

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE/UNICENTRO

ANA CLAUDIA ORGANEK

**UTILIZAÇÃO DE AGENTES ENCAPSULANTES NATURAIS NA  
MICROENCAPSULAÇÃO DA PRÓPOLIS MARROM POR  
COACERVAÇÃO COMPLEXA**

GUARAPUAVA-PR  
2023

ANA CLAUDIA ORGANEK

**UTILIZAÇÃO DE AGENTES ENCAPSULANTES NATURAIS NA  
MICROENCAPSULAÇÃO DA PRÓPOLIS MARROM POR  
COACERVAÇÃO COMPLEXA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação, Setor de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química Aplicada.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Daiane Finger Ferreira.

GUARAPUAVA-PR  
2023

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

O68u      Organek, Ana Claudia  
Utilização de agentes encapsulantes naturais na microencapsulação da  
própolis marrom por coacervação / Ana Claudia Organek. -- Guarapuava,  
2023.

xiii, 66 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste,  
Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada. Área de Concentração:  
Química Aplicada, 2023.

Orientadora: Daiane Finger Ferreira

Banca examinadora: Yohandra Reyes Torres, Luciana Erzinger Alves  
de Camargo

Bibliografia

1. Microencapsulação. 2. Própolis marrom. 3. Compostos bioativos. 4.  
Materiais de revestimento. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em  
Química Aplicada.

CDD 540

**ANA CLAUDIA ORGANEK**

**UTILIZAÇÃO DE AGENTES ENCAPSULANTES NATURAIS NA  
MICROENCAPSULAÇÃO DA PRÓPOLIS MARROM POR COACERVAÇÃO  
COMPLEXA.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 22 de maio de 2023.

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Luciana Erzinger Alves de Camargo (GUAIRACÁ)

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Yohandra Reyes Torres (UNICENTRO)

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Daiáhe Finger Ferreira

Orientadora

GUARAPUAVA-PR

2023

Dedico este trabalho a  
Deus e minha família.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, sem sua presença esta pesquisa seria inviável pois é dele que provem todo o conhecimento.

Sou grata à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida. Aos meus pais e em especial minha mãe, Terezinha, por todo o incentivo, orações e suporte em todos os momentos. Aos meus irmãos, cunhada e sobrinhos pelo companheirismo e orações, que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daiane Finger Ferreira, pelos conhecimentos ensinados, tempo dedicado a este trabalho, incentivos, também pela compreensão e orientação para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a ajuda dos colegas que contribuíram para esta pesquisa.

Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho. A Renata Almeida Farias, por me auxiliar nas análises das caracterizações físico-químicas do extrato de própolis.

Agradeço também à empresa Entreposto Colmeia Real Ltda, por me disponibilizar a própolis marrom. E a empresa Gelnex pelo fornecimento da gelatina.

A todos os professores e colaboradores da UNICENTRO, que de alguma forma contribuíram com esse trabalho. Ao Prof. Dr. Fauze Jacó Anaissi, por me disponibilizar o Laboratório de Materiais e Pigmentos Inorgânicos para realizar as análises químicas.

A UTFPR Campus Pato Branco, por disponibilizar o equipamento liofilizador.

Ao CCMN, que permitiu a utilização dos equipamentos disponíveis nos laboratórios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, pela oportunidade.

À CAPES, pelo auxílio financeiro durante a realização deste trabalho.

E a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram durante todo o período de estudos e pesquisas.

*“Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas.  
A ele seja a glória para sempre.” Romanos 11:36*

## RESUMO

A própolis marrom é um produto promissor devido à presença de propriedades biológicas, que são atribuídas a compostos bioativos como flavonoides, fenóis, dentre outros. A microencapsulação é uma técnica que visa proteger o composto ativo de condições adversas. Por conseguinte, formulações desenvolvidas pela mistura de agentes encapsulantes, sem toxicidade, abrem possibilidades de aplicações em indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Com isto, o objetivo principal deste trabalho foi microencapsular o extrato de própolis marrom, pela técnica de coacervação complexa, utilizando a união de polímeros de grau alimentício. Foram utilizados pectina, goma arábica, goma xantana e gelatina como agentes encapsulantes em duas concentrações (2,5 e 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>). Além da caracterização da própolis marrom, as microcápsulas foram liofilizadas e analisadas quanto à morfologia, eficiência de encapsulamento (EE %), teor de fenólicos totais (TFT), flavonoides e atividade antirradicalar otimizada pela metodologia de superfície de resposta. O TFT e flavonoides no extrato de própolis foi de 28,6 mgEAG.g<sup>-1</sup> e 3,86 mgEQ.g<sup>-1</sup> respectivamente, a atividade antirradicalar apresentou 51,8% de inibição do radical DPPH. Referente a caracterização de compostos bioativos das microcápsulas, a formulação contendo goma arábica 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup>/gelatina 2,5g 100 mL<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5) apresentou maior quantidade significativa de fenólicos totais (12,8 mgEAG.g<sup>-1</sup>) e de flavonoides (3,44 mgEQ.g<sup>-1</sup>). Referente a atividade antirradicalar *in vitro*, as microcápsulas apresentaram resultados que variaram entre 27,4 a 38,9%. A EE das microcápsulas variou entre 13,38 a 53,58%. O agente encapsulante gelatina na concentração 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup> apresentou resultados satisfatórios em relação a 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>. As caracterizações confirmaram a obtenção das microcápsulas, sintetizadas pelo método de coacervação complexa, para todos os materiais de núcleo estudados. Desta forma, as melhores concentrações e agentes encapsulantes, em quesito de preservação dos compostos bioativos, aparência, manipulação e eficiência foi a pectina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>/gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> (P2.5-G2.5), goma arábica 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>/gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5) e goma arábica 5,0 g 100mL<sup>-1</sup>/gelatina 5,0 g 100mL<sup>-1</sup> (GA5.0-5.0)

Palavras Chave: microencapsulação; própolis marrom; compostos bioativos; materiais de revestimento.



## ABSTRACT

Brown propolis is a promising product due to the presence of biological properties, which are attributed to bioactive compounds such as flavonoids, phenols, and others. Microencapsulation is a technique that aims to protect the active compound from adverse conditions, herein, the propolis extract. Thus, formulations developed by the mixture of encapsulating agents, without toxicity, open possibilities of their applications in the food, cosmetic and pharmaceutical industries. Therefore, this work aimed to microencapsulate brown propolis extract by the complex coacervation technique, employing the unifying of food-grade polymers. Pectin, gum arabic, xanthan gum, and gelatin were used as encapsulating agents in two concentrations (2.5 and 5.0 g 100mL<sup>-1</sup>). Besides the characterization of brown propolis, the microcapsules were freeze-dried and assessed for morphology, encapsulation efficiency (EE %), total phenolic content (TPC), flavonoids, and scavenging activity optimized by response surface methodology. TPC and flavonoids in propolis extract were 28.6 mgGAE.g<sup>-1</sup> and 3.86 mgQE.g<sup>-1</sup> respectively, the scavenging activity showed 51.8% of DPPH radical inhibition. Regarding the characterization of the microcapsule's bioactive compounds, the formulation gum arabic 2.5 g 100 mL<sup>-1</sup>/gelatin 2.5g 100 mL<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5) presented higher amounts of TPC (12.78 mgGAE.g<sup>-1</sup>) and flavonoids (3.44 mgQE.g<sup>-1</sup>). Regarding the in vitro scavenging screening, the microcapsules showed results ranging from 27.4 to 38.9%. The EE ranged from 13.38 to 53.58%. The encapsulating agent gelatin at a concentration of 2.5 g 100 mL<sup>-1</sup> presented satisfactory results compared to 5.0 g 100 mL<sup>-1</sup>. The characterizations confirmed the microcapsules acquisition, synthesized by the complex coacervation method, for all the core materials studied. Therefore, the best concentrations and encapsulating agents, in terms of preservation of bioactive compounds, appearance, handling, and efficiency, were pectin 2.5 g 100mL<sup>-1</sup>/gelatin 2.5 g 100 mL<sup>-1</sup> (P2.5-G2.5), gum arabic 2.5 g 100 mL<sup>-1</sup>/gelatin 2.5g 100 mL<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5), and gum arabic 5.0 g 100 mL<sup>-1</sup>/gelatin 5.0 g 100 mL<sup>-1</sup> (P5.0-G5.0).

Keywords: microencapsulation; brown propolis; bioactive compounds; coating materials.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Própolis marrom bruta. ....	22
<b>Figura 2</b> - Redução do radical DPPH.....	23
<b>Figura 3</b> - Estrutura simples de um composto fenólico. ....	24
<b>Figura 4</b> - Estrutura simples dos flavonoides.....	26
<b>Figura 5</b> - Formação do complexo flavonoide-Al <sup>3+</sup> .....	26
<b>Figura 6</b> - Esquema representando a microencapsulação de compostos bioativos.....	27
<b>Figura 7</b> - Esquema de extração da própolis marrom. ....	32
<b>Figura 8</b> - Esquema da técnica de microencapsulação: coacervação complexa. ....	34
<b>Figura 9</b> - Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados de extrato de própolis marrom e solução etanólica de DPPH. ....	42
<b>Figura 10</b> - Gráfico de efeitos principais para o percentual de inibição. ....	42
<b>Figura 11</b> - Gráfico de interação para o percentual de Inibição.....	43
<b>Figura 12</b> - Superfície de resposta da atividade antioxidante em função quantidade de extrato de própolis marrom e da solução DPPH. ....	44
<b>Figura 13</b> - Curva cinética do potencial antiradicalar do extrato etanólico da própolis marrom. ....	45
<b>Figura 14</b> - Fotomicrografias obtidas pela microscopia ótica das microcápsulas de pectina e gelatina (2,5 g 100 mL <sup>-1</sup> ) e goma arábica (2,5 g 100 mL <sup>-1</sup> ) e gelatina (5,0 g 100 mL <sup>-1</sup> ) contendo o extrato de própolis. ....	46
<b>Figura 15</b> - Fotomicrografias obtidas pela microscopia ótica das microcápsulas de goma arábica e gelatina (2,5 g 100 mL <sup>-1</sup> ), goma xanta e gelatina (2,5 g 100 mL <sup>-1</sup> ) de extrato de própolis.....	47
<b>Figura 16</b> - Microcápsulas não liofilizadas do extrato de própolis marrom com variação da concentração de agente encapsulante.....	47
<b>Figura 17</b> - Microcápsulas liofilizadas do extrato de própolis marrom.....	48
<b>Figura 18</b> - Imagem de MEV das microcápsulas com suas formulações: (a) Pectina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> e gelatina 5,0g 100mL <sup>-1</sup> , (b)Pectina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> e gelatina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> , (c) Pectina 5,0g 100mL <sup>-1</sup> - Gelatina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> (d) Pectina 5,0g 100mL <sup>-1</sup> - Gelatina 5,0g 100mL <sup>-1</sup> .....	50

<b>Figura 19</b> - Imagem de MEV das microcápsulas com suas formulações: (e) Goma arábica 5,0 g 100mL <sup>-1</sup> e gelatina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> , (f) Goma arábica 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> e gelatina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> , (g) Goma Xantana 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> e gelatina 5,0g 100mL <sup>-1</sup> , (h) Goma xantana 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> e gelatina 2,5 g 100mL <sup>-1</sup> . .....	50
<b>Figura 20</b> - Eficiência de microencapsulação das formulações obtidas por coacervação complexa. ....	52
<b>Figura 21</b> - Curva analítica da atividade antiradicalar da quercetina. ....	55
<b>Figura 22</b> - Curva padrão da atividade antiradicalar do ácido ascórbico.....	55

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Requisitos físico-químicos que determinam o controle de qualidade da própolis brasileira.....	20
<b>Tabela 2</b> - Classificação da própolis brasileira. ....	21
<b>Tabela 3</b> - Materiais de revestimentos usados para microencapsulação. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Descrição das amostras realizadas por coacervação complexa. ....	35
<b>Tabela 5</b> - Parâmetros e níveis estabelecidos no planejamento 2 <sup>2</sup> . ....	37
<b>Tabela 6</b> - Ensaios do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> . ....	37
<b>Tabela 7</b> - Caracterizações físico-químicas da própolis marrom: perda por dessecação e percentual de ceras. ....	39
<b>Tabela 8</b> - Resultados das análises de fenóis, flavonoides totais e atividade antiradicalar. ....	40
<b>Tabela 9</b> - Resultados da eficiência de encapsulação das microcápsulas do extrato de própolis marrom.....	51
<b>Tabela 10</b> - Resultados das análises de compostos bioativos das microcápsulas do extrato de própolis marrom. ....	53
<b>Tabela 11</b> - Capacidade antiradicalar equivalente das microcápsulas de própolis .....	55
<b>Tabela 12</b> - Resultados da atividade antiradicalar <i>in vitro</i> das microcápsulas e do extrato de própolis marrom. ....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazil.
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta.
mg EAG. g <sup>-1</sup>	Miligrama Equivalente de Ácido Gálico por gramas de própolis.
mg EQ. g <sup>-1</sup>	Miligrama Equivalente de Quercetina por gramas de própolis.
ANOVA	Análise de variância.
EE%	Eficiência de Encapsulação.
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura.
AA%	Porcentagem de atividade antiradicalar.
µm	Micrometros.
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	19
<b>3.1 Própolis</b> .....	19
<b>3.2 Própolis marrom</b> .....	21
<b>3.2.1 Atividade antiradicalar</b> .....	22
<b>3.2.2 Compostos Fenólicos</b> .....	24
<b>3.3 Microencapsulação</b> .....	27
<b>3.4 Coacervação complexa</b> .....	28
<b>3.5 Agentes encapsulantes</b> .....	30
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
<b>4.1 Material</b> .....	32
<b>4.2 Métodos</b> .....	32
<b>4.2.1 Obtenção do extrato de própolis marrom</b> .....	32
<b>4.2.2 Caracterização do extrato de própolis marrom</b> .....	33
<b>4.2.3 Perda por dessecação</b> .....	33
<b>4.2.4 Percentual de ceras</b> .....	33
<b>4.2.5 Microencapsulação por coacervação complexa</b> .....	34
<b>4.2.6 Ruptura e eficiência das microcápsulas</b> .....	35
<b>4.2.7 Caracterização das microcápsulas</b> .....	36
<b>4.2.8 Determinação do teor total dos compostos fenólicos</b> .....	36
<b>4.2.9 Quantificação de flavonoides</b> .....	36
<b>4.2.10 Atividade antiradicalar in vitro</b> .....	36
<b>4.2.11 Morfologia das microcápsulas</b> .....	38
<b>4.2.12 Análise Estatística</b> .....	38
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>5.1 Caracterização do extrato de própolis marrom</b> .....	39
<b>5.2 Perda por dessecação e percentual de ceras</b> .....	39
<b>5.3 Determinação de teor total dos compostos fenólicos e flavonoides da própolis marrom</b> .....	40
<b>5.4 Atividade antiradicalar otimizada pela metodologia de superfície de resposta</b> .....	41
<b>5.5 Microencapsulação do Extrato de Própolis Marrom</b> .....	45
<b>5.5.1 Microscopia ótica</b> .....	45
<b>5.5.2 Microscopia eletrônica de varredura</b> .....	49
<b>5.6 Eficiência de microencapsulação</b> .....	51

<b>5.7</b>	<b>Caracterização físico-químicas das microcápsulas.</b>	<b>53</b>
<b>5.7.1</b>	<b>Determinação do teor total dos compostos fenólicos e quantificação de flavonoides.</b>	<b>53</b>
<b>5.7.2</b>	<b>Atividade antiradicalar in vitro</b>	<b>54</b>
<b>5.8</b>	<b>Análise estatística</b>	<b>56</b>
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>57</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>59</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A própolis é um dos muitos produtos naturais que vem sendo utilizado durante séculos pela humanidade. A sua composição química, e por consequência suas propriedades biológicas, pode variar dependendo da região geográfica, vegetação, colônia, estação e os locais onde as substâncias cerosas são coletadas pelas abelhas (Machado et al., 2016). Entre as consequências dessa variação está sua cor que pode alterar de amarelo esverdeado a marrom escuro, odor e propriedades biológicas (Doğan; Silici; Ozcimen, 2020).

A própolis possui diversas propriedades conhecidas, como ação anti-inflamatória, antitumoral, antibacteriana, antioxidante, anestésico, anticâncer e tem se mostrado promissora para o tratamento SARS-COV-2 e COVID-19 (Anjum et al., 2019; Moç; Silaghi-Dumitrescu; Sârbu, 2011; Ibrahim et al., 2018; Pasupuleti et al., 2017; Bhargava et al., 2018; Barretta et al., 2020; Carvalho et al., 2011). Se destaca também o seu potencial no desenvolvimento de cicatrização de feridas (Doğan; Silici; Ozcimen, 2020).

Segundo Da Paixão et al. (2014) a própolis repara o tecido que está ferido, e nutre-o com as vitaminas, além de estimular o tecido conjuntivo, a qual contém elastina e colágeno. Tudo isso possibilita a regeneração da pele até a cicatrização.

