

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Agrárias
Programa de Pós-graduação em Alimentos e Saúde

Núbia Fernandes Bispo

MICROENCAPSULAÇÃO DE PRÓPOLIS POR COACERVAÇÃO COMPLEXA

Montes Claros
2023

Núbia Fernandes Bispo

MICROENCAPSULAÇÃO DE PRÓPOLIS POR COACERVAÇÃO COMPLEXA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Saúde, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Saúde.

Orientadora: Prof.^a Janaína Teles de Faria

Coorientador: Prof.^a Érika Endo Alves

Prof. Fausto Makishi

Montes Claros
2023

Bispo, Núbia Fernandes.

B621m Microencapsulação de própolis por coacervação complexa [manuscrito] / Núbia
2023 Fernandes Bispo. Montes Claros, 2023.
104 f.:il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Alimentos e Saúde.
Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Janaina Teles de Faria.

Banca examinadora: Igor Viana Brandi, William James Nogueira Lima, Janaina
Teles de Faria.

Inclui referências: f. 60-89.

1. Propole. 2. Microencapsulação. 3. Abelha - Produtos. I. Faria, Janaina Teles. II.
Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.


CDU: 638.1

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO


Ao 11 dia do mês de julho de 2023, às 14:00 horas, sob a Presidência da Prof^a Janaína Teles de Faria, Dr. Sc. (Orientadora – UFMG/ICA) e com a participação dos Professores William James Nogueira Lima, Dr. Sc. (UFMG/ICA) e Igor Viana Brandi, Dr. Sc. (UFMG/ICA), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de defesa de dissertação da Discente **Núbia Fernandes Bispo**, aluna do Curso de Mestrado em Alimentos e Saúde. O resultado da defesa de dissertação intitulada: **“MICROENCAPSULAÇÃO DE PRÓPOLIS POR COACERVAÇÃO COMPLEXA”**, sendo a aluna considerada (aprovado(a)/reprovado(a)) **APROVADA**. E, para constar, eu, Professora Janaína Teles de Faria, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências onde a candidata deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência da orientadora, no mínimo 1 (um) exemplar impresso e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação no prazo máximo de 30 (trinta) dias.


Montes Claros, 11 de julho de 2023.

Documento assinado digitalmente
 WILLIAM JAMES NOGUEIRA LIMA
Data: 11/07/2023 17:58:28-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

William James Nogueira Lima
Membro

Documento assinado digitalmente
 IGOR VIANA BRANDI
Data: 11/07/2023 17:52:20-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Igor Viana Brandi
Membro

Documento assinado digitalmente
 JANAINA TELES DE FARIA
Data: 11/07/2023 17:44:24-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Janaína Teles de Faria
Membro

Dedico este trabalho aos meus pais Zeli
Fernandes e José Bispo (*in memoriam*) com
todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

De todas as experiências que tive, esta foi, sem dúvidas, a mais desafiadora, tanto pelo processo de pesquisa e escrita quanto pelos relacionamentos e experiências que pude colecionar nesta trajetória.

Inicialmente, agradeço a Deus por minha vida, saúde, por todas as graças e oportunidades que eu recebi durante todo o meu percurso.

Aos meus pais amados José (*in memoriam*) e Zeli, por serem grandes incentivadores, por acreditarem em mim e viverem comigo esse sonho. Obrigada por todos os ensinamentos, amor e confiança.

As minhas irmãs Mônica e Sirlene por sempre terem uma palavra de apoio e incentivo, por me proporcionarem risadas sem fim e serem minhas melhores amigas.

Aos meus sobrinhos Eduardo, Anne, Emmanuel e Maria Júlia, por me mostrarem que a alegria se apresenta nos momentos mais simples da vida. Obrigada pelo amor de vocês!

Ao Saymon Bruno, meu companheiro de vida, meu esposo e amigo, agradeço por caminhar ao meu lado, por ser meu refúgio, pelo apoio e incentivo à minha carreira, pela paciência, amor e compreensão.

A professora e orientadora Dra. Janaína Teles de Faria, que me acompanhou durante toda a minha caminhada do Mestrado. Todas as indicações bibliográficas, discussões e orientações foram valiosas, não só para a escrita da dissertação, mas para o meu próprio desenvolvimento como pensadora crítica. Agradeço por todos os ensinamentos passados e por sua paciência imensa.

Aos técnicos Hugo, Caroline, Thaís e Sandro, que colaboraram muito com o desenvolvimento desse projeto. Aos professores que contribuíram na realização das minhas análises, principalmente ao professor Dr. Maximiliano Soares Pinto por disponibilizar o laboratório de tecnologia de alimentos.

A todas as pessoas que contribuíram de forma direta e indireta para a realização desse trabalho.

Aos membros da banca de defesa por todas as correções, discussões e sugestões, necessárias para a obtenção dessa dissertação.

“Tua caminhada ainda não terminou. A realidade te acolhe dizendo que pela frente o horizonte da vida necessita de tuas palavras e do teu silêncio. Se amanhã sentires saudades, lembra-te da fantasia e sonha com tua próxima vitória.”

(Charles Chaplin)

Resumo

A própolis é um produto resinoso produzido por abelhas melíferas a partir de fontes vegetais. Tal produto apícola tem atraído interesse das indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética devido às suas diversas propriedades farmacológicas, como ação anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, anticarcinogênica, entre outras. O método de microencapsulação de compostos de interesse possui ampla aplicabilidade, caracterizando-se como um método eficaz e de extrema importância na preservação dos compostos, protegendo-os contra condições adversas do meio e/ou do processamento. A aplicação da própolis em alimentos ainda é limitada, pois além de ser solúvel em álcool, possui sabor adstringente e aroma forte, somado às vantagens relacionadas à estabilidade e manutenção da funcionalidade dos compostos de interesse, a microencapsulação pode possibilitar o mascaramento de sabores indesejados. Assim, tal tecnologia pode ser vista como uma boa estratégia para reduzir os problemas relacionados à incorporação da própolis em alimentos. O objetivo do presente estudo foi microencapsular o extrato de própolis por coacervação complexa, empregando-se proteínas do soro do leite e goma arábica, e processo de secagem das cápsulas obtidas em estufa, avaliando o efeito do pH e da proporção de biopolímeros sobre o rendimento de microcápsulas; caracterizando as microcápsulas de própolis produzidas quanto a morfologia, umidade, cor, higroscopicidade, solubilidade em água, densidade, teor de compostos bioativos, atividade de água e atividades antioxidantes e antimicrobiana; elaborar e avaliar o extrato de própolis quanto ao teor de compostos bioativos, atividade antioxidante e antimicrobiana; avaliar a cinética de liberação dos compostos fenólicos totais e flavonoides totais em diferentes meios e avaliar a estabilidade da microcápsula de própolis ao longo do armazenamento sob diferentes condições ao longo de 90 dias. O processo de encapsulação foi avaliado em termos do rendimento e eficiência. Foram determinados, nos extratos de própolis livre e encapsulado, o conteúdo de compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides totais), bem como sua atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e FRAP e atividade antimicrobiana. As microcápsulas obtidas foram caracterizadas. A cinética de liberação de compostos fenólicos foi avaliada em meio ácido (ácido acético a 1%, pH 2,7 a 37 °C) e meio neutro (tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,1 a 25 °C) e a estabilidade dos compostos bioativos foi avaliada em termos dos teores de fenólicos totais e flavonoides totais durante 90 dias. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a coacervação em pH 4,0 e proporção de biopolímeros de 3:1 (proteína de soro do leite e goma arábica) resultou em maior rendimento (87,33 %) e elevada eficiência de encapsulação (80,3 %). As microcápsulas apresentaram paredes bem definidas, formas e tamanhos irregulares, densidade aparente (0,56 g/mL) de acordo com valores observados para alimentos em pó, baixos valores de atividade de água (0,30 %), umidade (6,7 %), higroscopicidade (3,2 %) e solubilidade em água (25,04 %). As microcápsulas apresentaram valores de IB , h^*_{ab} e c^*_{ab} iguais a $72,8 \pm 1,7$; $1,5 \pm 0,0$ e $19,0 \pm 1,1$, respectivamente, tendendo do vermelho ($+a^* = 1,0 \pm 0,2$) para o amarelo ($+b^* = 19,0 \pm 1,0$) de forma mais intensa, e apresentaram coloração mais clara (luminosidade $L^* = 81,12 \pm 1,62$). Os extratos e as cápsulas de própolis apresentaram conteúdo fenólicos totais $> 15,9$ mg EAG/g, flavonoides totais $> 0,4$ mg EQ/g e atividade antioxidante. No entanto, não foi verificada atividade antimicrobiana contra os microrganismos patogênicos testados (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) para os extratos livres e encapsulado. Verificou-se maior retenção dos compostos fenólicos quando em meio neutro quando comparado ao meio ácido. As microcápsulas apresentaram boa conservação dos compostos fenólicos ao longo de 90 dias a 25 °C e -75 °C, tendo uma redução dos compostos bioativos mais acentuada nas cápsulas armazenadas a 25 °C em comparação às cápsulas estocadas a -75 °C. Os resultados obtidos neste estudo trazem perspectivas para a utilização de extrato de própolis encapsulado em formulações alimentícias como potencial aditivo.

Palavras-chave: complexo coacervado. hidrocoloide. encapsulação. produto apícola. *Apis mellifera* L.

Abstract

Propolis is a resinous product produced by honey bees from plant sources. This beekeeping product has attracted interest from the food, pharmaceutical and cosmetic industries due to its various pharmacological properties, such as anti-inflammatory, healing, anesthetic, anticarcinogenic properties, among others. The method of microencapsulation of compounds of interest has wide applicability, being characterized as an effective and extremely important method for preserving compounds, protecting them against adverse environmental and/or processing conditions. The application of propolis in foods is still limited, as in addition to being soluble in alcohol, it has an astringent flavor and strong aroma. In addition to the advantages related to stability and maintenance of the functionality of the compounds of interest, microencapsulation can enable the masking of unwanted flavors. Thus, such technology can be seen as a good strategy to reduce problems related to the incorporation of propolis into foods. The objective of the present study was to microencapsulate propolis extract by complex coacervation, using whey proteins and gum arabic, and drying the capsules obtained in an oven, evaluating the effect of pH and proportion of biopolymers on yield of microcapsules; characterizing the propolis microcapsules produced regarding morphology, humidity, color, hygroscopicity, water solubility, density, content of bioactive compounds, water activity and antioxidant and antimicrobial activities; prepare and evaluate propolis extract for the content of bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activity; evaluate the release kinetics of total phenolic compounds and total flavonoids in different media and evaluate the stability of the propolis microcapsule during storage under different conditions over 90 days. The encapsulation process was evaluated in terms of yield and efficiency. The content of bioactive compounds (total phenolics and total flavonoids), as well as their antioxidant activity by DPPH and FRAP methods and antimicrobial activity, were determined in free and encapsulated propolis extracts. The microcapsules obtained were characterized. The release kinetics of phenolic compounds were evaluated in acidic media (1% acetic acid, pH 2.7 at 37 °C) and neutral media (0.1 mol/L phosphate buffer, pH 7.1 at 25 °C) and the stability of bioactive compounds was evaluated in terms of total phenolic and total flavonoid contents for 90 days. From the results obtained, it was verified that coacervation at pH 4.0 and biopolymers ratio of 3:1 (whey protein and gum arabic) resulted in higher yield (87.33%) and high encapsulation efficiency (80.3%). The microcapsules presented well-defined walls, irregular shapes and sizes, apparent density (0.56 g/mL) in accordance with values observed for powdered foods, low values of water activity (0.30%), humidity (6.7 %), hygroscopicity (3.2%) and water solubility (25.04%). The microcapsules presented IB , h^*_{ab} and c^*_{ab} values equal to 72.8 ± 1.7 ; 1.5 ± 0.0 and 19.0 ± 1.1 , respectively, tending from red ($+a^* = 1.0 \pm 0.2$) to yellow ($+b^* = 19.0 \pm 1.0$) more intensely, and presented a lighter color (luminosity $L^* = 81.12 \pm 1.62$). Propolis extracts and capsules had total phenolic content > 15.9 mg EAG/g, total flavonoids > 0.4 mg EQ/g and antioxidant activity. However, no antimicrobial activity was found against the pathogenic microorganisms tested (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) for the free and encapsulated extracts. In a neutral medium, the retention of phenolic compounds is higher than in an acid medium. The microcapsules showed good conservation of phenolic compounds over 90 days at 25 °C and -75 °C, with a more pronounced reduction in bioactive compounds in capsules stored at 25 °C compared to capsules stored at -75 °C. The results obtained in this study bring perspectives for the use of encapsulated propolis extract in food formulations as a potential additive.

Keywords: coacervate complex. hydrocolloid. encapsulation. bee product. *Apis mellifera* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Categorias de cápsulas: (a) microcápsula simples, (b) agrupamento de cápsulas, (c) vários núcleos, (d) microcápsula de parede múltipla, (e) microcápsula simples irregular e (f) microesferas (núcleos uniformemente disperso na matriz).	25
Figura 2. Modelo esquemático de microencapsulação por coacervação complexa.	31
Figura 3. Parâmetros que influenciam a formação dos coacervados.	32
Figura 4. Estrutura molecular da goma arábica e os principais grupos terminais e formadores da cadeia principal.	38
Figura 5. Microcápsulas de extrato de própolis obtidas após maceração do coacervado seco.	56
Figura 6. Microscopia óptica de microcápsulas de extrato de própolis obtidas por coacervação complexa entre proteína do soro do leite e goma arábica (40×).	57
Figura 7. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de própolis concentrado (1), extrato etanólico de própolis (2), microcápsulas de própolis nas concentrações de 100 mg/mL (3 e 6), 10 mg/mL (4 e 7) e 0,1 mg/mL (5 e 8) frente às cepas de <i>Salmonella typhimurium</i> (A), <i>Staphylococcus aureus</i> (B) e <i>Escherichia coli</i> (C). Controle positivo (disco sem numeração): clorafenicol (A) e vancomicina (B e C).	67
Figura 8. Perfis de liberação de compostos fenólicos a partir de micropartículas de extrato de própolis em ácido acético 1% v/v (pH 2,7) (■) e tampão fosfato 0,2 mol/L (pH 7,1) (●).	69
Figura 9. Estabilidade dos compostos bioativos durante a estocagem das microcápsulas por período de 90 dias a -75 °C (■) e 25 °C (●): (A) compostos fenólicos totais e (B) flavonoides totais.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas, região geográfica e origem botânica	19
Tabela 2. Propriedades biológicas avaliadas na própolis verde.	23
Tabela 3. Métodos e técnicas utilizados na encapsulação de bioativos, probióticos e prebióticos.	27
Tabela 4. Principais polímeros utilizados na microencapsulação.	29
Tabela 5. Trabalhos sobre microencapsulação de bioativos por coacervação complexa usando diferentes pares poliméricos como materiais de parede.....	34
Tabela 6. Morfologia, separação de fases e rendimento de cápsulas vazias obtidas por coacervação complexa entre proteína do soro do leite e goma arábica na proporção de 2:1, concentração total de polímeros de 2% m/v, em diferentes pH.	53
Tabela 7. Morfologia, separação de fases e rendimento de cápsulas vazias obtidas por coacervação complexa entre proteína do soro do leite e goma arábica nas proporções de 2:1, 3:1 e 4:1 concentração total de polímeros de 2% m/v, em pH.4,0.	55
Tabela 8. Avaliação da propriedade antioxidante dos extratos de própolis concentrado (EPC) e etanólico (EEP), e das microcápsulas de extrato de própolis pelo método DPPH.	64

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI	Brain heart infusion
BSA	Albumina do soro bovino
CPS	Proteína de soro de leite
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAG	Equivalente de ácido gálico
EE	Eficiência de encapsulação
EEP	Extrato etanólico de própolis
EPC	Extrato de própolis concentrado
EQ	Equivalente de quercetina
FRAP	Capacidade redutora do ferro
GA	Goma arábica
HCL	Ácido clorídrico
IB	Índice de brancura
MH	Mueller-Hinton
NaOH	Hidróxido de sódio
pH	Potencial de hidrogênio
pI	Ponto isoelétrico
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
α -La	α -lactoalbumina
β -Lg	β -lactoglobulina

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1.	Própolis	17
2.1.1.	Própolis verde	21
2.1.2.	Propriedades biológicas da própolis	22
2.2.	Microencapsulação	24
2.2.1.	Microencapsulação por coacervação complexa	31
2.2.2.	Materiais encapsulantes	36
3.	OBJETIVOS	41
3.1.	Objetivos específicos	41
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1.	Matéria-prima	42
4.2.	Produção do extrato de própolis	42
4.3.	Avaliação das condições para encapsulação	43
4.4.	Preparo das cápsulas	43
4.5.	Rompimento das cápsulas de extrato de própolis	44
4.6.	Avaliação do processo de encapsulação	44
4.6.1.	Rendimento	44
4.6.2.	Eficiência	44
4.7.	Caracterização estrutural e físico-química das cápsulas de extrato de própolis	45
4.7.1.	Morfologia e tamanho médio	45
4.7.2.	Umidade	45
4.7.3.	Higroscopicidade	45
4.7.4.	Solubilidade em água	45
4.7.5.	Densidade aparente	46
4.7.6.	Cor instrumental	46
4.7.7.	Atividade de água	47
4.8.	Avaliação de compostos bioativos do extrato de própolis e das microcápsulas de extrato de própolis	47
4.8.1.	Determinação de compostos fenólicos totais	47
4.8.2.	Determinação de flavonoides totais	47
4.9.	Atividade antioxidante	48
4.9.1.	Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	48

4.9.2.	Capacidade redutora do ferro (FRAP)	48
4.10.	Atividade antimicrobiana.....	49
4.11.	Cinética de liberação de compostos fenólicos	49
4.12.	Estabilidade das cápsulas de extrato de própolis durante o armazenamento	50
4.13.	Análise estatística.....	50
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1.	Avaliação de parâmetros do processo de coacervação complexa.....	51
5.2.	Avaliação das microcápsulas de extrato de própolis.....	56
5.2.1.	Eficiência e rendimento de encapsulação	57
5.2.2.	Propriedades físicas das microcápsulas de extrato de própolis	58
5.3.	Avaliação do teor dos compostos bioativos dos extratos de própolis e das microcápsulas de extrato de própolis	62
5.4.	Atividade antioxidante.....	63
5.4.2.	Método de redução de ferro (FRAP)	65
5.5.	Atividade antimicrobiana.....	66
5.6.	Cinética de liberação dos compostos fenólicos encapsulados	68
5.7.	Estabilidade das cápsulas de extrato de própolis durante o armazenamento	70
6.	CONCLUSÃO	72

1. INTRODUÇÃO

A própolis é um produto resinoso natural produzido por abelhas melíferas a partir de fontes vegetais e misturada com cera e enzimas apícolas (ZHENG *et al.*, 2017; BURDOCK, 1998). A própolis pode ser considerada uma fonte de compostos bioativos para utilização como alimento funcional ou nutracêutico (NANI *et al.*, 2019). O consumo regular do extrato e/ou de produtos contendo própolis contribui para a diminuição do risco de diferentes patologias devido às propriedades farmacológicas dos compostos presentes nessa matriz, que podem ter ação antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante, anestésica, anticarcinogênica, antiviral, antioxidante e fitotóxica (SFORCIN & BANKOVA, 2011; BARBARIĆ *et al.*, 2011; MARTINOTTI & RANZATO, 2015). Quanto ao conteúdo de metabólitos secundários, possui polifenóis, flavonóides, agliconas, ácidos fenólicos e seus ésteres e cetonas (YAO *et al.*, 2004).

Produtos como balas, chocolates, doces, xampus, cremes para pele, soluções antissépticas, pastas de dentes, entre outros contendo extrato de própolis têm sido fabricados pelas indústrias de alimentos, farmacêutica e de produtos de cuidados pessoais, sendo comercializados em todo o mundo, principalmente no Japão (MENDONÇA-MELO *et al.*, 2017; ACKERMANN, 1991). No entanto, a aplicação da própolis em alimentos ainda é limitada, pois além de ser solúvel em álcool, possui sabor adstringente e aroma balsâmico.

A microencapsulação consiste em um processo tecnológico de inovação que visa proteger moléculas bioativas, nutrientes, enzimas e microrganismos de interesse ao revesti-los com determinados materiais de paredes, dando origem a nano ou micropartículas. As paredes ou invólucros formados no processo de empacotamento tendem a proteger os compostos de interesse contra os fatores ambientais até seu consumo, permitindo, em determinados casos, até mesmo a liberação desses compostos em sítios específicos, de forma segura e controlada, por meio de mecanismos que envolvem ação mecânica e variações das condições do meio, como temperatura e pH, no qual as micropartículas estão presentes (AZEREDO, 2005; MENEZES *et al.*, 2013; NASCIMENTO *et al.*, 2019; DA SILVA *et al.*, 2015).

Somado às vantagens relacionadas à estabilidade e manutenção da funcionalidade dos compostos de interesse, a microencapsulação pode possibilitar o mascaramento de sabores indesejados (LIMA, 2021). Assim, tal tecnologia pode ser vista como uma boa estratégia para reduzir os problemas relacionados à incorporação da própolis em alimentos.

Cabe ressaltar que na microencapsulação, o material de parede é um dos fatores que requer cuidados especiais, principalmente na seleção dos materiais que irão compor a parede, membrana ou invólucro das micropartículas (ZHANG *et al.*, 2015), visto que a substância escolhida deve apresentar solubilidade, difusividade, carga elétrica e massa molar adequadas, além de proporcionar estabilidade e preservação do núcleo durante todo o período de estocagem, sem que haja reação entre ambos (GAONKAR *et al.*, 2014; JATO, 2001; NASCIMENTO *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2015).

É possível encontrar na literatura muitos estudos envolvendo a encapsulação de própolis com diversos materiais de parede e empregando-se diferentes técnicas, como a coacervação complexa (NORI *et al.*, 2011; ONBAS *et al.*, 2016). No entanto, até o momento não foi encontrado na literatura nenhum estudo sobre a encapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa empregando-se proteínas do soro de leite e goma arábica com utilização de processo de secagem das cápsulas em estufa. Assim, o presente estudo teve como objetivo produzir e caracterizar cápsulas de extrato de própolis obtidas por coacervação complexa entre esses biopolímeros, bem como avaliar a cinética de liberação de compostos fenólicos, a estabilidade e as atividades antioxidante e antimicrobiana das cápsulas produzidas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Própolis

O termo própolis é derivado do grego, cujo prefixo *pró* significa “em defesa” e *polis*, “cidade” (AMINIMOGHADAMFAROUJ & NEMATOLLAHI, 2017; YUMNAM *et al.*, 2017; ZABAIYOU *et al.*, 2017; PETER *et al.*, 2019), o que remete à substância defensiva da colmeia (AMINIMOGHADAMFAROUJ & NEMATOLLAHI, 2017; SFORCIN, 2016). A própolis tem função de revestimento, uma vez que essa resina natural é utilizada pelas abelhas para fechar aberturas e rachaduras que ocorrem nas colmeias (AHMED *et al.*, 2017; SUNG *et al.*, 2017), impedindo a invasão de outros insetos e de microrganismos, evitando assim sua decomposição (PEREIRA *et al.*, 2015; CORNARA *et al.*, 2017; DEVEQUI-NUNES *et al.*, 2018). A própolis é utilizada pelas abelhas não apenas para proteção das colmeias, mas, também, como antisséptico para proteger suas larvas, depósitos de mel e favos contra microrganismos patogênicos (AKBAY *et al.*, 2017; AL-HARIRI, 2011; ALONSO-SALCES *et al.*, 2017; KASIOTIS *et al.*, 2017; SABIR & SUMIDARTI, 2017).

O primeiro relato sobre a utilização da própolis pelo homem como medicamento tradicional é tão antigo quanto o consumo do mel, desde 300 a.C. (SUNG *et al.*, 2017; VEIGA *et al.*, 2017). Há relatos de que gregos e romanos já conheciam o potencial de cura da própolis, utilizando-a como antimicrobiano em ferimentos e lesões na pele (BANKOVA *et al.*, 2000; CASTALDO & CAPASSO, 2002; VEIGA *et al.*, 2017; PAZIN *et al.*, 2017); que os incas a empregavam como antipirético e que os egípcios a utilizavam para preservar cadáveres da decomposição e para curar feridas (MARTINOTTI & RANZATO, 2015; SAWICKA *et al.*, 2012; ZABAIYOU *et al.*, 2017; EL SOHAIMY & MASRY, 2014; PAROLIA *et al.*, 2010).

Por definição, a própolis é um produto resinoso natural produzido por abelhas melíferas a partir de brotos, botões florais e exsudados de plantas de diferentes espécies, como palmeira, pinheiro, amieiro, choupo, faia, conífera e bétula (ZHENG *et al.*, 2017), acrescido de secreções salivares contendo enzimas (como β -glicosidase), pólen e ceras (MARCUCCI, 1995; PELLATI *et al.*, 2011; VALADARES *et al.*, 2015; HODEL *et al.*, 2020). É constituída basicamente por 50% de substâncias resinosas e balsâmicas, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outros compostos orgânicos e minerais, bem como microelementos como alumínio, estrôncio, cálcio, manganês, ferro, cobre e vitaminas B1, B2, B6, C e E (PELLATI *et al.*, 2011; HUANG *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2019).

