



**CENTRO UNIVERSITÁRIO SENAI CIMATEC**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU***  
**GESTÃO E TECNOLOGIA INDUSTRIAL**

**TAÍS MAIA DA COSTA LIMA**

**OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA POR  
COACERVAÇÃO COMPLEXA E ATOMIZAÇÃO POR PULVERIZAÇÃO (*SPRAY DRYER*)**

Salvador

2020

TAÍS MAIA DA COSTA LIMA

OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E ATOMIZAÇÃO POR PULVERIZAÇÃO (*SPRAY DRYER*)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Centro Universitário SENAI CIMATEC como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Gestão e Tecnologia Industrial.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Bruna Aparecida Souza Machado

Salvador

2020

CENTRO UNIVERSITÁRIO SENAI CIMATEC

Mestrado Profissional em Gestão e Tecnologia Industrial

A Banca Examinadora, constituída pelos professores abaixo listados, aprova a Defesa de Mestrado, intitulada "OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E ATOMIZAÇÃO POR PULVERIZAÇÃO (SPRAY DRYER)" apresentada no dia 10 de fevereiro de 2020, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Mestre em Gestão e Tecnologia Industrial.

Orientadora:

  
Prof.ª Dr.ª Bruna Aparecida Souza Machado  
SENAI CIMATEC

Membro Interno:

  
Prof.ª Dr.ª Edna dos Santos Almeida  
SENAI CIMATEC

Membro Externo:

  
Prof. Dr. Marcelo Andres Umsza-Guez  
UFBA

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do Centro Universitário SENAI CIMATEC

L732o Lima, Taís Maia da Costa

Obtenção de microcápsulas de extrato de própolis vermelha por coacervação complexa e atomização por pulverização (SprayDryer) / Taís Maia da Costa Lima. – Salvador, 2020.

59 f. : il. color.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bruna Aparecida Souza Machado.

Dissertação (Mestrado em Gestão e Tecnologia Industrial) – Programa de Pós-Graduação, Centro Universitário SENAI CIMATEC, Salvador, 2020.

Inclui referências.

1. Microencapsulação. 2. Coacervação complexa. 3. Spray dryer. 4. Extrato de própolis vermelha. I. Centro Universitário SENAI CIMATEC. II. Machado, Bruna Aparecida Souza. III. Título.

CDD: 664.028

TAÍS MAIA DA COSTA LIMA

OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DE PRÓPOLIS  
VERMELHA POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E ATOMIZAÇÃO POR  
PULVERIZAÇÃO (*SPRAY DRYER*)

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em  
Gestão e Tecnologia Industrial, Centro Universitário SENAI CIMATEC

Aprovada em 10 de fevereiro de 2020.

Banca Examinadora

Prof<sup>a</sup>. Dra. Bruna Aparecida Souza Machado – Orientadora

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Sergipe, Brasil (2015)

Prof.<sup>a</sup> Associada do Centro Universitário SENAI CIMATEC

Prof<sup>a</sup>. Dra. Edna dos Santos Almeida

Doutora em Química pela Universidade Estadual de Campinas, Brasil (2004)

Prof.<sup>a</sup> Adjunta do Centro Universitário SENAI CIMATEC

Prof. Dr. Marcelo Andres Umsza-guez

Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual Paulista - Júlio  
de Mesquita Filho, Brasil (2009)

Professor Adjunto da Universidade Federal da Bahia, Brasil

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Organização Leão do Norte Ltda. e a todos desta empresa que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste mestrado. Agradeço especialmente ao Senhor Eduardo Queiroz da Costa Lima.

A minha orientadora, Dra. Bruna Aparecida Souza Machado pela confiança em sugerir o tema da pesquisa e todo apoio prestado em forma de material, técnicas utilizadas e esclarecimentos durante o desenvolvimento e conclusão desse trabalho.

Ao SENAI e a toda equipe do Laboratório de Biotecnologia do CIMATEC, principalmente as amigas queridas Gabriele de Abreu Barreto, Katharine Valéria Saraiva Hodel, Ingrid Lessa Leal, Fernanda Almeida de Almeida e Larissa Souza Cardeal de Miranda pela disponibilidade e paciência que demonstraram ter, sendo elas fundamentais no decorrer da fase experimental do trabalho.

Um agradecimento especial aos meus filhos Enzo e Henrique e ao meu marido Miguel que nunca desistiram de mim e a Deus por permitir que eu nunca desistisse, por todo o seu amor e por me conceder coragem nessa trajetória.

## RESUMO

A própolis é produzida por abelhas operárias a partir da coleta de diferentes partes de plantas. Estudos apontam diversas propriedades farmacológicas para extrato de própolis, como antimicrobiana, anti-inflamatória, anticarcinogênica, antioxidante, entre outras. A aplicação do extrato de própolis em alimentos ainda é limitada, pois além de ser solúvel preferencialmente em soluções alcoólicas, apresenta intenso sabor e aroma. Para evitar tais características sensoriais, objetiva-se microencapsular o extrato de própolis vermelha utilizando duas rotas tecnológicas, coacervação complexa e atomização por *spray dryer*, bem como, realizar a caracterização e análises comparativas das microcápsulas obtidas. Foram utilizados goma xantana (GX), proteína isolada de soja (SPI) e proteína do soro do leite (*whey protein*) como agentes encapsulantes em duas concentrações (2,5 e 5g/100mL), totalizando 16 formulações (C1 - C8 e S1 - S8). O extrato de própolis foi caracterizado por espectrofotometria, quanto ao teor de flavonoides totais (415nm) e obteve-se o teor de 51,60 mgEQ.g<sup>-1</sup>, compostos fenólicos (765nm) 161,03 mgEAG.g<sup>-1</sup> e na análise de DPPH foi obtido 85,80% de atividade antioxidante, similar ao encontrado na literatura. Obteve-se um maior rendimento na formulação S2 de 50,08%, no entanto, com baixa eficiência de encapsulação (15,46%). As formulações com maior eficiência de encapsulação foram C1 e C5 com 85,31% ambas e com rendimento de 45 e 41% respectivamente. Quanto a caracterização de compostos bioativos a formulação C5 apresentou maior quantidade de flavonoides (12,99 mgEQ.g<sup>-1</sup>), compostos fenólicos totais (77,82 mgEAG.g<sup>-1</sup>) e atividade antioxidante (83,36%). As formulações obtidas por coacervação (C1-C8) não apresentaram diferenças significativas no teor de umidade e higroscopicidade, sendo que todas as formulações apresentaram baixo potencial higroscópico. Nas análises de atividade de água, os dois métodos apresentaram um comportamento similar, dentro do padrão, sendo que a S2 (0,327) apresentou melhor resultado. Dessa forma, pode-se concluir, com base nos resultados e ensaios realizados, que foi possível microencapsular o extrato de própolis vermelha, utilizando as duas rotas tecnológicas, obtendo um melhor resultado, através da coacervação complexa, utilizando 2,5% de proteínas de soja (SPI) e 2,5% de goma xantana (GX).

Palavras-chave: microencapsulação; coacervação complexa; *spray dryer*; extrato de própolis vermelha.

## ABSTRACT

Propolis is produced by worker bees from the collection of different parts of plants. Studies point to several pharmacological properties for propolis extract, such as antimicrobial, anti-inflammatory, anticarcinogenic, antioxidant, among others. The application of propolis extract in food is still limited, because in addition to being soluble preferably in alcoholic solutions, it has intense flavor and aroma. To avoid such sensory characteristics, the objective is to microencapsulate the red propolis extract using two technological routes, complex coagulation and spray dryer atomization, as well as perform the characterization and comparative analyses of the microcapsules obtained. Xanthan gum (GX), soy protein (SPI) and whey protein were used as encapsulating agents in two concentrations (2.5 and 5g/100mL), totaling 16 formulations (C1 - C8 and S1 - S8). Propolis extract was characterized by spectrophotometry, regarding the total flavonoid content (415nm) and the content of 51.60 mgEQ.g<sup>-1</sup> was obtained, phenolic compounds (765nm) 161.03 mgEAG.g<sup>-1</sup> and in the analysis of DPPH, 85.80% of antioxidant activity was obtained, similar to that found in the literature. A higher yield was obtained in the formulation S2 of 50.08%, however, with low encapsulation efficiency (15.46%). The formulations with higher encapsulation efficiency were C1 and C5 with 85.31% both and with yield of 45% and 41% respectively. Regarding the characterization of bioactive compounds, formulation C5 presented a higher amount of flavonoids (12.99 mgEQ.g<sup>-1</sup>), total phenolic compounds (77.82 mgEAG.g<sup>-1</sup>) and antioxidant activity (83.36%). Formulations C1 to C8 did not present significant differences in moisture content and hygroscopicity, and all formulations presented low hygroscopic potential. In water activity analyses, the two methods presented a similar behavior, within the standard, and S2 (0.327) presented better results. Thus, it can be concluded, based on the results and tests performed, that it was possible to microencapsulate the extract of red propolis, using the two technological routes, obtaining a better result, through complex coagulation, using 2.5% of soybean proteins (SPI) and 2.5% xanthan gum (GX).

Keywords: microencapsulation; complex coagulation; spray dryer; red propolis extract.

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 3

Tabela 1 - Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas e origem botânica.....22

Tabela 2 - Principais vantagens, desvantagens e aplicações dos métodos de microencapsulação por coacervação complexa e por *spray dryer*.....29

Tabela 3 - Estudos de microencapsulação da própolis.....30

### Capítulo 4

Tabela 4 – Desenho experimental das formulações submetidas a microencapsulação pelo método de coacervação complexa (C) e pelo método de *spray dryer* (S).....34

### Capítulo 5

Tabela 5 – Umidade, atividade de água ( $a_w$ ) e higroscopicidade das microcápsulas do extrato de própolis vermelha (média  $\pm$  desvio).....41

Tabela 6 – Resultados das análises de bioativos, atividade antioxidante e eficiência de encapsulação das microcápsulas do extrato de própolis vermelha (média  $\pm$  desvio).....44

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 3

- Figura 1 – Própolis Vermelha Bruta.....23
- Figura 2 – Estruturas químicas dos compostos químicos presentes na própolis vermelha.....24
- Figura 3 – Tipos de microencapsulação da própolis vermelha.....26

### Capítulo 4

- Figura 4 – Fluxograma do delineamento da pesquisa.....33

### Capítulo 5

- Figura 5 – Avaliação visual das formulações obtidas pelo processo de coacervação (C1 – C8) e *spray dryer* (S1 – S8).....38
- Figura 6 – Rendimento das formulações C1 a C8 e S1 a S8.....40

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Aa = Absorbância da amostra

Ab = Absorbância do branco

AlCl<sub>3</sub> - Cloreto de alumínio

(aw) - Atividade de água

C1 – C8 – Coacervação Complexa (formulações de 1 a 8)

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

EE - Eficiência de encapsulação

FIEB – Federação das Indústrias do Estado da Bahia

GX - Goma xantana

HCl - Ácido clorídrico

Mcs = Massa do encapsulado seco

Mt = Massa teórica

NaCl – Cloreto de sódio

NaOH - Hidróxido de sódio

pH – Potencial hidrogeniônico

Pi = Peso inicial do encapsulado

Pf = Peso do encapsulado em equilíbrio com o ambiente exposto

SENAI - Serviço Nacional de Aprendizado Industrial

SPI - Proteína isolada de soja

S1 – S8 – *Spray Dryer* (formulações de 1 a 8)

W1 = Compostos fenólicos antes da ruptura

W2 = Compostos fenólicos depois da ruptura

## SUMÁRIO

---

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	14
<b>Capítulo 1. Introdução Geral</b> .....	15
<b>Capítulo 2. Objetivos</b> .....	19
2.1 Objetivo Geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
<b>Capítulo 3. Revisão de Literatura</b> .....	20
3.1 Própolis.....	20
3.2 Tipos de Própolis.....	21
3.2.1 Própolis Marrom.....	22
3.2.2 Própolis Verde.....	23
3.2.3 Própolis Vermelha.....	23
3.3 Microencapsulação.....	25
3.3.1 Microencapsulação por Coacervação Complexa.....	27
3.3.2 Microencapsulação por atomização ( <i>spray dryer</i> ).....	28
3.4 Materiais encapsulantes.....	29
3.4.1 Goma xantana.....	31
3.4.2 Proteína isolada de soja (SPI).....	31
3.4.3 Proteína do soro do leite ( <i>Whey Protein</i> ).....	32
<b>Capítulo 4. Materiais e Métodos</b> .....	33
4.1. Materiais.....	33
4.2 Produção do extrato de própolis vermelha.....	33
4.3 Produção das microcápsulas.....	34
4.3.1. Microencapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa.....	34
4.3.2 Microencapsulação do extrato de própolis por <i>spray dryer</i> .....	35

4.4. Rendimento .....	35
4.5. Caracterização físico-química .....	35
4.5.1 Umidade e atividade de água ( $a_w$ ).....	35
4.5.2 Determinação de higroscopicidade .....	35
4.6 Caracterização dos compostos bioativos do extrato de própolis vermelha e das microcápsulas do extrato de própolis .....	36
4.6.1. Determinação de compostos fenólicos totais .....	36
4.6.2. Determinação de flavonoides totais .....	36
4.6.3. Determinação da atividade antioxidante .....	36
4.7. Ruptura das microcápsulas e eficiência de encapsulação .....	37
4.8. Análise estatística.....	37
<b>Capítulo 5. Resultados e Discussão .....</b>	<b>38</b>
5.1 Microencapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa e por <i>spray dryer</i> .....	38
5.2. Rendimento .....	39
5.3 Caracterização físico-química das microcápsulas .....	40
5.4 Caracterização dos compostos bioativos do extrato de própolis e das microcápsulas do extrato de própolis .....	42
<b>Capítulo 6. Considerações Finais.....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>

## APRESENTAÇÃO

O presente trabalho foi organizado no formato de capítulos para uma melhor apresentação e entendimento do mesmo, possuindo no total 6 (seis) capítulos. Cada capítulo refere-se a um item específico do trabalho, conforme descrito a seguir:

O Capítulo 1 constitui a introdução geral da dissertação. Neste capítulo são abordados, de forma resumida, aspectos relacionados a própolis e seu potencial biológico, o potencial de aplicação do extrato em produtos e as limitações na área alimentícia, a descrição das técnicas de microencapsulação por coacervação complexa e por atomização por pulverização (*spray dryer*) e a justificativa para a microencapsulação do extrato de própolis visando a sua aplicação em alimentos.

O Capítulo 2 constitui os objetivos da dissertação. Neste capítulo é abordado o objetivo geral e detalhados os objetivos específicos do trabalho.

O Capítulo 3 constitui a revisão de literatura. Neste capítulo foram avaliados de forma mais aprofundada a própolis vermelha e suas propriedades farmacológicas, as técnicas de microencapsulação por coacervação complexa e atomização por pulverização (*spray dryer*), assim como os materiais encapsulantes, como a goma xantana (GX), a proteína isolada de soja (SPI) e a proteína do soro do leite (*whey protein*).

