



ENCAPSULAÇÃO DA PRÓPOLIS VERMELHA POR DUAS ROTAS TECNOLÓGICAS, COACERVAÇÃO COMPLEXA E SPRAY DRYER

Fernanda Almeida de Almeida¹; Taís Maia da Costa Lima²; Larissa Sousa Cardeal de Miranda²; Gabriele de Abreu Barreto²; Ingrid Lessa Leal²; Bruna Aparecida Souza Machado²

¹Av. Orlando Gomes, 1845 - Piatã, 41650-010; Salvador/Bahia; almeida1994.fernanda@hotmail.com

²Av. Orlando Gomes, 1845 - Piatã, 41650-010; Salvador/Bahia

Resumo: O presente projeto visa realizar a encapsulação de extrato de própolis vermelha utilizando atomização por spray dryer e coacervação complexa e realizar a caracterização e análises comparativa das micropartículas obtidas. O rendimento do extrato foi 39%, as formulações com melhores rendimentos foram as PECC3 (46%) e PEA2 (51%), para coacervação e atomização, respectivamente. Em ambas rotas tecnológicas, a formulação 3 (PECC3 e PEA3) apresentou maior atividade antioxidante 50 e 40%. Assim, a formulação PECC3 e PEA3 foram as mais eficientes para a encapsulação do extrato de própolis vermelha.

Palavras-Chave: Microencapsulação; Própolis vermelha; Biotecnologia.

RED PROPOLIS ENCAPSULATION BY TWO TECHNOLOGICAL ROUTES, COMPLEX COACERVATION AND SPRAY DRYER

Abstract: The present project aims to perform the encapsulation of red propolis extract using spray dryer atomization and complex coacervation and perform the characterization and comparative analysis of the obtained microparticles. The extract yield was 39%, the best yield formulations were PECC3 (46%) and PEA2 (51%) for coacervation and atomization, respectively. In both technological routes, formulation 3 (PECC3 and PEA3) presented higher antioxidant activity 50 and 40%. Thus, the formulation PECC3 and PEA3 were the most efficient for the encapsulation of red propolis extract.

Keywords: Microencapsulation; Red propolis; Biotechnology.



1. INTRODUÇÃO

A própolis é uma mistura resinosa de naturais recolhidos pelas abelhas (*Apis mellifera*) de várias fontes vegetais, apresentando-se, normalmente na sua forma bruta ou como um extrato, geralmente etanólico. [1] Ela consiste principalmente de 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleo essencial, 5% de pólen e 5% de outros compostos orgânicos. [2] Tendo seu forte sabor e aroma e sendo solúvel apenas soluções alcoólicas, sua aplicação em alimentos e em biomateriais é limitada, diante disso, uma técnica que pode permitir maior exploração das propriedades antioxidante e antimicrobiana da própolis, é a microencapsulação. [3,4,5]

Os extratos têm sido aplicados em produtos farmacêuticos e alimentícios com a função de aditivo natural (antioxidante e antimicrobiano) e na forma de ingrediente funcional devido as suas propriedades. [4,6,7] A microencapsulação da própolis por spray-drying ou por coacervação complexa aparece como uma opção para evitar características sensoriais indesejáveis, proteger a bioatividade e ampliar a dosagem por uma matriz de encapsulação solúvel em água. [3,8,9]

Dessa forma, foram elaboradas 8 formulações a partir do extrato etanólico de própolis vermelha. Assim, foram investigados alguns parâmetros de processo, como: tamanho do bico atomizador, temperatura e agente carreador (para atomização por spray-drying) e pH, concentração e tipos de agentes encapsulantes e núcleo (para coacervação). As micropartículas obtidas em diferentes condições foram caracterizadas e avaliadas de forma comparativa em relação a eficiência de encapsulação, rendimento de encapsulação, atividade de água, umidade, colorimetria, higroscopicidade e atividade antioxidante.

2. METODOLOGIA

A própolis utilizada foi oriunda do município de Canavieiras-Ba, coletada em 2017. Todas as amostras foram retiradas de um mesmo lote. O material foi mantido sob congelamento -27 °C até o momento do uso.

2.1 Extrato seco de própolis Vermelha

Para obtenção do extrato seco de própolis, 10g de própolis vermelha (Canavieiras, ano de coleta 2017) foram homogeneizadas com 33 mL de etanol a 80%. [1,8,9] Após homogeneizada, a mistura foi colocada sob agitação mecânica em banho Maria a 50°C/30min e em seguida centrifugada a 8800 rpm por 10 minutos. Ao final da centrifugação, a mistura foi filtrada em papel quantitativo (80g.cm⁻³), sendo o sobrenadante recolhido e levado para o concentrador de amostras (miVac - DUC-22060-N00) a 40°C até peso constante, depois condicionados à temperatura de -18 °C até o momento das análises.