Com o desenvolvimento de técnicas analíticas, a composição aproximada da própolis e os fatores que influenciam sua composição foram determinados (KEDZIA, 2008). Estudos realizados com diferentes própolis identificaram a presença de mais de quatrocentas substâncias, destacando-se polifenóis, quinonas, cumarinas, esteroides, ácidos aminados, compostos inorgânicos e fenólicos, açúcares, álcoois, ácidos graxos, aminoácidos, cetonas, chalconas, terpenoides e proteínas, com predominância de flavonoides, aldeídos aromáticos, ácidos fenólicos e alguns oligoelementos (POBIEGA; KRAŚNIEWSK; GNIEWOSZ, 2019; OLDONI *et al.*, 2011; TORETI *et al.*, 2013).

No Brasil, a partir dos estudos realizados foram classificados 13 diferentes tipos de própolis com base na cor, características físico-químicas, região geográfica e origem botânica, conforme apresentado na Tabela 1. Ressalta-se que tal variedade está associada à rica biodiversidade brasileira, uma vez que a composição da própolis está relacionada à flora utilizada para coleta dos materiais a partir dos quais as abelhas produzem a própolis.

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

Própolis	Cor	Principais constituintes	Região geográfica	Origem botânica
Tipo 1	Amarela	Titerpenooides	Sul	Desconhecido
Tipo 2	Castanho claro	Flavonoides e derivados de ácido cinâmico	Sul	Desconhecido
Tipo 3	Castanho escuro	Ácido caféico, flavonoides, crisina e galangina	Sul	<i>Populus L</i>
Tipo 4	Castanho claro	Ácido cinâmico e derivados	Sul	Desconhecido
Tipo 5	Marrom esverdeado	Flavonoides e derivados de ácido cinâmico	Sul	Desconhecido
Tipo 6	Marrom avermelhado	Ácidos graxos, compostos aromáticos, terpenoides e flavonoides	Nordeste	<i>Hyptis divarica</i>
Tipo 7	Marrom esverdeado	Flavonoides e derivados de ácido benzoico	Nordeste	Desconhecido
Tipo 8	Castanho escuro	Flavonoides e derivados de ácido benzoico	Nordeste	Desconhecido
Tipo 9	Amarelo	Derivados de ácido cinâmico	Nordeste	Desconhecido
Tipo 10	Castanho escuro	Sesquiterpenos	Nordeste	Desconhecido
Tipo 11	Amarelo	Diterpênios	Nordeste	Desconhecido
Tipo 12	Verde e marrom esverdeado	Compostos fenólicos, flavonoides, artemisinina, bacarina, flavona, cetonas, aldeídos aromáticos, alcoóis, terpenos, ácidos graxos	Sudeste	<i>Baccharis dracunculifolia</i>

(Continuação)

Tabela 2. Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas, região geográfica e origem botânica.

Própolis	Cor	Principais constituintes	Região geográfica	Origem botânica
Tipo 13	Vermelha	Compostos fenólicos, flavonoides, formononetina pinocebrina, rutina, quercetina, ácido ferúlico	Nordeste	<i>Dalbergia ecastophyllum</i>

Fonte: Adaptado de Franchin *et al.*, 2017 e Lima, 2020.

2.1.1. Própolis verde

A própolis verde produzida por abelha melífera a partir da espécie *Baccharis dracunculifolia*, conhecida popularmente como alecrim do campo e vassourinha, é um dos 13 tipos de própolis produzidos no Brasil (NASCIMENTO *et al.*, 2008), sendo comumente encontrado na região sudeste do país. Assim, a própolis verde é produzida especificamente nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 2010; NUNES & GUERREIRO, 2012; CASTRO & SALGUEIRO, 2016).

De acordo com Vidal (2021), não há dados oficiais a respeito da produção de própolis no Brasil. Supõe-se que, na década de 80, a produção média anual de própolis verde era de 250 g/colmeia, enquanto em 2019, essa média aumentou para 1,5 kg. Aumento esse atribuído ao crescimento na demanda pelo produto apícola tanto no mercado nacional quanto internacional (FRANÇA, 2019).

Tratando-se de características organolépticas, a própolis verde, em temperatura ambiente, é um material de textura rígida, com aroma resinoso e balsâmico, sabor ácido e presença de fragmentos heterogêneos (FIGUEIREDO, 2015). Sua cor verde está relacionada à origem vegetal, em função da coleta de tecidos jovens de botões e folhas (ricos em clorofila, pigmento verde) do alecrim do campo (ALENCAR *et al.*, 2005).

Esse tipo de própolis destaca-se pela presença dos compostos prenilados e derivados do ácido cinâmico, flavonoides, ácido benzóico, ácidos alifáticos e ésteres (MACHADO *et al.*, 2015; PEDRAZZI *et al.*, 2015), sendo o Artepillin C (ácido 3,5-dipreil-1,4-hidroxicinâmico) o principal constituinte químico presente na própolis verde. Essa substância fenólica de baixo peso molecular é, inclusive, o principal biomarcador da própolis verde brasileira (TOMAZZOLI *et al.*, 2020) e um composto de grande interesse para a indústria devido às suas propriedades biológicas, como a ação antimicrobiana, o que possibilita sua utilização como antimicrobiano alternativo contra microrganismos resistentes a antibióticos usuais e em substituição a antibióticos sintéticos (VEIGA *et al.*, 2017).

A bacarina também é um dos componentes majoritários na própolis verde. Tal substância vem mostrando um importante papel ao desempenhar atividades biológicas tais como ação antitumoral, anti-inflamatória (ZANG *et al.*, 2015) e, até em casos mais específicos, na prevenção do efeito genotóxico induzido por metanossulfonato de metila e peróxido de hidrogênio (ENDO *et al.*, 2014).

Em relação à indústria de alimentos, o extrato de própolis verde apresenta potencial para ser utilizado como antimicrobiano e antioxidante em produtos alimentícios. Correa *et al.* (2019) confirmaram em seu estudo o potencial antimicrobiano do extrato etanólico de própolis verde, na forma livre (isto é, não encapsulado), contra leveduras e bactérias deteriorantes em queijo gorgonzola. Além disso, os autores verificaram nas condições testadas que as características sensoriais do produto não foram muito afetadas, o que demonstra a viabilidade da aplicação do extrato na inibição das principais bactérias e leveduras deteriorantes do produto.

Kameyama *et al.* (2008) avaliaram o potencial do extrato etanólico de própolis (origem botânica *Baccharis dracunculifolia*) no controle microbiológico de cenoura minimamente processada por meio de sua aplicação na etapa de sanitização. Com base nos resultados obtidos, os autores apontam a utilização de própolis (0,4 % (m/v), na forma livre) como substituto ao cloro (200 mg/L) na sanitização do produto e destacam ainda que a própolis não afetou a preferência do produto pelo consumidor.

Aplicações relacionadas à conservação de vegetais pós-colheita também têm sido reportadas na literatura. Ali *et al.* (2014) demonstraram em seu estudo a eficácia do uso do extrato de própolis verde (separadamente e em combinação com óleo de canela) como revestimento comestível para maximizar a vida útil do pimentão vermelho (*Capsicum annuum* L) após a colheita. O estudo revelou que uso combinado resultou em melhor inibição do crescimento de micélios e germinação de esporos, com menor incidência de doenças e alterações indesejáveis mais tardiamente, ressaltando o potencial uso como biofungicida eficaz para o controle da antracnose pós-colheita e manutenção da qualidade do pimentão.

2.1.2. Propriedades biológicas da própolis

A produção da própolis depende diretamente do seu local de origem e essa dependência fitogeográfica está relacionada a variações significativas no perfil qualitativo de substâncias presentes, o que reflete diretamente no espectro de propriedades biológicas do produto (SFORCIN & BANKOVA, 2011; TORETI *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2014; BANKOVA *et al.*, 2019).

A própolis brasileira tem sido extensivamente estudada e foi classificada em 13 tipos em função de sua coloração que está diretamente ligada às suas propriedades físico-químicas e origem botânica (FRANCHIN *et al.*, 2017). As propriedades biológicas da própolis

brasileira têm sido amplamente investigadas, atraindo principalmente o interesse de produtores e consumidores do produto natural em todo o mundo. Esse aspecto contribuiu significativamente para a realização de pesquisas envolvendo a correlação entre o perfil fitoquímico e as propriedades biológicas da própolis, principalmente com o objetivo de se obter informações acerca dos princípios ativos mais importantes associados à determinada atividade biológica. Assim, a própolis pode ser encarada como uma importante matriz natural para a obtenção de substâncias bioativas que podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de novos fármacos (SFORCIN & BANKOVA, 2011) e aditivos funcionais para alimentos.

Na Tabela 2 são apresentadas algumas das propriedades biológicas atribuídas à própolis verde.

Tabela 3. Propriedades biológicas avaliadas na própolis verde.

Propriedades Biológicas	Referências
Antimicrobiana	Veiga <i>et al.</i> , 2017; Pazin <i>et al.</i> 2017; Correa <i>et al.</i> 2019
Anti-inflamatória	Zang <i>et al.</i> 2015; Endo <i>et al.</i> 2014; Franchin <i>et al.</i> 2018
Anticâncer	Chan <i>et al.</i> , 2013; Martinotti & Ranzato, 2015; Zabaïou <i>et al.</i> , 2017
Antiparasitária	Kameyama <i>et al.</i> 2008; Ali <i>et al.</i> 2014; Paula <i>et al.</i> , 2020
Imunomoduladora	Cheung <i>et al.</i> , 2011; Figueiredo <i>et al.</i> , 2014
Antiviral	Urushisaki <i>et al.</i> , 2011
Laxante	Kakino <i>et al.</i> , 2012
Adjuvante em vacinas	Fischer <i>et al.</i> , 2010
Antifúngica	Dota <i>et al.</i> , 2011; Ngatu <i>et al.</i> , 2011; Martini <i>et al.</i> , 2017
Anti-hipertensiva	Maruyama <i>et al.</i> , 2009
Antioxidante	Pedrazzi <i>et al.</i> , 2015; Machado <i>et al.</i> , 2015; Tomazzoli <i>et al.</i> , 2020; Correa <i>et al.</i> 2019

Fonte: Da autora, 2023.

De forma geral, as atividades biológicas da própolis verde são atribuídas às concentrações elevadas de ácidos fenólicos em sua composição (BANKOVA; CASTRO; MARCUCCI, 2000; BERRETTA *et al.*, 2007). A presença de compostos biologicamente ativos que desempenham efeitos farmacológicos desejáveis (BERRETTA *et al.*, 2007)

consiste na principal justificativa pela qual a própolis verde é um produto de elevado valor agregado no mercado internacional (VIDAL, 2021), destacando-se a China e o Japão como os principais países consumidores (CASTRO & SALGUEIRO, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2020).

Ressalta-se que um parâmetro crítico a ser considerado na avaliação da atividade biológica da própolis é o tipo de solvente utilizado para sua elaboração. Geralmente, etanol e metanol são os solventes mais utilizados para preparar extratos de própolis, especialmente em misturas hidroalcoólicas. É relatado na literatura que a solução de etanol 70% está associada à extração mais eficiente das substâncias bioativas da própolis (SFORCIN & BANKOVA, 2011). Outros solventes de diferentes polaridades (como éter etílico, diclorometano, clorofórmio e n-hexano) podem ser utilizados para a extração seletiva de princípios ativos da própolis, contribuindo significativamente para uma melhor compreensão acerca das suas propriedades biológicas (PIRES, 2019).

2.2. Microencapsulação

A microencapsulação consiste em um processo mecânico ou físico-químico de recobrir partículas pequenas de materiais sólidos, líquidos ou gasosos (material ativo) com uso de um agente encapsulante, gerando partículas com diâmetro da ordem de nanômetros a poucos milímetros. As cápsulas obtidas podem ser divididas em diferentes categorias associadas à sua estrutura morfológica, sendo elas: microcápsulas simples, microesferas (material ativo distribuído uniformemente no interior da matriz), microcápsula simples irregular, microcápsulas de parede múltipla e agrupamento de cápsulas (NASCIMENTO *et al.*, 2019), conforme apresentado na Figura 1.

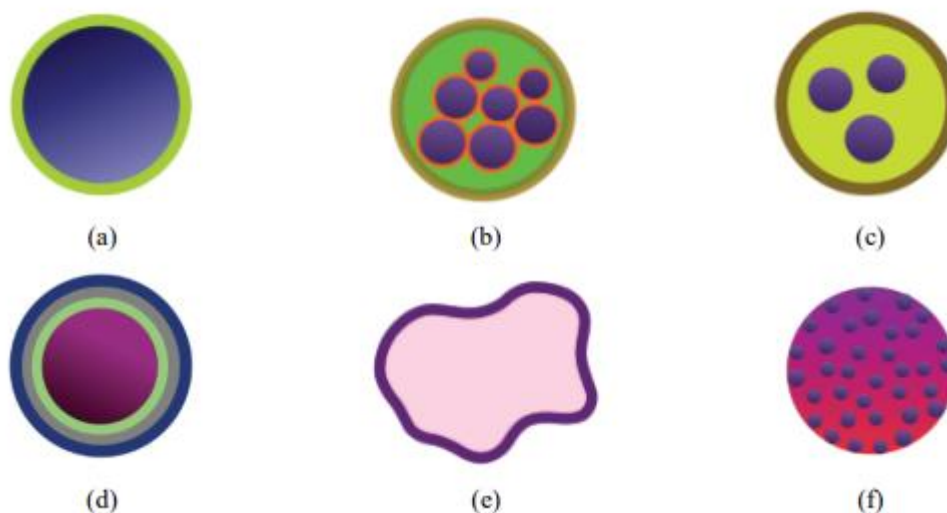


Figura 1. Categorias de cápsulas: (a) microcápsula simples, (b) agrupamento de cápsulas, (c) vários núcleos, (d) microcápsula de parede múltipla, (e) microcápsula simples irregular e (f) microesferas (núcleos uniformemente disperso na matriz).

Fonte: Adaptado de Bakry *et al.*, 2016 e Nascimento *et al.*, 2019.

Com a microencapsulação, o material ativo é capaz de manter suas propriedades mesmo sob condições adversas do meio, podendo ser liberado de forma controlada no sítio de ação adequado para exercer a função desejada em condições pré-determinadas (FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2008; SIMEONI *et al.*, 2014; MENEZES, *et al.*, 2013).

Em linhas gerais, os objetivos da microencapsulação são: possibilitar que um líquido ou gás comporte-se como sólido; proteger o material ativo contra a exposição às condições adversas do meio, como incidência direta de luz, umidade e calor, e contra a interação com outros componentes presentes ao separar o material do meio; controlar a liberação do material encapsulado sob condições específicas; reduzir a volatilidade do material ativo; mascarar *flavors* indesejáveis e prolongar a vida útil, permitindo que os produtos microencapsulados tenham melhor aplicabilidade (COCATO *et al.*, 2007; FÁVARO-TRINDADE *et al.*, 2008; MENEZES *et al.*, 2013; NORI *et al.*, 2011; MIRZAEI, POURJAFAR & HOMAYOUNI, 2012).

Além da aplicação da microencapsulação nas indústrias químicas, farmacêuticas e de cosmética, o setor de alimentos também passou a contar com as inúmeras vantagens dessa tecnologia (MARTINS, 2012). Nas indústrias de alimentos, a microencapsulação pode ser utilizada para proteção dos ingredientes funcionais (microrganismos ou compostos bioativos) adicionados aos produtos para que suportem as etapas de processamento e armazenamento, e

permaneçam viáveis até o momento do consumo, possibilitando que cheguem ao local específico do organismo humano onde devem exercer sua ação funcional (BAYSAN *et al.*, 2021; RAY, RAYCHAUDHURI & CHAKRABORTY, 2016; GOMES, 2007). A liberação dos compostos deve ser realizada de forma segura e controlada, por mecanismos que englobam esforço mecânico e variações de temperatura e de pH do meio no qual se encontram (MENEZES *et al.*, 2013; NASCIMENTO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2015).

São relatadas na literatura aplicações de microencapsulados na produção de suínos (OMONIJO *et al.*, 2018) e aquicultura de mariscos (WILLER & ALDRIDGE, 2017), no setor de panificação (PAPILLO *et al.*, 2019), na cozinha molecular (MARTINS *et al.*, 2017), bem como na produção de suplementos alimentares (KANOKPANONT; YAMDECH; ARAMWIT, 2018).

A microencapsulação empregada pelos diversos segmentos industriais pode ser obtida a partir de métodos físico, químico e físico-químico por diferentes técnicas, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 4. Métodos e técnicas utilizados na encapsulação de bioativos, probióticos e prebióticos.

Métodos	Técnicas	Referências
Físico	Extrusão estacionária	Fangmeier, 2019; Souza <i>et al.</i> , 2015
	Extrusão centrífuga	Janke <i>et al.</i> , 2021; Silva <i>et al.</i> , 2015
	<i>Spray drying</i>	Meena <i>et al.</i> , 2023; Zhang <i>et al.</i> , 2023; Misra <i>et al.</i> , 2023
	<i>Spray chilling</i>	de Freitas <i>et al.</i> , 2023; Sá <i>et al.</i> , 2023; Silva <i>et al.</i> , 2019
	<i>Spray cooling</i>	Su <i>et al.</i> , 2023; Silva <i>et al.</i> , 2014
	Leito fluidizado	Silva <i>et al.</i> , 2022
	Co-cristalização e liofilização	Silva <i>et al.</i> , 2015
Químico	Polimerização interfacial e inclusão molecular	Gottardo, 2021; Jato, 2001; Suave <i>et al.</i> , 2006
	Polimerização <i>in situ</i>	Rabello, 2009
Físico-químico	Coacervação	Bordini <i>et al.</i> , 2023; Jato, 2001; Silva <i>et al.</i> , 2015
	Lipossomas	Freire <i>et al.</i> , 2023; Fogilo <i>et al.</i> , 2010
	Lipoesferas	Barbosa <i>et al.</i> , 2002
	Evaporação do solvente	Jato, 2001; Fogilo <i>et al.</i> , 2010; Souza <i>et al.</i> , 2015

Fonte: Shahidi & Han, 1993; Desai & Park, 2005; Madene *et al.*, 2006; Favaro-Trindade *et al.*, 2008.

A escolha do método e da técnica que serão empregados na obtenção do encapsulado depende de fatores importantes, iniciando pela identificação da aplicação tecnológica pretendida para o encapsulado a ser produzido. De acordo com Fogilo *et al.* (2010), o método e a técnica escolhidos devem levar em consideração as propriedades do material a ser encapsulado, como a solubilidade; o tipo de partícula que se deseja encapsular, levando em consideração a proteção e a liberação do material que compõe o núcleo ou que está disperso na matriz, ressaltando nessa escolha a finalidade da substância, do probiótico ou prebiótico encapsulado.

Na Tabela 4 são apresentados alguns dos principais polímeros utilizados para microencapsulação e suas características.

Tabela 5. Principais polímeros utilizados na microencapsulação.

Polímero	Característica/Vantagens do uso
Alginato	Polissacarídeo linear obtido a partir de algas marrons ou bactérias, composto por resíduos dos ácidos β -D-manurônico e α -L-gulurônico na forma de sal de sódio unidos por ligações glicosídicas e distribuídos em diferentes proporções ao longo da cadeia (SEN, SINGH & PAL, 2010). Possui ação gelificante e espessante, biodegradabilidade, biocompatibilidade e ausência de toxidez (GAD, ALY & ABDEL-AAL, 2011).
Quitosana	Polissacarídeo composto por D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina (GUIBAL, 2005; AZEVEDO, 2007). Pode polimerizar por meio de ligações cruzadas na presença de ânions e poliânions, sendo preferencialmente utilizada como revestimento (MORTAZAVIAN <i>et al.</i> , 2008). É um polímero natural biodegradável, de baixo custo, extremamente abundante e atóxico (GUIBAL, 2005; AZEVEDO, 2007).
Goma arábica	Também conhecida como goma acácia, é um polímero que consiste de ácido D-glicurônico, L-raminose, D-galactose, e L-arabinose, com aproximadamente 5% de proteína (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007), sendo essa fração proteica responsável pela propriedade emulsificante, o que torna esse polímero adequado para a encapsulação por <i>spray drying</i> (SHAHIDI; HAN, 1993). De sabor insípido, pode ser incorporada em produtos alimentícios.
Maltodextrina	Carboidrato obtido pela hidrólise parcial (ácida ou enzimática) do amido, são consideradas bons agentes encapsulantes por apresentarem baixa higroscopicidade, boa solubilidade e baixa viscosidade (KOÇ <i>et al.</i> , 2015; ANEKELLA & ORSAT, 2013).
Pectina	Polissacarídeo aniônico composto predominantemente por polímeros lineares de ácido α -(1-4)-D-galacturônico com açúcares neutros como L-raminose inseridos ou anexados às cadeias principais (SINHA & KUMRIA, 2003). Devido às características eletrostáticas e de formação de géis, apresenta-se como um bom material de parede (ABERKANE; ROUDAUT; SAUREL, 2014).

(continuação)

Tabela 4. Principais polímeros utilizados na microencapsulação.

Polímero	Característica/Vantagens do uso
Goma xantana	Polissacarídeo de origem bacteriana e de extrema importância comercial (NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2013) devido às suas propriedades reológicas (permite a formação de soluções viscosas a baixas concentrações, 0,05- 1,0%) e estabilidade em ampla faixa de pH e temperatura (FONTANIELLA <i>et al.</i> , 2002). Apresenta diversas vantagens como agente espessante, estabilizante, gelificante, agente de suspensão e floculação nas indústrias alimentícia, cosmética e petrolífera, dentre outras (ARAÚJO <i>et al.</i> , 2005).
Carboximetil celulose	Polissacarídeo derivado da celulose, solúvel em água, obtido pela introdução de grupos $-CH_2-COOH$ na cadeia molecular da celulose. É usado em alimentos como sorvetes para estabilizar emulsões (KO <i>et al.</i> , 2020) e apresenta potencial para aplicação na produção de embalagens para alimentos (PILIZOTA; SUBARIC & LOVRIC, 1996).

Fonte: Da autora, 2023.

2.2.1. Microencapsulação por coacervação complexa

Dentre as diversas técnicas que podem ser aplicadas na microencapsulação, destaca-se a coacervação complexa, a qual pode ser definida como a separação espontânea de fases em um sistema líquido-líquido proveniente de interações atrativas entre biopolímeros que levam à formação de um complexo polieletrólítico. Esse processo requer a mistura de dois coloides com carga elétrica semelhante e posterior ajuste de pH de modo que os polímeros apresentem cargas opostas e interajam entre si, conduzindo à separação de fases e formação de partículas sólidas ou gotículas de líquido fechadas como resultado das interações, principalmente as eletrostáticas (CHÁVARRI; MARAÑÓN & VILLARÁN, 2012). A separação de fases resultante da neutralização das cargas dos polímeros resulta em uma fase líquida rica em solvente e pobre em polímeros e uma fase líquida contendo o complexo coacervado, rica em polímeros (SCHMITT & TURGEON, 2011; ZHANG *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2013), conforme ilustrado na Figura 2.

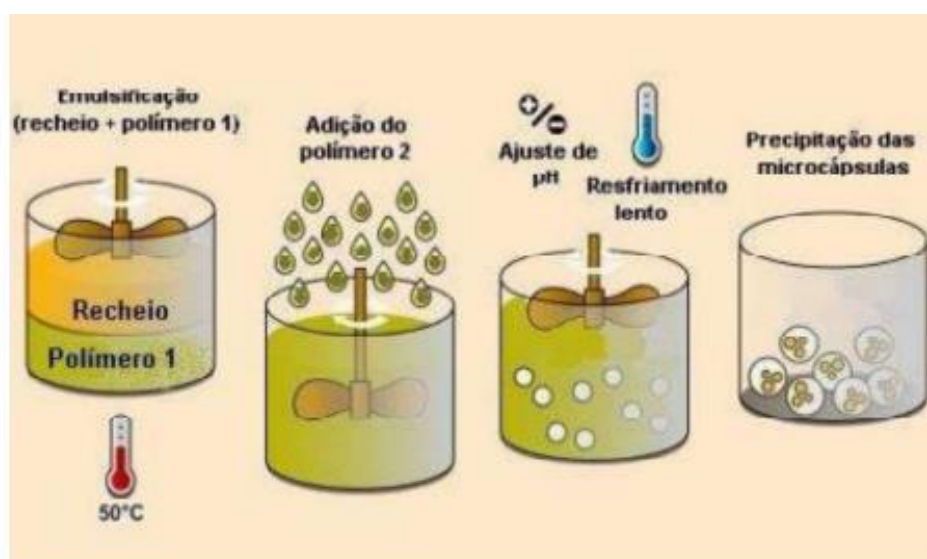


Figura 2. Modelo esquemático de microencapsulação por coacervação complexa.
Fonte: Araújo, 2011.