O Capítulo 4 constitui o Material e Métodos e traz detalhadamente a metodologia aplicada no presente trabalho.

O Capítulo 5 constitui os Resultados e a Discussão, onde são determinadas as melhores condições de processo para obtenção de microcápsulas do extrato etanólico da própolis vermelha da Bahia através da coacervação complexa e atomização por pulverização (*spray dryer*) utilizando diferentes matrizes de polissacárido e proteínas como agentes encapsulantes.

Por fim, no Capítulo 6 é apresentado as considerações finais do presente trabalho.

## Capítulo 1. Introdução Geral

A própolis é uma mistura complexa formada por material resinoso e balsâmico de origem vegetal, coletada por abelhas operárias de diferentes espécies, com a finalidade de vedar os orifícios do favo e assim proteger a colmeia contra microrganismos e invasores. Tem sido utilizada pelo homem na medicina popular desde a antiguidade (DUARTE *et al.*, 2003; CASTRO *et al.*, 2007; PELLATI *et al.*, 2011; VALADARES *et al.*, 2015; DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018).

Nas últimas décadas, a própolis vem sendo extensivamente investigada e diversas pesquisas apontam que o consumo regular do extrato e/ou produtos contendo própolis contribui para a diminuição do risco de diferentes patologias devido as propriedades farmacológicas dos compostos presentes nessa matriz, que tem ação antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, anticarcinogênica, cicatrizante, antioxidante, entre outras (FUNARI e FERRO, 2006; SFORCIN, 2007; BARBARIĆ *et al.*, 2011; MARTINOTTI; RANZATO, 2015).

Devido a essas propriedades, existem vários produtos disponíveis no mercado contendo própolis, como pasta de dente, sabão, xarope, balas e doces (RISTIVOJEVIĆ *et al.*, 2015), sendo os seus extratos aplicados nesses produtos farmacêuticos e alimentícios com função de aditivo natural e de ingrediente funcional (BANKOVA *et al.*, 2000; NORI *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2011; HUANG *et al.*, 2014).

Os processos de extração estão diretamente relacionados com as atividades apresentadas pelos extratos obtidos, apresentando assim diferentes resultados biológicos e de composição química a depender do método utilizado para uma mesma amostra (MACHADO *et al.*, 2015; COTTICA *et al.*, 2015; REIS *et al.*, 2019). Esta flexibilidade permite que as condições de extração sejam adequadas conforme as necessidades específicas do produto a ser extraído, como também as necessidades do produto final desejado (MACHADO *et al.*, 2013).

A própolis brasileira é muito valorizada no mercado, principalmente o internacional, sendo um dos principais produtores mundiais, com uma produção estimada de 50 a 150 toneladas por ano, cerca de 75% desse total é exportado, especialmente para o Japão (SALATINO *et al.*, 2011; MENDONÇA-MELO *et al.*, 2017).

Em território brasileiro, 13 diferentes tipos de própolis já foram classificados, incluindo a marrom, verde e vermelha, baseando-se nas características físico-químicas e

propriedades biológicas (SANTOS *et al.*, 2019). A própolis vermelha foi a última a ser classificada, sendo originária dos manguezais do Norte e Nordeste do Brasil e apresenta uma coloração vermelha intensa, além de uma composição química diferenciada comparada aos outros 12 tipos de própolis brasileira (ALENCAR *et al.*, 2007; CABRAL *et al.*, 2009), graças aos teores de compostos fenólicos mais elevados do que todas as outras própolis já caracterizadas (FREIRES; ALENCAR; ROSALEN, 2016).

Apesar das benéficas propriedades antioxidantes e funcionais presentes no extrato de própolis, duas características limitam sensorialmente a aplicação dessa matriz em alimentos: i) maior solubilidade em soluções alcoólicas, o que limita o seu uso em alguns produtos devido aos malefícios que o álcool pode causar ao organismo; e ii) seu sabor amargo e forte aroma característico (NORI *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2011).

Assim, a microencapsulação pode ser uma alternativa para reduzir as limitações tecnológicas da aplicação do extrato de própolis em alimentos, já que consegue mascarar o sabor residual amargo, o aroma e a adstringência (BALLESTEROS *et al.*, 2017), por meio de um transportador apropriado, a microencapsulação vai proteger os compostos bioativos encapsulados de condições ambientais desfavoráveis, aumentando a sua estabilidade, prolongando e melhorando o tempo a vida útil (RUDKE *et al.*, 2019).

Vários métodos são utilizados na microencapsulação de compostos, como *spray-dryer*, *spray cooling*, coacervação, extrusão, recobrimento em leite fluidizado, lipossomas, complexação por inclusão, entre outros (FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2008).

De forma geral, a coacervação complexa envolve a interação de polieletrólitos de cargas opostas em meio aquoso (WARNAKULASURIYA; NICKERSON, 2018), principalmente proteínas e polissacarídeos, que podem formar um invólucro envolvendo o material do núcleo (TIMILSENA *et al.*, 2019). O processo de coacervação é uma tecnologia de microencapsulação com elevada eficiência de encapsulação, como também, facilidade de liberação controlada de seu conteúdo pelo esforço mecânico, por mudanças de temperatura ou de pH (COTTICA *et al.*, 2015).

Por muitos anos, esta técnica tem sido utilizada pela indústria de alimentos e farmacêutica para a encapsulação de compostos, obtenção de sistemas de liberação controlada e para aumentar a estabilidade de formulações, além de ocultar o sabor, sendo atualmente considerado um dos métodos mais eficazes de microencapsulação (XIAO *et al.*, 2014; MOSCHAKIS; BILIADERIS, 2017).

Já a microencapsulação através do processo de secagem por atomização (*spray dryer*) consiste na transformação de um produto no estado fluido para o estado sólido em forma de pó, através da dispersão de gotículas do material no interior de uma câmara, ficando em contato com ar quente (SALAMA, 2020).

Essa técnica tornou-se o principal método para secagem de materiais fluidos que apresentam sensibilidade ao calor, como alimentos e materiais biológicos (VERMA; SINGH, 2015). As principais vantagens deste tipo de secagem são: o seu baixo custo operacional, devido ao seu modo de operação contínuo e a alta capacidade de secagem, e o reduzido tempo de permanência do material na câmara de secagem, que diminui o dano térmico causado ao produto (COSTA *et al.*, 2015; POOZESH; BILGILI, 2019).

Independentemente do método de microencapsulação utilizado, a escolha do material de revestimento é muito importante para que haja eficiência na encapsulação, para preservação das propriedades bioativas e para garantir a estabilidade das micropartículas obtidas (YE; GEORGES; SELOMULYA, 2018).

Como material encapsulante podem ser utilizados hidrolisados de amidos, celulosas, gomas, carboidratos, lipídios e as proteínas (KAUSHIK, *et al.*, 2015). Outra característica importante, principalmente para o uso em produtos alimentícios, é que sejam atóxicos, possuam um mecanismo de liberação eficiente e que não possibilite reatividade com o material a ser encapsulado (MOSCHAKIS; BILIADERIS, 2017).

Entre os diversos materiais de revestimento, a goma xantana, proteína isolada de soja (SPI) e a proteína do soro do leite (*whey protein*), são amplamente conhecidas e utilizadas, tanto na indústria de alimentos como na indústria farmacêutica (KUMAR; RAO; HAN, 2018; MEMON *et al.*, 2019; HA *et al.*, 2019).

Apesar de existirem alguns trabalhos na literatura que são relacionados à microencapsulação dos extratos de própolis, como Nori *et al.*, (2011); Da Silva *et al.*, (2013); Busch *et al.*, (2017); Pratami *et al.*, (2019), através das tecnologias de coacervação complexa e, principalmente, *spray dryer*, ainda há um grande desafio para a indústria de alimentos na utilização desse ingrediente funcional, devido principalmente a característica sensorial do produto, a escolha do método de microencapsulação, é importante avaliar a interação do extrato de própolis com os agentes encapsulantes, a preservação dos compostos bioativos, o tamanho das partículas, aplicação do produto final, os mecanismos de liberação, a escala de produção e o custo final.

Neste contexto, a justificativa deste trabalho baseia-se em três pontos principais:

(1) identificar as condições de processos ideais para obtenção de microcápsulas de extrato de própolis vermelha com elevados teores de compostos biologicamente ativos, utilizando duas técnicas diferentes de microencapsulação: a coacervação complexa e a atomização por *spray dryer*, o que é de grande importância e interesse para as indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética, tendo em vista o potencial de aplicação destas microcápsulas em novos produtos;

(2) conhecer o perfil químico e potencial de aplicação de microcápsulas de própolis vermelha, através da análise dos compostos biologicamente bioativos, visto que é de grande relevância para a comunidade científica e industrial, pois, além de contribuir para a valorização desta matéria-prima, revela o potencial para aplicação em novos produtos; e, ainda

(3) realizar uma análise comparativa entre as duas técnicas empregadas para a obtenção de microcápsulas de própolis vermelha, o que contribui para posicionar estudos futuros ou desenvolvimento de novos produtos utilizando o método mais eficiente para obtenção das microcápsulas a depender do seu tipo de aplicação. Destaca-se, por fim, que são escassos os estudos que investigam a obtenção de microcápsulas de própolis vermelha e que utilizem métodos distintos para a obtenção das microcápsulas.

## Capítulo 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi realizar a microencapsulação do extrato etanólico da própolis vermelha utilizando duas rotas tecnológicas, a microencapsulação por coacervação complexa e a atomização (*spray dryer*), bem como, caracterizar e comparar as microcápsulas obtidas nas diferentes condições de processo.

### 2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos deste estudo, destaca-se:

- (1) Obter e caracterizar o extrato etanólico de própolis vermelha em relação ao teor total de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante;
- (2) Obter microcápsulas de extrato de própolis vermelha pelo método de coacervação complexa (C1 a C8) e por *spray dryer* (S1 a S8) utilizando concentrações variáveis de goma xantana, proteína isolada de soja e proteína do soro do leite (*Whey Protein*) como agentes encapsulantes, totalizando 16 formulações;
- (3) Determinar as características físico-químicas das amostras microencapsuladas através das análises de umidade, atividade de água ( $a_w$ ) e higroscopicidade;
- (4) Determinar o potencial antioxidante das amostras microencapsuladas através das análises de compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante;
- (5) Avaliar comparativamente as dezesseis formulações e definir qual o melhor material de parede, núcleo e rota tecnológica para realizar a microencapsulação do extrato de própolis vermelha.

## Capítulo 3. Revisão de Literatura

### 3.1 Própolis

Etimologicamente, o termo própolis é derivado do grego, cujo prefixo “pró” significa, a favor ou em defesa, enquanto, a palavra “polis” significa comunidade ou cidade. Esta nomenclatura foi assim atribuída em virtude à eficiência na participação desta substância na defesa da colmeia (CAPASSO e CASTALDO, 2002; PEREIRA *et al.*, 2015).

A própolis é utilizada pelas abelhas contra a invasão de outros insetos e de microrganismos, para selar orifícios nos seus favos de mel, bem como para cobrir carcaças de intrusos que morreram no interior da colmeia, a fim de evitar a sua decomposição e manter o ambiente asséptico. (CASTRO, 2007; CORNARA *et al.*, 2017; DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018).

O primeiro relato sobre a utilização da própolis como um remédio na medicina popular, é tão antiga quanto a utilização do mel, remonta de 300 a.C., gregos e romanos já conheciam suas qualidades de cura em geral como antimicrobianos em ferimentos e em lesões da pele, os Incas a empregavam como antipirético (BANKOVA *et al.*, 2000; CAPASSO e CASTALDO, 2002; VEIGA *et al.*, 2017; PAZIN *et al.*, 2017).

A própolis é uma substância resinosa de consistência cerosa, produzida pelas abelhas operárias a partir de brotos, folhas, flores e exsudatos de plantas, onde são mastigadas e acrescentadas secreções salivares, pólen e ceras para obtenção do produto final (SANTOS *et al.*, 2003; DUARTE *et al.*, 2003; PELLATI *et al.*, 2011 VALADARES *et al.*, 2015; HODEL *et al.*, 2020).

Possui um odor característico e propriedades adesivas que interagem com óleos e proteínas da pele. Sua coloração depende da origem geográfica e, conseqüentemente, da fonte vegetal coletada para sua elaboração (BANKOVA *et al.*, 2000; ALENCAR *et al.*, 2007; CABRAL *et al.*, 2009).

Em geral, a própolis *in natura* é composta basicamente por 50% de substâncias resinosas e balsâmicas, 25 a 35% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen e 5% de outras substâncias orgânicas e minerais (PARK *et al.*, 2002; HUANG *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2019).

Atualmente, mais de 420 constituintes foram identificados, incluindo diversas substâncias antioxidantes tais como poli fenóis, quinonas, cumarinas, esteroides, ácidos

aminados, compostos inorgânicos e compostos fenólicos (POBIEGA; KRAŚNIEWSKI; GNIEWOSZ, 2019).

Nas últimas décadas, tais constituintes da própolis, são de muito interesse dos pesquisadores, devido a suas diversas propriedades (FREIRES; ALENCAR; ROSALEN, 2016; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI; 2018), antitumoral (MORA *et al.*, 2019), antihiperlipidêmica (ZAKERKISH *et al.*, 2019), antimicrobiana (PRZYBYŁEK e KARPINSKI, 2019), antiviral (LABSKÁ *et al.*, 2018), além de atuar prevenindo e tratando resfriados, feridas e úlceras (HUANG *et al.*, 2014; MARTINOTTI; RANZATO, 2015), incluindo atividade antioxidante (RUBINHO *et al.*, 2019).

Sendo assim, a própolis pode ser considerada uma fonte de compostos bioativos interessantes para a utilização como alimento funcional ou nutracêutico (NANI *et al.*, 2019), as propriedades antimicrobianas e antioxidantes são de grande valia, para retardar a oxidação lipídica, tendo efeito positivo na estabilidade dos produtos, como refrigerantes, pois é capaz de impedir o crescimento de bactérias, leveduras e fungos durante o tempo de armazenamento (SANTOS *et al.*, 2019; VASILAKI *et al.*, 2019).

Portanto, os produtos contendo extrato de própolis têm sido comercializados intensamente pela indústria farmacêutica, alimentícia e lojas de produtos naturais em todo mundo, principalmente no Japão (MENDONÇA-MELO *et al.*, 2017).

Segundo Cordeiro *et al.* (2015), devido à ampla variedade da própolis brasileira, houve a partir do ano de 2000, a necessidade dos pesquisadores estudarem amostras de própolis coletadas de todas as regiões do Brasil, objetivando classificá-las a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas.

### **3.2 Tipos de Própolis**

A própolis possui odor e coloração característicos que dependem da origem geográfica e da fonte vegetal coletada para sua elaboração que varia entre o amarelo, verde, vermelho intenso, marrom e preto (BANKOVA *et al.*, 2000; ALENCAR *et al.*, 2007; CABRAL *et al.*, 2009; HODEL *et al.*, 2020). Em território brasileiro, treze diferentes tipos de própolis já foram classificados, baseando-se na sua composição físico-química e por sua origem botânica (Tabela 1) (PARK *et al.*, 2002; TRUSHEVA *et al.*, 2006; ALENCAR *et al.*, 2007; DAUGSCH *et al.*, 2008), mas somente a própolis marrom, verde e vermelha são comercializadas.

