



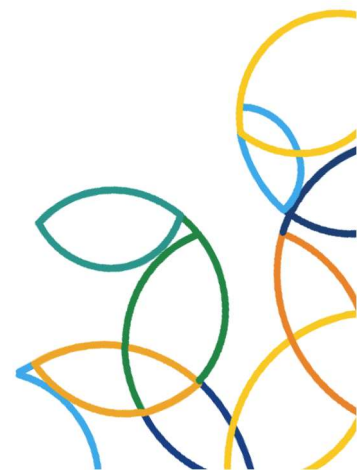
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

EMILIE FERREIRA DE ALMEIDA

**CARREAMENTO DA VITAMINA E EMPREGANDO PROTEÍNA ISOLADA DE
LENTILHA E LACTOFERRINA COMO MATERIAL DE PAREDE ATRAVÉS
DO PROCESSO DE COACERVAÇÃO COMPLEXA**

SEROPÉDICA

2026





EMILIE FERREIRA DE ALMEIDA

CARREAMENTO DA VITAMINA E EMPREGANDO PROTEÍNA ISOLADA DE
LENTILHA E LACTOFERRINA COMO MATERIAL DE PAREDE ATRAVÉS DO
PROCESSO DE COACERVAÇÃO COMPLEXA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof Dr. Edwin Elard Garcia Rojas

SEROPÉDICA

2026

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A447c Almeida, Emilie Ferreira de, 2001-
Carreamento da vitamina E empregando proteína isolada de lentilha e lactoferrina como material de parede através do processo de coacervação complexa / Emilie Ferreira de Almeida. - Barra Mansa, 2026.
93 f.: il.

Orientador: Edwin Elard Garcia-Rojas.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2026.

1. Coacervação complexa. 2. Microencapsulação de vitamina E. 3. Interação heteroproteica. 4. Diagrama de fases. 5. Filme comestível. I. Garcia-Rojas, Edwin Elard , 1972-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos III. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



TERMO Nº 51/2026 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.006028/2026-21

Seropédica-RJ, 11 de fevereiro de 2026.

EMILIE FERREIRA DE ALMEIDA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.
Dissertação APROVADA EM 10/02/2026

EDWIN ELARD GARCIA ROJAS, (Dr) UFF (orientador)

MARIA CLARA GUIMARÃES, (Dra) UFF

DAVY WILLIAM HIDALGO CHAVEZ, (Dr) UFRRJ

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 11/02/2026 16:41)

DAVY WILLIAM HIDALGO CHAVEZ

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DTA (12.28.01.00.00.00.00.46)

Matrícula: ###635#9

(Assinado digitalmente em 11/02/2026 14:33)

EDWIN ELARD GARCIA ROJAS

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.996-##

(Assinado digitalmente em 11/02/2026 11:30)

MARIA CLARA GUIMARÃES

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.957-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 51, ano: 2026, tipo: TERMO, data de emissão: 11/02/2026 e o código de verificação: d5097a32e0

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais, minha irmã
e a todos que acreditaram no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda proteção e por ter guiado meu caminho até aqui.

Ao professor, orientador Dr. Edwin Elard Garcia Rojas por toda orientação, dicas, ensinamentos e atenção que sempre teve comigo.

Aos meus pais por sempre me incentivarem e acreditarem em mim, juntamente com minha irmã.

Aos amigos do Laboratório de Engenharia e Tecnologia Agroindustrial (LETA), Bruno, Gabriel, Otilio, Marcelli, Guilherme e Camila, por todo carinho e atenção, em especial a amiga Marina por todas as risadas, cafés após dias intensos no laboratório e ajuda durante minha jornada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de aperfeiçoamento pessoal e profissional.

A todos que contribuíram para a realização desta pesquisa, meu muito obrigada!

RESUMO GERAL

ALMEIDA, Emilie Ferreira de. **Carreamento da vitamina E empregando proteína isolada de lentilha e lactoferrina como material de parede através do processo de coacervação complexa**. 2026. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2026.

A vitamina E é um composto bioativo lipossolúvel com reconhecida atividade antioxidante, atuando na neutralização de radicais livres e no retardo da peroxidação lipídica, processo associado ao desenvolvimento de diversas doenças e à deterioração de alimentos. Apesar de sua relevância funcional, sua instabilidade frente a condições ambientais e fisiológicas limita sua aplicação direta em sistemas alimentícios, tornando a microencapsulação uma estratégia promissora para sua proteção e liberação controlada. Nesse contexto, esta pesquisa teve como objetivo microencapsular a vitamina E por coacervação complexa utilizando isolado proteico de lentilha (IPL) e lactoferrina (Lf) como materiais de parede, bem como aplicar essas microcápsulas no desenvolvimento de filmes comestíveis à base de pectina, visando à obtenção de embalagens. Adicionalmente, as microcápsulas foram submetidas à reticulação com ácido tânico, com o intuito de fortalecer a matriz proteica aumentando sua estabilidade estrutural e modulando a liberação do composto bioativo. A formação dos complexos IPL:Lf foi investigada por meio de diagrama de fases, potencial zeta, calorimetria de titulação isotérmica (ITC), eletroforese e análises reológicas. Já os filmes foram caracterizados quanto às propriedades físico-químicas, mecânicas, estruturais, de barreira e funcionais. A incorporação de 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas de vitamina E resultou em filmes com elevada solubilidade em água e atividade antioxidante, especialmente aqueles contendo microcápsulas reticuladas. A presença do ácido tânico promoveu redução da resistência à tração, sem comprometer a flexibilidade dos filmes, indicando um equilíbrio adequado entre desempenho mecânico e funcionalidade. Os resultados demonstram que a microencapsulação da vitamina E por coacervação complexa IPL:Lf, aliada à reticulação com ácido tânico, constitui uma estratégia eficiente para aumentar a bioacessibilidade do composto bioativo e viabilizar sua aplicação em filmes comestíveis.

Palavras chave: α -tocoferol; encapsulação; coacervados; filmes comestíveis.

ABSTRACT

ALMEIDA, Emilie Ferreira de. **Vitamin E carriage using lentil isolated protein and lactoferrin as wall materials through the complex coacervation process.** 2026. 109. Dissertation (Master's in Food Science and Technology) – Institute of Tecnology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2026.

Vitamin E is a liposoluble bioactive compound with well-recognized antioxidant activity, acting in the neutralization of free radicals and delaying lipid peroxidation, a process associated with the development of several diseases and food deterioration. Despite its functional relevance, its instability under environmental and physiological conditions limits its direct application in food systems, making microencapsulation a promising strategy for its protection and controlled release. In this context, this research aimed to microencapsulate vitamin E by complex coacervation using lentil protein isolate (LPI) and lactoferrin (Lf) as wall materials, as well as to apply these microcapsules in the development of pectin-based edible films, aiming at packaging applications. Additionally, the microcapsules were subjected to crosslinking with tannic acid in order to strengthen the protein matrix, increasing its structural stability and modulating the release of the bioactive compound. The formation of LPI:Lf complexes was investigated through phase diagram analysis, zeta potential, isothermal titration calorimetry (ITC), electrophoresis, and rheological analyses. The films were characterized in terms of their physicochemical, mechanical, structural, barrier, and functional properties. The incorporation of 0.05%, 0.10%, and 0.20% of vitamin E microcapsules resulted in films with high water solubility and antioxidant activity, especially those containing crosslinked microcapsules. The presence of tannic acid reduced tensile strength without compromising film flexibility, indicating an adequate balance between mechanical performance and functionality. The results demonstrate that the microencapsulation of vitamin E by LPI:Lf complex coacervation, combined with tannic acid crosslinking, is an efficient strategy to enhance the bioaccessibility of the bioactive compound and enable its application in edible films.

Keywords: α -tocopherol; encapsulation; coacervates; edible films.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Apresentação das etapas desenvolvidas na dissertação.....	3
Figura 2. Representação de uma microcápsula.....	6
Figura 3. Ranking dos cinco países que mais possuem publicações científicas na área de microencapsulação.....	7
Figura 4. Fatores extrínsecos e intrínsecos que afetam a coacervação.....	10
Figura 5. Grãos de lentilha.....	11
Figura 6. Produção de lentilhas secas por país em toneladas.....	12
Figura 7 Estrutura tridimensional da Lactoferrina.....	15
Figura 8 Estrutura química do ácido tânico.....	17
Figura 9. Redes versáteis derivadas do ácido tânico e sua ampla gama de aplicações.....	18
Figura 10 Representação da estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis.....	19
Figura 11. Classificação das proteínas vegetais segundo a solubilidade e suas propriedades filmogênicas.....	21

CAPÍTULO II - LENTIL PROTEIN ISOLATE AND LACTOFERRIN AS WALL MATERIAL OF COMPLEX COACERVATES AS DELIVERY SYSTEM OF α - TOCOPHEROL

Figure 1. SDS-PAGE gel of lactoferrin and lentil protein isolate with molecular weight (MW) markers ranging from 15 to 250 kDa.....	56
Figure 2. ζ -potential and SEI of lentil protein isolate (LPI) and lactoferrin (Lf) as a function of pH (9.0–2.0)	57
Figure 3. (A) Phase diagram of LPI:Lf coacervate complexes as a function of biopolymer ratios (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, and 1:6) and total biopolymer concentrations (0.1, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0%) at pH 6.0. The four symbols represent (○) clear solution, (□) turbid solution,	

(●) clear solution with precipitate, and (■) turbid solution with precipitate. (B) LPI:Lf ratio of 1:2 at increasing total biopolymer concentrations from 0.1% to 2.0%.....58

Figure 4. (A) Heat flow thermogram ($\mu\text{cal/s}$) as a function of time obtained during titration of 250 μL of 0.15 mM lactoferrin (Lf) into 1200 μL of 0.025 mM lentil protein isolate (LPI) at 25 °C. LPI and Lf were dissolved in 10 mM MES buffer (pH 6.0). (B) Integrated peak areas (kcal/mol) plotted as a function of the LPI:Lf molar ratio.....59

Figure 5. Storage modulus G' (■), loss modulus G'' (■), complex dynamic viscosity μ^* (●), and phase angle δ (■) as a function of angular frequency ω (rad/s) for the LPI:Lf coacervate prepared at a 1:2 ratio, pH 6.0, and total solids concentration of 2.0%.....60

Figure 6. (A) Freeze-dried non-crosslinked microcapsules. (B) Freeze-dried microcapsules crosslinked with tannic acid.....61

Figure 7. Fourier transform infrared (FTIR) spectra of lentil protein isolate (LPI), lactoferrin (Lf), coacervate (LPI_Lf), vitamin E (VE), tannic acid (TA), soybean oil (SO), and vitamin E microcapsules without tannic acid (MC_WTA) and with tannic acid (MC_TA)62

Figure 8. Vitamin E release from microcapsules without tannic acid (●) and with tannic acid (■) during *in vitro* digestion.....63

CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS A BASE DE PECTINA INCORPORADOS COM MICROCÁPSULAS DE VITAMINA E

Figura 1. Imagem do filme de pectina controle (FC), dos filmes de pectina incorporados com microcápsulas de vitamina E sem ácido tânico nas diferentes concentrações (FS1, FS2 e FS3) e dos filmes contendo microcápsulas de vitamina E reticuladas com ácido tânico (FA1, FA2 e FA3).....85

Figura 2. Espectro FTIR dos filmes FC, FS1, FS2, FS3, FA1, FA2, FA3.....86

Figura 3. Gotas de água sobre as superfícies dos filmes controle e de pectina contendo microcápsulas sem e com ácido tânico. Letras sobrescritas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras testadas sob as mesmas condições.....87

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Diferentes métodos de microencapsulação.....	7
Tabela 2. Estudos realizados através do método de encapsulação pelo processo de coacervação.....	9
Tabela 3. Porcentagem de proteína em diferentes grãos.....	13
Tabela 4. Estudos realizados a partir da microencapsulação da vitamina E usando diferentes técnicas e materiais de parede.....	20

CAPÍTULO II - LENTIL PROTEIN ISOLATE AND LACTOFERRIN AS WALL MATERIAL OF COMPLEX COACERVATES AS DELIVERY SYSTEM OF α - TOCOPHEROL

Table 1. Encapsulation efficiency (EE%) of vitamin E-loaded microcapsules obtained using different formulations at a total biopolymer concentration of 2.0%.....	64
Table 2. Antioxidant activity (ABTS ^{•+}) and DPPH [•] radical scavenging activity of microcapsules without tannic acid, with tannic acid, wall materials (IPL:Lf), vitamin E, and tannic acid. Data are expressed as mean (n = 3) $\pm$ standard deviation.....	65

CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS A BASE DE PECTINA INCORPORADOS COM MICROCÁPSULAS DE VITAMINA E

Tabela 1. Eficiência de encapsulação (EE%) das microcápsulas contendo vitamina E nas diferentes formulações e 2,0 % de biopolímeros totais.....	88
Tabela 2. Propriedades mecânicas e físico-químicas de filmes de pectina pura (FC) e com 0,05%; 0,10% e 0,20% de microcápsulas de vitamina E sem ácido tânico e com ácido tânico, respectivamente.....	89
Tabela 3. Solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e ângulo de contato dos filmes contendo 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas sem (FS1, FS2, FS3) e com (FA1, FA2, FA3) ácido tânico juntamente com o controle (FC). Os dados apresentados são as médias (n = 3) $\pm$ desvio-padrão.....	90

Tabela 4. Atividade antioxidante (ABTS•⁺) e de eliminação de radicais DPPH• dos filmes contendo 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas sem (FS1, FS2, FS3) e com (FA1, FA2, FA3) ácido tânico juntamente com o controle (FC). Os dados apresentados são as médias (n = 3) ± desvio-padrão.....91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NaCl – Cloreto de sódio

kDa – Kilodaltons

pI – Ponto isoeletrico

Lf – Lactoferrina

IPL – Isolado Proteico de Lentilha

ITC – Calorimetria de Titulação Isotermica

FTIR – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

HCl – Ácido clorídrico

CaCl₂ – Cloreto de cálcio

NaOH – Hidróxido de sódio

EE – Eficiência de encapsulação

SSF – Fluido salivar simulado

SGF – Fluido gástrico simulado

SIF – Fluido intestinal simulado

SEI – Força de interação eletrostática

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVO GERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA.....	5
1. Microencapsulação.....	6
1.1 Métodos de microencapsulação.....	7
1.2 Processo de coacervação complexa.....	8
2. Materiais de parede.....	10
2.1 Lentilha.....	11
2.1.1 Proteína de origem vegetal: Isolado proteico de lentilha.....	14
2.2 Proteína de origem animal: Lactoferrina.....	14
3. Agente reticulante: Ácido tânico.....	16
4. Ingrediente Bioativo: Vitamina E.....	18
5. Aplicações tecnológicas: Filmes comestíveis.....	19
5.1 Filmes comestíveis à base de plantas.....	20
6. Referências.....	22
CAPÍTULO II - LENTIL PROTEIN ISOLATE AND LACTOFERRIN AS WALL MATERIAL OF COMPLEX COACERVATES AS DELIVERY SYSTEM OF α - TOCOPHEROL.	29
Abstract.....	30
1. Introduction.....	31
2. Materials and methods.....	33
2.1 Materials.....	33
2.2 Extraction and characterization of lentil protein isolate.....	33
2.2.1 Sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)	34
2.2.2 Solubility.....	34
2.3 Study of lentil protein isolate/lactoferrin wall material formation.....	35
2.3.1 Zeta potential.....	35
2.3.2 Phase diagram.....	35

2.3.3	Isothermal titration calorimetry (ITC).....	35
2.3.4	Rheology.....	36
2.4	Preparation of vitamin E-loaded microcapsules by complex coacervation.....	37
2.4.1	Encapsulation efficiency.....	37
2.5	Characterization of vitamin E microcapsules.....	38
2.5.1	Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)	38
2.5.2	<i>In vitro</i> gastrointestinal simulation of vitamin E-loaded microcapsules.....	38
2.5.3	Bioaccessibility of vitamin E-loaded microcapsules.....	39
2.5.4	Antioxidant activity of vitamin E microcapsules.....	39
2.6	Statistical analysis.....	40
3.	Results and discussion.....	40
3.1	Physicochemical properties of lentil protein isolate.....	40
3.1.1	SDS-PAGE.....	40
3.1.2	Solubility.....	41
3.2	Formation of the coacervate complex between LPI and Lf.....	41
3.2.1	Influence of pH and biopolymer concentration on LPI:Lf complex formation.....	41
3.2.2	Isothermal titration calorimetry (ITC)	42
3.2.3	Viscoelastic properties of the LPI:Lf coacervate complex.....	42
3.3	Vitamin E-loaded microcapsules formed by the complex coacervation process.....	43
3.3.1	Encapsulation efficiency.....	43
3.3.2	Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)	43
3.3.3	<i>In vitro</i> digestion and bioaccessibility of vitamin E-loaded microcapsules.....	44
3.3.4	Antioxidant activity (ABTS• ⁺ and DPPH•).....	45
4.	Conclusion.....	45
5.	References.....	46

CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS A BASE DE PECTINA INCORPORADOS COM MICROCÁPSULAS DE VITAMINA E66

Resumo.....67

1.	Introdução.....	68
2.	Materiais e métodos.....	70
2.1	Materiais.....	70

2.2 Aplicação de microcápsulas de vitamina E na produção de filmes comestíveis a base de pectina.....	70
2.2.1 Produção das microcápsulas contendo vitamina E via coacervação complexa.....	70
2.2.2 Produção dos filmes a base de pectina.....	70
2.2.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	71
2.2.4 Espessura.....	71
2.2.5 Propriedades mecânicas.....	71
2.2.6 Teor de umidade.....	71
2.2.7 Ângulo de contato.....	72
2.2.8 Solubilidade em água.....	72
2.2.9 Permeabilidade ao vapor de água.....	72
2.2.10 Análise antioxidante dos filmes contendo microcápsulas de vitamina E.....	73
2.2.11 Análises estatísticas.....	73
3. Resultados e discussão.....	74
3.1 Eficiência de encapsulação das microcápsulas.....	74
3.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	74
3.3 Teor de umidade e Espessura.....	74
3.4 Propriedades mecânicas.....	75
3.5 Ângulo de contato e Permeabilidade ao vapor de água.....	76
3.6 Solubilidade em água.....	77
3.7 Atividades antioxidantes (ABTS ^{•+} e DPPH [•]).....	77
4. Conclusão.....	78
5. Referências.....	79
CONCLUSÃO GERAL.....	92

INTRODUÇÃO GERAL

A microencapsulação é um ramo estratégico para o desenvolvimento industrial em que o uso de suas técnicas exige participações de profissionais com diferentes formações. O benefício dessa tecnologia é a sua capacidade de fornecer e proteger ingredientes incorporados, como por exemplo a vitamina E (Budinčić et al., 2021). A vitamina E, por sua vez, possui inúmeras propriedades benéficas para o funcionamento do corpo humano. Ela caracteriza-se como sendo um composto antioxidante que, quando adicionado aos alimentos, é capaz de atuar contra a lipoperoxidação e contribuir para o aumento de sua bioacessibilidade, além de poder reduzir os efeitos deletérios dos processos oxidativos que ocorrem no organismo, prevenindo doenças crônicas não transmissíveis (Batista et al., 2007). O processo de encapsulamento se destaca em diversos setores: farmacêutico, permitindo o desenvolvimento de fórmulas de liberação controlada de fármacos, na produção de agrotóxicos, reduzindo a toxicidade e a contaminação ambiental, nos setores alimentícios, de cosméticos, pigmentos, adesivos, encapsulação de células vivas, dentre outros. A escolha do material encapsulante (geralmente um polímero), deve ser selecionada em função das propriedades físico-químicas do agente ativo, da aplicação pretendida e do método de formação das micropartículas, que vai variar de acordo com a linha de pesquisa estudada (Suave et al., 2006).

Existem vários processos de encapsulamento para combinar os materiais do invólucro e do núcleo em microcápsulas. As quatro categorias gerais são atomização, revestimento por spray, coextrusão e processos baseados em emulsão. Cada tecnologia vai oferecer um método único de formação de um produto encapsulado, apresentando vantagens e desvantagens (Gaonkar et al., 2014). Neste estudo será empregado o processo de cocervação complexa, que possui três etapas: emulsão, coacervação e reticulação. Ele é caracterizado como sendo a separação de um sistema coloidal em duas fases líquidas, conforme definido pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, 1997). Dentre os biopolímeros utilizados como materiais de parede, destacam-se as proteínas do leite, como a lactoferrina, devido às suas elevadas propriedades funcionais. Essa glicoproteína ligante de ferro, pertencente à família das transferrinas, exerce papel importante na defesa do hospedeiro, apresentando atividade antimicrobiana de amplo espectro contra bactérias, vírus, fungos e parasitas. Ademais, contribui para a modulação da resposta inflamatória e para a redução do estresse oxidativo (Kim et al., 2025). Além das proteínas de origem animal, proteínas vegetais, como as da lentilha, também têm sido utilizadas como materiais de parede na microencapsulação. Essa leguminosa destaca-se

pelo alto valor nutricional e pelo conteúdo de polifenóis e outros compostos bioativos, o que tem despertado crescente interesse científico. Dessa forma, o uso de proteínas de lentilha pode contribuir para a proteção de compostos bioativos e para o desenvolvimento de sistemas mais sustentáveis (Ganesan; Xu, 2017).

Com relação às aplicações tecnológicas do microencapsulamento, será realizada neste trabalho sua aplicação em filmes comestíveis, que contribuem de maneira eficaz para a conservação dos alimentos, melhorando suas qualidades sensoriais e permitindo a incorporação de compostos antioxidantes e antimicrobianos. Os filmes comestíveis são utilizados há muito tempo com o objetivo de proteger produtos alimentícios perecíveis da deterioração e da perda de qualidade (Medieta-taboada et al., 2008). O uso de polissacarídeos, proteínas e lipídios vegetais tem sido explorado para a obtenção de filmes com propriedades desejáveis. Além disso, a incorporação de compostos bioativos e agentes antimicrobianos, associada a abordagens nanotecnológicas, tem contribuído para o aprimoramento das propriedades funcionais de materiais à base de plantas, prolongando a vida de prateleira e auxiliando na manutenção da qualidade dos alimentos (Gupta et al., 2024).

Nesse contexto, esta dissertação de mestrado tem a finalidade de estudar o microencapsulamento da vitamina E através da coacervação complexa empregando o isolado proteico de lentilha e a lactoferrina como materiais de parede. Além disso, as microcápsulas obtidas contendo a vitamina E reticuladas e não reticuladas com ácido tânico serão adicionadas na estrutura de filmes comestíveis fabricados usando como base a pectina. Os capítulos que compõem o presente estudo são: artigo submetido e a ser submetido à publicação em revistas científicas. Os temas abordados em cada capítulo são os seguintes:

No capítulo I, foi realizada uma breve revisão de literatura na qual foram abordados temas como microencapsulação e seus respectivos métodos, coacervação complexa, agente reticulante (ácido tânico), materiais de parede (isolado proteico de lentilha e lactoferrina), ingrediente ativo (vitamina E) e aplicação tecnológica em filmes comestíveis, incluindo filmes a base de plantas.

No capítulo II, a massa molar do isolado proteico de lentilha e da lactoferrina foi determinada utilizando o método SDS-PAGE e estudou-se o processo de formação dos complexos coacervados entre o isolado proteico de lentilha e a lactoferrina em função da razão de biopolímeros, concentração e pH. Para isso, foram realizadas as análises de potencial zeta e diagrama de fases. Além disso, foi avaliado o efeito da reticulação com

ácido tânico nas microcápsulas, visando fortalecer a rede proteica e modular a liberação do ingrediente ativo. Os parâmetros termodinâmicos foram obtidos através da análise de calorimetria de titulação isotérmica (ITC). Para caracterização do complexo coacervado, a análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada. Análises reológicas, gastrointestinal *in vitro* e antioxidante também foram incluídas nesta seção.

Por fim, no capítulo III, os filmes comestíveis com microcápsulas reticuladas e não reticuladas com ácido tânico foram fabricados e caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas, mecânicas, estruturais, de barreira e funcionais. Os filmes produzidos tiveram como base a pectina e o glicerol e as seguintes análises foram feitas: espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), teor de umidade, ângulo de contato, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e análise antioxidante. As etapas desenvolvidas na dissertação podem ser sintetizadas na Figura 1:



Figura 1. Apresentação das etapas desenvolvidas na dissertação.

OBJETIVO GERAL

Estudar o microencapsulamento da vitamina E através da coacervação complexa empregando isolado proteico de lentilha e lactoferrina como materiais de parede e sua aplicação em filmes comestíveis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a influência do pH, razão de biopolímeros e concentração na formação do complexo coacervado obtido a partir do isolado proteico de lentilha e lactoferrina;
- Encapsular a vitamina E pelo processo de coacervação complexa utilizando o isolado proteico de lentilha e a lactoferrina como materiais de parede, além de avaliar o efeito do ácido tânico como agente reticulante;
- Caracterização das microcápsulas contendo vitamina E e avaliação da estabilidade durante a simulação gastrointestinal *in vitro*;
- Fabricar e caracterizar filmes comestíveis a base de pectina ao qual serão incorporadas diferentes concentrações de microcápsulas contendo vitamina E reticuladas e não reticuladas com ácido tânico.

CAPÍTULO I
REVISÃO DE LITERATURA

1. Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica versátil utilizada para envolver vários ingredientes ativos em pequenos envelopes, ou seja, microcápsulas (Sharipova et al., 2016). Vários ingredientes alimentícios podem ser encapsulados, como por exemplo: agentes aromatizantes (óleos, pimentas, adoçantes e especiarias), lipídeos, agentes redutores (branqueadores e maturantes), enzimas e microrganismos, antioxidantes, preservantes, corantes, agentes de *crosslinking* e *setting*, óleos essenciais, aminoácidos, vitaminas, minerais, dentre outros (Prata, 2006). As características finais das microcápsulas são diretamente influenciadas por múltiplos fatores, destacando-se a técnica de encapsulação utilizada, a natureza e as propriedades do material de núcleo, bem como as características físico-químicas dos materiais de parede. Nesse contexto, a adequada seleção e otimização desses parâmetros são fundamentais para assegurar a qualidade do sistema, bem como a estabilidade, eficiência de encapsulação e funcionalidade dos compostos bioativos veiculados (Peanparkdee et al., 2016). A Figura 2 representa o esquema de formação de uma microcápsula.