Em suma, a coacervação complexa é um fenômeno físico-químico composto basicamente por três estágios: (i) a emulsificação (fase líquida), em que a solução está com o material a ser encapsulado e o encapsulante, (ii) a coacervação (formação do núcleo) e (iii) por fim, a formação da casca e/ou endurecimento da parede ao redor do material ativo,

formando compostos microencapsulados do tipo reservatório (AZEREDO, 2005; ZHANG *et al.*, 2012).

Diversos parâmetros influenciam a formação do coacervado, como temperatura, força iônica, estrutura, massa molar e concentração dos polímeros (material de parede), pH, composto de interesse, polaridade, proporção núcleo/material de parede, agitação etc. (Figura 3). Tais parâmetros têm relação direta com a deposição do polímero em volta do agente ativo e formação das microcápsulas (KRUIF & TUNIER, 2001; SOUZA *et al.*, 2013, GAONKAR *et al.*, 2014; FOGILO *et al.*, 2010; SUAVE *et al.*, 2006).

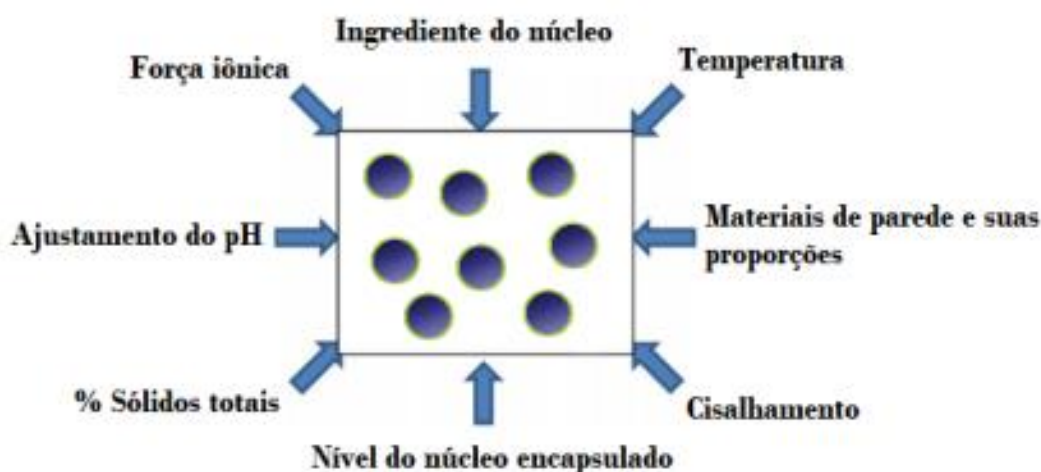


Figura 3. Parâmetros que influenciam a formação dos coacervados.

Fonte: Adaptado de Gaonkar *et al.*, 2014.

Fatores intrínsecos como o tipo de biopolímero (massa molar, flexibilidade da cadeia e carga eletrostática), concentração, relação entre os biopolímeros, pH e força iônica do meio afetam a força da interação eletrostática entre os biopolímeros e a natureza do complexo formado (GAONKAR *et al.*, 2014). Cabe destacar que, embora as interações eletrostáticas sejam consideradas importantes na condução da interação entre os biopolímeros de carga oposta, interações hidrofóbicas e ligação de hidrogênio também podem colaborar de forma relevante para a formação do complexo (AUGUSTIN & HEMAR, 2009). Tais variáveis estão associadas à eficiência na produção das cápsulas e características como estrutura, tamanho e porosidade (DUCEL *et al.*, 2004; YEO *et al.*, 2005).

Em relação aos polímeros utilizados na coacervação complexa, os mais recomendados são aqueles que apresentam propriedades coloidais hidrofílicas, densidade de carga

eletrostática adequada e cadeias lineares. São exemplos de biopolímeros que podem ser utilizados: gelatinas, alginatos, albuminas, caseína, ágar, gomas e pectinas (THIES, 1995; JACOBS & MASON, 1993), amido, celulose, dentre outros; sendo proteína e polissacarídeo o par de biopolímeros mais utilizado como material de parede (SCHMITT *et al.*, 1998).

No que se refere às vantagens, a técnica de coacervação complexa apresenta algumas vantagens quando comparada às outras técnicas, como versatilidade, eficiente controle no tamanho da partícula, possibilidade de trabalhar com biopolímeros na ausência de solventes orgânicos, condições brandas de temperatura no processamento e variedade de polímeros naturais como possíveis materiais de parede (ASSIS *et al.*, 2012; MENEZES *et al.*, 2013; JAMEKHORSHID; SADRAMELI & FARID, 2014). Tais vantagens tornam a técnica viável à encapsulação de compostos voláteis, probióticos e substâncias lábeis.

Diversos estudos empregando a técnica de coacervação complexa podem ser encontrados na literatura, especialmente para encapsulação de compostos bioativos lipofílicos, como destacado na Tabela 5, na qual pode-se observar alguns desses trabalhos envolvendo compostos bioativos que apresentam grande potencial nutracêutico, com os respectivos pares poliméricos empregados como materiais de parede, o valor de pH da coacervação, as principais análises realizadas e os agentes reticulantes, quando empregados.

Tabela 6. Trabalhos sobre microencapsulação de bioativos por coacervação complexa usando diferentes pares poliméricos como materiais de parede

Composto bioativo	Material de parede	pH	Análises realizadas	Agente reticulante	Referências
β -caroteno	Caseína e goma guar	5,0	PZ; EITF; AM; EE; DV; DAA	Genipin	Thakur <i>et al.</i> , 2017
Óleo de peixe	Gelatina e goma arábica	4,0	MM; MEV; EE; GC-MS; MC; DTP	NU	Habibi <i>et al.</i> , 2017
β -caroteno	Caseína e goma tragacanth	2,0	E; DTP; PZ; DAA; RC; EE; EITF; MEV; AM	Genipin	Jain <i>et al.</i> , 2016
β -caroteno	Isolado proteico de soja e goma acácia	4,2	RC; PZ; MM; EE; EITF; DE; DV	Glutaraldeido	Jain <i>et al.</i> , 2015
Óleo de pimenta preta	Lactoferrina e alginato de sódio	4,0	EE; EITF; MEV; DIV	Transglutaminase	Bastos <i>et al.</i> , 2020
Vitamina D3	Goma tara, carboximetil e gelatina Tipo A	4,0	EITF; DIV; T; CVD	Transglutaminase	Santos <i>et al.</i> , 2021

(Continuação)

Tabela 7. Trabalhos sobre microencapsulação de bioativos por coacervação complexa usando diferentes pares poliméricos como materiais de parede

Composto bioativo	Material de parede	pH	Análises realizadas	Agente reticulante	Referências
Óleo de pimenta preta	B-lactoglobulina e alginato de sódio	4,5	EE; EITF; MEV; DI; DTP	Transglutaminase	Bastos <i>et al.</i> , 2020
β -caroteno	Isolado proteico de soja e goma acácia	3,75	HPLC; EITF; EE; DAA; AM; AA	Transglutaminase	Zhao <i>et al.</i> , 2022
β -caroteno	Caseinato de sódio e alginato	4,5	PZ; DV; DBE; DE	NU	Liu <i>et al.</i> , 2018
β -caroteno em óleo de palma	Quitosana e goma xantana	5,6	EE; DV; AM; AMA	NU	Rutz <i>et al.</i> , 2017

Legenda: AA (Atividade Antifúngica); AMA (Adição de Micropartículas de Alimentos); AM (Análise Morfológica); AT (Analisador Termogravimétrico); CVD (Calorímetro de Varredura Diferencial); DAA (Determinação de Atividade Antioxidante); DE (Determinação de Estabilidade); DBE (Degradação do β -caroteno em Estoque); DIV (Digestão in vitro); DR (Difração de Raio-X); DV (Dinâmica de Viscoelasticidade); DTP (Distribuição do Tamanho da Partícula); E (Espectrofotometria); EE (Eficiência de Encapsulação); EITF (Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier); GC-MS (Cromatografia gasosa com espectrômetro de massa); HPLC (Cromatografia líquida de alta performance); MC (Medicação da Cor); MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura); MM (Morfologia das Microcápsulas); NU (Não Utilizado); PZ (Potencial Zeta); RC (Rendimento de Coacervação); RDE (Raio-X Dispersivo de Energia); T (Análise Turbidimétrica).

Fonte: Da autora, 2023.

Assim, a coacervação complexa tem sido empregada por diversos segmentos industriais, dentre eles o farmacêutico, químico, de cosméticos, agropecuária e de alimentos. Nesse último, essa técnica tem sido utilizada para a encapsulação de componentes alimentares ativos, tais como aromatizantes, pigmentos lipossolúveis, óleos essenciais, ácidos graxos, probióticos etc.

2.2.2. Materiais encapsulantes

O revestimento do material encapsulado (núcleo) é denominado parede e tem como objetivo proteger o núcleo do ambiente externo. Isto é, deve protegê-lo contra a oxidação, da luz, da umidade e do contato com outras substâncias no armazenamento, prolongando o tempo de vida de útil do componente encapsulado (SIMEONI, 2014; LEIMANN, 2008).

Uma encapsulação eficiente é particularmente dependente do desempenho do agente encapsulante, o qual deve apresentar características de biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade, além de possuir um mecanismo de liberação eficiente e que não possibilite reatividade com o material a ser encapsulado ou com o alimento (ZHANG *et al.*, 2015; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016; SHADDEL *et al.*, 2018).

A escolha do material (ou agente) encapsulante baseia-se em três critérios principais: aplicação, economia e segurança (FUJIWARA *et al.*, 2013). O material escolhido deve proporcionar ao invólucro estabilidade, propriedade emulsificante, solubilidade, adequado peso molecular, difusividade, cristalinidade, além de garantir ao núcleo sua preservação durante o período de estocagem, sem que haja reação entre ambos. Ressalta-se, ainda, que para aplicações envolvendo liberação controlada, o material de revestimento da microcápsula deve romper e liberar o material ativo presente em seu interior de forma programada, no local ou momento adequado, sob condições específicas (JATO, 2001; NASCIMENTO *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2015). Adicionalmente, é desejável que o material encapsulante apresente boa disponibilidade comercial, baixo custo, baixa higroscopicidade (para facilitar o manuseio) e que não apresente sabor desagradável, quando para aplicações na indústria de alimentos (FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2008).

Dentre os biopolímeros (polímeros naturais) geralmente utilizados como agentes encapsulantes, destacam-se polissacarídeos como alginato, amidos modificados, dextrinas, celuloses (acetilcelulose e carboximerilcelulose) e gomas (arábica, xantana, gelana e carragena) e proteínas como caseína, gelatina, ovalbumina, proteínas do soro de leite etc.

(SHAHIDI & HAN, 1993; CARMO; FERNANDES; BORGES, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2019; FOGILO *et al.*, 2010; SUAVE *et al.*, 2006). Diversos estudos sobre microencapsulação de compostos ativos por coacervação complexa entre proteína e polissacarídeo estão disponíveis na literatura (TAVARES & NOREÑA, 2020; TAVARES *et al.*, 2019; COSTA *et al.*, 2020; SUN *et al.*, 2021), no entanto, até o presente momento, não foram encontrados estudos sobre a encapsulação de própolis verde por coacervação complexa entre isolado proteico de soro e goma arábica, hidrocolóides de grau alimentício comumente empregados na indústria de alimentos, seguida por secagem da cápsulas em estufa com circulação forçada.

2.2.2.1. Goma Arábica

A goma arábica, também conhecida como goma acácia, é comercializada há mais de 5000 anos (WHISTLER & BEMILLER, 1993). Trata-se de um sal neutro ou levemente ácido obtido a partir da secreção da *Acácia senegal* e *Acácia seyal*, espécies de acácia distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, sendo o Sudão e a Nigéria os principais produtores (DAMODARAN; PARKIN & FENNEMA, 2010; ISLAM *et al.*, 1997).

A goma arábica é considerada um heteropolissacarídeo aniônico complexo (MATALANIS; JONES & McCLEMENTS, 2011), composto por polissacarídeos e glicoproteínas (ROSA, 2019) largamente usado na encapsulação como material de parede devido à excepcional propriedade de emulsificação, boa retenção de voláteis, alta solubilidade, baixa viscosidade e proteção contra a oxidação (AZEREDO, 2005). Possui em sua composição uma pequena fração proteica (cerca de 2%) ligada covalentemente ao carboidrato, a qual tem um papel importante nas propriedades emulsificantes e estabilizantes da goma. Sua estrutura enovelada apresenta carga eletrostática negativa quando em pH acima de 2,2 (AZEREDO, 2005), o que torna esse polissacarídeo interessante para o processo de coacervação complexa com polímeros catiônicos. Por não possuir cheiro, sabor e cor, a goma arábica não afeta tais características do sistema ao qual é adicionada (GULÃO *et al.*, 2014; WANDREY; BARTKOWIAK & HARDING, 2010).

Sua estrutura é ramificada, formada por uma cadeia principal com unidades de 1,3- β -D-galactopiranosose unidas por ligações glicosídicas e cadeias laterais de unidades de 1,6- β -galactopiranosose com diferentes estruturas químicas formadas de D-galactopiranosose, L-ramnose, L-arabinofuranose e ácido glucurônico (BOBBIO & BOBBIO, 1992). A estrutura molecular da goma arábica é apresentada na Figura 4.

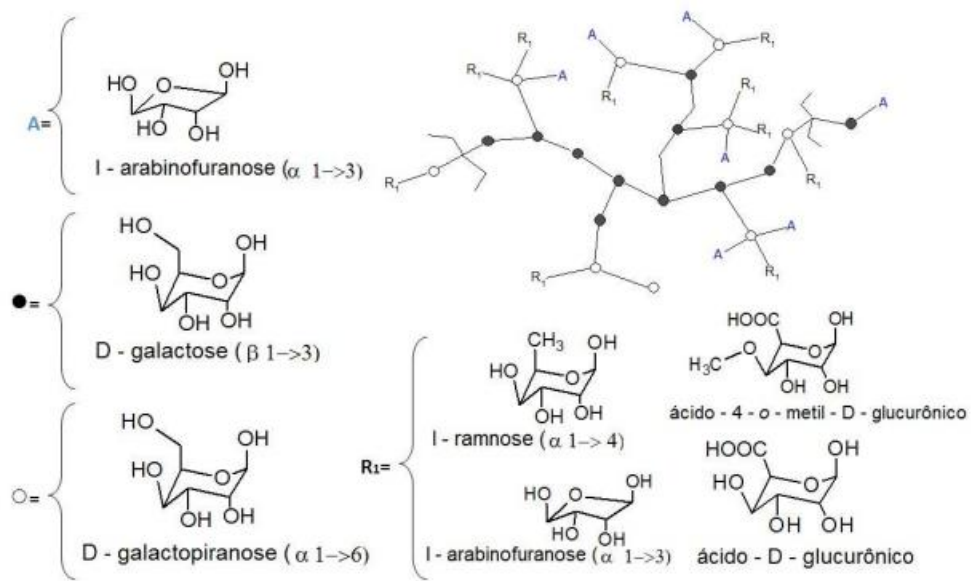


Figura 4. Estrutura molecular da goma arábica e os principais grupos terminais e formadores da cadeia principal.

Fonte: Quintanilha, 2015.

A goma arábica é o material de parede mais antigo usado na tecnologia de microencapsulação, sendo considerado o polissacarídeo mais importante, com aplicações que se estendem a muitos segmentos industriais, incluindo o alimentício (VERBEKEN; DIERCKX & DEWETTINCK, 2003).

2.2.2.2. Proteínas do soro de leite

As proteínas do soro de leite compreendem um grupo diverso de proteínas globulares do leite que permanecem solúveis após a precipitação de caseína a pH 4,6 e 20 °C. Dependendo de fatores como método de precipitação da caseína, armazenamento, tratamento térmico e outros, essas proteínas apresentam características diferentes (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Dentre as principais proteínas presentes no soro de leite estão a β -lactoglobulina, a α -lactalbumina, a soroalbumina bovina (BSA), as imunoglobulinas, a lactoferrina e os glicomacropéptídeos (POPPI *et al.*, 2010).

A β -lactoglobulina (β -Lg) é a fração proteica mais abundante do soro de leite, correspondendo a aproximadamente 10% da proteína total do leite e 50% da proteína total do soro. É uma proteína globular, contém 162 aminoácidos e massa molar de 18,3 kDa, com

ponto isoelétrico em pH 5,2, possuindo diferentes variantes genéticas, sendo as principais a β -Lg A e a β -Lg B. Apresenta resistência à ação de ácidos e enzimas proteolíticas presentes no estômago, ocorrendo sua absorção no intestino delgado (EDWARDS *et al.*, 2009; FOX, 2003).

A α -lactoalbumina (α -La) é a segunda principal fração proteica, representando cerca de 20% do total de proteínas no soro de leite. Composta por 123 aminoácidos, com massa molar de 14,2 kDa e ponto isoelétrico em pH 4,6 (EDWARDS *et al.*, 2009), a α -La é uma molécula muito estável termicamente. A maioria das proteínas têm a sensibilidade aumentada ao calor na presença de cálcio, provavelmente devido à habilidade desse mineral em promover a formação de ligações iônicas intermoleculares com as porções proteicas, mantendo-as próximas e aumentando a probabilidade de agregação com o aquecimento. Em condições favoráveis de concentrações de cálcio e pH, a α -La pode permanecer solúvel após a exposição a 100 °C, fazendo com que alimentos ricos nessa proteína não coagulem ao serem aquecidos (BALDASSO *et al.*, 2011).

As imunoglobulinas são proteínas de alta massa molar e representam pelo menos 2% do teor de proteína total do leite. Nesse grupo, estão presentes IgG, IgA, IgM e IgE, sendo IgG (G1 e G2) a principal, constituindo cerca de 80% do total de proteínas globulares e com massa molar de aproximadamente 160 kDa. IgG1 é a fração em maior quantidade no leite e também no colostro (GEORGE *et al.*, 2013).

A albumina do soro bovino (BSA) corresponde a cerca de 10% das proteínas do soro de leite. Com conformação nativa globular e solúvel em água, a BSA é formada por uma cadeia polipeptídica com cerca de 580 resíduos de aminoácidos com 17 dissulfetos e um grupo sulfídrico livre. Sua massa molar é 66,2 kDa e seu ponto isoelétrico (pI) ocorre em pH 4,7-4,8 (POPPI *et al.*, 2010).

Outra proteína presente no soro de leite, mas em pequenas concentrações (1 a 2 % do total de proteínas), é a lactoferrina. Trata-se de uma glicoproteína com massa molecular da ordem de 76 kDa e que se liga fortemente com o ferro (na proporção de 2 mols de ferro por mol de proteína). Pertence à família da transferrina e tem similaridade com a lactoferrina encontrada na corrente sanguínea, que funciona como transportadora do ferro (RAIMONDO *et al.*, 2013). Seu pI ocorre em pH aproximadamente igual a 8,0 (GULÃO *et al.*, 2014).

De modo geral, as proteínas do soro são solúveis em ampla faixa de pH, apresentam estrutura globular e contêm ligações dissulfeto que lhes conferem um determinado grau de estabilidade estrutural (MEHYAR *et al.*, 2014; AIMUTIS, 2004). No que se refere ao aspecto

nutricional, as proteínas do soro de leite, em especial a β -Lg e a α -La, destacam-se por apresentar elevado valor biológico, com teores de aminoácidos essenciais e sulfurados comparáveis às proteínas do leite humano (SINHA *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2010). Dessa forma, são uma excelente opção devido as suas propriedades nutritivas e fisiológicas, e principalmente por serem produtos derivados de um resíduo industrial de laticínios de altíssima qualidade (AHN; KIM; KIM, 2012).

Além de fornecerem aminoácidos com benefícios relacionados a aspectos nutricionais (SIMÕES *et al.*, 2022), as proteínas do soro são conhecidas pela versatilidade de suas propriedades funcionais e tecnológicas: solubilidade, formação e estabilização de espuma, capacidade emulsificante e estabilidade das emulsões, gelificação, formação de filmes comestíveis e biodegradáveis, absorção e retenção de água e de gordura, melhoria nas propriedades sensoriais, ligação de aroma e sabor e formação de micropartículas (MODLER, 2000; MORR, FOEGEDING, 1990; WONG *et al.*, 1996). Tais propriedades fazem com as proteínas do soro possam ser utilizadas em diversas aplicações em tecnologia de alimentos (HA *et al.*, 2019), o que fez com que o soro de leite ganhasse atenção de vários setores industriais, tendo em vista suas potencialidades energéticas, farmacêuticas e nutricionais (DUARTE, *et al.*, 2020; SETIOWATI *et al.*, 2020; PIRES *et al.*, 2021, ZHANG *et al.*, 2021).

Estudos evidenciam que as proteínas do soro de leite têm apresentado potencial promissor para a produção de microcápsulas (FRASCARELI *et al.*, 2012; HA *et al.*, 2019), podendo ser aplicadas na encapsulação de substâncias voláteis e não voláteis, principalmente na produção de géis translúcidos e de elevada consistência (LIMA, 2020).

3. OBJETIVOS

Desenvolver e caracterizar microcápsulas de própolis obtidas por coacervação complexa entre proteínas do soro de leite e goma arábica.

3.1. Objetivos específicos

- Produzir e avaliar o extrato de própolis quanto ao teor de compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides totais), atividades antioxidante e antimicrobiana.
- Avaliar os efeitos do pH e da proporção de biopolímeros sobre o rendimento de microcápsulas (sem própolis).
- Produzir e caracterizar as microcápsulas de própolis obtidas sob a melhor condição de coacervação complexa avaliada (pH e proporção de biopolímeros) quanto à morfologia, umidade, cor, higroscopicidade, solubilidade em água, densidade, teor de compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides totais), atividade de água e atividades antioxidante e antimicrobiana.
- Avaliar a cinética de liberação dos compostos fenólicos totais em diferentes meios: ácido acético a 1 % (v/v), pH 2,72 e 37 °C; e tampão fosfato de potássio 0,1 mol/L, pH 7,08 e 25 °C.
- Avaliar a estabilidade da microcápsula de própolis ao longo do armazenamento sob diferentes condições de armazenamento (-70 °C e 25 °C) em termos dos teores de fenólicos totais e flavonoides totais, ao longo de 90 dias.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria-prima

A própolis bruta foi coletada no período de 2019-2020, em apiário localizado em Bocaiuva (17°6'55" Sul, 43°49'16" Oeste), norte do estado de Minas Gerais, com pastagem apícola contendo *Baccharis dracunculifolia* (popularmente conhecida como alecrim do campo), considerada a principal fonte vegetal da própolis verde, o que possibilita sua presença na própolis utilizada no presente estudo. A própolis bruta foi embalada em sacos de polietileno e armazenada a -18 °C até o momento da produção do extrato etanólico. Concentrado proteico do soro de leite (Gemacon Tech, Brasil), goma arábica (Êxodo científica, Brasil), citrato de sódio (Synth, Brasil), carbonato de sódio (Êxodo Científica, Brasil), Folin-Ciocalteau (Êxodo Científica, Brasil), ácido gálico (Dinâmica, Brasil), cloreto de alumínio (CRQ Produtos Químicos, Brasil), acetato de potássio (Cinética, Brasil), etanol (Êxodo Científica, Brasil) e quercetina (Sigma, EUA) de grau Padrão Analítico foram utilizados conforme obtidos dos fabricantes. Água destilada foi utilizada no preparo das soluções.

4.2. Produção do extrato de própolis

O extrato etanólico de própolis (EEP) foi obtido de acordo com a metodologia de Nori *et al.* (2011), com modificações: 10 g de própolis bruta, previamente congelada e triturada em liquidificador convencional, foram misturados a 200 mL de etanol 80% (v/v) em frascos Erlenmeyer fechados e protegidos da luz. A extração foi realizada a 50 °C, sob agitação de 200 rpm por 30 min em *shaker* (6430B, Thoth Equipamentos, Brasil), seguida de centrifugação a 3.000 rpm por 20 minutos (ST16-R, Thermo Científica, Brasil). O sobrenadante foi coletado e previamente concentrado em evaporador rotativo (LGI-52CS-1, LGI Scientific, Brasil) acoplado à bomba de vácuo e banho-termostático, sob pressão reduzida a 50 °C. Posteriormente, o extrato foi mantido em estufa (SL-102, SOLAB, Brasil) a 50 °C para completa evaporação do etanol. O extrato de própolis concentrado (EPC) obtido foi acondicionado em frascos fechados e protegidos da luz, e mantido à temperatura de -18 °C até o momento de sua utilização.

4.3. Avaliação das condições para encapsulação

A fim de avaliar as melhores condições para encapsulação, inicialmente foram avaliados separadamente os seguintes parâmetros do processo de coacervação complexa que resultassem em maior rendimento de cápsulas sem própolis pH final (3,5, 4,0 e 4,5) para coacervação na proporção de CPS:GA de 2:1 (em massa) e, na sequência, a proporção de CPS:GA (2:1, 3:1 e 4:1) utilizando o pH de coacervação previamente estabelecido. A partir dos resultados, definiu-se as melhores condições avaliadas para encapsulação, as quais foram adotadas para produção das cápsulas com própolis. Os ensaios foram realizados em quintuplicata e os resultados obtidos (rendimento) foram submetidos à análise estatística conforme descrito no item 4.14.