Tabela 1. Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas e origem botânica.

<b>Própolis</b>	<b>Cor</b>	<b>Principais Constituintes</b>	<b>Origem</b>
Tipo 1	Amarela	Triterpenoides	Região Sul
Tipo 2	Castanho claro	Flavonoides e derivados de ácido cinâmico	Região Sul
Tipo 3	Castanho escuro	Ácido caféico, flavonoides, crisina e galangina	Região Sul
Tipo 4	Castanho claro	Ácido cinâmico e derivados	Região Sul
Tipo 5	Marrom esverdeado	Flavonoides e derivados de ácido cinâmico	Região Sul
Tipo 6	Marrom avermelhado	Ácidos graxos, compostos aromáticos, terpenoides e flavonoides	Região Nordeste
Tipo 7	Marrom esverdeado	Flavonoides e derivados de ácido benzoico	Região Nordeste
Tipo 8	Castanho escuro	Flavonoides e derivados de ácido benzoico	Região Nordeste
Tipo 9	Amarelo	Derivados de ácido cinâmico	Região Nordeste
Tipo 10	Castanho escuro	Sesquiterpenos	Região Nordeste
Tipo 11	Amarelo	Diterpênios	Região Nordeste
Tipo 12	Verde e Marrom esverdeado	Compostos fenólicos, flavonoides, artepillin C, baccarina, flavona, cetonas, aldeídos aromáticos, alcoóis, terpenos, ácidos graxos	Região Sudeste
Tipo 13	Vermelha	Compostos fenólicos, flavonoides, formononetina pinocembrina, rutina, quercetina, ácido ferúlico	Região Nordeste

Fonte: adaptado de PARK *et al.*, 2000 e Franchin *et al.*, 2017.

### 3.2.1 Própolis Marrom

A própolis marrom é amplamente produzida em todo o território nacional, é coletada pelas abelhas em diversos tipos de vegetação e possui uma coloração entre o marrom claro a escuro dependendo de sua origem (PARK, 2002). Possui em sua composição enzimas, flavonoides, compostos fenólicos, entre outros, em concentrações mais baixas comparadas com a própolis verde e vermelha (PICOLI, 2016), mesmo assim, seus compostos bioativos possuem propriedades antibacterianas e são capazes de inibir o estresse oxidativo (ZACCARIA *et al.*, 2017; OLIVEIRA-DEMBOGURSKI *et al.*, 2018).

### 3.2.2 Própolis Verde

A própolis verde, classificada como tipo 12 é originária da planta alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) e destaca-se pela composição dos compostos prenilados e derivados do ácido cinâmico (estando entre eles a artepelina C, ácido p-cumárico e drupanina), flavonoides, ácido benzoico, ácidos alifáticos e ésteres, além de possuir alcanos e terpenoides (MACHADO *et al.*, 2015; PEDRAZZI *et al.*, 2015). A artepelina C é o composto mais popular e importante relatado em estudos, pois confere a este tipo de própolis diversas atividades biológicas e a possibilidade de sua utilização como antimicrobiano alternativo à inibição de microrganismos resistentes à antibióticos (VEIGA *et al.*, 2017). Na indústria de alimentos, extrato de própolis verde pode ser utilizado como antimicrobiano ou antioxidante em produtos alimentícios. O estudo de Correa *et al.* (2019) confirma o potencial do extrato de própolis verde contra bactérias do tipo deterioradoras e leveduras no queijo Gongonzola e sugere o seu uso como conservante, reduzindo assim os níveis antibióticos ingeridos pelo consumidor.

### 3.2.3 Própolis Vermelha

A própolis vermelha (Figura 1) foi a última a ser classificada (tipo 13), apresenta uma coloração vermelha intensa, sendo originária da região litorânea e nos mangues do Nordeste brasileiro, em Cuba, Venezuela e no México. É obtida a partir de *Dalbergia ecastophyllum* conhecida como rabo-de-bugio (VALADARES *et al.*, 2015). Atualmente, uma atenção especial é dada à própolis vermelha brasileira devido ao potencial de descoberta de moléculas bioativas até então desconhecidas na literatura química (FREIRES; ALENCAR; ROSALEN, 2016).



Figura 1 - Própolis Vermelha Bruta

Vários compostos distintos já foram identificados na própolis vermelha brasileira, incluindo isoflavonoides, pterocarpanos, chalconas, flavonoides, benzofenonas preniladas, terpenos e taninos (Figura 2). Os marcadores químicos desse tipo de própolis são as isoflavononas, incluindo formononetina, biochanin A, pinocembrina e medicarpin (FREIRES; ALENCAR; ROSALEN, 2016). A própolis vermelha possui teores de compostos fenólicos mais elevados do que todas as outras própolis caracterizadas anteriormente, como agliconas, ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos e cetonas (REIS *et al.*, 2019). Devido a essas características diferenciadas é também considerada um alimento funcional, pois os compostos ativos em seu extrato são documentados como benéficos à saúde (FREIRES; ALENCAR; ROSALEN, 2016; SANTOS *et al.*, 2019).

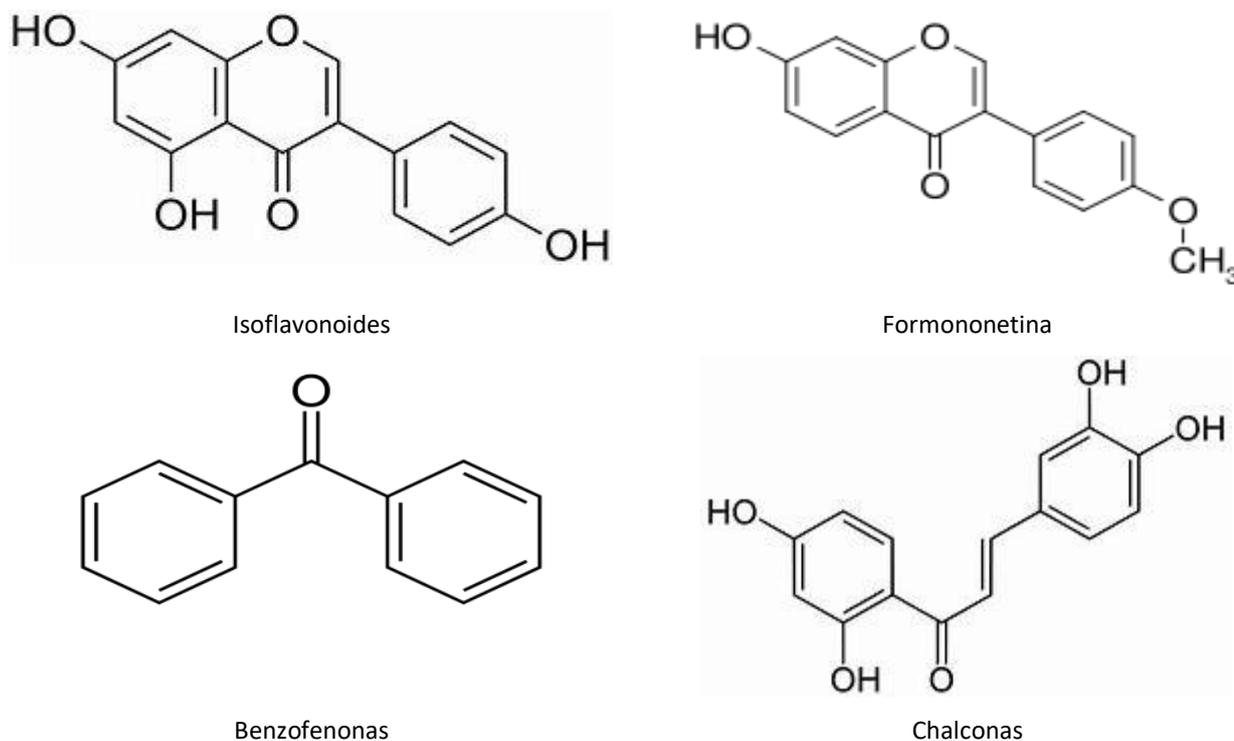


Figura 2. Estruturas químicas dos compostos químicos presentes na própolis vermelha.

O Brasil possui condições climáticas, geográficas e características de vegetação que favorecem a produção da própolis vermelha, entretanto, não é considerado como um mercado atraente para a proteção dessa tecnologia, tendo em vista o pequeno número de patentes e artigos publicados (MACHADO *et al.*, 2012).

### 3.3 Microencapsulação

A história da microencapsulação na indústria tem início em 1988, quando foram utilizadas microcápsulas no acondicionamento de óleo de laranja na produção de aromas e medicamentos. Atualmente, as técnicas de microencapsulação estão se desenvolvendo rapidamente (SANTOS, 2014), devido à crescente importância da microencapsulação em diferentes atividades, essas tecnologias ganharam muita atenção em diferentes áreas, como cosméticos, sistemas de entrega de medicamentos e conservantes de alimentos (BAH; BILAL; WANG, 2020).

Na indústria de alimentos, a microencapsulação tem uma promissora aplicação, uma vez que o mercado de produtos alimentícios industrializados está crescendo cada vez mais (SANTOS, 2014). São relatados o uso de microencapsulados na área da panificação (PAPILLO *et al.*, 2019), na produção de suínos (OMONIJO *et al.*, 2018), aquicultura de mariscos (WILLER; ALDRIDGE, 2017), cozinha molecular (MARTINS *et al.*, 2017), suplementos alimentares (KANOKPANONT; YAMDECH; ARAMWIT, 2018) e probióticos (MANDAL; HATI, 2017).

Deve-se ressaltar que a microencapsulação de moléculas bioativas, ingredientes funcionais ou células vivas da indústria de alimentos deve considerar vários fatores, como preocupações tecnológicas (propriedades de fabricação e armazenamento), viabilidade econômica e satisfação dos consumidores (PAULO; SANTOS, 2017).

Conforme Bouguéon *et al.* (2019), as partículas podem ser classificadas por tamanho em três categorias distintas: macrocápsulas (>5000  $\mu\text{m}$ ), microcápsulas (0,2-5000 $\mu\text{m}$ ) e nanocápsulas (<0,2 $\mu\text{m}$ ). Segundo Estevinho (2013), a microcápsula é formada de duas partes, o material encapsulado (núcleo ou fase interna) e o material que gera a cápsula (parede ou revestimento).

O material de parede atua encapsulando materiais em diversos estados físicos, como sólidos, líquidos ou gasosos, em microcápsulas. Estas cápsulas possuem a capacidade de liberar o conteúdo de forma controlada para atingir locais específicos ou em tempos determinados, conforme desejado (CASTRO-ROSAS *et al.*, 2017).

Uma microcápsula pode apresentar diferentes morfologias e com base em suas diferentes estruturas são classificadas em três categorias: um único núcleo, vários núcleos e o tipo de matriz (BAH; BILAL; WANG, 2020). O encapsulamento também é utilizado para mascarar odor ou gostos desagradáveis, transformar gotas de líquido em

partículas sólidas, manuseio seguro de materiais tóxicos, reduz a perda por evaporação e a inflamabilidade dos líquidos e a reatividade do material do núcleo (SING, 2017).

Vários métodos são utilizados na microencapsulação, sendo eles classificados como: i) métodos físicos: *spray dryer*, *spraychiling*, *spraycoating*, extrusão e leiteo fluidizado; ii) métodos físico-químicos: coacervação simples ou complexa, separação por fase orgânica, pulverização em agente de reticulação e evaporação do solvente; e iii) métodos químicos: polimerização interfacial e inclusão molecular (ZHANG *et al.*, 2015).

Para definição do método a ser utilizado, é necessário avaliar o meio ativo que se deseja encapsular, as propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, o tamanho das partículas requeridas, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção, materiais e custo (BAH; BILAL; WANG, 2020).

A microencapsulação é normalmente aplicada em produtos que apresentam baixa biodisponibilidade, o que é observado em material resinoso como a própolis vermelha. Com base em tais características, a coacervação complexa e a atomização por pulverização (*spray dryer*), foram os dois métodos de microencapsulação selecionados para realizar esse estudo conforme a figura abaixo.



Figura 3: Tipos de microencapsulação da própolis vermelha

Fonte: Imagens do próprio autor

### 3.3.1 Microencapsulação por Coacervação Complexa

A microencapsulação por coacervação complexa é uma combinação entre duas soluções hidro coloides de cargas opostas, seguida da interação e deposição da fase recém-formada ao redor do ingrediente ativo, formando um sistema do tipo reservatório, sob a forma de pequenas partículas, seguido da secagem (SING, 2017). A secagem por liofilização destaca-se pelo uso de baixas temperaturas, o que propicia a preservação do ingrediente ativo. Consiste na desidratação de um produto congelado por sublimação do gelo sob vácuo (AZEREDO, 2005).

Essa técnica promove uma barreira físico-química entre um composto e o ambiente externo, protegendo assim o material e formando pequenas partículas, resultado das interações eletrostáticas devido as alterações de pH na fase aquosa (PATHAK *et al.*, 2017). Além disso, possui uma elevada capacidade de eficiência de encapsulação, podendo ser usada para encapsular compostos diferentes, edulcorantes, enzimas, vitaminas, probióticos, antioxidantes, minerais, ácidos graxos e outros (ERATTE *et al.*, 2015; KURUKJI; NORTON; SPYROPOULOS, 2016; MOSCHAKIS; BILIADERIS, 2017). Esse processo também é conhecido por sua simplicidade, baixo custo, escalabilidade e reprodutibilidade (TIMILSENA *et al.*, 2019).

É importante ressaltar que a temperatura, força iônica e pH do meio de reação, razão de mistura dos polímeros, peso molecular, concentração total e densidades de carga, desempenham papéis importantes na iniciação, continuação e término do processo de coacervação. A taxa de agitação desempenha um papel importante no controle do tamanho das micropartículas (TIMILSENA *et al.*, 2019; BAH; BILAL; WANG, 2020).

Por apresentar essas propriedades, a coacervação complexa vem sendo utilizada há muitos anos pelas indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia, pois apresentam diversas vantagens, tais como capacidade de modificar e melhorar a aparência e as propriedades de uma substância, proteger os produtos das condições ambientais desfavoráveis e prolongar o tempo de sua vida útil (OZKAN *et al.*, 2019).

Alguns fatores foram determinantes para a realização dessa técnica de microencapsulação, como o tipo de material encapsulante (proteína isolada da soja, proteína do soro do leite e goma xantana), a concentração de substância bioativa, temperatura, o pH, a estabilidade dos compostos bioativos, a morfologia das micropartículas e o custo do processo.

### 3.3.2 Microencapsulação por atomização (*spray dryer*)

A microencapsulação por atomização (*spray dryer*) é uma técnica utilizada na indústria de alimentos desde 1950, o processo é constituído de quatro etapas: i) a atomização; ii) o contato das partículas com o ar quente; iii) a evaporação da água das partículas e; iv) a separação do produto seco e do ar úmido (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; BAKRY *et al.*, 2015).