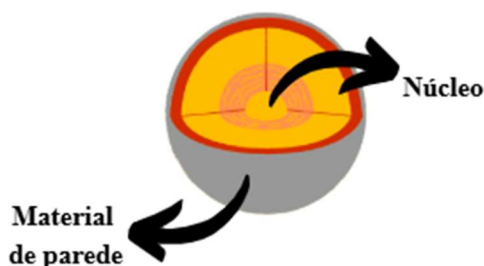


Figura 2. Representação de uma microcápsula.

Fonte: Adaptado de <https://www.btaaditivos.com.br/br/blog/processos-de-obtencao-de-microencapsulados-e-sua-aplicacao-na-nutricao-animal/111/>

O material de parede das microcápsulas tem como objetivo proteger substância do núcleo contra os fatores extrínsecos (oxigênio, luz, umidade, calor, interações com outros compostos), e reduzir as perdas dos ingredientes ativos, melhorando assim a sua estabilidade, condições de manipulação e aceitabilidade em geral. A técnica de microencapsulação vem sendo estudada por diversos países, e, segundo o SCOPUS, nos anos de 2019-2025, países como China, Estados Unidos, Brasil, Índia e Irã, tiveram o maior número de publicações científicas no mundo. A China liderou esse ranking, possuindo 2271 documentos, Estados Unidos vem em segundo lugar com 733; Brasil é o

terceiro colocado possuindo 740 e, em seguida vem a Índia e o Irã, com 698 e 526, respectivamente. Esses números mostram o quanto o Brasil tem investido neste tema, estando bem próximo dos Estados Unidos como mostra a Figura 3.

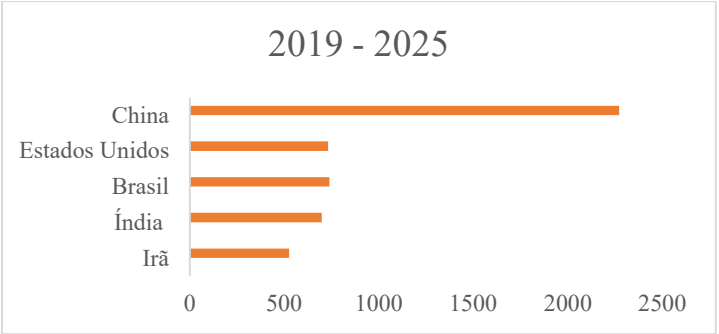


Figura 3. Ranking dos cinco países que mais possuem publicações científicas na área de microencapsulação.

Fonte: SCOPUS, 2025.

1.1 Métodos de microencapsulação

A escolha do método de microencapsulação mais adequado vai depender do tipo do material ativo, da aplicação e do mecanismo de liberação desejado para a sua ação. A diferença básica consiste no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (Suave et al, 2006). Na Tabela 1, foram citados alguns métodos com essas três classificações.

Tabela 1. Diferentes métodos de microencapsulação.

Físicos	Químicos	Físico-químicos
• <i>Spray drying</i>	• Inclusão molecular	• Coacervação
• <i>Spray cooling</i>	• Polimerização interfacial	• Emulsificação seguida de evaporação do solvente
• Pulverização em banho térmico		• Pulverização em agente formador de reticulação
• Liofilização		• Envolvimento lipossômico

Fonte: Suave et al, 2006.

1.2 Processo de coacervação complexa

A microencapsulação por coacervação complexa consiste na incorporação de substâncias bioativas em um revestimento protetor, resultando na formação de microcápsulas capazes de proteger o material ativo contra degradação e controlar sua liberação (Ren et al., 2023; Alrosan et al., 2025). De modo geral, esse processo envolve três etapas fundamentais: inicialmente ocorre a separação de fases, com a formação da fase coacervada rica em polímeros; em seguida, dá-se o encapsulamento do material do núcleo, no qual o composto bioativo é aprisionado pela fase coacervada; por fim, realiza-se a estabilização e o endurecimento das microcápsulas, etapa essencial para conferir integridade estrutural e resistência ao sistema formado (Ren et al., 2023; Elkalla et al., 2023). Entre as principais vantagens da microencapsulação por coacervação complexa, destacam-se a liberação controlada dos compostos bioativos, a elevada capacidade de carregamento, a melhoria da estabilidade térmica e o aumento da biodisponibilidade, o que reforça seu potencial para o desenvolvimento de sistemas de entrega eficientes (Muhoza et al., 2022). Um dos principais desafios está relacionado à dificuldade de se obter controle de qualidade consistente durante o processo de encapsulação. A coacervação é altamente dependente de múltiplos parâmetros, como pH, força iônica, peso molecular dos biopolímeros, natureza do solvente e características do composto encapsulado. Pequenas variações em qualquer um desses fatores pode resultar em diferenças significativas no tamanho das partículas formadas, bem como na ocorrência de agregação (English et al., 2023). Nos últimos anos diversos trabalhos de aplicação da coacervação complexa para microencapsular diferentes bioativos foram reportados na literatura. Na Tabela 2 apresenta-se estudos realizados através do método de encapsulação por coacervação complexa utilizando diferentes materiais de parede juntamente com diferentes compostos bioativos.

No que diz respeito à primeira etapa, emulsões são sistemas termodinâmicos, estáveis e com estrutura de moléculas de óleo em água, organizados como O/W (*oil in water*, em inglês) ou água em óleo W/O (*water in oil*). As emulsões óleo em água são as mais usadas para microencapsular e, na entrega de ingredientes ativos lipofílicos, essa emulsão pode se formar quando existem diferentes combinações de surfactantes e o óleo e água são misturados em condições adequadas. Além disso, pode ser necessário adicionar outros ingredientes para melhorar a estabilidade ou ajustar as propriedades funcionais da emulsão. Quando o bioativo é hidrofílico, utiliza-se a emulsão dupla (W/O/W, *water in*

oil in water) (McClements, 2015). Já a segunda etapa, de coacervação complexa, ocorre quando dois polieletrólitos de cargas opostas interagem em meio aquoso, sendo esse processo fortemente influenciado por parâmetros como pH, força iônica e a proporção entre os componentes (Alrosan et al., 2025). Ela consiste na interação eletrostática entre dois polímeros, normalmente uma proteína e um hidrocoloide (polissacarídeo ou proteína) (Nesterenko et al., 2014). Nesse caso são formados quando uma proteína a um pH abaixo do seu ponto isoelétrico (carga positiva) é misturada com um polissacarídeo aniônico (Alvim et al., 2010; Silva et al., 2015). Tal processo pode ser afetado por vários fatores como: a natureza, peso e densidade das cargas dos polímeros, temperatura, pH e força iônica (Schmitt; Turgeon, 2011; Souza et al., 2013).

Tabela 2. Estudos realizados através do método de encapsulação pelo processo de coacervação.

Material de parede	Método de encapsulação	Composto bioativo	Referência
Carboximetilcelulose e isolado proteico de amaranto	Coacervação complexa	Betanina	CONSTANTINO; GARCIA-ROJAS, 2022
Quitosana e k-carragena	Coacervação complexa	Óleo de farelo de arroz	FADILAH et al., 2023
Pectina e três tipos de gelatina (pele suína, pele bovina e de peixe)	Coacervação complexa	Óleo de peixe	ZHANG et al., 2024
Lactoferrina e goma carboximetil tara	Coacervação complexa	Curcumina	SOARES et al., 2024
Goma de damasco e quitosana	Coacervação complexa	Óleo de linhaça	MOVAHED et al., 2024
Proteína de gérmen de trigo e pectina de maçã	Coacervação complexa	D- limoneno	JAMSHIDIAN; RAFE, 2024
Caseinato de sódio e pectina	Coacervação complexa	Extrato de açafrão	ARDESTANI et al., 2024

Com relação aos fatores que influenciam na coacervação, eles podem ser classificados como extrínsecos ou intrínsecos. Entre os extrínsecos estão a mistura

macromolecular, pH, a força iônica, o teor de sólidos totais, temperatura, a taxa de acidificação e a taxa de cisalhamento durante a acidificação. Já os parâmetros intrínsecos estão relacionados com a natureza e as características das moléculas poliméricas, como massa molar, concentração total de macromoléculas no meio, densidade de cargas e flexibilidade das cadeias (Dickinson, 2003; Kruif et al., 2004). A Figura 4 é uma representação dos principais parâmetros que influenciam a formação de coacervados.

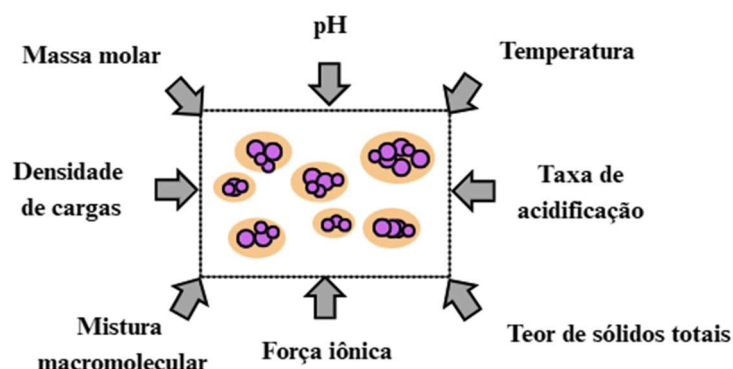


Figura 4. Fatores extrínsecos e intrínsecos que afetam a coacervação.

Fonte: Adaptado de Gaonkar et al., 2014.

Por fim, a etapa de reticulação é um processo em que o agente reticulante é usado para endurecer as paredes da microcápsula com o objetivo de estabilizar sua estrutura, uma vez que as microcápsulas formadas por coacervados geralmente apresentam menor resistência mecânica por conta da natureza iônica da interação entre as camadas de polímeros (Zhang et al., 2012). A transglutaminase (Timilsena et al., 2016), o cloreto de cálcio (Soares et al., 2019) e o ácido tânico (Muhoza et al., 2019) são alguns exemplos de agentes de reticulação usados na área de alimentos.

2. Materiais de parede

Diversos biopolímeros podem ser utilizados como materiais de parede para encapsular ingredientes ativos (Timilsena et al., 2017). Dentre os biopolímeros utilizados como materiais de parede destacam-se as proteínas derivadas do leite (lactoferrina e β -lactoglobulina), devido as suas propriedades funcionais (García-Montoya et al., 2012; Perez et al., 2014). Além de proteínas de origem animal, proteínas de origem vegetal também podem ser utilizadas como material de parede no processo de microencapsulação. O uso destas proteínas pode representar uma vantagem competitiva para fornecedores de ingredientes e fabricantes de alimentos devido ao crescimento

significativo em direção a mercados especializados, como aqueles que restringem o uso de proteínas de origem animal com base em crenças religiosas ou preferências alimentares (Avramenko et al., 2016). A produção de isolados proteicos de fontes vegetais é devido ao seu crescente uso como ingredientes com propriedades funcionais que também podem melhorar a nutrição e qualidade oferecidas pelos alimentos (Olivos-Lugo; Valdivia-López; Tecante, 2010).

2.1 Lentilha

A lentilha (*Lens culinaris*; Família: Fabaceae) é uma planta anual originária da Ásia Ocidental, amplamente cultivada em diversas regiões do mundo, incluindo países do Mediterrâneo, Oriente Médio, sul da Ásia e América do Norte. Suas sementes comestíveis, em formato de lente, apresentam elevada qualidade nutricional, sendo ricas em macro e micronutrientes. Assim como o feijão, o grão de bico e a ervilha, a lentilha é classificada como um *pulse*, ou seja, uma semente seca comestível de leguminosa. Trata-se de um alimento básico em diferentes culturas, frequentemente consumido com cereais como o arroz. Além disso, destaca-se pelo baixo teor de gordura, alto conteúdo de proteínas e minerais e pelo baixo índice glicêmico quando comparada a outros alimentos ricos em amido (Ganesan; Xu, 2017; Revilla et al., 2019). A Figura 5 mostra como são os grãos de lentilha.



Figura 5. Grãos de lentilha

Fonte: Nascimento, 2019.

Já no que diz respeito à sua produção, elas são produzidas em diversas regiões agroecológicas, como Ásia, Norte e América do Sul, África e Oceania. Durante as últimas duas décadas (2001-2020), a produção de lentilhas no mundo aumentou 107%, passando de 3,15 para 6,54 milhões de toneladas. O Canadá lidera os países produtores de lentilhas

(com 44% de participação na produção global), seguido pela Índia e Austrália com participação de 18% e 8%, respectivamente (Kaale et al., 2023). Dados da FAO mais recentes do ano de 2022, mostram que a produção de lentilha está concentrada nas Américas e na Ásia como demonstrado no mapa da Figura 6. No Brasil, a produção tem apresentado tendência de expansão, impulsionada pela crescente demanda dos mercados nacional e internacional por essa leguminosa. No entanto, apesar de sua relevância econômica e potencial produtivo, ainda há disponibilidade limitada de cultivares adaptadas e comercialmente acessíveis no país, o que representa um entrave para a consolidação e o fortalecimento da cadeia produtiva (Cardoso et al., 2021). É produzida principalmente na região do Cerrado, onde essa cultura alcança produtividades de 1.200 a 1.500 kg/ha; no Brasil se consome a lentilha de grão graúdo, tegumento (casca) verde acinzentado e cotilédone amarelo, vendida na forma de grão inteiro com casca e atualmente tem-se importado a totalidade da lentilha destinada ao consumo. Em 2019 (dados até o mês de novembro em Secex), o país importou cerca de 13,5 mil toneladas no valor de US\$ 7,2 milhões, principalmente do Canadá, um dos maiores produtores e exportadores de lentilha do mundo (Nascimento, 2019).

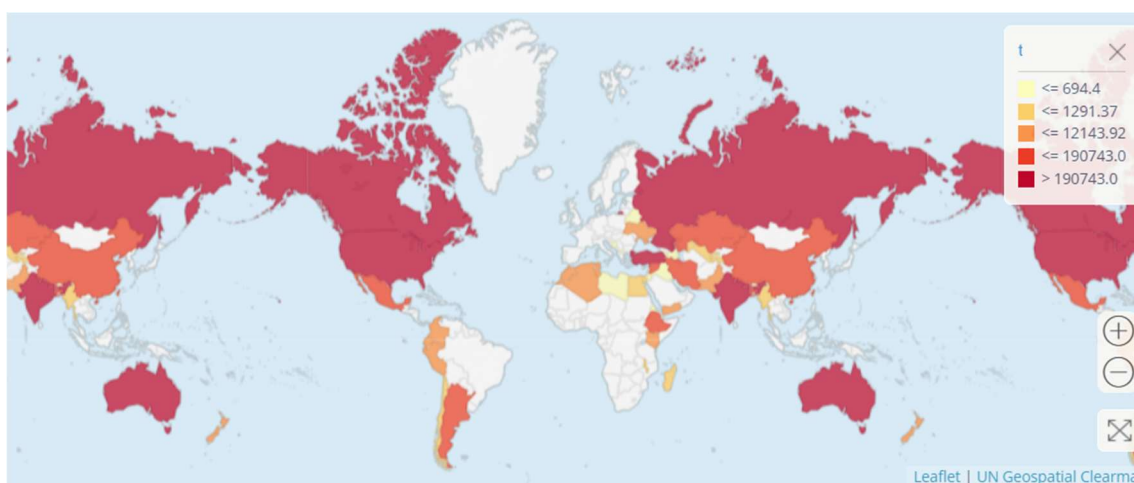


Figura 6. Produção de lentilhas secas por país em toneladas

Fonte: FAO, 2024.

A lentilha se mostra uma interessante fonte de proteína, já que contém entre 20,6 e 31,4 g/100 g à base seca, além de conter aminoácidos essenciais como a lisina e leucina (Jarpa-Parra et al., 2014). As sementes de lentilha contêm cerca de 69% de carboidratos e a maioria está presente na forma de amido (Joshi et al., 2013). As proteínas presentes na lentilha possuem boas propriedades funcionais, como formadoras de espuma,

emulsificantes, gelificação e absorção de óleo e água, o que torna interessante sua aplicação em emulsões alimentares. Se comparada com outros grãos como trigo, grão de bico, feijão, feijão marinho e feijão vermelho, a lentilha se destaca por ter uma maior porcentagem proteica (25,8%), como mostra a Tabela 3.

As proteínas da lentilha são basicamente compostas pela globulina e albumina, representando 50 a 65% e 10 a 25% da proteína total, respectivamente, e uma pequena quantidade ($\pm 10\%$ e $3,5\%$, respectivamente) de prolaminas e glutelinas também está presente (Wang; Ghosh; Nickerson, 2019).

Tabela 3. Porcentagem de proteína em diferentes grãos.

Grãos	Proteína (%)
Trigo	13,7
Grão de bico	19,3
Feijão	21,4
Feijão marinho	22,3
Feijão vermelho	22,5
Lentilha	25,8

Fonte: Adaptado de Kaale et al., 2023.

As lentilhas possuem um perfil nutricional que não é apenas rico em nutrientes, mas também oferece um melhor equilíbrio entre proteínas e carboidratos, quando em comparação com outras leguminosas citadas na Tabela 1 e o trigo. O conteúdo de proteínas, carboidratos e fibras alimentares das lentilhas é maior do que a do trigo e dessas leguminosas selecionadas, enquanto, pelo contrário, o teor de minerais é comparativamente maior (Kaale et al., 2023). As vantagens desta proteína de origem vegetal são atributos importantes para a saudabilidade humana, e é por isso que a lentilha está despertando o interesse da indústria de alimentos, sendo usada no encapsulamento e entrega de compostos bioativos e na formação de filmes comestíveis, por exemplo (Aghababaei et al., 2024). O estudo de Bamdad et al. (2006) indica que filmes à base de lentilha apresentam elevada resistência e elasticidade, além de boas propriedades de barreira à umidade e integridade física adequada. Os grãos de lentilha têm ganhado importância entre aqueles que valorizam uma alimentação saudável e em mercados gourmet. Existe uma demanda crescente de proteína vegetal por segmentos que buscam alimentos saudáveis bem como ampliar o leque de alternativas para dietas vegetarianas ou pessoas celíacas (Nascimento, 2019). Um ponto que merece atenção, é o fato de que

muitas proteínas vegetais possuem estruturas globulares densas e inflexíveis unidas por ligações dissulfeto e interações hidrofóbicas, o que reduz sua digestibilidade ao limitar o acesso das proteases às ligações peptídicas. As proteínas de lentilha geralmente apresentam menor digestibilidade em comparação às proteínas de origem animal devido à presença de fatores antinutricionais como inibidores de tripsina e fitatos, que podem dificultar a absorção e utilização de proteínas (Aghababaei et al., 2024).

2.1.1 Proteína de origem vegetal: Isolado proteico de lentilha

A proteína de lentilha é considerada uma alternativa promissora às proteínas de origem láctea, de soja e de trigo, devido ao seu baixo custo, ampla disponibilidade e elevado valor nutricional. Além disso, possui excelentes propriedades funcionais, como capacidade emulsificante, retenção de água, ligação de gordura, formação de espuma e gelificação. Do ponto de vista estrutural, é composta principalmente por globulinas (50–65% da proteína total), seguidas por albuminas (10–25%), além de pequenas quantidades de prolaminas e glutelinas, sendo as globulinas constituídas majoritariamente pelas frações legumina 11S e vicilina 7S (Wang et al., 2019).

Existem diversas pesquisas sobre a composição à base seca da proteína de lentilha (*Lens culinaris*) e seu potencial valor na alimentação humana. Em média, a porcentagem de proteína na semente de lentilha é de 20–25% de sua composição total e o primeiro trabalho feito a partir do uso dessa proteína de origem vegetal como um filme comestível para aplicações em embalagens foi realizado por Bamdad et al. (2006). Viu-se nesse estudo que as características da lentilha eram comparáveis com outros filmes de proteína comestível, como por exemplo a soja, ervilha e proteína de soro de leite em termos de resistência à tração, alongamento, barreira contra umidade e propriedade e solubilidade em água.

2.2 Proteína de origem animal: Lactoferrina

A lactoferrina é comumente utilizada como emulsificante e faz parte da proteína do leite. Pertence à família das transferrinas, juntamente com a transferrina sérica, ovotransferrina e melanotransferrina, sendo responsáveis principalmente pelo transporte de ferro. É produzida pelas células epiteliais da mucosa da glândula mamária de muitas espécies, como humanos, bovinos, caprinos, equinos e roedores. Também pode ser encontrada em diversos fluidos, como: lágrima, saliva, brônquicos, nasais, gastrointestinais e urina. Possui alta afinidade ao ferro, sendo a única proteína capaz de

reter esse metal sobre diferentes valores de pH, possuindo alta resistência a proteólise (García-Montoya et al., 2012).

Com relação à sua estrutura, a lactoferrina é organizada em dois lobos globulares, denominados lobo N e lobo C, conectados por uma região de ligação flexível, conforme a Figura 7. O lobo N corresponde à porção inicial da proteína, enquanto o lobo C compreende a região final da cadeia polipeptídica (Karav et al., 2017). Na extremidade do lobo N localiza-se a lactoferricina, um peptídeo bioativo associado principalmente às atividades antimicrobianas da proteína. Ambos os lobos apresentam sítios de ligação ao ferro, o que permite que a molécula se ligue a até dois íons férricos (Fe^{3+}) (Ostertag et al., 2025). Além disso, a proteína possui sítios de glicosilação, que contribuem para sua estabilidade estrutural, solubilidade e resistência à degradação enzimática. Essa organização estrutural está diretamente relacionada às propriedades funcionais da lactoferrina, incluindo sua capacidade de sequestrar ferro, modular a resposta imunológica e exercer atividade antioxidante e antimicrobiana (Kim et al., 2025). Ela possui peso molecular de 80 kDa, ponto isoelétrico próximo a 8.0 e sua maior concentração está presente no colostro, principalmente da espécie humana (Serrano, 2007).

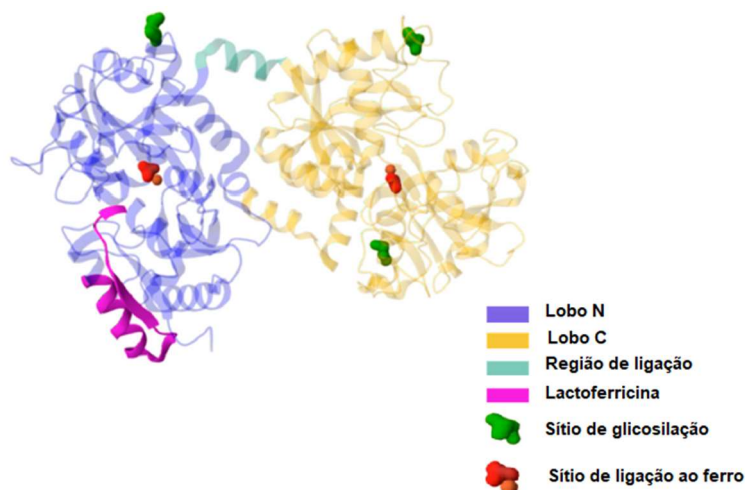


Figura 7. Estrutura Tridimensional da Lactoferrina

Fonte: Adaptado de Kim et al., 2025.

Esta proteína de origem animal é um peptídeo natural com grande potencial para prevenir morbidades, especialmente as gastrointestinais, já que apresenta atividade antimicrobiana, de estímulo à proliferação celular, anti-inflamatória e de favorecimento do crescimento da flora bifida (Queiroz et al., 2013). Além dessas funções, a lactoferrina

é capaz de se ligar a sequências específicas de DNA, resultando na transcrição da ativação dentro da célula; atua como um fator de transcrição que regula a expressão gênica e também pode regular a progressão do ciclo celular; age como um regulador do processo neuronal e exibe uma série de atividades enzimáticas, incluindo amilase, DNase, atividades RNase, ATPase e fosfatase, contribuindo em inúmeras funções biológicas (Hu et al., 2024).

Suas aplicações tecnológicas são diversas, tanto no ramo alimentício como no farmacêutico pois a lactoferrina é utilizada na fabricação de fórmulas infantis, bebidas funcionais e pastas de dente. Por possuir propriedades anticancerígenas e antivirais ela também tem um grande potencial na produção de novos medicamentos e vacinas (Wang et al., 2019). Na indústria de alimentos essa proteína é utilizada para preservar os alimentos, fabricar vinhos e laticínios por exemplo. A integração da lactoferrina em embalagens também vem sendo estudada, já que possui um grande potencial para revolucionar os materiais de embalagem de alimentos já existentes no mercado. Espera-se que o desenvolvimento desses materiais de embalagem melhore a experiência do consumidor, contribuindo para uma cadeia de abastecimento alimentar mais sustentável (Hu et al., 2024).

3. Agente reticulante: Ácido tânico

Os taninos são compostos polifenólicos de origem vegetal amplamente presentes em alimentos e bebidas, contribuindo para o sabor, a adstringência e diversos benefícios à saúde. Esses compostos apresentam propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cardioprotetoras, estando associados à redução do risco de doenças crônicas. Sua biodisponibilidade é modulada pela estrutura química, pelo grau de polimerização e pelas interações com a microbiota intestinal, o que reforça a importância do consumo equilibrado para minimizar possíveis prejuízos à absorção de nutrientes e maximizar seus efeitos benéficos (Cosme et al., 2025). Os taninos apresentam alto peso molecular (500-3000 Da) e, em geral, são solúveis em água em temperaturas moderadas (20-35 °C). Caracterizam-se pela capacidade de se ligar a proteínas, formando complexos tanino–proteína. Além disso, podem interagir com outros compostos, como saponinas, ácidos nucleicos, alcaloides e polissacarídeos (Gulcin, 2025).

Dentre os taninos, destaca-se o ácido tânico, um polifenol vegetal natural, que pode ser utilizado como agente reticulante por meio de interações supramoleculares ou

ligações químicas, possibilitando a formação de redes poliméricas funcionais e versáteis para diversas aplicações (Gülçin et al., 2010; Chen et al., 2022). Está presente em alimentos como banana, uva, uva-passa, sorgo, espinafre, café, caqui, chocolate e chá. O ácido tânico é um dos taninos mais representativos devido à sua estrutura química bem definida, formada por uma molécula central de glicose com dez grupos galóil (Gulcin, 2025), como mostra a Figura 8.

