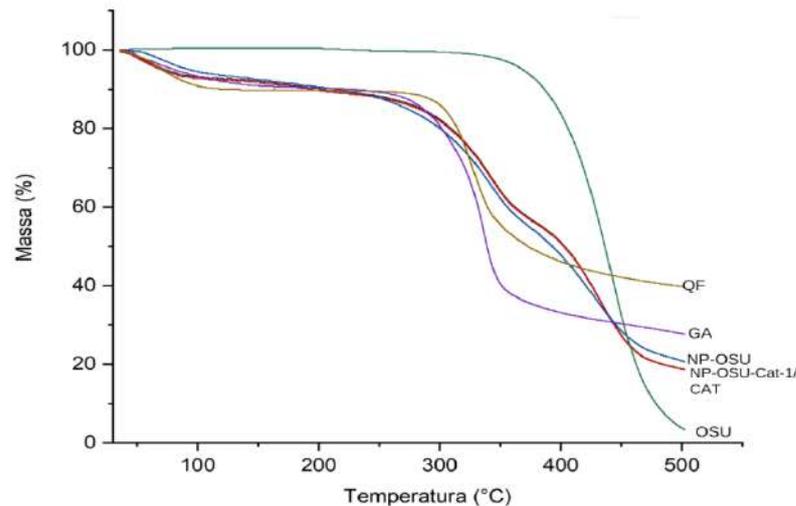
6.3.3 Propriedades térmicas

A análise termogravimétrica (TGA) permite avaliar a estabilidade térmica dos materiais estudados a partir de mudanças de massa em função da temperatura (KEAWCHAOON; YOKSAN, 2011). As curvas termogravimétricas obtidas para quitosana (QF), goma arábica (GA), óleo da semente de uva (OSU), catequina (CAT), nanopartículas brancas (NP-OSU) e nanopartículas com catequina (NP-OSU-Cat-1) estão representadas na Figura 9.

Nos termogramas obtidos para os polímeros, QF e GA, o primeiro evento térmico, abaixo de 125°C para a quitosana e de 175°C para a goma arábica, resultou em aproximadamente 10% de perda de massa de ambos os materiais e está correlacionado à perda de água dos mesmos. Resultados semelhantes foram encontrados por Garcia et al. (2021) para a QF, e por Tavares et al. (2019) para a GA. A segunda etapa de perda de massa nas curvas obtidas para QF ($125\text{--}475^\circ\text{C}$) e GA ($135\text{--}425^\circ\text{C}$) está correlacionada à decomposição dos polímeros, o que envolve a despolimerização e decomposição das unidades D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina e do anel carboidrato presente na goma (TAVARES et al., 2019). Nesta

etapa as perdas de massa corresponderam a aproximadamente 50% e 57% das suas massas iniciais.

Figura 9 – Termograma (TGA) obtidos para nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1___), catequina (CAT ___), nanopartículas sem catequina (NP-OSU ___), óleo da semente de uva (OSU ___),goma arábica (GA ___) e quitosana (QF ___).



Fonte: A autora (2022)

O termograma do OSU não exibiu eventos térmicos abaixo de 250°C. O perfil de decomposição do OSU ocorreu em etapa única entre 250 e 500°C, sendo este responsável pela perda de cerca de 97% da massa do óleo. Essa faixa de temperatura foi semelhante à obtida para o OSU (*Vitis vinifera* L.) por De Souza et al. (2020). Os autores indicam que a estabilidade térmica do óleo pode estar associada à sua composição, que apresenta antioxidantes naturais, conferindo maior proteção aos ácidos graxos (DE SOUZA et al., 2020).

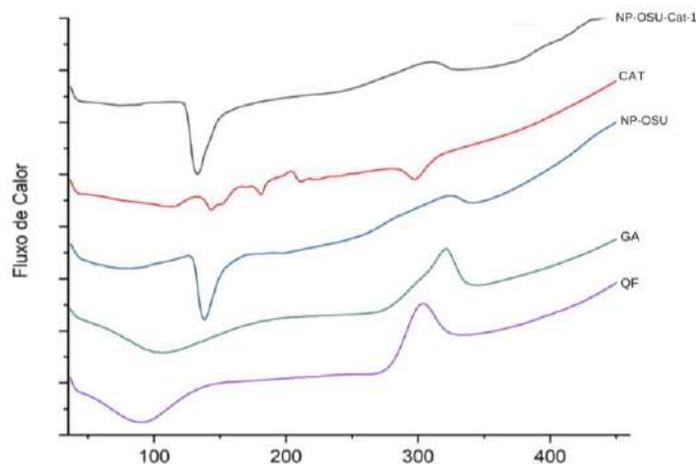
A curva termogravimétrica das NP-OSU apresentou 3 estágios de perda de massa: o primeiro deles abaixo de 200°C, também relacionado à perda de umidade presente no complexo formado; o segundo, entre 200 e 375 °C, que pode ser atribuído à degradação dos materiais de parede; e o terceiro, entre 375 e 500 °C, cuja faixa de temperatura coincide com a faixa de degradação do OSU. O perfil de degradação das NP-OSU-CAT-1, por sua vez, se assemelha ao da catequina, representado em 4 etapas, com curvas praticamente sobrepostas.

Comparando-se aos termogramas dos polímeros isoladamente com os das nanopartículas (com e sem catequina), foi possível observar que ocorreu um

deslocamento da temperatura de decomposição, assim indicando que o processo de nanoencapsulação aumentou a estabilidade térmica. Como não ocorreram eventos térmicos abaixo de 200 °C, indicando boa estabilidade térmica, as nanopartículas contendo CAT podem ser utilizadas como um ingrediente funcional pela indústria de alimentos que aplicam processos térmicos, como pasteurização e esterilização (RUENGDECH; SIRIPATRAWAN, 2021).

A técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) avalia as transformações físico-química, como ponto de fusão e cristalização, de uma determinado produto quando submetido à variações térmicas, aquecimento ou resfriamento (HADIDI et al.,2020). Na Figura 10 estão representadas as curvas de DSC obtidas para as nanopartículas e os materiais utilizados em sua síntese.

Figura 10 – Termograma (DSC) obtidos para nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1 ____), catequina (CAT ____), nanopartículas sem catequina (NP-OSU ____),goma arábica (GA ____) e quitosana (QF ____).