Consiste na secagem em uma operação unitária, através da qual o líquido de alimentação (solução, emulsão ou suspensão) é pulverizado numa corrente ou contracorrente de gás quente de ar ou raramente de nitrogênio, a depender do tipo de atomizador, obtendo instantaneamente um pó (SALAMA, 2020).

A produção do pó pode atingir dimensões desde muito finas (10-50  $\mu\text{m}$ ) a partículas de grande dimensão (2-3 mm). A forma final das partículas depende da composição inicial do material utilizado na alimentação, do teor de água, do gás e das condições da operação como temperatura, pressão e vazão (ARPAGAUS *et al.*, 2018).

*Spray dryer* é um método prático e mais comum para a obtenção de produtos em pó, as vantagens giram em torno de fatores como: período relativamente curto para a secagem, uniformização do tamanho das partículas, baixos custos de produção, é um processo contínuo e reproduzível. Assim, ele pode ser aplicado com sucesso em escalas laboratorial e industrial (FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2008; SALAMA, 2020).

Esta técnica permite obter um produto com propriedades físico-químicas específicas, diminuir o teor de água e conseqüentemente a sua atividade de água, assegurando assim a estabilidade microbiológica do produto através da diminuição do risco de degradação química e biológica e, por fim, diminuindo os custos de armazenamento e transporte (SINGH; VAN DEN MOOTER, 2016).

Enquanto que as desvantagens estão relacionadas às dimensões do equipamento e a baixa eficiência térmica devido à alta temperatura empregada durante o processo de atomização (BAKRY *et al.*, 2015; RUDKE *et al.*, 2019). A técnica de *spray dryer* na indústria alimentícia pode ser utilizada para obtenção de probióticos, encapsulação de compostos antioxidantes, como os carotenoides, bebidas em pó, entre outros (DANTAS *et al.*, 2018; EUN *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2020).

A Tabela 2 traz uma comparação entre os métodos de coacervação complexa e *spray dryer* com relação as suas principais vantagens e desvantagens, bem como as suas principais aplicações.

Tabela 2. Principais vantagens, desvantagens e aplicações dos métodos de microencapsulação por coacervação complexa e por *spray dryer*.

<b>Método</b>	<b>Principais Vantagens</b>	<b>Principais Desvantagens</b>	<b>Principais Aplicações</b>	<b>Referências</b>
Coacervação Complexa	Técnica versátil, maior controle do tamanho das partículas, eficiência de encapsulação	Técnica mais demorada, aglomeração das partículas	Indústria de alimentos, vitaminas, proteínas e medicamentos	FAVARO-TRINDADE <i>et al.</i> , 2008 ROCHA-SELMI <i>et al.</i> , 2013  ERATTE <i>et al.</i> , 2015
<i>Spray dryer</i>	Baixo custo, equipamento e técnica acessível, escala industrial, estabilidade das cápsulas	Dimensões do equipamento, baixa eficiência térmica devido à alta temperatura do processo	Indústria de alimentos, encapsulação de probióticos, indústria farmacêutica	BAKRY <i>et al.</i> , 2015 RUDKE <i>et al.</i> , 2019

Fonte: Próprio autor

### 3.4 Materiais encapsulantes

O revestimento do material a ser encapsulado é chamado de parede e tem como objetivo proteger o material encapsulado (núcleo) do meio exterior. As microcápsulas podem ter mais de um núcleo ou várias paredes para um núcleo. Ressalta-se que o excelente desempenho das microcápsulas depende muito do componente do material da parede, visto que ele pode afetar a eficiência do encapsulamento, a fluidez, a solubilidade, a permeabilidade, a liberação sustentada e outras propriedades do material encapsulado (ZHANG *et al.*, 2015)

De acordo com Li *et al.* (2019), essa escolha tem por base as propriedades físico-químicas do material de parede, tais como, baixa viscosidade, solubilidade, peso molecular, temperatura, propriedades emulsionantes, baixa higroscopicidade e interação com o ingrediente ativo. Outra característica importante dos materiais de parede, para o uso em produtos alimentícios, é que sejam atóxicos, biodegradável, possuam um

mecanismo de liberação eficiente e que não possibilite reatividade com o material a ser encapsulado ou com o alimento (ZHANG *et al.*, 2015; SHADDEL *et al.*, 2018).

A indústria de alimentos emprega formulações no processo de microencapsulação contendo materiais de parede comestíveis dos mais variados: carboidratos, celulose, gomas, lipídios e proteínas que podem ser utilizados sozinhos ou combinados, porém a combinação ideal irá depender da técnica de microencapsulação aplicada e das características físico-químicas dos materiais, a fim de obter melhores resultados de rendimento e eficiência de encapsulação (MOSCHAKIS; BILIADERIS, 2017).

Existem diversos materiais de revestimento que podem ser utilizados na microencapsulação por coacervação complexa e na atomização por pulverização (*spray dryer*), como apresentados na Tabela 3, sendo que o presente trabalho utilizou a goma xantana, proteína isolada de soja (SPI) e a proteína do soro do leite (*whey protein*).

Tabela 3. Estudos de microencapsulação da própolis.

Artigos de microencapsulação	Própolis	Materiais de parede	Metodologia	Autores
A microencapsulação de extrato de própolis por coacervação complexa	Própolis tipo 12, verde, São Paulo	Pectina e proteína isolada de soja	Coacervação complexa, pH = 5,0,4,5,4,0 e 3,5 e concentração = 2,5 e 5,0g	NORI <i>et al.</i> , 2011
Avaliação da eficiência da produção, propriedades físico-química e estabilidade de armazenamento de própolis em spray, um aditivo alimentar natural, usando goma arábica e sistemas de transporte à base de amido	Própolis tipo 12, verde, São Paulo	Goma arábica e amido de anidrido	<i>Spray dryer</i> , temperatura 120°C, fluxo de ar 0,60m <sup>3</sup> /min, fluxo de alimentação 0,60 m <sup>3</sup> /min, diâmetro do bico 1,3mm	Da SILVA <i>et al.</i> , 2013
Própolis encapsulamento por secagem spray: caracterização e estabilidade	Própolis de Tigre (Delta del Paraná, Argentina)	Maltodextrina e goma arábica	<i>Spray dryer</i> , temperatura 120°C, pressão de ar 3,2 KPa, fluxo de alimentação 8mL/min, diâmetro do bico 1,5mm	BUSCH <i>et al.</i> , 2017
Total de conteúdo fenólico e atividade antioxidante de <i>spray dryer</i> em microcápsulas secas de própolis da espécie <i>Tetragonula</i>	Própolis da espécie <i>Tetragonula</i> (Indonésia)	Maltodextrina e goma arábica	<i>Spray dryer</i> , temperatura 110°C, fluxo de ar 600L/min, fluxo de alimentação 8mL/min, diâmetro do bico 1,5mm	PRATAMI <i>et al.</i> , 2019

Fonte: Próprio autor

### **3.4.1 Goma xantana**

A goma xantana é um biopolímero produzido por bactérias Gram-negativas do gênero *Xanthomonas* e possui estrutura primária formada por unidades repetidas de pentassacarídeos, de alto peso molecular, normalmente composta de repetidas unidades de glicose, manose e ácido glucurônico (BILAL; IQBAL, 2019).

Ela foi descoberta na década de 1950 no Centro Nacional de Utilização Agrícola do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, sendo que a primeira produção industrial desse polissacarídeo foi realizada em 1960, seguida pela disponibilidade do produto comercial em 1964 (KUMAR; RAO; HAN, 2018).

Na indústria alimentícia, atua como espessante, estabilizante e, em associação com outras gomas, proporciona textura lisa e cremosa aos alimentos líquidos (KUMAR; RAO; HAN, 2018; BILAL; IQBAL, 2019).

Mesmo em baixas concentrações, a goma xantana apresenta propriedades como alta viscosidade, estabilidade em uma ampla faixa de temperatura e pH, é atóxica, não provoca sensibilização e nem irritação na pele e nos olhos e usualmente não contribui para o aroma, paladar ou valor nutricional do produto (TAHERI; JAFARI, 2019). Tem sido empregada como material encapsulante de enzimas (LIU *et al.*, 2011) e micro-organismos (JIMÉNEZ-PRANTEDA *et al.*, 2012).

Embora toda goma xantana utilizada no país seja importada, elevando o seu custo, deve continuar sendo o biopolímero mais utilizado nos próximos anos, devido à grande procura no mercado, principalmente pela sua ampla gama de compatibilidade com muitos ingredientes alimentares, não alimentares e aditivos (PALANIRAJ; JAYARAMAN, 2011).

### **3.4.2 Proteína isolada de soja (SPI)**

As proteínas de soja são um tipo de proteínas alimentares importantes comercialmente e disponíveis no mercado, e foram amplamente reconhecidos por mostrar bom valor nutricional, propriedades funcionais e até efeitos na saúde, incluindo efeitos redutores do colesterol sérico (TANG, 2017), encontra-se na forma de um pó de coloração creme e sabor suave, é produzida a partir do farelo de soja desengordurada através da extração aquosa e aquecimento mínimo que separa os demais componentes não

proteicos por meio de um processo de purificação em etapas baseado em sua solubilidade (TANSAZ; BOCCACCINI, 2016 ).

Devido à sua natureza anfipática (hidrofílica e hidrofóbica), essas proteínas exibem uma boa capacidade de difundir e/ou adsorver e estabilizar a interface das gotículas de óleo durante a emulsificação, agindo como emulsificantes eficazes para formar e estabilizar emulsões de óleo em água. Essas propriedades fazem com que cerca de 60% dos alimentos processados possuam soja em sua composição (TANG, 2017).

Na literatura, são poucos os estudos que utilizam a proteína isolada de soja em produtos microencapsulados, apesar de ser uma fonte barata e biodegradável, sendo que a maioria dos estudos estão direcionados a área de suplementação alimentar e também no setor biomédico (TANSAZ; BOCCACCINI, 2016; MEMON *et al.*, 2019).

### **3.4.3 Proteína do soro do leite (*Whey Protein*)**

As proteínas do soro do leite é o termo usado para descrever um grupo de proteínas globulares do leite que permanecem solúveis após a precipitação de caseína a pH 4,6 e 20 °C. Dependendo de vários fatores (por exemplo, método de precipitação de caseína, armazenamento, tratamento térmico e outros fatores), essa proteína apresentará características diferentes (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Dessa forma, são uma excelente opção devido as suas propriedades nutritivas e fisiológicas, que têm sido avaliadas, principalmente, por serem produtos derivados de um resíduo industrial de laticínios de altíssima qualidade e pouco valor agregado (AHN; KIM; KIM, 2012).

Além disso, apresentam propriedades físico-químicas e funcionais muito apreciadas como ingredientes alimentícios, possuem excelentes propriedades de encapsulação e podem ser aplicadas para materiais encapsulados voláteis e não-voláteis, principalmente na produção de géis translúcidos e de elevada consistência. As proteínas lácteas são de características anfipáticas e quando adicionadas a uma formulação confere a substância bioativa uma melhor solubilidade (MARTÍN *et al.*, 2015). Em estudos recentes a proteína do soro de leite tem sido muito utilizada, apresentado uma promissora atividade para produção de microcápsulas, também sendo bastante utilizadas em diversas aplicações em tecnologia de alimentos (HA *et al.*, 2019).

## Capítulo 4. Materiais e Métodos

### 4.1 Materiais

Própolis vermelha oriunda do município de Canavieiras - Bahia, adquiridas de um mesmo lote e coletadas em 2017. A própolis vermelha bruta foi mantida sob congelamento a  $-27^{\circ}\text{C}$  até o momento da produção do extrato etanólico. Proteína isolada de soja (SPI) e proteína do soro do leite (*whey protein*), ambas adquiridas em Rainha Laboratório Nutracêutico para Alimentos Ltda., (São Paulo, Brasil) e goma xantana (GX), adquirida em Kava Indústria e Comércio de Ingredientes para Alimentos Ltda. (Minas Gerais, Brasil), foram utilizados como agentes encapsulantes.

### 4.2 Produção do extrato de própolis vermelha

O extrato de própolis foi obtido a partir da própolis vermelha triturada (10g) homogeneizada com etanol 80% (PARK, *et al.*, 1998; CUNHA *et al.*, 2004; ALENCAR *et al.*, 2007). A mistura foi aquecida em banho-maria sob agitação mecânica por 30 minutos a  $50^{\circ}\text{C}$  seguida de centrifugação a 8800 rpm por 10 minutos (Sigma 3-18k, SciQuip). O sobrenadante foi filtrado em papel quantitativo ( $80\text{g}/\text{cm}^{-3}$ ) e concentrado a  $40^{\circ}\text{C}$  (miVac - DUC-22060-N00) até peso constante. O extrato obtido foi acondicionado à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises. O delineamento da pesquisa, a partir do extrato de própolis vermelha, está descrito no Fluxograma da Figura 4.

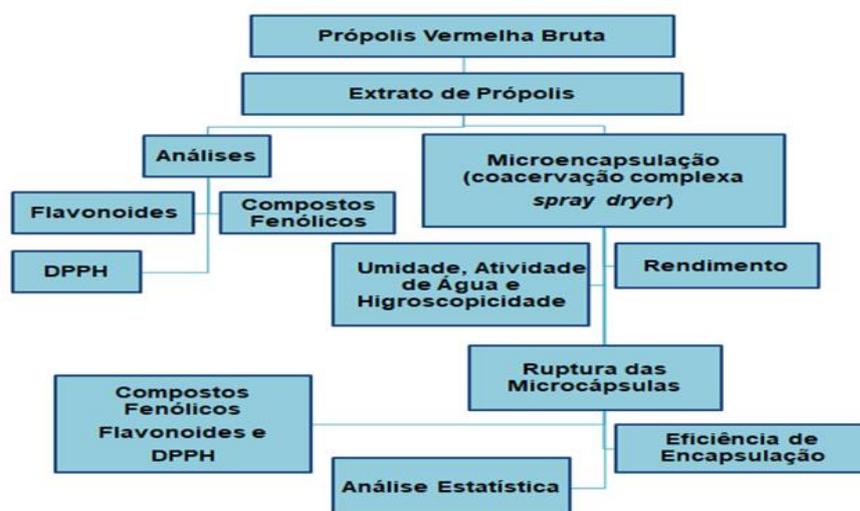


Figura 4. Fluxograma do delineamento da pesquisa

### 4.3 Produção das microcápsulas

Para cada técnica, foram preparadas 8 formulações, de C1 a C8 (coacervação complexa) e S1 a S8 (*spray dryer*) contendo solução aquosa de proteína isolada de soja ou proteína do soro do leite, goma xantana (2,5 e 5g/100mL) e extrato de própolis, totalizando 16 formulações. As concentrações utilizadas, foram determinadas após estudos prévios em laboratório para determinar qual a melhor emulsão (Tabela 4).