A microencapsulação é uma técnica que visa preservar dos compostos fenólicos, flavonoides, propriedade antimicrobiana e antioxidante presentes no composto ativo, como ingrediente funcional na área farmacêutica, cosmetologia alimentícia (Nori et al., 2011; da Silva et al., 2013; Albuquerque, 2011). Tem como finalidade formar uma barreira física com o auxílio de um material de parede para proteger e preservar o composto ativo na forma líquida, sólida ou gasosa (Ray; Raychaudhuri; Cha. Kraborty, 2016). Esta técnica pode ser realizada com o intuito em proteger substâncias sensíveis do ambiente externo, mascarar as propriedades organolépticas como cor, sabor ou odor da substância e promover a liberação controlada em lugares específicos (Jyothi et al., 2010).

A coacervação complexa é um método de microencapsulação que se destaca por apresentar vantagens entre as demais, possuindo boa eficiência de encapsulação, sendo muito utilizada na área da indústria alimentícia, e a utilização de polímeros (materiais de parede) que não apresentam toxidades (Silva et al., 2015; Jyothi et al., 2010). O uso de polímeros tem se intensificado atualmente, pois há uma ampla variedade em materiais de parede. A escolha correta é vital para melhorar a estabilidade, eficiência e emulsificação da substância que será encapsulada (Zhao; Tang, 2016).



De acordo com a pesquisa realizada por Paulo (2021) a técnica de microencapsulação, a qual utiliza os polímeros como materiais de revestimento, é aplicada na produção de micropartículas carregadas com extrato de própolis em matrizes funcionais. Isso torna a técnica viável e promissora.

Portanto, este trabalho objetivou utilizar a coacervação complexa que se destaca por ser um método de microencapsulação rápido e simples, permitindo produzir microcápsulas a partir de uma nova união de materiais encapsulantes de origem natural (gelatina, pectina, goma arábica e xantana), sendo possível aplicar na área alimentícia, cosmetologia e farmacêutica.

## 2. OBJETIVOS

### *Objetivos Gerais*

Investigar se a técnica de microencapsulação por coacervação complexa utilizando polímeros de grau alimentício é eficiente na microencapsulação da própolis marrom.

### *Objetivos Específicos*

- Realizar a caracterização físico-química do extrato de própolis marrom, tais como, teor de ceras, perda por dessecação, quantificação de compostos fenólicos e flavonoides;
- Obter microcápsulas de extrato de própolis marrom pelo método de coacervação complexa utilizando concentrações variáveis de pectina, gelatina, goma xantana e goma arábica como agentes encapsulantes;
- Avaliar as variáveis que irão influenciar a microencapsulação, como a concentração dos polímeros na formação das cápsulas;
- Determinar as características físico-químicas das microcápsulas contendo o extrato de própolis.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Própolis

A própolis é o terceiro componente mais importante dos produtos apícolas. Devido suas propriedades medicinais, era usada como antibiótico natural por médicos gregos, romanos, egípcios e outros cientistas há 300 a.C (Anjum et al., 2019; Machado et al., 2016). A palavra “própolis” é derivada do grego, na qual, a junção de “pró” (em favor) e “polis” (cidade) e tem como significado usual a proteção da colmeia. A própolis tem como objetivo de selar buracos e rachaduras e na construção da colmeia. Também é usado como impermeabilizante nas superfícies internas da colmeia, para manter a temperatura interna há 35°C e principalmente proteger contra a invasão de predadores (Pasupuleti et al. 2017; Castaldo; Capasso 2002).

Seus principais componentes são resina (50%), cera (30%), óleos essenciais (10%), pólen (5%) e outros 5% de compostos orgânicos (Pasupuleti et al. 2017). O odor característico especial da própolis é devido a alta concentração de óleos essenciais. A maior parte da resina constituída da própolis brasileira provém das folhas de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), incluindo constituintes, como diterpenos, ligninas, derivados do ácido p-cumárico, flavonoides e também é muito rica em artemelin C. Vale destacar que a maior parte dos materiais presentes na própolis depende da sua coleta e a região geográfica (Anjum et al., 2019; Machado et al., 2016).

Foram identificados mais de 300 compostos na própolis, sendo algumas classes de metabólitos comumente encontradas: os flavonoides, ácidos aromáticos, ácidos fenólicos, ésteres, álcoois, cetonas e diversas vitaminas tais como B1, B2, B6, C, E (Cantarelli; Camina; Pettenati et al., 2011; Doğan; Silici; Ozcimen, 2020; Kuropatnicki et al. 2013).

A esses compostos são atribuídas as diversas propriedades conhecidas da própolis como ação anti-inflamatória, antitumorais, antibacteriana, antioxidante, anestésico e anticâncer. (Anjum et al., 2019; Moç; Silaghi-Dumitrescu; Sârbu, 2011; Ibrahim et al., 2018; pasupuleti et al., 2017; Bhargava et al., 2018; Carvalho et al., 2011). Ademais, a própolis tem se mostrado promissora como auxiliar no tratamento de várias comorbidades que são particularmente perigosas, assim como o SARS-COV-2 e COVID-19 (Barretta et al., 2020).

Entre os diversos benefícios que a própolis apresenta, se destaca seu potencial no desenvolvimento de cicatrização de feridas (Doğan; Silici; Ozcimen, 2020). Sua aplicação na pele é baseado em propriedades antialérgicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas que aumentam a concentração de colágeno e diminuem a quantidade de radicais livres nas feridas, e isto ocorre devido aos compostos fenólicos, flavonoides e enzimas os quais promovem o processo de cicatrização de feridas (Pasupuleti et al., 2017;Olczyk et al., 2014;Henshaw et al., 2014). De acordo com Silva et al. (2017) a influência da própolis em tratamentos para combater feridas crônicas, em específico na evolução do processo cicatricial de úlceras obteve bons resultados, possibilitando uma melhor qualidade de vida aos pacientes acometidos por feridas crônicas através de métodos alternativos e de baixo custo.

Devido a essas propriedades citadas, o extrato da própolis tem sido usado em uma variedade de aplicações, incluindo pomadas e cremes para cicatrização de feridas, tratamento de queimaduras, doenças de pele e úlceras e também em formulações de pasta de dente e enxaguante bucal para tratar gengivite e estomatite (Kuropatnicki et al. 2013; Ibrahim; Alqurashi 2022).

Tanto a própolis bruta quanto os extratos, para serem comercializados, devem atender a especificações estabelecidas no Brasil de acordo com as normas do Ministério da agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Na tabela 1 estão descritos os requisitos e seus respectivos limites.

**Tabela 1** - Requisitos físico-químicos que determinam o controle de qualidade da própolis brasileira.

<b>Requisitos físico-químicos</b>	<b>Própolis Bruta</b>	<b>Extrato Hidroalcoólico</b>
Perda por dessecação	Máximo de 8% (m m <sup>-1</sup> )	--
Cinzas	Máximo de 5% (m m <sup>-1</sup> )	--
Extrato Seco	--	Mínimo de 11% (m v <sup>-1</sup> )
Ceras	Máximo de 25% (m m <sup>-1</sup> )	Máximo 1% (m m <sup>-1</sup> )
Compostos fenólicos	Mínimo de 5% (m m <sup>-1</sup> )	Mínimo 0,50% (m m <sup>-1</sup> )
Flavonoides	Mínimo de 0,5% (m m <sup>-1</sup> )	Mínimo 0,25% (m m <sup>-1</sup> )
Atividade de oxidação	Máximo de 22 segundos	Máximo de 22 segundos
Massa mecânica	Máximo 40% (m m <sup>-1</sup> )	--
Solúveis em etanol	Mínimo de 35% (m m <sup>-1</sup> )	--

Fonte: Adaptada de Brasil (2001).

No Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Extrato de Própolis (normativa n° 03, de 19 de janeiro de 2001), no anexo VII, tem como propósito de

estabelecer os requisitos mínimos de qualidade que a Própolis deve atender, visando o mercado nacional e internacional.

### 3.2 Própolis marrom

A composição química da própolis marrom é complexa pois depende da flora vegetal (brotos, galhos, botões florais) coletadas pelas abelhas e períodos de colheitas. Esses fatores influenciam nas propriedades físicas, químicas e biológicas.

E com isto a própolis pode diferenciar-se na cor e na composição química, dentre os 13 grupos (Tabela 2), as mais comuns encontradas são a própolis marrom, verde e vermelha. A própolis marrom é característica de diferentes regiões, mas em relação a própolis marrom brasileira, é geralmente citada como a que vem do sul do país (Farag et al. 2021; Moç; Silaghi-Dumitrescu; Sârbu, 2011).

**Tabela 2** - Classificação da própolis brasileira.

<b>Extrato Etanólico de Própolis</b>		
<b>Grupos</b>	<b>Cor</b>	<b>Origem</b>
Grupo 1	Amarelo	Sul
Grupo 2	Castanho claro	Sul
Grupo 3	Castanho escuro	Sul
Grupo 4	Castanho claro	Sul
Grupo 5	Marrom esverdeado	Sul
Grupo 6	Marrom avermelhado	Nordeste
Grupo 7	Marrom esverdeado	Nordeste
Grupo 8	Castanho escuro	Nordeste
Grupo 9	Amarelo	Nordeste
Grupo 10	Amarelo escuro	Nordeste
Grupo 11	Amarelo	Nordeste
Grupo 12	Verde ou marrom esverdeado	Sudeste
Grupo 13	Vermelha	Nordeste

Fonte: Adaptada de Toreti et a. (2013).

A própolis marrom brasileira (Figura 1) tem menos estudos em relação aos outros tipos de própolis conhecidas.



**Figura 1** - Própolis marrom bruta.

Fonte: A autora (2022).

Ela se destaca por conter algumas classes de metabólitos, tais como, terpenos, polifenólicos, ácidos graxos como o ácido oleico, linoleico, palmítico, derivados do ácido cumárico e flavonoides (Dembogurski et al. 2018; Araújo et al. 2020). A própolis marrom apresenta propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante e antiviral (Dembogurski et al. 2018; Araújo et al. 2020; Peter et al. 2017; Curti et al. 2019; Dos Santos et al. 2022; Farag et al. 2021).

### **3.2.1 Atividade antiradicalar**

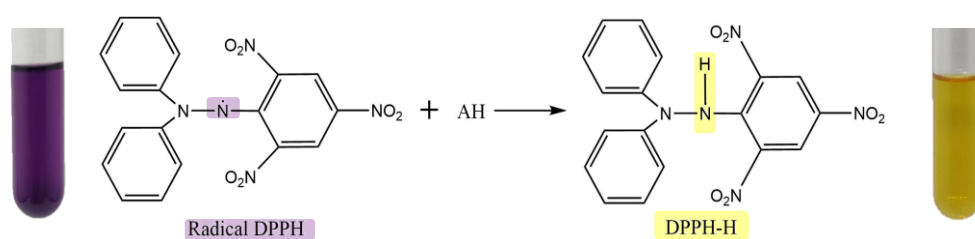
Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem elétrons livres não pareados em sua camada orbital externa, o que explica sua instabilidade e elevada reatividade. Estes provocam ou resultam reações de óxido-redução, tendo capacidade de ceder o elétron solitário, oxidando-se, ou receber elétron, reduzindo-se (Ferreira; Matsubara 1997). Os radicais livres são instáveis e reativos por conterem elétrons desemparelhados.

A atividade antiradicalar se encontra fortemente presente na própolis. Como há diversos compostos presentes na sua composição química, a atividade antiradicalar se destaca pela presença de flavonoides e polifenóis, quanto mais forte é o teor destes compostos, mais eficaz é a própolis contra radicais livres (Pereira et. al. 2022). Esta atividade age no combate contra as doenças degenerativas tais como as cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares. A utilização de compostos antiradicalares encontrados em alimentos ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa contra esses radicais livres, que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos e bebidas (Bianchi; Antunes, 1999).

Na utilização em alimentos, a atividade antiradicalar tem como finalidade em preservar a qualidade e também podem ser considerados como suplementos para a promoção da saúde (Jiang; Xiong, 2016). Na área de cosméticos, os antioxidantes tem a função de proteger a pele humana contra os danos causados pela radiação ultravioleta, combater os radicais livres, esta atividade é responsável pela quebra da cadeia de sequestradores de radicais e inibir a reação de oxidação; por esses mecanismos, os antioxidantes podem prevenir danos oxidativos, no caso envelhecimento da pele (Kusumawati; Indrayanto, 2013)

Existem vários métodos para a avaliação do potencial antiradicalar *in vitro* e os mais utilizados, são o ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfônico) e o DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil). O método DPPH baseia-se na medida da capacidade antiradicalar de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH (Oliveira, 2015). Porém o DPPH é um radical estável, por causa da sua estrutura química (Sucupira et al. 2012; Schaich et al. 2015).

O DPPH é uma abreviatura do composto orgânico 2,2-difenil-1-picrilidrazil, é um radical de nitrogênio orgânico, apresenta cor violeta/roxo, considera-se como um radical orgânico livre estável na ausência da luz. É monitorada a redução do radical DPPH pelo decréscimo da absorvância durante a reação. O DPPH é também hidrofóbico, portanto, suas reações devem ser realizadas em solventes orgânicos (Sucupira et al. 2012; Schaich et al. 2015).



**Figura 2** - Redução do radical DPPH.

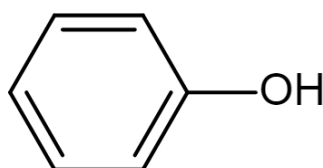
Fonte: A autora (2022).

A localização do elétron livre ao longo da molécula confere ao DPPH a cor roxo/violeta. As substâncias que possui antioxidantes reagem com o DPPH de forma muito rápida, transferência de elétrons e por lenta transferência de átomo de hidrogênio, logo, na reação a molécula do radical DPPH aceita um elétron para se tornar uma

molécula estável, o que origina sua forma reduzida (DPPH-H) possuindo uma coloração de amarelo pálido, assim como demonstrado na Figura 2 (Schaich et al. 2015).

### 3.2.2 Compostos Fenólicos

Uma das principais classes de metabólitos secundários essenciais à fisiologia e metabolismo celular dos vegetais são os compostos fenólicos, consiste em um anel aromático, com ampla variedade de estruturas, ao qual um ou mais substituintes OH- (hidroxilas) estão ligados, variando de moléculas simples como o fenol, assim como representado na Figura 3, até estruturas polimerizadas.



**Figura 3** - Estrutura simples de um composto fenólico.

Fonte: A autora (2022).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em flavonoides (será discutido no próximo subitem 3.2.3) e não-flavonoides. Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis, tais como, catequina, epicatequina e epigallocatequina, quercetina, miricetina e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, apresentam um grupo funcional carboxila e são divididos em duas classes: ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (Abe et. al. 2007; Oliveira; Bastos, 2011).

Os ácidos fenólicos são fitonutrientes de forte poder antioxidante que fazem parte da composição de diversos alimentos e especialmente na própolis, dentre as duas classes citadas, os ácidos hidroxicinâmicos são encontrados em uma variedade de alimentos e bebidas de origem vegetal, como café, maçã, ameixa e outras frutas, plantas crucíferas, grãos e também na própolis. Exemplos de tais compostos são o ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico e ácido sinápico (Abe et. al. 2007; Oliveira; Bastos, 2011). Em contrapartida, a presença dos ácidos hidroxibenzóicos é muito baixo em alimentos, com exceção de algumas frutas vermelhas, e por este motivo, esses compostos não são de grande interesse para a área nutricional (Manach et.al. 2004).



Os compostos fenólicos e flavonoides são considerados os principais constituintes biológicos presentes na própolis, a proporção destes compostos encontrados pode variar pois depende da época de coleta e vegetação geográfica (Cabral et. al. 2009; Anjum et al., 2019; Machado et al., 2016).

São capazes de reduzir a prevalência de doenças crônicas, como por exemplo, diabetes, doenças cardiovasculares e câncer. Os fenólicos têm a atenção dos pesquisadores pois possui inúmeros efeitos benéficos para a saúde, como suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, cardioprotetoras, anti-inflamatórias e neuroprotetoras (Hussain, et.al. 2012; Toreti, 2013).

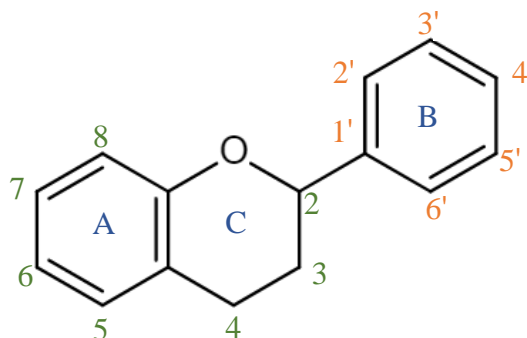
O consumo regular e em quantidades adequadas de vegetais que contenham em sua composição os compostos fenólicos, em alimentos, tais como frutas e bebidas ricas nestas substâncias podem prevenir doenças crônicas não transmissíveis. Além disso, desempenham um papel importante nas propriedades organolépticas dos produtos alimentícios, principalmente no sabor, contribuindo para o amargor, doçura, pungência e adstringência (Dicko et. al 2006; Espin et. al 2007).