4.4. Preparo das cápsulas

Inicialmente cápsulas foram produzidas pela técnica de coacervação complexa de acordo com a metodologia de Nori *et al.* (2011), com modificações, sem e com a adição de extrato de própolis. Soluções de proteína de soro de leite (CPS, 50 mL e pH 7,5) e de goma arábica (GA, 50 mL) com concentrações específicas foram preparadas separadamente e mantidas sob agitação magnética por 1 h para completa hidratação. Para a produção de cápsulas com própolis, o extrato de própolis concentrado (EPC) foi adicionado à solução de proteína sob agitação magnética. A solução de goma arábica foi adicionada lentamente à solução de proteína sob agitação de 6.000 rpm por 2 min (IKA T18 digital, Ultra Turrax, Alemanha). O pH da mistura foi ajustado para o valor desejado pela adição de HCl (1 mol/L) e a suspensão obtida foi mantida sob agitação magnética por 30 min à temperatura ambiente. Ao final, o material foi mantido em repouso sob refrigeração, em *overnight*, a fim de promover a sedimentação da fase contendo o coacervado. O sobrenadante foi cuidadosamente removido e a fase contendo o coacervado foi seca em estufa a 50 °C por 24 h. O material obtido após a secagem foi triturado com auxílio de almofariz e pistilo e armazenado em frasco fechado protegido da luz, a 25 °C até sua utilização. Em todos os tratamentos (condições de coacervação, com ou sem própolis), a concentração total dos biopolímeros (proteína + goma) foi de 2 % (m/v).

4.5. Rompimento das cápsulas de extrato de própolis

Para avaliação dos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, bem como da atividade antioxidante das cápsulas de extrato de própolis foi necessário proceder previamente seu rompimento. Para isso, foi adotada a metodologia de Nori *et al.* (2011), com modificações: a 0,2 g de cápsulas de extrato de própolis foram adicionados 2,0 mL de solução de citrato de sódio 10 % (m/v) e o pH foi ajustado para 7,5 com NaOH (0,1 mol/L), mantendo-se sob agitação por 2 min. Posteriormente, foram adicionados 5,0 mL de etanol (99,5%) sob agitação por mais 2 min e a mistura foi centrifugada a 4.000 ×g por 20 min, sendo o sobrenadante obtido utilizado para as análises descritas nos itens 4.8, 4.9, 4.10 e 4.11.

4.6. Avaliação do processo de encapsulação

4.6.1. Rendimento

O rendimento de cápsulas (sem e com extrato de própolis) foi expresso como a razão entre a quantidade de cápsulas obtidas após a secagem e a quantidade de polímeros e material de núcleo utilizado no processo, conforme a Equação 1 (ŠTURM, ČRNIVEC, ISTENIC *et al.*, 2019):

$$R (\%) = \frac{\text{massa de microcápsulas obtidas após secagem}}{\text{massa de própolis} + \text{material de encapsulamento}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

4.6.2. Eficiência

Para determinar a eficiência de encapsulação, uma alíquota de 2,0 mL de etanol (99,5%) foi adicionada a 0,2 g de cápsulas de extrato de própolis para possibilitar a dissolução dos compostos fenólicos presentes na superfície das microcápsulas sem promover o rompimento dessas. A mistura foi agitada em vórtex (Warmnest, Brasil) e centrifugada a 4.000 ×g por 2 min.

A eficiência de encapsulação (*EE*) foi avaliada com base no conteúdo de compostos fenólicos totais, cujo teor foi avaliado por análise espectrofotométrica conforme metodologia descrita no item 4.8 e calculada de acordo com a Equação 2:

$$EE (\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_2} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

em que W_1 é a quantidade de fenólicos totais presentes no sobrenadante de uma quantidade conhecida de microcápsulas e W_2 é a quantidade de fenólicos totais adicionados ao preparo da mesma quantidade de microcápsulas (NORI *et al.*, 2011).

4.7. Caracterização estrutural e físico-química das cápsulas de extrato de própolis

4.7.1. Morfologia e tamanho médio

Uma alíquota de 10 μ L de suspensão de cápsulas de extrato de própolis em água deionizada foi examinada em microscópio óptico (Axio Lab. A1, Carl Zeiss, Alemanha) com lente de aumento de 40x, antes da etapa de secagem. Fotomicrografias ($n = 5$) foram obtidas para avaliação da aparência, tamanho médio e formato das cápsulas, com auxílio do *software* ZEN Blue.

4.7.2. Umidade

A umidade das cápsulas de extrato de própolis obtidas após a secagem foi determinada por método gravimétrico (AOAC, 1995). Amostras ($n = 5$) de cerca de 1,0 g foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar a 105 °C até atingir peso constante. O percentual de umidade foi expresso em porcentagem.

4.7.3. Higroscopicidade

Para determinação de higroscopicidade, amostras ($n = 5$) de aproximadamente 1,0 g de cápsulas de extrato de própolis foram dispostas em placas e acondicionadas em um dessecador hermético com solução saturada de NaCl a 25 °C. Após 6 dias, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade foi expressa como g de água absorvida/100 g de sólidos secos (SAIKIA, MAHNOT & MAHANTA, 2015).

4.7.4. Solubilidade em água

A solubilidade em água foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Busch *et al.* (2017), com modificações. Suspensões ($n = 5$) de 0,5 g de cápsulas de extrato própolis secas em 50 mL de água destilada foram preparadas, agitadas em vórtex por 5 min e

centrifugadas a 1.200 ×g por 10 min. Uma alíquota de 20 mL de sobrenadante foi transferida para uma placa previamente pesada e levada à estufa para secagem a 105 °C por 3 h. A solubilidade (*S*) foi calculada de acordo com a Equação 3:

$$S (\%) = \frac{\text{massa (g) de sólidos na alíquota do sobrenadante} \times 2,5}{\text{massa da amostra (g)}} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

4.7.5. Densidade aparente

Para determinação da densidade aparente (ρ_a) das microcápsulas de extrato de própolis, amostras ($n = 5$) de aproximadamente 2,0 g foram pesadas e transferidas para proveta graduada de 10 mL para determinação do volume ocupado (FERNANDES, BORGES & BOTREL, 2014). A densidade aparente foi obtida pela relação entre a massa pesada e o volume correspondente.

4.7.6. Cor instrumental

A cor das cápsulas de extrato de própolis secas foi avaliada pelos parâmetros de cor do sistema CieLab (L^* , a^* e b^*) em um colorímetro de bancada (CR-400, Konica Minolta, EUA), em quintuplicata. O equipamento foi previamente calibrado com placa de calibração branca. Valores de índice de brancura (*IB*), ângulo Hue (h^*_{ab}) e cromaticidade (Croma, C^*_{ab}) foram calculados de acordo com as Equações 4, 5 e 6 (MOURA *et al.*, 2019). Antes da análise, o equipamento foi calibrado com placa branca de calibração.

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0,5} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$h^*_{ab} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Eq. 5})$$

$$C^*_{ab} = [a^{*2} + b^{*2}]^{0,5} \quad (\text{Eq. 6})$$

4.7.7. Atividade de água

A atividade de água (A_w) foi avaliada em quintuplicata, por meio de leitura direta das amostras de microcápsulas de extrato de própolis, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), em um determinador de atividade de água (AquaLab 4TE, Estados Unidos).

4.8. Avaliação de compostos bioativos do extrato de própolis e das microcápsulas de extrato de própolis

4.8.1. Determinação de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais no extrato de própolis e nas cápsulas de extrato de própolis (após o rompimento) foi avaliado pelo método de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia de Woisky e Salatino (1998), com modificações. Uma alíquota de 0,5 mL de amostra previamente diluída em etanol 99,5% foi misturada a 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água (1:10 v/v) e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 4 % (m/v), seguido por agitação em vórtex para homogeneização. A mistura foi mantida em repouso por 2 h, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A absorvância foi avaliada a 740 nm, em espectrofotômetro (UV-1280, Shimadzu, Japão). Para quantificação, foi utilizada uma curva padrão de ácido gálico como referência e o resultado foi expresso como mg de ácido gálico equivalente/g de amostra. Para o branco, foi utilizado etanol 99,5% no lugar da amostra.

Para análise das cápsulas e do extrato de própolis, as amostras foram diluídas 1:10 e 1:100 em etanol, respectivamente.

4.8.2. Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais no extrato de própolis e nas cápsulas de extrato de própolis (após o rompimento) foi determinado pelo método descrito por Chang *et al.* (2002), com modificações. Inicialmente, alíquotas de 0,5 mL de amostra foram misturadas a 1,5 mL de etanol 99,5%, acrescidas de 0,1 mL de solução de cloreto de alumínio a 10 % (m/v), 0,1 mL de solução de acetato de potássio a 1,0 mol/L e 2,8 mL de água destilada. As amostras foram homogeneizadas em vórtex e em seguida foram mantidas em repouso por 30 min. Posteriormente, a absorvância foi avaliada em espectrofotômetro, em 415 nm. Para quantificação, foi empregada uma curva padrão de quercetina como referência e o resultado

foi expresso como mg de quercetina equivalente/g de amostra. Para o branco, a alíquota de cloreto de alumínio foi substituída pela mesma quantidade de água destilada.

Para análise das cápsulas e do extrato de própolis, as amostras foram diluídas 1:10 e 1:100 em etanol, respectivamente.

4.9. Atividade antioxidante

4.9.1. Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

A atividade antioxidante do extrato de própolis e das cápsulas de extrato de extrato de própolis (após rompimento) foi avaliada com base na redução do radical livre DPPH^{*}, segundo o método de Chen *et al.* (2003), com modificações. Alíquotas de 4 mL de amostra (extrato de própolis ou solução resultante da ruptura das micropartículas foram transferidas para tubos de ensaio contendo 1 mL de solução de DPPH 0,5 mmol/L, e homogeneizadas em vórtex por 2 min, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A absorbância foi avaliada em espectrofotômetro a 517 nm, após 20 min em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A reação controle (branco) foi realizada substituindo a amostra por etanol 50%.

A inibição do radical livre DPPH^{*} foi determinada de acordo com a Equação 7:

$$\%inibição = \frac{(A_{c0} - A_{c20})}{A_{c0}} \times 100 \quad (\text{Eq. 7})$$

sendo A_{c0} e A_{c20} as absorvâncias do controle no tempo $t = 0$ min e da amostra em $t = 20$ min, respectivamente.

4.9.2. Capacidade redutora do ferro (FRAP)

A atividade antioxidante através do método de redução do ferro (FRAP) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Rufino *et al.* (2006), com modificações, a qual foi realizada em triplicata em ambiente escuro. Para a realização da análise, uma alíquota de 90 μL de amostra (extrato de própolis ou solução resultante da ruptura das micropartículas, ambos previamente diluídos) foi transferida para tubos de ensaio, acrescentada de 270 μL de água destilada e 2,7 mL de reagente FRAP (solução tampão acetato 0,3 mol/L pH 3,6, solução TPTZ 10 mmol/L e solução de cloreto férrico 20 mmol/L), homogeneizada em agitador vórtex e mantida a 37 °C em banho termostático por 30 min. Posteriormente, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro, em 595 nm. Para quantificação, foi empregada

uma curva padrão de sulfato ferroso como referência. O reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o equipamento.

4.10. Atividade antimicrobiana

Inicialmente, as amostras bacterianas, a saber: 3 bactérias, sendo uma cepa gram-positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e duas cepas gram-negativas (*Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* ATCC 25922), gentilmente cedidas pelo Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, foram recuperadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e solução salina a 0,85 % a 35 °C por 18 h. A suscetibilidade antimicrobiana foi avaliada pelo teste de disco-difusão em ágar, segundo recomendações do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2023). Alíquotas de 10 µL de extrato etanólico de própolis (EEP), extrato de própolis concentrado (EPC) e microcápsulas de própolis (0,1, 10 e 100 mg/mL) foram aplicadas sobre discos estéreis de papel filtro (6 mm de diâmetro), os quais foram depositados com uma pinça estéril sobre placas de Petri contendo meio Mueller-Hinton (MH), previamente inoculadas com os microrganismos de interesse. O controle positivo para esses patógenos foi realizado com o antibiótico vancomicina (30 µg) (para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*) e clorafenicol (30 µg) (para *Salmonella typhimurium*). As placas foram incubadas a 35 °C por 24 h. Foram considerados com atividade inibitória halos formados a partir dos discos com diâmetro maior do que 6 mm, medido com auxílio de uma régua milimetrada. O teste com cada cepa foi realizado em triplicata.

4.11. Cinética de liberação de compostos fenólicos

O perfil de liberação de compostos fenólicos das cápsulas de extrato de própolis em diferentes meios (solução de ácido acético 1 %(v/v), pH 2,7 a 37 °C e tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,1 a 25 °C) foi determinado pelo método descrito por Beijoca (2014), com modificações. Suspensões contendo 25 mL de meio e 0,2 g de cápsulas de extrato de própolis foram preparadas e mantidas sob agitação magnética. Alíquotas de 1,0 mL foram coletadas em intervalos de tempo específicos (0, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 min) e imediatamente centrifugadas a 1200 ×g por 10 min, sendo o sobrenadante coletado para análise do teor de fenólicos totais e o sedimento ressuspensionado em 1,0 mL do respectivo meio

e devolvido ao sistema, de modo a manter o volume e a quantidade de cápsulas constantes. A avaliação do teor de fenólicos totais do sobrenadante foi realizada conforme descrito no item 4.8.

4.12. Estabilidade das cápsulas de extrato de própolis durante o armazenamento

Cápsulas de extrato de própolis secas foram armazenadas em frascos fechados, protegidos da luz e mantidos a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 90 dias. Amostras (aproximadamente 0,2 g) foram analisadas quanto ao teor de fenólicos totais e flavonoides totais após 0, 8, 15, 30, 45 e 90 dias, conforme metodologia descrita nos itens 4.8 e 4.9 após rompimento.

4.13. Análise estatística

As análises foram conduzidas em quintuplicatas e os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Quando necessário, os resultados foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de significância ($p\text{-valor} < 0,05$), para determinar diferença significativa entre as médias. As análises foram realizadas no *software* Statistica 10.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação de parâmetros do processo de coacervação complexa

Inicialmente foi avaliado o efeito do pH final (3,5, 4,0 e 4,5) sobre a formação de micropartículas produzidas pela coacervação complexa entre goma arábica e proteína do soro de leite, na proporção 2:1 (CPS:GA, em massa), sem adição do extrato de própolis. Na Tabela 6 são apresentados os registros da separação de fases após etapa de repouso que sucede a coacervação e da morfologia das cápsulas produzidas, observadas ao microscópio óptico, bem como os rendimentos em cada condição de pH avaliado.

Em relação à morfologia, observa-se semelhança entre as cápsulas obtidas nos diferentes valores de pH. Em todas as três condições avaliadas, as partículas apresentaram paredes bem definidas, com formas e tamanhos irregulares, assim como observado por Ferreira *et al.* (2023).- Características morfológicas semelhantes foram observadas por Baysan *et al.* (2021) em estudo sobre microcápsulas de própolis produzidas com proteína de soro de leite e goma arábica pelos métodos de *spray drying* e liofilização. De acordo com alguns autores, as microcápsulas devem apresentar superfície uniforme com o mínimo de rachaduras, irregularidades ou rugosidade, de modo a promover uma melhor funcionalidade do material encapsulado (da Silva *et al.*, 2013; di Battista *et al.*, 2015).

O tamanho das micropartículas é uma característica importante, pois afeta propriedades físicas e funcionais, como solubilidade e higroscopicidade, uma vez que essas dependem da superfície de contato (MARTINS *et al.*, 2022). As cápsulas produzidas (Tabela 6) apresentaram tamanho médio de 9,69 μm .

No entanto, destaca-se que fazer comparações quanto à morfologia das partículas obtidas em diferentes estudos não é tarefa simples, uma vez que fatores como o método de encapsulação e suas configurações/equipamentos para secagem das cápsulas influenciam nesse parâmetro (BURGUT, 2021; WYSPIAŃSKA *et al.*, 2019) e o método adotado no presente estudo (secagem em estufa com circulação de ar) não foi relatado na literatura até o presente, para obtenção de cápsulas de extrato de própolis por coacervação complexa.

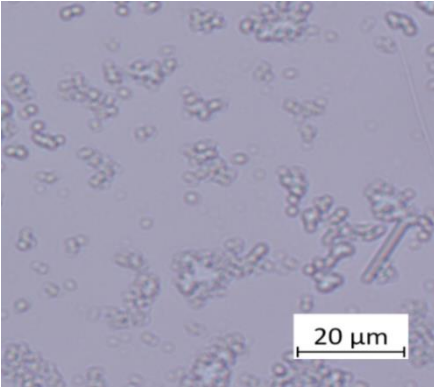

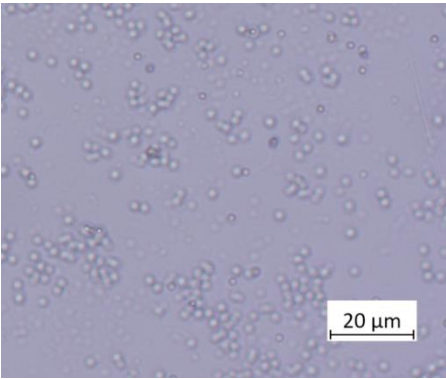
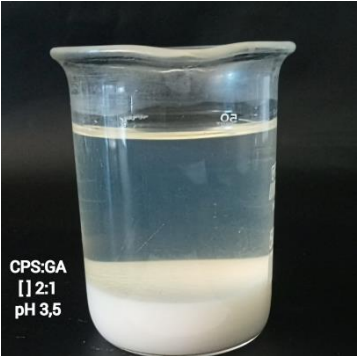
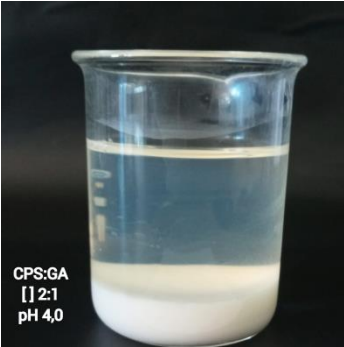

Os sistemas apresentaram clara separação de fases, com sobrenadante límpido, com exceção do sistema com pH 4,5, o qual apresentou turbidez. Tal resultado pode estar relacionado à presença de polímeros em solução e ser indicativo de uma menor interação entre as proteínas e a goma, conforme verificado pelo menor rendimento de cápsulas (Tabela 6) observado para o sistema com pH 4,5 (62,7%), enquanto os sistemas com pH 3,5 e 4,0

apresentaram os maiores rendimentos (> 70%, com sobrenadantes mais límpidos), os quais não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), o que indica que para nesses últimos sistemas, o pH de coacervação não influenciou no rendimento de cápsulas obtidas.

De modo geral, a coacervação complexa utilizando proteína do soro do leite e goma arábica se mostrou possível nos valores de pH testados, uma vez que esses encontram-se abaixo do ponto isoelétrico das principais frações proteicas do soro de leite (4,5 a 5,2), condição essa na qual as proteínas se tornam catiônicas, enquanto a goma arábica continua aniônica, favorecendo assim a interação eletrostática entre esses biopolímeros (LY *et al.*, 2008; BRAGA, 2015).

Tendo em vista a condição que resulta em maior rendimento no processo de formação de cápsulas, adotou-se o pH final de coacervação igual a 4,0.

Tabela 8. Morfologia, separação de fases e rendimento de cápsulas vazias obtidas por coacervação complexa entre proteína do soro do leite e goma arábica na proporção de 2:1, concentração total de polímeros de 2% m/v, em diferentes pH.

Resultado	pH de coacervação		
	3,5	4,0	4,5
Morfologia por microscopia óptica			
Separação de fases após <i>overnight</i> sob refrigeração			
Rendimento de cápsulas (R%)*	70,333 ± 0,015 ^a	72,0 ± 0,004 ^a	62,667 ± 0,014 ^b

* Média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
 Fonte: Da autora, 2023.

É sabido que no processo de coacervação complexa, a relação proteína-polissacarídeo é um fator de extrema importância, pois diferentes proporções de mistura influenciam no equilíbrio de cargas entre os biopolímeros que quando não adequadas podem afetar todo sistema de complexação e interação entre as moléculas (LIU *et al.*, 2009; LIU, LOW & NICKERSON 2009).

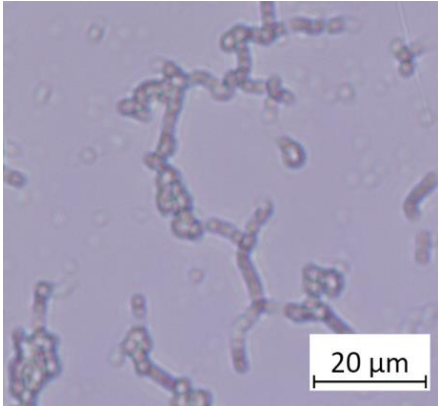
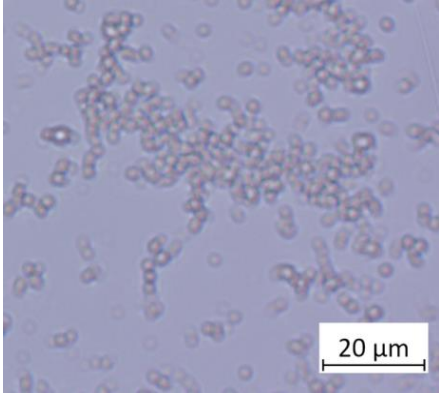
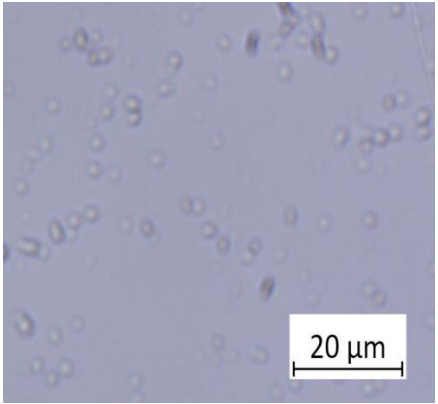
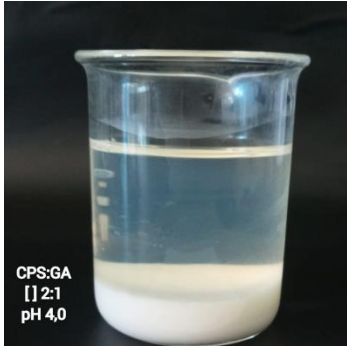
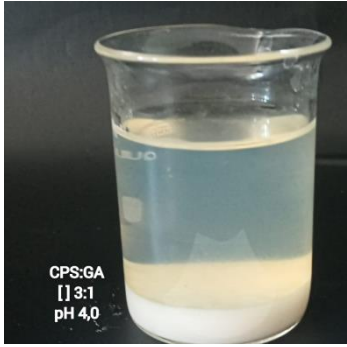

Nesta etapa, após a determinação do melhor pH final de coacervação, foram avaliadas diferentes proporções de CPS:GA (2:1, 3:1 e 4:1, em massa), mantendo-se fixa a concentração total de polímeros (2% m/m). Na Tabela 7 são apresentados os registros da separação de fases após etapa de repouso que sucede a coacervação e da morfologia das cápsulas produzidas, observadas ao microscópio óptico, bem como os rendimentos em cada condição de pH avaliado.

Com base nos registros fotográficos da microscopia e do sistema de coacervação, nota-se que não houve diferença perceptível na morfologia das partículas e na separação de fases com a variação na proporção de proteína e goma. No entanto, o processo de coacervação na proporção CPS:GA de 3:1 apresentou maior rendimento (87,3%) ($p < 0,05$) que as demais proporções avaliadas. Resultado semelhante foi observado por Kaushik *et al.* (2015a) que avaliaram a formação do complexo entre isolado proteico de linhaça e goma de linhaça em diferentes proporções (1:1 a 15:1, proteína-goma) e obtiveram melhor complexação na proporção 3:1.

Quanto ao tamanho das partículas obtidas (Tabela 7), as cápsulas apresentaram tamanho médio de 10,09 μm semelhantemente ao resultado apresentado na avaliação do efeito do pH final de coacervação (Tabela 6).

Considerando o rendimento como parâmetro de interesse, a proporção de 3:1 para proteína e goma, com pH de coacervação igual a 4,0, foi adotada para produção de microcápsulas de extrato de própolis.

Tabela 9. Morfologia, separação de fases e rendimento de cápsulas vazias obtidas por coacervação complexa entre proteína do soro do leite e goma arábica nas proporções de 2:1, 3:1 e 4:1 concentração total de polímeros de 2% m/v, em pH.4,0.

Resultado	Proporções		
	2:1	3:1	4:1
Morfologia por microscopia óptica			
Separação de fases após <i>overnight</i> sob refrigeração			
Rendimento de cápsulas (R%)*	72,0±0,004 ^a	87,333±0,006 ^b	72,333±0,003 ^a

*Média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si estatisticamente ($p < 0,05$).