Tabela 4. Desenho experimental das formulações submetidas a microencapsulação pelo método de coacervação complexa (C) e pelo método de *spray dryer* (S).

Formulações	Whey Protein (%)	SPI (%)	GX (%)	Extrato de Própolis (%)*
C1 / S1	2,5		2,5	
C2 / S2	5,0	-	5,0	
C3 / S3	2,5	-	5,0	
C4 / S4	5,0	-	2,5	3,0
C5 / S5	-	2,5	2,5	
C6 / S6	-	5,0	5,0	
C7 / S7	-	2,5	5,0	
C8 / S8	-	5,0	2,5	

\*Percentual fixo para todas formulações.

#### 4.3.1. Microencapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa

Coacervação complexa de acordo com a metodologia de Nori *et al.* (2011). Preparou-se uma solução protéica aquosa (SPI ou *whey protein*), das formulações C1 a C8, sob aquecimento e agitação mecânica. Ao atingir 40°C o pH foi ajustado para 8,0 com a solução de NaOH (0,1mol/L), o extrato de própolis foi adicionado e homogeneizado (GLH 850 OMNI Internacional) a 8800 rpm por 2 minutos, depois foi adicionado à solução aquosa de goma xantana e ao atingir a temperatura de 40°C o pH foi ajustado para 4,0 com a solução de HCl (1mol/L). O coacervado foi congelado a -18°C para posterior secagem em liofilizador (Telstar LyoQuest - LC 1500) por 24 horas a 0,250mbar em 50°C e por 6 horas a 0,150mbar em 40°C.

### 4.3.2 Microencapsulação do extrato de própolis por *spray dryer*

O *spray dryer* foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Da Silva *et al.* (2013). Os agentes encapsulantes e a própolis foram homogeneizados e injetados no *spray dryer* (MSDi 1.0, Labmaq, Brazil). As condições operacionais para o processo de secagem das formulações S1 a S8 foram: temperatura do ar de 165°C, velocidade constante do soprador de 4,0m<sup>3</sup>/min<sup>-1</sup>, velocidade de alimentação de 0,9L/h<sup>-1</sup>, como parâmetros de entrada e diâmetro interno do bico atomizador de 1,2mm.

## 4.4 Rendimento

O rendimento foi calculado em razão da massa do encapsulado seco e a massa teórica. Os resultados foram expressos em porcentagem, de acordo com a Equação 1:

$$\text{(Equação 1) Rendimento \%} = (M_{cs} / M_t) \times 100$$

Onde:  $M_{cs}$  = Massa do encapsulado seco

$M_t$  = Massa teórica

## 4.5 Caracterização físico-química

### 4.5.1 Umidade e atividade de água ( $a_w$ )

A umidade foi determinada de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), por meio de balança eletrônica de umidade (MOC-120H®, Shimadzu), com precisão de 1mg, ajustada com secador de infravermelho a temperatura de 105°C. A atividade de água ( $a_w$ ) foi medida por leitura direta de aproximadamente 1,6g da amostra em decágono com célula eletrolítica (LabMaster, Novasina) e temperatura de 25 ± 1°C.

### 4.5.2 Determinação de higroscopicidade

Higroscopicidade a partir da metodologia descrita por de Cai e Corke (2000), onde 1g da amostra fica em dessecador com a solução saturada de NaCl a 25°C. Após 90 minutos a massa da amostra é mensurada (g/100g<sup>-1</sup>) de acordo com a Equação 2:

$$\text{(Equação 2) \% Higroscopicidade} = ((P_f - P_i) / P_i) * 100$$

Onde:  $P_i$  = Peso inicial do encapsulado

$P_f$  = Peso do encapsulado em equilíbrio com o ambiente exposto

## **4.6 Caracterização dos compostos bioativos do extrato de própolis vermelha e das microcápsulas do extrato de própolis**

Para a solução, o extrato de própolis vermelha, foi diluído em etanol (95%) na concentração 1:10 ( $m/v^{-1}$ ) e as microcápsulas, a proporção foi de 1:1 ( $m/v^{-1}$ ).

### **4.6.1 Determinação de compostos fenólicos totais**

O teor de compostos fenólicos totais no extrato de própolis vermelha e das microcápsulas, foi determinado utilizando a metodologia de Singleton e Rossi (1965), que é baseada na reação do Folin-Ciocalteu. Preparou-se uma alíquota de 0,5mL de cada amostra diluída em etanol (95%) nas concentrações citadas, solução de Folin-Ciocalteu a 10% (2,5mL) e carbonato de sódio a 7,5% (2,0mL). A mistura foi aquecida em banho-maria a 50°C por 5 minutos (Marconi, M127, Brasil) e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro UV/Vis (Femto - 700 plus) a 765nm. Uma curva padrão de ácido gálico foi obtida nas mesmas condições e a quantidade de compostos fenólicos totais foi expressa como equivalentes de ácido gálico por grama de amostra ( $mgGAE/g^{-1}$ ).

### **4.6.2 Determinação de flavonoides totais**

Para a determinação do teor total de flavonoides foi utilizado o método proposto por Francis (1989). Inicialmente, 2,0mL de cada amostra previamente diluída em etanol (95%) nas concentrações citadas e acrescentados 2,0mL de solução metanólica de cloreto de alumínio ( $AlCl_3$ ) a 2%. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em um agitador vortex (IKA, Lab Dancer, Alemanha) e acondicionadas sob o abrigo da luz por 30 minutos e posteriormente realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV/Vis (Femto - 700 plus) no comprimento de onda de 415nm. Uma curva padrão de quercetina foi obtida nas mesmas condições e a quantidade de flavonoides totais foi expressa como equivalentes de quercetina por grama de amostra ( $mgQE/g^{-1}$ ).

### **4.6.3 Determinação da atividade antioxidante**

A atividade antioxidante foi determinada através do método do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) de acordo com as metodologias propostas por Brand-Williams *et al.*

(1995) e Molyneux (2003). Dessa forma, foram preparadas seis diluições de cada amostra (em triplicata). Em seguida, uma alíquota de 1mL de cada diluição dos extratos foi transferida para tubos de ensaio contendo 3,0mL de solução etanólica (99%) do radical DPPH (0,004%). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Femto - 700 plus) a 517nm. Procedimento similar foi utilizado substituindo a amostra de extrato por etanol, obtendo assim o branco. A capacidade de sequestro de radicais livres foi expressa como a porcentagem de inibição de oxidação do radical e calculada de acordo com a Equação 3.

$$\text{(Equação 3) Atividade antioxidante} = 100 - [(Aa - Ab) \times 100] / Ab$$

Onde: Aa = absorvância da amostra após 30 min.

Ab = absorvância do branco.

#### **4.7 Ruptura das microcápsulas e eficiência de encapsulação**

A ruptura das microcápsulas foi determinada de acordo com a metodologia de Nori *et al.* (2011). Em 0,2g de microcápsulas de extrato de própolis, adicionou-se 2mL de citrato de sódio 10%, ajustando o pH a 8,0 com NaOH a 0,1M sob agitação por 2 minutos. Posteriormente, adicionou-se 5mL de etanol (99,5%) sob agitação por 2 minutos e centrifugação por 20 minutos. A análise da eficiência de encapsulação foi realizada, por determinação espectrofotométrica com base na metodologia de determinação de compostos fenólicos totais (item 4.6.1) e calculada de acordo com a Equação 4.

$$\text{(Equação 4) EE (\%)} = ((W_1 - W_2) / W_1) \times 100$$

Onde: W<sub>1</sub> = compostos fenólicos antes da ruptura

W<sub>2</sub> = compostos fenólicos depois da ruptura

#### **4.8 Análise estatística**

Todas as análises foram feitas em triplicata e os resultados expressos estatisticamente por meio da Análise de Variância (ANOVA) e do Teste de Tukey no nível de 5% de significância, utilizando o programa Assisat<sup>®</sup> 8.0 (StatSoft Inc., EUA).

## Capítulo 5. Resultados e Discussão

### 5.1 Microencapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa e por *spray dryer*

As dezesseis formulações do extrato de própolis microencapsulado apresentaram aspecto físico de um pó arenoso e solto ou um pó fino e solto, conforme a Figura 5.

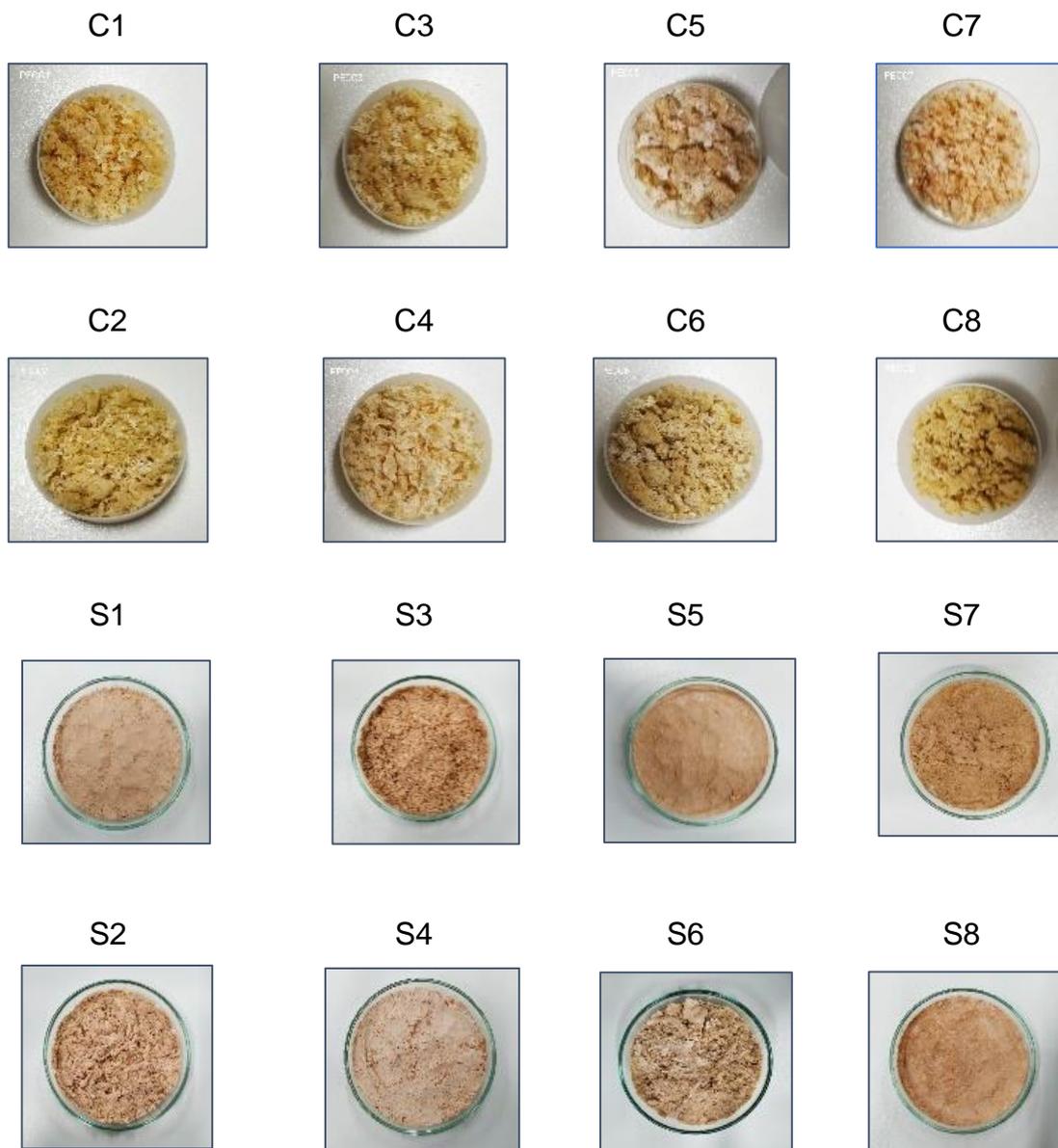


Figura 5. Avaliação visual das formulações obtidas pelo processo de coacervação complexa (C1 – C8) e *spray dryer* (S1 – S8) .

Fonte: Próprio autor

Durante o processo de coacervação complexa, as formulações apresentaram homogeneidade após adição da goma xantana (GX). Visualmente as microcápsulas obtiveram cores entre amarelo claro e laranja. Em relação à luminosidade ( $L^*$ ) os valores variaram de 58,48 (C3) a 66,53 (C5) não havendo diferença significativa nos resultados das amostras, pode-se afirmar que as diferentes concentrações e materiais encapsulantes deste estudo não influenciaram na claridade das amostras. As microcápsulas de xilitol liofilizadas por Santos (2014) variaram no parâmetro luminosidade ( $L^*$ ) de 57,39 a 67,93, valores semelhantes aos encontrados neste estudo.

Para as microcápsulas obtidas pelo processo de *spray dryer* observou-se uma coloração laranja a vermelho claro. Analisando-se a variação do verde ao vermelho ( $a^*$ ) nota-se a predominância da cor vermelha. Os valores variaram de 7,72 (S6) a 10,69 (S7), sendo que as amostras apresentaram diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ). A utilização de altas temperaturas no processo, pode ter contribuído, por exemplo, para a caramelização da goma xantana (reação de *Maillard*) modificando a cor inicial.

Os valores de  $b^*$  (variação do azul ao amarelo) foram semelhantes tanto para a coacervação complexa quanto para o *spray dryer* se aproximando mais para o amarelo. Os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram aferidos em colorímetro (CR400, Konica Minolta).

## 5.2 Rendimento

Na Figura 6 é apresentado os valores de rendimento para cada formulação obtida pelos métodos de microencapsulação empregados neste estudo. Os resultados obtidos, para os pós secos por *spray dryer* apresentaram em média rendimento menor, quando comparado com os pós secos por liofilização. Este fato está associado a composição química tanto do extrato como do agente encapsulante, ocasionando uma adesão das micropartículas nas paredes da câmara do *spray dryer* (NESTERENKO *et al.*, 2013), segundo Moser *et al.* (2017), a adesão aumenta, conforme maior da concentração da proteína utilizada.

Foi observado nesse estudo que as formulações em que a proteína isolada (SPI) de soja e a proteína do soro do leite (*whey protein*) estão em maior concentração que a goma xantana (GX) obtiveram baixos valores de rendimento. A composição dos materiais de núcleo e parede são de grande importância para melhorar o rendimento do processo.

O rendimento para as amostras obtidas por coacervação complexa variou de 32,43% (C2) a 45,50% (C3), enquanto que para a microencapsulação por *spray dryer* variou de 19,75% (S7) a 50,08% (S2). É importante ressaltar que a diferença entre o rendimento nas duas rotas tecnológicas é esperada, visto que esse parâmetro pode ser afetado pelas propriedades dos materiais, aspectos da formulação e, nesse caso, pelas condições operacionais (PAULO; SANTOS, 2017).