### **3.2.3 Flavonoides**

Os flavonoides fazem parte do grupo de compostos polifenólicos comumente presentes em alimentos de origem vegetal, considera-se um componente importante para avaliar a qualidade da própolis, além disso, eles foram relatados a partir de fontes como vegetais, vinho, frutas e bebidas (Ekalu; Habila, 2020). Na própolis, é comum encontrar constituintes químicos provenientes dos flavonoides, como acacetina, apeginina, quercetina e entre outros (Toreti et. al. 2013; Ferreira et. al. 2017). A concentração de flavonoides na própolis depende da região de origem e época da colheita, bem como o método de extração e também os solventes utilizados (Pujirahayu et. al. 2014). Quimicamente, os flavonoides são categorizados em flavonas, flavanonas, flavonóis, chalconas e diidroflavonóis (Akhlaghi; Foshati, 2017; Pujirahayu et. al. 2014).

Os flavonoides são uma grande classe de compostos aromáticos naturais e são considerados os mais comuns. A estrutura química dos flavonoides é construída sob um esqueleto C6-C3-C6, esses anéis correspondem aos dois anéis aromáticos A e anéis B, assim como demonstrado na Figura 4, no anel C e nos demais anéis podem ocorrer variações, na qual são formadas as subclasses de flavonoides, tais como, flavonas,

flavanonas, flavonóis e chalconas (Akhlaghi; Foshati, 2017; Pujirahayu et. al. 2014; Ekalu; Habila, 2020).

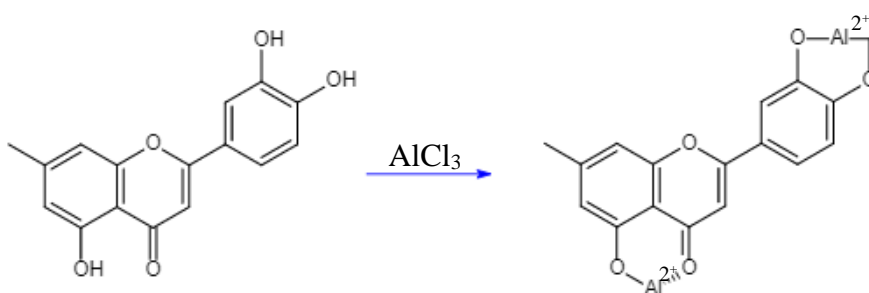


**Figura 4** - Estrutura simples dos flavonoides.

Fonte: A autora (2022).

Os flavonoides são responsáveis pela coloração que conferem às sementes, flores, frutos, folhas e cascas. Esses compostos apresentam benefícios a saúde, que podem combater doenças, nas quais, apresenta atividades anticancerígenas, atividades antivirais e antiinflamatórias, também possuem propriedades redutoras (Ekalu; Habila, 2020; Egert; Rimbach, 2011).

Uma das técnicas muito utilizadas para a determinação de flavonoides totais é por espectrometria no UV-Visível e o uso do cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) é típico para a quantificação destes compostos.



**Figura 5** - Formação do complexo flavonoide- $\text{Al}^{3+}$ .

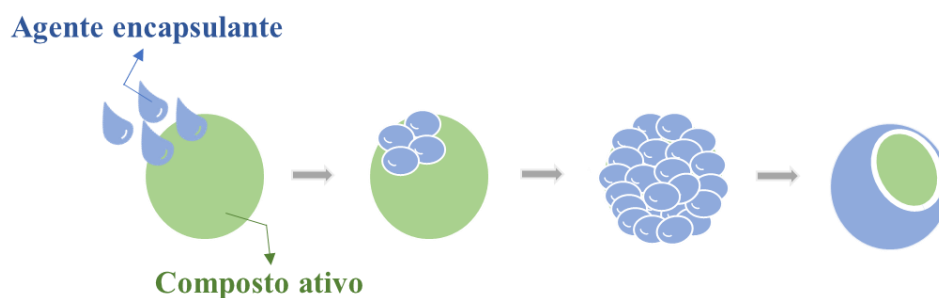
Fonte: Adaptada de Marques et. al. 2012.

O cátion alumínio forma complexos estáveis com as hidroxilas livres dos flavonoides em soluções de metanol ou etanol pertencente ao extrato/amostra, ocasionando um deslocamento da absorção no comprimento de onda, assim como

demonstrado na reação da Figura 5. E conforme a reação para a complexação ocorre, há mudança de coloração de amarelo fraco para amarelo forte (Marques et. al. 2012).

### 3.3 Microencapsulação

A microencapsulação é definida como um processo de revestir as pequenas partículas do composto/agente ativo com o auxílio de materiais de parede ou agente encapsulante. Este faz o papel de microencapsular o composto ativo desejado, como demonstrado na Figura 6, onde o composto ativo (verde) é revestido pelos polímeros (azul) (Viveka et. al. 2022; Nedovic et. al. 2011). Grande parte das microcápsulas são pequenas esferas, que possui um tamanho variando de 1  $\mu\text{m}$  - 700  $\mu\text{m}$ , há possibilidades de visualiza-las utilizando um microscópio ótico ou microscópio eletrônico de varredura (Sailaja; Jyothika, 2015). Vale ressaltar que a substância que está encapsulando possui outros nomes, tais como, material de revestimento, membrana, cápsula, fase externa, matriz ou polímeros.



**Figura 6** - Esquema representando a microencapsulação de compostos bioativos.

Fonte: A autora (2022).

Existem várias razões pelas quais o processo de encapsulamento é usado na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Esta técnica é uma ferramenta útil para melhorar a entrega de moléculas bioativas, tais como, antioxidantes, minerais, vitaminas, ácidos graxos e licopeno aos alimentos ou em fármacos (Nedovic et. al. 2011). Sendo possível melhorar a exposição direta desses compostos bioativos a alta temperatura, oxigênio, luz e umidade (Muhoza et. al. 2022).

Um dos grandes motivos para a microencapsulação é sua capacidade de liberação controlada, esta técnica tem sido amplamente usada para disfarçar os sabores e odores de muitos medicamentos, também melhora a estabilidade durante o processamento e do

produto final, aumentando a biodisponibilidade e a funcionalidade (Bansode et. al. 2010). A liberação controlada deve ocorrer em condições específicas para a liberação da substância encapsulada, como mudança de pH, estresse mecânico, temperatura, atividade enzimática, tempo, força osmótica e entre outros (Vaniski; Drunkler, 2017).

É importante escolher a técnica correta de microencapsulação e materiais de revestimentos. Há diversas técnicas para microencapsulação, como, resfriamento por pulverização, revestimento em leito fluidizado, aprisionamento de lipossomas, extrusão, liofilização e coacervação complexa. E também variadas fontes que provem os materiais de revestimentos ou agentes encapsulantes, os mais comuns encontrados são: carboidratos, lipídios, gomas e proteínas (Choudhury et. al. 2021).

A morfologia da estrutura interna de uma microcápsula depende em grande parte dos materiais de revestimento selecionados e das técnicas de microencapsulação usados (Casanova; santos, 2015). É necessário a escolha correta de um sistema de encapsulamento e também de materiais de parede, pois deve ser eficaz e fácil de incorporar em produtos alimentares ou cosméticos sem comprometer ou danificar a textura.

### **3.4 Coacervação complexa**

Entre as diversas técnicas de microencapsulação, a coacervação complexa apresenta vantagens, como, variedade de biopolímeros para serem utilizados como possíveis materiais de parede e alta eficiência de microencapsulação. A utilização desta técnica usando proteínas e polissacarídeos como materiais de parede tem apresentado bons resultados na estabilidade térmica e uma estrutura complexa que permite a liberação sustentada de materiais do núcleo e liberação controlada de materiais do núcleo em alta temperatura. Também é muito empregada pela sua simplicidade, baixo custo e síntese em temperatura ambiente (Silva et al., 2015; Jyothi et al., 2010; Muhoza et al. 2022).

A coacervação é um processo que ocorre a separação de duas fases líquidas em sistemas coloidais, dando origem a duas fases líquidas imiscíveis: uma fase rica em colóides, esta é o coacervado, que está em equilíbrio com a fase pobre em colóides simultaneamente (Zhou et al. 2020; Kruif et al. 2004).

Os coacervados são gerados usando dois polieletrólitos de cargas opostas, comumente usados polímeros, em fase aquosa, esta etapa pode ser controlada alterando

um conjunto de parâmetros de processamento, incluindo os tipos de materiais de núcleo e casca (peso molecular e densidade de carga) e relação núcleo/casca, ajustes de condições ambientais apropriadas incluindo pH, temperatura, proporção do polímero e força iônica. Durante o processo de encapsulamento pelo método de coacervação complexa, o polímero coacervado é depositado em torno do ingrediente ativo (núcleo) ocorrendo a separação de fases e levando a sedimentação do núcleo encapsulado. Em suma, para a formação das microcápsulas utiliza-se polímeros não tóxicos e com cargas opostas, como a utilização de proteínas e polissacarídeos, que podem formar uma “casca” envolvendo o material do núcleo. Geralmente as proteínas utilizadas são de origem animal, como gelatina, proteínas de soro de leite e albumina de ovo (Muhoza et al. 2022; Wang et al. 2018; Timilsena et al. 2018).

A coacervação complexa é um sistema trifásico envolvendo o agente encapsulante, solvente e material ativo. Este processo envolve algumas etapas, a primeira é a preparação de uma solução aquosa de dois polímeros, a solução é geralmente preparada acima da temperatura de gelificação do polímero, quando uma proteína a um pH abaixo do seu ponto isoelétrico, carregando uma carga positiva, é misturada com um poliânion (carga negativa) é formado um coacervado; a segunda etapa é misturar, com o auxílio de um agitador, a fase que contenha o material ativo à solução aquosa dos polímeros, com a homogeneização produz-se uma emulsão estável; a terceira etapa é a mudança de pH e temperatura a um determinado nível necessário para induzir coacervação e separação de fases; considera-se a última etapa, o endurecimento das matrizes poliméricas usando mudança de temperatura ou até mesmo agente de dessolvatação, conhecido como reticulador (Timilsena et al. 2018; Silva et al. 2015).

O ajuste de pH é uma condição importante para a coacervação, pois em polímeros com grupos de ácidos ou bases fracas, tais como carboxilatos e aminas, as alterações no pH podem afetar o grau de ionização e influenciar ainda mais as interações eletrostáticas (Zhou et al. 2020).

A utilização desta técnica, tem crescido na área de biomedicina e biotecnológica. Como exemplo, a microencapsulação de sabores e compostos termicamente sensíveis, foram encapsulados usando a técnica de coacervação complexa, na qual, vem sendo utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica e cosméticos (Muhoza et al. 2022; Timilsena et al. 2018).

### 3.5 Agentes encapsulantes

Além do método de encapsulamento, os materiais de revestimento é um dos principais fatores que afetam a qualidade das microcápsulas e suas propriedades físico-químicas. Os materiais de revestimento apresentam características que estão relacionadas com a estabilidade, biodisponibilidade e liberação controlada dos compostos bioativos presentes nas microcápsulas atomizadas, também influenciam nas propriedades da emulsão, como tamanho, viscosidade, estabilidade e características do pó (Zabot et al. 2022; Li et al. 2018).

Entre os tipos de materiais de revestimentos, os mais utilizados para produtos alimentícios e que não apresentam toxicidade, estão dispostos na Tabela 3 abaixo.

**Tabela 3** - Materiais de revestimentos usados para microencapsulação.

Fonte de agentes encapsulantes	Exemplos
Carboidratos	Amido, maltodextrina, amido modificado, ciclodextrina, celulose.
Lipídios	Cera, parafina, cera de abelha, diacilgliceróis.
Gomas	Goma arábica, goma xantana, ágar, carragenina.
Proteínas	Glúten, caseína, gelatina.

Fonte: Choudhury et. al. 2021.

Há diversas pesquisas que exploram e produzem coacervados com diferentes polímeros ou biopolímeros, variando algumas características como a densidade de carga, o peso molecular que governam a atração eletrostática e a coacervação complexa de proteínas e polissacarídeos (Muhoza et al. 2022).

Uma destas proteínas, conhecida e muito utilizada, é a gelatina. Seu custo de produção é baixo comparado as outras, é produzida pela hidrólise parcial do colágeno derivado da pele, tecido e ossos de animais. Há dois tipos de gelatina que vem sendo comercializada, a gelatina tipo A ocorre um pré-tratamento ácido, está tem um ponto isoelétrico  $pI \approx 9$ , enquanto o pré-tratamento alcalino produz gelatina tipo B, tendo um ponto isoelétrico de 4.5-5.0. A gelatina é muito solúvel e apresenta uma solução límpida em água a temperatura de no mínimo 40 °C, porém em temperatura inferior ou igual a ambiente, a solução fica semelhante à de um gel (Croguennec et al. 2017).

O processo de coacervação entre gelatinas (tipo A e B), que apresentam cargas catiônicas, e polissacarídeos com cargas aniônicas, se origina principalmente da atração eletrostática entre cargas positivas de proteínas, provenientes de grupos amino protonados e das cargas negativas dos polissacarídeos ( $\text{COO}^-$ ). Essas cargas opostas provenientes da proteína e do polissacarídeo, ocorrendo a neutralização, e assim surge a coacervação complexa (Timilsena et al.2019; Muhoza et al. 2022).

Alguns exemplos de polissacarídeos utilizados como materiais de revestimento são as gomas, pectinas, celulose, quitosana e alginato, estes também são utilizados para melhorar a qualidade dos alimentos durante o armazenamento.

A pectina, é um heteropolissacarídeo natural, que se destaca por ser um ingrediente ativo de segurança alimentar e apresenta diversos benefícios, como, estabilizador de emulsão e agente de capacidade de ligação, possuindo diversas propriedades, tais como, ação anti-inflamatória, propriedades não tóxicas, biodegradabilidade e de biocompatibilidade (Zabot et al. 2022;).

As gomas também são utilizadas como materiais de revestimentos, na qual, possuem diversos benefícios como estabilizador, emulsificante hidrocoloide e propriedades de biocompatibilidade. As gomas são carboidratos derivadas de fontes como micro-organismos, plantas e até mesmo algas, estas são solúveis em água e podem formar géis e soluções estáveis (Chacon et al. 2022; Horst et. al. 2016)

Os revestimentos de biopolímeros são uma solução ambientalmente sustentável para prolongar a vida útil de produtos alimentícios, cosméticos, entre outros. Devido à sua capacidade de melhorar as propriedades físico-químicas dos cosméticos, esses biopolímeros naturais são usados com sucesso como modificadores de reologia, aglutinantes solúveis, espessantes, formadores de filme, condicionadores ou textura e hidratantes. Além disso, os polímeros naturais são frequentemente usados como materiais de revestimento para fornecer liberação controlada como componente na indústria alimentícia, mas em aplicações cosméticas, esses polímeros podem atuar como compostos ativos ou proteger os ingredientes ativos da autodegradação/oxidação química (Chacon et. al 2022; Fierascu, Chican et al. 2021).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Material

A amostra de própolis marrom bruta foi gentilmente cedida pelo Entrepasto Colmeia Real Ltda no município de Prudentópolis-Paraná, no ano de 2021. Utilizou-se o extrato de própolis como material ativo e a pectina cítrica (Êxodo Científica), goma arábica (Êxodo Científica), goma xantana (Êxodo Científica) e gelatina tipo A (Gelnex) como polímeros.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Obtenção do extrato de própolis marrom

O extrato de própolis foi preparado utilizando banho ultrassônico e maceração. Adicionou-se 50 g de própolis marrom em 150 mL de etanol 80% ( $v v^{-1}$ ) sob extração no ultrassom por 30 minutos seguida de 48h em maceração. Após, foi filtrado para a remoção de partes sólidas. O filtrado permaneceu no *freezer* por no mínimo 12 horas, passando por nova filtração a vácuo para a remoção de ceras. Usou-se o rotoevaporador (Fisatom) para obter o extrato seco da própolis marrom, como ilustrado na Figura 7.



**Figura 7** - Esquema de extração da própolis marrom.

Fonte: A autora (2022).



#### 4.2.2 Caracterização do extrato de própolis marrom

A determinação total de fenólicos, quantificação de flavonoides e atividade antiradicalar *in vitro* do extrato de própolis marrom foi utilizada a metodologia descrita no subitem 4.2.8, 4.2.9 e 4.2.10. Para estes testes realizou-se a ressuspensão do extrato seco de própolis marrom em etanol 95%, resultando em uma solução de concentração 8 mg mL<sup>-1</sup> e diluída 1:25.