Fonte: Da autora, 2023.

5.2. Avaliação das microcápsulas de extrato de própolis

Após a definição dos parâmetros para a encapsulação do extrato de própolis, a saber: proporção CPS:GA igual a 3:1 e pH final igual 4,0, foram obtidas microcápsulas de extrato em pó (após maceração) com coloração amarelada (Figura 5) e cheiro característico de própolis.



Figura 5. Microcápsulas de extrato de própolis obtidas após maceração do coacervado seco.

Fonte: Da autora, 2023.

A morfologia da microcápsula no microscópio óptico é mostrada na Figura 6. Observa-se micropartículas esféricas, aglomeradas e de tamanhos variados. Essas características também foram observadas por Andrade *et al.* (2018) e da Silva *et al.* (2013), em estudo de cápsulas de própolis encapsulada por *spray drying*.

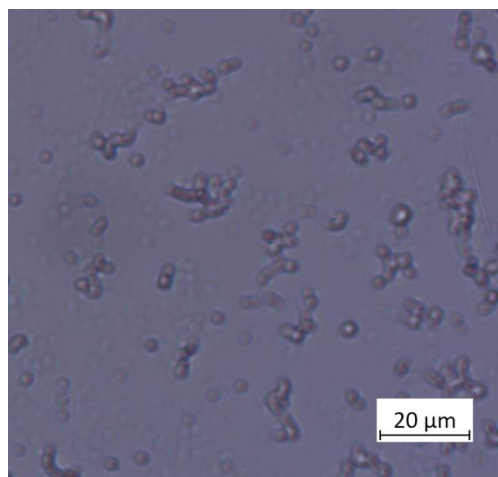


Figura 6. Microscopia óptica de microcápsulas de extrato de própolis obtidas por coacervação complexa entre proteína do soro do leite e goma arábica (40×).
Fonte: Da autora, 2023.

As microcápsulas apresentaram tamanho médio de 10,56 μm . Segundo Kaushik *et al.* (2015b) o tamanho de partícula recomendado para aplicação em produtos alimentícios deve ser inferior a 100 μm para evitar a percepção sensorial na boca. Além disso, partículas menores e mais uniformes são mais indicadas para a manutenção da viabilidade durante o armazenamento (ANEKELLA, 2011).

5.2.1. Eficiência e rendimento de encapsulação

A eficiência e o rendimento são parâmetros importantes no desenvolvimento do processo de encapsulação, independentemente do método utilizado para obtenção e da substância a ser encapsulada (SOUZA, 2016). A eficiência está relacionada à quantidade do composto de interesse retido na micropartícula e depende, dentre outros fatores, da afinidade entre o material de parede e o composto a ser encapsulado (FERNANDES, FIORILLO & ARANHA, 2022). Logo, esse parâmetro está, de certo modo, associado à capacidade que os compostos fenólicos possuem em se ligar às proteínas, como as proteínas do soro de leite utilizadas no presente estudo.

No presente estudo, a eficiência e o rendimento da microencapsulação do extrato de própolis por coacervação complexa entre proteína do soro de leite e goma arábica foram iguais a $80,3 \pm 0,2 \%$ e $74,3 \pm 1,1 \%$, respectivamente. A eficiência de encapsulação do presente estudo foi melhor do que a evidenciada por Nori *et al.* (2011) (66 a 72%), que avaliaram o microencapsulamento de extrato de própolis por coacervação complexa entre proteínas isoladas de soja e pectina, e por Sturm *et al.* (2019) (31,3%), ao encapsular própolis

com goma arábica por *spray drying*. Já Sukri *et al.* (2023) obtiveram eficiência ligeiramente superior (entre 88,27% e 91,86%) ao encapsular extrato de própolis por coacervação complexa utilizando gelatina, maltodextrina e alginato de sódio como materiais encapsulantes. Vale ressaltar que diferenças na eficiência podem ocorrer em decorrência de uma maior ou menor liberação do composto ativo durante a realização da análise devido a diferenças nos estímulos físicos ou químicos responsáveis pela liberação do composto (CAVALARO, 2021).

Em relação ao rendimento, o resultado obtido (74,3%) foi superior aos valores reportados por Busch *et al.* (2017) ao avaliarem a encapsulação de extrato de própolis em maltodextrina, goma arábica e goma galactomanana não convencional (goma vinal) (rendimento entre 60 e 68%). Baysan *et al.* (2021), em estudo de microencapsulação de extrato de própolis com diferentes tipos de materiais encapsulantes (maltodextrina, lactose, goma arábica, gelatina e caseinato de sódio) pelos métodos de atomização e liofilização, observaram valores de rendimento entre 15 e 76,82%.

5.2.2. Propriedades físicas das microcápsulas de extrato de própolis

Alguns parâmetros são importantes para caracterizar produtos em pó, uma vez que podem fornecer informações relevantes do ponto de vista da conservação, estocagem e aplicação desses materiais (SOUZA, 2016). Algumas propriedades físicas das micropartículas foram avaliadas no presente estudo, a saber: teor de umidade, higroscopicidade, solubilidade, densidade aparente, análise colorimétrica e atividade de água.

O teor de umidade é definido como a porcentagem de água contida no material e pode ser afetado pelas características desse. As microcápsulas de extrato própolis obtidas apresentaram umidade de $6,7\% \pm 0,3$, um valor relativamente baixo, como era esperado para produtos desidratados. O resultado obtido está de acordo com outros estudos. Alves (2018) reportou valores de umidade entre 1,87% e 6,71% para micropartículas de extrato de própolis obtidas por processo de atomização a partir de concentrado proteico de ervilha (concentração de 2 a 6%). Teor de umidade semelhante (4,55% a 5,94%) também foi relatado por Sukri *et al.* (2023) para extrato de própolis encapsulado com gelatina e alginato de sódio pelo método de coacervação complexa. Maiores valores de umidade foram observados por Andrade *et al.* (2018) para o extrato de própolis verde microencapsulado com goma arábica produzido por secagem em *spray drying* ($9,80\% \pm 0,62$) e por Lima (2021) para extrato de própolis de abelhas africanizadas microencapsulado com soro de leite por *spray drying* ($9,1\% \pm 0,5$).

Enquanto valor inferior foi reportado por Pant *et al.* (2022) para extrato de própolis microencapsulado com maltodextrina obtido por secagem à vácuo ($3,33\% \pm 0,51$) e por Quirino (2021) para microcápsulas de extrato de própolis vermelha (4,22 a 5,64%).

Vale destacar que um baixo teor de umidade é um dos fatores necessários para garantir a estabilidade de produtos secos e que as condições de secagem adotadas para obtenção do produto, assim como sua composição, podem influenciar no resultado final. De modo geral, alimentos com teor de umidade entre 3 e 10 g/100 g garantem um bom armazenamento sem sofrer alterações (DA SILVA *et al.*, 2013).

A higroscopicidade é considerada um parâmetro crítico de qualidade para microcápsula, uma vez que indica a capacidade do material de absorver a umidade do ambiente circundante, sendo, portanto, um fator importante para determinação da vida útil e do tipo de embalagem adequada para o produto (VARDANEGA *et al.*, 2019). Em geral, pós com menor teor de umidade apresentam maior capacidade de absorção da umidade ambiente (FERRARI; GERMAN; DE AGUIRRE, 2011). Além disso, a presença de água pode afetar a fluidez do pó (LIMA, 2021).

De acordo com Vladić *et al.* (2022), pós podem ser categorizados com base no grau de higroscopicidade em não higroscópico (<10%), ligeiramente higroscópico (10-15%), higroscópico (15-20%) e muito higroscópico (20-25%). Segundo tal classificação, as microcápsulas de extrato de própolis obtidas no presente estudo classificam-se como não higroscópicas, uma vez que apresentaram higroscopicidade igual a $3,2\% \pm 0,1$. Valores superiores a esse foram reportados por Andrade *et al.* (2018) para extrato de própolis microencapsulada com goma arábica ($6,69 \pm 0,42\%$), Quirino (2021) para microcápsulas de extrato de própolis vermelha (3,84 a 8,55%) e Pant *et al.* (2022), para microcápsulas de própolis obtidas por secagem a vácuo (9,12 a 15,41%). Sukri *et al.* (2023) categorizaram as microcápsulas de extrato de própolis encapsulada com gelatina e alginato de sódio pelo método de coacervação complexa obtidas em seu estudo como não higroscópica, ao apresentarem higroscopicidade entre 7,96 e 10,23%.

Ressalta-se que valores elevados de higroscopicidade podem levar à aglomeração do pó ou torná-lo mais pegajoso, o que não é desejável por dificultar, por exemplo, a dispersão e manipulação do mesmo. Além disso, tal condição demanda armazenamento em ambientes com baixa umidade e/ou uso de embalagens com baixa permeabilidade ao vapor d'água.

A solubilidade representa a capacidade do pó de se distribuir completamente na solução e é uma das propriedades de reconstituição de produtos em pó, as quais podem ser influenciadas pelas condições de processo e pelos materiais de revestimento e de núcleo

(PANT *et al.*, 2022). A solubilidade das microcápsulas de própolis produzidas no presente estudo foi relativamente baixa (25,04% \pm 0,02), resultado inesperado, se considerada a solubilidade dos materiais de parede utilizados. Os valores apresentados neste estudo foram superiores aos apresentados por Quirino (2021) (8,2 a 9,5 %) para extrato de própolis vermelha encapsulado com leveduras por atomização, cujos valores de baixa solubilidade foram atribuídos à levedura que não foi rompida e à presença de compostos pouco solúveis ou insolúveis em água, presentes na própolis vermelha. Já valores superiores de solubilidade em água para micropartículas de própolis em pó foram observados em outros estudos. Pant *et al.* (2022) obtiveram solubilidade de 45,27 a 61,29 % ao avaliarem própolis microencapsulada com maltodextrina. Sturm *et al.* (2019) reportaram valores para esse parâmetro entre 87,0% e 98,7% ao avaliarem o efeito da proporção própolis:goma arábica, obtendo maiores valores para menor proporção de própolis, devido às ceras e detritos insolúveis remanescentes na própolis e à boa solubilidade de goma arábica em água.

A densidade aparente de pós é um parâmetro importante para envase e armazenamento de produtos (Pant *et al.*, 2022). Produtos que apresentam baixa densidade demandam maior espaço de armazenamento, o que gera maior custo (SANTANA, 2013), além de maiores custos de embalagem, manuseio e transporte. No que se refere a alimentos em pó, a densidade aparente costuma variar entre 0,3 e 0,8 g/mL (Pant *et al.*, 2022), sendo os de menor densidade aparente mais susceptíveis à oxidação e à menor estabilidade de armazenamento, uma vez que apresentam maior quantidade de ar presente em seus espaços vazios (KOÇ *et al.*, 2017).

Segundo Felix (2014), a densidade aparente é influenciada pelo tipo de material de parede utilizado e pela temperatura de secagem (MAROOF *et al.*, 2022). De acordo com Caliskan e Dirin (2013), alta temperatura de secagem promove maior taxa de evaporação, gerando produtos mais porosos e fragmentados, com menor densidade. Produtos com menor densidade implicam maior volume ocupado e maior tamanho de partícula, o que consequentemente diminui a coesão e aumenta a fluidez, característica considerada desejável (BHUSARI; MUZAFFAR & KUMAR, 2014).

A densidade aparente das microcápsulas de extrato de própolis obtidas neste trabalho foi de 0,56 \pm 0,01 g/mL. Esse resultado está consistente com o obtido por Pant *et al.* (2022), que reportaram valores desse parâmetro entre 0,414 e 0,612 g/mL para própolis microencapsulada com etapa de secagem à vácuo. Por outro lado, microcápsulas de própolis obtidas por atomização, no estudo de Baysan *et al.* (2019), apresentaram menor densidade aparente (0,20-0,25 g/mL). Tosoni & Rodrigues (2013), encapsulando própolis com diferentes materiais encapsulantes (goma arábica, dextrina comum, Capsul, maltodextrina comum e

maltodextrina acetilada) por atomização, encontraram valores de densidade de 0,18 a 0,33 g/mL para as microcápsulas obtidas, atribuindo o aumento da densidade à alta umidade (5,63%), pois esta funciona como facilitador da junção das partículas de sólido: quando as partículas se juntam, o ar presente entre elas é eliminado, aumentando a quantidade de massa por unidade de área, e assim, a densidade do pó. Cabe destacar que materiais de baixa densidade necessitam de maior espaço para armazenamento, o que gera aumento de custo (SANTANA, 2013) para estocagem/armazenamento e transporte.

A cor de um produto é um atributo sensorial importante, uma vez que esse pode influenciar nas escolhas e preferências do consumidor. Em relação aos seus parâmetros de avaliação, o índice de brancura (IB), ângulo Hue (h^*_{ab}) e cromaticidade (c^*_{ab}) são derivados dos parâmetros L^* , a^* e b^* . IB representa a brancura, h^* é a grandeza associada aos comprimentos de onda do espectro visível, representando a qualidade da cor (azul, vermelho, amarelo etc.) e permitindo diferenciá-la, enquanto a cromaticidade (C^*) expressa a intensidade da cor, ou seja, a saturação em termos de pigmento desta cor (MENDONÇA, 2003).

As microcápsulas formuladas apresentaram valores de IB , h^*_{ab} e c^*_{ab} iguais a $72,8 \pm 1,7$, $1,5 \pm 0,0$ e $19,0 \pm 1,1$, respectivamente. Quanto maior o valor do IB mais branca é a superfície da microcápsula (SILVA, 2016). O valor de c^*_{ab} obtido está associado à cor mais neutra das microcápsulas de extrato de própolis obtidas, como pode ser observado na Figura 5, uma vez que valores de cromaticidade próximo de zero indicam cores neutras, enquanto valores próximos a 60 indicam cores mais vivas (MENDONÇA, 2003). O valor referente ao parâmetro h^*_{ab} (apresentaram ângulo de $87,23 \pm 0,65$) demonstra que as micropartículas apresentaram tonalidade mais próxima do amarelo, visto que ângulos de 0° , 90° , 180° e 270° correspondem a cores vermelho, amarelo, verde e azul, respectivamente- (KHA *et al.*, 2010).

Os valores das coordenadas de a^* e b^* variam de $-a^*$ (verde) até $+a^*$ (vermelho), e de $-b^*$ (azul) até $+b^*$ (amarelo) (KHA *et al.*, 2010). Desta forma as microcápsulas obtidas no presente estudo tenderam do vermelho ($+a^* = 1,0 \pm 0,2$) para o amarelo ($+b^* = 19,0 \pm 1,0$) de forma mais intensa, e apresentaram luminosidade (L^*) de $81,12 \pm 1,62$, ou seja, coloração mais clara.-Resultados similares a este trabalho foram encontrados por Andrade (2017) em estudo de própolis verde microencapsulada com goma arábica por atomização, com exceção da luminosidade, que apresentou valor inferior ($39,91 \pm 1,14$) e do ângulo Hue, que foi significativamente maior ($h^*_{ab} = 87,97 \pm 0,10$).

Atividade de água é um parâmetro intrínseco crítico no prazo de validade de produtos alimentícios encapsulados. É essencial para determinar a metodologia de processamento,

embalagem e condições de armazenamento para garantir melhor qualidade e vida útil prolongada do produto alimentício (SÁ *et al.*, 2023). Tan *et al.* (2015) afirmaram que as cápsulas tem excelente estabilidade quando o teor de atividade de água é abaixo de 0,3%. A atividade de água encontrada neste trabalho foi de $0,30 \pm 0,02$. Esse resultado indica que a cápsula de própolis encapsulada com CPS e GA por coacervação complexa possui alta estabilidade de armazenamento. Da mesma forma, valores semelhantes foram relatados por Andrade (2017), que elaborou micropartículas de extrato de própolis de diversas variedades (verde, marrom e vermelha) por atomização utilizando goma arábica e maltodextrina como encapsulantes ($0,24 \pm 0,01$ a $0,36 \pm 0,006\%$). Busch *et al.* (2017) encontraram o valor de $0,16 \pm 0,003$ em extrato de própolis encapsulada com maltodextrina e $0,228 \pm 0,003$ em extrato de própolis encapsulada com maltodextrina e goma arábica, e Jansen-Alves *et al.* (2018) relataram valores entre 0,26 e 0,31 para micropartículas de própolis produzidas com diferentes proteínas.

Valores de atividade de água menores que 0,3 são interessantes para a indústria, visto que há uma menor quantidade de água livre disponível para o desenvolvimento de microrganismos e ocorrência de reações bioquímicas nos produtos (FENNEMA *et al.*, 2017).

5.3. Avaliação do teor dos compostos bioativos dos extratos de própolis e das microcápsulas de extrato de própolis

O teor de compostos fenólicos totais, expresso em equivalente de ácido gálico (EAG), no extrato de própolis concentrado (EPC) correspondeu a $66,6 \pm 1,6$ mg EAG/g de própolis, e no extrato etanólico (EEP) foi verificado teor de $11,5 \pm 0,5$ mg EAG/g de própolis. Resultados semelhantes foram encontrados por Andrade (2017) para extrato de própolis verde concentrado (entre 45,90 e 90,55 mg EAG/g de própolis), Bittencourt *et al.* (2015) para extrato concentrado de própolis marrom brasileira ($48,24 \pm 1,09$ mg EAG/g de própolis) e Redondo (2018) para extrato etanólico de própolis vermelha (9,58 mg EAG/g de própolis). Já o teor de compostos fenólicos totais para as cápsulas de extrato de própolis produzidas foi de $22,9 \pm 0,07$ mg EAG/g de cápsulas, valor similar ao reportado por Andrade *et al.* (2018) (23,36 mg EAG/g de micropartícula de própolis) para amostras de própolis microencapsulada com goma arábica e com maltodextrina como material da parede.

Segundo Beijoca (2014), o teor de compostos fenólicos totais está relacionado à complexidade da própolis em termos de sua composição química, a qual é dependente da flora de a partir da qual o extrato é produzido, assim como da época do ano em que é recolhido.

Vale destacar que diferentes métodos são utilizados para quantificação de compostos fenólicos, o que dificulta de certa forma a comparação entre resultados da literatura.

Em relação ao teor de flavonoides totais, expresso em equivalente de quercetina (EQ), foram obtidos $57,4 \pm 1,1$ mg EQ/g de própolis e $9,9 \pm 0,1$ mg EQ/g de própolis para o EPC e o EEP, respectivamente. Hatano *et al.* (2012), em estudo com própolis de diferentes origens, obtiveram teor de flavonóides totais de 51,9 mg EQ/g de própolis no extrato concentrado de própolis para amostra de própolis verde brasileira, valor similar ao constatado no presente estudo. Da mesma forma, valores semelhantes foram apresentados por Andrade (2018) para extrato de própolis verde (20,57 a 59,44 mg EQ/g de própolis). Já o conteúdo de flavonoides totais presentes nas cápsulas produzidas foi de $17,9 \pm 0,18$ mg EQ/g de cápsulas valor maior do que o reportado por Andrade (2018) para o conteúdo de flavonoides em cápsulas de extrato de diferentes variedades de própolis (1,34 a 2,88 mg EQ/g-de cápsulas).

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) estabelece como limites mínimos os teores de 5 % (m/m) e 0,5 % (m/m) para os compostos fenólicos e flavonoides, respectivamente, na própolis bruta e 0,25 % (m/m) e 0,5 % (m/m), no extrato etanólico de própolis. Nota-se que os extratos de própolis (livre e encapsulado) produzidos no presente estudo atenderam a esses requisitos preconizados pela legislação vigente.

5.4. Atividade antioxidante

A vegetação ao redor das colmeias influencia na composição da própolis, que por sua vez é produzida a partir de resinas coletadas por abelhas da espécie *A. mellifera* L. Todas as características e qualidade da própolis coletada podem ser alteradas dependendo da diversidade vegetal da região, da variabilidade genética das abelhas rainhas, além do gênero e espécie das próprias abelhas que a produz, pois elas poderão conduzir a preferências por diferentes plantas (LIS *et al.*, 2020). Estes fatores podem modificar os valores das capacidades antioxidantes da própolis, sendo esta propriedade importante para a preservação dos alimentos durante o armazenamento e prolongamento do tempo de consumo (BASANTA *et al.*, 2016).

Diversos estudos apontam a presença de compostos com atividade antioxidante na própolis e, conseqüentemente, no seu extrato, na forma livre e encapsulada, o que é interessante por possibilitar sua utilização como potencial aditivo na indústria de alimentos (NORI *et al.*, 2011; DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017; KULEY *et al.*, 2021; BURGUT, 2021). A atividade antioxidante normalmente está relacionada à presença dos compostos

fenólicos e flavonoides, com estudos apontando para uma correlação positiva entre os teores desses compostos e atividade antioxidante (DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017; CAMPOS *et al.*, 2014; DUMAN & ÖZPOLAT, 2015).

5.4.1. Atividade sequestrante do radical DPPH

As percentagens de inibição da atividade sequestrante do radical DPPH com relação às amostras de microcápsulas de própolis, extrato de própolis concentrado e extrato de própolis etanólico são apresentadas na Tabela 8. Observa-se que a porcentagem de inibição do DPPH variou de 14 a 88,40 % entre as diferentes formas de extrato de própolis (livres e encapsulado) e concentrações. Como esperado, maior atividade de inibição foi observada para a maior concentração de extrato testada em cada amostra. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os resultados obtidos na mesma concentração para os extratos livres (EPC e EEP) e microencapsulado (EPC) (p-valor > 0,05), sendo a atividade antioxidante das cápsulas igual à atividade dos extratos livre.

Tabela 10. Avaliação da propriedade antioxidante dos extratos de própolis concentrado (EPC) e etanólico (EEP), e das microcápsulas de extrato de própolis pelo método DPPH.

Amostras	Concentração (mg/mL)	Atividade antioxidante (%)*
EPC	0,6	17,97 ± 0,96 ^a
	1,5	61,44 ± 0,54 ^b
	3,0	88,40 ± 0,63 ^c
EEP	0,6	15,99 ± 0,54 ^a
	1,5	57,89 ± 1,10 ^b
	3,0	79,62 ± 0,63 ^c
Microcápsulas de própolis	0,6	14,00 ± 0,96 ^a
	1,5	52,25 ± 2,04 ^b
	3,0	77,01 ± 1,01 ^c

*Média ± desvio padrão. Médias provenientes de mesma concentração seguidas por letras diferentes diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Fonte: Da autora, 2023.

Resultados de atividade sequestrante do radical DPPH semelhantes foram encontrados por Alencar *et al.* (2007) para extrato etanólico de própolis vermelha na concentração de 0,9 mg/mL (57 ± 3,2 %). Andrade (2017) constatou percentagem de inibição de 86,06 a 90,72 % e Lima (2020) verificou um valor de 85,80 % para o extrato concentrado de própolis. Para as microcápsulas de extrato de própolis, os resultados obtidos por Nori *et al.* (2011) (15,97 a

84,94 %) estão em conformidade com os valores apresentados no presente estudo (Tabela 9), Lima (2020) também evidenciou valores de 58,03 a 83,30 % para microcápsulas de extrato de própolis.

O processo de concentração do extrato para eliminação completa do solvente e secagem das cápsulas em estufa à baixa temperatura (50 °C) não se mostraram prejudiciais para atividade sequestrante do radical DPPH, uma vez que a atividade antioxidante foi mantida nos extratos e cápsulas produzidas.

5.4.2. Método de redução de ferro (FRAP)

O potencial de ferro foi medido através da curva de sulfato ferroso. Os extratos de própolis concentrado (EPC) e etanólico (EEP) apresentaram maior capacidade antioxidante (ECP = $59.595,8 \pm 0,84 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de própolis e EEP = $6.791,3 \pm 0,3 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de própolis) que as microcápsulas ($727,4 \pm 0,6 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de cápsulas) produzidas. No entanto, não é possível comparar diretamente o resultado obtido para o extrato de própolis livre e o encapsulado, pois a quantificação da atividade antioxidante no extrato corresponde à atividade de todos os compostos antioxidantes ali presentes, enquanto nas microcápsulas a quantificação é feita em relação aos compostos que foram aprisionados/encapsulados (PENIM, 2015).

Como esperado, o ECP apresentou maior resultado, já que houve uma concentração dos compostos presentes com a remoção do etanol. Comportamento semelhante ao obtido para o extrato concentrado foi observado por Alves (2018), uma vez que a concentração do extrato propiciou o aumento significativo da atividade antioxidante.

Andrade (2017) avaliou a atividade antioxidante de amostras de extratos etanólicos de diversas variedades de própolis brasileira (marrom, verde e vermelha), na forma livre e encapsulado, e encontrou valores inferiores aos obtidos neste estudo para os extratos (2.532,1 a 3.224,1 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de própolis) e superiores para as cápsulas (1.074,9 a 1.948,7 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de cápsulas). O resultado observado por Quirino (2021) para micropartículas de própolis vermelha com leveduras também foi superior ao encontrado nesse estudo, tanto para as partículas recém produzidas (1.776,0 a 2.144,5 $\mu\text{g Fe}^{2+}/\text{g}$ de micropartículas) quanto após 60 dias de armazenamento a 25 °C (1658,4 a 1874,9 $\mu\text{g Fe}^{2+}/\text{g}$ de micropartículas).