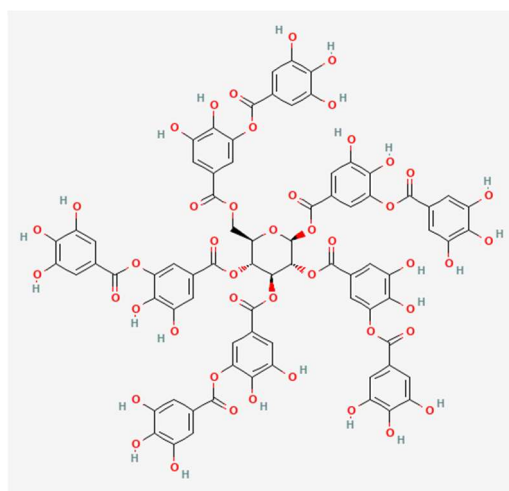


Figura 8. Estrutura química do ácido tânico.

Fonte: PUBCHEM, 2026.

No que se refere à reticulação física ou supramolecular citada anteriormente, o ácido tânico é capaz de complexar ou reticular macromoléculas em múltiplos sítios de ligação por meio de diversas interações, incluindo ligações de hidrogênio, ligações iônicas e interações π - π /cátion- π . Ele também pode reagir com outras moléculas funcionais para formar uma rede polimérica covalente por meio de reticulação química. Dessa forma, polímeros funcionais versáteis podem ser derivados da química dos polifenóis à base de ácido tânico, os quais se mostram promissores em áreas como hidrogéis adesivos, nanocarreadores para liberação de fármacos, termorrígidos, engenharia de tecidos, dentre outras (Chen et al., 2022), como mostra a Figura 9.

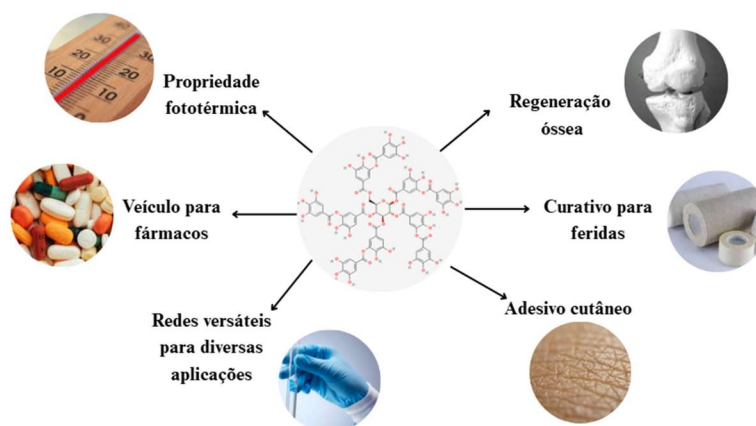


Figura 9. Redes versáteis derivadas do ácido tânico e sua ampla gama de aplicações.

Fonte: Adaptado de Chen et al., 2022.

4. Ingrediente bioativo: Vitamina E

A vitamina E está presente naturalmente em alimentos de origem vegetal, principalmente nos vegetais verde escuros, nas sementes oleaginosas, nos óleos vegetais e no germe de trigo. Além desses alimentos, ela também é encontrada em alimentos de origem animal, como gema de ovo e fígado (Batista et al., 2007). Esta vitamina é considerada como um antioxidante biológico porque mantém a integridade das membranas celulares que possuem ácidos graxos poli-insaturados. Ela possui vários compostos, sendo o α -tocoferol o mais abundante e ativo, seguido pelo γ -tocoferol. O α -tocoferol se destaca por sua baixa taxa de metabolismo e alta afinidade para transferência de proteínas. Além dos tocoferóis e tocotrienóis, também foram encontrados tocomonoenóis, tocodienols e algumas formas de ésteres na natureza conforme representado na Figura 10 (Ribeiro et al., 2021). A vitamina E possui as seguintes características: anula/minimiza as reações agressivas causadas por radicais livres procedentes de processos metabólicos ou da ação de agentes tóxicos sobre as membranas celulares; evita a adesão e agregação de plaquetas, inibindo a geração no plasma da trombina, um potente hormônio endógeno que induz agregação plaquetária; protege as hemácias da hemólise e atua na síntese de prostaglandinas (Júnior; Lemos, 2009). Entretanto, essa vitamina é extremamente sensível a altas temperaturas, luz, oxigênio e condições alcalinas, que, juntamente com sua baixa solubilidade em água, pode limitar suas aplicações.

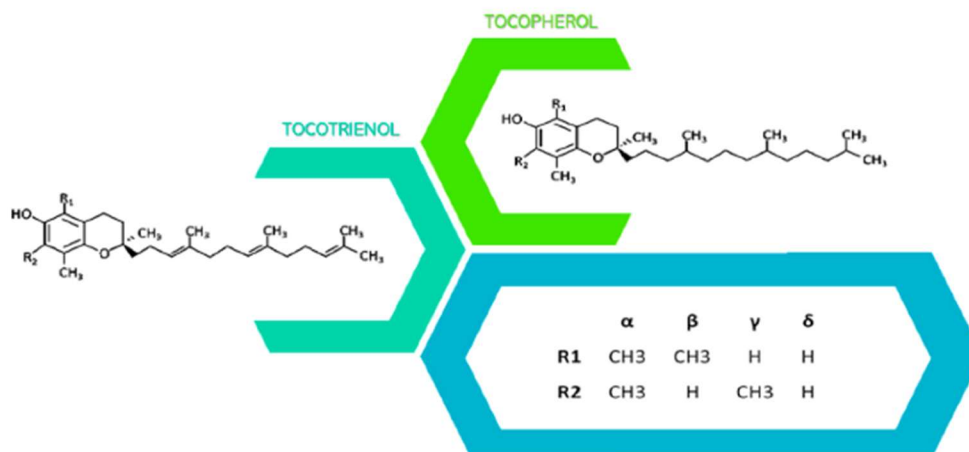


Figura 10. Representação da estrutura química de tocoferóis e tocotrienóis

Fonte: Ribeiro et al., 2021.

Nesse contexto, o encapsulamento destaca-se como uma estratégia eficaz para a proteção de vitaminas lipossolúveis, como a vitamina E, ao aumentar sua estabilidade e possibilitar a liberação controlada de componentes alimentares funcionais. Esse procedimento consiste no aprisionamento de compostos bioativos em agentes encapsulantes, materiais de parede ou agentes de revestimento, promovendo a proteção do núcleo ativo e facilitando sua entrega. A seleção dos materiais e da técnica de encapsulamento deve ser realizada de acordo com o objetivo final da aplicação e as características do sistema desenvolvido (Vaselabadi et al., 2025). A Tabela 4 apresenta alguns estudos realizados a partir da microencapsulação da vitamina E.

5. Aplicações tecnológicas: Filmes comestíveis

Os filmes comestíveis são feitos de materiais de origem alimentar capazes de fornecer uma barreira contra gases, umidade e movimento de solutos nos alimentos (Bader, 2023) usados há muito tempo para proteger alimentos perecíveis da deterioração. Vários tipos de filmes, desenvolvidos em laboratório a partir de polissacarídeos e proteínas, são caracterizados quanto às suas propriedades funcionais e físicas, como mecânicas, de barreira (vapor de água, O₂, CO₂ e etileno), solubilidade em água, cor e opacidade (Mendieta-Taboada et al., 2008).

Tabela 4. Estudos realizados a partir da microencapsulação da vitamina E usando diferentes técnicas e materiais de parede.

Técnica de microencapsulação	Bioativo	Agentes encapsulantes	Referência
Emulsão com ultrassom	Vitamina E	Caseína e ácido hialurônico	WANG et al., 2023
Microemulsão	Vitamina E	Zeína e goma xantana	QI et al., 2024
Microemulsão	Vitamina E	Zeína e alginato de sódio	QI et al., 2024
Microemulsão	Vitamina E	Zeína e carboximetilcelulose sódica	QI et al., 2024
Emulsão múltipla	Vitamina E	Maltodextrina e isolado proteico do soro de leite	HU et al., 2025
Liofilização e secagem por atomização	Vitamina E e isoflavonas em pó de leite de soja	Maltodextrina e goma acácia	DETCHEWA et al., 2025

Fonte: Adaptado de Vaselabadi et al., 2025.

As propriedades dos filmes comestíveis dependem das interações entre seus componentes, classificados em proteínas, polissacarídeos e materiais compósitos. Filmes à base de proteínas apresentam melhor capacidade emulsificante e propriedades mecânicas, porém maior permeabilidade ao vapor de água. Filmes de polissacarídeos são não tóxicos e seletivamente permeáveis a gases, mas geralmente apresentam limitações quanto à resistência à umidade. O aumento do teor de gelatina melhora as propriedades mecânicas, embora reduza a resistência à água. Em comparação aos filmes de substrato único, os filmes compósitos exibem desempenho superior, incluindo melhores propriedades mecânicas, antioxidantes, antibacterianas e de barreira (Chungsiriporn et al., 2022; Karakoyun; Keskin, 2023; Li et al., 2024).

5.1 Filmes comestíveis à base de plantas

O aumento das preocupações ambientais tem levado o consumidor moderno a migrar para materiais de embalagem sustentáveis à base de plantas, impulsionando o interesse por filmes comestíveis. Nesse contexto, proteínas vegetais obtidas principalmente de leguminosas, cereais, oleaginosas e subprodutos agrícolas vêm se

destacando como alternativas sustentáveis às proteínas de origem animal, contribuindo também para a redução do desperdício (Gupta et al., 2024). Essas proteínas podem ser classificadas de acordo com sua solubilidade, em: globulinas, albuminas, prolaminas e glutelinas, cada uma apresentando diferentes capacidades de formação de filmes e propriedades funcionais, como mostra a Figura 11. Em conjunto com polissacarídeos e lipídios, os biopolímeros vegetais, por serem biodegradáveis e recicláveis, apresentam elevado potencial de aplicação em embalagens alimentícias. Além disso, suas propriedades de barreira, flexibilidade e resistência mecânica podem ser aprimoradas por meio da incorporação de aditivos, misturas poliméricas ou modificações estruturais, ampliando sua viabilidade tecnológica e funcional (Kong et al., 2025).



Figura 11. Classificação das proteínas vegetais segundo a solubilidade e suas propriedades filmogênicas.

Fonte: Zhang et al., 2023; Linares-Castañeda et al., 2023.

Apesar do potencial dos filmes comestíveis à base de plantas, ainda existem desafios relacionados à sua aceitação pelo consumidor, incluindo preocupações quanto à segurança do material de revestimento, às características sensoriais, à vida útil e ao custo

dos produtos. Nesse contexto, a transparência e a clareza das informações apresentadas no rótulo desempenham papel fundamental no aumento da confiança e da aceitação do consumidor (Gupta et al., 2024). Ademais, a microencapsulação destaca-se como uma estratégia eficaz para melhorar o sabor e o odor de componentes vegetais, contribuindo para a redução da rejeição sensorial e para a ampliação da aceitação desses produtos.

6. Referências

AGHABABAEI, Fatemeh; MCCLEMENTS, David Julian; PIGNITTER, Marc; HADIDI, Milad. A comprehensive review of processing, functionality, and potential applications of lentil proteins in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 333, 103280, 2024.

ALROSAN, Mohammad; AL-RABADI, Nizar; ALU'DATT, Muhammad H.; AL-QAISI, Ali; AL-SHUNNAQ, Esra'a E.; ABU-KHALAF, Nawaf; MAGHAYDAH, Sofyan; ASSAF, Taher; HIDMI, Tareq; TAN, Thuan-Chew; BAWADI, Hiba; ALMAJWAL, Ali M.; OBEIDAT, Hadeel J. Complex Coacervation of Plant-Based Proteins and Polysaccharides: Sustainable Encapsulation Techniques for Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 17, p. 1059–1082, 2025.

ALVIM, Izabela Dutra; GROSSO, Carlos Raimundo Ferreira. 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, n. 4, p. 1069-1076, 2010.

ARDESTANI, Faezeh; ASL, Ali Haghighi; RAFE, Ali. Characterization of caseinate-pectin complex coacervates as a carrier for delivery and controlled-release of saffron extract. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, p. 1-15, 2024.

AVRAMENKO, Nicole. Encapsulation of flaxseed oil within native and modified lentil protein-based microcapsules. **Food Research International**, v. 81, p. 17–24, 2016.

BADER, Márcia Seixas de Castro. Filmes comestíveis: uma breve revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: o avanço da ciência no Brasil**, v. 6, p. 89-105, 2023.

BAMDAD, Fatemeh; GOLI, Amir Hossein; KADIVAR, Mahdi. Preparation and characterization of proteinous film from lentil (*Lens culinaris*) Edible film from lentil (*Lens culinaris*). **Food Research International**, v. 39, p. 106–11, 2006.

BATISTA, Ellencristina da Silva; COSTA, André Gustavo Vasconcelos; PINHEIRO-SANT'ANA, Helena Maria. Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 20, n. 5, p.525-535, 2007.

BUDINČIĆ, Jelena Milinković; PETROVIĆ, Lidija; ĐEKIĆ, Ljiljana; FRAJ, Jadranka; BUČKO, Sandra; KATONA, Jaroslav; SPASOJEVIĆ, Ljiljana. Study of vitamin E microencapsulation and controlled release from chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v.251, 2021.

CARDOSO, Fabiana R.; BRASILEIRO, Lemerson O.; RAGASSI, Carlos F.; CARVALHO, Agnaldo D. F.; SILVA, Patrícia P.; VIEIRA, Jairo V.; NASCIMENTO, Warley M. Morpho-agronomic characterization and genetic divergence in lentil genotypes. **Horticultura Brasileira**, v. 39, p. 169-177, 2021.

CHEN, Chen; YANG, Hao; YANG Xiao; MA, Qinghai. Tannic acid: a crosslinker leading to versatile functional polymeric networks: a review. **RSC Adv.**, v. 12, p.7689-7711, 2022.

CHUNGSIRIPORN, Juntima; KHUNTHONGKAEW, Piyaporn; WONGNOIPLA, Yuttawee; SOPAJARN, Arrisa; KARRILA, Seppo; IEWKITTAYAKORN, Jutarut. Fibrous packaging paper made of oil palm fiber with beeswax-chitosan solution to improve water resistance. **Ind. Crop. Prod.**, v. 177, 2022.

CONSTANTINO, Augusto Bené Tomé; GARCIA-ROJAS, Edwin Elard. Microencapsulation of betanin by complex coacervation of carboxymethylcellulose and amaranth protein isolate for application in edible gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 133, n. May, 2022.

COSME, Fernanda; AIRES, Alfredo; PINTO, Teresa; OLIVEIRA, Ivo; VILELA, Alice; GONÇALVES, Berta. A Comprehensive Review of Bioactive Tannins in Foods and Beverages: Functional Properties, Health Benefits, and Sensory Qualities. **Molecules**, v. 30, 2025.

DETCHEWA, Pakkawat; APHIBANTHAMMAKIT, Chutima; MOONGNGARM, Anuchita; AVALONE, Sylvie; PRASAJAK, Patcharee; BOONPAN, Chadaporn; RUANGDATH, Varathip; SRIWICHAI, Wichien. Microencapsulation techniques and encapsulating materials influenced the shelf life and digestion release of vitamin E and isoflavones in soymilk powder. **Scientific Reports**, v. 15, 2025.

DICKINSON, Eric. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25-39, 2003.

ELKALLA, Eslam; KHIZAR, Sumera; TARHINI, Mohamad; LEBAZ, Noureddine; ZINE, Nadia; JAFFREZIC-RENAULT, Nicole; ERRACHID, Abdelhamid; ELAISSARI, Abdelhamid. Core-shell micro/nanocapsules: from encapsulation to applications. **Journal of Microencapsulation**, v. 40, n. 3, p. 125–156, 2023.

ENGLISH, Marcia; OKAGU, Ogadimma, D; STEPHENS, Kristen; GOERTZEN, Alex; UDENIGWE, Chibuike, C. Flavour encapsulation: A comparative analysis of relevant techniques, physiochemical characterisation, stability, and food applications. **Front. Nutr.**, v. 10, 2023.

FACCHI, Caroline. Processos de obtenção de microencapsulados e sua aplicação na nutrição animal. Disponível em: <<https://www.btaaditivos.com.br/br/blog/processos-de-obtencao-de-microencapsulados-e-sua-aplicacao-na-nutricao-animal/111/>>. Acesso em: 04 nov. 2024.

FADILAH; DISTANTINA, Sperisa; SUSANTIL, Ari Diana; FITRIYANI, Elisa; DAMAYANTI, Anastasia Devina. Microencapsulation of Rice Bran Oil by Complex

Coacervation Using Chitosan – k-carrageenan: Influence of Glutaraldehyde and Tween 20. **Joint Journal of Novel Carbon Resource Sciences & Green Asia Strategy**, v. 10, n. 01, p. 546-552, 2023.

FAO. Dados da produção de lentilhas secas por país em toneladas no ano de 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 31 out. 2024.

GANESAN, Kumar; XU, Baojun. Polyphenol-Rich Lentils and Their Health Promoting Effects. **Int. J. Mol. Sci.**, v.18, 2017.

GAONKAR, Anilkumar; VASISHT, Niraj; KHARE, Atul; SOBEL, Robert. **Microencapsulation in the Food Industry: A Practical Implementation Guide**. San Diego: Academic Press, 2014.

GARCÍA-MONTOYA, Isui Abril; CENDÓN, Tania Siqueiros; ARÉVALO-GALLEGOS, Sigifredo; RASCÓN-CRUZ, Quintín. Lactoferrin: a multiple bioactive protein - an overview. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1820, n. 3, p. 226-236, 2012.

GULCIN, İlhami. Antioxidants: a comprehensive review. **Archives of Toxicology**, v. 99, p. 1893–1997, 2025.

GÜLÇİN, İlhami; HUYUT, Zübeyr; ELMASTA, Mahfuz; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, p. 43–53, 2010.

GUPTA, Divyanshu; LALL, Arshiya; KUMAR, Sachin; PATIL, Tejaswini Dhanaji; GAIKWAD, Kirtiraj K. Plant-based edible films and coatings for foodpackaging applications: recent advances, applications, and trends. **Sustainable Food Technol.**, v. 2, p. 1428–1455, 2024.

HU, Chuanjun; SHEN, Wei; XIA, Yuanyuan; YANG, Haiquan; CHEN, Xianzhong. Lactoferrin: Current situation and future prospects. **Food Bioscience**, v. 62, 105183, 2024.

HU, Ting; ZHANG, Jianhong; WU, Yingmei; LI, Xin; SONG, Hongbo; AN, Fengping; LUO, Peng; HUANG, Qun. Development and characterization of vitamin C- vitamin E co-loaded microcapsules: Storage stability, antioxidant activity and in vitro release Properties. **Food Chemistry: X**, v. 29, 2025.

IUPAC. União Internacional da Química Pura e Aplicada. Disponível em: <http://old.iupac.org/general/about.html>. Acesso em: 25 nov. 2024.

JAMSHIDIAN, Hamed; RAFE, Ali. Complex coacervate of wheat germ protein/high methoxy pectin in encapsulation of d-limonene. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, p. 1-14, 2024.

JARPA-PARRA, Marcela; BAMDAD, Fatemeh; WANG, Yixiang; TIAN, Z; TEMELLI, F; HAN, Jay; CHEN, Li. Optimization of lentil protein extraction and the influence of

- process pH on protein structure and functionality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 461–469, 2014.
- JOSHI, M.; ALDRED, P.; MCKNIGHT, S.; PANOZZO, J. F.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and functional characteristics of lentil starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1484–1496, 2013.
- JÚNIOR, Hernani Pinto de Lemos; LEMOS, André Luis Alves. Vitamina E e gravidez. **Diagn Tratamento**, v.14(4), p. 152-155, 2009.
- KAALE, Lilian. D; SIDDIQ, Muhammad; HOOPER, Sharon. Lentil (*Lens culinaris Medik*) as nutrient-rich and versatile food legume: A review. **Legume Science**. p. 1-11, 2023.
- KARAKOYUN, Onur; KESKIN, Semin Ozge. Effects of gelatin concentration and co-plasticizer type on physical, mechanical and microstructural properties of corn starch-gelatin composite edible films. **Food Technol**, v. 47, n. 1, p. 140–153, 2023.
- KARAV, Sercan; GERMAN, J. Bruce; ROUQUIÉ, Camille; LE PARC, Annabelle; BARILE, Daniela. Studying Lactoferrin N-Glycosylation. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 18, 2017.
- KIM, Jung Won; LEE, Ji Seok; CHOI, Yu Jung; KIM, Chaekyun. The Multifaceted Functions of Lactoferrin in Antimicrobial Defense and Inflammation. **Biomolecules**, v.15, 2025.
- KONG, Jianglong; MA, Sihan; CHU, Runxuan. Plant protein-based active and smart food packaging: applications and perspectives. **Food Hydrocolloids**, v. 172, 2025.
- KRUIF, Cornelus G.; WEINBRECK, Fanny; VRIES, Renko. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 340 – 349, 2004.
- LI, Xin; LI, Fenghong; ZHANG, Xuan; TANG, Weiyuan; HUANG, Mingzheng; HUANG, Qun; TU, ZONGCAI. Interaction mechanisms of edible film ingredients and their effects on food quality. **Current Research in Food Science**, v. 8, 2024.
- LINARES-CASTAÑEDA, A. et al. Cereal and legume protein edible films: a sustainable alternative to conventional food packaging. **International Journal of Food Properties**, v. 26, n. 2, p. 3197–3213, 2023.
- McCLEMENTS, David J. **Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds**, 2015.
- MENDIETA-TABOADA, Oscar; CARVALHO, Rosemary A; SOBRAL, Paulo José do A. Análise dinâmico-mecânica: aplicações em filmes comestíveis. **Quim. Nova**, v. 31, n. 2, p. 384-393, 2008.
- MOVAHED, Mehrnoosh Dabiri; SAHARI, Mohammad Ali; BARZEGAR, Mohsen. Microencapsulation of flaxseed oil by complex coacervation of with apricot tree (*Prunus armeniaca L.*) gum and low molecular chitosan: Formation and structural characterization. **Applied Food Research**, 100519, 2024.

- MUHOZA, Bertrand; XIA, Shuqin; WANG, Xuejiao; ZHANG, Xiaoming; LI, Yang; ZHANG, Shuang. Microencapsulation of essential oils by complex coacervation method: preparation, thermal stability, release properties and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 5, p. 1363–1382, 2022.
- MUHOZA, Bertrand; XIA, Shuqin; ZHANG, Xiaoming. Gelatin and high methyl pectin coacervates crosslinked with tannic acid: The characterization, rheological properties, and application for peppermint oil microencapsulation. **Food Hydrocolloids**, 105174, 2019.
- NASCIMENTO, Warley Marcos. **Lentilhas: muito além do Réveillon**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/49159157/artigo---lentilhas-muito-alem-do-reveillon>>. Acesso em: 25 set. 2024.
- NESTERENKO, Alla; ALRIC, Isabelle; VIOLLEAU, Frédéric; SILVESTRE, Françoise; DURRIEU, Vanessa. The effect of vegetable protein modifications on the microencapsulation process. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 95-102, 2014.
- OLIVOS-LUGO, B. L.; VALDIVIA-LÓPEZ, M. Á.; TECANTE, A. Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of mexican chia seed (*Salvia hispanica L.*). **Food Science and Technology International**, v. 16, n. 1, p. 89–96, 2010.
- OSTERTAG, Fabian; GRIMM, Vanessa J.; Hinrichs, Jörg. Iron saturation and binding capacity of lactoferrin - development and validation of a colorimetric protocol for quality control. **Food Chemistry**, v. 463, 2025.
- PEANPARKDEE, Methavee; IWAMOTO, Satoshi; YAMAUCHI, Ryo. Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. **Reviews in Agricultural Science**, v. 4, p. 56 – 65, 2016.
- PEREZ, Adrián, A; ANDERMATTEN, Romina B; RUBIOLO, Amelia C; SANTIAGO, Liliana G. β -Lactoglobulin heat-induced aggregates as carriers of polyunsaturated fatty acids. **Food chemistry**, v. 158, p. 66-72. 2014.
- PRATA, Ana Silvia. **Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa**. 2006. 267 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição), Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas.
- PUBCHEM. National Center for Biotechnology Information. Tannic Acid. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tannic-Acid>. Acesso em: 20 fev. 2026.
- QI, Yunqin; ZHANG, Zhihui; WANG, Yukai; WU, Zhiyu; QIN, Ziyu; ZHOU, Yuan; YANG, Xiuquan. **Preparation and characterization of vitamin E microcapsules stabilized by Zein with different polysaccharides**. *International Journal of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 268, n° P2, p. 131975, 2024.
- QUEIROZ, Valterlinda Alves de O.; ASSIS, Ana Marlúcia O.; JÚNIOR, Hugo da Costa R. Efeito protetor da lactoferrina humana no trato gastrointestinal. **Rev Paul Pediatr**, p. 90-95, 2013.

REN, X.; LIU, Y.; WU, W.; ZHANG, W. Chapter 13 - Microencapsulation by complex coacervation processes. *Microencapsulation in the Food Industry (Second Edition). A Practical Implementation Guide*, Pages 169-193, 2023.

REVILLA, I.; LASTRAS, C.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M. I.; VIVAR-QUINTANA, A. M.; MORALES-CORTS, R.; GÓMEZ-SÁNCHEZ, M. A.; PÉREZ-SÁNCHEZ, R. Predicting the physicochemical properties and geographical origin of lentils using near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 77, p. 84– 90, 2019.

RIBEIRO A. Marisa; ESTEVINHO, Berta Nogueiro; ROCHA, Fernando Alberto. The progress and application of vitamin E encapsulation - A review. **Food Hydrocolloids**, v. 121, p. 106998, 2021.

SCHMITT, Christophe.; TURGEON, Sylvie L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, p.63-70, 2011.