#### 4.2.3 Perda por dessecação

A perda por dessecação da própolis marrom foi descrita por Barreto et. al. (2020). Aproximadamente 3 gramas de amostra de própolis marrom foram acondicionados em um cadinho de porcelana previamente aquecido em estufa a 105 °C, por 2 horas, em seguida resfriado em dessecador e pesado. Após isto, foi aquecido o conjunto em estufa por 2 horas, a 105 °C, e resfriado em dessecador e pesado. Esta análise foi realizada em triplicata e a perda por dessecação a 105 °C foi calculada pela Equação 1, referente a razão entre a massa do material volatilizado e a massa inicial de própolis, em porcentagem (BARRETO et al., 2020).

$$\text{Perda por dessecação (\%)} = [(P_2 - P_1) / w] \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

P<sub>1</sub> = peso do cadinho tarado a 105 °C.

P<sub>2</sub> = peso do cadinho + amostra seca a 105 °C.

W = peso da amostra.

#### 4.2.4 Percentual de ceras

O percentual de ceras do extrato de própolis foi utilizado a metodologia de Barreto et. al. (2020). Em triplicata, o extrato de própolis foi resfriado por 24h em refrigeração, em seguida filtrado (com filtro previamente seco e pesado) sob vácuo. Realizou-se a lavagem da cera depositada no filtro com porções de etanol até sua clarificação. O volume do extrato livre de cera foi medido e acondicionado em um recipiente vedado. Levou-se o conjunto filtro/cera para a capela de exaustão por 1h para eliminação do solvente utilizado. Em seguida transferiu-se o conjunto para estufa, e foi resfriado em dessecador e pesado, repetindo este processo com intervalos de 1h até atingir massa constante. Realizou-se o cálculo para determinar o percentual de ceras presente na amostra de acordo com a Equação 2.

$$\text{Teor de Ceras (\%)} = [(Pp_2 - Pp_1) / W] \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Em que:

$Pp_1$  = peso do papel tarado a 105 °C

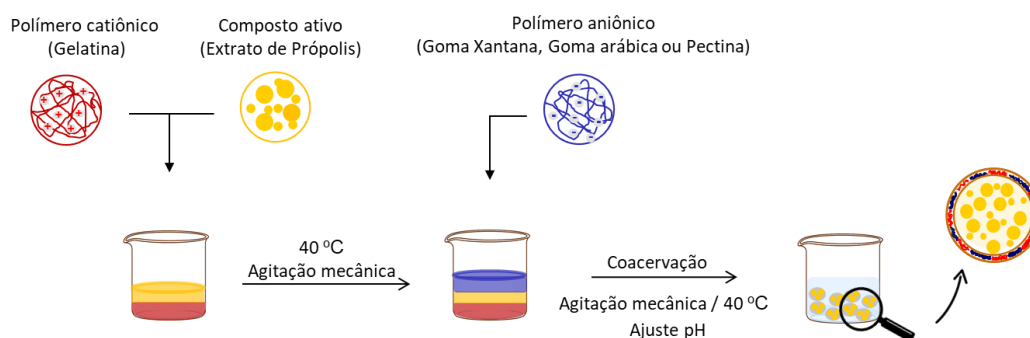
$Pp_2$  = peso do papel + cera seca a 105 °C

W = peso da amostra de própolis

#### 4.2.5 Microencapsulação por coacervação complexa

As soluções dos materiais de revestimento foram preparadas sob aquecimento e agitação: realizou-se a solução de gelatina utilizando água deionizada a 40 °C em agitação por 20 minutos; a solubilização da solução aquosa de pectina ocorreu em aquecimento de 45 °C; a solução aquosa de goma xantana foi mantida sob agitação constante a temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente a solução foi submetida por 20 minutos a temperatura de 50 °C em agitação; e por último, a goma arábica foi dispersa em água deionizada sob agitação magnética por 24 horas em temperatura ambiente.

Então, foi realizada a microencapsulação do extrato de própolis pela metodologia descrita e adaptada por Nori (2011). A solução de gelatina (2,5 e 5g 100 mL<sup>-1</sup>) foi preparada sob aquecimento e agitação mecânica (Fisatom 711), ao atingir 40 °C ajustou-se o pH para 8,0 com solução NaOH (0,1 mol L<sup>-1</sup>). Em seguida o extrato de própolis (3 g 100 mL<sup>-1</sup>) foi adicionado e homogeneizado com agitação a 2000 rpm por 2 minutos, então adicionou-se a solução aquosa de pectina, goma arábica ou goma xantana (2,5 e 5 g. 100 mL<sup>-1</sup>) e ajustou-se o pH para 4,0 com solução de HCl (1 mol L<sup>-1</sup>). Durante todo o processo a temperatura foi controlada e mantida a 40 °C e o meio reacional foi homogeneizado com agitação a 2000 rpm por 2 minutos, conforme esquematizado na Figura 8. O sistema foi acondicionado em um refrigerador a -18 °C e secado em liofilizador (localizado na UTFPR, Pato Branco-PR).



**Figura 8** - Esquema da técnica de microencapsulação: coacervação complexa.

Fonte: A autora (2022).

As formulações testadas estão disponíveis na tabela abaixo. A escolha das siglas teve como finalidade facilitar a identificação das microcápsulas coacervadas. A sigla contém a letra inicial do agente encapsulante (pectina, goma arábica, goma xantana e gelatina) seguida da sua concentração (2,5 e 5,0 g 100mL<sup>-1</sup>).

**Tabela 4** - Descrição das amostras realizadas por coacervação complexa.

<i>Siglas</i>	<i>Agente encapsulante - Concentração (g 100mL<sup>-1</sup>)</i>
<b>P5.0-G5.0</b>	Pectina - 5,0 / Gelatina - 5,0
<b>P5.0-G2.5</b>	Pectina - 5,0 / Gelatina - 2,5
<b>P2.5-G5.0</b>	Pectina - 2,5 / Gelatina - 5,0
<b>P2.5-G2.5</b>	Pectina - 2,5/Gelatina - 2,5
<b>GA5.0-G5.0</b>	Goma Arábica - 5,0 / Gelatina - 5,0
<b>GA5.0-G2.5</b>	Goma Arábica - 5,0 / Gelatina - 2,5
<b>GA2.5-G5.0</b>	Goma Arábica - 2,5 / Gelatina - 5,0
<b>GA2.5-G2.5</b>	Goma Arábica - 2,5 / Gelatina - 2,5
<b>GX2.5-G2.5</b>	Goma Xantana - 2,5 / Gelatina- 2,5
<b>GX2.5-G5.0</b>	Goma Xantana - 2,5 / Gelatina - 5,0

#### 4.2.6 Ruptura e eficiência das microcápsulas

Para extrair os compostos fenólicos nas superfícies e no interior das microcápsulas, utilizou-se a seguinte metodologia proposta por Nori et al. (2011). Primeiramente, 0,2 g da própolis microencapsulada foi dissolvida em 2,0 mL de etanol. A mistura foi agitada em Vortex Mixer (KASVI K45-2810) e centrifugada a 4000xg durante 2 minutos. Coletou-se 0,5 mL do sobrenadante para a quantificação dos compostos fenólicos na superfície das microcápsulas em espectrofotômetro a 765nm.

Os compostos fenólicos, atividade antiradicalar e flavonoides no interior das microcápsulas foram quantificados após a ruptura. Adicionou-se 0,2 g de microcápsulas de extrato de própolis em 2 mL de citrato de sódio 10%, em seguida foi ajustado o pH para 8.0 com NaOH (0,1 mol L<sup>-1</sup>) sob agitação por 2 minutos. Após, adicionou-se 5 mL de etanol (99,5%) sob agitação por 2 minutos em Vortex e centrifugação por 20 minutos. O sobrenadante foi coletado para a quantificação dos compostos fenólicos, flavonoides e antiradicalares.

A eficiência de encapsulação consiste na relação da quantidade de compostos fenólicos contidos no interior das cápsulas e compostos fenólicos presentes na superfície da microcápsula, conforme a Equação 3.

$$EE \% = [(W_1 - W_2) / W_1] \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde  $W_1$  é referente aos compostos fenólicos ( $\text{mgEAG.g}^{-1}$  de microcápsula) depois da ruptura e  $W_2$  compostos fenólicos antes da ruptura.

#### **4.2.7 Caracterização das microcápsulas**

#### **4.2.8 Determinação do teor total dos compostos fenólicos**

O teor total de compostos fenólicos determinou-se pelo método adaptado de Funari e Ferro (2006). Alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  referente as microcápsulas e 450  $\mu\text{L}$  de etanol 60% ( $\text{v v}^{-1}$ ), com adição 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5% ( $\text{m v}^{-1}$ ). Para o extrato de própolis adicionou 500  $\mu\text{L}$  na concentração citada no item 4.2.2, com adição 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5% ( $\text{m v}^{-1}$ ). Esta análise foi realizada em triplicata. Após 2 horas em repouso o equipamento espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800, Brasil) foi utilizado no comprimento de onda de 760 nm. Utilizou-se o ácido gálico ( $1$  a  $6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) como padrão.

#### **4.2.9 Quantificação de flavonoides**

A determinação quantitativa de flavonoides foi realizada conforme a metodologia adaptada por Silva et al. (2016). Alíquotas, em triplicata, de 200  $\mu\text{L}$  da amostra referente as microcápsulas com 1800  $\mu\text{L}$  de etanol 60% ( $\text{v v}^{-1}$ ), em seguida acrescentou 2000  $\mu\text{L}$  de solução etanólica de cloreto de alumínio 2,5% ( $\text{m.v}^{-1}$ ). Para a determinação de flavonoides da própolis marrom adicionou 2000  $\mu\text{L}$  do extrato (concentração citada no item 4.2.2) e acrescentou 2000  $\mu\text{L}$  de solução etanólica de cloreto de alumínio 2,5% ( $\text{m v}^{-1}$ ). Após 30 minutos de repouso, realizou-se as medidas no espectrofotômetro a 420 nm (Shimadzu UV-1800, Brasil). A curva padrão de quercetina ( $4$  a  $14 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi usada para a determinação de flavonoides totais.

#### **4.2.10 Atividade antiradicalar in vitro**

A ação antiradicalar do extrato foi avaliada usando a metodologia do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina), conforme a versão adaptada de Brand-Williams et al. (1995). Utilizou-se a metodologia de superfície de resposta, para a otimização da quantidade utilizada para identificar a atividade antiradicalar *in vitro*, com o auxílio de softwares. Primeiramente, foi realizado um planejamento fatorial  $2^2$  com ponto central, para otimização dos volumes da solução do extrato de própolis marrom e da solução de DPPH (Tabela 5), tendo em vista, obter as melhores condições para a quantificação do percentual de inibição do extrato e das microcápsulas.

**Tabela 5** - Parâmetros e níveis estabelecidos no planejamento 2<sup>2</sup>.

<b>Parâmetros</b>	<b>Nível Inferior (-1)</b>	<b>Nível Superior (+1)</b>	<b>Ponto Central</b>
Volume Extrato (µL)	100,0	200,0	150,0
Volume de DPPH (µL)	1500	2500	2000

Preparou-se a solução de DPPH,  $6.10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, esta foi mantida na ausência de luz. Foram realizados 13 ensaios com volumes definidos para o extrato e solução DPPH, obtido pelo planejamento fatorial (Tabela 6) e ajustou-se o volume com etanol para completar 3 mL.

**Tabela 6** - Ensaios do planejamento fatorial 2<sup>2</sup>.

<b>Ensaios</b>	<b>Extrato (µL)</b>	<b>DPPH (µL)</b>
1	100,0	1500
2	200,0	1500
3	100,0	2500
4	200,0	2500
5	80,00	2000
6	220,0	2000
7	150,0	1300
8	150,0	2700
9	150,0	2000
10	150,0	2000
11	150,0	2000
12	150,0	2000
13	150,0	2000

O controle de cada ensaio, foi preparado com o volume da solução de DPPH, substituindo o volume do extrato por água, estes estão descritos no planejamento (Tabela 6), e completando com etanol até o volume de 3mL. As soluções ficaram em repouso por 30 minutos, em ausência de luz. Realizou-se as medidas no espectrofotômetro a 517 nm.

Em seguida, foi realizado a curva cinética do tempo ideal, utilizando o extrato de própolis e a solução de DPPH ( $6.10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) com os valores definidos como bons pela superfície de resposta no planejamento 2<sup>2</sup>, onde a absorbância da solução durante um

período de 50 minutos, foi monitorada a cada 5 minutos, no comprimento de onda de 517 nm.

Então, para a obtenção da atividade antiradicalar utilizou-se 150 µL da amostra com adição de 2000 µL da solução etanólica de DPPH e 850 µL de solução hidroalcoólica 80% (v/v). Após 20 minutos de incubação, a redução do radical livre DPPH foi mensurada pela leitura da absorbância em 517 nm. A quercetina e ácido ascórbico foram usadas como padrão e suas curvas analíticas foram construídas na concentração de 1 a 50 µg mL<sup>-1</sup>. O percentual de inibição do radical DPPH foi calculado em termos da porcentagem de atividade antiradicalar, conforme descrito na Equação 4.

$$AA \% = [(Abs_{controle} - Abs_{amostra}) / Abs_{controle}] \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde,  $Abs_{controle}$  é a absorbância do controle e  $Abs_{amostra}$  é referente a absorbância da amostra.

#### **4.2.11 Morfologia das microcápsulas**

A morfologia das microcápsulas foi observada por microscopia eletrônica de varredura (TM3030Plus, Campus Cedeteg, Guarapuava-PR) para obtenção das imagens.

#### **4.2.12 Análise Estatística**

A análise de variância e o teste de comparação de médias de *Tukey* foram realizados usando *softwares* para avaliar as diferenças entre as amostras quanto à concentração (2,5 e 5,0 g 100mL<sup>-1</sup>) e agente encapsulante (gelatina, pectina, goma arábica e goma xantana).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização do extrato de própolis marrom

O processo de extração da própolis marrom, na qual partiu da utilização da própolis bruta com a solução etanólica 80% (v v<sup>-1</sup>), descrita na metodologia no subitem 4.2.1, na qual obteve o extrato etanólico da própolis marrom e com o auxílio do rotaevaporador o extrato seco livre de solvente.

A partir do extrato etanólico da própolis marrom obteve um rendimento de 7,7 gramas de extrato seco da própolis marrom (rendimento em porcentagem de 15,261 ± 0,228 %, m v<sup>-1</sup>). O resultado está de acordo com os critérios estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o extrato seco de própolis (Tabela 1), sendo o mínimo de 11% (m v<sup>-1</sup>).

### 5.2 Perda por dessecação e percentual de ceras

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados obtidos referente a perda por dessecação e percentual de ceras. Para garantir o controle de qualidade da própolis e sua comercialização no mercado interno e externo, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou a legislação sobre as características e padrões de qualidade da própolis produzida no país. E segundo o MAPA o teor de perda por dessecação, ou umidade, deve apresentar no máximo 8% (m m<sup>-1</sup>).

**Tabela 7** - Caracterizações físico-químicas da própolis marrom: perda por dessecação e percentual de ceras.

Amostra	Perda por Dessecação (%)	Percentual de Ceras (%)
Própolis marrom	7,20 ± 0,42	1,49 ± 0,13

Média em triplicata ± desvio padrão.

O valor obtido da perda por dessecação da própolis marrom foi 7,20%, comparado com Franco et al. (2000) a umidade das amostras de própolis variou entre 4,4 a 13%, coletadas no estado do Paraná. Funari e Ferro (2006) apresentou 10,98% de perda por dessecação de amostras de própolis provenientes de São Paulo, o autor explica que o valor obtido excedeu por tratar-se de uma amostra altamente aromática, como foi comprovado no exame organoléptico. O valor da perda por dessecação se encontrou abaixo dos valores encontrados na literatura, entretanto o resultado obtido se encontrou dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Cunha et al. (2004), explica essa diferença de resultados obtidos referente a perda por dessecação de amostras de própolis, estes são afetados pelas condições de armazenamento, manipulação da amostra e clima da região.

Em relação ao percentual de ceras, o resultado obtido foi 1,49% referente a amostra de própolis marrom, este parâmetro se encontrou dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento que estipula máximo de 25% ( $\text{m m}^{-1}$ ). Funari e Ferro (2006) encontrou 2,25 % para o teor de ceras, segundo este autor os compostos bioativos, em especial os fenólicos não se encontram presentes na cera, logo, quanto menor o teor de cera na amostra, sinaliza-se maior teor de resinas (onde há maior prevalência de compostos bioativos). Enquanto Woisky e Salatino (1998) apresentaram resultado de 6,79% para o teor de ceras proveniente de amostras coletadas em Santa Catarina.

Os resultados apresentados neste trabalho, referente ao teor de ceras e perda por dessecação, estão de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que garante o controle de qualidade da própolis e sua comercialização.

### 5.3 Determinação de teor total dos compostos fenólicos e flavonoides da própolis marrom

O teor de compostos fenólicos presente no extrato de própolis marrom apresentou valor de 28,6 mg EAG.g<sup>-1</sup> (Tabela 8) resultado baixo comparado com Olegário et al. (2019) que obteve 45,84 mg EAG.g<sup>-1</sup> para o extrato de própolis marrom proveniente do Paraná. E também de acordo com Peter et al. (2019) que apresentou 34,39 mg EAG.g<sup>-1</sup> para o extrato de própolis marrom adquirido na região sul brasileira.