2.2 Própolis encapsulada por Coacervação Complexa (PECC)

Com base na literatura com adaptações, [5] preparou-se uma solução de NaOH (0,1 mol/L) e uma solução de HCl (1 mol/L). Foram elaboradas 4 formulações (Tabela 1), variando-se a concentração da proteína do soro do leite, proteína do isolado da soja (material de parede) e a goma xantana (agente de núcleo). Em um béquer preparou-se uma solução aquosa da proteína referente a formulação, sob uma placa de aquecimento com agitação mecânica. Após atingir 40°C foi inserido o NaOH (0,1 mol/L), afim de ajustar o pH para 8, fazendo a medição pelo pHmetro. Dessa forma, adicionou-se o extrato seco de própolis, a fim de misturar em homogeneizador (GLH 850 OMNI Internacional) a 8000rpm por 2 minutos. A mistura ao voltar para placa de aquecimento, da mesma forma, foi adicionada uma solução aquosa de goma xantana, após atingir novamente a temperatura de 40°C, uma solução de HCl (1mol/L) foi adicionada, ajustando assim o pH para 4, utilizando também o pHmetro. O coacervado foi armazenado em fracos tipo *shot* para resfriar e posteriormente congelar a temperatura de -18°C. Para secagem que ocorreu no liofilizador (Telstar LyoQuest LC 1500).

2.3 Própolis encapsulada por Atomização (PEA)

Os agentes carreadores utilizados nesta pesquisa foram Goma Xantana, Isolado de Proteína do leite e Proteínas da soja (Tabela 1), são utilizados para aumentar a viscosidade da emulsão, influenciando diretamente no processo de secagem e na eficiência de encapsulação. As condições operacionais para o processo de secagem foram temperatura do ar (165 ° C), velocidade constante do soprador (4,0 m³ / min) e velocidade de alimentação (0,9 L / h) como parâmetros de entrada em um secador por pulverização em escala piloto e diâmetro interno de bico atomizador foi 0.3 mm.

Tabela 1. Planejamento das Formulações para obtenção de própolis vermelha encapsulada

Formulação	Isolado do Leite (%)	Isolado de Soja (%)	Goma Xantana (%)	Extrato de Própolis Vermelha (%)
PECC1 ¹ / PEA1 ²	2,5	0	2,5	3,0
PECC2 / PEA2	5,0	0	5,0	3,0
PECC3 / PEA3	2,5	0	5,0	3,0
PECC4 / PEA4	5,0	0	2,5	3,0

¹Própolis encapsulada por Coacervação Complexa

²Própolis encapsulada por Atomização

2.4 Preparo das amostras para avaliação fitoquímica



Para preparação da solução do extrato de própolis vermelha, o mesmo foi diluído em etanol (95%) na concentração 1:10 (m.v⁻¹). Já para o extrato dos microencapsulados utilizou-se a proporção de 1:1 (m.v⁻¹).

2.5 Análise de DPPH

Utilizando a solução do extrato de própolis vermelha, nas concentrações de 50, 40, 30, 20, 10 e 5 µg.mL⁻¹ realizou-se a leitura da mistura em espectrofotômetro (Femto - 700 plus) a 517 nm. O resultado do extrato foi expresso em micrograma por grama de amostra (µg.g⁻¹), já os dos encapsulados em % (m.v⁻¹). [10] O percentual de inibição do radical DPPH foi calculada em função da fórmula abaixo:

$$ATT (\%) = [AC - AA / AC] \times 100 \quad (1)$$

Onde:

AC= Absorbância do controle.

AA= Absorbância da amostra.

2.6 Rendimento

Os resultados do rendimento foram expressos em porcentagem e calculados em razão da massa do coacervado seco e a massa teórica, com base na fórmula a seguir:

$$R (\%) = (Mcs / Mt) \times 100 \quad (2)$$

Onde: R = Rendimento

Mcs = Massa do microencapsulado

Mt = Massa teórica

2.7 Colorimetria

A cor foi avaliada por meio do sistema de leitura de três parâmetros, o CIELAB. Os parâmetros L*, a* e b* foram fornecidos pelo colorímetro (CR400, Konica Minolta), no qual L* define a luminosidade (L* = 0 preto e L* = 100 branco) e a* e b* são responsáveis pela cromaticidade (+a* vermelho e -a* verde, + b* amarelo e -b* azul). [11]