5.5. Atividade antimicrobiana

Três cepas bacterianas comumente relatadas em alimentos foram selecionadas para avaliação da atividade antimicrobiana do extrato e das microcápsulas, sendo duas cepas de bactérias gram-negativas (*Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*) e uma cepa gram-negativa (*Staphylococcus aureus*). Verificou-se no presente estudo que os extratos de própolis livres (EPC e EEP) e as microcápsulas de extrato de própolis (0,1; 10,0 e 100 mg/mL) não inibiram o crescimento dos microrganismos patogênicos testados (Figura 7), sendo verificada apenas a inibição pelos antibióticos (clorafenicol e vancomicina) utilizados como controle.

Oliveira *et al.* (2010) verificaram resultados semelhantes ao observarem que os extratos de própolis não apresentaram atividade microbiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Candida albicans*. Alves (2018) também relatou ausência de ação antibacteriana dos extratos e cápsulas de própolis avaliados contra *E. coli*. Esses resultados indicam que os compostos bioativos presentes nas amostras analisadas não têm ação antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2006).

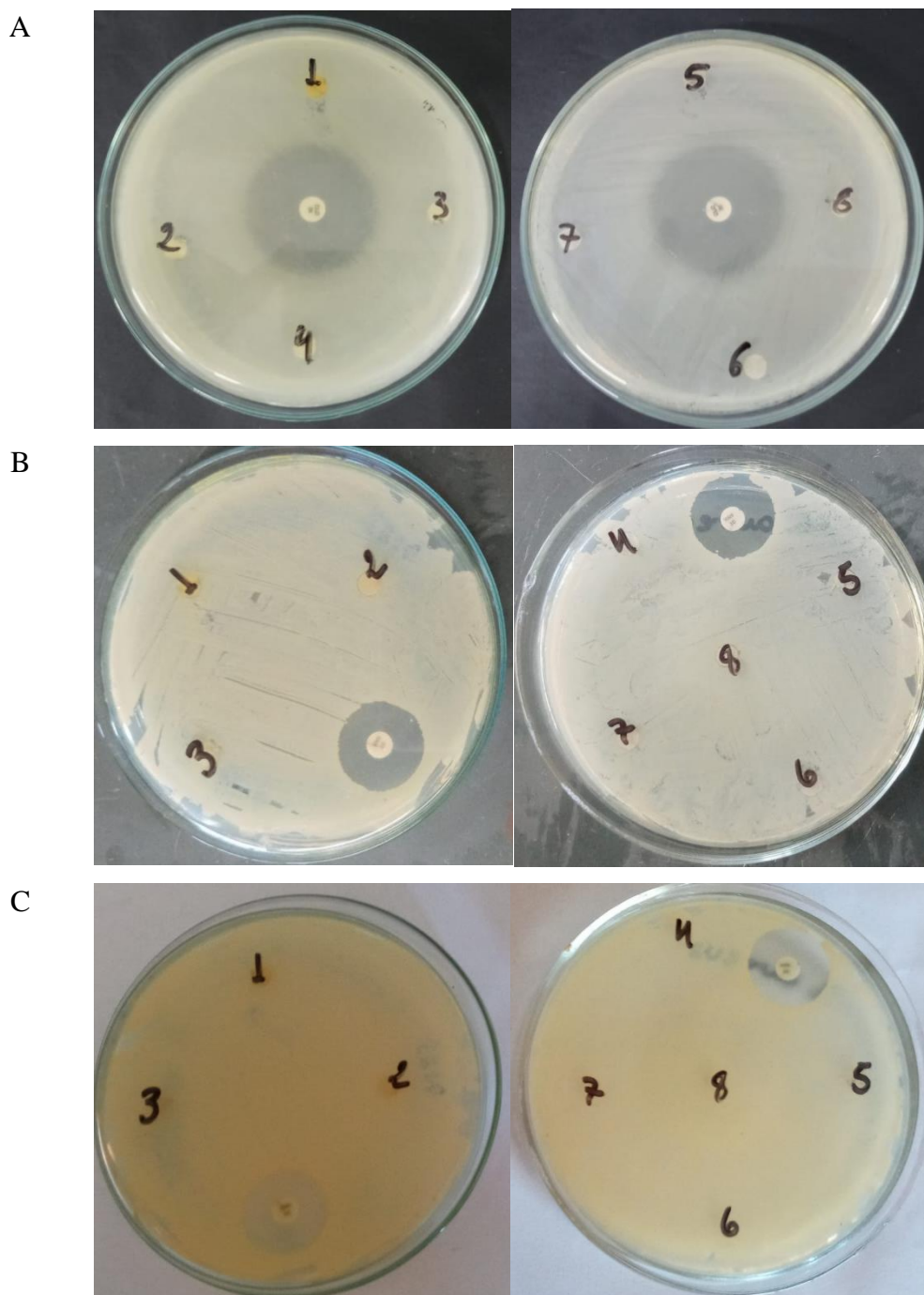


Figura 7. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de própolis concentrado (1), extrato etanólico de própolis (2), microcápsulas de própolis nas concentrações de 100 mg/mL (3 e 6), 10 mg/mL (4 e 7) e 0,1 mg/mL (5 e 8) frente às cepas de *Salmonella typhimurium* (A), *Staphylococcus aureus* (B) e *Escherichia coli* (C). Controle positivo (disco sem numeração): clorafenicol (A) e vancomicina (B e C).

Fonte: Da autora, 2023.

Diferentemente do observado no presente trabalho, diversos estudos relatados na literatura reportam a ação antimicrobiana de extrato de própolis, seja na forma livre ou encapsulado (BERRETA *et al.*, 2023; KULEY *et al.*, 2021; SAFAEI & ROOSTA AZAD,

2020; NORI *et al.*, 2011) especialmente contra bactérias gram-positivas, as quais normalmente são mais sensíveis devido à sua estrutura celular, que é constituída de aproximadamente 90 a 95% de peptídeoglicano, que permite que as moléculas penetrem mais facilmente nas células microbianas. (ALVES, 2018). No entanto, cabe destacar que a composição química da própolis é bastante complexa e variável, dependendo da região de coleta e origem botânica, dentre outros fatores, o que acaba por influenciar em sua ação farmacológica e toxicológica.

Confrontando a avaliação dos teores de compostos fenólicos e flavonoides totais e os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana, percebe-se que não houve uma relação entre eles. A ausência de atividade antibacteriana observada neste estudo pode estar associada ao processo de extração da própolis e de secagem das microcápsulas produzidas, que podem ter levado à não extração de substâncias específicas com ação antimicrobiana (ou mesmo a extração insuficiente, resultando em concentrações inferiores à necessária para promover a atividade antibacteriana) e/ou à degradação dos compostos bioativos com essa atividade biológica, mantendo grande quantidade de substâncias sem atividade antimicrobiana, como as resinas e ceras presente na própolis bruta (DA CRUZ ALMEIDA *et al.*, 2017).

5.6. Cinética de liberação dos compostos fenólicos encapsulados

A microencapsulação pode promover, além do aumento da estabilidade de compostos sensíveis, sua liberação controlada nos locais onde serão absorvidos ou em seus sítios de ação (SOUZA, 2016). Assim, foram realizados testes de liberação de compostos fenólicos em sistemas contendo ácido acético 1 % v/v (pH 2,7) a 37 °C e tampão fosfato 0,2 mol/L (pH 7,1) a 25 °C. Os perfis de liberação dos compostos fenólicos totais nos meios ácido e neutro a partir das micropartículas de extrato de própolis são apresentados na Figura 8.

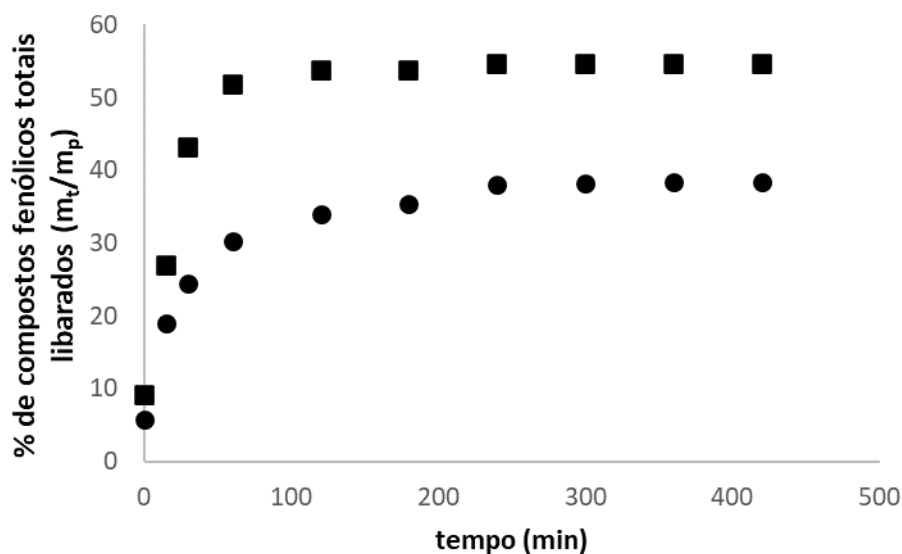


Figura 8. Perfis de liberação de compostos fenólicos a partir de micropartículas de extrato de própolis em ácido acético 1% v/v (pH 2,7) (■) e tampão fosfato 0,2 mol/L (pH 7,1) (●). Legenda: m_t refere-se à massa de fenólicos totais liberada em função do tempo e m_p , a massa de fenólicos totais presente nas microcápsulas no meio. Desvio-padrão menor do que 1,1%. Fonte: Da autora, 2023.

As micropartículas apresentaram perfil semelhante em ambos os meios, com rápida liberação dos compostos fenólicos nos primeiros 60 min do processo, seguido de liberação mais lenta e gradual, tendo atingido os valores de equilíbrio dentro do intervalo de tempo do experimento (Figura 8). Perfil de liberação semelhante foi observado por Souza (2016) para liberação de compostos fenólicos de extrato de canela encapsulado pelo método de coacervação complexa.

É provável que o mecanismo de liberação dos compostos fenólicos das partículas contendo extrato de própolis aconteça por meio da dissolução da parede ou degradação da partícula. Segundo Comunian & Favaro-Trindade (2016), a adição de solventes em partículas produzidas por coacervação complexa pode contribuir para a degradação dessas partículas, devido, por exemplo, ao pH do meio, uma vez que variações nesses valores irão alterar a solubilidade dos polímeros que compõem as partículas.

As micropartículas promoveram maior retenção dos compostos fenólicos quando em meio neutro, uma vez que a liberação dos compostos ocorreu em menor grau (38% da massa total passível de ser liberada no meio) quando comparada ao meio ácido (55% da massa passível de ser liberada no meio).

As micropartículas apresentaram maior taxa de liberação na primeira 1 hora de ensaio no meio ácido, conforme representado pela Figura 8. Comportamento semelhante ao

observado por Redondo (2018), que também verificou maior taxa de liberação no meio mais neutro (tampão fosfato pH 6,8) em relação ao meio ácido (meio gástrico simulado) para microencapsulado de extrato de própolis obtido por atomização em matriz de goma arábica, amido e maltodextrina.

Como pode ser observado nessa figura, o meio ácido propiciou a liberação máxima dos compostos fenólicos, mantendo um percentual de liberação semelhante entre os pontos amostrados a partir de 120 min, enquanto no sistema neutro, a liberação máxima foi inferior e mais lenta, atingindo o patamar de percentual de fenólicos liberados a partir de 240 min. A razão pode estar associada à grande concentração de íons no meio neutro em relação ao meio ácido visto que a goma arábica possui uma fração proteica, cuja solubilidade diminui com o aumento da força iônica (REDONDO, 2018). De acordo com Teijón, Garrido & Blanco (2004), uma concentração maior de sal em uma solução proteica, aumenta a interação proteína-proteína enquanto reduz a interação da proteína com o meio, dificultando assim a liberação dos compostos ativos microencapsulados.

Pensando na possibilidade de aplicação das micropartículas de extrato de própolis em alimentos, tendo em vista a potencial capacidade antioxidante e possibilidade de mascarar o sabor do extrato de própolis (não avaliada no presente estudo), as matrizes alimentares mais interessantes podem ser as que apresentam certa neutralidade, uma vez que se verificou no presente estudo, menor grau de liberação dos compostos fenólicos encapsulados nesse meio. Contrário do que foi observado por Beijoca (2018), que verificou fraca retenção dos fenólicos encapsulados por atomização em diferentes matrizes (quitosana, quitosana e ácido acético, quitosana e tripolifosfato, amido, amido e gelatina) quando em meio neutro (liberação de 89 a 100% dos fenólicos totais) indicando a aplicação dessas microcápsulas em certos produtos de origem vegetal (pH ácido), em decorrência da maior retenção nessa condição.

5.7. Estabilidade das cápsulas de extrato de própolis durante o armazenamento

Durante a estocagem, para que as cápsulas contendo extrato de própolis exerçam a funcionalidade de seus compostos bioativos, é importante garantir sua estabilidade durante o armazenamento. Dessa forma, a fim de avaliar a estabilidade das microcápsulas foram avaliados os teores dos compostos fenólicos totais e flavonoides totais durante um período de 90 dias, a 25 °C e -75 °C, sendo os resultados apresentados na Figura 9.

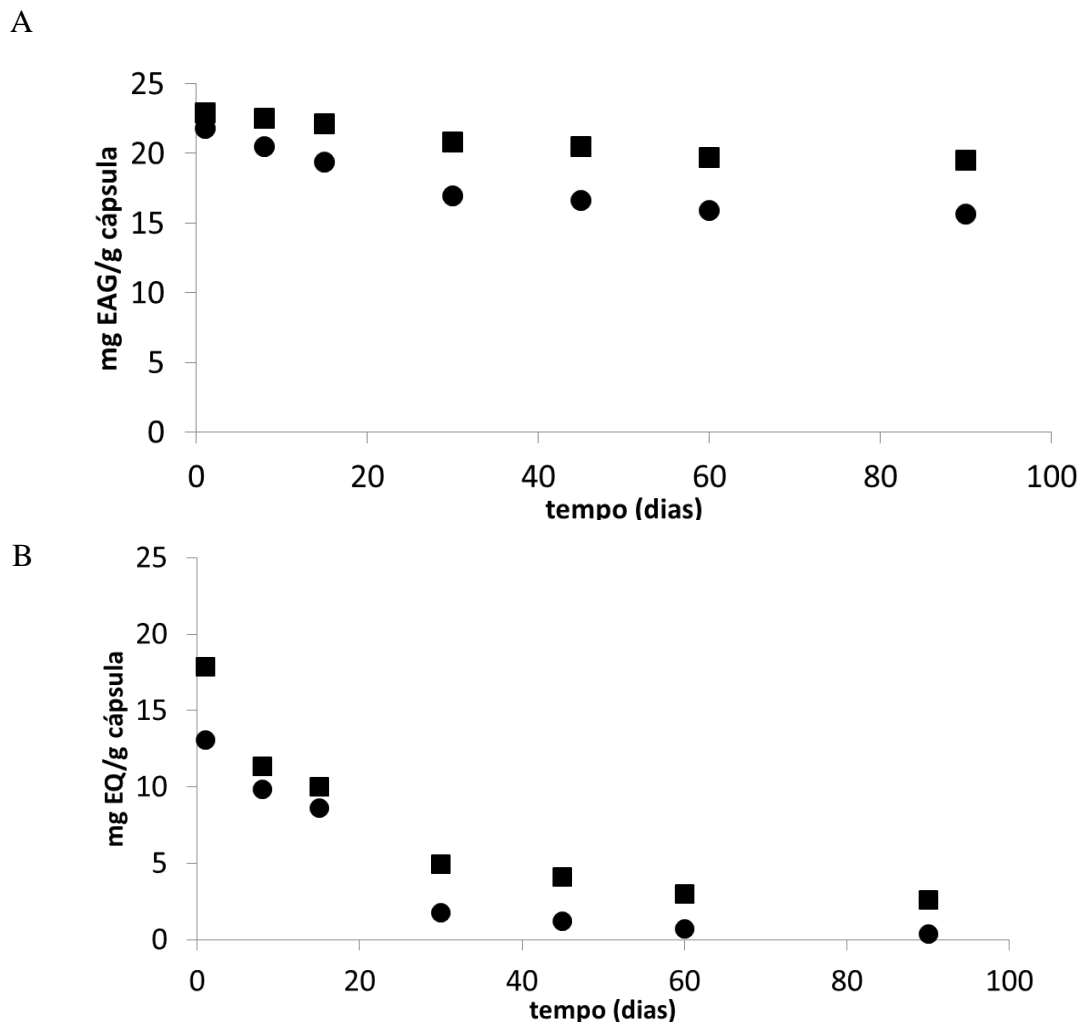


Figura 9. Estabilidade dos compostos bioativos durante a estocagem das microcápsulas por período de 90 dias a -75 °C (■) e 25 °C (●): (A) compostos fenólicos totais e (B) flavonoides totais.

Fonte: Da autora, 2023.

O teor de fenólicos totais nas micropartículas variou de $22,9 \pm 0,1$ para $19,5 \pm 0,1$ e $15,6 \pm 0,1$ mg EAG/g de cápsulas para amostras armazenadas a -75 °C e 25 °C, respectivamente, no período de 90 dias. As reduções de 15 % e 32 % do teor de fenólicos nas cápsulas mantidas a -75 °C e 25 °C, respectivamente, foram inferiores à redução observada por Sá *et al.* (2023), que verificou diminuição de 21,72 para 1,79 mg EAG/g de cápsulas (redução de 92 %) no período de 60 dias, em temperatura de 25 °C. Segundo da Silva *et al.* (2013), que analisaram a estabilidade de compostos fenólicos durante 180 dias em temperatura de 10 e 25 °C, a estabilidade está relacionada à alta eficiência de encapsulamento e à baixa quantidade de compostos fenólicos na superfície do carreador.

Já o teor de flavonoides totais diminuiu de $17,9 \pm 0,2$ para $2,6 \pm 0,1$ e $0,4 \pm 0,1$ mg EQ/g de cápsulas durante o armazenamento, redução de 85% quando armazenadas a -75 °C e

de 98% para armazenamento a 25 °C, durante 90 dias. Redução similar a verificada por Sá *et al.* (2023) de 96 % (8,21 a 0,31 mg EQ/g de matéria seca) durante 60 dias a 25° C.

Para ambos os compostos bioativos avaliados durante o teste de estabilidade, pode-se verificar maior degradação nos primeiros 45 dias de armazenamento, em ambas as condições de temperatura (reduções de A% e B% para fenólicos totais a -75 e 25 °C, e de C% e D% para flavonoides totais a -75 e 25 °C, respectivamente), sendo que após esse período, a estabilidade desses compostos é maior (Figura 9). Tal resultado pode estar relacionado à degradação desses compostos presentes na superfície das partículas, os quais ficam mais susceptíveis ao contato com oxigênio e umidade, o que favorece sua degradação (SOUZA, 2016).

Ainda de acordo com a Figura 9, é possível observar uma queda mais acentuada na quantidade dos compostos bioativos nas cápsulas armazenadas a 25 °C em comparação às cápsulas estocadas a -75 °C. Esse resultado é esperado tendo em vista que a temperatura mais elevada tende a acelerar algumas reações e aumentar a degradação de compostos termossensíveis, como os fenólicos. Esse comportamento também foi observado por Nori *et al.* (2011) ao avaliarem a estabilidade da própolis encapsulada por coacervação complexa utilizando proteína isolada de soja e pectina como agentes encapsulantes.

Os resultados obtidos na análise de estabilidade indicam que o processo de microencapsulação adotado foi capaz de conferir certa proteção aos compostos fenólicos durante o armazenamento sob temperatura ambiente (25 °C) e a -75 °C.

6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente estudo indicam que é possível realizar a microencapsulação do extrato de própolis por meio de coacervação complexa com secagem em estufa, utilizando proteína do soro do leite (CPS) e goma arábica (GA) como agentes encapsulantes, e assim, obter cápsulas de extrato de própolis em pó, livres de álcool e com potencial de utilização como aditivo em diversos alimentos. As cápsulas produzidas apresentaram paredes bem definidas, com formas e tamanhos irregulares. O processo de coacervação em pH 4,0 e com proporção de CPS:GA de 3:1 apresentou altos valores de rendimento (74,3 %) e eficiência de encapsulação (80,3 %).

As micropartículas de extrato de própolis obtidas nessa condição apresentaram baixos valores de umidade (6,7 %), baixa higroscopicidade (3,2 %) e atividade de água (0,3 %), características desejáveis em microcápsulas; e, também, baixa solubilidade em água (25,04

%) e densidade aparente (0,56 g/mL) compatível com outros alimentos em pó. As microcápsulas formuladas apresentaram valores de IB , h^*_{ab} e c^*_{ab} iguais a $72,8 \pm 1,7$; $1,5 \pm 0,0$ e $19,0 \pm 1,1$, respectivamente, tendendo do vermelho ($+a^* = 1,0 \pm 0,2$) para o amarelo ($+b^* = 19,0 \pm 1,0$) de forma mais intensa, e apresentaram luminosidade (L^*) de $81,12 \pm 1,62$, ou seja, coloração mais clara.

Os extratos livre e encapsulado apresentaram elevado conteúdo de fenólicos totais e flavonoides totais, o que pode ter refletido na elevada atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH e FRAP, e tornam esses extratos (livre e encapsulado) uma fonte promissora de polifenóis biologicamente ativos. No entanto, não foi verificada atividade antimicrobiana contra *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* para os extratos livres e encapsulado.

Em relação à liberação e estabilidade dos compostos bioativos em diferentes meios, verificou-se que houve maior retenção dos compostos fenólicos quando em meio neutro, uma vez que a liberação dos compostos ocorreu em menor grau quando comparada ao meio ácido. Quanto à estabilidade, a encapsulação resultou em boa conservação dos compostos fenólicos ao longo de 90 dias de armazenamento a $-75\text{ }^\circ\text{C}$ e $25\text{ }^\circ\text{C}$, verificando-se maior degradação nos primeiros 45 dias de armazenamento em ambas as temperaturas, com posterior queda mais acentuada na quantidade dos compostos bioativos nas cápsulas armazenadas a $25\text{ }^\circ\text{C}$ em comparação às cápsulas estocadas a $-75\text{ }^\circ\text{C}$.

REFERÊNCIAS

- Aberkane, L., Roudaut, G., Saurel, R. Encapsulation and oxidative stability of pufa-rich oil microencapsulated by spray drying using pea protein and pectin. *Food and Bioprocess Technology*, New York, v. 7, n. 5, p. 1505-1517, 2014.
- Ackermann, T. Cromatografia no estudo da própolis. *Food Chemistry*, v.42, p.135-138, 1991.
- Ahmed, R., Tanvir, E. M., Hossen, M., Afroz, R., Ahmmed, I., Rumpa, N. E., Khalil, M. Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- 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.
- Aimutis, W. R. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *The Journal of Nutrition*, v. 134, n. 4, p. 989-995, 2004.
- Akbay, E., Özenirler, Ç., Çelemlı, Ö. G., Durukan, A. B., Onur, M. A., Sorkun, K. Effects of propolis on warfarin efficacy. *Kardiochirurgia i torakochirurgia polska= Polish journal of cardio-thoracic surgery*, v. 14, n. 1, p. 43, 2017.
- Alencar, S. M. D., Aguiar, C. L. D., Paredes-Guzmán, J., Park, Y. K. Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Ciência Rural*, v. 35, p. 909-915, 2005.
- Alencar, S. M. D., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., ... & Ikegaki, M. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of ethnopharmacology*, v. 113, n. 2, p. 278-283, 2007.
- Al-Hariri, M. T. Propolis and its direct and indirect hypoglycemic effect. *Journal of Family and Community Medicine*, v. 18, n. 3, p. 152, 2011.
- Ali, A., Chow, W. L., Zahid, N., & Ong, M. K.. Efficacy of propolis and cinnamon oil coating in controlling post-harvest anthracnose and quality of chilli (*Capsicum annum L.*) during cold storage. *Food and bioprocess technology*, v. 7, p. 2742-2748, 2014.

Alonso-Salces, R. M., Cugnata, N. M., Guaspari, E., Pellegrini, M. C., Aubone, I., De Piano, F. G., Fuselli, S. R. Natural strategies for the control of *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood in honey bees: a review. *Apidologie*, v. 48, n. 3, p. 387-400, 2017.

Alves, C. J. Microencapsulação de própolis utilizando matrizes proteicas para aplicação como ingrediente funcional em alimentos. [Tese]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2018.

Aminimoghadamfarouj, N., Nematollahi, A. Propolis diterpenes as a remarkable bio-source for drug discovery development: a review. *International journal of molecular sciences*, v.18, n. 6, p. 1290, 2017.

Andrade, J. K. S. Extração e microencapsulação de compostos bioativos presentes nas diferentes variedades das própolis brasileiras. [Dissertação]. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, 2017.