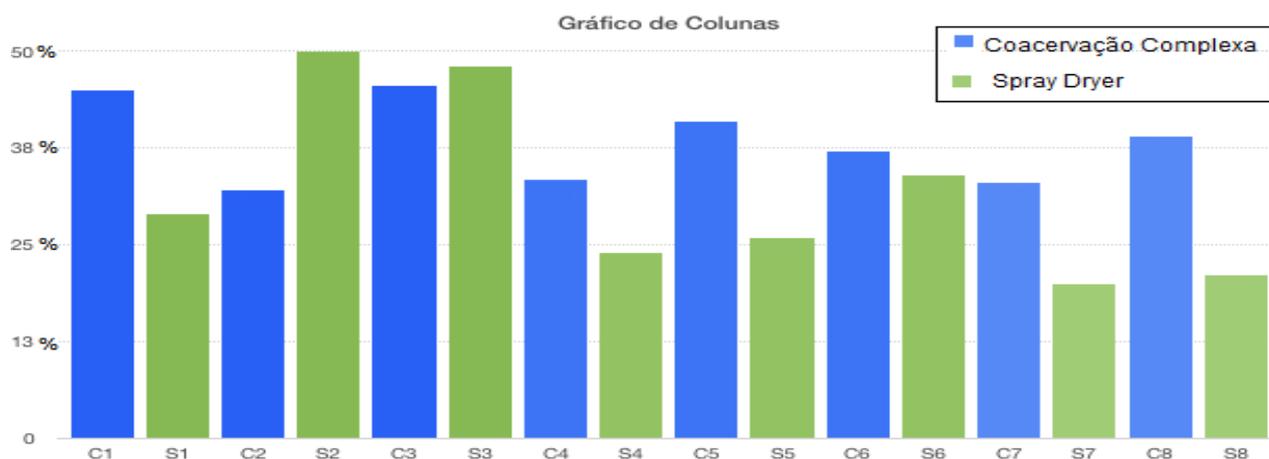


Figura 6. Rendimento das formulações C1 a C8 e S1 a S8.

Fonte: Próprio autor

### 5.3 Caracterização físico-química das microcápsulas

A Tabela 5 apresenta os resultados físico-químicos obtidos nesse trabalho de umidade, atividade de água (aw) e higroscopicidade das microcápsulas do extrato de própolis vermelha.

Quanto à umidade relativa, os resultados variaram entre 13,43% (C2) a 15,39% (C1) para os microencapsulados obtidos por coacervação complexa, sendo que todas as formulações não apresentaram diferença significativa entre si ( $p > 0,05$ ) e por *spray dryer*, de 10,57% (S8) a 12,26% (S6), empregando temperaturas de secagem de 165°C, apresentando diferenças significativas. Andrade *et al.* (2018) encontraram valores de 9,89 e 9,96% para extrato de própolis vermelha microencapsulada com maltodextrina e goma arábica, respectivamente.

As condições de secagem utilizadas nesse trabalho, podem ter influenciado nos diferentes resultados entre as duas técnicas, as formulações por *spray dryer*, obtiveram valores menores de umidade. A alta variação para umidade nos resultados, possa ser

explicado também, devido a utilização da goma xantana como materiais de parede em todas as formulações e técnicas de microencapsulação, realizadas, por possuir em sua estrutura química muitas hidroxilas, talvez tenha mais possibilidade de absorver umidade.

Os valores de atividade de água ( $a_w$ ) neste estudo variaram de 0,472 (C6) a 0,533 (C7) por coacervação complexa e de 0,327 (S2) a 0,466 (S6) por *spray dryer*, como observado na Tabela 5. Estes valores foram superiores aos obtidos por Da Silva *et al.* (2013) de 0,25 a 0,39, que estudaram a importância do material de parede na diminuição da atividade água ( $a_w$ ), na manutenção da estabilidade microbiológica e físico-química do produto. Segundo Fennema *et al.* (2010) valores inferiores a 0,6 possibilitam a conservação de um alimento por mais tempo. Sendo assim, todas as formulações são consideradas estáveis microbiologicamente.

Tabela 5. Umidade, atividade de água ( $a_w$ ) e higroscopicidade das microcápsulas do extrato de própolis vermelha (média  $\pm$  desvio)

Formulação	Concentrações	Umidade (%)	$a_w$	Higroscopicidade (%)
C 1	2,5 whey/2,5 GX	15,39 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,491 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>	1,60 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
C 2	5,0 whey/5,0 GX	13,43 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	0,482 $\pm$ 0,01 <sup>bcd</sup>	1,94 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
C 3	2,5 whey/5,0 GX	13,88 $\pm$ 2,14 <sup>a</sup>	0,492 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>	2,19 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
C 4	5,0 whey/2,5 GX	14,30 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	0,495 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,39 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
C 5	2,5 SPI/2,5 GX	13,86 $\pm$ 1,46 <sup>a</sup>	0,486 $\pm$ 0,01 <sup>bcd</sup>	3,59 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>
C 6	5,0 SPI/5,0 GX	15,06 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>	0,472 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	2,44 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
C 7	2,5 SPI/5,0 GX	15,17 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,533 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	2,65 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
C 8	5,0 SPI/2,5 GX	13,99 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>	0,480 $\pm$ 0,01 <sup>cd</sup>	4,21 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>
S 1	2,5 whey/2,5 GX	11,09 $\pm$ 0,03 <sup>CD</sup>	0,356 $\pm$ 0,01 <sup>D</sup>	0,21 $\pm$ 0,08 <sup>E</sup>
S 2	5,0 whey/5,0 GX	10,58 $\pm$ 0,28 <sup>D</sup>	0,327 $\pm$ 0,01 <sup>E</sup>	4,21 $\pm$ 0,15 <sup>B</sup>
S 3	2,5 whey/5,0 GX	11,95 $\pm$ 0,32 <sup>B</sup>	0,370 $\pm$ 0,01 <sup>CD</sup>	5,26 $\pm$ 0,09 <sup>A</sup>
S 4	5,0 whey/2,5 GX	10,99 $\pm$ 0,36 <sup>CD</sup>	0,391 $\pm$ 0,01 <sup>BC</sup>	0,66 $\pm$ 0,05 <sup>DE</sup>
S 5	2,5 SPI/2,5 GX	11,50 $\pm$ 0,59 <sup>BC</sup>	0,414 $\pm$ 0,01 <sup>B</sup>	2,39 $\pm$ 0,06 <sup>C</sup>
S 6	5,0 SPI/5,0 GX	12,26 $\pm$ 0,17 <sup>A</sup>	0,466 $\pm$ 0,01 <sup>A</sup>	0,86 $\pm$ 0,23 <sup>D</sup>
S 7	2,5 SPI/5,0 GX	12,07 $\pm$ 0,01 <sup>B</sup>	0,390 $\pm$ 0,01 <sup>C</sup>	1,01 $\pm$ 0,03 <sup>D</sup>
S 8	5,0 SPI/2,5 GX	10,57 $\pm$ 0,20 <sup>D</sup>	0,345 $\pm$ 0,01 <sup>DE</sup>	2,39 $\pm$ 0,33 <sup>C</sup>

Valores que apresentam a mesma letra, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey a 95% de confiança. Média da análise obtida por triplicata ( $n = 3$ ).

A higroscopicidade das microcápsulas do extrato de própolis por coacervação complexa variaram de 0,39% (C4) a 4,21% (C8), todas as formulações não apresentam diferença significativa entre si ( $p > 0,05$ ) e através do processo de *spray dryer* variaram de 0,21% (S1) a 5,26% (S3), que apresentou diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ). Apesar dos diferentes resultados obtidos para higroscopicidade no presente estudo, todas as formulações obtiveram baixo potencial higroscópico de  $< 10\%$  segundo GEA Niro Research Laboratory (2003).

#### **5.4 Caracterização dos compostos bioativos do extrato de própolis e das microcápsulas do extrato de própolis**

O teor de fenólicos totais, do extrato de própolis vermelha da Bahia foi de 161,03 mgEAG.g<sup>-1</sup>, resultado superior foram relatados por Cabral *et al.* (2009), para o extrato de própolis vermelha do estado de Alagoas de 257,98 mgEAG.g<sup>-1</sup> e por Reis *et al.* (2019), entre 277,81 e 398,31 mgEAG.g<sup>-1</sup> para extratos de própolis vermelha de diferentes estados do nordeste brasileiro.

Já o teor de flavonoides totais encontrado no extrato etanólico foi de 51,60 mgEQ.g<sup>-1</sup>. Esse valor foi menor do que o reportado por Alves e Kubota (2013) que encontraram resultados mais expressivos em amostras de própolis comerciais, onde os teores foram de 48,95 até 114,50 mgEQ.g<sup>-1</sup>. Reis *et al.* (2019) também reportaram um teor menor de flavonoides para o extrato de própolis vermelha do estado de Alagoas obtido pela extração convencional com etanol (81.42 mgEQ.g<sup>-1</sup>).

Na análise de DPPH foi obtido 85,80% de atividade antioxidante, valor semelhante foi encontrado por Devequi-Nunes *et al.* (2018) de 89,90% para o extrato etanólico de própolis vermelha da Bahia. Os valores encontrados nesse estudo estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para os extratos etanólicos de própolis que devem conter no mínimo 0,25% de flavonoides e 0,50% de compostos fenólicos (BRASIL, 2001).

É importante ressaltar que a diferença entre os valores citados e os valores do presente estudo podem ser justificados pela disparidade entre as matérias-primas da qual se originaram os extratos analisados, à própria metodologia de extração utilizada e as diferentes procedências das amostras pode estar relacionada a composição química diversa da própolis, visto que o seu perfil de moléculas bioativas vai depender, principalmente, da sua localização geográfica (REIS *et al.*, 2019).

Na quantificação de compostos fenólicos totais presentes nas microcápsulas de extrato de própolis produzidas por coacervação complexa e por *spray dryer* os valores mais relevantes obtidos nesse estudo, foram de 76,12 mgEAG.g<sup>-1</sup> (C1) a 77,82 mgEAG.g<sup>-1</sup> (C5) e 18,88 mgEAG.g<sup>-1</sup> (S1) a 19,95 mgEAG.g<sup>-1</sup> (S5), respectivamente (Tabela 6).

O intervalo de valores encontrado por Andrade *et al.* (2018) foi menor do que os obtidos nesse estudo para compostos fenólicos de 39,51 mgEAG.g<sup>-1</sup> e 45,94 mgEAG.g<sup>-1</sup> para amostras de própolis vermelha microcapsuladas com goma arábica e com maltodextrina como material da parede.

Na encapsulação dos compostos fenólicos, a utilização da goma xantana no material de revestimento, nesse estudo, foi mais eficiente em menor concentração (2,5g/100mL), as quais não tiveram diferenças significativas entre si ao nível de 5 % nessas formulações (C1, C4 e S1).

Segundo Jia *et al.* (2016) nem todos os compostos fenólicos tem a capacidade de interagir e formar ligações com proteínas, sendo que moléculas com alto peso molecular, geralmente, tem maior capacidade de interação com as proteínas.

Além disso, sabe-se que formação de um complexo entre a proteína o composto fenólico é fortemente influenciado pela natureza da proteína (quantidade de prolina e triptofano), pela estrutura do composto fenólico (número de anéis aromáticos), pela temperatura e pela presença de outros compostos (como carboidratos) que podem afetar as interações intermoleculares (JIA *et al.*, 2016).

Os valores mais relevantes de flavonoides para as microcápsulas do extrato de própolis, variaram entre 9,04 mgEQ.g<sup>-1</sup> (C4) a 12,99 mgEQ.g<sup>-1</sup> (C5) para coacervação complexa e de 6,17 mgEQ.g<sup>-1</sup> (S5) a 8,33 mgEQ.g<sup>-1</sup> (S1) para o *spray dryer* (Tabela 6). Os resultados obtidos nesse estudo, tiveram diferenças significativas entre si (p<0,05), sugerindo que o material de parede influencia na proteção dos compostos bioativos.

Pode-se observar que os flavonoides foram mais afetados pela secagem por *spray dryer* do que os compostos fenólicos e pela concentração ou tipo de proteína utilizada na encapsulação que podem ter influenciado nos resultados finais obtidos, sendo que as micropartículas revestidas com goma xantana e proteína isolada da soja (SPI) proporcionaram maior proteção aos compostos bioativos, devido a interações mais fortes destes compostos em relação a proteína do soro do leite (*whey protein*).

Os resultados da atividade antioxidante (DPPH) das microcápsulas produzidas por coacervação complexa variaram entre 58,03% (C7) a 83,36% (C5) e entre 15,09% (S4) e 43,57% (S5) pela técnica de *spray dryer* (Tabela 6). Foi observado que os valores de atividade antioxidante não tiveram diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ) com exceção das formulações C1, C7 e S4.

Tabela 6. Resultados das análises de bioativos, atividade antioxidante e eficiência de encapsulação das microcápsulas do extrato de própolis vermelha (média  $\pm$  desvio)

Amostras	Compostos Fenólicos (mgEAG.g <sup>-1</sup> )	Flavonoides (mgEQ.g <sup>-1</sup> )	DPPH (%)	Eficiência de Encapsulação
Extrato de Própolis	161,03 $\pm$ 0,016	51,60 $\pm$ 0,013	85,80 $\pm$ 0,50	-
C 1	76,12 $\pm$ 16,67 <sup>ab</sup>	9,00 $\pm$ 0,81 <sup>b</sup>	67,17 $\pm$ 4,26 <sup>b</sup>	85,31 $\pm$ 1,94 <sup>a</sup>
C 2	57,24 $\pm$ 1,12 <sup>abc</sup>	6,94 $\pm$ 1,36 <sup>bc</sup>	78,98 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>	79,79 $\pm$ 0,67 <sup>c</sup>
C 3	53,88 $\pm$ 7,82 <sup>abc</sup>	6,89 $\pm$ 0,39 <sup>bc</sup>	83,19 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	79,49 $\pm$ 1,53 <sup>c</sup>
C 4	69,17 $\pm$ 9,90 <sup>ab</sup>	9,04 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>	75,86 $\pm$ 5,44 <sup>a</sup>	84,93 $\pm$ 1,01 <sup>ab</sup>
C 5	77,82 $\pm$ 7,72 <sup>a</sup>	12,99 $\pm$ 2,43 <sup>a</sup>	83,36 $\pm$ 1,76 <sup>a</sup>	85,31 $\pm$ 0,92 <sup>a</sup>
C 6	40,90 $\pm$ 2,98 <sup>c</sup>	4,43 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	82,55 $\pm$ 0,67 <sup>a</sup>	69,02 $\pm$ 0,93 <sup>d</sup>
C 7	67,34 $\pm$ 11,19 <sup>bc</sup>	4,49 $\pm$ 0,62 <sup>c</sup>	58,03 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	79,88 $\pm$ 0,71 <sup>c</sup>
C 8	57,02 $\pm$ 10,32 <sup>abc</sup>	4,76 $\pm$ 0,46 <sup>c</sup>	79,85 $\pm$ 1,61 <sup>a</sup>	80,00 $\pm$ 2,60 <sup>bc</sup>
S 1	18,88 $\pm$ 0,27 <sup>AB</sup>	8,33 $\pm$ 2,18 <sup>A</sup>	33,33 $\pm$ 2,44 <sup>AB</sup>	43,61 $\pm$ 0,84 <sup>B</sup>
S 2	10,91 $\pm$ 0,66 <sup>D</sup>	4,49 $\pm$ 0,88 <sup>BC</sup>	19,88 $\pm$ 2,75 <sup>AB</sup>	15,46 $\pm$ 0,58 <sup>D</sup>
S 3	18,62 $\pm$ 0,71 <sup>AB</sup>	5,38 $\pm$ 1,41 <sup>BC</sup>	38,31 $\pm$ 2,39 <sup>AB</sup>	36,35 $\pm$ 2,76 <sup>C</sup>
S 4	17,08 $\pm$ 0,58 <sup>B</sup>	2,67 $\pm$ 0,01 <sup>C</sup>	15,09 $\pm$ 2,04 <sup>B</sup>	42,26 $\pm$ 0,22 <sup>B</sup>
S 5	19,95 $\pm$ 0,16 <sup>A</sup>	6,17 $\pm$ 0,03 <sup>AB</sup>	43,57 $\pm$ 18,97 <sup>A</sup>	48,34 $\pm$ 0,93 <sup>A</sup>
S 6	11,06 $\pm$ 0,46 <sup>D</sup>	3,24 $\pm$ 0,87 <sup>BC</sup>	21,83 $\pm$ 8,64 <sup>AB</sup>	11,46 $\pm$ 0,26 <sup>E</sup>
S 7	14,71 $\pm$ 1,60 <sup>C</sup>	4,16 $\pm$ 0,23 <sup>BC</sup>	37,32 $\pm$ 11,50 <sup>AB</sup>	44,64 $\pm$ 1,16 <sup>AB</sup>
S 8	13,29 $\pm$ 0,35 <sup>C</sup>	3,99 $\pm$ 0,52 <sup>BC</sup>	18,90 $\pm$ 7,63 <sup>AB</sup>	17,50 $\pm$ 1,75 <sup>D</sup>

Valores que apresentam a mesma letra, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey a 95% de confiança. Média da análise obtida por triplicata ( $n = 3$ ).