SCOPUS. Ranking dos países que mais possuem publicações científicas na área de microencapsulação. Disponível em: <https://www-scopus-com.ez24.periodicos.capes.gov.br/search/form.uri?display=basic#basic>. Acesso em: 23 dez. 2025.

SERRANO, María Elisa Drago. Lactoferrina: producción industrial y aplicaciones. **Revista Mexicana de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 3, p. 30-38, 2007.

SHARIPOVA, A. A.; AIDAROVA, S. B.; GRIGORIEV, D.; MUTALIEVA, B.; MADIBEKOVA, G.; TLEUOVA, A.; MILLER, R. Polymer–surfactant complexes for microencapsulation of vitamin E and its release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 137, p. 152–157, 2016.

SILVA, Thaiane Marques da; RODRIGUES, Luiza Zancan; NUNES, Graciele Lorenzoni; CODEVILLA, Cristiane Franco; SILVA, Cristiane Bona da; MENEZES, Cristiano Ragagnin de. Encapsulação de compostos bioativos por coacervação complexa. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 56-64, 2015.

SOARES, Ariana de Souza; AUGUSTO, Pedro Esteves Duarte; JUNIOR, Bruno Ricardo de Castro Leite; NOGUEIRA, Camila Archette; VIEIRA, Erica Nascif Rufino; DE BARROS, Frederico Augusto Ribeiro; STRINGHETA, Paulo Cesar; RAMOS, Afonso Mota. Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase: Investigation on substrate, enzyme and kinetics parameters. **LWT**, v. 107, p. 164-170, 2019.

SOARES, Barbara da Silva; CONSTANTINO, Augusto Bene Tomé; GARCIA-ROJAS, Edwin Elard. Microencapsulation of curcumin by complex coacervation of lactoferrin and carboxymethyl tara gum for incorporation into edible films. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 5, 2024.

SOUZA, Clitor. J. F.; GARCIA-ROJAS, Edwin E.; MELO, Nathália R.; LINS, J. F. C. Complex coacervates obtained from interaction egg yolk lipoprotein and polysaccharides. **Food hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 375-381, 2013.

SUAVE, J; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V; LIBECON. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, 2006.

TIMILSENA Y. P., WANG B., ADHIKARI R., ADHIKARI B. Preparation and characterization of chia seed protein isolate chiaseed gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 554-563, 2016.

TIMILSENA, Yiakindra; ADHIKARI, Raju; BARROW, Colin; ADHIKARI, Benu. Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein-gum complex coacervates. **Food hydrocolloids**, v. 66, p. 71-81, 2017.

VASELABADI, Samira Askari; GHARIBZAHEDI, Seyed Mohammad Taghi; GREINER, Ralf; VALE, Jim M; OVENSERI, Airemwen Collins; RASHIDINEJAD, Ali; ROOHINEJAD, Shahin. Advancements in Spray-Drying for the Microencapsulation of Fat-Soluble Vitamins: Stability, Bioavailability, and Applications. **Journal of Food Biochemistry**, v. 1, 2025.

WANG, Bo; TIMILSENA, Yakindra Prasad; BLANCH, Ewan; ADHIKARI, Benu. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 4, p. 580–596, 2019.

WANG, Ningzhe; CHENG, Jianjun; JIANG, Yunqing; MENG, Yao; ZHANG, Kaida; BAN, Qingfeng; WANG, Xibo. Emulsions stabilised by casein and hyaluronic acid: Effects of high intensity ultrasound on the stability and vitamin E digestive characteristics. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 94, 106314, 2023.

WANG, Yingxin; GHOSH, Supratim; NICKERSON, Michael T. Effect of pH on the formation of electrostatic complexes between lentil protein isolate and a range of anionic polysaccharides, and their resulting emulsifying properties. **Food Chemistry**, v. 298, 125023, 2019.

WANG, Yingxin; PILLAI, Prasanth K.S.; NICKERSON, Michael T. Effect of molecular mass and degree of substitution of carboxymethyl cellulose on the formation electrostatic complexes with lentil protein isolate. **Food Research International**, v. 126, 2019.

ZHANG, Ka.; ZHANG, Hongman; HU, Xuechao; BAO, Shanshan; HUANG, He; Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 89, p. 61-66, 2012.

ZHANG, Shuning; KUANG, Yongyan; XU, Panpan; CHEN, Xiaowei; BI, Yanlan; PENG, DAN; LI, JUN. Applications of Prolamin-Based Edible Coatings in Food Preservation: A Review. **Molecules**, v. 28, 2023.

ZHANG, Wenjie; CHEN, Lijia; BIAN, Qiqi; GONG, Huan; LI, Li; WANG, Zhengquan; WANG, Xichang; ZHONG, Jian. Complex coacervation of low methoxy pectin with three types of gelatins for the encapsulation of fish oil. **Food Chemistry**, v. 460, 2024.

CAPÍTULO II

LENTIL PROTEIN ISOLATE AND LACTOFERRIN AS WALL MATERIAL OF COMPLEX COACERVATES AS DELIVERY SYSTEM OF α -TOCOPHEROL

Submitted to **Food Hydrocolloids**.

ABSTRACT

Vitamin E acts as an antioxidant by neutralizing free radicals and delaying the chain reaction of lipid peroxidation, a process associated with the development of several diseases. This study aimed to microencapsulate vitamin E by the complex coacervation process using lentil protein isolate (LPI) and lactoferrin (Lf) as wall materials. The formation of these materials was investigated through phase diagram analysis, zeta potential, isothermal titration calorimetry, electrophoresis, and rheology. Vitamin E was encapsulated by complex coacervation using different core-to-wall ratios and total solids concentrations. The results showed that LPI and Lf were able to form complexes at pH 6.0 through electrostatic attraction, exhibiting high affinity and high vitamin encapsulation efficiency (96.40%). During simulated digestion, non-crosslinked microcapsules showed a progressive release of vitamin E, with lower release in the gastric phase (41.42%–47.68%) and higher release in the intestinal phase (57.94%–63.33%). After *in vitro* gastrointestinal digestion, the bioaccessibility of encapsulated vitamin E was approximately 35.5%. In contrast, for microcapsules crosslinked with tannic acid, vitamin E release in the gastric phase ranged from 39.82% to 48.31%, while in the intestinal phase it ranged from 83.79% to 83.94%, resulting in a bioaccessibility of 70.5%. Therefore, crosslinking significantly increased bioaccessibility compared to non-crosslinked microcapsules, demonstrating its effectiveness in protecting and controlling the release of the bioactive compound.

Keywords: heteroprotein interaction; tannic acid; vitamin E; antioxidant.

1. INTRODUCTION

Vitamin E (α -tocopherol) is an essential micronutrient and a fat-soluble antioxidant known to play important physiological roles, including antioxidant, immunoregulatory, anti-inflammatory, and neuroprotective functions. In addition to protecting tissues against uncontrolled lipid peroxidation, this vitamin is also involved in protein-related processes and gene modulation, contributing to the maintenance of cellular homeostasis and overall health (Ribeiro, Estevinho, & Rocha, 2021; Galli et al., 2022). However, vitamin E is susceptible to deterioration and loss of bioactivity when exposed to high oxygen levels or light (Wijekoon et al., 2023). In this context, vitamin E is widely used in the food industry as an antioxidant to extend shelf life and prevent lipid oxidation that compromises product quality. In animal nutrition, it is employed as a feed additive to improve meat appearance and flavor. Furthermore, vitamin E has relevant functions in plants and diverse applications in other fields, such as the biomedical industry, where it is used as an antioxidant stabilizer, and in the pharmaceutical industry, where it serves as a solubilizing agent for excipients in solid dosage forms (Muthulakshmi, Srinivasan, & Srivastava, 2023).

In the food industry, ingredients such as vitamin E can be delivered and protected against chemical and biological degradation through microencapsulation techniques, which are widely applied to flavors, oils, vitamins, and microorganisms (Budinčić et al., 2021; Bhardwaj et al., 2024). This method consists of enclosing solid, liquid, or gaseous active ingredients within a protective material, forming a core (active compound) and a shell (coating) (Kaur et al., 2024). Several encapsulation techniques have been developed, among which complex coacervation has gained increasing attention in the food industry due to its high encapsulation efficiency and mild processing conditions (Eghbal & Choudhary, 2018). Several studies have reported the microencapsulation of vitamin E using different approaches, such as ultrasound-assisted emulsification (Wang et al., 2023), co-encapsulation in liposomes (Tan et al., 2024), and complex coacervation (Zhou et al., 2024).

Complex coacervation is a process that can be carried out in three main stages: emulsification, coacervation, and crosslinking (Yan & Zhang, 2014). Emulsification involves the formation of a homogeneous system of two immiscible phases, with oil-in-

water (O/W) emulsions commonly used for lipophilic compounds and multiple water-in-oil-in-water (W/O/W) systems for hydrophilic bioactives. For microencapsulation, the active compound must be present in the dispersed phase of the emulsion (McClements, 2015). The coacervation step results from electrostatic interactions between oppositely charged polymers, leading to the formation of coacervates that surround the active compounds (Nesterenko et al., 2014). This interaction is influenced by factors such as pH, temperature, and ionic strength (Gaonkar et al., 2014). Finally, the third and last step, crosslinking, involves the use of crosslinking agents to harden the microcapsule walls, thereby enhancing their structural stability, as coacervates typically exhibit low mechanical strength (Zhang et al., 2012). Various bioactive compounds have been encapsulated using this method, including curcumin with lactoferrin and carboxymethyl tara gum as wall materials (Soares, Constantino, & Garcia-Rojas, 2024), betanin via coacervation of carboxymethylcellulose and amaranth protein isolate (Constantino & Garcia-Rojas, 2022), and vitamin E using chitosan and sodium lauryl ether sulfate as encapsulating agents (Budinčić et al., 2021).

In the literature, several wall materials have been proposed for the microencapsulation of biologically active molecules. In the present study, lentil protein isolate (LPI) and lactoferrin (Lf), crosslinked with tannic acid, were proposed as wall materials. Lentils are an essential component of the diet in many countries due to their high protein content, balanced carbohydrates (including dietary fiber), minerals, and a wide range of bioactive phytochemicals, such as flavonoids, total phenolics, phytates, saponins, and tannins. Lentil flours, fractions, and protein isolates, rich in proteins and starch, offer potential for the development of gluten-free food products (Kaale, Siddiq, & Hooper, 2022). Moreover, lentil proteins represent a more sustainable alternative compared to animal-derived proteins such as those from meat, fish, eggs, or milk (Aghababaei et al., 2024). Lactoferrin, in turn, is a multifunctional protein present in several biological secretions, including milk, and exhibits iron-binding and iron-transport properties, as well as antibacterial, antiviral, antifungal, anti-inflammatory, and anticancer activities (Wang et al., 2019).

Tannins are polyphenolic compounds widely present in plant-derived foods and beverages, contributing to flavor, astringency, and several health benefits. Among them, tannic acid stands out as a hydrolyzable tannin composed of a glucose core esterified with gallic acid residues, whose structure enables interactions with various molecules through

hydrogen bonding, van der Waals forces, covalent bonds, and metal coordination complexes. These characteristics confer antioxidant, anti-inflammatory, and cardioprotective properties to tannic acid, which have been associated with a reduced risk of chronic diseases (Cosme et al., 2025; Ye et al., 2025).

In this context, the present study investigated the formation of vitamin E microcapsules by complex coacervation using lentil protein isolate and lactoferrin as wall materials, as well as the effect of tannic acid as a crosslinking agent. Although complex coacervation has been widely studied, there are still limited reports on the development of microcapsules based on heteroprotein interactions, especially between plant and animal proteins. The selection of these biopolymers was based on their complementary properties, highlighting the high solubility and electrostatic interaction capacity of lactoferrin and the sustainable nature and good emulsifying properties of lentil protein isolate. Therefore, this study contributes to the development of innovative protein-based microencapsulation systems with enhanced protection, controlled release, and improved bioaccessibility of lipophilic compounds for application in functional foods.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Lentil grains and soybean oil were purchased from the local market in Volta Redonda (RJ, Brazil). Lactoferrin was obtained from FrieslandCampina (Amersfoort, The Netherlands). α -Tocopherol, tannic acid, α -amylase (ref. A3403), porcine pepsin (ref. P6887), porcine pancreatin (ref. P7545), and porcine bile extract (ref. B3883) were purchased from Sigma–Aldrich (St. Louis, USA). Tetramethylethylenediamine (TEMED) and the molecular weight standard for electrophoresis (10-250 KDa, 4-20% gel) were purchased from Bio-Rad (California, USA). Ultrapure water with a conductivity of 0.05 μ S/cm (Master System P&D, Gehaka, Brazil) was used, and all other reagents were of analytical grade.

2.2. Extraction and characterization of lentil protein isolate

The extraction of lentil protein isolate (LPI) was performed following adaptations of the method described by Joshi et al. (2013). Initially, lentil flour was defatted with 99.5% ethanol (1:10, w/v) and dried at room temperature for 24 h. Subsequently, the flour was dispersed in water (1:10, w/v), and the pH was adjusted to 8.0 with NaOH using a

pH meter (mPA210, Tecnozon, Brazil). The mixture was homogenized using a magnetic stirrer (NT101, Novatecnica, Brazil) for 1 h and centrifuged at $8000 \times g$ for 30 min in a centrifuge (Digicen 21 R, Orto Alresa, Spain). The supernatant was collected, acidified to pH 4.5 with HCl, and centrifuged again. The precipitated protein was resuspended in water (80 mL), and the pH was adjusted to 7.0. The protein solution was then dialyzed using a D9527-100FT membrane (Sigma, USA), which excludes particles smaller than 12 kDa. Subsequently, the protein solution was frozen in liquid nitrogen and freeze-dried (Terroni, Empresa I, Brazil).

The proximate composition of the LPI was determined according to AOAC (2005) methods: 920.87 for total protein (micro-Kjeldahl), 927.43 for ash, 920.85 for crude fat, and 945.15 for moisture. The results were $94.46 \pm 1.43\%$ total protein ($N \times 6.25$), $3.14 \pm 0.28\%$ total ash, $0.58 \pm 0.39\%$ crude fat, and $2.17 \pm 0.22\%$ moisture.

2.2.1. Sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

The methodology described by Constantino and Garcia-Rojas (2020) was used to analyze the molecular composition of the proteins, with minor adaptations. Solutions of 10% SDS, Tris–HCl (1.5 mol/L, pH 8.8), Tris–HCl (0.5 mol/L, pH 6.8), and 30% acrylamide were prepared one day prior to analysis. The two samples buffer consisted of 10% SDS, water, glycerol, Tris (pH 6.8), and bromophenol blue, while the running buffer contained Tris base, glycine, SDS, and water.

For gel preparation, the casting plates were assembled, and a 12% resolving gel and stacking gel were prepared. Samples were prepared as follows: 5 mL solutions of LPI and Lf at a concentration of 2.5 mg/mL were prepared; 0.5 mL of β -mercaptoethanol was added to the two samples buffer; one mL of the protein solution was mixed with one mL of the sample buffer, and the samples were heated in a thermostated water bath (Huber, Germany) at 90 °C for 5 min prior to electrophoresis.

2.2.2 Solubility

Solubility was determined according to the method described by Galvão et al. (2023), with adaptations. LPI dispersions at a concentration of 2% (w/w) were centrifuged at 3000 RCF for 10 min at 15 °C. The supernatant was then collected and transferred to

Petri dishes, which were dried in an oven at 105 °C for 5 h. Solubility was calculated using Equation (1):

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{(w_d - w_b)}{w_p} \times 100 \quad (1)$$

where w_d is the mass of the Petri dish containing the dried supernatant, w_b is the mass of the empty Petri dish, and w_p is the mass of LPI.

2.3 Study of lentil protein isolate/lactoferrin wall material formation

2.3.1 Zeta potential

The zeta potential of lentil protein isolate and lactoferrin was measured using a Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, UK). Solutions at a concentration of 1 mg/mL were prepared, and the pH was adjusted from 9.0 to 2.0 using a pH meter (mPA210, Tecnozon, Brazil). The zeta potential was calculated using the Smoluchowski mathematical model, and measurements were performed in triplicate at 25 °C. The electrostatic interaction strength (SEI) between oppositely charged polyelectrolytes was estimated using Equation (2):

$$\text{SEI (mV}^2\text{)} = | ZP_1 \times ZP_2 | \quad (2)$$

where ZP_1 and ZP_2 correspond to the zeta potentials of the polymers at a given pH.

2.3.2 Phase diagram

Phase diagram analysis was performed following the methodology of Constantino and Garcia-Rojas (2022), with adaptations. LPI and Lf solutions at 0.1% (w/w) were mixed at different mass ratios (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, and 1:6), and total solids concentrations of 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% were evaluated at pH 6.0. The solutions were stirred for 5 min, and sodium azide (0.02% w/w) was added to inhibit microbial growth. Samples were then stored at 4 °C for 24 h for subsequent visual analysis.

2.3.3 Isothermal titration calorimetry (ITC)

Isothermal titration calorimetry analysis was performed using a Nano-ITC calorimeter (TA Instruments, USA). LPI (0.025 mmol/L) and Lf (0.15 mmol/L) solutions were prepared in MES buffer (10 mmol/L, pH 6.0) at 25 °C. After solubilization, the LPI

and Lf solutions were dialyzed using 3.5 kDa membranes (Sigma-Aldrich, Midi 3500, USA), followed by filtration (0.45 µm) and degassing. A total volume of 250 µL of Lf was injected into the sample cell containing 1200 µL of LPI (Hadian et al., 2016). Aliquots of 10 µL were injected every 150 s under continuous stirring at 300 rpm. Thermodynamic parameters of the interaction, including stoichiometry (N), binding constant (K_a), enthalpy change (ΔH), entropy change (ΔS), and Gibbs free energy change (ΔG), were obtained using TA Nano Analyze® software.

2.3.4 Rheology

The rheological properties of the coacervated complex were determined using an MCR 92 rheometer (Anton Paar, Austria) equipped with a cone-and-plate geometry (CP25-1; diameter: 25 mm; angle: 1°) and a gap of 0.051 mm. The IPL:Lf coacervate was formed at a 1:2 ratio, total solids concentration of 2.0%, and pH 6.0. After 24 h, the sample was centrifuged at 5 °C (Digicen 21R, Orto Alresa, Spain) at 3220 RCF for 15 min (Lan et al., 2020).

Strain sweep tests were performed to determine the linear viscoelastic region (LVR) by applying strain values ranging from 0.1 to 100% at a constant frequency of 1 Hz. The storage modulus (G') and loss modulus (G'') were measured as a function of angular frequency ranging from 0.1 to 100 rad/s at a constant shear strain of 0.1%. Samples were equilibrated for 1 min prior to each measurement, and all analyses were conducted at a constant temperature of 25 ± 0.1 °C.

The Power Law model (Steffe, 1996) was applied to analyze G' and G'' data according to Equations (3) and (4):

$$G' = a\omega^b \quad (3)$$

$$G'' = c\omega^d \quad (4)$$

where ω is the angular frequency (rad/s), and the parameters a , b , c , and d were calculated from Equations (3) and (4). The obtained values were $a = 6.75$, $b = 0.59$, $c = 4.57$, and $d = 0.45$.

The complex modulus $|G^*|$ was calculated using Equation (5), the complex dynamic viscosity (μ^*) using Equation (6), and the phase angle (δ) using Equation (7) (Gabas, Menezes, & Telis-Romero, 2012):

$$|G^*| = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (5)$$

$$\mu^* = \frac{G^*}{\omega} \quad (6)$$

$$\delta = \arctan \left(\frac{G''}{G'} \right) \quad (7)$$

2.4 Preparation of vitamin E-loaded microcapsules by complex coacervation

For vitamin E encapsulation, nine systems were prepared with different LPI:Lf ratios (1:1, 1:2, and 1:4) at pH 6.0 and a total biopolymer concentration of 2.0%, following the methodology of Constantino and Garcia-Rojas (2022). In the first step, a simple emulsion was produced using Lf and soybean oil containing 10, 20, and 30% (w/w) vitamin E (Budinčić et al., 2021; Siqueira et al., 2024). The emulsion was processed using an Ultra-Turrax (T25D, IKA, Germany) at 8000 rpm for 1 min, followed by ultrasonication (100% amplitude and 0.5 cycles/s) for 5 min.

In the second step, the emulsion was added to the aqueous solution containing LPI and stirred for 10 min at 200 rpm. Subsequently, the pH was adjusted to 6.0 using 10% (w/v) acetic acid, and the samples were stored at 4 °C for 24 h to allow microcapsule precipitation. Finally, the microcapsules were frozen in liquid nitrogen and freeze-dried (Terroni, Empresa I, Brazil) for 48 h.

After selecting the system that exhibited the highest encapsulation efficiency, the microcapsules were crosslinked by adding 5 mL of tannic acid (10% w/w), followed by stirring at 75 rpm in a shaker (Tecnal, model TE-424, Brazil) for 3 h at 25 °C. The samples were then frozen in liquid nitrogen and freeze-dried.

2.4.1 Encapsulation efficiency

Initially, 0.1 g of freeze-dried microcapsules was mixed with 10 mL of ethanol and vortexed for 5 min. The suspension was centrifuged at 1850 RCF and 20 °C for 15 min. The supernatant was diluted 1:10 in ethanol and centrifuged again under the same conditions. Vitamin E quantification was performed using a UV–Vis spectrophotometer (Biomate 3S, Thermo Scientific, USA) at a wavelength of 290 nm (Budinčić et al., 2021).

Encapsulation efficiency (EE, %) was calculated using Equation (10), defined as the ratio between the theoretical loading (LC), determined by Equation (9), and the oil loading (OT), determined by Equation (8):

$$OT(\%) = \frac{WI_{VE}}{WI_C} \times 100 \quad (8)$$

$$LC(\%) = \frac{WF_{VE}}{WF_C} \times 100 \quad (9)$$

$$EE(\%) = \frac{LC(\%)}{OT(\%)} \times 100 \quad (10)$$

where WI_{VE} is the initial mass of vitamin E (g) added to the system, WI_C is the initial mass (g) of total solids (core + wall) used for microcapsule production, WF_{VE} is the mass of vitamin E (g) after microencapsulation, and WF_C is the final mass (g) of the freeze-dried microcapsules.

To determine the concentration of encapsulated vitamin E, a calibration curve ($y = 7.3486x + 0.0114$, $R^2 = 0.9996$) was constructed using vitamin E dissolved in ethanol at concentrations ranging from 0.05 to 0.30 mg/mL.

2.5. Characterization of vitamin E microcapsules

2.5.1. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

Fourier transform infrared spectroscopy was performed using an FTIR spectrophotometer (Bruker, Vertex 70, Germany) to analyze LPI, Lf, LPI:Lf complexes, soybean oil, tannic acid, vitamin E, and the microcapsules. Spectra were recorded in the range of 4000–400 cm^{-1} , and microcapsules with and without tannic acid were also evaluated.

2.5.2. *In vitro* gastrointestinal simulation of vitamin E-loaded microcapsules

In vitro gastrointestinal digestion was simulated according to the INFOGEST® 2.0 model (Brodkorb et al., 2019). Simulated salivary fluid (SSF), gastric fluid (SGF), and intestinal fluid (SIF) were prepared one day prior to analysis.

The simulation began with the oral phase, in which 0.2 g of microcapsules suspended in 1 mL of water was incubated with 0.96 mL of SSF, 6 μL of 0.3 mol/L CaCl_2 , 0.12 mL of α -amylase solution (75 U/mL), and 0.114 mL of water for 2 min at 37 °C under agitation at 90 rpm in an incubator (TE-424, Tecnal, Brazil).

For the gastric phase, 1.92 mL of SGF and 1.2 μL of 0.3 mol/L CaCl_2 were added to the oral bolus, and the pH was adjusted to 3.0 using HCl. Subsequently, 0.139 mL of

water and 0.24 mL of pepsin solution (2000 U/mL) were added, and the system was incubated for 2 h at 37 °C under agitation at 90 rpm.

For the intestinal phase, 2.04 mL of SIF, 9.6 µL of 0.3 mol/L CaCl₂, and NaOH were added to adjust the pH to 7.0. Then, 0.75 mL of water, 1.2 mL of pancreatin solution (100 U/mL), and 0.6 mL of porcine bile solution (10 mmol/L) were added, followed by incubation for an additional 2 h at 37 °C under agitation at 90 rpm.

During *in vitro* digestion, 0.2 mL aliquots were collected at the end of the oral phase (2 min), at 5, 30, 60, 90, and 120 min during the gastric phase, and at 150, 180, 210, and 240 min during the intestinal phase. After each sampling, 0.2 mL of the corresponding digestion fluid (SSF, SGF, or SIF) was added to maintain digestion conditions.

2.5.3 Bioaccessibility of vitamin E-loaded microcapsules

Bioaccessibility was determined following the methodology of Santos, Carvalho, and Garcia-Rojas (2021). After the simulated intestinal phase, samples were centrifuged to obtain the micellar fraction. Vitamin E extraction and quantification were performed as described in Section 2.4.1. Bioaccessibility (B^*) was calculated as the ratio between the vitamin E concentration in the micellar fraction and that in the total digesta, expressed as a percentage, according to Equation (11):

$$B^* = \frac{C_{micelle}}{C_{digesta}} \times 100 \quad (11)$$

2.5.4 Antioxidant activity of vitamin E microcapsules

The antioxidant activities of microcapsules with and without tannic acid, as well as their individual components (vitamin E, tannic acid, and LPI:Lf), were evaluated using DPPH• and ABTS•⁺ assays. For microcapsules, 20 mg were extracted in ethanol for 4 h. Vitamin E and tannic acid were dissolved in ethanol and water, respectively, for 1 h and subsequently diluted. The LPI:Lf complex was prepared at 0.2 mg/mL.

In the ABTS•⁺ assay, 0.5 mL of sample was mixed with ABTS solution (7.4 mmol/L), incubated in the dark for 10 min, and the absorbance was recorded at 734 nm. For the DPPH• assay, 2.5 mL of sample was reacted with 1 mL of DPPH solution (0.2 mmol/L) for 30 min, followed by absorbance measurement at 517 nm.

In both assays, radical scavenging activity was calculated based on the difference between the absorbance of the control, reaction, and blank samples, according to Equations (12) and (13):

$$ABTS^+(\%) = \left[1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100 \quad (12)$$

$$DPPH(\%) = \left[1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100 \quad (13)$$

where A_0 is the absorbance of the control (without sample), A_1 is the absorbance of the reaction mixture (with sample), and A_2 is the absorbance of the blank.