**Tabela 8** - Resultados das análises de fenóis, flavonoides totais e atividade antiradicalar.

Amostra	Compostos fenólicos (mgEAG.g <sup>-1</sup> )	Flavonoides (mgEQ.g <sup>-1</sup> )	atividade antiradicalar (% de Inibição)
Própolis marrom	28,6 ± 0,47	3,86 ± 0,07	51,8 ± 0,62

Média em triplicata ± desvio padrão.

A quantificação de flavonoides no extrato de própolis marrom foi 3,86 mgEQ.g<sup>-1</sup> valor menor quando correlacionado com Olegário et al. (2019) que encontrou 25,43 mgEQ.g<sup>-1</sup> da quantidade de teor de flavonoides presentes no extrato de própolis marrom. E com Peter et al. (2019) que expressou 13,46 mgEQ.g<sup>-1</sup>.



Os teores de compostos fenólicos e flavonoides estão de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira para avaliação da qualidade da própolis, que se encontra na Tabela 1.

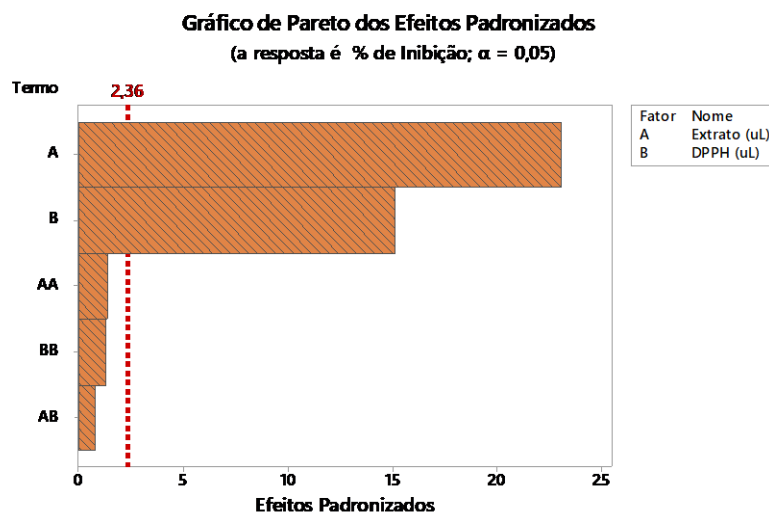
É importante ressaltar que a diferença dos resultados citados e obtidos neste trabalho referente aos teores fenólicos totais e flavonoides das amostras de extrato de própolis dependem da origem, região geográfica, vegetação e colônia.

#### **5.4 Atividade antiradicalar otimizada pela metodologia de superfície de resposta**

A otimização é empregada em química analítica com o objetivo de se avaliar as condições utilizadas na técnica a fim de se obter melhores respostas. A mesma pode ser realizada através de técnicas multivariadas, destacando-se a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). A MSR é uma técnica utilizada para melhorar e otimizar processos, em especial, a atividade antiradicalar (Karacabey & Mazza, 2010; Prasad et al., 2011).

Neste trabalho, utilizou-se a superfície de resposta para otimizar a quantidade em volume de extrato e da solução etanólica de DPPH com a finalidade de obter melhores resultados com menor número de ensaios e consequente economia de reagentes e tempo.

O gráfico de Pareto é uma ferramenta eficiente e complementar, consiste em um gráfico de barras que possibilita a identificação visual dos efeitos, destacando importantes resultados. É uma técnica multivariada que possibilita analisar a sensibilidade dos parâmetros estudados sobre a resposta de interesse. E indica se os parâmetros e interações têm influências significativas sobre a variável resposta, traçando uma linha de referência para indicar quais efeitos são estatisticamente significativos (Gomes Silva et al., 2019). A Figura 9 apresenta o gráfico de Pareto obtido considerando os parâmetros volume de extrato de própolis e volume de DPPH utilizados no ensaio da atividade antiradicalar.

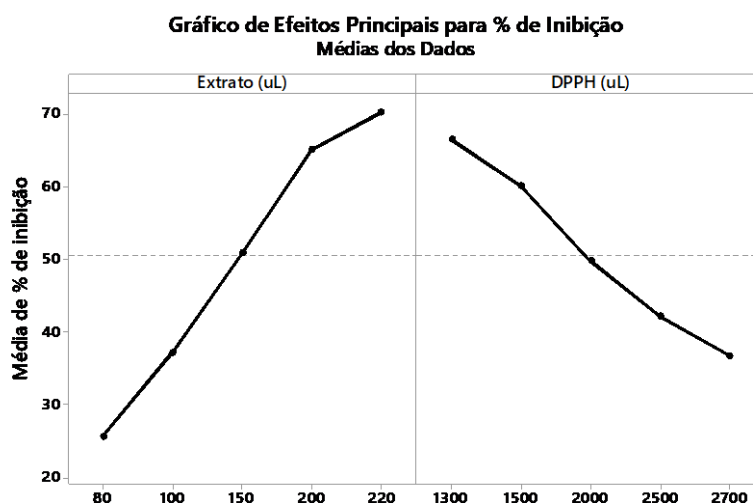


**Figura 9** - Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados de extrato de própolis marrom e solução etanólica de DPPH.

Fonte: A autora (2022).

O gráfico da Figura 9 mostra que os efeitos independentes, o volume de extrato e da solução de DPPH (A e B), exercem influência significativa no percentual de inibição. Diante disso, os resultados estão representados em superfícies de resposta para cada variável (Figura 12). Pelo gráfico de Pareto pode-se perceber que as interações entre os efeitos não apresentam influência significativa no ensaio, uma vez os valores encontrados para os efeitos combinados AA, BB e AB foram inferiores a 2,36.

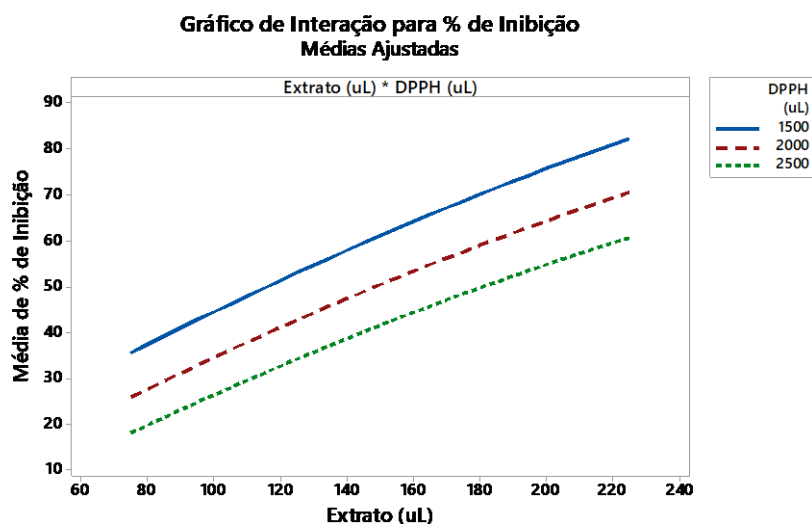
Na Figura 10 está presente o gráfico dos efeitos principais para o percentual de inibição.



**Figura 10** - Gráfico de efeitos principais para o percentual de inibição.

Fonte: A autora (2022).

Ao observar o gráfico dos efeitos principais da Figura 10, nota-se que o maior volume de extrato resulta na maior média de inibição, enquanto para o volume da solução de DPPH ocorre o inverso. Dados complementares são apresentados no gráfico de interação (Figura 11), em que as linhas paralelas se referem ao volume da solução de DPPH variando entre 1500 a 2500  $\mu\text{L}$ .



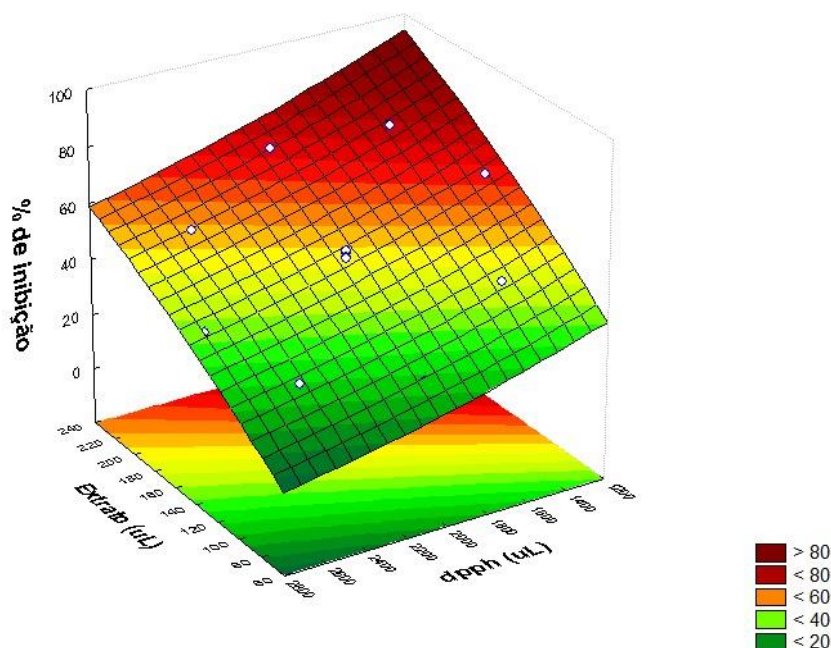
**Figura 11** - Gráfico de interação para o percentual de Inibição.

Fonte: A autora (2022).

Os resultados observados no gráfico de interação para o percentual de inibição (Figura 11) corroboram com o gráfico presente na Figura 10, uma vez que o menor volume de DPPH (1500  $\mu\text{L}$ ) apresentou maior percentual de inibição.

Inicialmente foi realizado um planejamento fatorial completo para avaliar as duas variáveis da atividade antiradicalar: a quantidade, em volume, de extrato e da solução etanólica de DPPH. Com os dados do planejamento e os resultados das Figuras 9 a 11 foi construído o gráfico de superfície de resposta (Figura 12) que possui uma grade tridimensional sendo útil para determinar os valores de resposta desejáveis.

A utilização deste modelo possibilitou a escolha do volume do extrato de própolis e da solução etanólica de DPPH sem a necessidade de realizar diluições. O resultado que se destaca na região amarela no centro do gráfico de superfície de resposta, 2000  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH e 150  $\mu\text{L}$  de extrato de própolis, obtiveram os melhores resultados frente a atividade antiradicalar das microcápsulas. A escolha deste resultado foi para evitar valores negativos ou extremamente baixos na absorvância das amostras.

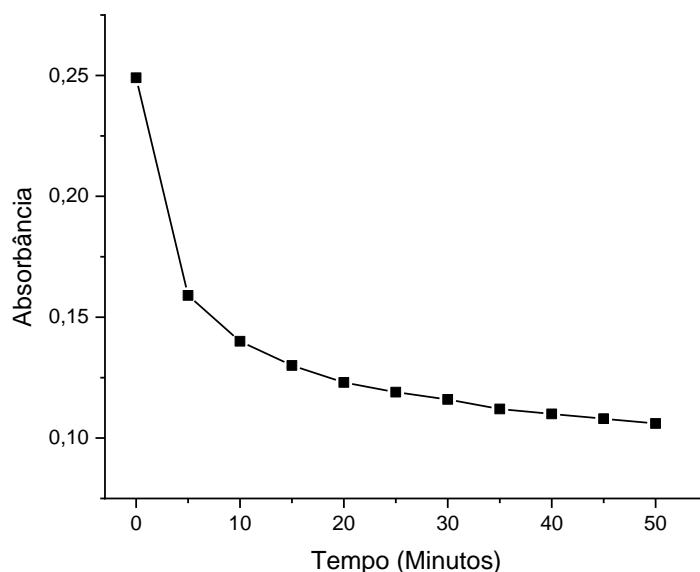


**Figura 12** - Superfície de resposta da atividade antioxidante em função quantidade de extrato de própolis marrom e da solução DPPH.

Fonte: A autora (2022).

O tempo de reação foi determinado por meio da curva cinética de reação entre o DPPH e o extrato de própolis marrom (Figura 13), sendo possível verificar a mudança da absorbância em função do tempo de reação.

Observando o gráfico da curva cinética de reação, pode-se perceber que nos primeiros pontos ocorre um decaimento repentino da absorbância, que passa a diminuir com menor intensidade com o passar do tempo de reação, até que se atinge estabilização da reação, a partir do tempo de 20 minutos. Segundo Brand-Williams et al. (1995) a diferença da velocidade da reação cinética depende da natureza do antiradicalar. Há três tipos de comportamento cinético entre as amostras: Cinética rápida, a amostra reage rapidamente com o DPPH atingindo o fim da reação em 1 minuto; cinética intermediária, o final da reação atinge entre 5 a 30 minutos e cinética lenta quando a reação demora, no mínimo, 1 hora para finalizar.



**Figura 13** - Curva cinética do potencial antiradicalar do extrato etanólico da própolis marrom.

Fonte: A autora (2022).

A partir da determinação do tempo de reação de 20 minutos, foi realizado a atividade antiradicalar do extrato de própolis marrom que apresentou 51,8 % (Tabela 6) de inibição do radical DPPH, valor baixo comparado com Alexandre et al. (2014), que obteve inibição de 70 % para o extrato de própolis do Paraná. E Andrade et al. (2017) relatou em seu trabalho um percentual de inibição, em relação ao ensaio DPPH, de 86,06% referente a própolis marrom brasileira. Enquanto Wozniak e colaboradores (2020) obtiveram percentual de inibição do DPPH de 30 % para o extrato de própolis.

A disparidade dos resultados citados e obtidos neste trabalho é esperada, uma vez que a composição química da própolis varia de acordo com a sua origem, região geográfica, vegetação, colônia e solvente utilizado no ensaio, variando consequentemente as propriedades biológicas.

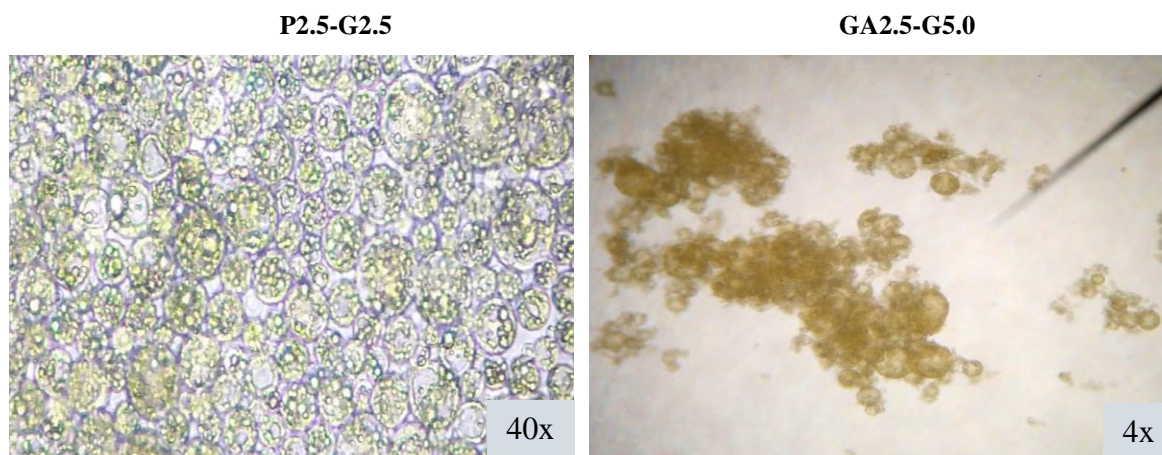
## 5.5 Microencapsulação do Extrato de Própolis Marrom

### 5.5.1 Microscopia ótica

As microcápsulas de própolis preparadas pela técnica de coacervação complexa, conforme descrito na metodologia no subitem 4.2.5, foram avaliadas morfológicamente a partir das análises de microscopia ótica com o intuito de verificar o aspecto e constatar a obtenção das microcápsulas. Foram realizadas 10 formulações do extrato de própolis microencapsulado com sucesso, variando a concentração e os polímeros, porém algumas

destas ao observar pela técnica de microscopia ótica não obtiveram boa resolução. Para maior compreensão, as siglas das formulações com as descrições estão na Tabela 4.

As Figuras 14 e 15 são fotomicrografias obtidas pela microscopia ótica das microcápsulas de extrato de própolis em diferentes formulações de agentes encapsulantes.