O processo de microencapsulação por *spray dryer* nesse estudo, causou a degradação de parte dos compostos fenólicos que são responsáveis pela atividade antioxidante presente no extrato de própolis vermelha. Resultado semelhante foi obtido por Do Nascimento *et al.* (2016), os quais observaram que houve redução na atividade

antioxidante de nanopartículas de extrato de própolis vermelha revestidas com policaprolactona de 76,22 a 81,40%.

A eficiência de encapsulação define a quantidade de extrato de própolis vermelha retida no interior da microcápsula e depende, entre outros fatores, da afinidade entre o agente encapsulante e o extrato de própolis, que é insolúvel em água.

Os maiores valores obtidos nesse estudo para encapsulação foram com a utilização da goma xantana e da proteína do soro do leite (*whey protein*) ou proteína isolada de soja como material de revestimento, de 85,31% (C1 e C5) por coacervação complexa e de 48,34% (S5) por *spray dryer*, em iguais concentrações (2,5g/100mL). Os resultados obtidos nesse estudo, tiveram diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ), sugerindo que o material de parede pode influenciar na eficiência de encapsulação.

Nori *et al.* (2011) obtiveram valores semelhantes aos verificados neste estudo ao microencapsular extrato de própolis verde (São Paulo), rico em compostos fenólicos, por coacervação complexa com proteína isolada de soja e pectina como agente encapsulante. A eficiência de encapsulação variou de 66,12 a 72,01%, dessa forma, a pectina pode ser um melhor agente que a goma xantana em eficiência de encapsulação.

O uso da própolis nos alimentos pode trazer benefícios à saúde do consumidor, pois, segundo Andrade *et al.* (2017), compostos fenólicos e flavonoides são os principais componentes responsáveis por diversas atividades biológicas, entre elas podemos citar a imunopotenciação, quimiopreventivos e antitumorais.

Além disso, a própolis vermelha resultou em maior inibição da peroxidação lipídica e sequestro de radicais livres quando comparada aos antioxidantes mais comumente utilizados em alimentos, como BHA, BHT e TBHQ, que despertaram preocupação por conta da sua toxicidade (SANTOS *et al.*, 2019).

É importante ressaltar que a indústria de alimentos é a segunda principal força motriz quando se trata do uso das técnicas de microencapsulação. Isso é motivado pelo aumento das exigências dos consumidores com relação a qualidade e segurança dos produtos, principalmente com relação aos ingredientes funcionais. Normalmente esses ingredientes são instáveis ao ambiente e/ou ao processo e, portanto, a microencapsulação surge como uma abordagem tecnológica para superar os problemas acima mencionados e, dessa forma, obter uma proteção eficaz desses ingredientes instáveis (PAULO; SANTOS, 2017).

## Capítulo 6. Considerações Finais

O método de microencapsulação de alimentos e outras substâncias possui ampla aplicabilidade, caracterizando-se como um método eficaz e de extrema importância na preservação de vários componentes nutricionais, microrganismos, enzimas, corantes, etc, protegendo o alimento e outros produtos contra os métodos mais agressivos de processamento. Vários materiais podem ser usados como agentes encapsulantes, sendo os mais comuns os carboidratos, devido ao fato de apresentar maior afinidade com vários tipos de materiais a serem encapsulados.

Os resultados apresentados no presente estudo indicam que é possível realizar a microencapsulação do extrato de própolis vermelha através de duas rotas tecnológicas diferentes, coacervação complexa e atomização por pulverização (*spray dryer*), utilizando isolado da proteína de soja (SPI) ou isolado da proteína do leite (*whey protein*) e a goma xantana como agentes encapsulantes, e assim, obter uma formulação em forma de pó, livre de álcool e com possibilidade de ser utilizada como aditivo em diversos alimentos, nutracêuticos e outros produtos.

Os resultados do rendimento de encapsulação foram diferentes entre as duas rotas tecnológicas, isso pode ter ocorrido devido as diferentes as condições de cada processo, sendo que as formulações da coacervação complexa em média apresentaram os melhores rendimentos, variando de 32,43% (C2) a 45,50% (C3), enquanto que para a microencapsulação por *spray dryer* variou de 19,75% (S7) a 50,08% (S2).

As microcápsulas produzidas foram caracterizadas quanto a suas propriedades físico-químicas de umidade, atividade de água (*aw*) e higroscopicidade, é importante ressaltar que as diferenças encontradas nos resultados obtidos nesse estudo, podem estar diretamente associadas a composição de cada formulação, como concentração do agente encapsulante, como também temperatura e pH empregados em cada técnica utilizada, sendo que atomização por pulverização (*spray dryer*), nesse estudo, foi a técnica que se apresentou mais adequada.

Quanto a presença de componentes bioativos e atividade antioxidante, as microcápsulas do extrato de própolis vermelha apresentaram resultados promissores, embora tenham apresentado redução no conteúdo total de compostos fenólicos e flavonoides, além da capacidade de sequestro do radical DPPH, durante o processo de microencapsulação por coacervação complexa e por *spray dryer*. Esse fato pode ser

devido ao encapsulamento de só uma parte das classes de compostos presentes no extrato inicial ou do processo de secagem com temperatura elevada, como é o caso do *spray dryer*, em comparação com o processos de secagem por liofilização, que demonstrou ser um método mais adequado do ponto de vista da uniformidade de conteúdo do teor de compostos fenólicos e flavonoides.

Com relação a conservação dos compostos bioativos, bem como a capacidade de sequestro do radical DPPH, a formulação C5 foi a que demonstrou a maior eficiência. Essa avaliação foi possível ao analisar a ruptura das microcápsulas e a eficiência de encapsulamento. Através da análise de eficiência de encapsulação, foi possível observar que foram alcançados diferentes níveis de encapsulação que variaram conforme o método e material de parede escolhidos.

Dessa forma, pode-se concluir que foi possível microencapsular o extrato de própolis vermelha, através das duas técnicas, obtendo um melhor resultado, utilizando 2,5 % de SPI e 2,5% de GX. Estes resultados contribuem para a indústria alimentícia, podendo agregar valor ao adicionar as propriedades farmacológicas da própolis como: ação antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, anticarcinogênica, antioxidante, entre outras.

## REFERÊNCIAS

AHN, J. H.; KIM, Y. P.; KIM, H. S. Effect of natural antioxidants on the lipid oxidation of microencapsulated seed oil. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 528-534, 2012.

ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO, M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTA-NETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 278-283, 2007.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.34, n.1, p.37-41, 2013.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; 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.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; ANDRADE, G. R. S.; da CUNHA-NASCIMENTO, C.; BARBOSA, P. F. Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. **Food Research International**, v. 109, p. 278-287, 2018.

ARPAGAUS, C.; COLLENBERG, A.; RÜTTI, D.; ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, p. 194-214, 2018.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BAH, M. G.; BILAL, H. M.; WANG, J. Fabrication and application of complex microcapsules: a review. **Soft Matter**, v. 16, n. 3, p. 570-590, 2020.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S.I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spraydrying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143-182, 2015.

BANKOVA, V. S.; De CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.

BARBARIĆ, M., MIŠKOVIĆ, K., BOJIĆ, M., LONČAR, 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**, v. 135, p. 772-778, 2011.

BILAL, M.; IQBAL, H. M. N. Naturally-derived biopolymers: Potential platforms for enzyme immobilization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 130, p. 462-482, 2019.

BOUGUÉON, G.; KAUSS, T.; DESSANE, B.; BARTHÉLÉMY, P.; CRAUSTE-MANCIET, S. Micro- and nano-formulations for bioprinting and additive manufacturing. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 1, p. 163-178, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União de 23/01/2001, Seção 1, Página 18.

BUSCH, V. M.; PEREYRA-GONZALEZ, A.; SEGATIN, N.; SANTAGAPITA, P. R., ULRICH, N. P.; BUERA, M. P. Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 227-235, 2017.

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, p. 1523-1527, 2009.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n.6, p. 1248-1252, 2000.

CAPASSO, F.; CASTALDO, S. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, p. 1-6, 2002.

CASTRO, M. L.; CURY, J.A.; ROSALEN, P. L.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; DUARTE, S.; KOO, H. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Química Nova**, vol.30, n.7, p. 1512-1516, 2007.

CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L. et al. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. **Food Research International**, v. 102, p. 575-587, 2017.

CORDEIRO, A. R.; SIMIONI, R. E.; WISNIEWSKI Jr. A.; NUNES. D. S. Composição química de duas variedades de própolis dos campos gerais do Paraná. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 5, n. 1, p.21-27, 2015.

CORREA, F. T.; SOUZA, A. C.; SOUZA-JÚNIOR, E. A.; ISIDORO, S. R.; PICCOLI, R. H. et al. Effect of Brazilian green propolis on microorganism contaminants of surface of Gorgonzola-type cheese. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 4, p. 1978–1987, 2019.

CORNARA, L.; BIAGI, M.; XIAO, J.; BURLANDO, B. Therapeutic Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 1-20, 2017.

COSTA, S. S.; MACHADO, B. A. S.; MARTINS, A. R.; BAGNARA, F.; RAGADALLI, S. A.; ALVES, A. R. C. Drying by spray drying in the food industry: micro-encapsulation, process parameters and main carriers used. **African Journal of Food Science**, v. 9, n. 9, p. 462-470, 2015.

COTTICA, S. M.; SABIK, H.; ANTOINE, C.; FORTIN, J.; GRAVELINE, N.; VISENTAINER, J. V.; et al. Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction. **Lebenson Wiss Technol**, v. 60, p. 609-614, 2015.

CUNHA, I. B. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, F. M.; SHIMIZU, M. T.; MARCUCCI, M. C.; DREZZA, F. T.; POVIA, G. S.; CARVALHO, P. O. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 964–970, 2004.

DA SILVA, F. C.; DA FONSECA, C. R.; DE ALENCAR, S. M.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; PITTIA, P.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spraydried 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.

DANTAS, D.; PASQUALI, M. A.; CAVALCANTI-MATA, M.; DUARTE, M. E.; LISBOA, H. M. Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. **Food Chemistry**, v. 266, p. 284-291, 2018.

DAUGSCH A, MORAES CS, FORT P, PARK Y. Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n.4, p.435-441, 2008.

DEVEQUI-NUNES, D.; MACHADO, B. A. S.; BARRETO, G. A.; REBOUÇAS-SILVA, J.; da SILVA, D. F.; da ROCHA, J. L. C.; BRANDÃO, H. N.; BORGES, V. M.; UMSZA-GUEZ, M. A. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. **Plos One**, v. 13, n. 12, p. 1-20, 2018.

DO NASCIMENTO, T. G., SILVA, P. F. DA, AZEVEDO, L. F., ROCHA, L. G. DA; PORTO, I. C. C. DE M., MOURA, T. F. A. L., BASÍLIO-JÚNIOR, I. D., GRILLO, L. A. M., DORNELAS, C. B., FONSECA, E. J. DA S., OLIVEIRA, E. DE J., ZHANG, A. T., WATSON, D. G. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, p. 301, 2016.

DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W. H.; HAYACIBARA, M. F.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n.4, p. 527-531, 2003.

ERATTE, D.; MCKNIGHT, S.; GENGENBACH, T. R.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. P. Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate/gum Arabic complex coacervates. **Journal of Functional Foods**, v. 19, part B, p. 882 – 892, 2015.

ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F.; SANTOS, L.; ALVES, A. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 138-155, 2013.

EUN, J. B.; MARUF, A.; DAS, P. R.; NAM, S. H. A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 26, p. 1-26, 2019.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103-112, 2008.

FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L.; DAMODARAN, S. Química de Alimentos de Fennema. **Editora: Artmed**, 4ªED, 2010.

FRANCHIN, M.; FREIRES, I. A.; LAZARINE, J. G.; NANI, B. D.; DA CUNHA, M. G.; COLON, D. F.; DE ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 30, p.1-7, 2017.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Reviews in Food Science and Nutrition**, v.28, n.4, p. 273-314, 1989.

FREIRES, I. A.; ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 110, p. 267-279, 2016

FUNARI, C. S.; FERRO, V. Análise de própolis. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p. 171-178, 2006.

GEA NIRO RESEARCH LABORATORY. Analytical methods dry milk products. **Soeborg: GEA Niro**, p. 103, 2003.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107-1121, 2007.

HA, H. K.; RANKIN, S. A.; LEE, M. R.; LEE, W. J. Development and Characterization of Whey Protein-Based Nano-Delivery Systems: A Review. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 1-17, 2019.

HODEL, K. V. S.; MACHADO, B. A. S.; SANTOS, N. R.; COSTA, R. G.; MENEZES-FILHO, J. A.; UMSZA-GUEZ, M. A. Metal Content of Nutritional and Toxic Value in Different Types of Brazilian Propolis. **The Scientific World Journal**, v. 2020, p. 1-9, 2020.

HUANG, S., ZHANG, C-P., WANG, K., Li, G., Hu, F-L. Recent advances in the chemical composition of Propolis. **Molecules**, v. 19, p. 19610–19632, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 21-22.