Fonte: A autora (2022)

Os termogramas DSC dos polímeros, QF e GA, apresentaram um pico endotérmico em aproximadamente 100 °C, o qual pode estar associado à evaporação da água, e na QF também pode estar correlacionado com as ligações de hidrogênio com hidroxila. Também foi observado um pico exotérmico QF (302 °C) e GA (320 °C), este relacionado degradação térmica, perda de massa dos polímeros (OLIVEIRA et al., 2018; VALENCIA et al.,2021).

No termograma obtido para CAT foi observado vários picos de fusão, fenômeno conhecido como polimorfismos de fusão, apresentando quatro principais

picos endotérmicos. O primeiro pico endotérmico foi 113,78 °C indicando perda de água na catequina, o segundo em 144,74 °C indicando fusão com decomposição, o terceiro em 180,1°C é relacionado com o ponto de fusão da catequina e o quarto em 296,63°C relativo à decomposição completa da molécula (SEMALTY et al., 2011 KRISHNASWAMY.; ORSAT; THANGAVEL, 2012; LIU et al., 2014).

Comparando os picos endotérmicos e exotérmicos dos polímeros isoladamente com as nanopartículas com e sem a CAT, verificou-se um deslocamento desses picos para temperaturas mais altas, o que sugere que uma nova organização estrutural foi formada entre os materiais de parede e encapsulados, o que resulta no aumento das temperaturas de fusão e degradação e consequentemente, da estabilidade térmica.

Em processos de nanoencapsulação os gráficos de DSC podem indicar a eficiência de incorporação do composto ativo encapsulado. Picos individuais, da substância ativa e do material de parede, podem sinalizar que a encapsulação não foi satisfatória. Por outro lado, a não visualização de picos característicos do composto, pode significar que ocorreu interação eficiente com os materiais encapsulantes (FEYZIOGLU; TORNUK et al., 2016). Os picos relacionados à fusão presentes no termograma da CAT isolada não foram observados na curva das NP-OSU-Cat-1, sendo, portanto, um indicativo do sucesso do processo de encapsulação da catequina nas NP-OSU.

6.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os resultados da concentração inibitória mínima (CIM) das substâncias testes frente as bactérias patogênicas veiculadas por alimentos Gram positivas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faeciu*, *Listeria monocytogenes*) e Gram negativas (*Salmonella enteric subsp. enterica serovar typhimurium*, *Escherichia coli*) encontram-se relacionadas na Tabela 6.

Todas as substâncias testes foram efetivas na inibição dos microrganismos testados, tendo sido obtidas a CIM. A exceção do OSU e CAT não encapsulados frente ao *B. cereus*, para as quais não foi possível obter a CIM nas concentrações estudadas.

Tabela 6 – Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo da semente de uva (*Vitis vinifera*) (OSU), Catequina (CAT), nanopartícula de quitosana e goma arábica contendo óleo da semente de uva (NP-OSU) e nanopartícula de quitosana e goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina (NP-OSU-Cat-1) para inibição de microrganismos patogênicos veiculados por alimentos.

Microrganismo	CIM das substâncias testes mg/mL				
	OSU	CAT	NP-OSU	NP-OSU-Cat-1	
			[OSU]	[OSU]	[CAT]
<i>E. coli</i>	2,25	0,40	0,75	1,50	0,20
<i>Salmonella enteric subsp. enterica serovar typhimurium</i>	3,75	0,50	3,75	4,50	0,60
<i>S. aureus</i>	3,75	0,50	3,75	4,50	0,60
<i>B. cereus</i>	ND*	ND*	3,00	3,75	0,50
<i>E. faecium</i>	0,75	0,10	0,75	2,25	0,30
<i>L. monocytogenes</i>	3,00	0,50	1,50	3,00	0,40

*ND= não determinada

OSU: óleo da semente de uva; CAT: catequina; NP-OSU: nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva; NP-OSU-Cat-1: nanopartículas de quitosana/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina; [OSU]: concentração equivalente do óleo da semente de uva nas nanopartículas em mg/mL; [CAT]: concentração equivalente da catequina nas nanopartículas.

Fonte: A autora (2022)

Para o OSU a melhor ação, ou seja, menor CIM foi para *E. faecium* de 0,75 mg/mL seguida da *E. coli* de 2,25 mg/mL. Um dos possíveis mecanismos relacionados à essa efetividade do OSU, pode estar associado a hidrofobicidade. Compostos hidrofóbicos apresentam propriedades relacionadas à degradação dos lipídeos presentes na membrana celular, levando a morte desses microrganismos devido a liberação de íons e componentes celulares (FEYZIOGLU; TORNUK, 2016; HADIDI et al., 2020). Após a encapsulação do óleo (NP-OSU), a CIM para *E. coli* foi de 0,75 mg/mL e para *L. monocytogenes* de 1,50 mg/mL, tendo reduzido pela metade comparada ao OSU livre, enquanto para *E. faecium*, *Salmonella enteric subsp. enterica serovar typhimurium* e *S. aureus* os valores não sofreram alteração. Um dos possíveis mecanismos relacionados à melhor efetividade em relação a algumas bactérias após a encapsulação pode estar relacionado à presença da

quitosana como material de parede das nanopartículas. Embora não esteja bem esclarecida a atividade antibacteriana da quitosana, esta pode ser influenciada por várias condições como características do polímero (tipo, grau de polimerização e desacetilação), pH da solução de quitosana, solventes, métodos de ensaio e organismos testes (YOUNES et al., 2014). Younes et al. (2014) citam em seu trabalho que a atividade antibacteriana da quitosana, de menor peso molecular, frente a *E. coli* está relacionada a capacidade de introduzir-se na célula através do lipopolissacarídeo (LPS) presente na parede celular de bactérias Gram negativas. Já para *S. aureus* o mecanismo está associado a capacidade de aderir ao ácido teicoico presente na parede celular das Gram positivas formando uma membrana polimérica, e conseqüentemente inibindo a entrada de nutrientes na célula.