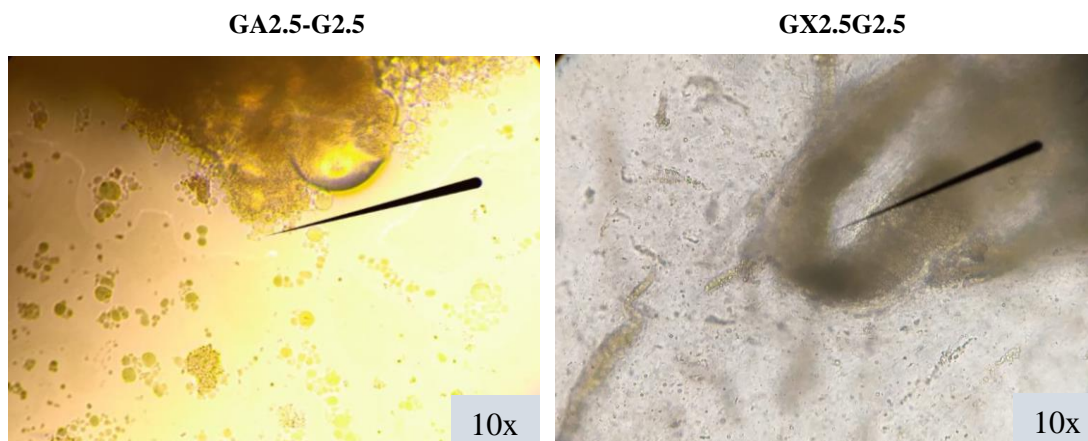
**Figura 14** - Fotomicrografias obtidas pela microscopia ótica das microcápsulas de pectina e gelatina ( $2,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) e goma arábica ( $2,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) e gelatina ( $5,0 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) contendo o extrato de própolis.

Fonte: A autora (2022).

Na Figura 14, é mostrada a fotomicrografia da formulação P2.5-G2.5, em que se utilizou os agentes encapsulantes: pectina e gelatina (ambas na concentração  $2,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ). Pela fotomicrografia, constatou-se o encapsulamento da própolis conforme descrita por Ray et al. (2016), a formação de uma barreira física com o auxílio do material de parede revestindo e protegendo o extrato de própolis no núcleo, com formatos esféricos e regulares. Na mesma figura, também está presente a fotomicrografia obtida da formulação GA2.5-G5.0, em que também observou a formação de microcápsulas, porém estão aglomeradas, vale ressaltar que este efeito pode estar correlacionado com a diferença no aumento da lente do microscópio.

Na Figura 15 são apresentadas as fotomicrografias para as microcápsulas obtidas com goma arábica e gelatina (GA2.5-G2.5) e goma xantana e gelatina (GX2.5-G2.5), sendo que a microcápsula obtida com os agentes encapsulantes goma arábica e gelatina apresentou formatos irregulares, e também, aglomerações, semelhante a microcápsula GA2.5-G5.0 (Figura 14). Já a microcápsula obtida com o agente encapsulante goma xantana (GX2.5-G2.5) exibiu aparência diferente das demais, provavelmente devido a

goma xantana expressar uma textura de gel viscoso, consequentemente, impedindo a obtenção de microcápsulas com formas regulares.



**Figura 15** - Fotomicrografias obtidas pela microscopia ótica das microcápsulas de goma arábica e gelatina ( $2,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ), goma xanta e gelatina ( $2,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) de extrato de própolis.

Fonte: A autora (2022).

De acordo com Kizilay et al. (2011) e a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) a coacervação é a separação de duas fases em um sistema coloidal, uma das fases rica em coloides (coacervado) e a outra pobre em coloides (sobrenadante). Na Figura 16 está presente todas as formulações das microcápsulas coacervadas.



**Figura 16** - Microcápsulas não liofilizadas do extrato de própolis marrom com variação da concentração de agente encapsulante.

Fonte: A autora (2022).



Na Figura 16A, B, C e D, estão representadas as microcápsulas produzidas com o agente encapsulante pectina e gelatina variando a concentração de 2,5 e 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>, P2.5-G2.5, P2.5-G5.0, P5.0-G2.5 e P5.0-G5.0, na qual, as microcápsulas obtiveram um aspecto pastoso uniforme. O coacervado produzido com a goma arábica e gelatina apresentou aspectos distintos quando produzidos em diferentes concentrações de agentes encapsulantes, sendo que a GA2.5-G2.5 e GA5.0-G5.0 (Figura 16E e H) apresentou textura gelatinosa rígida comparada ao coacervado GA2.5-G5.0 e GA5.0-G2.5 (Figura 16F e G) que exibiu aparência mais pastosa. As microcápsulas contendo a goma xantana e gelatina (Figura 16I e J) correspondentes as siglas GX2.5-G2.5 e GX2.5-G5.0, obteve o aspecto diferente das demais, pois o coacervado apresentou textura de gel viscoso, devido a solução de goma xantana.

Em seguida, algumas formulações das microcápsulas sofreram o processo de secagem por liofilização, conforme demonstrado na Figura 17.



**Figura 17** - Microcápsulas liofilizadas do extrato de própolis marrom.

Fonte: A autora (2022).

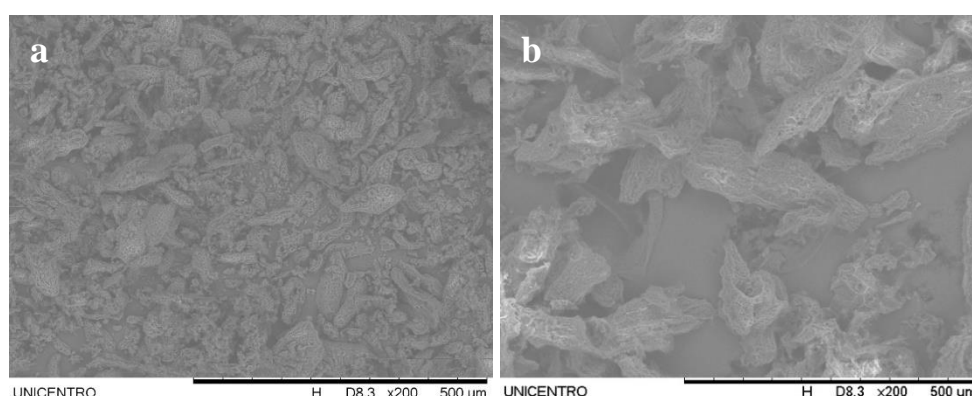


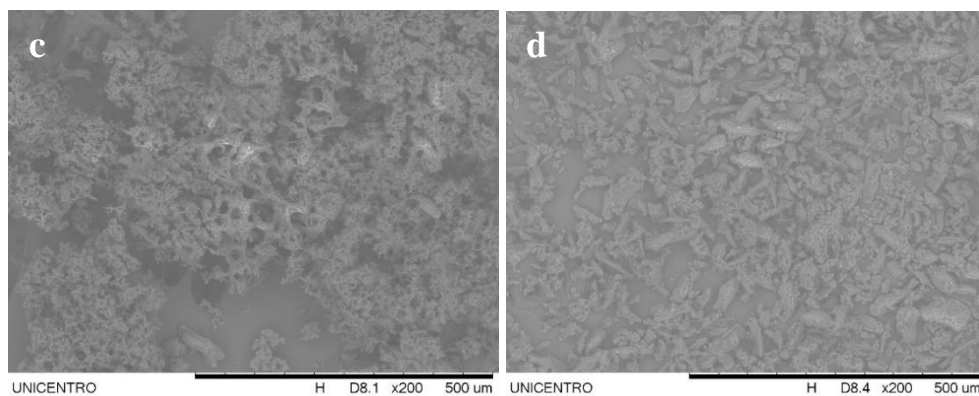
As microcápsulas que contém os agentes encapsulantes pectina e gelatina, em diferentes concentrações, apresentaram aspecto físico de um pó fino, solto e com coloração amarelo claro. Enquanto as microcápsulas dos agentes encapsulantes goma arábica e gelatina exibiram alguns grumos característicos dos coacervados, estas obtiveram coloração marrom claro. E por fim, as microcápsulas utilizando goma xantana e gelatina em duas concentrações diferentes apresentou aspecto de fibras alongadas com coloração amarelada.

### 5.5.2 Microscopia eletrônica de varredura

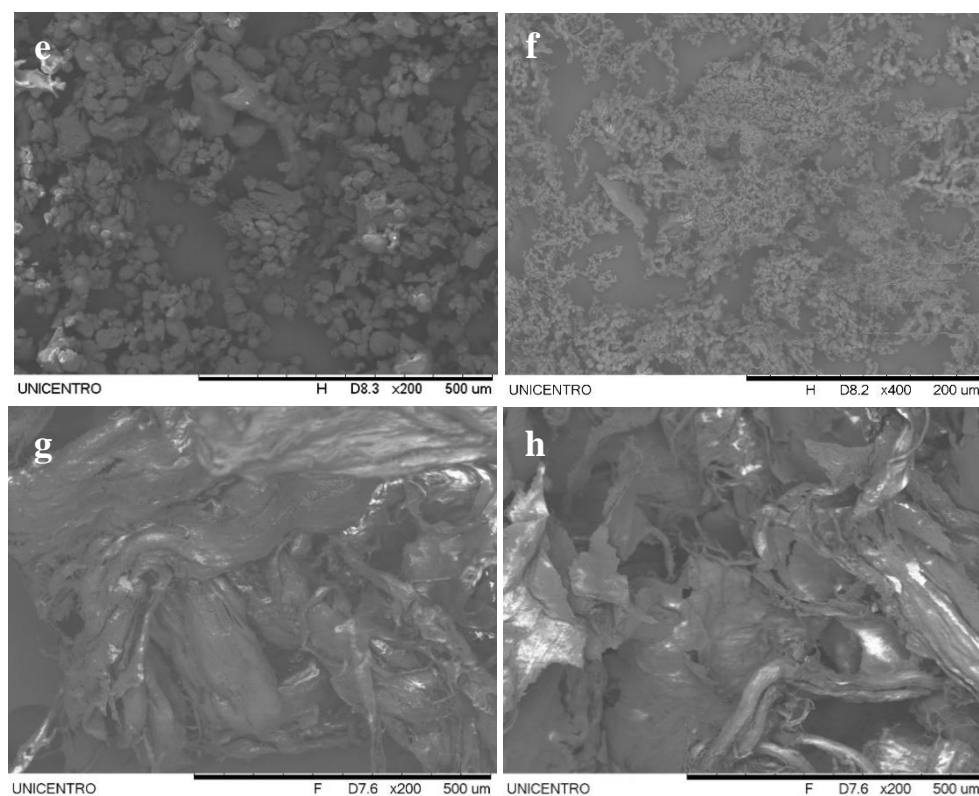
As microcápsulas de extrato de própolis secadas por liofilização, obtidas pela técnica de coacervação complexa, foram avaliadas morfológicamente a partir das análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) com o intuito de verificar o aspecto das microcápsulas.

Na figura 18 (a) e (b) é mostrada, respectivamente, a imagem obtida pelo MEV da formulação em que se utilizou os agentes encapsulantes e suas concentrações: pectina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>-gelatina 5,0g 100mL<sup>-1</sup> e pectina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> - gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>, ambas apresentaram formatos irregulares e aspecto poroso. Assim como na figura 18 (c) e (d) são as microcápsulas e suas respectivas concentrações: pectina 5,0g 100mL<sup>-1</sup> - gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> e pectina 5,0g 100mL<sup>-1</sup> - gelatina 5,0g 100mL<sup>-1</sup> também apresentaram os mesmos aspectos porosos. A porosidade presente nas microcápsulas, de acordo com Helena et. al. (2011), pode afetar propriedades como a taxa de reidratação e estabilidade à oxidação destes produtos. Os poros se tornam desfavoráveis na eficiência para a proteção do núcleo, caso haja comunicação entre o centro e a superfície da partícula





**Figura 18** - Imagem de MEV das microcápsulas com suas formulações: (a) Pectina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 5,0g  $100\text{mL}^{-1}$ , (b) Pectina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$ , (c) Pectina 5,0g  $100\text{mL}^{-1}$  - Gelatina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$  (d) Pectina 5,0g  $100\text{mL}^{-1}$  - Gelatina 5,0g  $100\text{mL}^{-1}$ .



**Figura 19** - Imagem de MEV das microcápsulas com suas formulações: (e) Goma arábica 5,0 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$ , (f) Goma arábica 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$ , (g) Goma Xantana 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 5,0g  $100\text{mL}^{-1}$ , (h) Goma xantana 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$ .

Na figura 19 (e) as formulações foram: goma arábica 5,0 g  $100\text{mL}^{-1}$  e gelatina 2,5 g  $100\text{mL}^{-1}$ , na qual formou as microcápsulas com formatos esféricos, irregulares e

superfícies lisas assim como na Figura 19 (f) a amostra referente a goma arábica 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> e gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>.

Segundo Frascareli et al. (2012) e Carneiro et. al. (2013), as misturas de diferentes materiais de parede influenciam na morfologia das micropartículas, como observado, a superfície lisa das microcápsulas está associada com a temperatura de secagem, neste processo a água evapora rápido deixando as superfícies com o aspecto liso.

Por fim, na figura 19 (g) e (h) é referente, respectivamente, a goma xantana 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> - gelatina 5,0 g 100mL<sup>-1</sup> e goma xantana 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> - gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> apresentou formatos alongados, oposto das demais imagens das microcápsulas utilizando pectina e goma arábica.

### 5.6 Eficiência de microencapsulação

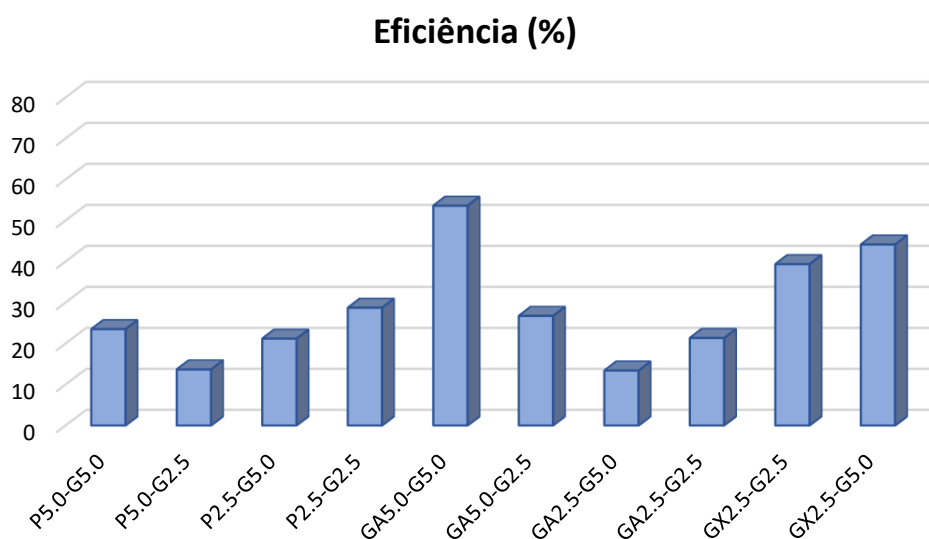
A eficiência indica a quantidade de extrato de própolis no interior da microcápsula e há diversos fatores que influenciam na eficiência das microcápsulas, entre eles, destaca-se a concentração do polímero, pH da coacervação e interação entre o material ativo e polímero. Foram realizados testes preliminares variando o pH (5.0, 4.0 e 3.0) e tempo de agitação (2, 4 e 8 minutos), os melhores resultados para uma boa eficiência foi o pH 4.0 de coacervação e 2 minutos de agitação. Assim como Nori et al. (2011), estudou quatro valores de pH: 5.0, 4.5, 4.0 e 3.5 e constatou que o pH 4.0 promoveu uma boa separação de fases, coacervação de forma eficiente e o sobrenadante límpido. Na Tabela 9 estão presentes os resultados de eficiência de encapsulação das microcápsulas obtidas.

**Tabela 9** - Resultados da eficiência de encapsulação das microcápsulas do extrato de própolis marrom.

<i>Amostras</i>	<i>Eficiência de encapsulação (%)</i>
<b>P5.0-G5.0</b>	23,5 ± 6,09
<b>P5.0-G2.5</b>	13,6 ± 2,06
<b>P2.5-G5.0</b>	21,1 ± 8,92
<b>P2.5-G2.5</b>	28,7 ± 4,72
<b>GA5.0-G5.0</b>	53,6 ± 7,14
<b>GA5.0-G2.5</b>	26,7 ± 5,88
<b>GA2.5-G5.0</b>	13,4 ± 7,69
<b>GA2.5-G2.5</b>	21,3 ± 7,96
<b>GX2.5-G2.5</b>	39,3 ± 5,81
<b>GX2.5-G5.0</b>	44,1 ± 7,94
<b>GX5.0-G2.5</b>	--
<b>GX5.0-G5.0</b>	--

Média em triplicata ± desvio padrão.

Para melhor observação, na Figura 20 estão apresentados os valores da eficiência para cada formulação obtida pelo método de microencapsulação empregado neste estudo.



**Figura 20** - Eficiência de microencapsulação das formulações obtidas por coacervação complexa.

Fonte: A autora (2022).

Os melhores resultados de eficiência obtidos entre as formulações foram a goma arábica (5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>) e gelatina (5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>) com 53,6% e a goma xantana (2,5 g 100 mL<sup>-1</sup>) e gelatina (5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>) com 44,1%. As demais, apresentaram resultados entre 13,4 a 39,3%, como observado, minuciosamente, na Figura 20. As formulações com a goma xantana em concentração 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup> (Tabela 9) não formou coacervados, logo, não foi possível identificar os valores de eficiência para estas.