Andrade, J. K. S., Denadai, M., Andrade, G. R. S., Nascimento, C. C., Barbosa, P. F. M. S. Jesus, Narain, N. 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.

Anekella, K. Microencapsulation of probiotics (*Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*) in raspberry powder by spray drying: optimization and storage stability studies Master of Science. McGill University, 2011.

Anekella, K.& Orsat, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, v. 50, n. 2, p. 17-24, 2013.

AOAC. (1995). Method 991.42 & 993.19. Official methods of analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Araújo, A. L. Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Diplomação em Engenharia Química) Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

Araújo, T. A., Faria, S., França, F. P., & Cardoso, V. L. Avaliação do comportamento reológico dos diferentes meios de produção de goma xantana a partir do caldo de cana. In Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. v. 6, 2005.

Assis, L. M. D., Zavareze, E. D. R., Prentice-Hernández, C., & Souza-Soares, L. A. D. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 15, p. 99-109, 2012.

Augustin, M.A., Hemar, Y. Nano- and microstructured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem. Soc. Rev.*, v. 38, p. 902–912, 2009.

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

Azevedo, V., Chaves, S. A., Bezerra, D. C., Lia Fook, M. V., & Costa, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista eletrônica de Materiais e processos*, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007

Bakry A.M., Abbas S., Ali B., Majeed H., Abouelwafa M.Y., Mousa A., & Li Liang. 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, 2016.

Baldasso, C., Barros, T. C., & Tessaro, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, v. 278, n. 1-3, p. 381-386, 2011.

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.

Bankova, V., Bertelli, D., Borba, R., Conti, B. J., da Silva Cunha, I. B., Danert, C., Eberlin, M. N., Falcão, S., Isla, M. I., Moreno, M. I. N., Papotti, G., Popova, M. Santiago, K. B., Salas, A... & Zampini, C. Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. *Journal of Apicultural Research*, v. 58, n. 2, p. 1-49, 2019.

Barbarić, M., Mišković, K., Bojić, M., Lončar, MB, Smolčić-Bubalo, A., Debeljak, Ž., & Medić-Šarić, M. Composição química dos extratos etanólicos de própolis e seu efeito nas células HeLa. *Journal of ethnopharmacology*, v. 135, n. 3, p. 772-778, 2011.

Barbosa, A. S.; Florentino, E. R.; Florêncio, I. M.; Araújo, A. S.; Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. *Revista Verde Agroecologia Desenvolvimento Sustentável*, Mossoró, v. 5, n. 1, p. 17-25, 2010.

Barbosa, C. M. D. S., Morais, H. A., Lopes, D. C. F., Mansur, H. S., Oliveira, M. C. D., & Silvestre, M. P. C. Microencapsulamento de hidrolisados de caseína em lipoesferas para mascarar o sabor amargo: avaliação físico-química e sensorial. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, p. 361-374, 2002.

Basanta, F., Marin, A., Leo, S.A., Gerschenson, L. N., Erlejman, A. G., Tomás-Barberán, F. A., Rojas, A. M. Antioxidant Japanese plum (*Prunus salicina*) microparticles with potential for food preservation. *Journal of Functional Foods*, v. 24, p. 287-296, 2016.

Bastos, L. P. H., de Sá Costa, B., Siqueira, R. P., & Garcia-Rojas, E. E. Complex coacervates of β -lactoglobulin/sodium alginate for the microencapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil: Simulated gastrointestinal conditions and modeling release kinetics. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 160, p. 861-870, 2020.

Bastos, L. P. H., Dos Santos, C. H. C., de Carvalho, M. G., & Garcia-Rojas, E. E. (2020). Encapsulation of the black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil by lactoferrin-sodium alginate complex coacervates: Structural characterization and simulated gastrointestinal conditions. *Food chemistry*, v. 316, p. 126345.

Baysan, U., Bastioğlu, A. Z., Coşkun, N. Ö., Takma, D. K., Balçık, E. Ü., Sahin-Nadeem, H., & Koç, M. The effect of coating material combination and encapsulation method on propolis powder properties. *Powder Technology*, v. 384, p. 332-341, 2021.

Baysan, U., Elmas, F., & Koç, M. The effect of spray drying conditions on physicochemical properties of encapsulated propolis powder. *Journal of Food Process Engineering*, v. 42, n. 4, p. e13024, 2019.

Beijoca, Marta Sofia Ribeiro. Encapsulamento de extratos de própolis por secagem por atomização e estudos de libertação controlada. [Tese]. Lisboa: Universidade de Lisboa. 2014.

Berretta, A. A., Zamarrenho, L. G., Correa, J. A., De Lima, J. A., Borini, G. B., Ambrósio, S. R., ... & De Jong, D. Development and Characterization of New Green Propolis Extract

Formulations as Promising Candidates to Substitute for Green Propolis Hydroalcoholic Extract. *Molecules*, v. 28, n. 8, p. 3510, 2023.

Berretta, A.A., Arruda, C., Miguel, F.G., Baptista, N., Nascimento, A.P., Marquele-Oliveira, F., Hori, J.I., Barud, H. S., H., Damaso, B., Ramos, C., Ferreira, R., Bastos, J.K. Functional properties of Brazilian propolis: from chemical composition until the market. In: Waisundara, V. (ed.). *Superfood and functional food – An overview of their processing and utilization*, p. 55-98, 2007 ISBN (e-book): 978-953-51-5471-6.

Bhusari, S. N., Muzaffar, K., & Kumar, P. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder technology*, v. 266, p. 354-364, 2014.

Bittencourt, M. L. F., Ribeiro, P. R., Franco, R. L. P., Hilhorst, H. W. M., Castro, R. D. De, Fernandez, L. G. Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. *Food Research International*, n. 76, p. 449–457, 2015.

Bobbio, F.O.; Bobbio, P.A. *Introdução à química de alimentos*. 2a edição. São Paulo: Livraria Varela. Braccini, I.; Pérez S. (2001). Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, v. 2, n. 4, p. 1089-1096, 1992.

Bordini, F. W., Rosolen, M. D., da Luz, G. D. Q., Pohndorf, R. S., de Oliveira, P. D., Conceição, F. R., ... & Pieniz, S. Development of a microencapsulated probiotic delivery system with whey, xanthan, and pectin. *Brazilian Journal of Microbiology*, p.1-13, 2023.

Braga, A. B. A. C.. *Estudo de constituintes do leite e soro de leite como materiais de parede no processo de microencapsulação por coacervação complexa.*[Trabalho de Conclusão de Curso]. Patos de Minas: Universidade Federal de Uberlândia. 2015.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 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. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1, p. 18-23.

Burdock, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, v.36, n.4, p.347-363, 1998.

Burgut, Aykut. Growth inhibition of foodborne pathogens by co-microencapsulation of lactobacilli cell free and propolis extracts. *Journal of Food Safety*, v. 41, n. 1, p. e12863, 2021.

Busch, V. M., Pereyra-Gonzalez, A., Šegatin, N., Santagapita, P. R., Ulrih, N. P., & Buera, M. D. P. Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. *LWT*. v. 75, p. 227-235, 2017.

Caliskan, G., Dirim, S. N. The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioprocess Processing*, v. 91, n. 4, p. 539-548, 2013.

Campos, J. F., dos Santos, U. P., Macorini, L. F. B., de Melo, A. M. M. F., Balestieri, J. B. P., Paredes-Gamero, E. J., ... & dos Santos, E. L. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). *Food and Chemical Toxicology*, v. 65, p. 374-380, 2014.

Carmo, E. L. do., Fernandes, R. V. de B., Borges, S. V. Microencapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. *Journal of Chemical Engineering and Chemistry*, v. 1, n. 2, p. 30-44, 2015.

Castaldo, S., & Capasso, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, v. 73, p. 1-6, 2002.

Castro, R. N., & Salgueiro, F. B. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. *Química Nova*, v. 39, n. 10, p. 1192-1199, 2016.

Cavalaro, R. I. Extração, microencapsulação e aplicação de antioxidantes de alecrim-do-campo e própolis verde em matrizes alimentares. [Tese]. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2021

Chan, G.C.F., Cheung, K.W., Sze, D.M.Y. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. v. 44, n. 3, p. 262-273, 2013.

Chang, C.C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and drug Analysis*, v. 10, n. 3, p. 178-182, 2002.

Chávarri, M., Marañón, I., & Villarán, M. C. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. In *Probiotics*. IntechOpen. 2012.

Chen, C. N., Wu, C. L., Shy, H. S., & Lin, J. K. (2003). Cytotoxic Prenylflavanones from Taiwanese Propolis. *Journal of Natural Products*, v. 66, n. 4, p. 503e506.

Cheung, K.W., Sze, D.M.Y., Chan, W.K., Deng, R.X., Tu, W., Chan, G.C.F. Brazilian green propolis and its constituent, Artepillin C inhibits allogeneic activated human CD4 T cells expansion and activation. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 138, p. 463-471, 2011.

Cocato, M. L., Ré, M. I., Trindade Neto, M. A., Chiebao, H. P., & Colli, C. Avaliação por métodos in vitro e in vivo da biodisponibilidade de sulfato ferroso microencapsulado. *Revista de Nutrição*, v. 20, p. 239-247, 2007.

Comunian, T. A., & Favaro-Trindade, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. *Food Hydrocolloids*, v. 61, p. 442-457, 2016.

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.

Correa, F. T., de Souza, A. C., de Souza Júnior, E. A., Isidoro, S. R., Piccoli, R. H., Dias, D. R., de Abreu, L. R. Efeito da própolis verde brasileira sobre micro-organismos contaminantes da superfície de queijo tipo gorgonzola. *Journal of food science and technology*, v. 56, n. 4, p.1978-1987, 2019.

Costa, A. M., Moretti, L. K., Simões, G., Silva, K. A., Calado, V., Tonon, R. V., & Torres, A. G. Microencapsulation of pomegranate (*Punica granatum L.*) seed oil by complex coacervation: Development of a potential functional ingredient for food application. *LWT*, v. 131, p. 109519, 2020.

CSLI, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CSLI approved standard M100, Ed. 33, 2023.

da Cruz Almeida, E. T., da Silva, M. C. D., dos Santos Oliveira, J. M., Kamiya, R. U., dos Santos Arruda, R. E., Vieira, D. A., ... & do Nascimento, T. G. Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract. *Journal of pharmaceutical analysis*, v. 7, n. 5, p. 280-287, 2017.

da Silva, F. C., da Fonseca, C. R., de Alencar, S. M., Thomazini, M., de Carvalho Balieiro, J. C., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioproducts Processing*, v. 91, n. 1, p. 28-36, 2013.

da Silva, T. M., Rodrigues, L. Z., Codevilla, C. F., da Silva, C. B., & de Menezes, C. R. Coacervação complexa: uma técnica para a encapsulação de probióticos. *Ciência e Natura*, v. 37, n. 5, p. 49-55, 2015.

Damodaran, Parkin. KI; Fennema, Or Química de Alimentos de Fennema, 4ª Edição. Editora, Artmed SA, 2010.

de Freitas Santos, P. D., Batista, P. S., Torres, L. C. R., Thomazini, M., De Alencar, S. M., & Favaro-Trindade, C. S. Application of spray drying, spray chilling and the combination of both methods to produce tucumã oil microparticles: characterization, stability, and β -carotene bioaccessibility. *Food Research International*, p. 113174, 2023.

Desai, K. G. H., & Jin Park, H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005

Devequi-Nunes, D., Machado, B. A. S., Barreto, G. A., Rebouçassilva, 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.

di Battista, C.A., Constenla, D., Ramírez-Rigo, M.V., Piña, J. The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technol*, v. 286, p. 193–201, 2015.

Dota, K. F. D., Consolaro, M. E. L., Svidzinski, T. I. E., Bruschi, M. L. Antifungal activity of Brazilian propolis microparticles against yeasts isolated from vulvovaginal candidiasis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. v. 2011, 2011

Duarte, V., Carlot, M., Pakroo, S., Tarrah, A., Lombardi, A., Santiago, H., ... & Giacomini, A. Comparative evaluation of cheese whey microbial composition from four Italian cheese factories by viable counts and 16S rRNA gene amplicon sequencing. *International Dairy Journal*, v. 104, p. 104656, 2020.

Ducel, V., Richard, J., Saulnier, P., Popineau, Y., Boury, F. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. *Colloid and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 232, p. 239-247, 2004.

Duman, M., & Özpolat, E. Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. *Food Chemistry*, v. 189, p. 80-85, 2015.

Edwards, P. B., Creamer, L. K., & Jameson, G. B. Structure and stability of whey proteins. In: M. Boland, H. Singh, A. Thompson (Eds.). *Milkproteins: from expression to food*. New York: Elsevier, p. 163-203. 2009.

El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian and Chinese propolis. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, v. 14, p. 1116-1124, 2014.

Endo, S., Hu, D., Matsunaga, T., Otsuji, Y., El-Kabbani, O., Kandeel, M., Ikari, A., Hara, A., Kitade, Y., Toyooka, N. Synthesis of Non-Prenyl Analogues of Baccharin as Selective and Potent Inhibitors for Aldo-Keto Reductase 1C3. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 22, n. 19, p. 5220–33, 2014.

Fangmeier, M., Lehn, D. N., Maciel, M. J., & Volken de Souza, C. F. Encapsulation of bioactive ingredients by extrusion with vibrating technology: advantages and challenges. *Food and Bioprocess Technology*, v. 12, n. 9, p. 1472-1486, 2019.

Fangmeier, M., Lehn, D. N., Maciel, M. J., & Volken de Souza, C. F. Encapsulation of bioactive ingredients by extrusion with vibrating technology: advantages and challenges. *Food and Bioprocess Technology*, v. 12, n.9, p. 1472-1486, 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.

Felix, P. H. C. Microencapsulação de óleo essencial de canela por atomização com emprego de diferentes materiais de parede. [Dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

Fennema, O. R., damodaran, S., & Parkin, K. L. Introduction to food chemistry. In Fennema's food chemistry. CRC Pres, p. 1-16. 2017.

Fernandes, A. D. S., Fiorillo, J. A., & Aranha, C. P. M. Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de pericarpo de milho vermelho (*Zea mays* L.). *Research, Society and Development*, v. 11, n. 12, p. e561111234750-e561111234750, 2022.

Fernandes, R. V. B., Borges, S. V., Botrel, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, v. 101, p-524-532, 2014

Ferrari, C. C., German, S. P. M., De Aguirre, J. M. Effects of spray-drying conditions on the physicochemical properties of blackberry powder. *Drying Technol.* v. 30, n. 2, p. 154–163, 2011.

Ferreira, I., de Sousa Melo, D., Santos, M. S., Dias, D. R., de Souza, C. O., Favaro-Trindade, C. S., ... & Schwan, R. F. Non-lactic probiotic beverage enriched with microencapsulated red propolis: Microorganism viability, physicochemical characteristics, and sensory perception. *Fermentation*, v. 9, n. 3, p. 234, 2023.

Figueiredo, F., Dias-Souza, M. V., Nascimento, E., Lima, L. R. P. Physicochemical characterization and flavonoid contents of artisanal Brazilian green propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. v. 7, p. 64-68, 2015.

Figueiredo, S.M., Nogueira-Machado, J.A., Almeida, B.M., Abreu, S.R.L., Abreu, J.A.S., Filho, S.A.V., Binda, N.S., Caligorne, R.B. Immunomodulatory properties of green propolis. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic and Immune Drug Discovery*. v. 8, p. 85-94, 2014.

Fischer, G., Paulino, N., Marcucci, M.C., Siedler, B., Munhoz, L.S., Finger, P.F., Vargas, G.D., Hübner, S.O., Vidor, T., Roehe, P.M. Green propolis phenolic compounds act as vaccine

adjuvants, improving humoral and cellulaar responses in mice inoculated with inactivated vaccines. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. v. 105 n. 7, p. 908-913, 2010.

Foglio, M. A., Servat, L., Spindola, H. M., & Rodrigues, R. A. F. Microencapsulação: Uma alternativa promissora para preservação de produtos naturais. *Revista Fitos*, v. 5, n. 2, p. 52-57, 2010.

Fontaniella, B., Rodriguez, C. W., Piñón, D., Vicente, C., & Legaz, M. E. Identification of xanthans isolated from sugarcane juices obtained from scalded plants infected by *Xanthomonas albilineans*. *Journal of Chromatography B*, v. 770, n. 1-2, p. 275-281, 2002.

Fox, P.F. Milk proteins: general and historical aspects. In: FOX, P.F., McSWEENEY. *Advanced dairy chemistry*. New York: Springer, 3 ed., v.1, p. 01-48, 2003.

França, M. Própolis verde mineira conquista mercado internacional: Produzida a partir do alecrim-do-campo, a própolis tem despertado interesse por suas propriedades medicinais. Belo Horizonte, MG, 2019. Disponível em: https://www.emater.mg.gov.br/portal.do/site-noticias/propolis-verde-mineira-conquista-mercado-internacional/?flagweb=novosite_pagina_interna&id=24451

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.

Franchin, M., Freires, I. A., Lazarini, J. G., Nani, B. D., Cunha, M. G., Colón, D. F., 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. 153, p. 49-55, 2018.

Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. Determination of critical storage conditions of coffee oil microcapsules by coupling water sorption isotherms and glass transition temperature. *International journal of food science & technology*, v. 47, n. 5, p. 1044-1054, 2012.

Freire, A. D. L. P., dos Reis Nóbrega, I. V., da Silva, B. R. F., & da Silva Junior, W. F. O colecalciferol modulado a bionanotecnologia: uma inovação na farmacoterapêutica. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 4, p. e17012441091-e17012441091, 2023.

Fujiwara, G. M., Campos, R., Costa, C. K., Dias, J. D. F. G., Miguel, O. G., Miguel, M. D., ... & Zanin, S. M. W. Production and characterization of alginate-starch-chitosan microparticles containing stigmasterol through the external ionic gelation technique. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, p. 537-547, 2013.

Gad, Y. H., Aly, R. O, Abdel-Aal, S. E. Synthesis and characterization of NaAlginate/Acrylamide hydrogel and its application in dye removal. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 120, p. 1899-1906, 2011.

Gaonkar, A., Vasisht, N., Khare, A., Sobel, R. *Microencapsulation in the Food Industry: A practical Implementation Guide*. London: Academic Press, 2014.

George, P., Kasapis, S., Bannikova, A., Mantri, N., Palmer, M., Meurer, B., & Lundin, L. Effect of high hydrostatic pressure on the structural properties and bioactivity of immunoglobulins extracted from whey protein. *Food Hydrocolloids*, v. 32, n. 2, p.286-293, 2013.

Gomes, C. R., Vissoto, F. Z., Fadini, A. L., Faria, E. V., Luiz, A. M. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 3, p. 614-623, 2007.

Gottardo, F. M. *Microencapsulação de óleos essenciais de orégano e canela combinados com ação sobre listeria monocytogenes em produtos de carne*. [Dissertação]. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo. 2021

Guibal, E. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials: a review. *Progress in Polymer Science*, v. 30, n. 1, p. 71-109, 2005.

Gulão, E. D. S., Souza, C. J. F., da Silva, F. A. S., Coimbra, J. S. R., Garcia-Rojas, E. E. Complex coacervates obtained from lactoferrin and gum arabic: Formation and characterization. *Food Research International*, v. 65, p 367- 374, 2014.

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.

- Habibi, A., Keramat, J., Hojjatoleslami, M., & Tamjidi, F. (2017). Preparation of fish oil microcapsules by complex coacervation of gelatin–gum arabic and their utilization for fortification of pomegranate juice. *Journal of Food Process Engineering*, v. 40, n.2, p. e12385.
- Hatano, A., Nonaka, T., Yoshino, M., Ahn, M. R., Tazawa, S., Araki, Y., & Kumazawa, S. Antioxidant activity and phenolic constituents of red propolis from Shandong, China. *Food Science and Technology Research*, v. 18, n. 4, p. 577-584, 2012
- Hatano, A., Nonaka, T., Yoshino, M., Ahn, Mok-Ryeon, Tazawa, S., Araki, Y. Kumazawa, S. Antioxidant Activity and Phenolic Constituents of Red Propolis from Shandong, China. *Food Sci. Technol. Res.*, v. 18, n. 4, p. 577-584, 2012.
- Hodel, K. V. S., Machado, B. A. S., Santos, N. R., Costa, R. G., Menezesfilho, J. A., Umszaguez, 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.
- Islam, A. M., Phillips, G. O., Sljivo, A., Snowden, M. J., & Williams, P. A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids*, v. 11, n. 4, p. 493-505, 1997.
- Jacobs, I. C., Mason, N. S. Polymer delivery systems concepts. In *Polymeric Delivery Systems*, El-Nokaky, M. A., Piatt, D. M., Charpentier, B. A. Eds., American Chemical Society: Washington, p. 1-17, 1993.
- Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O. P., & Shivhare, U. S. (2016). Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. *International journal of biological macromolecules*, v. 87, p. 101-113.
- Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O. P., & Shivhare, U. S. (2015). Microencapsulation by complex coacervation using whey protein isolates and gum acacia: An approach to preserve the functionality and controlled release of β -carotene. *Food and Bioprocess Technology*, v. 8, p. 1635-1644.

Jamekhorshid, A., Sadrameli, S. M., Farid, M. A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) médium. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 31, p. 531–542, 2014.

Janke, P. H., Penna, A. C., Peregrino, C. A., Mársico, E., & Silva, A. C. Microencapsulamento na indústria de lácteos. *Enciclopedia biosfera*, v. 18, n.37, 2021.

Jansen-Alves, C., Fernandes, K. F., Crizel-Cardozo, M. M., Krumreich, F. D., Borges, C. D., Zambiasi, R. C. Microencapsulation of propolis in protein matrix using spray drying for application in food systems. *Food and Bioprocess Technology*, v. 11, n. 7, p. 1422-1436, 2018.

Jato, J. L. S. *Tecnología Farmacéutica*. 1. ed. Madri, Espanha: Sintesis Editorial, 2001.

Kakino, M., Izuta, H., Tsuruma, K., Araki, Y., Shimazawa, M., Ichihara, K., & Hara, H. Laxative effects and mechanism of action of Brazilian green propolis. *BMC complementary and alternative medicine*, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2012.

Kameyama, O., Júnior, J. A., de Assis Teixeira, J. M., de Andrade, N. J., Minin, V. P. R., & dos Santos Soares, L. Extrato de própolis na sanitização e conservação de cenoura minimamente processada. *Revista Ceres*, v. 55, n. 3, p. 218-223, 2008.

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.

Kasiotis, K. M., Anastasiadou, P., Papadopoulos, A., Machera, K. Revisiting Greek propolis: chromatographic analysis and antioxidant activity study. *PloS one*, v. 12, n. 1, p. e0170077, 2017

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, 2015a.

Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of functional foods*, v. 19, p. 868-881, 2015b.

Kędzia, B. Pochodzenie propolisu w świetle teorii i badań naukowych. A origem da própolis nas teorias e pesquisas científicas. *Herba Pol.* V. 54, p. 179–186, 2008.

Kha, T. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, London, v. 98, p. 385-392, 2010.

Ko, S., Wang, X., Zhao, Y., Dai, C., Lu, Y. T., Deng, G., Paudyal, S., Mateen, S., Kan, A.T., Tomson, M.B. Prevention of Mineral Scale Deposition Using Dispersants and Inhibitors. *Soc Petrol Eng SPE Int Oilf Scale Conf Exhib OSS*, 2020.

Koç, M., Baysan, U., Devseren, E., Okut, D., Atak, Z., Karatas, H., et al. Effects of different cooking methods on the chemical and physical properties of carrots and green peas. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 42, p. 109–119, 2017.

Koç, M., Güngör, Ö., Zungur, A., Yalçın, B., Selek, İ., Ertekin, F. K., & Ötles, S. Microencapsulation of extra virgin olive oil by spray drying: effect of wall materials composition, process conditions, and emulsification method. *Food and Bioprocess Technology*, v. 8, n. 2, p. 301-318, 2015.

Kruif, C.G., Tuinier, R. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloid*. Oxford, v 15, n 4-6, p.555-563, 2001.

Kuley, E., Kuscu, M. M, Durmus, M., & Ucar, Y. Inhibitory activity of Co-microencapsulation of cell free supernatant from *Lactobacillus plantarum* with propolis extracts towards fish spoilage bacteria. *LWT*, 146, 111433, 2021.

Leimann, F. V. Microencapsulação de óleo essencial de capim-limão, utilizando o processo de coacervação simples. [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

Lima, L. S. C. Extrato de própolis de abelhas africanizadas microencapsulado em soro de leite como agente antioxidante em manteiga [tese]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2021.

Lima, T. M. D. C. Obtenção de microcápsulas de extrato de própolis vermelha por coacervação complexa e atomização por pulverização (Spray Dryer) [dissertação]. Salvador: Centro Universitário SENAI CIMATEC, 2020.

Lis, B., Woźniak, M., Krystofiak, T., & Ratajczak, I. A. (2020). Effect of accelerated aging on the color changes of wood treated with eco-friendly formulations based on propolis and silicon compounds. *BioResources*, v. 15, n. 2, p. 3667-3677, 2020..