2.6. Statistical analysis

All experimental measurements were performed in triplicate, and results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. One-way analysis of variance (ANOVA) was conducted using SAS® software version 9.0, and Tukey's test was applied to determine significant differences at a significance level of $\alpha = 0.05$.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Physicochemical properties of lentil protein isolate

3.1.1 SDS-PAGE

The molecular weight of lentil proteins was distributed in the range of 15–250 kDa (Fig. 1), indicating a complex protein profile, in agreement with previous studies (Saricaoglu, 2020; Lopes et al., 2023). Proteins from this legume are predominantly composed of globulins (70%), followed by albumins (16%), glutelins (11%), and prolamins (3%). Albumin, glutelin, and prolamins typically present molecular weights around 20 kDa, 17–46 kDa, and 16–64 kDa, respectively, which can be observed in the gel (Jarpa-Parra, 2018).

Globulins can be further classified into two main groups: 7S globulins (vicilin-type: 100–150 kDa and convicilin: 63–70 kDa) and 11S globulins (legumin-type), which consist of subunits of 32, 42, and 47 kDa and 18–20 kDa (Khazaei et al., 2019; Shevkani et al., 2024). Additionally, Fig. 1 shows that lactoferrin is a glycoprotein composed of a single polypeptide chain with an approximate molecular weight of 80 kDa (Wang et al., 2019; Wang et al., 2022). It consists of approximately 700 amino acids folded into two

globular terminal lobes, carboxylic (C) and amino (N), connected by an α -helix and subdivided into two domains each (C1, C2, N1 and N2), forming a β -sheet structure. Lactoferrin exhibits a high affinity for iron, with each lobe capable of binding one ferric ion, and it can also bind other metal ions such as Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} (Rascón-Cruz et al., 2021).

3.1.2 Solubility

The solubility of LPI was found to be $98.82 \pm 0.66\%$, indicating that the lentil protein isolate is highly soluble in water. Protein solubility is associated with the balance between protein–solvent and protein–protein interactions (Khazaei et al., 2019). Karaca, Low, and Nickerson (2011) reported that lentil protein isolates produced by alkaline extraction–isoelectric precipitation exhibited solubility values of approximately 91% at pH 7.0, while those obtained by salt extraction showed solubility around 90%.

3.2 Formation of the coacervate complex between LPI and Lf

3.2.1 Influence of pH and biopolymer concentration on LPI:Lf complex formation

The LPI:Lf complex can be formed between the isoelectric point of LPI ($\text{pI} = 4.5$) and that of Lf ($\text{pI} = 7.5$), in agreement with previous reports (Boyaci & Yemenicioglu, 2018; Tokle & McClements, 2011). The highest SEI value was observed at pH 6.0 (Fig. 2), suggesting that this pH is optimal for the formation of LPI:Lf coacervate complexes with high affinity.

The four symbols represent (○) clear solution, (□) turbid solution, (●) clear solution with precipitate, and (■) turbid solution with precipitate, respectively. (Fig. 3A) At LPI:Lf ratios of 1:3, 1:4, and 1:6, solutions with solid concentrations of 0.1% (1:3), 0.5% and 1.0% (1:4), and 1.0%, 1.5%, and 2.0% (1:6) became turbid without forming precipitates, indicating the formation of soluble complexes under these conditions (Azarikia & Abbasi, 2016; Lan, Chen, & Rao, 2018).

However, at the 1:2 ratio, all concentrations resulted in clear solutions with precipitate formation, as shown in Fig. 3B. Therefore, the LPI:Lf ratio of 1:2 was selected for the encapsulation process.

3.2.2 Isothermal titration calorimetry (ITC)

As shown in Fig. 4A, the titration exhibited an exothermic profile over time. Additionally, as illustrated in Figure 4B, the binding isotherm of the LPI:Lf complex was best fitted by the independent model (Constantino & Garcia-Rojas, 2022).

According to the thermodynamic parameters, the binding constant ($K_a = 1.33 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) indicates a high affinity between LPI and Lf. The interaction was enthalpically favorable ($\Delta H = -18.64 \text{ kcal/mol}$) and entropically unfavorable ($\Delta S = -34.48 \text{ cal}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$), suggesting that electrostatic interactions predominated, since at pH 6.0 the ζ -potentials of the polyelectrolytes were opposite.

The stoichiometry parameter (N) indicates that only 0.811 ± 0.01 mol of Lf was required to saturate 1 mol of LPI. The negative Gibbs free energy change ($\Delta G = -8.356 \text{ kcal/mol}$) confirms that the formation of the LPI:Lf complexes was spontaneous. It is noteworthy that LPI and Lf exhibited strong interactions even in the absence of tannic acid. However, the incorporation of this compound may further strengthen and stabilize the microcapsules by acting as a crosslinking agent and enhancing their thermal properties (Zhang, Pan, & Chung, 2011; Ardestani et al., 2025). Similar interaction behaviors have been reported for Lf/sodium carboxymethylcellulose (Barbosa et al., 2022), Lf/sodium alginate (Bastos, de Carvalho, & Garcia-Rojas, 2018), and Lf/carboxymethyl tara gum complexes (Soares, Constantino, & Garcia-Rojas, 2024).

3.2.3 Viscoelastic properties of the LPI:Lf coacervate complex

Fig. 5 shows the rheological behavior of the LPI:Lf coacervate complex at pH 6.0, total biopolymer concentration of 2%, and a ratio of 1:2. Over the entire angular frequency range analyzed (0.1–100 rad/s), the storage modulus (G') remained higher than the loss modulus (G''), indicating the formation of an interconnected gel-like structure, with elastic behavior predominating over viscous behavior (Ardestani, Asl, & Rafe, 2024; Hassanvand & Razavi, 2024).

The storage modulus G' is commonly used as an indicator of the strength of electrostatic interactions between proteins or between proteins and polysaccharides, with higher values reflecting stronger interactions (Liu et al., 2017). This behavior demonstrates that the sample exhibits a predominantly solid-like nature, which is

characteristic of structured materials such as gels, hydrogels, and polymeric films, indicating the presence of a highly interconnected network (Raei, Rafe, & Shahidi, 2018).

Furthermore, the material can be classified as a weak gel, in which G' predominates over G'' and the complex viscosity (μ^*) tends to decrease, a typical behavior of systems with a loosely structured three-dimensional network (Torres et al., 2006). Regarding the phase angle, the coacervate exhibited viscoelastic behavior, as the phase angle values ranged between 0° and 90° , indicating an intermediate response between elastic and viscous behavior (Schramm, 2006).

3.3 Vitamin E-loaded microcapsules formed by the complex coacervation process

3.3.1 Encapsulation efficiency

According to the encapsulation efficiency for biopolymer ratios of 1:1, 1:2, and 1:4 (LPI:Lf) and vitamin E concentrations of 10%, 20%, and 30% (Table 1), vitamin E encapsulation efficiency values were higher than 94%. All samples exhibited high encapsulation efficiency (EE%), regardless of the wall-to-core ratio. However, A7 was selected as the optimal formulation, as it combined a higher vitamin E content (30%), a 1:1 biopolymer ratio (LPI:Lf), and high encapsulation efficiency (96.40%), as shown in Fig. 6A and Fig. 6B.

Similar EE (%) values have been reported in studies involving vitamin E encapsulation. Qi et al. (2024) reported encapsulation efficiencies above 90% for vitamin E microcapsules stabilized by zein combined with different polysaccharides. Likewise, Zhang et al. (2019) achieved an encapsulation efficiency of 96% for α -tocopherol in zein nanoparticles.

3.3.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

FTIR analysis in the range of 4000 to 400 cm^{-1} allowed the identification of characteristic absorption bands of the different components and revealed structural interactions within the studied formulations (Fig. 7). The region between 3002 and 2854 cm^{-1} showed bands attributed to C–H stretching vibrations of methyl (CH_3), methylene (CH_2), and unsaturated ($=\text{C}-\text{H}$) groups, which were intense in soybean oil and vitamin E, confirming the presence of aliphatic lipid chains (Rohman & Ariani, 2013; Soares, Constantino, & Garcia-Rojas, 2024).

The band around 1745 cm^{-1} was assigned to carbonyl (C=O) stretching of ester groups present in triacylglycerols, with prominent contributions from soybean oil and tannic acid, confirming the presence of lipids and phenolic compounds. In lactoferrin, lentil protein isolate, and the LPI:Lf complex, the amide I ($1625\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$, C=O stretching), amide II ($1475\text{--}1575\text{ cm}^{-1}$, N–H bending), and amide III ($1225\text{--}1425\text{ cm}^{-1}$, C–N and N–H stretching) bands were identified at 1632 , 1521 , and 1393 cm^{-1} , respectively, consistent with values reported in the literature.

Additionally, the band at 3278 cm^{-1} , attributed to O–H stretching of free amino acid groups, was observed in both LPI and Lf as well as in the complex, indicating that the main molecular signatures of the proteins were preserved after complexation. However, changes in band intensity and slight shifts suggest the occurrence of electrostatic interactions between the biopolymers. In the region between 1200 and 1000 cm^{-1} , associated with C–O stretching vibrations of esters and polysaccharides, the spectra of the microcapsules were particularly prominent. Crosslinking with tannic acid induced detectable structural changes, consistent with modifications in the wall material (Bokkhim et al., 2015; Bastos, de Carvalho, & Garcia-Rojas, 2018).

Overall, FTIR analysis not only confirmed the chemical identity of the individual constituents but also demonstrated molecular interactions and structural modifications resulting from protein complex formation, lipid incorporation, and the encapsulation process.

3.3.3 *In vitro* digestion and bioaccessibility of vitamin E-loaded microcapsules

Fig. 8 shows the vitamin E release profiles during simulated *in vitro* digestion of microcapsules without and with tannic acid. In both formulations, the oral phase did not promote significant vitamin release, indicating high structural stability of the microcapsules under oral conditions. During the gastric phase, similar release profiles were observed for both systems, suggesting that tannic acid crosslinking had limited influence under acidic conditions.

In contrast, a substantial increase in vitamin E release was observed during the intestinal phase for the crosslinked microcapsules. This behavior can be attributed to the combined effect of pH changes and enzymatic activity in the simulated intestinal fluid, which promoted disintegration of the encapsulating system. As a result, greater bioactive availability was achieved, directly reflected in bioaccessibility values, which were

significantly higher for the crosslinked microcapsules (70.5%) compared to the non-crosslinked ones (35.5%).

These findings highlight the importance of incorporating a crosslinking agent into microcapsule formulations to enhance gastric resistance while promoting intestinal release, the site of vitamin absorption. Encapsulation systems employing crosslinking agents have demonstrated higher bioaccessibility than non-crosslinked systems. For example, Budinčić et al. (2021) reported that chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules without crosslinking released the entire encapsulated vitamin E within 15 minutes, whereas crosslinked microcapsules exhibited extended release times, indicating a more compact wall structure. Similarly, Chen et al. (2025) observed that crosslinking enhanced the stability of the wall material network formed by fish gelatin and sodium alginate, slowing the release of free fatty acids during the intestinal phase.

3.3.4 Antioxidant activity (ABTS^{•+} and DPPH[•])

In the ABTS^{•+} and DPPH[•] assays, all samples exhibited antioxidant activity, as shown in Table 2. Vitamin E demonstrated high efficiency as a lipophilic antioxidant, while tannic acid also showed strong radical scavenging potential, which is associated with its structure rich in phenolic groups (Blaner, Shmarakov, & Traber, 2021; Gulcin, 2025). The microcapsules exhibited antioxidant activity, indicating that the encapsulating matrix was able to preserve the antioxidant potential of the system. Overall, the incorporation of tannic acid contributed to the antioxidant performance of the microcapsules, suggesting a possible synergistic effect with vitamin E. The variations observed between the assays can be attributed to their different reaction mechanisms, since the ABTS^{•+} method evaluates antioxidant capacity in both hydrophilic and lipophilic systems, whereas DPPH[•] is more sensitive to the chemical structure of antioxidant compounds. These results reinforce the effectiveness of the developed encapsulation system in protecting and maintaining antioxidant activity.

4. Conclusion

In this study, the formation of LPI:Lf coacervate complexes for vitamin E microencapsulation was investigated. Coacervates were obtained at pH 6.0, using a 1:2 ratio and a total solids concentration of 2.0%. ITC analysis indicated that the interaction was spontaneous and predominantly electrostatic. Vitamin E-loaded microcapsules were

produced using a 1:1 wall-to-core ratio, a vitamin concentration of 30% (w/w), and tannic acid as a crosslinking agent, resulting in an encapsulation efficiency of 96.40%.

Regarding *in vitro* digestion performance, tannic acid crosslinking promoted increased vitamin E release during the intestinal phase. The bioaccessibility of crosslinked microcapsules reached 70.5%, whereas non-crosslinked systems exhibited significantly lower values (35.5%). In addition, crosslinked samples showed statistically higher antioxidant capacity than non-crosslinked ones in both ABTS^{•+} and DPPH[•] assays.

Overall, these findings demonstrate that crosslinked LPI:Lf coacervates have strong potential for application in food matrices, ensuring protection and controlled delivery of vitamin E.

Conflict of interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments

The authors thank the CNPq, Brazil (309899/2025-7); CAPES, Brazil (Código 001) and FAPERJ, Brazil (E-26/210.052/2023; E-26/ 204.182/2024) for the financial support.

References

- Aghababaei, F., McClements, D. J., Pignitter, M. & Hadidi, M. (2024). A comprehensive review of processing, functionality, and potential applications of lentil proteins in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*, 333, Article 103280. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103280>
- AOAC, 2005. Official method of Analysis (18th ed.). Association of Officiating Analytical Chemists, Washington DC.
- Ardestani, F., Asl, A. H. & Rafe A. (2024). Characterization of caseinate–pectin complex coacervates as a carrier for delivery and controlled release of saffron extract. *Chemical*

and Biological Technologies in Agriculture, 11, Article 118.
<https://doi.org/10.1186/s40538-024-00647-0>

Ardestani, F., Asl, A. H., Rafe, A. & Miao, S. (2025). Preparation and characterization of zein-kappa carrageenan complex for encapsulation of saffron, and *in vitro* controlled release study. *Food Hydrocolloids*, 162, Article 110816.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110816>

Azarikia, F., & Abbasi, S. (2016). Mechanism of soluble complex formation of milk proteins with native gums (tragacanth and Persian gum). *Food Hydrocolloids*, 59, 35-44.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.018>

Barbosa, A. E. G., Constantino, A. B. T., Bastos, L. P. H., & Garcia-Rojas, E. E. (2022). Encapsulation of sacha inchi oil in complex coacervates formed by carboxymethylcellulose and lactoferrin for controlled release of β -carotene. *Food Hydrocolloids for Health*, 2, Article 100047. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2021.100047>

Bastos, L. P. H., de Carvalho, C. W. P., & Garcia-Rojas, E. E. (2018). Formation and characterization of the complex coacervates obtained between lactoferrin and sodium alginate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 332-338.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.050>

Bhardwaj, S., Rani, R., Kumar, R., Singh, A. P., & Singh, A. P. (2024). Microencapsulation: An updated review article. *International Journal of Pharmaceutical and Drug Analysis*, 12, 1-7. <https://doi.org/10.47957/ijpda.v12i1.567>

Blaner, W. S., Shmarakov, I. O., & Traber, M. G. (2021). Vitamin A and vitamin E: Will the real antioxidant please stand up? *Annual Review of Nutrition*, 41, 105-31.
<https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082018-124228>

Bokkhim, H., Bansal, N., Grondahl, L. & Bhandari, B. (2015). Interactions between different forms of bovine lactoferrin and sodium alginate affect the properties of their mixtures. *Food Hydrocolloids*, 48, 38-46.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.036>

Boyaci, D., & Yemenicioglu, A. (2018). Expanding horizons of active packaging: Design of consumer-controlled release systems helps risk management of susceptible individuals. *Food Hydrocolloids*, 79, 291-300. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.038>

Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, AR, Martins, C., Marze, S., McClements, DJ, Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, CN, Souchon, I., Singh, RP, Vegarud, GE, Wickham, MSJ, Weitschies, W., & Recio, I. (2019). INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14, 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>

Budinčić, J. M., Petrović, L., Đekić, L., Fraj, J., Bučko, S., Katona, J., & Spasojević, L. (2021). Study of vitamin E microencapsulation and controlled release from chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules. *Carbohydrate Polymers*, 251, Article 116988. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116988>

Chen, L., Zhang, W., Bian, Q., Wang, X., & Zhong, J. (2025). Controlled preparation of fish oil powders via complex coacervation and genipin crosslinking. *Science of Food*, 9, Article 80. <https://doi.org/10.1038/s41538-025-00448-1>

Constantino, A. B. T., & Garcia-Rojas, E. E. (2020). Modifications of physicochemical and functional properties of amaranth protein isolate (*Amaranthus cruentus* BRS Alegria) treated with high-intensity ultrasound. *Journal of Cereal Science*, 95, Article 103076. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103076>

Constantino, A. B. T., & Garcia-Rojas, E. E. (2022). Microencapsulation of betanin by complex coacervation of carboxymethylcellulose and amaranth protein isolate for application in edible gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 133, Article 107956. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107956>

Cosme, F., Aires, A., Pinto, T., Oliveira, I., Vilela, A., & Gonçalves, B. (2025). A Comprehensive Review of Bioactive Tannins in Foods and Beverages: Functional Properties, Health Benefits, and Sensory Qualities. *Molecules*, 30, Article 800. <https://doi.org/10.3390/molecules30040800>

Eghbal, N., & Choudhary, R. (2018). Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. *LWT – Food Science and Technology*, 90, 254-264. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.036>

Gabas, A. L., Menezes, R. S., & Telis-Romero, J. (2012). *Reologia na indústria de biocombustíveis*. INDI.

Galli, F., Bonomini, M., Bartolini, D., Zatini, L., Reboldi, G., Marcantonini, G., Gentile, G., Sirolli, V., & Di Pietro, N. (2022). Vitamin E (α -tocopherol) metabolism and nutrition in chronic kidney disease. *Antioxidants*, 11, 0. <https://doi.org/10.3390/antiox11050989>

Galvão, A. M. M. T., Freitas, J. C., Karatay, G. G. B., Furtado, G. F., Rasera, M. L., Tavares, G. M., & Hubinger, M. D. (2023). Thermo-induced changes in the structure of lentil protein isolate (*Lens culinaris*) to stabilize high internal phase emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, Article 127313. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127313>

Gaonkar, A., Vasisht, N., Khare, A., & Sobel, R. (2014). *Microencapsulation in the food industry: A practical implementation guide*. Academic Press.

Gulcin, I. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 99, 1893–1997. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2>

Hadian, M., Hosseini, S. M. H., Farahnaky, A., Mesbahi, G. R., Yousefi, G. H., & Saboury, A. A. (2016). Isothermal titration calorimetric and spectroscopic studies of β -lactoglobulin–water-soluble fraction of Persian gum interaction in aqueous solution. *Food Hydrocolloids*, 55, 108–118. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.11.006>

Hassanvand, E., & Razavi, S. M. A. (2024). Effect of chitosan molecular weight and protein-to-polysaccharide ratio on the rheological and physicochemical properties of milk proteins–chitosan complex coacervate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 282, Article 137247. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137247>

Jarpa-Parra, M. (2018). Lentil protein: A review of functional properties and food application. An overview of lentil protein functionality. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 892–903. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13685>

Joshi, M., Aldred, P., McKnight, S., Panozzo, J. F., Kasapis, S., Adhikari, R., & Adhikari, B. (2013). Physicochemical and functional characteristics of lentil starch. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1484–1496. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.035>

- Kaale, L. D., Siddiq, M., & Hooper, S. (2022). Lentil (*Lens culinaris* Medik) as nutrient-rich and versatile food legume: A review. *Legume Science*, 5(2), Article e169. <https://doi.org/10.1002/leg3.169>
- Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44, 2742-2750. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>
- Kaur, H., Kumar, R., Singh, A. P., Singh, A. P., & Sharma, P. (2024). Microencapsulation: A review. *International Journal of Rural Development, Environment and Health Research*, 8, 36-43. <https://dx.doi.org/10.22161/ijreh.8.2>
- Khazaei, H., Subedi, M., Nickerson, M., Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., & Vandenberg, A. (2019). Seed protein of lentils: Current status, progress, and food applications. *Foods*, 8, Article 391. <https://doi.org/10.3390/foods8090391>
- Lan, Y., Chen, B., & Rao, J. (2018). Pea protein isolate–high methoxyl pectin soluble complexes for improving pea protein functionality: Effect of pH, biopolymer ratio and concentrations. *Food Hydrocolloids*, 80, 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.021>
- Lan, Y., Ohm, J.-B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Phase behavior and complex coacervation of concentrated pea protein isolate–beet pectin solution. *Food Chemistry*, 307, Article 125536. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125536>
- Liu, J., Shim, Y. Y., Shen, J., Wang, Y., & Reaney, M. J. T. (2017). Whey protein isolate and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum electrostatic coacervates: Turbidity and rheology. *Food Hydrocolloids*, 64, 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.006>
- Lopes, C., Ferruccio, C. A., Sales, A. C. A., Tavares, G. M., & Castro, R. J. S. (2023). Effects of processing technologies on the antioxidant properties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentil (*Lens culinaris*) proteins and their hydrolysates. *Food Research International*, 172, Article 113190. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113190>
- McClements, D. J. (2015). *Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds*. CRC Press.

- Muthulakshmi, M. V., Srinivasan, A., & Srivastava, S. (2023). Antioxidant green factories: Toward sustainable production of vitamin E in plant *in vitro* cultures. *ACS Omega*, 8, 3586–3605. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05819>
- Nesterenko, A., Alric, I., Violleau, F., Silvestre, F., & Durrieu V. (2014). The effect of vegetable protein modifications on the microencapsulation process. *Food Hydrocolloids*, 41, 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.017>
- Qi, Y., Zhang, Z., Wang, Y., Wu, Z., Qin Z., Zhou Y., & Yang, X. (2024). Preparation and characterization of vitamin E microcapsules stabilized by zein with different polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 268, Article 131975. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131975>
- Raei, M., Rafe, A., & Shahidi, F. (2018). Rheological and structural characteristics of whey protein–pectin complex coacervates. *Journal of Food Engineering*, 228, 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.02.007>
- Rascón-Cruz, Q., Espinoza-Sánchez, E. A., Siqueiros-Cendón, T. S., Nakamura Bencomo, S. I., Arévalo-Gallegos, S., & Iglesias-Figueroa, B. F. (2021). Lactoferrin: A Glycoprotein Involved in Immunomodulation, Anticancer, and Antimicrobial Processes. *Molecules*, 26, 205. <https://dx.doi.org/10.3390/molecules26010205>
- Ribeiro, A. M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2021). The progress and application of vitamin E encapsulation – A review. *Food Hydrocolloids*, 121, Article 106998. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106998>
- Rohman, A., & Ariani, R. (2013). Authentication of *Nigella sativa* seed oil in binary and ternary mixtures with corn oil and soybean oil using FTIR spectroscopy coupled with partial least square. *The Scientific World Journal*, Article 740142. <https://dx.doi.org/10.1155/2013/740142>
- Santos, M. B., Carvalho, M. G., & Garcia- Rojas, E. E. (2021). Carboxymethyl tara gum–lactoferrin complex coacervates as carriers for vitamin D3: Encapsulation and controlled release. *Food Hydrocolloids*, 112, Article 106347. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106347>
- Saricaoglu, F. T. (2020). Application of high-pressure homogenization (HPH) to modify functional, structural and rheological properties of lentil (*Lens culinaris*) proteins.

International Journal of Biological Macromolecules, 144, 760-769.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.034>

Schramm, G. (2006). *Reologia e reometria: Fundamentos teóricos e práticos* (2nd ed.). Artliber Editora Ltda.

Shevkani, K., Sharma, P., Singh, B., Kaur, A., & Singh, N. (2024). Structural, techno-functional and nutraceutical properties of lentil proteins– a concise review. *International Journal of Food Science and Technology*, 59, 6875–6884. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17491>

Siqueira, L., Ballus, C. A., Tanabe, E. H., & Bertuol, D. A. (2024). Combining Ultra-Turrax and ultrasonic homogenization to achieve higher vitamin E encapsulation efficiency in spray drying. *Particuology*, 95, 28-35.
<https://doi.org/10.1016/j.partic.2024.09.005>

Soares, B. S., Constantino, A. B. T., & Garcia-Rojas, E. E. (2024). Microencapsulation of curcumin by complex coacervation of lactoferrin and carboxymethyl tara gum for incorporation into edible films. *Food Hydrocolloids for Health*, 5, Article 100178.
<https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2024.100178>

Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press.

Tan, X., Liu, Y., Shang, B., Geng, M., & Teng, F. (2024). Layer-by-layer self-assembled liposomes fabricated using sodium alginate and chitosan: Investigation of co-encapsulation of folic acid and vitamin E. *International Journal of Biological Macromolecules*, 281, Article 136464. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136464>

Tokle, T., & McClements, D. J. (2011). Physicochemical properties of lactoferrin-stabilized oil-in-water emulsions: Effects of pH, salt and heating. *Food Hydrocolloids*, 25, 976-982. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.012>

Torres, M. A., Beppu, M. M., Santana, C. C., & Arruda, E. J. (2006). Viscous and viscoelastic properties of chitosan solutions and gels. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9(2), 101–108.