Os melhores resultados de eficiência 53,6% e 44,1% ambos os resultados foram provenientes dos polímeros gelatina (5,0 g 100mL<sup>-1</sup>), goma xantana e goma arábica na concentração 2,5 e 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup> respectivamente. Enquanto o menor valor de eficiência foi obtido utilizando o polímero goma arábica na concentração 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup>.

Os valores obtidos da eficiência de microencapsulação do extrato de própolis podem ser considerados razoáveis, comparados com Nori et al (2011) que realizou em seu trabalho a microencapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa, utilizando pectina e proteína isolada de soja como agentes encapsulantes e obteve valores de eficiência entre 72,01 % e 66,12 % para formulações com 2,5 e 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup> de agente encapsulante, respectivamente.

García-Saldaña et al. (2016), microencapsulou o sulforafano proveniente de extratos de sementes de brócolis pela mesma técnica, coacervação complexa, utilizando

gelatina/goma arábica e gelatina/pectina obtendo valores de eficiência, respectivamente, de 12,17% e 17,91%.

Os resultados obtidos são baixos comparados com outra técnica de microencapsulação, segundo do Nascimento et al. (2019), que realizou em seu trabalho a microencapsulação do extrato de própolis por *spray-dryer*, utilizando os biopolímeros: maltodextrina e goma xantana, e obteve o valor de 98,3 % referente a eficiência.

No entanto, a técnica de coacervação complexa possui diversas vantagens: utiliza equipamentos de baixo custo, é uma técnica simples, versátil, de fácil manuseio, há a possibilidade de se trabalhar com biopolímeros em ausência de solventes orgânicos e condições brandas de temperatura no processamento (Marques et al., 2015; Jyothi et al., 2010).

## 5.7 Caracterização físico-químicas das microcápsulas.

### 5.7.1 Determinação do teor total dos compostos fenólicos e quantificação de flavonoides.

Os valores dos teores fenólicos e a quantificação de flavonoides das microcápsulas se encontram na Tabela 10.

**Tabela 10** - Resultados das análises de compostos bioativos das microcápsulas do extrato de própolis marrom.

<i>Amostras</i>	<i>Compostos Fenólicos (mgEAG.g<sup>-1</sup>)</i>	<i>Flavonoides (mgEQ.g<sup>-1</sup>)</i>
<b>P5.0-G5.0</b>	5,27 ± 1,24	1,76 ± 0,29
<b>P5.0-G2.5</b>	7,50 ± 0,87	2,82 ± 0,20
<b>P2.5-G5.0</b>	4,40 ± 0,70	0,84 ± 0,12
<b>P2.5-G2.5</b>	8,33 ± 1,14	2,93 ± 0,28
<b>GA5.0-G5.0</b>	7,34 ± 0,72	1,64 ± 0,13
<b>GA5.0-G2.5</b>	7,81 ± 2,70	1,40 ± 1,04
<b>GA2.5-G5.0</b>	7,31 ± 0,54	2,51 ± 0,11
<b>GA2.5-G2.5</b>	12,8 ± 1,29	3,44 ± 0,10
<b>GX2.5-G2.5</b>	6,77 ± 2,05	2,02 ± 0,38
<b>GX2.5-G5.0</b>	4,50 ± 0,56	1,27 ± 0,19

Média em triplicata (n = 3) ± desvio padrão. Os resultados não apresentaram diferença significativa entre si (p>0,05) pelo teste de Tukey e análise de variância a 95% de confiança.

O intuito da microencapsulação é a preservação dos compostos fenólicos, flavonoides e antirradicais presentes no composto ativo. Portanto, os resultados relevantes de teor de fenólicos das microcápsulas do extrato de própolis marrom foram

12,8 mg EAG.g<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5) e 8,33 mg EAG.g<sup>-1</sup> (P2.5-G2.5), valores que se aproximaram ao valor do extrato de própolis.

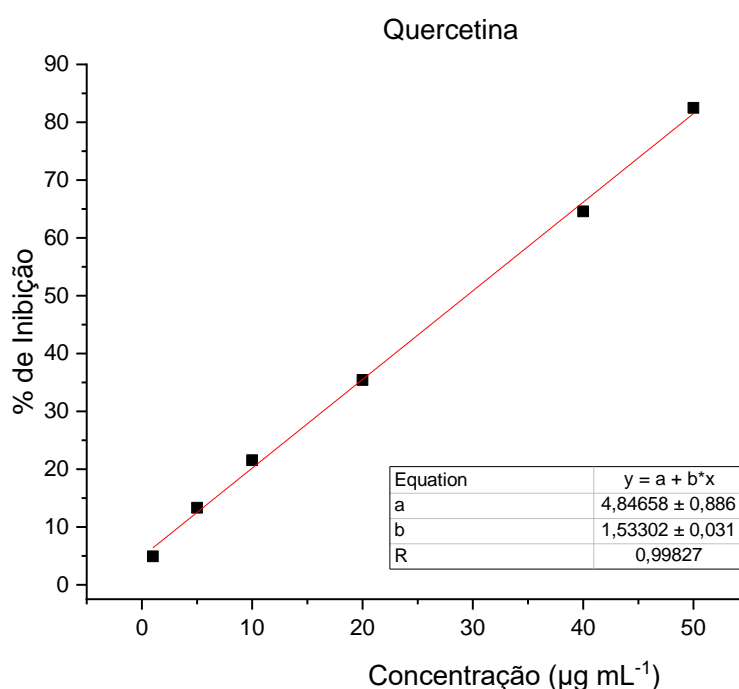
Os intervalos dos valores de teor fenólicos foram menores segundo o estudo elaborado por Sturm et al. (2019) que apresentou 63,2 a 17,4 mg EAG.g<sup>-1</sup> referente a microencapsulação da própolis utilizando goma arábica, maltodextrina e inulina.

Em relação a quantificação dos flavonoides que estão presentes nas microcápsulas do extrato de própolis, os resultados variaram 0,84 a 3,44 a mgEQ. g<sup>-1</sup>. Os maiores valores obtidos neste estudo, comparado com o extrato de própolis, foram 3,44 mgEQ.g<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5) e 2,93 mgEQ.g<sup>-1</sup> (P2.5-G2.5), ambos os resultados foram provenientes do agente encapsulante gelatina (2,5 g 100mL<sup>-1</sup>), também pectina e goma arábica na concentração 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup>. Entretanto a formulação P2.5-G5.0 apresentou o menor resultado para os ambos compostos bioativos citados.

A partir dos resultados obtidos, percebe-se que a combinação dos polímeros pectina (2,5 g 100mL<sup>-1</sup>)/gelatina (2,5 g 100mL<sup>-1</sup>) e goma arábica (2,5 g 100mL<sup>-1</sup>)/gelatina (2,5 g 100mL<sup>-1</sup>) apresentaram resultados significativos na preservação de ambas as propriedades farmacológicas citadas.

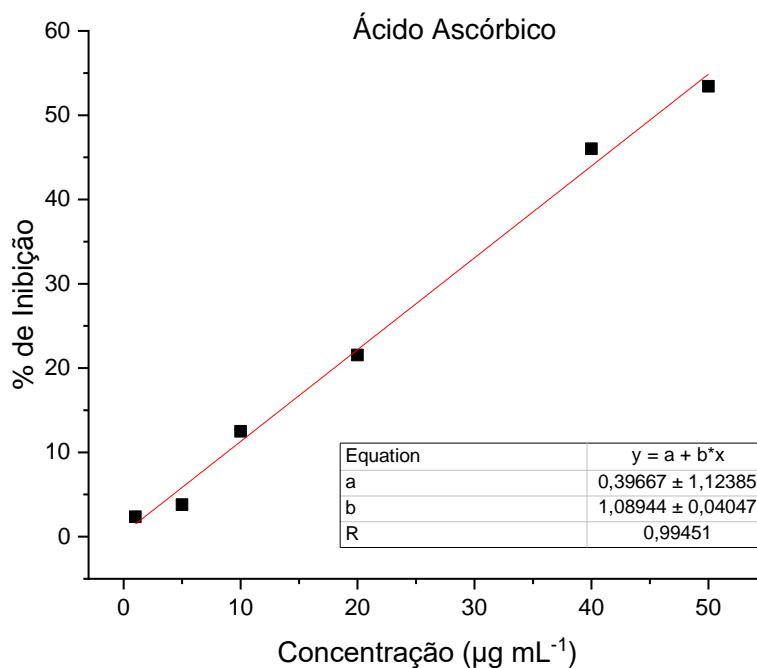
### 5.7.2 Atividade antiradicalar in vitro

A partir da otimização pela metodologia de superfície de resposta, descrito no item 5.4, foi construído curvas analíticas de ácido ascórbico e quercetina, utilizando estes como antiradicalares padrão para estimar a atividade de cada amostra como equivalente de quercetina (Figura 21) e ácido ascórbico (Figura 22).



**Figura 21** - Curva analítica da atividade antiradicalar da quercetina.

Fonte: A autora (2022).

**Figura 22** - Curva padrão da atividade antiradicalar do ácido ascórbico.

Fonte: A autora (2022).

Os valores obtidos em equivalente de ácido ascórbico para as amostras variaram entre  $24,2 \pm 1,9$  a  $35,4 \pm 0,11 \mu\text{g mL}^{-1}$ , já os valores encontrados em equivalentes de quercetina variaram entre  $13,7 \pm 1,48$  a  $22,3 \pm 0,07 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Ambos os resultados estão próximos. Os valores das formulações estão no Tabela 11.

**Tabela 11** - Capacidade antiradicalar equivalente das microcápsulas de própolis

Amostras	Ácido ascórbico ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Quercetina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
<b>P5.0-G5.0</b>	$35,3 \pm 1,16$	$22,2 \pm 0,82$
<b>P5.0-G2.5</b>	$33,3 \pm 0,65$	$20,8 \pm 0,77$
<b>P2.5-G5.0</b>	$35,4 \pm 0,10$	$22,3 \pm 0,07$
<b>P2.5-G2.5</b>	$35,1 \pm 1,63$	$22,0 \pm 1,16$
<b>GA5.0-G5.0</b>	$32,4 \pm 1,47$	$20,1 \pm 1,05$
<b>GA5.0-G2.5</b>	$29,2 \pm 5,90$	$17,8 \pm 4,19$
<b>GA2.5-G5.0</b>	$26,0 \pm 1,85$	$15,6 \pm 1,31$
<b>GA2.5-G2.5</b>	$32,0 \pm 2,44$	$19,9 \pm 1,73$
<b>GX2.5-G2.5</b>	$24,2 \pm 1,91$	$14,3 \pm 1,36$
<b>GX2.5-G5.0</b>	$24,8 \pm 2,08$	$13,7 \pm 1,48$

Média em triplicata  $\pm$  desvio padrão.

Na Tabela 12, estão expressos os resultados para a atividade antiradicalar para o extrato de própolis marrom e para as microcápsulas produzidas, em percentual de inibição do radical DPPH.

**Tabela 12** - Resultados da atividade antiradicalar *in vitro* das microcápsulas e do extrato de própolis marrom.

<i>Amostras</i>	<i>% de Inibição</i>
<b>P5.0-G5.0</b>	38,9 ± 1,27 <sup>a</sup>
<b>P5.0-G2.5</b>	36,7 ± 1,19 <sup>a</sup>
<b>P2.5-G5.0</b>	38,9 ± 0,12 <sup>a</sup>
<b>P2.5-G2.5</b>	38,6 ± 1,78 <sup>a</sup>
<b>GA5.0-G5.0</b>	35,7 ± 1,60 <sup>a</sup>
<b>GA5.0-G2.5</b>	34,9 ± 3,99 <sup>a</sup>
<b>GA2.5-G5.0</b>	28,7 ± 2,01 <sup>a</sup>
<b>GA2.5-G2.5</b>	35,3 ± 2,66 <sup>a</sup>
<b>GX2.5-G2.5</b>	26,7 ± 2,09 <sup>b</sup>
<b>GX2.5-G5.0</b>	27,4 ± 2,27 <sup>b</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. <sup>b</sup> Média dos resultados inferiores ( $p < 0,05$ ), pelo teste de Tukey e análise de variância a 95% de confiança.

Os resultados da atividade antiradicalar *in vitro* das microcápsulas produzidas por coacervação complexa variaram entre 26,7% (GX2.5-G5.0) a 38,9% (P2.5-G5.0). Os melhores resultados, comparados como valor obtido do extrato de própolis, 38,9% (P2.5-G5.0) e 35,7% (GA5.0-G5.0), foram provenientes do agente encapsulante gelatina na concentração 5,0 g 100mL<sup>-1</sup>. Enquanto os menores valores, 26,7% (GX2.5-G2.5) e 27,4% (GX2.5-G5.0), foi utilizado a goma xantana, variando a concentração de gelatina. Salienta-se que a formulação GA5.0-G5.0 se destacou, pois apresentou resultados relativamente bons referentes aos compostos fenólicos, flavonoides eficiência e atividade antiradicalar.

Os valores encontrados nesse trabalho foram similares aos resultados de Nori e colaboradores, em que foi realizada a microencapsulação da própolis por coacervação complexa, utilizando pectina e proteína de soja, e obtiveram a atividade antiradicalar, pelo método de DPPH, 15,97 a 84,10% e 21,65 a 84,94% nas concentrações de agentes encapsulantes 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup> e 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup> respectivamente

A microencapsulação utilizando a pectina, goma arábica, goma xantana e gelatina não interferiu adversamente nas propriedades presentes nas microcápsulas do extrato de própolis marrom.

### 5.8 Análise estatística

A um nível de confiança de 95% apenas a atividade antiradicalar apresentou diferença significativa entre suas médias com o valor de  $p$  calculado  $0,002 < 0,05$ . Pelo



teste *Tukey* determinou-se que a goma xantana se diferenciou dos agentes encapsulantes pectina e goma arábica.

A média das amostras correspondente atividade antiradicalar (Tabela 12) contendo o agente encapsulante goma xantana foi inferior que a pectina e goma arábica, logo, não será tão boa quanto as demais. As amostras contendo o agente encapsulante pectina e gelatina não houve influência significativa ( $p>0,05$ ), portanto, poderão ser utilizadas.

A variação de concentração (2,5 e 5,0 g 100mL<sup>-1</sup>) não houve diferença estatisticamente ( $p>0,05$ ) pela análise de variância a 95% de confiança.

Em relação aos resultados experimentais, observou-se que para as propriedades provenientes dos compostos fenólicos e flavonoides a gelatina na concentração 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup> obteve melhores resultados. Enquanto para a atividade antiradicalar se destacou a gelatina na concentração 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>. A microencapsulação ajudou a mascarar o odor característico da própolis, para os complexos pectina/gelatina, goma arábica/gelatina, goma xantana/gelatina nas concentrações (2,5 e 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>). A aparência das microcápsulas do complexo pectina/gelatina apresentou o aspecto de pó fino e sem aglomeração, favorecendo o uso em alimentos e/ou cosméticos, enquanto a goma arábica/gelatina formou aglomerações.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do extrato de própolis no dia-a-dia do ser humano é de suma importância, este apresenta diversas propriedades que impedem o desenvolvimento de doenças e inflamações. É por este motivo que a microencapsulação do extrato de própolis surge como um aliado, pois esta técnica visa proteger as propriedades biológicas de fatores intrínsecos, mascarar odor e o sabor característico desta resina vegetal.

Os valores das análises físicas da própolis, tais como teor de ceras e perda por dessecação, foram baixos comparados com a literatura, todavia, estão de acordo com os parâmetros estabelecidos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Os resultados apresentados no presente estudo indicam ser possível realizar a microencapsulação do extrato de própolis marrom com o uso de polímeros de grau alimentício e não tóxicos, tais como a pectina, goma arábica, goma xantana, e em especial a gelatina. Na qual, foram desenvolvidas 10 formulações variando a concentração e agente encapsulante.

Os melhores resultados referentes a eficiência de microencapsulação obtida foi 53,58 e 44,12% valores considerados relativamente bons para a técnica de coacervação complexa. O melhor resultado derivou-se do agente encapsulante gelatina (5,0 g 100mL<sup>-1</sup>), da formulação GA5.0-G5.0.

Referente a presença de componentes bioativos (teor de fenólicos e flavonoides) e atividade antiradicalar nas microcápsulas do extrato de própolis marrom exibiram redução nos teores dos compostos fenólicos e flavonoides comparados com o extrato, porém a capacidade de sequestro do radical DPPH apresentou resultados promissores, no processo de microencapsulação por coacervação complexa.

Em relação à conservação dos compostos bioativos e a atividade antiradicalar, as formulações GA2.5-G2.5 e P2.5-G2.5 apresentaram melhores resultados comparado com o valor encontrado do extrato de própolis. Sendo assim, pode-se considerar que a gelatina na concentração 2,5 g 100 mL<sup>-1</sup> apresentou melhores resultados que a gelatina 5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>. Vale ressaltar que o complexo pectina/gelatina se destacou na aparência e manipulação.