JIA, Z.; DUMONT, M.-J.; ORSAT, V. Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. **Food Bioscience**, v. 15, p. 87–104, 2016.

JIMÉNEZ-PRANTEDA, M. L.; PONCELET, D.; NÁDER-MACÍAS, M. E.; ARCOS, A.; AGUILERA, M.; MONTEOLIVA-SÁNCHEZ, M.; RAMOS-CORMENZANA, A. Stability of lactobacilli encapsulated in various microbial polymers. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 113, p.179-184, 2012.

KANOKPANONT, S.; YAMDECH, R.; ARAMWIT, P. Stability enhancement of mulberry-extracted anthocyanin using alginate/chitosan microencapsulation for food supplement application. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. 4, p. 773-782, 2018.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. **Food Research International**, v. 72, p. 91-97, 2015.

KUMAR, A.; RAO, K. M.; HAN, S. S. Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, p. 128-144, 2018.

KURUKJI, D.; NORTON, I.; SPYROPOULOS, F. Fabrication of sub-micron protein-chitosan electrostatic complexes for encapsulation and pH-modulated delivery of model hydrophilic active compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 249-260, 2016.

LABSKÁ, K.; PLODKOVÁ, H.; PUMANNOVÁ, M.; SENSCH, K. H. Antiviral activity of propolis special extract GH 2002 against *Varicella zoster* virus in vitro. **Die Pharmazie**, v. 73, n. 12, p. 733-736, 2018.

LI, T.; TENG, D.; MAO, R.; HAO, Y.; WANG, X.; WANG, J. Recent progress in preparation and agricultural application of microcapsules. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 107, n. 10, p. 2371-2385, 2019.

LIU, H.; NAKAGAWA, K.; KATO, D. I.; CHAUDHARY, D.; TADE, M. O. Enzyme encapsulation in freeze-dried bionanocomposites prepared from chitosan and xanthan gum blend. **Materials Chemistry and Physics**, v.129, p.488-494, 2011.

MACHADO, B. A. S.; CRUZ, L. S.; NUNES, S. B.; UMSZA GUEZ, M. A.; PADILHA, F. F. Estudo prospectivo da própolis e tecnologias correlatas sob o enfoque em documentos de patentes depositados no Brasil. **Revista GEINTEC**, v. 2, n. 3, p.221-235, 2012.

MACHADO, B. A. S.; PEREIRA, C. G.; NUNES, S. B.; PADILHA, F. F. P.; UMSZA GUEZ, M. A. Supercritical Fluid Extraction Using CO<sub>2</sub>: Main Applications and Future Perspectives. **Separation Science and Technology**, v. 48, p. 2741-2760, 2013.

MACHADO, B. A. S.; BARRETO, G. A.; COSTA, A. S.; COSTA, S. S.; SILVA, R. P. D. Determination of parameters for the supercritical extraction of antioxidant compounds from green propolis using carbon dioxide and ethanol as co-solvent. **PLOS ONE**, v.10, p.1-26 2015.

MANDAL, S.; HATI, S. Microencapsulation of Bacterial Cells by Emulsion Technique for Probiotic Application. **Methods in Molecular Biology**, v. 1479, p. 273-279, 2017.

MARTÍN, J. M.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, A. M.; MORALES, E. M. Microencapsulation of Bacteria : A Review of Different Technologies and Their Impact on the Probiotic Effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 27, p. 15-25, 2015.

MARTINOTTI, S.; RANZATO, E. Propolis : a new frontier for wound healing. **Burns & Trauma**, v. 3, n. 9, p. 1-7, 2015.

MARTINS, E.; PONCELET, D.; RODRIGUES, R. C.; RENARD, D. Oil encapsulation techniques using alginate as encapsulating agent: applications and drawbacks. **Journal of microencapsulation**, v. 34, n. 8, p. 754-771, 2017.

MEMON, A. H.; DING, R.; YUAN, Q.; WEI, Y.; LIANG, H. Facile synthesis of alcalase-inorganic hybrid nanoflowers used for soy protein isolate hydrolysis to improve its functional properties. **Food Chemistry**, v. 289, p. 568-574, 2019.

MENDONÇA-MELO, L., MOTA, E., LOPEZ, B., SAWAYA, A., FREITAS, L., JAIN, S., BATISTA, M., ARAÚJO, E. Chemical and genetic similarity between *Dalbergia ecastaphyllum* and red propolis from the Northeastern Brazil. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, p. 32-39, 2017.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, Hat Yai, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2003.

MORA, D. P. P.; SANTIAGO, K. B.; CONTI, B. J.; OLIVEIRA-CARDOSO, E.; CONTE, F. L. *et al.* The chemical composition and events related to the cytotoxic effects of propolis on osteosarcoma cells: A comparative assessment of Colombian samples. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 3, p. 591-601, 2019.

MOSCHAKIS, T.; BILIADERIS, C. G. Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 28, p. 96-109, 2017.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N. DE A.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, v. 214, p. 308-318, 2017.

NANI, B. D.; SARDI, J. C. O.; LAZARINI, J. G.; SILVA, D. R.; MASSARIOLLI, A. P.; CUNHA, T. M. *et al.* Anti-inflammatory and anti-Candida Effects of Brazilian Organic Propolis, a Promising Source of Bioactive Molecules and Functional Food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 1-11, 23 ago. 2019.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Review. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 469-479, 2013.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ALENCAR, S. M.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; CASTILLO, C. J. C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 429-435, 2011.

OLIVEIRA-DEMOGURSCHI, D. S.; SILVA-TRENTIN, D.; BOARETTO, A. G.; RIGO, G. V.; SILVA, R. C. *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.

OMONIJO, F. A.; NI, L.; GONG, J.; WANG, Q.; LAHAYE, L.; YANG, C. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal nutrition**, v. 4, n. 2, 126-136, 2018.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 468-483, 2018.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCOB I., XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494-506, 2019.

PALANIRAJ, A.; JAYARAMAN, V. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. **Journal of Food Engineering**, v.106 p. 1-12. 2011.

PAPILLO, V. A.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; BORDIGA, M.; GARINO, C. et al. Cocoa hulls polyphenols stabilized by microencapsulation as functional ingredient for bakery applications. **Food Research International**, v. 115, p. 511-518, 2019.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M. Preparation of Water and Ethanolic Extracts of Propolis and Evaluation of the Preparations. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 62, p. 2230-2232, 1998.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2502-2506, 2002.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1327-1340, 2017.

PATHAK, J.; PRIYADARSHINI, E.; RAWAT, K.; BOHIDAR, H. B. Complex coacervation in charge complementary biopolymers: Electrostatic versus surface patch binding. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 250, p. 40-53, 2017.

PAZIN, W. M.; MÔNACO, L. M.; SOARES, A. E. E.; MIGUEL, F. G.; BERRETTA, A. A.; ITOET, A. S. Antioxidant activities of three stingless bee propolis and green propolis types. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 40-49, 2017.

PEDRAZZI, V.; LEITE, M. F.; TAVARES, R. C.; SATO, S.; NASCIMENTO, G. C.; ISSA, J. P. Herbal mouthwash containing extracts of *Baccharis dracunculifolia* as agent for the control of biofilm: clinical evaluation in humans. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p 1-6, 2015.

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.

PEREIRA, D. S.; FREITAS, C. I. A.; FREITAS, M. O. Histórico e principais usos da própolis apícola. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 11, n. 2, p. 01-21, 2015.

PICOLI, T. Caracterização química e ação antibacteriana de extrato de própolis marrom da região sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 38, n. 4, p. 365-371, 2016.

PRATAMI, D. K.; MUN'IM, A.; YOHDA, M.; HERMANSYAH, H.; GOZAN, M.; RISKY, Y.; PUTRI, P.; SAHLAN, M. Total phenolic content and antioxidant activity of spraydried microcapsules propolis from *Tetragonula* species. **AIP Conference Proceedings**, v. 2085, p. 20040, 2019.

PRZYBYŁEK, I.; KARPINSKI, T. M. Antibacterial Properties of Propolis. **Molecules**, v. 24, p. 2047-2064, 2019.

POBIEGA, K.; KRAŚNIEWSKA, K.; GNIEWOSZ, M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 83, p. 53-62, 2019.

POOZESH, S.; BILGILI, E. Scale-up of pharmaceutical spray drying using scale-up rules: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, p. 271-292, 2019.

REIS, J. H. O.; BARRETO, G. A.; CERQUEIRA, J. C.; ANJOS, J. P. D.; ANDRADE, L. N.; PADILHA, F. F.; DRUZIAN, J. I.; MACHADO, B. A. S. Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. **Plos One**, v. 14, n. 7, p. 1-27, 2019.

RISTIVOJEVIĆ, P.; TRIFKOVIĆ, J.; ANDRIĆ, F.; MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D. Poplar-type Propolis: Chemical Composition, Botanical Origin and Biological Activity. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 11, p. 1869-1876, 2015.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. **Food Chemistry**, v. 139, p. 72-78, 2013.

RUBINHO, M. P.; CARVALHO, P. L. N.; REIS, A. L. L. E.; REIS, E.; ALENCAR, S. M.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; IKEGAKI, M. A comprehensive characterization of polyphenols by LC-ESI-QTOF-MS from *Melipona quadrifasciata anthidioides* geopropolis and their antibacterial, antioxidant and antiproliferative effects. **Natural Product Research**, p. 1-6, 2019.

RUDKE, A. R.; HELENO, S. A.; FERNANDES, I. P.; PRIETO, M. A.; GONSALVES, O. H.; RODRIGUES, A. E.; FERREIRA, I. C.F.R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of ergosterol and *Agaricus bisporus* L. extracts by complex coacervation using whey protein and chitosan: Optimization study using response surface methodology. **LWT-Food Science and Technology**, v. 103, p. 228-237, 2019.

SALAMA, A. H. Spray drying as an advantageous strategy for enhancing pharmaceuticals bioavailability. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 10, p. 1-12, 2020.

SALATINO, A., FERNANDES-SILVA, C. C., RIGHI, A. A., SALATINO, M. L. F., Propolis research and the chemistry of plant products. **Natural Product Reports**, v. 28, p. 925-936, 2011.

SANTOS, C. R.; ARCENIO, F.; CARVALHO, E. S.; LÚCIO, E. M. R. A.; ARAÚJO, G. L.; TEIXEIRA, L. A.; SHARAPIN, N.; ROCHA, L. Otimização do processo de extração

de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 71-74, 2003.

SANTOS, M. G. Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar. **Pirassungunga**, p. 35-101, 2014.

SANTOS, L. M.; FONSECA, M. S.; SOKOLONSKI, A. R.; DEEGAN, K. R.; ARAÚJO, R. P.; UMSZA-GUEZ, M. A.; BARBOSA, J. D.; PORTELA, R. D.; MACHADO, B. A. S. Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 2019, p. 1-14, 2019.

SANTOS, M. S.; Estevinho L. M.; Carvalho, C. A. L.; Morais, J. S.; Conceição ALS Probiotic Yogurt with Brazilian Red Propolis: Physicochemical and Bioactive Properties, Stability, and Shelf Life. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 12, p. 3429-3436, 2019.

SFORCIN, J. M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 1-14, 2007.

SHADDEL, R.; HESARI, J.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; HAMISHEHKAR, H.; FATHI-ACHACHLOUEI, B. et al. Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1800-1810, 2018.

SILVA, D. F.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ROCHA, G. A.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of lycopene by gelatin-pectin complex coacervation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 36, p. 185-190, 2011.

SING, C. E. Development of the modern theory of polymeric complex coacervation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 236, p. 2-16, 2017.

SINGH, A.; VAN DEN MOOTER, G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 100, p. 27-50, 2016.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology Viticulture**, v.20, n.2, p. 144-158, 1965.

SUN, H.; HUA, X.; ZHANG, M.; WANG, Y.; CHEN, Y. et al. Whey Protein Concentrate, Pullulan, and Trehalose as Thermal Protective Agents for Increasing Viability of *Lactobacillus plantarum* Starter by Spray Drying. **Food Science of Animal Resources**, v. 40, n. 1, 118-131, 2020.

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

TANG, C. H. Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 12, p. 2636-2679, 2017.

TANSAZ, S.; BOCCACCINI, A. R. Biomedical applications of soy protein: A brief overview. **Journal of Biomedical Materials Research. Part A**, v. 104, n. 2, p. 553-569, 2016.

TEIXEIRA, F. J.; SANTOS, H. O.; HOWELL, S. L.; PIMENTEL, G. D. Whey protein in cancer therapy: A narrative review. **Pharmacological Research**, v. 144, p. 245-256, 2019.

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

TRUSHEVA, B. et al. Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249-254, 2006.

VALADARES, B. L. B.; ALVES, M. V.; SANTOS, A. L. P.; CARDOSO, M. N. Avaliação de atividade mutagênica de amostras de própolis vermelhado Estado de Sergipe (Brasil) pelo Teste de Mutação e Recombinação Somática em *Drosophila melanogaster*. **Scientia Plena**, v. 11, n. 1, 2015.

VASILAKI, A.; HATZIKAMARI, M.; STAGKOS-GEORGIADIS, A.; GOULA, A. M.; MOURTZINOS, I. A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage. **Food Chemistry**, v. 298, 2019.

VEIGA, R. S.; MENDONÇA, S.; MENDES, P. B.; PAULINO, N.; MIMICA, M. J.; LAGAREIRO-NETTO, A. A.; LIRA, I. S.; LÓPEZ, B. G.; NEGRÃO, V.; MARCUCCI, M. C. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, p. 911-920, 2017.

VERMA, A.; SINGH, S. V. Spray drying of fruit and vegetable juices--a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 5, p. 701-719, 2015.

WARNAKULASURIYA, S. N.; NICKERSON, M. T. Review on plant protein-polysaccharide complex coacervation, and the functionality and applicability of formed complexes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 15, p. 5559-5571, 2018.

WILLER, D.; ALDRIDGE, D.C. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture. **Royal Society Open Science**, v. 4, n. 11, 1-10, 2017.

YE, Q.; GEORGES, N.; SELOMULYA, C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. **Trends in Food Science & Technology**, v.78, p. 167-179, 2018.

XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R.; NIU, Y. A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 8, p. 1482–1494, 2014.

ZACCARIA, V.; CURTI, V.; DI LORENZO, A.; BALDI, A.; MACCARIO, C.; SOMMATIS, S. et al. Effect of green and brown propolis extracts on the expression levels of microRNAs, mRNAs and proteins, related to oxidative stress and inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 10, 2017.

ZAKERKISH, M.; JENABI, M.; ZAEEMZADEH, N.; HEMMATI, A. A.; NEISI, N. The Effect of Iranian Propolis on Glucose Metabolism, Lipid Profile, Insulin Resistance, Renal Function and Inflammatory Biomarkers in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. **Scientific Reports**, v. 9, p. 7289–7300, 2019.

ZHANG, C.; LI, X.; LIU, Y. N.; ZHANG, F. Utilization of microcapsule technology in foods. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 12, p. 9330-9340, 2015.