2.8 Higroscopicidade



Foi avaliada de acordo com a literatura, com adaptação. [12] Colocou-se 1 g em triplicata de cada amostra em um dessecador de vidro contendo uma solução saturada de NaCl a 25 °C e, após 90 min, as amostras foram pesadas, sendo a higroscopicidade expressa como g de umidade adsorvida por 100 g de massa seca da amostra ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). A higroscopicidade foi calculada de acordo com a fórmula abaixo:

$$\% \text{Higroscopicidade} = ((P_f - P_i) / P_i) * 100 \quad (3)$$

Onde:

Pi: Peso inicial do pó

Pf: Peso do pó em equilíbrio

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos de própolis vermelha de Canavieiras-BA de 2017, apresentaram em média rendimentos de 39%. Durante o processo de coacervação pode-se observar as diferenças entre os agentes encapsulantes em relação as suas texturas, as soluções de isolado da proteína do leite e isolado de proteína da Soja apresentaram aspecto líquido, já a solução de goma xantana era mais densa, entretanto, após o processo, os diferentes coacervados apresentaram homogeneidade. O rendimento das formulações é apresentado na Tabela 2. Resultados superiores foram obtidos (66,1% a 72%) ao encapsular extrato de própolis utilizando como parede proteína isolada de soja (SPI) e pectina [5], porém, estes valores são justificados pelas variáveis de processo, como temperatura de produção do coacervado e de liofilização do material.

Tabela 2. Eficiência de microencapsulação e rendimento do extrato e formulações desenvolvidas

Amostras	Rendimento (%)	Higroscopicidade (%)
Extrato de Própolis	39,00	-
PECC1	45,00	1,60±0,12
PECC2	32,00	1,94±0,10
PECC3	45,50	2,19±0,14
PECC4	33,50	0,39±0,03
PEA1	29,23	0,21±0,07
PEA2	50,80	4,21±0,14
PEA3	48,28	5,26±0,09
PEA4	24,37	0,66±0,05

Em relação ao rendimento no spray dryer, como podemos ver na Tabela 3, a formulação PEA2 com um rendimento de 50%, e com maior concentração do agente



de núcleo, goma xantana, tendo também a mesma concentração do material de parede, o isolado da proteína do leite apresentou o melhor rendimento. Os resultados dos rendimentos foram diferentes entre as duas rotas tecnológicas, isso pode ter se dado as diferentes condições de processo, as formulações do coacervado liofilizado apresentaram a melhor faixa de rendimentos, entretanto em ambas o isolado da proteína do leite apresentou o melhor rendimento. Em todas as formulações o potencial higroscópico das amostras se mostrou baixos (Tabela 2), propondo que há estabilidade quando exposta a umidade do ar, sendo não higroscópicos. Os resultados da higroscopicidade das rotas tecnológicas foram menores que os encontrados nos estudos de microencapsulação da própolis vermelha utilizando o soro do leite. [13]

Na microencapsulação por spray drying os pós obtidos apresentaram coloração de acordo com a concentração dos agentes carreadores contidos nas formulações (Tabela 3), variando entre uma coloração alaranjado, chegando a um tom vermelho quando atingimos a menor concentração dos agentes, assim as formulações com menor concentração de goma xantana apresentaram um pó com um aspecto mais solto. No presente trabalho foi utilizado o sistema CIE L* a* b* (CIELAB) que se baseia na teoria das cores opostas com três dimensões: determinaram-se os parâmetros L* (Luminosidade, variando de 0 – preto puro – a 100 – branco puro), a* (Componente vermelho-positivo/verde-negativo), b* (Componente amarelo-positivo/azul-negativo).

Tabela 3. Colorimetria dos encapsulados de própolis vermelha

Formulação	Cor		
	L*	a*	b*
PECC1	59,56±0,67	7,16±0,48	17,61±0,80
PECC2	59,51±1,41	5,09±0,08	16,65±0,19
PECC3	58,48±1,26	4,23±0,46	14,17±0,30
PECC4	65,08±0,74	3,56±0,23	14,27±1,08
PEA1	73,89±0,25	8,32±0,05	17,94±0,11
PEA2	68,05±1,69	9,00±0,26	17,68±0,41
PEA3	64,55±1,38	9,78±0,29	18,38±0,31
PEA4	74,31±1,10	9,53±0,28	15,93±0,38

Os resultados dos valores de L* (luminosidade) variaram nos encapsulados de ambos métodos (Tabela 4), mostrando que as amostras possuem amidos nativos capazes de refletir a luz o que lhe conferem a cor branca, não havendo diferença significativa nos resultados das amostras. Quanto ao valor de a* (vermelho) houve diferenças significativas na intensidade da coloração vermelha, em relação as diferentes rotas tecnológicas, o composto encapsulado por *spray drying* obteve valor mais alto para a* tendendo mais ao vermelho. Os encapsulados por coacervação complexa foram os que mais se aproximaram dos valores de b* foi o coacervado, tendendo mais ao azul, característico das antocianinas em pH alcalino, devido ao processo de coacervação que eleva o pH da emulsão

