

# OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOATIVOS DE PRÓPOLIS VERMELHA MICROENCAPSULADA POR COACERVAÇÃO COMPLEXA

Larissa Sousa Cardeal De Miranda<sup>1</sup>; Fernanda de Almeida e Almeida<sup>2</sup>; Taís Maia da Costa Lima<sup>3</sup>; Gabriele de Abreu Barreto<sup>4</sup>; Ingrid Lessa Leal<sup>5</sup>; Bruna Aparecida Souza Machado<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Bolsista; Iniciação científica – FAPESB; lariissacardeal@gmail.com

<sup>2</sup> Graduanda em Engenharia dos Materiais; Iniciação científica – FAPESB; almeida1994.fernanda@hotmail.com

<sup>3</sup> Mestrando em Gestão e Tecnologia Industrial; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; tais@leaodonorte.com.br

<sup>4</sup> Mestre em Ciências de Alimentos; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; abreugabriele@gmail.com

<sup>5</sup> Mestre em Ciências de Alimentos; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; illessaleal@gmail.com

<sup>6</sup> Doutora em Biotecnologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; bruna.machado@idri.org.

## RESUMO

A própolis é uma resina produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir da coleta de diferentes partes de plantas. Estudos apontam diversas atividades biológicas para extratos de própolis, como antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante, antiviral, anticarcinogênica e antioxidante. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi realizar a encapsulação do extrato de própolis utilizando o método da coacervação complexa. O extrato etanólico de própolis vermelha e as duas formulações de coacervados foram caracterizados e avaliados com relação ao seu rendimento e conteúdo fitoquímico por espectrofotometria. O rendimento do extrato foi de 39,34%, e, para as formulações microencapsuladas obteve-se valores de 77% (F1) e 82% (F2). A formulação F1 apresentou 62,99 mgEAG.g<sup>-1</sup> para fenólicos totais, 8,28 mgEQ.g<sup>-1</sup>, para flavonoides e CE<sub>50</sub> de 218,90 µg.mL<sup>-1</sup>. A formulação 2 apresentou um teor de fenólicos de 56,71 mgEAG.g<sup>-1</sup>, 5,56 mgEQ.g<sup>-1</sup> para flavonoides e CE<sub>50</sub> de 314,21 µg.mL<sup>-1</sup>. Dessa forma, a formulação 1 foi mais eficiente para a microencapsulação do extrato de própolis vermelha, tendo em vista os maiores valores de compostos bioativos e maior atividade antioxidante. **PALAVRAS-CHAVE:** Biotecnologia; Própolis; Microencapsulação.

## 1. INTRODUÇÃO

A própolis é caracterizada como um material resinoso produzido pelas abelhas a partir da coleta de materiais de diferentes fontes vegetais e exibe propriedades farmacológicas e biológicas atribuídas à presença de diferentes classes de compostos fenólicos.<sup>1</sup> Ela consiste principalmente de 50% de resina, 30% de cera, 10% de óleo essencial, 5% de pólen e 5% de outros compostos orgânicos.<sup>2</sup> Em sua composição também foram identificados elementos inorgânicos como o cobre, manganês, ferro, cálcio, alumínio, vanádio, potássio, sódio, lítio e silício.<sup>3,4</sup> A composição da própolis depende da origem geográfica e da vegetação da área em que as abelhas vivem e se alimentam.<sup>5</sup>

Com os avanços tecnológicos e através dos estudos realizados com a própolis, foi possível observar que esta possui uma elevada concentração de compostos com ação antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e anticancerígena.<sup>6</sup> Além dos benefícios à saúde, os antioxidantes naturais ganham destaque científico por serem potenciais substituintes aos antioxidantes sintéticos, devido a seu efeito equivalente ou maior na inibição da oxidação.<sup>5</sup>

A própolis se apresenta, normalmente, na sua forma bruta ou como um extrato, geralmente etanólico. Contudo, uma técnica que pode permitir maior exploração das propriedades antioxidante e antimicrobiana da própolis, fazendo com que ela se torne um possível ingrediente funcional, é a microencapsulação.<sup>7</sup> A encapsulação da própolis 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.<sup>5,7</sup>

O objetivo geral deste estudo foi microencapsular o extrato de própolis vermelha utilizando a coacervação complexa e comparar as 2 formulações obtidas com relação ao seu rendimento e conteúdo fitoquímico por espectrofotometria.

## 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

A obtenção do extrato seco de própolis foi realizada com base na metodologia de Park *et. al.*<sup>8</sup> (com adaptações), utilizando etanol 80% (1:3).