A melhor atividade antibacteriana das NP-OSU em relação ao OSU não encapsulados pode estar associado à propriedade de liberação controlada que as nanopartículas possuem entregando o composto ativo gradualmente, assim, podendo ser mais eficaz na inibição do crescimento desses microrganismos, bem como promovendo a manutenção/estabilidade dos compostos bioativos presentes no óleo (LI et al., 2018). O tamanho nanométrico das nanopartículas também tem efeito positivo sobre a atividade antibacteriana, uma vez que podem penetrar na parede bacteriana acarretando destruição da membrana celular, bem como inibir síntese proteica e ação enzimática. Outro possível mecanismo de inibição pode se dar através da interação das cargas dessas nanopartículas com a membrana celular das bactérias, aumentando a permeabilidade e conseqüentemente liberação do conteúdo citoplasmático levando à morte celular (FEYZIOGLU.; TORNUK, 2016; HADIDI et al., 2020).

A CAT livre apresentou menor CIM para *E. faecium* 0,10 mg/mL seguida da *E. coli* 0,40 mg/mL. A ação antimicrobiana da CAT se deve a interação com as proteínas solúveis presente na parede celular das bactérias, causando sua precipitação, assim, aumentando a permeabilidade da parede celular, bem como inibindo sua formação (GOMES et al., 2018). A catequina pode apresentar atividade frente a *E. coli* devido aos grupos hidroxilas, o qual se transforma em carbonila por meio da reação de desidrogenação. As carbonilas interagem com os fosfolípidos da membrana celular da bactéria por meio de ligações cruzadas, assim, acarretando danos na membrana, bem como nas suas funções fisiológicas (CHUNMEI et al., 2010). Chunmei et al. (2010) observaram o efeito inibitório da catequina sobre o

crescimento da *E. coli* em concentrações de 0,05 mg/mL, fora isso também constataram que a ação inibitória sobre a bactéria era dose dependente da quantidade de catequina.

A NP-OSU-Cat-1 mostrou melhor efetividade na inibição dos microrganismos *E. coli* com CIM de 0,20 mg/mL, *E. faecium* 0,30 mg/mL. Comparando com a CAT livre, os resultados para *E. coli* foram melhores para NP-OSU-Cat-1, uma vez que a CIM reduziu pela metade. Porém, para *E. faecium* o efeito inverso ocorreu, triplicando o valor da CIM. Comparando-se a NP-OSU-Cat-1 com a NP-OSU, apenas para *E. coli* as CIM foram próximas. Para os outros microrganismos proporcionou um aumento da CIM, logo não obtendo um resultado positivo. Pode-se perceber que não ocorreu uma interação sinérgica dos compostos para a atividade antibacteriana, uma vez que a incorporação da catequina nas NP-OSU aumentou a concentração equivalente do OSU para CIM. Por outro lado, não dá para saber se o óleo “influenciou” negativamente ou positivamente na ação da catequina, porque não temos só a catequina encapsulada para usarmos como referência. Dessa forma, se faz necessário experimentos adicionais para elucidar a influência do OSU a CAT no processo de encapsulação.

De acordo com os resultados obtidos foi possível observar a ação antimicrobiana das NP-OSU-Cat-1 sobre bactérias patogênicas de origem alimentar, obtendo menor CIM para *E.coli*. Assim, pode-se sugerir sua incorporação em produtos alimentícios como filmes comestíveis para embalagens podendo atuar protegendo o alimento da contaminação por essas bactérias, assim, ajudando a preservar as qualidades sensoriais do produto, bem como atuando na saúde do consumidor prevenindo de possíveis infecções causadas pela contaminação do alimento com esses microrganismos.

7 CONCLUSÃO

As nanopartículas de quitosana fúngica/goma arábica contendo óleo da semente de uva e catequina desenvolvidas apresentaram-se estáveis, com tamanho nanométrico, baixo PDI e potencial zeta positivo. Além de boa eficiência de encapsulação.

A morfologia das nanopartículas foi confirmada pela microscopia eletrônica de varredura, demonstrando sua forma esférica e bem definida. As análises térmicas sugeriram uma nova organização estrutural formada confirmando a encapsulação do óleo da semente de uva e catequina, bem como melhor estabilidade térmica. As nanopartículas também apresentaram ação antibacteriana frente a bactérias patogênicas de origem alimentar.

Os resultados obtidos sugerem que as nanopartículas contendo catequina apresentam elevado potencial para aplicação como ingrediente bioativo na indústria alimentícia para o desenvolvimento de alimentos com propriedades funcionais, bem como na prevenção de bactérias de origem alimentar.

REFERÊNCIAS

- ADITYA, N. P.; ADITYA, S.; YANG, H.-J.; KIM, H. W.; PARK, S. O.; LEE, J.; KO, S. . Curcumin and catechin co-loaded water-in-oil-in-water emulsion and its beverage application. **Journal of Functional Foods**, v.15, p.35–43, 2015.
- AHMAD, M.; MUDGIL, P.; GANI, A.; HAMED, F.; MASOODI, F. A.; MAQSOOD, S. Nano-encapsulation of catechin in starch nanoparticles: Characterization, release behavior and bioactivity retention during simulated in-vitro digestion. **Food Chemistry**, p. 270, v. 95–104, 2019.
- AKBARI-ALAVIJEH, S.; SHADDEL, R.; JAFARI, S. M. Encapsulation of food bioactives and nutraceuticals by various chitosan-based nanocarriers. **Food Hydrocolloids**, v. 105, p. 105774, 2020.
- AKINMOLADUN, A. C.; OLADEJO, C. O.; JOSIAH, S. S.; FAMUSIWA, C. D.; OJO, O. B.; OLALAYE, M. T. Catechin, quercetin and taxifolin improve redox and biochemical imbalances in rotenone-induced hepatocellular dysfunction: Relevance for therapy in pesticide-induced liver toxicity? **Pathophysiology**, v. 25, p. 365–371, 2018.
- AL-BAADANI, H. H.; AL-MUFARREJ, S. I.; AL-GARADI, M. A.; ALHIDARY, I. A.; AL-SAGAN, A. A.; AZZAM, M. M. The use of gum Arabic as a natural prebiotic in animals: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 274, p. 114894, 2021.
- ALBUQUERQUE, M. A. C. DE; LEVIT, R.; BERES, C.; BEDANI, R.; DE MORENO DE LEBLANC, A., SAAD, S. M. I.; LEBLANC, J. G. Tropical fruit by-products water extracts of tropical fruit by-products as sources of soluble fibres and phenolic compounds with potential antioxidant, anti-inflammatory, and functional properties. **Journal of Functional Foods**, v.52, p. 724–733, 2019.
- ALI, A.; MAQBOOL, M.; ALDERSON, P. G.; ZAHID, N. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.76, p.119–124, 2013.
- ALI, E. A.; NADA, A. A.; AL-MOGHAZY, M. Self-stick membrane based on grafted gum Arabic as active food packaging for cheese using cinnamon extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.189, p.114–123, 2021.
- ALVIM, I. D.; GROSSO, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Food Science and Technology**, v. 30, ed. 4, p. 1069–1076, 2010.
- ARAÚJO, F. F.; DE PAULO FARIAS, D.; NERI-NUMA, I. A.; PASTORE, G. M. Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. **Food Chemistry**, v. 338, p.127535, 2021.
- ARUN, K. B.; MADHAVAN, A.; SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A., R, R.; SIROHI, R. Remodeling agro-industrial and food wastes into value-added bioactives and biopolymers. **Industrial Crops and Products**, v.154, p.112621, 2020.