Desta forma, destacam-se as formulações visando a preservação dos compostos bioativos, aparência, manipulação e eficiência: pectina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>-gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> (P2.5-G2.5), goma arábica 5,0 g 100mL<sup>-1</sup>-gelatina 5,0 g 100mL<sup>-1</sup> (GA5.0-5.0) e goma arábica 2,5 g 100mL<sup>-1</sup>-gelatina 2,5 g 100mL<sup>-1</sup> (GA2.5-G2.5) na qual, possibilita futuramente o uso destas em alimentos e cosméticos.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; VIEIRA, R.; MOTA, D. A.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. **Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars.** 2007.
- ALBUQUERQUE, A. L. I. Atividade Antimicrobiana de microencapsulados de propolis vermelha. , v. d, n. 2000, p. 1–3, 2011.
- ALEXANDRE, A.; DE-MELO, M.; MATSUDA, A. H.; et al. **Capacidade antioxidante da própolis.** Goiânia, 2014.
- ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; DE OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 2017. Elsevier Ltd.
- ANJUM, S. I.; ULLAH, A.; KHAN, K. A.; et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p. 1695–1703, 2019. King Saud University. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>>.
- ARAÚJO, C.N; MAYWORM, M. A. S.; YATSUDA, R.; et al. Chemical composition and antimycoplasma activity of a brown propolis from southern Brazil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 11, p. 4228–4235, 2020. Springer.
- AKHLAGHI, M.; FOSHATI, S. **Bioavailability and Metabolism of Flavonoids: A Review Flavonoids Bioavailability Metabolism.** 2017.
- BANSODE, S. S.; BANARJEE, S. K.; GAIKWAD, D. D.; JADHAV, S. L.; THORAT, R. M. **Microencapsulation: a Review.** 2010.
- BARRETO, A. L. H.; LOPES, M. T. R.; PEREIRA, F. M.; SOUZA, B. A. **Controle de Qualidade da Própolis.** Teresina - PI, 2020.
- BERRETTA, A. A.; SILVEIRA, M. A. D.; CÓNDROR CAPCHA, J. M.; DE JONG, D. Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease: Running title: Propolis against SARS-CoV-2 infection and COVID-19. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 1. nov. 2020. Elsevier Masson SAS.

BHARGAVA, P.; GROVER, A.; NIGAM, N.; et al. Anticancer activity of the supercritical extract of Brazilian green propolis and its active component, artepillin C: Bioinformatics and experimental analyses of its mechanisms of action. **International Journal of Oncology**, v. 52, n. 3, p. 925–932, 2018.

BIANCHI, M. L.; ANTUNES, L. M. G. **Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta**. 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity**. 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº 03, de 19 jan. Anexo VI - Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jan, 2001.

CABRAL, S. R. C.; OLDONI, T. L. O.; PRADO, A.; et al. **Composição Fenólica, Atividade Antibacteriana e Antioxidante da Própolis Vermelha Brasileira**. 2009.

CANTARELLI, M. Á.; CAMIÑA, J. M.; PETTENATI, E. M.; MARCHEVSKY, E. J.; PELLERANO, R. G. Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 256–260, 2011.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 443–451, 2013. Elsevier Ltd.

CARVALHO, A. A.; FINGER, D.; MACHADO, C. S.; et al. In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1239–1245, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.035>>. .

CASANOVA, F.; SANTOS, L. Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application-a review. **Journal of Microencapsulation**, 2. jan. 2016. Taylor and Francis Ltd.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F. **Propolis, an old remedy used in modern medicine**. 2002.

CHACON, W. D. C.; PAZ-ARTEAGA, S. L.; TORRES-LEÓN, C.; VALENCIA, G. A. Gums-Based Coatings Applied to Extend the Shelf Life of Foods: A Review. **Journal of Polymers and the Environment**, 1. fev. 2022. Springer.

CHOUDHURY, N.; MEGHWAL, M.; DAS, K. Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. **Food Frontiers**, 1. dez. 2021. John Wiley and Sons Inc.

CROGUENNEC, T.; TAVARES, G. M.; BOUHALLAB, S. Heteroprotein complex coacervation: A generic process. **Advances in Colloid and Interface Science**, 1. jan. 2017. Elsevier B.V.

CURTI, V.; ZACCARIA, V.; SOKENG, A. J. T.; et al. Bioavailability and in vivo antioxidant activity of a standardized polyphenol mixture extracted from brown propolis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 5, 2019. MDPI AG.

DICKO, M. H.; GRUPPEN, H.; TRAORÉ, A. S.; VORAGEN, A. G. J.; VAN BERKEL, W. J. H. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v. 1, n. 1, p. 21–38, 2006. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/BMBR>>.

DOĞAN, H.; SILICI, S.; OZCIMEN, A. A. Biological Effects of Propolis on Cancer. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 8, n. 3, p. 573, 2020.

EGERT, S.; RIMBACH, G. Which sources of flavonoids: Complex diets or dietary supplements? **Advances in Nutrition**, jan. 2011.

ELBAZ, N. M.; KHALIL, I. A.; ABD-RABOU, A. A.; EL-SHERBINY, I. M. Chitosan-based nano-in-microparticle carriers for enhanced oral delivery and anticancer activity of propolis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 254–269, 2016. Elsevier B.V.

ESPÍN, J. C.; GARCÍA-CONESA, M. T.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Nutraceuticals: Facts and fiction. **Phytochemistry**, nov. 2007.

EKALU, A.; HABILA, J. D. Flavonoids: isolation, characterization, and health benefits. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, 1. dez. 2020. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.

FARAG, M. R.; ABDELNOUR, S. A.; PATRA, A. K.; et al. Propolis: Properties and composition, health benefits and applications in fish nutrition. **Fish and Shellfish Immunology**, 1. ago. 2021. Academic Press.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais Livres: Conceitos e Mecanismo de Lesão**. 1997.

FERREIRA, J. M.; FERNANDES-SILVA, C. C.; SALATINO, A.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 11, p. 3552–3558, 2017. John Wiley and Sons Ltd.

FRASCARELI, E. C.; SILVA, V. M.; TONON, R. V.; HUBINGER, M. D. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 413–424, 2012.

FRANCO S.L; BRUSCHI M.L; MOURA, L.L.P; BUENO J.H.F. Avaliação Farmacognóstica da própolis da região de Maringá. Unesp – Araraquara – SP. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2000. ISSN 0102-695X.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de Própolis. , p. 171–178, 2006.

GARCÍA-SALDAÑA, J. S.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; et al. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum Arabic and gelatin/pectin complexes. **Food Chemistry**, v. 201, p. 94–100, 2016. Elsevier Ltd.

GOMES S. A. S.; ALMEIDA, C. V. M; SILVA, M. E. S.; BARROS, D. N.; DA SILVA, S. P. Aplicação de Análise Multivariada na Otimização do Processamento Mínimo da Polpa de Manga (Mangífera Indica L. Var. Tommy Atkins). , 2019. Instituto Internacional Despertando Vocações. Disponível em: <[https://cointer.institutoidv.org/inscricao/pdvagro/uploadsAnais2020/APLICACÃO-de-análise-multivariada-na-otimização-do-processamento-mínimo-da-polpa-de-manga-\(mangífera-indica-l.-var.-tommy-atkins\).pdf](https://cointer.institutoidv.org/inscricao/pdvagro/uploadsAnais2020/APLICACÃO-de-análise-multivariada-na-otimização-do-processamento-mínimo-da-polpa-de-manga-(mangífera-indica-l.-var.-tommy-atkins).pdf)>.

HELENA, L.; PORTE, M.; MIGUEZ, M. H.; LEÃO, R. Avaliação da Porosidade de Microcápsulas Contendo Proteína Bioativa por Porosimetria de Mercúrio e Adsorção de Nitrogênio. 2011.

HENSHAW, F. R.; BOLTON, T.; NUBE, V.; et al. Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a

prospective feasibility study. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 28, n. 6, p. 850–857, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2014.07.012>>.

HUSSAIN, M.B.; HASSAN S.; WAHEED M.; JAVED A.; FAROOQ, M.A.; TAHIR, A. Bioavailability and Metabolic Pathway of Phenolic Compounds, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.84745

IBRAHIM, M. E. E. D.; ALQURASHI, R. M. Anti-fungal and antioxidant properties of propolis (bee glue) extracts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 361, 2022. Elsevier B.V.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Compendium of Chemical Terminology. Gold Book. Pag. 282 and 305 of 1622. Version 2.3.2. 2012.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, v. 120, p. 107–117, 2016. Elsevier Ltd.

JYOTHI, N. V. N.; PRASANNA, P. M.; SAKARKAR, S. N.; et al. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**, 2010.

KARACABEY, E.; MAZZA, G. Optimisation of antioxidant activity of grape cane extracts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 343–348, 2010.

KIZILAY, E.; KAYITMAZER, A. B.; DUBIN, P. L. Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, n. 1–2, p. 24–37, 2011.

KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, dez. 2004.

KUROPATNICKI, A. K.; SZLISZKA, E.; KROL, W. Historical aspects of propolis research in modern times. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

KUSUMAWATI, I.; INDRAYANTO, G. Natural antioxidants in cosmetics. **Studies in Natural Products Chemistry**. v. 40, p.485–505, 2013. Elsevier B.V.

LI, Y.; Wu, L.; WENG M.; TANG B.; LAI P.; CHEN J.; Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina lindl.*). **Powder Technology**. V. 340, Pg 459-464, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.049>.

MACHADO, B.; PULCINO, T.; SILVA, A.; et al. Propolis as an alternative in prevention and control of dental cavity. **Journal of Apitherapy**, v. 1, n. 2, p. 47, 2016.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. **Polyphenols: food sources and bioavailability 1,2**. 2004.

MARQUES, G. S.; PRISCILA, R.; MONTEIRO, M.; et al. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de bauhinia forficata link. 2012.

MOTȚ, A. C.; SILAGHI-DUMITRESCU, R.; SÂRBU, C. Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-vis spectroscopic data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 4–5, p. 516–522, 2011.

MOURA DE OLIVEIRA, D.; HELENA, D.; BASTOS, M. **Biodisponibilidade de Ácidos Fenólicos**. 2011.

MUHOZA, B.; XIA, S.; WANG, X.; et al. Microencapsulation of essential oils by complex coacervation method: preparation, thermal stability, release properties and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2022. Taylor and Francis Ltd.

NASCIMENTO, T. G.; REDONDO, G. D. P.; DE ARAÚJO ABREU, C. T.; et al. Modified release microcapsules loaded with red propolis extract obtained by spray-dryer technique: Phytochemical, thermal and physicochemical characterizations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, n. 5, p. 3559–3569, 2019. Springer Netherlands.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MATIAS DE ALENCAR, S.; et al. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 429–435, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.010>>. .



OLCZYK, P.; KOMOSINSKA-VASSEV, K.; WISOWSKI, G.; et al. Propolis Modulates Fibronectin Expression in the Matrix of Thermal Injury. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–10, 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/748101/>>. .

OLEGÁRIO, L. S.; ANDRADE, J. K. S.; ANDRADE, G. R. S.; et al. Chemical characterization of four Brazilian brown propolis: An insight in tracking of its geographical location of production and quality control. **Food Research International**, v. 123, p. 481–502, 2019. Elsevier Ltd.

OLIVEIRA DEMBOGURSKI, D. S.; SILVA TRENTIN, D.; BOARETTO, A. G.; et al. Brown propolis-metabolomic innovative approach to determine compounds capable of killing *Staphylococcus aureus* biofilm and *Trichomonas vaginalis*. **Food Research International**, v. 111, p. 661–673, 2018. Elsevier Ltd.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do dpph: Estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36–44, 2015. Instituto de Biociencias.

DA PAIXÃO, D. R.; FLAUSINO, P. A.; REIS, N. G.; et al. Efeitos da própolis na proliferação de fibroblastos em lesões cutâneas de ratos. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 35, n. 3, p. 413–417, 2014.

PASUPULETI, V. R.; SAMMUGAM, L.; RAMESH, N.; GAN, S. H. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

PAULO, F.; PAULA, V.; ESTEVINHO, L. M.; SANTOS, L. Propolis microencapsulation by double emulsion solvent evaporation approach: Comparison of different polymeric matrices and extract to polymer ratio. **Food and Bioproducts Processing**, v. 127, n. i, p. 408–425, 2021.

PEREIRA, T. C.; MECCATI, V.M.; DE LIMA, P. M. N.; DE OLIVEIRA, L. D.; MARUCCI, M. C. Avaliação da Atividade Antioxidante da Própolis Empregando-se a Metodologia Clássica da Permanganato de Potássio Redesenhada. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 4, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.31415/bjns.v4i1.151>>.

PETER, C. M.; PICOLI, T.; ZANI, J. L.; et al. Atividade antiviral e virucida de extratos hidroalcoólicos de própolis marrom, verde e de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*)

frente ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e ao vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 667–675, 2017. Colegio Brasileiro de Patologia Animal.

PETER, C. M.; WALLER, S. B.; PICOLI, T.; et al. Chemical and cytotoxic analyses of three varieties of Brazilian propolis (green propolis, jataí propolis and brown propolis) and its anti-Sporothrix brasiliensis in vitro activity. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 3, p. 819–827, 2019. Universidade Federal de Minas Gerais.

PRASAD, K. N.; HASSAN, F. A.; YANG, B.; et al. Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm. peels. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 1121–1127, 2011.

PUJIRAHAYU, N.; RITONGA, H.; USLINAWATY, Z. **Properties and flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis**. 2014.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, 2016. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.009>>..

SAILAJA, K. A.; JYOTHIKA, M. A Review on Microcapsules. *Tech Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol.4 (2) April-June, pp.26-33, 2015. ISSN:2319–3891

DOS SANTOS, F. F.; MORAIS-URANO, R. P.; CUNHA, W. R.; et al. A review on the anti-inflammatory activities of Brazilian green, brown and red propolis. **Journal of Food Biochemistry**, 1. out. 2022. John Wiley and Sons Inc.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, 1. abr. 2015. Elsevier Ltd.

SILVA, A. P. R.; SOARES, A. P. S.; PESSANHA, C. DA S.; et al. Uso Terapêutico Da Pomada De Própolis Em Diferentes Feridas Crônicas. **Biológicas & Saúde**, v. 7, n. 24, p. 40–46, 2017.

DA SILVA, F. C.; DA FONSECA, C. R.; DE ALENCAR, S. M.; et al. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier

systems. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 1, p. 28–36, 2013. Institution of Chemical Engineers. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2012.08.006>>. .

SILVA, J. B.; COSTA, K. M. F. M.; COELHO, W. A. C.; et al. Quantification of phenols, total flavonoids and pharmacological activities of geopropolis *Plebeia aff. flavocincta* of Rio Grande do Norte, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 874–880, 2016.

SILVA, T. M.; RODRIGUES, L. Z.; NUNES, G. L.; et al. Encapsulação de compostos bioativos por coacervação complexa. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 56–64, 2015.

SOBRINHO, E.C.S; FARIAS, M.C. A Microencapsulação na Indústria Alimentícia. **Infarma**, v.24, nº 1-3, 2012.

ŠTURM, L.; OSOJNIK ČRNIVEC, I. G.; ISTENIČ, K.; et al. Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. **Food and Bioproducts Processing**, v. 116, p. 196–211, 2019. Institution of Chemical Engineers.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits**. 2012.

TIMILSENA, Y. P.; AKANBI, T. O.; KHALID, N.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, 1. jan. 2019. Elsevier B.V.

TORETI, V. C.; SATO, H. H.; PASTORE, G. M.; PARK, Y. K. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

VANISKI, R.; DRUNKLER, D. A. **Técnicas e materiais empregados na microencapsulação de probióticos**. Paraná, 2017.

WANG, B.; AKANBI, T. O.; AGYEI, D.; HOLLAND, B. J.; BARROW, C. J. Coacervation Technique as an Encapsulation and Delivery Tool for Hydrophobic Biofunctional Compounds. **Role of Materials Science in Food Bioengineering**. p.235–261, 2018. Elsevier.

WOŹNIAK, M.; MRÓWCZYŃSKA, L.; KWAŚNIEWSKA-SIP, P.; et al. Effect of the Solvent on Propolis Phenolic Profile and its Antifungal, Antioxidant, and in Vitro

Cytoprotective Activity in Human Erythrocytes under Oxidative Stress. **Molecules**, v. 25, n. 18, 2020. MDPI AG.

WOISKY R.G.; SALATINO A. Analysis of propolis: some parameters and chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**. v 37; n 2; p 99-105; 1998.

ZABOT, G. L.; SCHAEFER RODRIGUES, F.; POLANO ODY, L.; et al. Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications. **Polymers**, 1. out. 2022. MDPI.

ZHAO, X. H.; TANG, C. H. Spray-drying microencapsulation of CoQ10 in olive oil for enhanced water dispersion, stability and bioaccessibility: Influence of type of emulsifiers and/or wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 20–30, 2016. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.045>>. .

ZHOU, L.; SHI, H.; LI, Z.; HE, C. Recent Advances in Complex Coacervation Design from Macromolecular Assemblies and Emerging Applications. **Macromolecular Rapid Communications**, 1. nov. 2020. Wiley-VCH Verlag.