### 2.2 Coacervação Complexa

Foram elaboradas 2 formulações (Tabela 1), variando-se a concentração da proteína do soro do leite (material de parede) e a goma xantana (agente de núcleo). Com base na metodologia adaptada de Trindade *et al.*,<sup>9</sup> inicialmente, preparou-se uma solução proteica, ajustando o pH e posteriormente adicionou-se a goma xantana. O material foi acondicionado em *vials* e secos em concentrador de amostra (MiniVac, DUC-22060-N00).

**Tabela 1:** Formulações para a Coacervação Complexa.

Formulação	Whey Protein	Goma Xantana	Extrato de Própolis Vermelha (%)
F1	2,5	2,5	3,0
F2	5,0	5,0	3,0

### 2.3 Preparo dos extratos para avaliação fitoquímica

Para preparação da solução do extrato de própolis vermelha, o mesmo foi diluído em etanol a 95% na concentração 1:10 (m.v<sup>-1</sup>).<sup>9</sup> Já para o extrato do coacervado utilizou-se a proporção de 1:1 (m.v<sup>-1</sup>).

### 2.4 Análise de Compostos Fenólicos

A análise de compostos fenólicos foi realizada com base na metodologia de Singleton *et al.*<sup>10</sup> Realizando a leitura da mistura em espectrofotômetro (Femto - 700 plus) a 765 nm. O resultado foi expresso em miligrama equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mgEAG.g<sup>-1</sup>).<sup>10</sup>

### 2.5 Análise de Flavonoides

A análise foi realizada com base na metodologia de Meda *et al.*<sup>11</sup> A leitura foi realizada da mistura no espectrofotômetro (Femto - 700 plus), a 415 nm. O resultado foi expresso em miligrama equivalente quercetina por grama de amostra (mgEQ.g<sup>-1</sup>).<sup>11</sup>

### 2.6 Análise de DPPH

A análise de DPPH foi realizada com base na metodologia de Molyneux.<sup>12</sup> Utilizando a solução do extrato de própolis vermelha, nas concentrações de 50, 40, 30, 20, 10 e 5 µg.mL<sup>-1</sup> realizou-se a leitura da mistura em espectrofotômetro (Femto - 700 plus) a 517 nm. O resultado foi expresso em micrograma por grama de amostra (µg.g<sup>-1</sup>).<sup>12</sup>

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

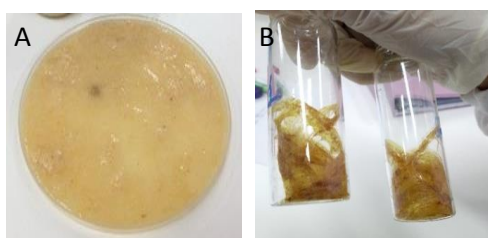
O extrato de própolis vermelha apresentou um rendimento de 39,34%. Na determinação dos compostos fenólicos totais, o extrato apresentou 161,03 mgEAG.g<sup>-1</sup>, resultado próximo a faixa relatada por Machado *et al.*<sup>3</sup> (97,97 a 300,36 mgEAG.g<sup>-1</sup>). A determinação de flavonoides totais apresentou 51,60 mgEQ.g<sup>-1</sup>, quantidade próxima a identificada por Machado *et al.*<sup>3</sup> para amostras de própolis, 58,19 mgEQ.g<sup>-1</sup>. A concentração efetiva para minimizar 50% do radical livre (CE<sub>50</sub>) foi de 27,36 µg.mL<sup>-1</sup>. Segundo Luz *et al.*<sup>6</sup>, foi identificado para a análise de DPPH do extrato de própolis do Rio Grande do Sul o valor do radical livre (CE<sub>50</sub>) foi de 90,23 µg.mL<sup>-1</sup>.

**Tabela 2:** Resultados das análises de bioativos no extrato de própolis vermelha e formulações do coacervado.

	Flavonoides (mgEQ.g <sup>-1</sup> )	Compostos Fenólicos (mgEAG.g <sup>-1</sup> )	CE <sub>50</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )
<b>Extrato</b>	51,60±0,01	161,03±0,02	27,36±0,01
<b>F1</b>	8,28±0,01	62,99±0,01	218,91±0,02
<b>F2</b>	5,56±0,08	56,71±0,02	314,21±0,02

Os coacervados F1 e F2 (Figura 1) após o processo de concentração apresentaram um rendimento em massa seca de 77% e 82%, respectivamente. A amostra do coacervado foi congelada para a manutenção das suas características bioativas e posteriormente mantida em temperatura ambiente para então uma alíquota ser concentrada. O coacervado mostrou-se tendo uma redução em massa líquida bastante considerável.