BEI, D.; MENG, J.; YOUAN, B.-B. C. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: progress and promises. **Nanomedicine**, v. 5, p.1385–1399, 2010.

BERNATONIENE, J; KOPUSTINSKIENE, D. M. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. **Molecules**, v.23, 2018.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 608–616, 2014.

CAI, M.; WANG, Y.; WANG, R.; LI, M.; YU, W. Z. J.; HUA, R. Antibacterial and antibiofilm activities of chitosan nanoparticles loaded with *Ocimum basilicum* l. Essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.202, p.122–129, 2022.

CAVALCANTI, I. M. F.; PONTES-NETO, J. G.; KOCERGINSKY, P. O.; BEZERRA-NETO, A.M.; LIMA, J.L.C.; LIRA-NOGUEIRA, M.C.B.; MACIEL, M.A.V.; NEVES, R.P.; PIMENTEL, M.F.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S..Antimicrobial activity of β -lapachone encapsulated into liposomes against meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Cryptococcus neoformans* clinical strains. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 3, p.103–108, 2015.

CECCHI, L.; INNOCENTI, M.; URCIUOLI, S.; ARLORIO, M.; PAOLI, P.; MULINACCI, N. In depth study of phenolic profile and PTP-1B inhibitory power of cold-pressed grape seed oils of different varieties. **Food Chemistry**, v.271, p. 380–387, 2019.

CERQUEIRA, M. Â. P. R.; PINHEIRO, A. C. B.; DO CARMO, C. V. S.; DUARTE, C. M. M.; DA CUNHA, M. DAS G. C.; VICENTE, A. A. M. DE O. S. Nanostructured biobased systems for nutrient and bioactive compounds delivery. **Nutrient Delivery**, p. 43–85, 2017.

CHANDRASEKARA, A.; SHAHIDI, F. Herbal beverages: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 8, p. 451-458 2018.

CHANPHAI, P.; TAJMIR-RIAH, H. A. Conjugation of tea catechins with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v.84, p.561–570, 2018.

DA ROSA, C. G.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; NUNES, M. R.; BENVENUTTI, E. V.; LUZ, S. R. DA; RUTZ, J. K. Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β -cyclodextrin and xanthan. **Industrial Crops and Products**, v.46, p. 138-146, 2013.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 981–1014, 2011.

DE CAMARGO, A. C.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; BIASOTO, A. C. T.; SHAHIDI, F. Low Molecular Weight Phenolics of Grape Juice and Winemaking Byproducts: Antioxidant Activities and Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoprotein

Cholesterol and DNA Strand Breakage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, p.12159–12171, 2014.

DE CAMARGO, A.C.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; RASERA, G. B., CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; DO PRADO SILVA, L.; ALVARENGA, V. O.; SANT'ANA, A. S.; SHAHIDI, F. Phenolic acids and flavonoids of peanut byproducts: Antioxidant capacity and antimicrobial effects, **Food Chemistry**, v. 237, p. 538 – 544, 2017.

DE SOUZA, R. DE C.; MACHADO, B. A. S.; BARRETO, G. DE A.; LEAL, I. L.; DOS ANJOS, J. P.; UMSZA-GUEZ, M. A. . Effect of Experimental Parameters on the Extraction of Grape Seed Oil Obtained by Low Pressure and Supercritical Fluid Extraction. **Molecules**, v. 25, p.1634, 2020.

DUBE, A., NG, K.; NICOLAZZO, J. A.; LARSON, I. Effective use of reducing agents and nanoparticle encapsulation in stabilizing catechins in alkaline solution. **Food Chemistry**, v.122, p. 662–667, 2010.

DUDHANI, A. R.; KOSARAJU, S. L. Bioadhesive chitosan nanoparticles: Preparation and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v.8, p.243–251, 2010.

EGHBAL, N.; CHOUDHARY, R. Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. **LWT- Food Science and Technology**, v. 90, p. 254–264, 2018.

EJAZ AHMED, M.; KHAN, M. M.; JAVED, H.; VAIBHAV, K.; KHAN, A.; TABASSUM, R.; ASHFAQ, M.; ISLAM, F.; SAFHI, M. M.; ISLAM, F. Amelioration of cognitive impairment and neurodegeneration by catechin hydrate in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. **Neurochemistry International**, v. 62, p.492–501, 2013.

EL-ADAWY, M. M. et al. Green synthesis and physical properties of Gum Arabic-silver nanoparticles and its antibacterial efficacy against fish bacterial pathogens. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 3, p. 1247–1254, 2021.

ESMAEILI, A.; GHOLAMI, M. Optimization and preparation of nanocapsules for food applications using two methodologies. **Food Chemistry**, v. 179, p.26–34, 2015.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; BÁEZ-GONZÁLES, J.G.; CRUZ-SOSA, F.; VERNON-CARTER, J. . Gum arabic–chitosan complex coacervation. **Biomacromolecules** , v. 8, p.1313–1318, 2007.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; SANDOVAL-CASTILLA, O.; VÁZQUEZ-TORRES, H.; VERNON-CARTER, E. J.; LOBATO-CALLEROS, C. Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p. 541–546, 2010.

FERREIRA, A. S.; NUNES, C.; CASTRO, A.; FERREIRA, P.; COIMBRA, M. A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 490–499, 2014.

FEYZIOGLU, G. C.; TORNUK, F. Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant

delivery applications. **LWT - Food Science and Technology**, v.70, p.104–110, 2016.