Wang, B., Timilsena, Y. P., Blanch, E., & Adhikari, B. (2019). Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 580-596. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1381583>

- Wang, N., Cheng, J., Jiang, Y., Meng, Y., Zhang, K., Ban, Q., & Wang, X. (2023). Emulsions stabilised by casein and hyaluronic acid: Effects of high intensity ultrasound on the stability and vitamin E digestive characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 94, Article 106314. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106314>
- Wang, W-D., Li, C., Chen, C., Fu, X., & Liu, R. H. (2022). Effect of chitosan oligosaccharide glycosylation on the emulsifying property of lactoferrin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 93-106. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.169>
- Wijekoon, M. M. J. O., Mahmood, K., Ariffin, F., Nafchi, A. M., & Zulkurnain, M. (2023). Recent advances in encapsulation of fat-soluble vitamins using polysaccharides, proteins, and lipids: A review on delivery systems, formulation, and industrial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241, Article 124539. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124539>
- Yan, C., & Zhang, W. (2014). Coacervation processes. *Microencapsulation in the food industry: A practical implementation guide*. Academic Press.
- Ye, J., Wei, X., Fan, K., Liu, Y., & Xia, S. (2025). Evolving trends in tannic acid-modified thin-film composite membranes: A comprehensive review. *Journal of Membrane Science*, 713, Article 123257. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2024.123257>
- Zhang, F., Khan, M. A., Cheng, H., & Liang, L. (2019). Co-encapsulation of α -tocopherol and resveratrol within zein nanoparticles: Impact on antioxidant activity and stability. *Journal of Food Engineering*, 247, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.11.021>
- Zhang, K., Zhang, H., Hu, X., Bao, S., & Huang, H. (2012). Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 89, 61-66. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.08.023>
- Zhang, Z.-Q., Pan, C-H., & Chung, D. (2011). Tannic acid cross-linked gelatin–gum arabic coacervate microspheres for sustained release of allyl isothiocyanate: Characterization and *in vitro* release study. *Food Research International*, 44, 1000-1007. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.044>
- Zhou, X., Feng, X., Qi, W., Zhang, J., & Chen, L. (2024). Microencapsulation of vitamin E by gelatin–high/low methoxy pectin complex coacervates: Effect of pH, pectin type,

and protein/polysaccharide ratio. *Food Hydrocolloids*, 151, Article 109794.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109794>

Figure Captions

Fig. 1. SDS-PAGE gel of lactoferrin and lentil protein isolate with molecular weight (MW) markers ranging from 15 to 250 kDa.

Fig. 2. ζ -potential and SEI of lentil protein isolate (LPI) and lactoferrin (Lf) as a function of pH (9.0–2.0).

Fig. 3. (A) Phase diagram of LPI:Lf coacervate complexes as a function of biopolymer ratios (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, and 1:6) and total biopolymer concentrations (0.1, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0%) at pH 6.0. The four symbols represent (○) clear solution, (□) turbid solution, (●) clear solution with precipitate, and (■) turbid solution with precipitate. (B) LPI:Lf ratio of 1:2 at increasing total biopolymer concentrations from 0.1% to 2.0%.

Fig. 4. (A) Heat flow thermogram ($\mu\text{cal/s}$) as a function of time obtained during titration of 250 μL of 0.15 mM lactoferrin (Lf) into 1200 μL of 0.025 mM lentil protein isolate (LPI) at 25 °C. LPI and Lf were dissolved in 10 mM MES buffer (pH 6.0). (B) Integrated peak areas (kcal/mol) plotted as a function of the LPI:Lf molar ratio.

Fig. 5. Storage modulus G' (■), loss modulus G'' (■), complex dynamic viscosity μ^* (●), and phase angle δ (■) as a function of angular frequency ω (rad/s) for the LPI:Lf coacervate prepared at a 1:2 ratio, pH 6.0, and total solids concentration of 2.0%.

Fig. 6. (A) Freeze-dried non-crosslinked microcapsules. (B) Freeze-dried microcapsules crosslinked with tannic acid.

Fig. 7. Fourier transform infrared (FTIR) spectra of lentil protein isolate (LPI), lactoferrin (Lf), coacervate (LPI_Lf), vitamin E (VE), tannic acid (TA), soybean oil (SO), and vitamin E microcapsules without tannic acid (MC_WTA) and with tannic acid (MC_TA).

Fig. 8. Vitamin E release from microcapsules without tannic acid (●) and with tannic acid (■) during *in vitro* digestion.



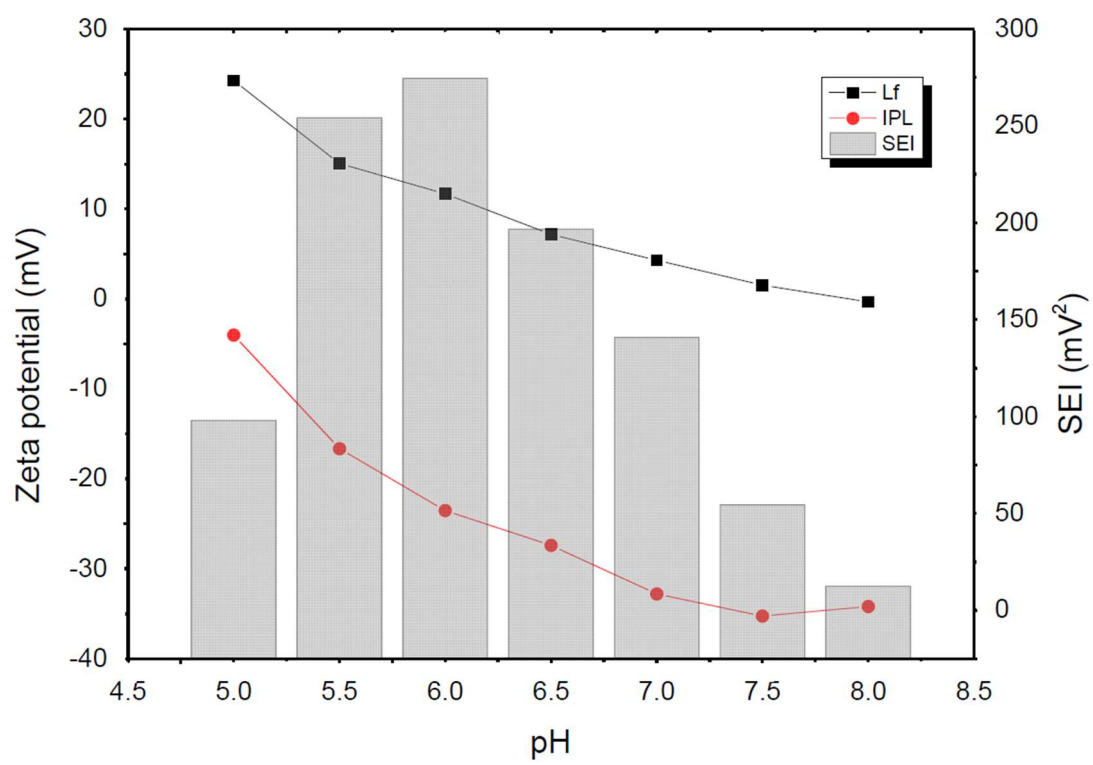


Fig. 2.

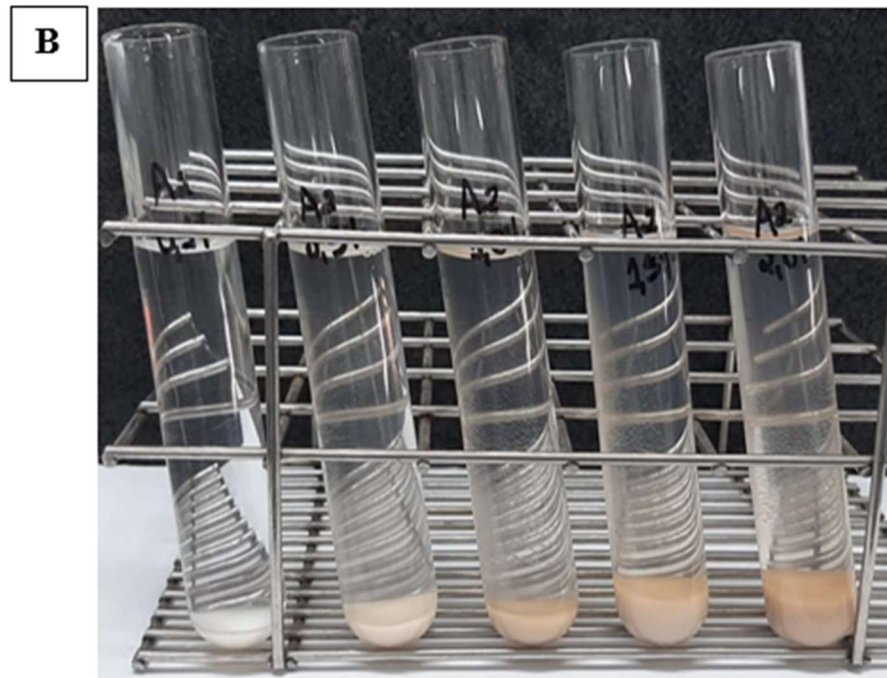
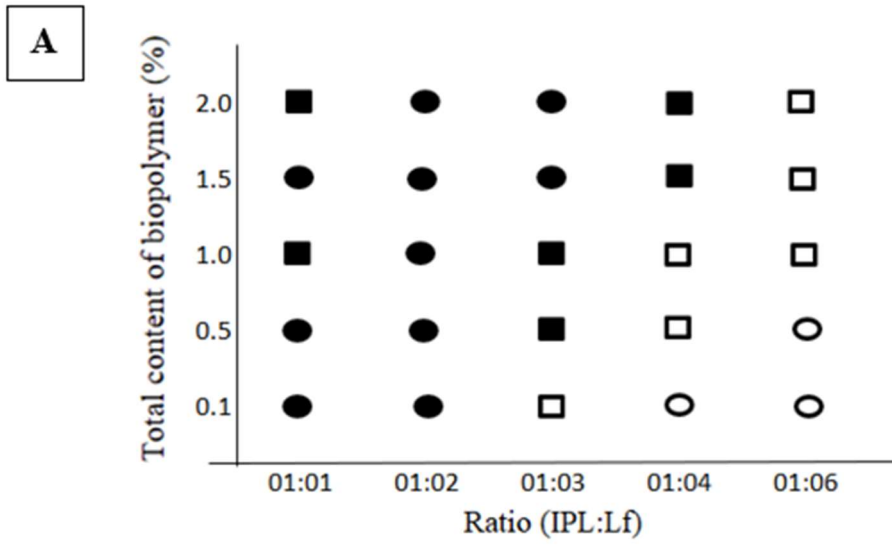


Fig. 3 (A) e 3 (B).

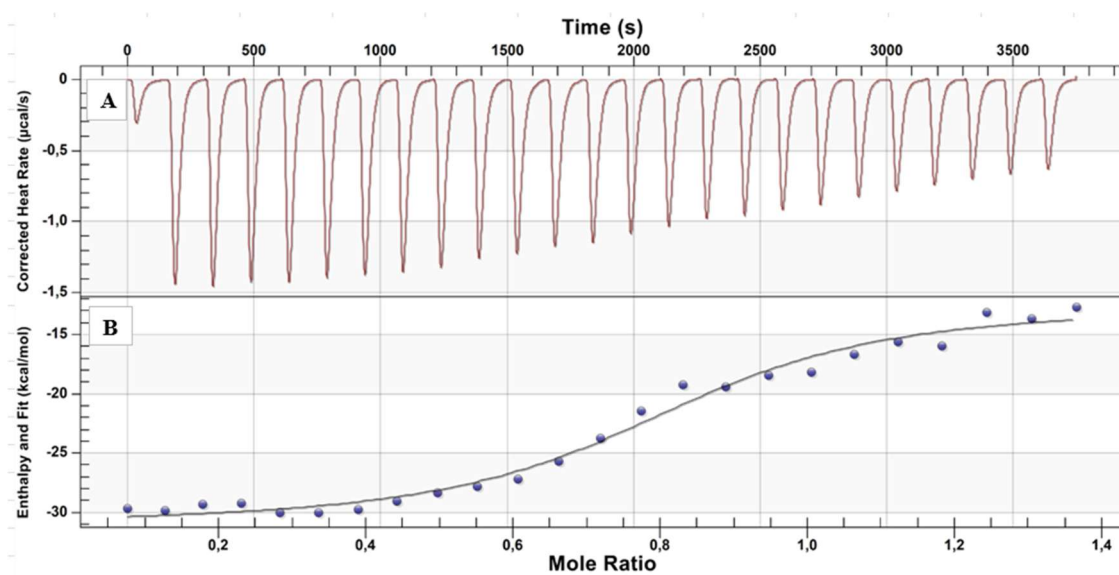


Fig. 4 (A) e 4 (B).

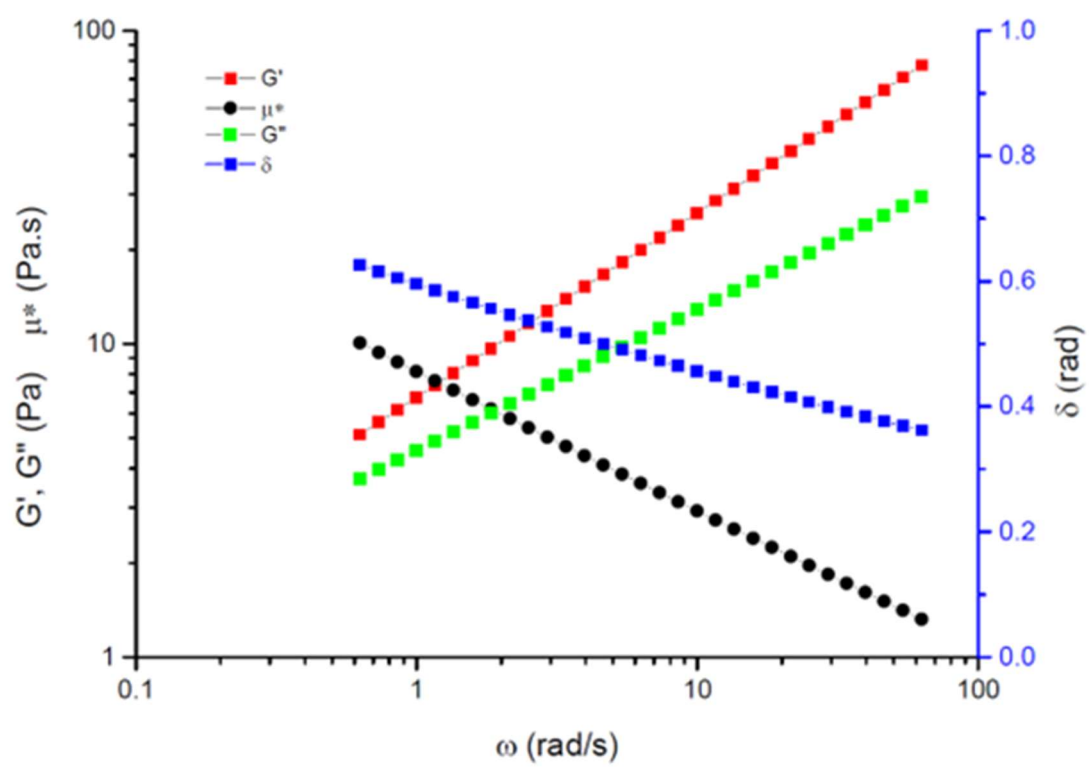


Fig. 5.

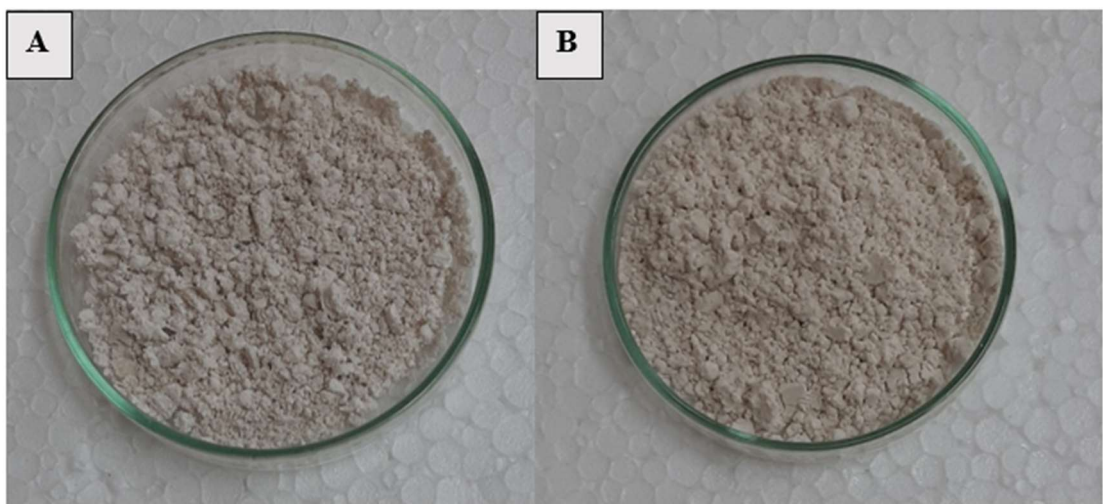


Fig. 6 (A) e 6 (B).

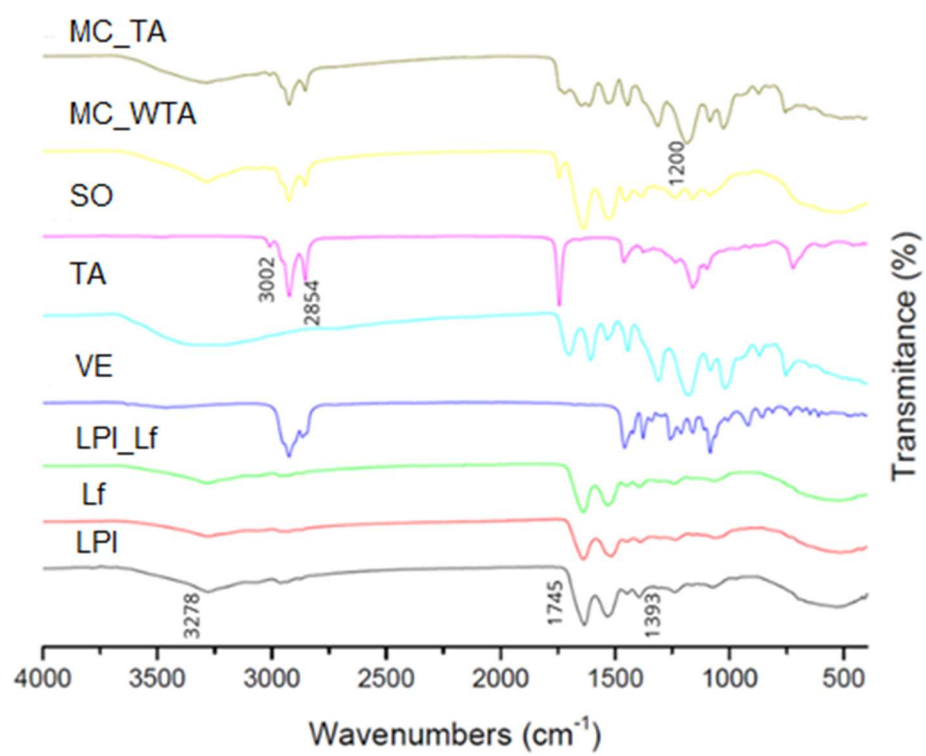


Fig. 7.

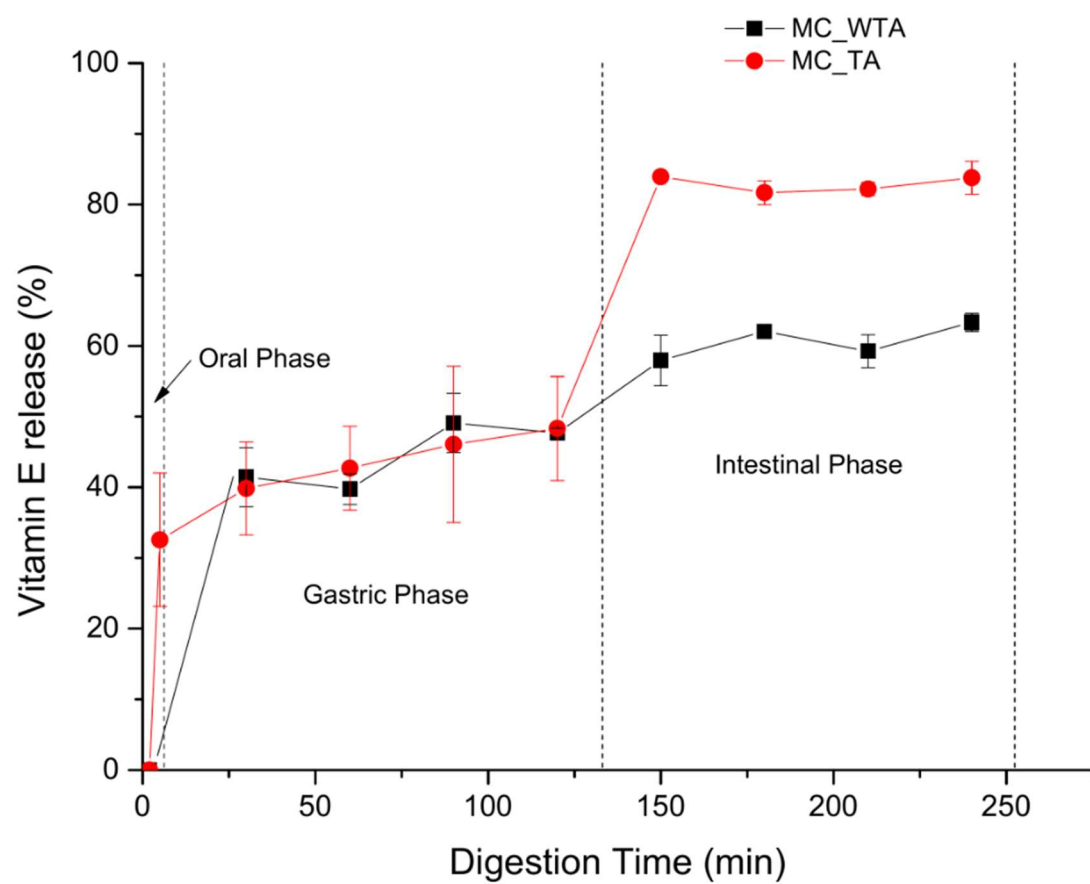


Fig. 8.

Table 1. Encapsulation efficiency (EE%) of vitamin E-loaded microcapsules obtained using different formulations at a total biopolymer concentration of 2.0%.

Sample	Core (g)	Biopolymers (g)			Core:Wall	Vitamin E (%)	EE (%)
		IPL (g)	Lf (g)	Total wall (g)			
A1	0.60	0.2	0.4	0.6	1:1	10	100.00 ± 0.01 ^a
A2	0.30	0.2	0.4	0.6	1:2	10	100.00 ± 0.01 ^a
A3	0.15	0.2	0.4	0.6	1:4	10	100.00 ± 0.01 ^a
A4	0.60	0.2	0.4	0.6	1:1	20	100.00 ± 0.01 ^a
A5	0.30	0.2	0.4	0.6	1:2	20	100.00 ± 0.01 ^a
A6	0.15	0.2	0.4	0.6	1:4	20	100.00 ± 0.01 ^a
A7	0.60	0.2	0.4	0.6	1:1	30	96.40 ± 0.01 ^{a b}
A8	0.30	0.2	0.4	0.6	1:2	30	93.16 ± 3.01 ^b
A9	0.15	0.2	0.4	0.6	1:4	30	94.41 ± 1.20 ^b

Means followed by the same letter within the same column are not significantly different according to Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 2. Antioxidant activity (ABTS•⁺) and DPPH• radical scavenging activity of microcapsules without tannic acid, with tannic acid, wall materials (IPL:Lf), vitamin E, and tannic acid. Data are expressed as mean (n = 3) ± standard deviation.

Samples	ABTS•⁺ (%)	DPPH• (%)
Microcapsules without tannic acid	93.31 ± 0.03	90.75 ± 0.01
Microcapsules with tannic acid	98.80 ± 0.01	91.58 ± 0.03
Wall materials (IPL:Lf)	11.72 ± 0.05	22.30 ± 0.02
Vitamin E	99.99 ± 0.01	91.28 ± 0.02
Tannic acid	99.33 ± 0.01	50.34 ± 0.01

CAPÍTULO III

FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS A BASE DE PECTINA INCORPORADOS COM MICROCÁPSULAS DE VITAMINA E

RESUMO

O crescente uso de plásticos convencionais em embalagens alimentícias tem intensificado problemas ambientais, impulsionando a busca dos consumidores por alternativas sustentáveis e biodegradáveis. Nesse contexto, o desenvolvimento de filmes comestíveis surge como uma estratégia promissora para a substituição parcial ou total de embalagens plásticas, especialmente na conservação de alimentos perecíveis. Além de atuarem como barreira física, os filmes comestíveis podem contribuir para a manutenção da qualidade dos alimentos, retardando processos de deterioração, como perda de umidade e oxidação. A presente pesquisa teve como objetivo desenvolver e caracterizar filmes à base de pectina incorporados com microcápsulas de vitamina E reticuladas e não reticuladas com ácido tânico contendo isolado proteico de lentilha (IPL) e lactoferrina (Lf) como materiais de parede. Os filmes foram caracterizados quanto às propriedades físico-químicas, mecânicas, estruturais, de barreira e funcionais. A incorporação de 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas de vitamina E nos filmes proporcionou elevada solubilidade em água e atividade antioxidante, principalmente para as microcápsulas reticuladas. A adição das microcápsulas com ácido tânico reduziu a resistência à tração, sem comprometer a flexibilidade dos filmes. Com isso, espera-se desenvolver embalagens inovadoras, capazes de prolongar a vida útil dos alimentos e agregar valor à cadeia produtiva.

Palavras chave: α -tocoferol; antioxidante; vida de prateleira; sustentabilidade

1. INTRODUÇÃO

A crescente poluição causada por materiais plásticos tem intensificado a demanda por alternativas biodegradáveis para embalagens, especialmente no setor alimentício (Kong et al., 2025). Diversos tipos de filmes comestíveis têm sido desenvolvidos em escala laboratorial a partir de biopolímeros naturais, especialmente polissacarídeos e proteínas. De modo geral, esses materiais são amplamente caracterizados quanto às suas propriedades físicas e funcionais, com ênfase nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e a gases como O₂, CO₂ e etileno, bem como na solubilidade em água, cor e opacidade, entre outros parâmetros relevantes (Mendieta-Taboada et al., 2008). A formulação de filmes comestíveis geralmente envolve um polímero formador de filme, um plastificante que confere flexibilidade ao material e um componente hidrofóbico, responsável por reduzir a perda de água do alimento (Ahmadi et al., 2012). Produzidos a partir de compostos biodegradáveis e atóxicos, esses materiais desempenham papel fundamental na proteção dos alimentos, atuando como barreiras contra a troca de solutos, a migração de água, modificações nos compostos voláteis responsáveis pelo aroma e a difusão de gases (KÖRGE et al., 2020). Os filmes comestíveis biodegradáveis destacam-se como alternativas inovadoras e sustentáveis às embalagens convencionais (Shaahbaz; Jouki, 2024).

