

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

Ana Luíza Santos Vieira

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL A BASE DE
AMIDO DE SORGO COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE,
MARROM E PRETA**

Belo Horizonte

2024

Ana Luíza Santos Vieira

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL A BASE DE
AMIDO DE SORGO COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE,
MARROM E PRETA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa Dr^a Raquel Linhares Bello de Araújo

Coorientadora: Profa Dr^a Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia

Belo Horizonte

2024

V658d	Vieira, Ana Luíza Santos. Desenvolvimento e caracterização de hidrogel a base de amido de sorgo com adição de extratos de própolis verde, marrom e preta [recurso eletrônico] / Ana Luíza Santos Vieira. – 2024. 1 recurso eletrônico (181 f. : il.) : pdf Orientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo. Coorientadora: Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader. 1. Hidrogéis – Teses. 2. Sorghum – Teses. 3. Propole – Teses. 4. Antioxidantes – Teses. 5. Polifenóis – Teses. 6. Bioacessibilidade – Teses. 7. Espectrometria de massas – Teses. 8. Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE) – Teses. I. Araújo, Raquel Linhares Bello de. II. Garcia, Maria Aparecida Vieira Teixeira. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título. CDD:664.07
-------	---



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL A BASE DE AMIDO DE SORGO COM ADIÇÃO DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE, MARROM E PRETA**ANA LUÍZA SANTOS VIEIRA**

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Doutora em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 30 de agosto de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo (Orientadora e Presidente da Comissão) - UFMG

Profa. Dra. Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia (Coorientadora) - UFMG

Profa. Dra. Rachel Oliveira Castilho - UFMG

Prof. Dr. Gilberto Simeone Henriques - UFMG

Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia - CEFET/MG

Profa. Dra. Valéria Aparecida Vieira Queiroz - EMBRAPA

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por Valéria Aparecida Vieira Queiroz, Usuária Externa, em 30/08/2024, às 15:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Gilberto Simeone Henriques, Chefe de departamento, em 30/08/2024, às 15:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Rachel Oliveira Castilho, Professora do Magistério Superior, em 30/08/2024, às 16:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Raquel Linhares Bello de Araujo, Professora do Magistério Superior, em 30/08/2024, às 22:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Cleverson Fernando Garcia, Usuário Externo, em 02/09/2024, às 12:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia, Professora do Magistério Superior, em 03/09/2024, às 11:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Maria das Graças e Matusalém
Vieira, a quem devo tudo que sou e conquistei até aqui!

AGRADECIMENTOS

Chegar até aqui, não foi por acaso! Se uma folha não cai de uma árvore se não for da vontade de Deus, então agradeço a Ele por ter me permitido vivenciar e concluir essa jornada!

Agradeço à minha família, principalmente aos meus pais, Maria das Graças e Matusalém Vieira, por terem permitido que eu pudesse estudar e me ensinado os valores que me ajudaram a ser quem eu sou. Devo tudo a eles!

Ao meu companheiro Flávio, pelo apoio emocional, por me escutar, me aconselhar, enfim, por ser o meu porto seguro em todos os momentos da minha vida.

Amigos são a família que escolhemos, então agradeço à minha segunda família, aquela de alma e de coração, Sônia, Cida, Guilherme, Paulo, Amayi, Tacio e tantos outros que de alguma forma, fizeram parte da minha vida.

Agradeço aos amigos que fiz durante a pós-graduação, em especial, Nayana, Taynan, Vinícius, Layla, Gebryelle, Isabella, Marinez, Edna, que me ajudaram tanto, estando ao meu lado comemorando as conquistas e apoiando nos momentos difíceis.

Ao grupo de pesquisa de Bromatologia, pelo aprendizado, troca de ideias e experiências. Aos técnicos de laboratório do Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia, em especial, Maju, Gabriel, Dhionne, Ronália, Igor e também aos professores, por me ajudarem a realizar todas as análises necessárias para a realização deste trabalho de pesquisa.