FIDELIS, M.; DE MOURA, C.; KABBAS JUNIOR, T.; PAP, N.; MATTILA, P.; MÄKINEN, S.; PUTNIK, P.; BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D.; TIAN, Y.; YANG, B.; GRANATO, D. Fruit Seeds as Sources of Bioactive Compounds: Sustainable Production of High Value-Added Ingredients from By-Products within Circular Economy. **Molecules** , 24, 3854, 2019.

FRAGA, C. G.; GALLEANO, M.; VERSTRAETEN, S. V.; OTEIZA, P. I. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, p.435–445, 2010.

FREIRE, P. L. L.; FREIRE, P. L. L.; STAMFORD, T. C. M.; ALBUQUERQUE, A. J. R.; SAMPAIO, F. C.; CAVALCANTE, H. M. M.; MACEDO, R. O.; FLORES, M. A. P. Rosenblatt, A. Action of silver nanoparticles towards biological systems: cytotoxicity evaluation using hen's egg test and inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation. **International journal of antimicrobial agents**, v. 45, n. 2, p. 183-187, 2015.

GADKARI, P. V.;BALARAMAN, M. (2015). Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. **Food and Bioproducts Processing**, v.93, p.122–138, 2015.

GALINDO-PÉREZ, M. J.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; CORNEJO-VILLEGAS, M. DE LOS Á.; ZAMBRANO-ZARAGOZA, M. DE LA L. Optimization of the emulsification-diffusion method using ultrasound to prepare nanocapsules of different food-core oils. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 333 – 341, 2018.

GARCIA, L. G. S.; DA ROCHA, M. G.; LIMA, L. R.; CUNHA, A. P.; DE OLIVEIRA, J. S.; DE ANDRADE, A. R. C.; RICARDO, N.M.P.S.; PEREIRA-NETO, W.A.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M.F.G.; VIEIRA, R. S.;BRILHANTE, R. S. N. Essential oils encapsulated in chitosan microparticles against *Candida albicans* biofilms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.166, p.621-632, 2021.

GHORMADE, V.; PATHAN, E. K.; DESHPANDE, M. V. Can fungi compete with marine sources for chitosan production? **International Journal of Biological Macromolecules**, v.104, p.1415–1421, 2017.

GOMES, F. M. S.; DA CUNHA XAVIER, J.; DOS SANTOS, J. F. S.; DE MATOS, Y. M. L. S.; TINTINO, S. R.; DE FREITAS, T. S.;COUTINHO, H. D. M. Evaluation of antibacterial and modifying action of catechin antibiotics in resistant strains. **Microbial Pathogenesis**, v.115, p.175–178, 2018.

HADIDI, M.; MOTAMEDZADEGAN, A.; JELYANI, A. Z.; KHASHADEH, S. Nanoencapsulation of hyssop essential oil in chitosan-pea protein isolate nano-complex. **LWT Food Science and Technology**, v.144, p.111254, 2021.

HADIDI, M.; POURAMIN, S.; ADINEPOUR, F.; HAGHANI, S.; MAHDI JAFARI, S. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, p. 116075, 2020.

HAN, J. et al. Environmental stability and curcumin release properties of Pickering 106 emulsion stabilized by chitosan/gum arabic nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 202–211, 2020.

HAN, Y.; JIA, F.; BAI, S.; XIAO, Y.; MENG, X.; JIANG, L. Effect of operating conditions on size of catechin/ β -cyclodextrin nanoparticles prepared by nanoprecipitation and characterization of their physicochemical properties. **LWT - Food Science and Technology**, v.153, p.112447, 2022.

HO, S.; THOO, Y. Y.; YOUNG, D. J.; SLOW, L. F. Cyclodextrin encapsulated catechin: Effect of pH, relative humidity and various food models on antioxidant stability. **LWT - Food Science and Technology**, v.85, p.232–239, 2017.

HO, S.; THOO, Y. Y.; YOUNG, D. J.; SLOW, L. F. Stability and recovery of cyclodextrin encapsulated catechin in various food matrices. **Food Chemistry**, v.275, p.594–599, 2019.

HODGES, J. K.; SASAKI, G. Y.; BRUNO, R. S. Anti-inflammatory activities of green tea catechins along the gut–liver axis in nonalcoholic fatty liver disease: lessons learned from preclinical and human studies. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.85, p.108478, 2020.

HOSSEINI, S. F.; ZANDI, M.; REZAEI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v.95, p. 50–56, 2013.

HUANG, J.; LIN, X.; XUE, B.; LUO, J.; GAO, L.; WANG, Y., OU, S.; PENG, X. Impact of polyphenols combined with high-fat diet on rats' gut microbiota. **Journal of Functional Foods**, 26, 763–771, 2016.

IRANDOOST, P.; EBRAHIMI-MAMEGHANI, M.; PIROUZPANAH, S. Does grape seed oil improve inflammation and insulin resistance in overweight or obese women? **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.64, p. 706–710, 2013.

ISMAIL, A. F. M.; SALEM, A. A. M.; EASSAWY, M. M. T. Hepatoprotective effect of grape seed oil against carbon tetrachloride induced oxidative stress in liver of γ -irradiated rat. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 160, p. 1–10, 2016.

JAIN, P.; KUMAR, N.; JOSYULA, V. R.; JAGANI, H. V.; UDUPA, N.; MALLIKARJUNA RAO, C.; VASANTH RAJ, P. A study on the role of (+)-catechin in suppression of HepG2 proliferation via caspase dependent pathway and enhancement of its in vitro and in vivo cytotoxic potential through liposomal formulation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.50, p.353–365, 2013.