Embora amplamente utilizados em alimentos e nutracêuticos, muitos compostos bioativos apresentam suscetibilidade à degradação oxidativa e instabilidade química, o que reduz sua eficácia. Além disso, fatores como processamento, armazenamento, baixa solubilidade, liberação não controlada e instabilidade no trato gastrointestinal comprometem sua biodisponibilidade e funcionalidade. Assim, o desenvolvimento de sistemas de entrega eficientes e sustentáveis é essencial para preservar seus benefícios em matrizes alimentares (Dahiya et al., 2023). Nesse contexto, a microencapsulação destaca-se como uma estratégia eficiente para a proteção de compostos bioativos, como a vitamina E. O processo de microencapsulação consiste no revestimento do composto ativo por um material de parede, resultando em sistemas do tipo núcleo-casca. Essa técnica permite proteger substâncias sensíveis à luz, ao pH, à temperatura, ao oxigênio e às condições de processamento e digestão, além de possibilitar a modulação da cinética de liberação e a preservação da atividade dos compostos ao longo do tempo (Fang; Bhandari, 2010; Bhardwaj et al., 2024). A vitamina E é amplamente utilizada na indústria de alimentos como antioxidante, contribuindo para a prevenção da oxidação lipídica, a qual

compromete a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos (Muthulakshmi et al., 2023). A incorporação de microcápsulas em filmes comestíveis representa uma abordagem inovadora que alia proteção ambiental e funcionalidade tecnológica. Sua presença pode influenciar significativamente as propriedades mecânicas, ópticas, de barreira e funcionais dos filmes, dependendo da composição da matriz polimérica e do material encapsulante (Dammak et al., 2017). Dependendo da forma de incorporação — por exemplo, emulsões ou micro/nanoencapsulação — esses compostos podem tanto reduzir a resistência mecânica devido à descontinuidade estrutural quanto melhorar a homogeneidade da matriz e a atividade antioxidante do material, além de modificar parâmetros como opacidade, permeabilidade a vapor de água e permeabilidade ao oxigênio (Cheng et al., 2022). Dessa forma, compreender as interações entre microcápsulas e o biopolímero do filme é fundamental para o desenvolvimento de sistemas eficientes e estáveis.

No presente trabalho, propõe-se a utilização do isolado proteico de lentilha e da lactoferrina como materiais de parede das microcápsulas. As lentilhas constituem um alimento de elevado valor nutricional, sendo ricas em proteínas, carboidratos balanceados, minerais e diversos fitoquímicos bioativos, como flavonoides, compostos fenólicos, fitato, saponinas e taninos. Além disso, apresentam uma alternativa mais sustentável quando comparadas às proteínas de origem animal (Kaale et al., 2022; Aghababaei et al., 2024). A lactoferrina, por sua vez, é uma proteína presente em diferentes secreções biológicas, especialmente no leite, destacando-se por sua capacidade de ligação e transporte de ferro, bem como por suas propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, anti-inflamatórias e anticancerígenas (Wang et al., 2019).

Com o objetivo de tornar os filmes ativos, foram desenvolvidas microcápsulas de vitamina E por meio da técnica de coacervação complexa utilizando o isolado proteico de lentilha e a lactoferrina como materiais de parede. Apesar dos avanços na microencapsulação de compostos bioativos, ainda há uma lacuna na literatura quanto ao uso de interações heteroproteicas na formação de sistemas coacervados, especialmente voltados à incorporação em filmes comestíveis. Nesse contexto, a proposta busca contribuir para o avanço de embalagens, agregando valor tecnológico aos filmes e ampliando seu potencial de aplicação na conservação de alimentos, além de explorar novas combinações proteicas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os grãos de lentilha e o óleo de soja foram adquiridos no mercado local de Volta Redonda (RJ, Brasil), a lactoferrina foi adquirida da empresa FrieslandCampina (Amersfoort, Netherlands). O α -tocoferol, ácido tânico, pectina e glicerol da Sigma–Aldrich (St. Louis, EUA). A água utilizada foi ultrapura com condutividade de 0,05 μ S/cm (Master System P&D, Gehaka, Brasil) e todos os outros reagentes usados foram de grau analítico.

2.2 Aplicação de microcápsulas de vitamina E na produção de filmes comestíveis a base de pectina

2.2.1 Produção das microcápsulas contendo vitamina E via coacervação complexa

Para a microencapsulação da vitamina E, foram desenvolvidos nove sistemas a partir de diferentes proporções entre o isolado proteico de lentilha e a lactoferrina (1:1, 1:2 e 1:4), mantendo-se o pH em 6,0 e a concentração total de biopolímeros em 2,0% (m/m), conforme metodologia descrita por Constantino e Garcia-Rojas (2022). Inicialmente, foram preparadas emulsões simples contendo Lf e óleo de soja, incorporando 10, 20 e 30% (m/m) de vitamina E. Essas emulsões foram submetidas à homogeneização em Ultra-Turrax (T25D, IKA, Alemanha) a 8.000 rpm por 1 min, seguida de tratamento por ultrassom (100% de amplitude, 0,5 ciclos/s por 5 min).

Na etapa subsequente, as emulsões obtidas foram adicionadas à solução aquosa contendo IPL e mantidas sob agitação constante por 10 min a 200 rpm. O pH do sistema foi então ajustado para 6,0 com ácido acético a 10% (m/v), e as amostras foram mantidas a 4 °C por 24 h para promover a formação e precipitação das microcápsulas. Posteriormente, as microcápsulas foram congeladas em nitrogênio líquido e submetidas à liofilização (Terroni, Empresa I, Brasil) por 48 h. Após a seleção da formulação com maior eficiência de encapsulamento, procedeu-se à reticulação das microcápsulas mediante adição de ácido tânico (10% m/m), sob agitação em Shaker (Tecnal, modelo TE-424, Brasil) a 75 rpm por 3 h a 25 °C. Por fim, as amostras reticuladas foram congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas.

2.2.2 Produção dos filmes a base de pectina

Os filmes de pectina foram preparados segundo o método de Almasi et al. (2020) com adaptações. Eles foram elaborados através do método de *casting*, utilizando solução

de pectina a 3% (m/m), glicerol a 0,60% (m/m) e microcápsulas, sem e com ácido tânico, nas concentrações de 0,05%, 0,10% e 0,20% (m/m), sendo todas as concentrações expressas em relação à massa da solução final. A pectina foi dispersa em água destilada e completamente hidratada por 18 h à temperatura ambiente. Em sequência, o glicerol previamente solubilizado foi misturado às microcápsulas (liofilizadas) sob agitação magnética durante 30 min. Após esses procedimentos, a solução de pectina foi adicionada à essa mistura e mantida sob agitação por mais 20 min para completa homogeneização. Aproximadamente 50 g da solução filmogênica obtida foram vertidas em placas de Petri de vidro ($\varnothing = 15$ cm) e secos em estufa a 25 °C por 24 h. Depois de secos, os filmes foram removidos manualmente das placas e acondicionados em dessecador contendo solução saturada de nitrato de magnésio, a fim de manter 55% de umidade relativa, durante dois dias à temperatura ambiente (25 ± 1 °C) antes de sua caracterização. O filme controle foi preparado nas mesmas condições, porém sem a adição de microcápsulas.

2.2.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Um espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier (Bruker, Vertex 70, Alemanha) foi utilizado para analisar as amostras dos filmes. O espectro obtido foi analisado na faixa de 4000-400 cm^{-1} e os filmes (controle; 0,05%; 0,10% e 0,20% de microcápsulas sem e com ácido tânico) foram estudados.

2.2.4 Espessura

As espessuras dos filmes foram medidas usando um micrômetro digital MDC-SX (Mitutoyo, Japão) e relatadas como a média de três pontos aleatórios.

2.2.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas de acordo com o método padrão ASTM D882-02 (ASTM, 2002), utilizando um analisador de textura TA.XTPlus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). As amostras foram cortadas em tiras retangulares (15 mm $\times$ 100 mm) e fixadas em garras sendo submetidas à deformação por extensão a uma taxa de deslocamento de 50 mm/min até a ruptura. A resistência à tração e o alongamento na ruptura foram obtidos diretamente a partir das curvas de tensão em função da deformação por meio do software do equipamento (Exponent Lite Express, v4.0.13.0) e os ensaios foram realizados em cinco repetições.

2.2.6 Teor de umidade

Para a determinação do teor de umidade, aproximadamente 0,1 g das amostras de filme foram secas em estufa a 105 ± 1 °C até atingirem massa constante e, em seguida,

novamente pesadas. As análises foram realizadas em triplicata, e o teor de umidade dos filmes foi calculado segundo a Equação (1):

$$WC = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \quad (1)$$

onde w_1 é o peso inicial e w_2 é o peso secundário após secagem em estufa (Taghizadeh et al., 2018).

2.2.7 Ângulo de contato

O ângulo de contato entre a água e os filmes (incluindo o controle) foi determinado pelo método da gota séssil, conforme descrito por Fathi et al. (2018), com algumas modificações. Duas gotas de água destilada foram depositadas sobre a superfície dos filmes contendo microcápsulas, com o auxílio de um dosador, até a estabilização do ângulo de contato. As imagens das gotas foram capturadas por meio de uma câmera (16R0002825, Japão) e os valores dos ângulos de contato foram determinados utilizando o software EasyTrack.

2.2.8 Solubilidade em água

As amostras de filme de pectina foram pesadas e colocadas em béquer contendo 50 mL de água destilada e agitadas a 25 °C durante 24 h. Os resíduos não dissolvidos foram filtrados utilizando papel de filtro de filtração média ($\phi = 12,50 \pm 0,10$ cm), e o papel foi seco a 105 ± 1 °C por 1 h. A solubilidade dos filmes foi calculada usando a Equação (2):

$$Solubilidade = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \quad (2)$$

onde w_1 é o peso inicial e w_2 é o peso do filme não dissolvido após a secagem (Taghizadeh et al., 2018).

2.2.9 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada de acordo com o método padrão ASTM E96-05 (ASTM, 2005). Inicialmente, copos de ensaio de vidro circulares, com diâmetro interno de aproximadamente 2 cm e altura de 9 cm, foram preenchidos com 10 g de CaSO_4 anidro. Em seguida, os copos contendo as amostras dos filmes foram acondicionados em um dessecador com solução saturada de NaCl, mantido a 25 °C (0% de umidade relativa, 0 Pa de pressão de vapor de água). As amostras foram pesadas a cada 24 h, ao longo de um período de sete dias. A permeabilidade dos filmes foi determinada de acordo com a Equação (3):

$$WVP = \frac{W \times X}{t \times A \times \Delta P} \quad (3)$$

onde W é a variação de massa (g), X é a espessura média do filme (m), A é a área do filme (m^2), t é o tempo (s) e ΔP é a diferença de pressão de vapor através do filme (Pa).

2.2.10 Análise antioxidante dos filmes contendo microcápsulas de vitamina E

As atividades antioxidantes dos filmes contendo 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas com e sem ácido tânico foram avaliadas pelos ensaios DPPH• e ABTS•⁺. Para as avaliações, 10 mL de água foi adicionado a 0,02 g dos filmes e agitados por 1 h em temperatura ambiente. No ensaio ABTS•⁺, 0,5 mL das amostras foram misturados à solução de ABTS (7,4 mmol/L), permanecendo por 10 minutos no escuro, e a absorbância registrada a 734 nm. Para DPPH•, 2,5 mL das amostras foram reagidos com 1 mL da solução de DPPH (0,2 mmol/L) por 30 minutos, com leitura a 517 nm. Em ambos os ensaios, o percentual de eliminação dos radicais foi calculado com base na diferença entre as absorbâncias do controle, da reação e do branco, conforme as Equações (4) e (5) apresentadas (Ren et al., 2022):

$$ABTS^+(\%) = \left[1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \right] \times 100 \quad (4)$$

onde A_0 é a absorbância do grupo controle (sem amostra), A_1 é a absorbância do grupo reação (com amostra) e A_2 representa a absorbância do grupo branco (sem ABTS).

$$DPPH(\%) = \left[1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \right] \times 100 \quad (5)$$

onde A_0 é a absorbância do grupo controle (sem amostra), A_1 é a absorbância do grupo reação (com amostra) e A_2 representa a absorbância do grupo branco (sem DPPH).

2.2.11 Análises estatísticas

Todas as medições experimentais foram realizadas em triplicata, e os dados expressos como média $\pm$ desvio-padrão. As análises de variância unidirecionais (ANOVA) foram realizadas no software SAS® 9.0, e o teste de Tukey foi utilizado para determinar a existência de diferença significativa ao nível de $\alpha = 0,5$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Eficiência de encapsulação das microcápsulas

Observa-se que todos os sistemas exibiram valores de eficiência de encapsulação superiores a 94% (Tabela 1). De modo geral, elevadas eficiências foram alcançadas independentemente da razão parede:núcleo utilizada. Contudo, o sistema A7 destacou-se como o mais promissor, uma vez que associou o maior teor de vitamina E (30%) à proporção entre os biopolímeros (IPL:Lf = 1:1), mantendo elevada eficiência de encapsulação (96,40%). Resultados semelhantes foram reportados por Köksal et al. (2021), que obtiveram eficiência superior a 90% em microcápsulas de vitamina E produzidas por coacervação complexa, utilizando 4 g de material de núcleo e 0,5% de surfactante, com gelatina e goma arábica como materiais de parede.

3.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os filmes controle (FC) e aqueles incorporados com 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas, tanto sem (FS1, FS2, FS3) quanto com ácido tânico (FA1, FA2, FA3), estão apresentados na Figura 1. O filme controle, composto por pectina e glicerol, apresentou bandas características de polissacarídeos, com destaque para a banda na faixa de 3000-2800 cm^{-1} (Figura 2), atribuída ao estiramento C-H, e para a banda em torno de 1735 cm^{-1} , relacionada ao estiramento C=O de grupos éster da pectina (Kozioł et al., 2022). No espectro dos filmes contendo microcápsulas, na região de 1632, 1521 e 1393 cm^{-1} , foi observada a presença das bandas características de IPL e Lf, enquanto na região de 3002 a 2854 cm^{-1} foram identificadas bandas referentes à vitamina E e ao óleo de soja (Rohman; Ariani, 2013). A banda observada em aproximadamente 1745 cm^{-1} foi associada ao estiramento da carbonila (C=O) de grupos éster, principalmente de triacilglicerídeos, como os presentes no óleo de soja, bem como de estruturas relacionadas ao ácido tânico, confirmando a presença de lipídios e compostos fenólicos. A incorporação de microcápsulas sem ácido tânico nos filmes FS1, FS2, FS3 e com ácido tânico (FA1, FA2, FA3) não promoveu o surgimento de novas bandas em relação ao controle, indicando a ausência de modificações químicas covalentes na matriz polimérica (Soares et al., 2024).

3.3 Teor de umidade e Espessura

O teor de umidade variou entre 11,74% e 13,17% (Tabela 2), evidenciando que a maioria das formulações apresentou valores semelhantes ao controle. O filme contendo

0.20% de microcápsulas sem ácido tânico (FS3) apresentou o menor teor de umidade ($p < 0,05$). A incorporação de microcápsulas pode alterar a interação da matriz polimérica com a água, influenciando propriedades relacionadas à retenção de umidade e à difusão de vapor de água. De forma semelhante, filmes contendo microcápsulas de óleo essencial de orégano apresentaram alterações nas propriedades de barreira ao vapor de água em função da presença das partículas encapsuladas (Yang et al., 2024).

A espessura variou entre 0,05 e 0,13 mm. Os filmes contendo 0.05% e 0.20% de microcápsulas sem ácido tânico (FS1 e FS3) apresentaram as menores espessuras, enquanto o que continha 0.20% de microcápsulas reticuladas com ácido tânico (FA3) exibiu o maior valor, diferindo estatisticamente das demais formulações. Essas diferenças podem ser atribuídas ao teor de sólidos adicionados e ao comportamento do polímero empregado na elaboração do filme, os quais influenciam diretamente a espessura final do material, ao controlar a organização, o empacotamento das cadeias poliméricas e a densidade da matriz filmogênica formada durante a secagem (Zhao et al., 2023). Resultados semelhantes foram relatados em filmes de quitosana incorporados com microcápsulas de eugenol, nos quais a presença das micropartículas promoveu aumento da espessura do material (Valencia-Sullca et al., 2024).

3.4 Propriedades mecânicas

Observou-se uma redução da resistência mecânica com o aumento da incorporação de microcápsulas reticuladas com ácido tânico (Tabela 2) com valores entre 3,21 e 10,07 MPa. As maiores resistências à tração foram registradas nos filmes contendo microcápsulas não reticuladas, com valores de $18,71 \pm 2,44$ MPa e $15,84 \pm 2,12$ MPa, enquanto os menores valores foram observados nos filmes com microcápsulas reticuladas, apresentando $5,78 \pm 3,26$ MPa e $3,21 \pm 2,53$ MPa, os quais diferiram estatisticamente das demais amostras. Esses resultados indicam que a reticulação afetou a coesão e a eficiência de transferência de tensões da rede polimérica da matriz filmogênica. Esse comportamento também foi reportado na literatura para filmes de quitosana incorporados com microcápsulas de óleo de açaí, nos quais a adição das micropartículas resultou em diminuição significativa da resistência à tração em relação ao filme controle (Teixeira-Costa et al., 2023).

Em relação ao alongamento na ruptura (EAB) das formulações, os valores variaram entre 30,35% e 32,15% ($p < 0,05$). Esse comportamento indica que a incorporação das microcápsulas reticuladas não comprometeu a flexibilidade dos filmes, mantendo sua capacidade de deformação antes da ruptura. Em filmes comestíveis, valores

mais elevados de alongamento na ruptura são desejáveis, uma vez que indicam maior capacidade de deformação do material, favorecendo sua aplicação no recobrimento e acondicionamento de alimentos (Shah et al., 2023). Além disso, esses resultados apresentados estão diretamente relacionados à espessura dos filmes, uma vez que variações nesse parâmetro podem influenciar o comportamento mecânico do material. Filmes mais espessos apresentam maior quantidade de material por área, o que pode favorecer a dissipação das tensões durante o ensaio mecânico e contribuir para a manutenção da flexibilidade. Assim, mesmo com diferenças de espessura entre as formulações, a matriz filmogênica manteve sua capacidade de deformação, indicando que a incorporação das microcápsulas não comprometeu significativamente as propriedades mecânicas do sistema.

3.5 Ângulo de contato e Permeabilidade ao vapor de água

Os ângulos de contato com a água diferiram entre as diferentes formulações de filmes ($p < 0,05$). Valores superiores a 90° indicam comportamento hidrofóbico, enquanto valores inferiores a 90° caracterizam caráter hidrofílico (Fathi et al., 2018). De maneira geral, os filmes avaliados apresentaram predominância de caráter hidrofílico, conforme evidenciado pelos ângulos de contato obtidos. O filme controle (FC) apresentou o menor ângulo de contato ($82,82 \pm 1,87^\circ$), confirmando sua maior afinidade por água. A literatura aponta que filmes hidrofílicos são eficazes na proteção de alimentos com elevado teor lipídico, uma vez que limitam a difusão de gases e compostos reativos, reduzindo processos oxidativos e a perda de aroma (Kocira et al., 2021). A adição de microcápsulas resultou em um aumento do ângulo de contato em algumas formulações, sugerindo uma redução da hidrofilicidade superficial. Esse comportamento pode estar relacionado à incorporação de compostos hidrofóbicos ou bioativos, como lipídios ou óleos essenciais, os quais tendem a aumentar o ângulo de contato e reduzir a afinidade da superfície pela água (Teymoorian et al., 2024). Nesse contexto, a formulação FS2 apresentou o maior valor ($99,38 \pm 1,67^\circ$), indicando maior caráter hidrofóbico em comparação às demais.

Os valores de WVP diferiram significativamente entre as formulações ($p < 0,05$). De modo geral, as formulações FC, FS1, FS2, FS3 e FS4 apresentaram valores estatisticamente semelhantes de WVP, variando entre $1,59 \pm 0,13$ e $1,76 \pm 0,14 \times 10^{-7} \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$. Por outro lado, as formulações FS5 e FS6 apresentaram valores

significativamente maiores ($2,69 \pm 0,17$ e $2,57 \pm 0,16 \times 10^{-7} \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$, respectivamente), indicando maior permeabilidade ao vapor de água em comparação às demais amostras (Tabela 3). Os maiores valores de WVP, observados nos filmes com 0.10% e 0.20% de microcápsulas reticuladas podem estar associados à composição química, vazios intermoleculares, arranjo molecular, interações entre cadeias (reticulação ou sistemas compósitos) e também pela espessura dos filmes, que pode afetar a medição da permeabilidade ao vapor de água (Pajak et al., 2019; Rawat; Saini, 2024). Os valores obtidos encontram-se dentro da faixa reportada para filmes comestíveis e biodegradáveis (Lemos et al., 2025).

3.6 Solubilidade em água

Observa-se que a solubilidade dos filmes foi elevada, variando entre 85,71% e 92,69%, indicando alta afinidade com a água ($p < 0,05$), conforme indicado pelas letras distintas. O maior valor de solubilidade foi observado para o filme contendo 0.05% de microcápsulas sem ácido tânico, que apresentou $92,69 \pm 0,36\%$, diferindo estatisticamente das amostras com menor solubilidade. As formulações intermediárias, com valores entre aproximadamente 88,60% e 91,03%, não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, sugerindo que a quantidade de microcápsulas e a presença do agente reticulante na composição não promoveram alterações expressivas na solubilidade. Valores semelhantes foram reportados na literatura para filmes comestíveis contendo compostos microencapsulados. Por exemplo, Alarcón-Moyano et al. (2017) observaram que filmes de alginato incorporados com óleo essencial microencapsulado apresentaram solubilidade média de aproximadamente 88%, sem diferenças significativas entre as formulações. Esses resultados sugerem que a incorporação de microcápsulas nem sempre altera a solubilidade da matriz polimérica, especialmente em sistemas predominantemente hidrofílicos. No presente estudo, também foi observado que a redução da solubilidade não resultou necessariamente em maior resistência à difusão de vapor de água, conforme discutido na Seção 3.5.

3.7 Atividades antioxidantes (ABTS $\bullet^+$ e DPPH $\bullet$)

Com base nos dados apresentados na Tabela 4, observa-se que a atividade antioxidante dos filmes, avaliada pelos métodos ABTS $\bullet^+$ e DPPH $\bullet$ foi influenciada pela incorporação de microcápsulas e pela presença de ácido tânico na formulação. De modo geral, a adição de microcápsulas contribuiu para o aumento da capacidade antioxidante dos filmes, evidenciando o potencial desse sistema na proteção contra processos

oxidativos. A reticulação mostrou-se um fator relevante para o desempenho antioxidante, sugerindo maior estabilidade e funcionalidade dos compostos incorporados.

Os resultados obtidos neste estudo, em consonância com os de Constantino e Garcia-Rojas (2022) e Soares et al. (2024), evidenciam um aumento progressivo da atividade antioxidante à medida que se eleva a concentração de microcápsulas de vitamina E incorporadas aos filmes, na faixa de 0,05 a 0,20%. Além disso, a presença do ácido tânico nas microcápsulas também contribuiu para o aumento do valor da atividade antioxidante nos filmes, já que ele atua como sequestrador de radicais livres, auxiliando na redução do estresse oxidativo (Gulcin, 2025).

4. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a incorporação de microcápsulas de vitamina E em filmes comestíveis à base de pectina conferiu elevada solubilidade em água e atividade antioxidante, com destaque para as formulações contendo microcápsulas reticuladas, que apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante. De modo geral, a incorporação das microcápsulas, com e sem ácido tânico, aumentou o ângulo de contato dos filmes em comparação ao controle, indicando maior hidrofobicidade superficial. Além disso, a maioria das formulações apresentou valores de permeabilidade ao vapor de água semelhantes entre si. Do ponto de vista mecânico, a presença das microcápsulas e do ácido tânico promoveu redução da resistência à tração, sem comprometer o alongamento na ruptura, indicando manutenção da flexibilidade dos filmes. Esse conjunto de propriedades evidencia o potencial desses materiais para aplicação como embalagens flexíveis ativas, capazes de envolver diferentes matrizes alimentares, contribuindo para a proteção do alimento e agregando funcionalidade antioxidante.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não possuem quaisquer interesses financeiros concorrentes ou relações pessoais que possam ter influenciado o trabalho apresentado neste artigo.

Disponibilidade de dados

Os dados estarão disponíveis mediante solicitação.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, Brasil (309899/2025-7); à CAPES, Brasil (Código 001); e à FAPERJ, Brasil (E-26/210.052/2023; E-26/204.182/2024) pelo apoio financeiro.

5. REFERÊNCIAS

AGHABABAEI, Fatemeh; MCCLEMENTS, David Julian; PIGNITTER, Marc; HADIDI, Milad. A comprehensive review of processing, functionality, and potential applications of lentil proteins in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 333, 103280, 2024.

AHMADI, Reza; KALBASI-ASHTARI, Ahmad; OROMIEHIE, Abdulrasoul; YARMAND, Mohammad-Saeed; JAHANDIDEH, Forough. Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 745-751, 2012.

ALARCÓN-MOYANO, Jessica K.; BUSTOS, Rubén O.; HERRERA, María Lidia; MATIACEVICH, Silvia B. Alginate edible films containing microencapsulated lemongrass oil or citral: effect of encapsulating agent and storage time on physical and antimicrobial properties. **J Food Sci Technol**, v. 54, p. 2878–2889, 2017.

ALMASI, Hadi; AZIZI, Saeedeh; AMJADI, Sajed. Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 99, 2020.