Liu, S., Cao, Y.L., Ghosh, S., Rousseau, D., Low, N.H., & Nickerson, M.T. Intermolecular interactions during complex coacervation of pea protein isolate and gum Arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 1, p. 552–556, 2009.

Liu, S., Low, N.H., & Nickerson, M.T. Effect of pH, salt and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate–gum Arabic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 1521–1526, 2009a.

Liu, S., Low, N.H., & Nickerson, M.T. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate – gum Arabic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n.4, p. 1521–1526, 2009b.

Liu, W., Wang, J., McClements, D. J., & Zou, L. Encapsulation of β -carotene-loaded oil droplets in caseinate/alginate microparticles: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. *Journal of functional foods*, v. 40, p. 527-535, 2018.

Ly, M. H, Aguedoc M, Goudota S, Lea M. L, Cayotd P, Teixeira J. A, Leb T. M, Belina J-M, Wache Y. Interactions between bacterial surfaces and milk proteins, impact on food emulsions stability. *Food Hydrocoll*, v. 22, p. 742–751, 2008.

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.

- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science & technology*, v. 41, n. 1, p. 1-21, 2006.
- Marcucci, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, v.26, p.83-99, 1995.
- Maroof, K., Lee, R. F., Siow, L. F., & Gan, S. H. Microencapsulation of propolis by spray drying: A review. *Drying Technology*, v. 40, n. 6, p. 1083-1102, 2022.
- Martini, D., Barbosa, G. F., Matias, R., Marques Filho, W. C., Garcia, N. Z. T. Seasonality on the antifungal potential of green propolis collected in Campo Grande - MS, Brazil. *Cienc. Rural, Santa Maria*, v. 47, n. 3, p.1-6, 2017.
- 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 Martini, D., Barbosa, G. F., Matias, R., Marques Filho, W. C., Garcia, N. Z. T. Seasonality on the antifungal potential of green propolis collected in Campo Grande - MS, Brazil. *Cienc. Rural, Santa Maria*, v. 47, n. 3, p.1-6, 2017.
- Martins, I. M. D. Microencapsulation of thyme oil by coacervation: production, characterization and release evaluation [dissertation]. Porto: Universidade do Porto, 2012.
- Martins, P. M. M., Batista, N. N., Santos, L. D., Dias, D. R., Schwan, R. F. Microencapsulation by spray drying of coffee epiphytic yeasts *Saccharomyces Cerevisiae* CCMA 0543 and *Torulaspota Delbrueckii* CCMA 0684. *Braz. J. Microbiol.* v. 53, p. 1565–1576, 2022.
- Maruyama, H., Sumttou, Y., Sakamoto, T., Araki, Y., Hara, H. Antihypertensive effects of flavonoids isolated from Brazilian green propolis in spontaneously hypertensive rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. v. 32, n. 7, p. 1244- 1250, 2009.
- Matalanis, A., Jones, O. G., & McClements, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food hydrocolloids*, v. 25, n. 8, p. 1865-1880, 2011.

- Meena, K. K., Taneja, N. K., Ojha, A., & Meena, S. Application of spray-drying and freeze-drying for microencapsulation of lactic acid bacteria: A review. *Annals of Phytomedicine*, v. 12, n. 1, p. 706-716, 2023.
- Mehyar, G. F., Al-Isamil, K. M., Al-Ghizzawi, H. A. M., & Holley, R. A.. Stability of cardamon (*elettaria cardamomum*) essential oil in microcapsules made of whey protein isolate, guar gum, and carragean. *Journal of Food Science*, v. 79, 2014.
- Mendonça, K., Jacomino, Â. P., Melhem, T. X., & Kluge, R. A. Concentração de etileno e tempo de exposição para desenverdecimento de “limão siciliano”. *Brazillian Journal os food Technology*, v.6, n.2, p.179- 183, 2003.
- 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.
- Menezes, C. R., Barin, J. S., Cichoski, A. J., Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E., Fries, L. L. M., Terra, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. *Ciência Rural, Santa Maria*, v.43, n.7, p.1309-1316, 2013.
- Mirzaei, H., Pourjafar, H., Homayouni, A. Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. *Food Chemistry*, v.132, p.1966-1970, 2012.
- Misra, S., Pandey, P., Panigrahi, C., & Mishra, H. N. A comparative approach on the spray and freeze drying of probiotic and Gamma-aminobutyric acid as a single entity: Characterization and evaluation of stability in simulated gastrointestinal conditions. *Food Chemistry Advances*, v. 3, p. 100385, 2023.
- Modler, H. W. Milk processing. *Food proteins: processing applications*. Canada: Wiley-VCH, p. 1-88, 2000.
- Morr, C.V. & Foegeding, E.A. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates. *Food Technol.* v. 44, n. 4, p. 100, 102–104, 166, 108, 110, 112, 1990.

Mortazavian, A. M., Azizi, A., Ehsani, M. R., Razavi, S. H., Mousavi, S. M., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. A. Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Milchwissenschaft*, v. 63, n. 4, p. 427, 2008.

Nani, B. D., Sardi, J. D. C. O., Lazarini, J. G., Silva, D. R., Massariolli, A. P., Cunha, T. M., ... & Rosalen, P. L. 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*, v. 68, n. 10, p. 2861-2871, 2019

Nascimento, E. A., Chang, R., Morais, S. A., Sérgio A. L., Piló-Veloso, D., Reis, D. C. Um marcador químico de fácil detecção para a própolis de Alecrim-do-Campo (*Baccharis dracunculifolia*). *Revista Brasileira de farmacognosia*, v. 17, n. 3, 2008, p. 379-386, 2008.

Nascimento, R. C. A. D. M., Magalhães, J., Pereira, E., & Amorim, L. V. Degradação térmica de fluidos de perfuração argilosos aditivados com polímeros e lubrificantes. *Matéria (Rio de Janeiro)*, v. 18, p. 1329-1339, 2013.

Nascimento, T. G., Redondo, G. D., de Araujo Abreu, C. T., Silva, V. C., Lira, G. M., Meireles Grillo, L. A., ... & Basilio-Junior, I. D. Microcápsulas de liberação modificada carregadas com extrato de própolis vermelha obtido pela técnica de spray-dryer. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 138, n. 5, p. 3559-3569, 2019.

Ngatu, N. R., Saruta, T., Hirota, R., Eitoku, M., Muzembo, B. A., Matsui, T., Nangana, L. S., Mbenza, M.A., Kumagai, N., Suganuma, N. Antifungal efficacy of Brazilian green propolis extracts and honey on *Tinea capitis* and *Tinea versicolor*. *European Journal of Integrative Medicine*. v. 3, p. 281-287, 2011.

Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., De Alencar, S. M., Thomazini, M., De Camargo Balieiro, J. 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.

Nunes, C. A., Guerreiro M. Characterization of Brazilian green propolis throughout the seasons by headspace CG/MS and ESI-MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 93, p. 433-438, 2012.

Oldoni, T. L. C., Cabral, I.S.R., Reginato D'arce, M. A. B., Rosalen, P. L., Ikegaki, M., Nascimento, A. M., Alencar, S. M. Isolation and analysis of bioactive isoflavoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. *Separation and Purification Technology*, Amsterdam, v. 77, p. 208-213, 2011.

Oliveira, A. P., França, H. S., Kuster, R. M., Teixeira, L. A., Rocha, L. M. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis essential oil. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. v. 16, n. 1, p. 121-130, 2010.

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.

Onbas, R., Kazan, A., Nalbantsoy, A., & Yesil-Celiktas, O. Cytotoxic and nitric oxide inhibition activities of propolis extract along with microencapsulation by complex coacervation. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 71, n. 3, p. 286-293, 2016.

Pant, K., Thakur, M., Chopra, H. K., & Nanda, V. Encapsulated bee propolis powder: Drying process optimization and physicochemical characterization. *LWT*, v. 155, p. 112956, 2022.

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.

Parolia, A., Thomas, M. S., Kundabala, M., Mohan, M. Propolis and its potential uses in oral health. *International Journal of Medicine and Medical Science*, v. 2, n. 7, p. 210-215, 2010.

Paula, L. A. De L., Santos, M. F. C., Pagotti, M. C., Faleiros, R., Ramos, H. P., Veneziani, R. C., Bastos, J. K., Caffrey, C. R., Ambrósio, S. R., Magalhães, L. G. Uncovering Biological Application of Brazilian Green Propolis: A Phenotypic Screening against *Schistosoma Mansoni*. *Chemistry & Biodiversity*, v. 17, p.1-12, 2020.

Pazin, W. M., Mênaco, 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.

Penim, D. F. L. (2015). Microencapsulação de própolis em matrizes de polissacáridos e estudos de liberação controlada. [dissertation]. Lisboa: Universidade de Lisboa, 2015.

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.

Peter, C. M., Waller, S.B., Picoli, T., Osório, L.G., Zani, J.L., Meireles, M.C.A., Faria, R.O., Mell, J.R.B., Hubner, S.O., Lima, M., Fischer, G. Chemical and cytotoxic analyses of three varieties of brazilian propolis (Green Propolis, Jataí Propolis and Brown Propolis) and its *Anti-Sporothrix brasiliensis* in vitro activity. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 71, n. 3, p. 819-827, 2019.

Pilizota, V., Subaric, D., Lovric, T. Rheological properties of CMC dispersions at low temperatures. *Food Technology and Biotechnology*, v. 34, n.2-3, p.87-90, 1996.

Pires, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., & Pereira, C. D. Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey. *Foods*, v. 10, n. 5, p. 1067, 2021.

Pires, L. D. O. Isolamento, caracterização e avaliação da atividade antiparasitária (*Trypanosoma cruzi*) de derivados prenilados da própolis verde [dissertação]. Seropédica: Universidade federal Rural do Rio de Janeiro, 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.

Poppi, F. A, Costa MR, Rensis CMVB, Sivieri K. Soro de leite e suas proteínas: composição e atividade funcional. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*. v. 12, n. 2, p. 31-7, 2010.

Quintanilha, Ronaldo Cestari. A utilização de goma arábica como agente estabilizante de nanocompósitos de poli (anilina) [tTese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2015.

Quirino, D. J. G. Estudo do extrato de própolis vermelha do Brasil e sua incorporação em leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) residuais. [dissertation]. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2021.

Rabello, F. De F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios - Revisão. *Revista Agrogeoambiental*, p. 134–144, 2009.

Raimondo, R. F., Miyashiro, S. I., Mori, C. S., & Birgel Junior, E. H. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, p. 119-125, 2013.

Ray, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience*, v. 13, p. 76-83, 2016.

Redondo, G. D. P. Desenvolvimento, caracterização e estudos de dissolução de microencapsulados poliméricos de liberação controlada de extrato de própolis vermelha obtidos através da técnica de secagem Spray Drying [dissertação]. Maceió: Universidade Federal de Alagoas, 2018.

Ribeiro, E. P., Seravalli, E. A. G. *Química de alimentos*. rev. São Paulo, SP: Instituto Mauá de Tecnologia, Blucher, 2007.

Rodrigues, D. M., Souza, M. C., Arruda, C., Pereira, R. A. S., Bastos, J. K. The role of *Baccharis dracunculifolia* and its chemical profile on green propolis production by *Apis mellifera*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 46, n. 2, p. 150- 62, 2020.

Rosa, J. G. Aglomeração de goma arábica em leite fluidizado: análise dos parâmetros do processo e da viabilidade de utilização de inulina como ligante. Tese (Doutorado) – UNICAMP, Campinas, SP: [s.n.], 2019.

Rufino, M, Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérezjiménez, J., Saura-Calixto, F. D. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas

pelo método de redução do ferro (FRAP), Comunicado Técnico 125 - Embrapa Agroindústria Tropical, Ceará, Fortaleza, 2006.

Rutz, J. K., Borges, C. D., Zambiazzi, R. C., Crizel-Cardozo, M. M., Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. *Food Chemistry*, v. 220, p. 59-66, 2017.

Sá, S. H. G., Mazzocato, M. C., Saliba, A. S. M., Alencar, S. M., & Favaro-Trindade, C. S. Evaluation of the release, stability and antioxidant activity of Brazilian red propolis extract encapsulated by spray-drying, spray-chilling and using the combination of both techniques. *Food Research International*, v. 164, p. 112423, 2023.

Sabir, A., & Sumidarti, A. Interleukin-6 expression on inflamed rat dental pulp tissue after capped with *Trigona* sp. propolis from south Sulawesi, Indonesia. *Saudi journal of biological sciences*, v. 24, n. 5, p. 1034-1037, 2017.

Safaei, M., & Roosta Azad, R. (2020). Preparation and characterization of poly-lactic acid based films containing propolis ethanolic extract to be used in dry meat sausage packaging. *Journal of Food Science and Technology*, v. 57, p. 1242-1250.

Saikia, S., Mahnot, N. K., & Mahanta, C. L. (2015). Effect of spray drying of four fruit juices on physicochemical, phytochemical and antioxidant properties. *Journal of food processing and preservation*, v. 39 n. 6, p. 1656-1664, 2015.

Santana, A. A. Obtenção da polpa de pequi e do leite de coco de babaçu microencapsulados através da secagem por aspersão [tese]. Campinas: UNICAMP, 2013.

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, biologicalactivities, and veterinary product patent prospecting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 2019, p. 1-14, 2019.

Santos, M. B., de Carvalho, M. G., & Garcia-Rojas, E. E. (2021). Carboxymethyl tara gum-lactoferrin complex coacervates as carriers for vitamin D3: Encapsulation and controlled release. *Food Hydrocolloids*, v. 112, p. 106347.

Sawicka, D., Car, H., Borawska, M. H., Nikliński, J. The anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, v. 50, n. 1, p. 25-37, 2012.

Schmitt, C., & Turgeon, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 167, p. 63-70, 2011.

Schmitt, C., Sanches, C., Desobry-Banon, S., Hardy, J. Structure and techno functional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, v. 38, n. 8, p. 689-753, 1998.

Schmitt, C.; Turgeon, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 167, p. 63-70, 2011.

Sen, G., Singh, R. P., Pal, S. Microwave-initiated synthesis of polyacrylamide grafted sodium alginate: Synthesis and Characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 115, p. 63-71, 2010.

Setiowati, A. D., Wijaya, W., & Van der Meeren, P. Whey protein-polysaccharide conjugates obtained via dry heat treatment to improve the heat stability of whey protein stabilized emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, v. 98, p. 150-161, 2020.

Sforcin, J. M. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy research*, v. 30, n.6, p. 894-905, 2016.

Sforcin, J. M., Bankova, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of ethnopharmacology*, v. 133, n.2, p. 253-260, 2011.

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.

Shahidi, F., & Han, X. Q. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

Silva, M. P. Desenvolvimento e caracterização de chocolate meio amargo contendo micro-organismos probióticos na forma livre e encapsulada [Tese]. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2016.

Silva, P. T. D., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. D., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., ... & Silva, C. D. B. D. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, v. 44, p. 1304-1311, 2014.

Silva, P. T. D., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. D., Silva, C. D. B. D., Soriani, H. H., Bastos, J. D. O., ... & Ribeiro, R. F. Microencapsulação de probióticos por spray drying: avaliação da sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas e da viabilidade sob diferentes temperaturas de armazenamento. *Ciência Rural*, v. 45, p. 1342-1347, 2015.

Silva, R. A. D., Rodrigues, A. E., Ribeiro, M. C. M., Custódio, Â. R., Andrade, N. E. D., & Pereira, W. E. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. *Ciência Rural*, v. 36, p. 1842-1848, 2006.

Silva, T. M. D., Barin, J. S., Lopes, E. J., Cichoski, A. J., Flores, E. M. D. M., Silva, C. D. B. D., & Menezes, C. R. D. Development, characterization and viability study of probiotic microcapsules produced by complex coacervation followed by freeze-drying. *Ciência Rural*, p. 49, 2019.

Silva, V. D. M., Ribeiro, L. V., Uliana, M. R., Kinoshita, A., Martins, G. B., Pretto, A., ... & Moura, S. C. S. R. D. Emprego da técnica de gelificação iônica na microencapsulação dos bioativos do extrato da erva-mate (*ilex paraguariensis*): aplicação das micropartículas em alimentos. *Open science research ix*, v. 9, n. 1, p. 109-123, 2022.

Simeoni, C. P., Etchepare, M. D. A., Menezes, C. D., Fries, L., Menezes, M., & Stefanello, F. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 18, p. 66-75, 2014.

Simões, M. L., Silva, Á. A. P., Pombo, AFW, Perrone, Í. T., & Stephani, R. Desenvolvimento de modelos matemáticos para determinação do extrato seco total do soro. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, v. 11, n. 7, p. e54311729993-e54311729993, 2022.

Sinha, R.; Radha, C; Prakash, J.; Kaul, P. Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry, Oxford*, v. 101, n. 4, p. 1484-1491, 2007.

Sinha, V. R., Kumria, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 18, n. 1, p. 3-18, 2003.

Souza, C. J. F., Garcia-Rojas, E. E. Effects of salt and protein concentrations on the association and dissociation of ovalbumin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, v. 47, p. 124–129, 2015.

Souza, C. J.F., Rojas, E. E. G., Melo, N. R. G., Lins, J.F.C. Complex coacervates obtained from interaction egg yolk lipoprotein and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, v. 30, p. 375-381, 2013.

Souza, V. B. Extração e encapsulação por coacervação complexa das proantocianidinas da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) [tese]. Pirassununga:Universidade de São Paulo, 2016.

Šturm, L., Črnivec, I. G. O., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., ... & Ulrih, N. P. Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioproducts Processing*, v. 116, p. 196-211, 2019.

Su, X., Toublan, F., Yin, Y., & Cadwallader, K. R. Fats and waxes in microencapsulation of food ingredients. In *Microencapsulation in the Food Industry*. Academic Press, p. 325-342, 2023.

Suave, J., Dall’Agnol, E. C., Pezzin, A. P. T., Silva, D. A. K., Meier, M. M., & Soldi, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal*, v. 7, n. 2, p.12-20, 2006..

Sukri, N., Putri, T. T. M., Mahani, & Nurhadi, B. (2023). Characteristics of propolis encapsulated with gelatin and sodium alginate by complex coacervation method. *International Journal of Food Properties*, v. 26, n. 1, p. 696-707, 2023..

Sun, C., Wang, C., Xiong, Z., & Fang, Y. Properties of binary complexes of whey protein fibril and gum arabic and their functions of stabilizing emulsions and simulating mayonnaise. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 68, p. 102609, 2021.

Sung, S. H., Choi, G. H., Lee, N. W., Shin, B. C. External use of propolis for oral, skin, and genital diseases: a systematic review and meta-analysis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, 2017.

Tan, S. P., Tuyen, C. K., Parks, S. E., Stathopoulos, C. E., & Roach, P. D. (2015). Effects of the spray-drying temperatures on the physicochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder. *Powder Technology*, v. 281, p. 65-75, 2015.

Tavares, L., & Noreña, C. P. Z. Encapsulation of ginger essential oil using complex coacervation method: Coacervate formation, rheological property, and physicochemical characterization. *Food and Bioprocess Technology*, v. 13, n. 8, p. 1405-1420, 2020.

Tavares, L., Barros, H. L. B., Vaghetti, J. C. P., & Noreña, C. P. Z. Microencapsulation of garlic extract by complex coacervation using whey protein isolate/chitosan and gum arabic/chitosan as wall materials: Influence of anionic biopolymers on the physicochemical and structural properties of microparticles. *Food and Bioprocess Technology*, v. 12, n.12, p.2093-2106, 2019.

Teijón, J. M., Garrido, P. A., Blanco, G. M. D. *Bioquímica estructural: conceptos y tests*. Tebar. España, 2004.

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.

Thakur, D., Jain, A., Ghoshal, G., Shivhare, U. S., & Katare, O. P. Microencapsulation of β -carotene based on casein/guar gum blend using zeta potential-yield stress phenomenon: An approach to enhance photo-stability and retention of functionality. *Aaps Pharmscitech*, v. 18, p. 1447-1459, 2017.

Thies, C. *How to make microcapsules. Lecture and Laboratory Manual*. St. Louis. Missouri. 1995.

Tomazzoli, M. M., Zeggio, A. R. S., Pai Neto, R., Specht, L., Costa, C., Rocha, M., Yunes, R. A., Maraschin, M. Botanical source investigation and 20 evaluation of the effect of seasonality on Brazilian propolis from *Apis mellifera* L. *Sci. Agric.* v. 77, n. 6, 2020, p. 1-8, 2020.

Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., Park, Y. K. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, v. 2013, 2013.

Tosoni, S. F., Rodrigues, C. V. Características físico-químicas e antioxidantes de própolis microencapsulada com diferentes tipos de materiais encapsulantes. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal de Paraná, 2013.

Urushisaki, T., Takemura, T., Tazawa, S., Fukuoka, M., Hosokawamoto, J., Araki, Y., Kuwata, K. Caffeoylquinic acids are major constituents with potente anti-influenza effects in Brazilian green propolis waater extract. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2011.

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.

Vardanega, R., Muzio, A. F. V., Silva, E. K., Prata, A. S., Meireles, M. A. A. Obtaining Functional Powder Tea from Brazilian Ginseng Roots: Effects of Freeze and Spray Drying Processes on Chemical and Nutritional Quality, Morphological and Redispersion Properties. Food Res. Int. v. 116, p. 932–941, 2019

Veiga, R. S., De Mendonça, S., Mendes, P. B., Paulino, N., Mimica, M. J., Lagareiro Netto, A. A., 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, n.4, p. 911-920, 2017.

Verbeken, D., Dierckx, S., & Dewettinck, K. Exudate gums: occurrence, production, and applications. Applied microbiology and biotechnology, v. 63, -p 10-21, 2003.

Vidal, M. D. F. Potencial da produção de própolis no Nordeste. Caderno Setorial ETENE, n. 153, 2021.

Vladić, J., Nastić, N., Janković, T., Šavikin, K., Menković, N. Raeseri Extract Using Spray Drying with Maltodextrin and Whey Protein. v. 66, n. 2, p. 229–238, 2022.

Wandrey, C., Bartkowiak, A., & Harding, S. E. Materials for encapsulation. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing, p. 31-100, 2010.

- Whistler, R. L. & Bemiller, J. N. Exudate gums. In: Industrial gums. Academic Press, p. 309-339, 1993.
- Willer, D., & Aldridge, D.C. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture. *Royal Society Open Science*, v. 4, n. 11, p. 1-10, 2017.
- Woisky, R. G., & Salatino, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.
- Wong, D. W., Camirand, W. M., Pavlath, A. E., Parris, N., & Friedman, M. Structures and functionalities of milk proteins. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, v. 36, n. 8, p. 807-844, 1996.
- Wyspiańska, D., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Kolniak-Ostek, J. Effect of microencapsulation on concentration of isoflavones during simulated in vitro digestion of isotonic drink. *Food Science & Nutrition*, v. 7, n. 2, p. 805-816, 2019..
- Yao Lh, Jiang Ym, Shi J, Tomás-Barberán Fa, Datta N, R. S, Chen Ss. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr* , v. 59, p. 113–122, 2004.
- Yeo, Y., Bellas, E., Firestona, W., Languer, R., Kohane, D. S. Complex Coacervates for Thermally Sensitive Controlled Release of Flavor Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 53, p. 7518-7525, 2005.
- Yumnam, R., Nandan, N., Kumar, N. C., Raj, S., & Mannepalli, A. Effect of propolis in oral health. *Journal of Ayurveda and Integrated Medical Sciences*, v. 2, n. 1, p. 186-192, 2017.
- Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., Lobaccaro, J. M. A. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*, v. 207, p. 214-222, 2017.
- Zang, T., Verma, K., Chen, M., Jin, Y., Trippier, P.C., Penning, T. M. Screening baccharin analogs as selective inhibitors against type 5 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3). *Chemico-Biological Interactions*, v. 23, p. 339- 348, 2015.
- 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.

Zhang, J., Hassane Hamadou, A., Chen, C., & Xu, B.. Encapsulation of phenolic compounds within food-grade carriers and delivery systems by pH-driven method: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 63, n. 19, p. 4153-4174, 2023.

Zhang, K., Zhang, H., Hu, X., Bao, S., Huang, H. Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.89, p.61-66, 2012.

Zhang, L. Y., Zhang, X. H., Abbas, S., Karangwa, E. The study of pH dependent complexation between gelatin and gum arabic by morphology evolution and Conformational Transition. *Food Hydrocolloids*, v.30, p.323-332, 2013.

Zhang, L., Zhou, R., Zhang, J., & Zhou, P. Heat-induced denaturation and bioactivity changes of whey proteins. *International Dairy Journal*, v. 123, p. 105175, 2021

Zhao, R., Hu, J., Yan, T., Guo, H., Deng, Y., Li, Y., ... & Liu, D. (2022). Whey protein isolate/ flavor cinnamaldehyde conjugates prepared by different methods and the stabilization effects on β -carotene-loaded emulsions. *LWT*, v. 169, p. 114007.

Zheng, Y. Z., Deng, G., Liang, Q., Chen, D. F., Guo, R., Lai, R. C. Antioxidant activity of quercetin and its glucosides from propolis: A theoretical study. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.