- JIANG, L.; JIA, F.; HAN, Y.; MENG, X.; XIAO, Y.; BAI, S. Development and characterization of zein edible films incorporated with catechin/ β -cyclodextrin inclusion complex nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 261, p.117877, 2021.
- JUNIOR, O. V.; DANTAS, J. H.; BARÃO, C. E.; ZANOELO, E. F.; CARDOZO-FILHO, L.; DE MORAES, F. F. Formation of inclusion compounds of (+)catechin with β -cyclodextrin in different complexation media: Spectral, thermal and antioxidant properties. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.121, p.10–18, 2017.
- KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; RAWDKUEN, S. Quality attributes of minced pork wrapped with catechin–lysozyme incorporated gelatin film. **Food Packaging and Shelf Life**, v.3, p.88–9, 2015.
- KAUR, G.; UISAN, K.; ONG, K. L.; LIN, C. S. K. Recent Trends in Green and Sustainable Chemistry & Waste Valorisation: Rethinking Plastics in a Circular Economy. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 9, p. 30–39, 2018.
- KAUR, R.; RAJPUT, R.; NAG, P.; KUMAR, S.; RACHANA; SINGH, M. Synthesis, characterization and evaluation of antioxidant properties of catechin hydrate nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.39, p. 398–407, 2017.
- KEAWCHAOON, L.; YOKSAN, R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.84, p.163–171, 2011.
- KEAWCHAOON, L.; YOKSAN, R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.84, p.163–171, 2011.
- KERIMI, A.; WILLIAMSON, G. The cardiovascular benefits of dark chocolate. **Vascular Pharmacology**, v.71, p.11–15, 2015.
- KIM, E. S.; KIM, D. Y.; LEE, J.-S.; LEE, H. G. Quercetin delivery characteristics of chitosan nanoparticles prepared with different molecular weight polyanion cross-linkers. **Carbohydrate Polymers**, v. 267, p. 118157,2021.
- KIM, E. S.; KIM, D. Y.; LEE, J.-S.; LEE, H. G. Mucoadhesive chitosan-gum arabic nanoparticles enhance the absorption and antioxidant activity of quercetin in the intestinal cellular environment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.67, p. 8609-8616, 2019.
- KIM, T.-K.; YONG, H.-I.; JUNG, S.; KIM, Y.-B.; CHOI, Y.-S. Effects of replacing pork fat with grape seed oil and gelatine/alginate for meat emulsions. **Meat Science**, v.163, p.108079, 2020.
- KOKABI, S.; SOLTANI, M.; DABIRIAN, S.; KOKABIAN, A.; DARAEI GARMAKHANY, A.; JAFARZADEH, S.; AGHAJANI, N. Incorporation of omega-3 fatty acid-rich grape seed oil in yoghurt: Response surface optimization of physicochemical, textural, and sensory attributes during refrigerated storage. **Food Science & Nutrition**, v.9, p.331–344, 2020.

- KRISHNASWAMY, K.; ORSAT, V.; THANGAVEL, K. Synthesis and characterization of nano-encapsulated catechin by molecular inclusion with beta-cyclodextrin. **Journal of Food Engineering**, v.111, p.255–26, 2012.
- KU, K.-J.; HONG, Y.-H.; SONG, K. B. Mechanical Properties of a *Gelidium corneum* Edible Film Containing Catechin and Its Application in Sausages. **Journal of Food Science**, v.73, p. 217–221, 2008.
- KURAKULA, M.; NAVEEN, N. R. Prospection of recent chitosan biomedical trends: Evidence from patent analysis (2009–2020). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 1924–1938, 2020.
- LI, F.; JIN, H.; XIAO, J.; YIN, X.; LIU, X.; LI, D.; HUANG, Q. The simultaneous loading of catechin and quercetin on chitosan-based nanoparticles as effective antioxidant and antibacterial agent. **Food Research International**, v.111, p.351–360, 2018.
- LI, H.; FU, X.; DENG, G.; DAVID, A.; HUANG, L. Extraction of oil from grape seeds (*Vitis vinifera* L.) using recyclable CO₂-expanded ethanol. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 157, p. 108147, 2020.
- LIANG, J.-Y.; WU, J.-Y.; YANG, M.-Y.; HU, A.; CHEN, L.-Y. Photo-catalytic polymerization of catechin molecules in alkaline aqueous. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.165, p. 115–120, 2016.
- LIU, B.; WANG, Y.; YU, Q.; LI, D.; LI, F. Synthesis, characterization of catechin-loaded folate-conjugated chitosan nanoparticles and their anti-proliferative effect. **CyTA - Journal of Food**, v.16, p.868–876, 2018.
- LIU, J.; LU, J.; KAN, J.; WEN, X.; JIN, C. Synthesis, characterization and in vitro anti-diabetic activity of catechin grafted inulin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p.76–83, 2014.
- LIU, Y.; YANG, R.; LIU, J.; MENG, D.; ZHOU, Z.; ZHANG, Y.; BLANCHARD, C. Fabrication, structure, and function evaluation of the ferritin based nano-carrier for food bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 299, p. 125097, 2019.
- LUTTERODT, H.; SLAVIN, M.; WHENT, M.; TURNER, E.; YU, L. (LUCY). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. **Food Chemistry**, v.128, p. 391–399, 2011.
- MAHANNA, M.; MILLAN-LINARES, M. C.; GRAO-CRUCES, E.; CLARO, C.; TOSCANO, R.; RODRIGUEZ-MARTIN, N. M.; NARANJO, M. C.; MONTSERRAT-DE LA PAZ, S. Resveratrol-enriched grape seed oil (*Vitis vinifera* L.) protects from white fat dysfunction in obese mice. **Journal of Functional Foods**, v. 62, p.103546, 2019.
- MAHMOUD, M. A. A.; CHEDEA, V. S.; DETSI, A.; KEFALAS, P. Ascorbic acid modifies the free radical scavenging behaviour of catechin: An insight into the mechanism. **Food Research International**, v.51, p.907–913, 2013.

MAIER, T.; SCHIEBER, A.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 112, p. 551–559, 2009.

MARTIN, M. E.; GRAO-CRUCES, E.; MILLAN-LINARES, M. C.; MONTSERRAT-DE LA PAZ, S. Grape (*Vitis vinifera* L.) Seed Oil: A Functional Food from the Winemaking Industry. **Foods**, v.9, p.1360, 2020.

MONDÉJAR-LÓPEZ, M.; RUBIO-MORAGA, A.; LÓPEZ-JIMENEZ, A. J.; GARCÍA MARTÍNEZ, J. C.; AHRAZEM, O.; GÓMEZ-GÓMEZ, L.; NIZA, E. Chitosan nanoparticles loaded with garlic essential oil: A new alternative to tebuconazole as seed dressing agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, p. 118815, 2022.

MOREIRA, M. DEL R.; ROURA, S. I.; PONCE, A. Effectiveness of chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2335–2341, 2011.

NABAVI, S. M.; ŠAMEC, D.; TOMCZYK, M.; MILELLA, L.; RUSSO, D.; HABTEMARIAM, S.; SUNTAR, I.; RASTRELLI, L.; DAGLIA, M.; XIAO, J.; GIAMPIERI, F.; BATTINO, M.; SOBARZO-SANCHEZ, E.; NABAVI, S. F.; YOUSEFI, B.; JEANDET, P.; XU, S.; SHIROOIE, S. Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. **Biotechnology Advances**, v. 38, 2020.