A concentração efetiva do extrato de própolis vermelha (Tabela 4), apresentando bons resultados para minimizar 50% do radical livre (CE₅₀), foi de 27,36 µg.mL⁻¹ (Tabela 5). Segundo a literatura foi identificado para a análise de DPPH do



extrato de própolis do Rio Grande do Sul o valor do radical livre (CE_{50}) foi de 90,23 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. [14]

Tabela 4. Resultados atividade antioxidante nas formulações do encapsulado.

Amostras	AAT
Extrato de Própolis	27,36 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
PECC1	71,62 %
PECC2	45,64 %
PECC3	50,10 %
PECC4	60,17 %
PEA1	30,89 %
PEA2	17,14 %
PEA3	40,70 %
PEA4	13,05 %

Em relação a atividade antioxidante, a PECC1 apresentou o melhor resultado em bioativos totais, as formulações para a atividade antioxidante apresentaram variação de 15,51 a 71,62%, resultado dentro da faixa. Ao encapsular a própolis com dextrinas obtiveram (42,93% a 60,64%). [15] Já em relação a atividade antioxidante dos atomizados variou-se de 11,27 a 62,54%, a formulação 3 apresentou o melhor resultado para CE_{50} . Ao microencapsular o extrato de pequi por *spray drying*, valores dentro da faixa apresentada foram encontrados, variando de 41,8 até 42,7%. [16]

4. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente documento indicam que é possível encapsular própolis vermelha com isolado de proteína de soja ou isolado de proteína do leite e goma xantana pelo processo de coacervação complexa e *spray drying*, assim, para obtê-los na forma de pó, livre de álcool e com possibilidade de liberação sob condições controladas em alimentos. Este processo preserva compostos fenólicos e flavonoides presentes na própolis livre. Estes resultados melhoram a possibilidade de utilizar a própolis no ramo farmacêutico, de cosméticos e alimentício. Observaram-se resultados expressivos nas análises feitas.

Agradecimentos

Agradeço ao SENAI CIMATEC pela estrutura laboratorial e a FAPESB pela concessão da bolsa.

5. REFERÊNCIAS



- ¹PARK, Y. K. et al. **Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações**. Campinas: Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998.
- ²PELLATI, Federica. et al. HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 934–948, 2011.
- ³BRUSCHI, Marcos L. et al. Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 264, p. 45–55, 2003.
- ⁴Da SILVA, Felipe C. 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, p. 28–36, 2013.
- ⁵TRINDADE, C. S. F. et al. **A microencapsulação de extrato de própolis por coacervação complexa**. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, 2011.
- ⁶HUANG, Shuai. et al. Recent advances in the chemical composition of Propolis. **Molecules**, v. 19, p. 19610–19632, 2014.
- ⁷NORI, Mirian P. et al. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **Food Science and Technology: LWT**, v. 44, n. 2, p. 429-435, 2011.
- ⁸ALENCAR, Severino M. et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. **Journal of Ethnopharmacology, Lausanne**, v. 113, n. 2, p. 278-283, 2007.
- ⁹CUNHA, Ildenize B.S. et al. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **J. Braz. Chem. Soc., Campinas**, v. 15, n. 6, p. 964-970, 2004.
- ¹⁰MOLYNEUX, P. **The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity**. Warasan Songkhla Nakharin, 2004.
- ¹¹CALVO, C. et al. Propiedades Físicas II - Ópticas y Color. In: AGUILERA, J. M. (Ed.). **Temas en Tecnología de Alimentos**. Cidade do México: Instituto Politécnico Nacional, 1997. v. 1, cap. 7, p. 261-288.
- ¹²CAI, Y. Z. et al. Production and properties of spraydried *Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science, Chicago**, v. 65, n. 6, p. 1248-1252, 2000.
- ¹³BUSCH, Verónica M. et al. Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 227-235, 2017.
- ¹⁴LUZ, S. R. et al. **Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos de extratos de própolis**. Gramado – RS: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016.
- ¹⁵TOSONI, Solange Fávoro; RODRIGUES, Vanessa Carvalho. Características físico-químicas e antioxidantes de própolis microencapsulada com diferentes tipos de materiais encapsulantes. 2013. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.



¹⁶SILVA, Emílio de Carvalho. Microencapsulação de extrato de pequi rico em polifenóis: influência das variáveis do processo e do tipo de material de parede sobre a qualidade do produto em pó. 2013. 92 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, 2013.