**Figura 1:** Coacervado (F1) congelado (A) e Coacervado Seco (B)



A determinação dos compostos fenólicos totais no coacervado F1 e F2 apresentaram 62,99 mgEAG.g<sup>-1</sup> e 56,91 mgEAG.g<sup>-1</sup>, com diferenças significativas entre as formulações (Tabela 1). Para flavonoides as formulações F1 e F2 apresentaram valores de 8,28 mgEQ.g<sup>-1</sup> e 5,26 mgEQ.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Em relação a atividade antioxidante, a formulação F1 também apresentou os melhores resultados para CE<sub>50</sub>(F1 = 218,90 µg.mL<sup>-1</sup> e F2 = 314,21 µg.mL<sup>-1</sup>). Valores inferiores de CE<sub>50</sub> foram encontrados por Trindade *et al.*<sup>9</sup> (84,1 µg.mL<sup>-1</sup> e 84,94 µg.mL<sup>-1</sup>). Dessa forma, a utilização de menores concentrações de material de parede e material de núcleo foram mais eficientes para a encapsulação do extrato de própolis vermelha.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos testes realizados foi possível avaliar que o extrato etanólico produzido a partir de própolis vermelha, apresentou rendimento de 39,34%, fenólicos 161,03 mgEAG.g<sup>-1</sup>, flavonoides 51,60 mgEQ.g<sup>-1</sup> e DPPH 27,36 µg.mL<sup>-1</sup>. As duas formulações de coacervado apresentaram rendimento de 77% e 82%, fenólicos 62,99 mgEAG.g<sup>-1</sup> e 56,91 mgEAG.g<sup>-1</sup>, flavonoides 8,28 mgEQ.g<sup>-1</sup> e 5,26 mgEQ.g<sup>-1</sup> e DPPH 218,9083 µg.mL<sup>-1</sup> e 314,21 µg.mL<sup>-1</sup>. Os resultados encontrados foram expressivos, evidenciando o potencial tecnológico do material desenvolvido. Além do que foi obtido no presente trabalho, pretende-se desenvolver um material encapsulado por *Spray-Dryer* a partir da mesma matéria-prima e realizar a caracterização das propriedades bioativas do material.

#### Agradecimentos

O autor agradece ao SENAI CIMATEC pela estrutura laboratorial e a FAPESB pelo apoio a pesquisa.

#### REFERÊNCIAS

- 1 MACHADO, B. A. S. **Caracterização biológica de extratos de própolis de diferentes regiões geográficas obtidos por Extração com Fluido Supercrítico e Extração Etanólica**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015.
- 2 PELLATI, F.; ORLANDINIA, G.; PINETTI, D.; BENVENUTI, S. **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.
- 3 MACHADO, B. A. S.; SILVA, R. P. D.; BARRETO, G. A.; COSTA, S. S.; SILVA, D. F.; BRANDÃO, H. N. **Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil**. *Plos One*, 2016.
- 4 MARCUCCI, M. C. **Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis**. *Química Nova*, v. 19, p. 529-536, 1996.
- 5 ALENCAR, S. M. **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.
- 6 BARBARIĆ, M., MIŠKOVIĆ, K., BOJIĆ, M., LUZ, M. B., SMOLČIĆ-BUBALO, A., DEBELJAK, Ž. MEDIĆ-SARIĆ, M. **Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells**. *Journal of Ethnopharmacology*, 135: 772 – 778, 2011.
- 7 Da SILVA, F. C. DA FONSECA, C. R., DE ALENCAR, S. M., THOMAZINI, M., BALIEIRO, J. C. DE C., PITTIA, P., FAVARO-TRINDADE, C. S. **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.
- 8 PARK, Y. P. **Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 3, p. 313-318, 1998.
- 9 TRINDADE S. F, Carmen. **A microencapsulação de extrato de própolis por coacervação complexa**. Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. São Paulo, 2011.
- 10 SINGLETON VL., ORTHOFER R, LAMUELA-RAVENTOS RM. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent**. *Meth Enzymol*. 1999; 299: 152–178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- 11 MEDA A., LAMIEN CE, ROMITO M, MILLOGO J, NACOULMA OG. **Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity**. *Food Chem*. 2005; 91(3): 571–577. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.006
- 12 MOLYNEUX, P. **The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity**. *Warasan Songkhla Nakharin*. 2004; 26(2): 211–219. doi: 10.4236/fns.2013.48A001