NAKANO, E.; KAMEI, D.; MURASE, R.; TAKI, I.; KARASAWA, K.; FUKUHARA, K.; IWAI, S. Anti-inflammatory effects of new catechin derivatives in a hapten-induced mouse contact dermatitis model. **European Journal of Pharmacology**, v. 845, p. 40–47, 2019.

NIRMALA, J. G.; NARENDHIRAKANNAN, R. T. *Vitis vinifera* peel and seed gold nanoparticles exhibit chemopreventive potential, antioxidant activity and induce apoptosis through mutant p53, Bcl-2 and pan cytokeratin down-regulation in experimental animals. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 89, p. 902–917, 2017.

OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; PEREIRA, A. E. S.; NUNES, L. E. S.; SILVA, C. C. L.; PASQUOTO, T.; LIMA, R.; SMANIOTTO, G.; POLANCZYK, R. A.; FRACETO, L. F. Geraniol Encapsulated in Chitosan/Gum Arabic Nanoparticles: A Promising System for Pest Management in Sustainable Agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.66, p.5325–5334, 2018.

PADIL, V. V. T.; WACŁAWEK, S.; ČERNÍK, M.; VARMA, R. S. Tree gum-based renewable materials: Sustainable applications in nanotechnology, biomedical and environmental fields. **Biotechnology Advance**, v. 36, p. 1984–2016, 2018.

PETROPOULOS, S. A.; FERNANDES, Â., CALHELHA, R. C.; DANALATOS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. How extraction method affects yield, fatty acids composition and bioactive properties of cardoon seed oil? **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 459–465, 2018.

PIMENTEL-MORAL, S.; TEIXEIRA, M. C.; FERNANDES, A. R.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; MARTÍNEZ-FÉREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; SOUTO, E. B. . Lipid nanocarriers for the loading of polyphenols – A comprehensive review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 260, p. 85-94, 2018.

POVERENOV, E.; ARNON, H.; ZAICEV, Y.; BAR, V.; DANAY, O.; HOREV, B.; BILBAO-SAINZ, C.; McHUGH, T.; RODOV, V. Potential of chitosan from mushroom waste to enhance quality and storability of fresh-cut melons. **Food Chemistry**, v. 268, p. 233–241, 2018.

PRZYKAZA, K.; NIKOLAICHUK, H.; KOZUB, A.; TOMASZEWSKA-GRAS, J.; PERŠURIĆ, Ž.; PAVELIĆ, S. K.; FORNAL, E. Newly marketed seed oils. What we can learn from the current status of authentication of edible oils. **Food Control**, v.130, p.108349, 2021.

RAJABI, H.; MAHDI JAFARI, S.; RAJABZADEH, G.; SARFARAZI, M.; SEDAGHATI, S. Chitosan-gum Arabic complex nanocarriers for encapsulation of saffron bioactive components. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.578, p.123644, 2019.

RASHIDINEJAD, A.; BIRCH, E. J.; SUN-WATERHOUSE, D.; EVERETT, D. W. Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese. **Food Chemistry**, v.156, p.176–183, 2014.

RASHIDINEJAD, A.; BOOSTANI, S.; BABAZADEH, A.; REHMAN, A.; REZAEI, A.; AKBARI-ALAVIJEH, S.; SHADDEL, R.; JAFARI, S. M. Opportunities and challenges for the nanodelivery of green tea catechins in functional foods. **Food Research International**, v.142, 2021.

RASHKI, S.; ASGARPOUR, K.; TARRAHIMOFRAD, H.; HASHEMIPOUR, M.; EBRAHIMI, M. S.; FATHIZADEH, H.; SALAVATI-NIASARI, M.; MIRZAEI, H. Chitosan-Based Nanoparticles against bacterial infections. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, p.117108, 2021.

REIS, F. S.; MARTINS, A. M.; VASCONCELOS, H.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. **Trends in Food science & Technology**, v. 66, p. 48–62, 2017.

RIBEIRO, A. M.; SHAHGOL, M.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of Vitamin A by spray-drying, using binary and ternary blends of gum arabic, starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, v. 160, p. 769-779, 2020.

RIBEIRO, P. P. C.; SILVA, D. M. L.; ASSIS, C. F.; CORREIA, R. T. P.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Bioactive properties of *faveleira* (*Cnidocolus quercifolius*) seeds, oil and press cake obtained during oilseed processing. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1–12, 2017.

RIBEIRO, P. P. C.; SILVA, D. M. L.; DANTAS, M. M. ; RIBEIRO, K. D. S.; DIMENSTEIN, R.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Determination of tocopherols and physicochemical properties of *faveleira* (*Cnidocolus quercifolius*) seed oil extracted using different methods. **Food Science and Technology**, Campinas, 2019.
Disponível em: <https://doi.org/10.1590/fst.24017>. Acesso em: 10 nov. 2020

RODRIGUES, M. Á. V.; BERTOLO, M. R. V.; MARANGON, C. A.; MARTINS, V. C. A.; DE GUZZI PLEPIS, A. M. Chitosan and gelatin materials incorporated with phenolic extracts of grape seed and jabuticaba peel: Rheological, physicochemical, antioxidant, antimicrobial and barrier properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 769-779, 2020.

ROMBAUT, N.; SAVOIRE, R.; THOMASSET, B.; CASTELLO, J.; VAN HECKE, E.; LANOISELLÉ, J.-L. Optimization of oil yield and oil total phenolic content during grape seed cold screw pressing. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 26–33, 2015.

ROSTAMABADI, H.; ASSADPOUR, E.; TABARESTANI, H. S.; FALSAFI, S. R.; JAFARI, S. M. Electrospinning approach for nanoencapsulation of bioactive compounds; recent advances and innovations. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, p. 190–209, 2020.

RUENGDECH, A.; SIRIPATRAWAN, U. Application of catechin nanoencapsulation with enhanced antioxidant activity in high pressure processed catechin-fortified coconut milk. **LWT Food Science and Technology**, v. 140, p.110594, 2021.