ASTM (2002). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-02. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

ASTM (2005). Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-05. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

BHARDWAJ, Sahil; RANI, Ritu; KUMAR, Rajesh; SINGH, Ajeet Pal; SINGH, Amar Pal. Microencapsulation: An updated review article. **International Journal of Pharmaceutical and Drug Analysis**, v. 12, p. 1-7, 2024.

CHENG, Jingjing; WANG, Jing; CUI, Leqi. Incorporation of α -Tocopherol into Pea Protein Edible Film Using pH-Shifting and Nanoemulsion Treatments: Enhancing Its

Antioxidant Activity without Negative Impacts on Mechanical Properties. **Foods**, v. 12, 2022.

CONSTANTINO, Augusto Bene Tomé; GARCIA-ROJAS, Edwin Elard.

Microencapsulation of betanin by complex coacervation of carboxymethylcellulose and amaranth protein isolate for application in edible gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 133, 2022.

DAHIYA, Divakar; TERPOU, Antonia; DASENAKI, Marilena; NIGAM, Poonam S. Current status and future prospects of bioactive molecules delivered through sustainable encapsulation techniques for food fortification. **Sustainable Food Technol.**, v. 1, p. 500–510, 2023.

DAMMAK, Ilyes; BITTANTE, Ana Mônica Quinta Barbosa; LOURENÇO, Rodrigo Vinicius; SOBRAL, Paulo José do Amaral. Properties of gelatin-based films incorporated with chitosan-coated microparticles charged with rutin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 643–652, 2017.

FANG, Zhongxiang; BHANDARI, Bhesh. Encapsulation of polyphenols - a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 510–523, 2010.

FATHI, Nasim; ALMASI, Hadi; PIROUZIFARD, Mir Khalil. Effect of ultraviolet radiation on morphological and physicochemical properties of sesame protein isolate based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 85, p. 136–143, 2018.

GULCIN, İlhami. Antioxidants: a comprehensive review. **Archives of Toxicology**, v. 99, p. 1893–1997, 2025.

KAALE, Lilian D.; SIDDIQ, Muhammad; HOOPER, Sharon. Lentil (*Lens culinaris* Medik) as nutrient-rich and versatile food legume: A review. **Legume Science**, v. 5, 2022.

KOCIRA, Anna; KOZŁOWICZ, Katarzyna; PANASIEWICZ, Katarzyna; STANIAK, Mariola; SZPUNAR-KROK, Ewa; HORTYŃSKA, Paulina. Polysaccharides as Edible Films and Coatings: Characteristics and Influence on Fruit and Vegetable Quality—A Review. **Agronomy**, v. 11, 2021.

KÖKSAL, Elif; BAYRAM, Okan; GODE, Fethiye; AKTAŞ, A. Hakan.

Microencapsulation of vitamin E: Characterization of Complex Coacervation Conditions Using Response Surface Methodology. **Sakarya University Journal of Science**, v. 25, n. 4, p. 906–913, 2021.

KONG, Jianglong; MA, Sihan; CHU, Runxuan. Plant protein–based active and smart food packaging: applications and perspectives. **Food Hydrocolloids**, v. 172, 2025.

KÖRGE, Kristi; BAJIĆ, Marijan; LIKOZAR, Blaž; NOVAK, Uroš. Active chitosan–chestnut extract films used for packaging and storage of fresh pasta. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 3043–3052, 2020.

KOZIOŁ, Agata; ŚRODA-POMIANEK, Kamila; GÓRNIĄK, Agata; WIKIERA, Agnieszka; CYPRYCH, Konrad; MALIK, Magdalena. Structural Determination of Pectins by Spectroscopy Methods. **Coatings**, v. 12, 2022.

LEMOES, Graciele Saraiva; VITÓRIA, Jéssica Silveira; FONSECA, Laura Martins; PIRES, Juliani Buchveitz; SILVA, Francine Tavares da; SIEBENEICHLER, Tatiane Jéssica; PACHECO, Camila de Oliveira; GANDRA, Eliezer Ávila; ZAVAREZE, Ellessandra da Rosa. Active food packages for cake conservation: Antifungal potential of bean starch biodegradable films with orange peel essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 310, 2025.

MENDIETA-TABOADA, Oscar; CARVALHO, Rosemary A; SOBRAL, Paulo José do A. Análise dinâmico-mecânica: aplicações em filmes comestíveis. **Quim. Nova**, v. 31, p. 384–393, 2008.

MUTHULAKSHMI, M. Vidya; SRINIVASAN, Aparajitha; SRIVASTAVA, Smita. Antioxidant green factories: Toward sustainable production of vitamin E in plant *in vitro* cultures. **ACS Omega**, v. 8, p. 3586–3605, 2023.

PAJAŁ, Paulina; PRZETACZEK-ROŻNOWSKA, Izabela; JUSZCZAK, Lesław. Development and physicochemical, thermal and mechanical properties of edible films based on pumpkin, lentil and quinoa starches. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 441–449, 2019.

RAWAT, Rashmi; SAINI, Charanjiv Singh. A novel biopolymeric composite edible film based on sunnhemp protein isolate and potato starch incorporated with clove oil: Fabrication, characterization, and amino acid composition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 268, 2024.

REN, Gerui; SHI, Jieyu; HUANG, Sijie; LIU, Chengzhi; NI, Fangfang; HE, Ying; LUO, Xin; LI, Ting; SONG, Yuling; HUANG, Min; XIE, Hujun. The fabrication of novel zein and resveratrol covalent conjugates: Enhanced thermal stability, emulsifying and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 374, 2022.

ROHMAN, Abdul; ARIANI, Rizka. Authentication of *Nigella sativa* seed oil in binary and ternary mixtures with corn oil and soybean oil using FTIR spectroscopy coupled with partial least square. **The Scientific World Journal**, 2013.

SHAAHBAZ, Mona Soleiman; JOUKI, Mohammad. Active Microcapsules and Edible Films Obtained from Basil seed Gum and Ginger Essential Oil: Fabrication and Characterization. **Food Biophysics**, v. 19, p. 1192–1209, 2024.

SHAH, Yasir Abbas; BHATIA, Saurabh; AL-HARRASI, Ahmed; AFZAAL, Muhammad; SAEED, Farhan; ANWER, Md Khalid; KHAN, Mahbubur Rahman; JAWAD, Muhammad; AKRAM, Noor; FAISAL, Zargham. Mechanical Properties of Protein-Based Food Packaging Materials. **Polymers**, v. 15, 2023.

SOARES, Barbara da Silva; CONSTANTINO, Augusto Bene Tomé; GARCIA-ROJAS, Edwin Elard. Microencapsulation of curcumin by complex coacervation of lactoferrin and carboxymethyl tara gum for incorporation into edible films. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 5, 2024.

TEIXEIRA-COSTA, Barbara E.; FERREIRA, Willian Hermogenes; GOYCOOLEA, Francisco M.; MURRAY, Brent S.; ANDRADE, Cristina T. Improved Antioxidant and Mechanical Properties of Food Packaging Films Based on Chitosan/Deep Eutectic Solvent, Containing Açaí-Filled Microcapsules. **Molecules**, v. 28, 2023.

TEYMOORIAN, Mahnaz; MOGHIMI, Roya; HOSSEINZADEH, Rahman; ZANDI, Farzaneh; LAKOURAJ, Moslem Mansour. Fabrication the emulsion-based edible film containing *Dracocephalum kotschy* Boiss essential oil using chitosan–gelatin composite for grape preservation. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 7, 2024.

TGHIZADEH, Masoumeh; MOHAMMADIFAR, Mohammad Amin; SADEGHI, Ehsan; ROUHI, Milad; MOHAMMADI, Reza; ASKARI, Fatemeh; MORTAZAVI, Amir Mohammad; KARIMINEJAD, Mohaddeseh. Photosensitizer-induced cross-linking: A novel approach for improvement of physicochemical and structural properties of gelatin edible films. **Food Research International**, v. 112, p. 90–97, 2018.

VALENCIA-SULLCA, Cristina; BEN MESSAOUD, Ghazi; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Laura; TEHRANY, Elmira Arab; VARGAS, Maria; ATARÉS, Lorena; CHIRALT, Amparo. Chitosan films containing encapsulated eugenol in alginate microspheres. **Food Hydrocolloids**, v. 151, 2024.

WANG, Bo; TIMILSENA, Yakindra Prasad; BLANCH, Ewan; ADHIKARI, Benu. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, p. 580-596, 2019.

YANG, Liying; LIU, Xueyi; XIAO, Douxin; DONG, Alideertu. Sustained release composite antimicrobial film containing oregano essential oil microcapsule for postharvest strawberry preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 46, 2024.

ZHAO, Weijie; YU, Lianjun; GU, Yali; MA, Weijia; WANG, Kehui; LIANG, Junjun; LIU, Qi. Preparation of dual-functional packaging films containing green tea essential oil microcapsules for strawberry preservation: Excellent barrier properties and antioxidant activity. **Food Bioscience**, v. 56, 2023.

Legendas das Figuras

Figura 1. Imagem do filme de pectina controle (FC), dos filmes de pectina incorporados com microcápsulas de vitamina E sem ácido tânico nas diferentes concentrações (FS1, FS2 e FS3) e dos filmes contendo microcápsulas de vitamina E reticuladas com ácido tânico (FA1, FA2 e FA3).

Figura 2. Espectro FTIR dos filmes FC, FS1, FS2, FS3, FA1, FA2 e FA3.

Figura 3. Gotas de água sobre as superfícies dos filmes controle e de pectina contendo microcápsulas sem e com ácido tânico. Letras sobrescritas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras testadas sob as mesmas condições.

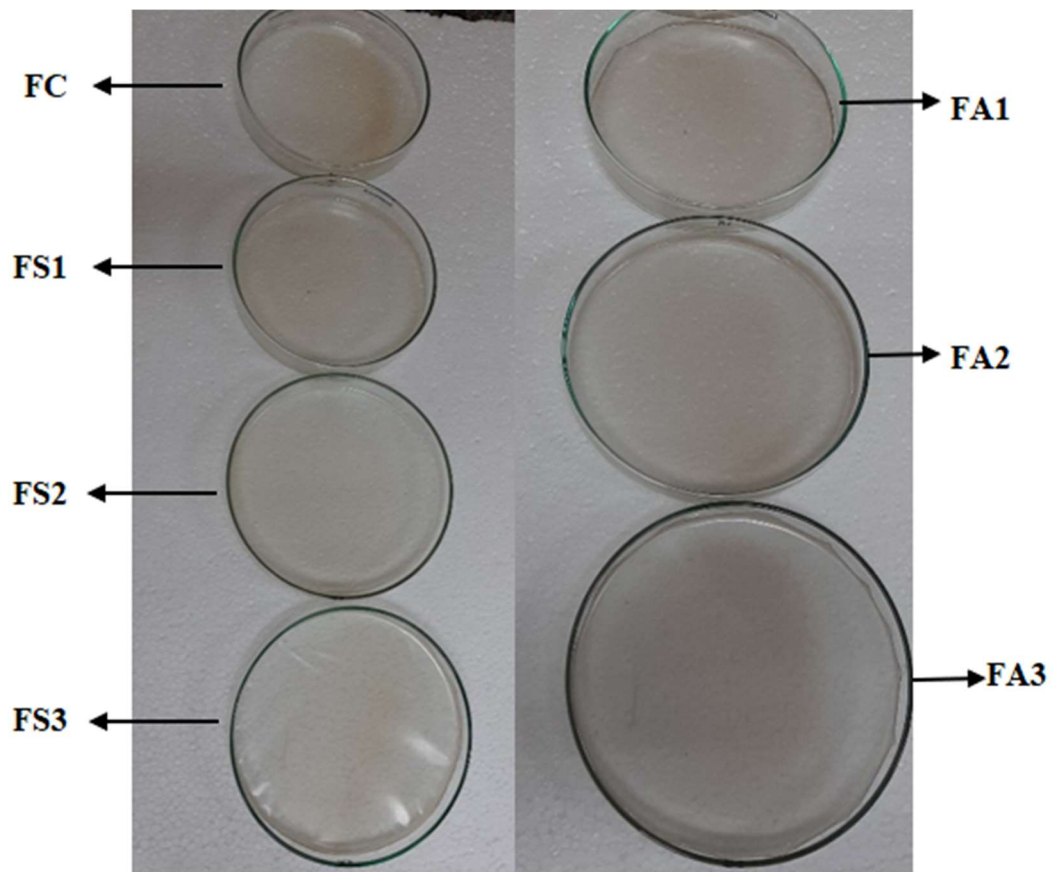


Figura 1.

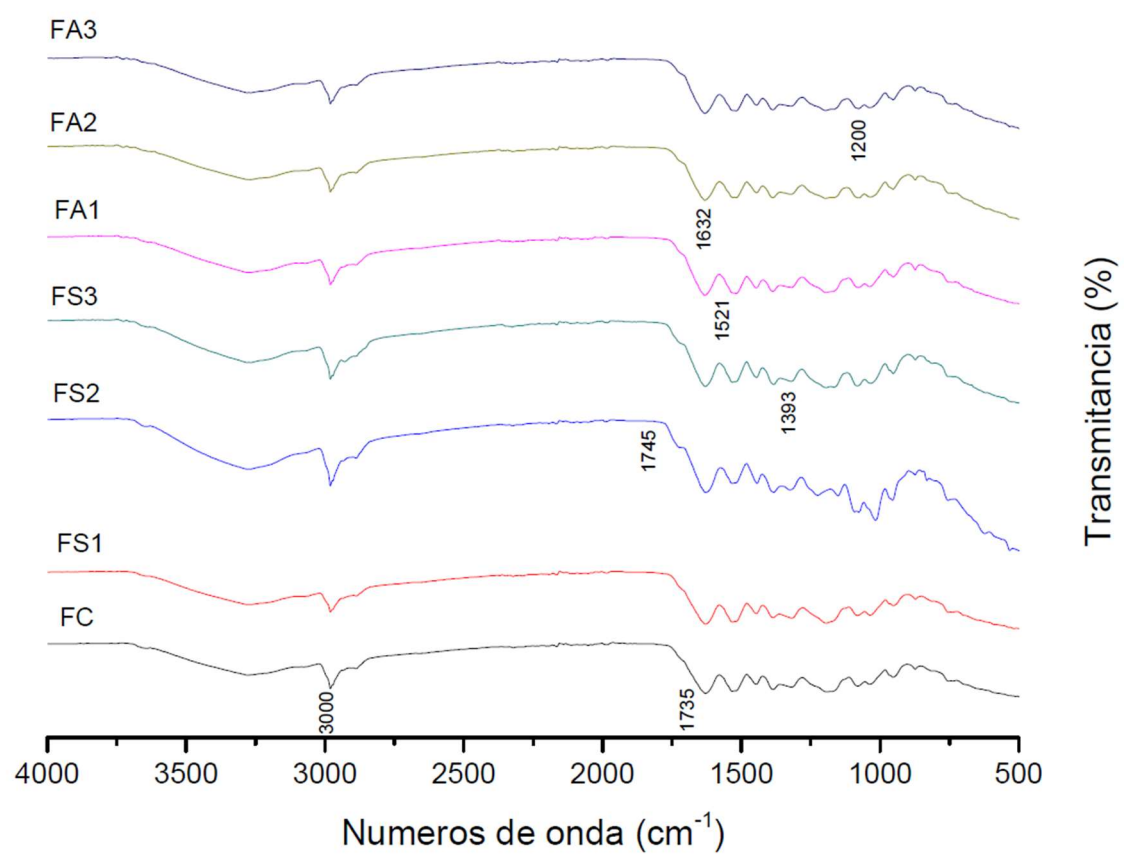


Figura 2.

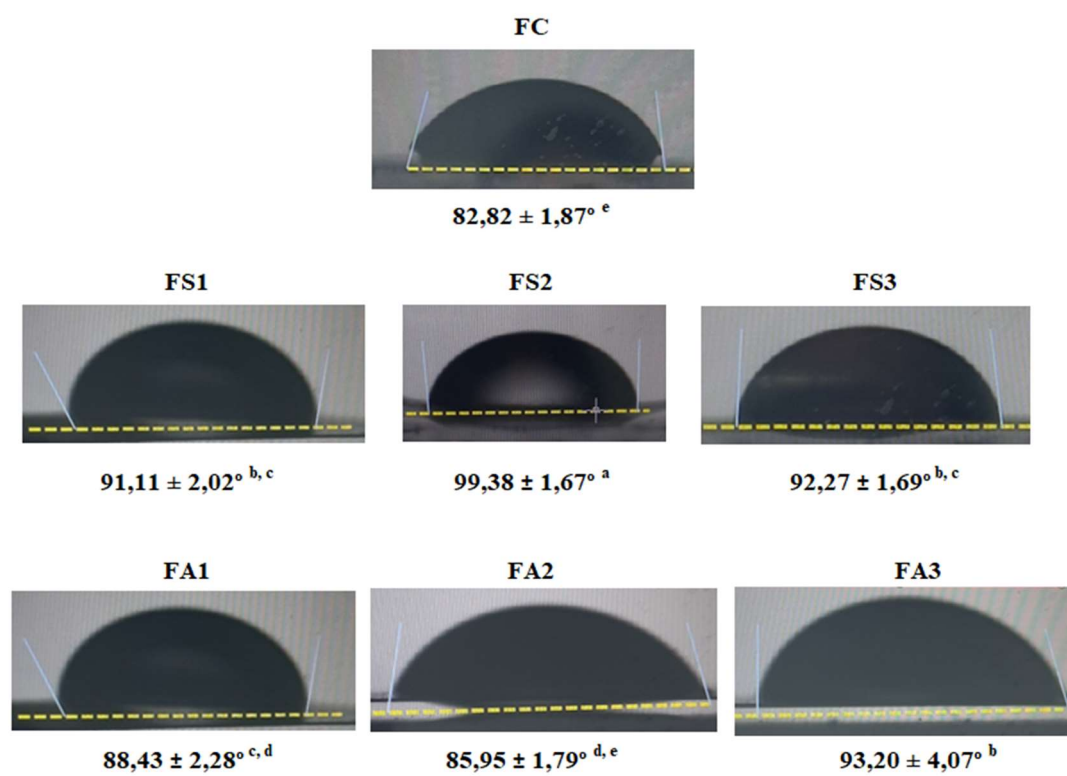


Figura 3.

Tabela 1. Eficiência de encapsulação (EE%) das microcápsulas contendo vitamina E nas diferentes formulações e 2,0 % de biopolímeros totais.

Amostra	Núcleo (g)	Biopolímeros (g)			Núcleo:material de parede	Vitamina E (%)	EE (%)
		IPL (g)	Lf (g)	Total (g)			
A1	0.60	0.2	0.4	0.6	1:1	10	99.99 ± 0.01 ^a
A2	0.30	0.2	0.4	0.6	1:2	10	99.99 ± 0.01 ^a
A3	0.15	0.2	0.4	0.6	1:4	10	99.99 ± 0.01 ^a
A4	0.60	0.2	0.4	0.6	1:1	20	99.99 ± 0.01 ^a
A5	0.30	0.2	0.4	0.6	1:2	20	99.99 ± 0.01 ^a
A6	0.15	0.2	0.4	0.6	1:4	20	99.99 ± 0.01 ^a
A7	0.60	0.2	0.4	0.6	1:1	30	96.40 ± 0.01 ^{a b}
A8	0.30	0.2	0.4	0.6	1:2	30	93.16 ± 3.01 ^b
A9	0.15	0.2	0.4	0.6	1:4	30	94.41 ± 1.20 ^b

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey, com uma probabilidade de 5%.

Tabela 2. Propriedades mecânicas e físico-químicas de filmes de pectina pura (FC) e com 0,05%; 0,10% e 0,20% de microcápsulas de vitamina E sem ácido tânico (FS1, FS2, FS3) e com ácido tânico (FA1, FA2, FA3), respectivamente.

Filme	Umidade (%)	Espessura (mm)	Resistência à tração (TS)	Alongamento na ruptura (EAB)
FC	12.56 ± 0.21 ^{a b}	0.10 ± 0.01 ^b	12.26 ± 1.96 ^{b c}	30.96 ± 0.55 ^a
FS1	11.83 ± 0.51 ^{a b}	0.05 ± 0.01 ^d	15.84 ± 2.12 ^{a b}	32.15 ± 3.79 ^a
FS2	12.33 ± 0.29 ^{a b}	0.08 ± 0.01 ^c	14.74 ± 2.97 ^{a b}	30.72 ± 0.13 ^a
FS3	11.74 ± 0.82 ^b	0.06 ± 0.01 ^d	18.71 ± 2.44 ^a	30.89 ± 0.06 ^a
FA1	13.17 ± 0.26 ^a	0.10 ± 0.01 ^b	10.07 ± 2.47 ^{c d}	30.71 ± 0.22 ^a
FA2	12.26 ± 0.38 ^{a b}	0.09 ± 0.01 ^{b c}	5.78 ± 3.26 ^{d e}	31.17 ± 2.31 ^a
FA3	12.20 ± 0.74 ^{a b}	0.13 ± 0.01 ^a	3.21 ± 2.53 ^e	30.35 ± 0.29 ^a

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey, com uma probabilidade de 5%.

Tabela 3. Solubilidade, permeabilidade ao vapor de água e ângulo de contato dos filmes contendo 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas sem (FS1, FS2, FS3) e com (FA1, FA2, FA3) ácido tânico juntamente com o controle (FC). Os dados apresentados são as médias ($n = 3$) $\pm$ desvio-padrão.

Filme	Solubilidade (%)	WVP ($\text{g.m}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) $\times 10^{-7}$	Ângulo de contato ($^{\circ}$)
FC	$89.87 \pm 0.25^{a,b}$	1.76 ± 0.14^b	82.82 ± 1.87^e
FS1	92.69 ± 0.36^a	1.62 ± 0.15^b	$91.11 \pm 2.02^{b,c}$
FS2	$89.98 \pm 0.51^{a,b}$	1.72 ± 0.15^b	99.38 ± 1.67^a
FS3	91.03 ± 2.13^a	1.59 ± 0.13^b	$92.27 \pm 1.69^{b,c}$
FA1	$90.53 \pm 3.07^{a,b}$	1.64 ± 0.15^b	$88.43 \pm 2.28^{c,d}$
FA2	$88.60 \pm 3.97^{a,b}$	2.69 ± 0.17^a	$85.95 \pm 1.79^{d,e}$
FA3	85.71 ± 3.41^b	2.57 ± 0.16^a	93.20 ± 4.07^b

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey, com uma probabilidade de 5%.

Tabela 4. Atividade antioxidante (ABTS•⁺) e de eliminação de radicais DPPH• dos filmes contendo 0,05%, 0,10% e 0,20% de microcápsulas sem (FS1, FS2, FS3) e com (FA1, FA2, FA3) ácido tânico juntamente com o controle (FC). Os dados apresentados são as médias (n = 3) ± desvio-padrão.

Filme	ABTS•⁺ (%)	DPPH• (%)
FC	29.07 ± 0.01	14.48 ± 0.01
FS1	32.96 ± 0.02	15.72 ± 0.01
FS2	43.27 ± 0.05	25.77 ± 0.01
FS3	59.81 ± 0.02	47.75 ± 0.02
FA1	93.27 ± 0.01	56.26 ± 0.03
FA2	99.99 ± 0.01	57.98 ± 0.01
FA3	99.99 ± 0.01	57.74 ± 0.02

CONCLUSÃO GERAL

Diante do trabalho realizado foi possível determinar a massa molar do isolado proteico de lentilha e da lactoferrina por meio do SDS-PAGE. O complexo coacervado foi formado entre o isolado proteico de lentilha (IPL) e a lactoferrina (Lf) e as melhores condições para sua formação foram o pH 6,0, razão de 1:2 (IPL:Lf) e concentração de 2,0% de sólidos totais. Os parâmetros termodinâmicos indicaram que a reação foi espontânea e predominantemente eletrostática.

Após a formação e caracterização do complexo IPL:Lf, foi possível encapsular a vitamina E utilizando o IPL e a Lf como materiais de parede e o ácido tânico como agente reticulante. As microcápsulas foram formadas utilizando a proporção 1:1 (material de parede: núcleo) e concentração de 30% (m/m) e apresentaram alta eficiência de encapsulação (96,40%). As microcápsulas reticuladas apresentaram bioacessibilidade de 70,5%, significativamente superior à observada nas não reticuladas (35,5%), evidenciando a eficácia da reticulação durante o processo; adicionalmente, essas amostras exibiram capacidade antioxidante estatisticamente superior, conforme demonstrado pelos ensaios ABTS^{•+} e DPPH[•]. Dessa forma, os coacervados IPL:Lf reticulados demonstram elevado potencial para aplicação em matrizes alimentares, contribuindo para a proteção e a entrega controlada da vitamina E.

Dando continuidade à aplicação do sistema desenvolvido, as microcápsulas de vitamina E foram incorporadas em filmes comestíveis à base de pectina em diferentes concentrações (0,05%; 0,10% e 0,20%). Os filmes apresentaram elevada solubilidade em água e atividade antioxidante, com destaque para as formulações contendo microcápsulas reticuladas, que exibiram os maiores valores dessa propriedade. De modo geral, a incorporação das microcápsulas aumentou o ângulo de contato, evidenciando maior hidrofobicidade superficial. Além disso, a maioria dos filmes apresentou valores de permeabilidade ao vapor de água próximos, indicando comportamento semelhante quanto à propriedade de barreira à umidade. Sob o ponto de vista mecânico, a presença das microcápsulas e do ácido tânico resultou em redução da resistência à tração, sem comprometer o alongamento na ruptura, indicando a manutenção da flexibilidade dos filmes. Assim, foi possível formar complexos coacervados entre proteínas de diferentes origens, os quais se mostraram eficazes na proteção da vitamina E, resultando em

microcápsulas com elevada eficiência de encapsulação (>90%). A incorporação dessas microcápsulas em filmes comestíveis à base de pectina conferiu elevada atividade antioxidante e manutenção das propriedades de barreira à umidade e da flexibilidade mecânica.

Nesse contexto, o sistema desenvolvido demonstra potencial promissor para aplicações em alimentos funcionais. Dessa forma, recomendam-se estudos futuros voltados à avaliação da vitamina E encapsulada em diferentes matrizes alimentares, bem como à investigação de sua atividade antimicrobiana após a encapsulação e à análise da liberação controlada em filmes ativos.