SÁ, A. G. A.; SILVA, D. C. DA; PACHECO, M. T. B.; MORENO, Y. M. F.; CARCIOFI, B. A. M. Oilseed by-products as plant-based protein sources: Amino acid profile and digestibility. **Future Foods**, v.3, p.100023, 2021.

SABET, S.; RASHIDINEJAD, A.; MELTON, L. D.; ZUJOVIC, Z.; AKBARINEJAD, A.; NIEUWOUDT, M.; SEAL, C. K.; MCGILLIVRAY, D. J. The interactions between the two negatively charged polysaccharides: Gum Arabic and alginate. **Food Hydrocolloids**, v.112, p.106343, 2021.

SAITO, H.; TAMURA, M.; IMAI, K.; ISHIGAMI, T.; OCHIAI, K. Catechin inhibits *Candida albicans* dimorphism by disrupting Cek1 phosphorylation and cAMP synthesis. **Microbial Pathogenesis**, v.56, p.16–20, 2013.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. DE L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, p.726–737, 2003.

SEMALTY, A.; SEMALTY, M.; SINGH, D.; RAWAT, M. S. M. Phyto-phospholipid complex of catechin in value added herbal drug delivery. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.73, p.377–386, 2011.

SEMALTY, A.; SEMALTY, M.; SINGH, D.; RAWAT, M. S. M. Phyto-phospholipid complex of catechin in value added herbal drug delivery. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.73, p.377–386, 2011.

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

SHINAGAWA, F. B.; SANTANA, F. C.; TORRES, L. R. O.; MANCINI-FILHO, J. Grape seed oil: a potential functional food?. **Food Science and Technology**, v. 35, p. 399-406, 2015.

SOLOMON JOSIAH, S.; UMAR, H. I.; SALIU, I. O.; AKINMOLADUN, A. C. Quercetin and catechin assuage redox imbalance and neurochemical dysfunction in rotenone-induced neurotoxicity: A comparative in vivo experiment supported by in silico study. **Phytomedicine Plus**, v. 1, p.100077, 2021.

SOUZA, J. M.; CALDAS, A. L.; TOHIDI, S. D.; MOLINA, J.; SOUTO, A. P.; FANGUEIRO, R.; ZILLE, A. Properties and controlled release of chitosan microencapsulated limonene oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 691–698, 2014.

TAHERI, A.; JAFARI, S. M. Gum-based nanocarriers for the protection and delivery of food bioactive compounds. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 269, p. 277–295, 2019.

TAHIR, H. E.; XIAOBO, Z.; JIYONG, S.; MAHUNU, G. K.; ZHAI, X.; MARIOD, A. A. Quality and postharvest-shelf life of cold-stored strawberry fruit as affected by gum arabic (*Acacia senegal*) edible coating. **Journal of Food Biochemistry**, v.42, p.12527, 2018.

TAN, C.; XIE, J.; ZHANG, X.; CAI, J.; XIA, S. Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 236–245, 2016.

TAVARES, L.; BARROS, H. L. B.; VAGHETTI, J. C. P.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of Garlic Extract by Complex Coacervation Using Whey Protein Isolate/Chitosan and Gum Arabic/Chitosan as Wall Materials: Influence of Anionic Biopolymers on the Physicochemical and Structural Properties of Microparticles. **Food and Bioprocess Technology**, v.12, p.2093–2106, 2019.

TIMILSENA, Y. P.; AKANBI, T. O.; KHALID, N.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1276–1286, 2019.

VALENCIA, M. S.; FRANCO DA SILVA JÚNIOR, M.; XAVIER JÚNIOR, F. H.; DE OLIVEIRA VERAS, B.; FERNANDA DE OLIVEIRA BORBA, E.; GONÇALVES DA SILVA, T.; XAVIER, V. L.; DE SOUZA, M.P.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. DAS G. Bioactivity and cytotoxicity of quercetin-loaded, lecithin-chitosan nanoparticles. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.31, p.101879, 2021.

VLADIMÍR, M.; MATWIJCZUK, A. P.; NIEMCZYNOWICZ, A.; KYCIA, R. A.; KARCZ, D.; GLADYSZEWSKA, B.; ŚLUSARCZYK, L.; BURG, P. Chemometric approach to characterization of the selected grape seed oils based on their fatty acids composition and FTIR spectroscopy. **Scientific Report**, v.11, p.19256, 2021.

VODNAR, D. C.; CĂLINOIU, L. F.; DULF, F. V.; ȘTEFĂNESCU, B. E.; CRIȘAN, G.; SOCACIU, C. Identification of the bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. **Food Chemistry**, v. 231, p. 131–140, 2017.

WANG, Q.; WANG, J.; DING, W.; ZHANG, D.; REED, K.; ZHANG, B. Alternatives to carcinogenic preservatives in Chinese Sausage - Sorbic acid-loaded chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.120, p.28–33, 2018.

WANG, W.; XUE, C.; MAO, X. Chitosan: Structural modification, biological activity and application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 4532–4546, 2020.

WU, Q.; CHEN, Y.; OUYANG, Y.; HE, Y.; XIAO, J.; ZHANG, L.; FENG, N. Effect of catechin on dietary AGEs absorption and cytotoxicity in Caco-2 cells. **Food Chemistry**, v.355, p.129574, 2021.

YOUNES, I.; SELLIMI, S.; RINAUDO, M.; JELLOULI, K.; NASRI, M. Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosans on antibacterial and antifungal activities. **International Journal of Food Microbiology**, v.185, p.57–63, 2014.

ZALAZAR-GARCÍA, D.; TORRES, E.; RODRIGUEZ-ORTIZ, L.; DENG, Y.; SORIA, J.; BUCALÁ, V.; RODRIGUEZ, R.; MAZZA, G. Cleaner and sustainable processes for extracting phenolic compounds from bio-waste. **Journal of Environmental Management**, v. 273, p.111154, 2020.

ZHANG, H.; JUNG, J.; ZHAO, Y. Preparation, characterization and evaluation of antibacterial activity of catechins and catechins–Zn complex loaded β -chitosan nanoparticles of different particle sizes. **Carbohydrate Polymers**, v.137, p.82–91, 2016.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33–42, 2016.

ZHAO, L.; ZHOU, T.; YAN, F.; ZHU, X.; LU, Q.; LIU, R. Synergistic inhibitory effects of procyanidin B2 and catechin on acrylamide in food matrix. **Food Chemistry**, v.296, p. 94–99, 2019.