Às minhas queridas professoras orientadoras, Maria Aparecida e Raquel Linhares, pela oportunidade que me foi concedida e por terem me apoiado, acompanhado, escutado, auxiliado, durante esses quatro anos de doutorado.

Aos professores Júlio Onésio, Ana Cardoso Clemente, Washington Azevedo, Camila Argenta Fante e Cleverson Garcia, pela utilização de equipamentos, disponibilização dos laboratórios para as análises bem como parcerias.

À Embrapa Milho e Sorgo, em especial à Valéria Aparecida Vieira Queiroz, pelo fornecimento dos grãos de sorgo.

À CAPES, pelo apoio financeiro. Ao Departamento de Alimentos e à Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade de realização do trabalho.

Obrigada a todos que fizeram parte dessa jornada!

“É justo que muito custe o que muito vale”

Santa Teresa D’Ávila

RESUMO GERAL

Hidrogel é uma rede tridimensional formada por polímeros naturais ou sintéticos, ou uma mistura de ambos, capazes de reter uma grande quantidade de água, sem que ocorra a sua desintegração. A busca pela utilização de polímeros biodegradáveis e não tóxicos direciona as pesquisas para o desenvolvimento de hidrogéis que causem mínimo impacto ao meio ambiente, podendo ser utilizado como matriz polimérica para incorporação de fontes de substâncias bioativas, promovendo a proteção dessas, durante o processo de digestão gastrointestinal. Neste contexto, tem-se a própolis, que apresenta uma composição química complexa e dependente das fontes botânicas disponíveis na região geográfica de coleta das abelhas (*Apis mellifera*), rica principalmente em polifenóis, que apresentam ação antioxidante no organismo. O objetivo desse trabalho foi desenvolver hidrogéis bioativos à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (0 a 10%), por método de gelatinização por aquecimento, reticulados fisicamente por 5 ciclos de congelamento-descongelamento. A formulação que apresentou os melhores parâmetros, foi selecionada para ser incorporada dos extratos de própolis verde, marrom e preta, para posterior análise de bioacessibilidade das substâncias bioativas presentes nesses extratos. As formulações de hidrogel antes e após a incorporação dos extratos de própolis, foram caracterizadas quanto aos aspectos visuais, comportamento em presença de água, pH, perfil de textura, características químicas e morfológicas. Os extratos de própolis verde, marrom e preta, foram analisados quanto à sua capacidade antioxidante por três métodos distintos: ABTS, FRAP e DPPH e seus perfis químicos foram determinados por espectrometria de massas por *paper spray*. Foi estudado também o perfil de fenólicos, dos extratos brutos de própolis, bem como suas frações bioacessíveis, com e sem a incorporação no hidrogel por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência. A caracterização dos hidrogéis demonstrou a formação de géis firmes, coesos, com boa integridade e elevada resistência. Os três tipos de própolis demonstraram capacidade antioxidante significativa, sendo a verde a que exibiu a maior capacidade antioxidante para os três métodos utilizados. Pela técnica de espectrometria de massas por *paper spray*, foi possível sugerir a presença de um total de 116 substâncias nos três tipos de própolis. A avaliação do perfil de compostos fenólicos por cromatografia líquida de ultra eficiência dos extratos de própolis verde, preta e marrom, demonstrou a diversidade dos polifenóis presentes nos três tipos de própolis. A identificação do ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido ferúlico nas frações bioacessíveis dos extratos de própolis incorporados ao hidrogel, comprovou a ação protetora promovida pelo hidrogel, durante o processo de digestão *in vitro*, demonstrando ser uma matriz polimérica eficiente, para incorporação e proteção de substâncias bioativas.

Palavras-chave: gel polimérico; *Sorghum bicolor* (L.) Moench; substância apícola; polifenóis; bioacessibilidade.

ABSTRACT

Hydrogel is a three-dimensional network formed by natural or synthetic polymers, or a mixture of both, capable of retaining a large amount of water, without its disintegration. The search for the use of biodegradable and non-toxic polymers directs research towards the development of hydrogels that cause minimal impact on the environment, which can be used as a polymeric matrix for the incorporation of sources of bioactive substances, promoting their protection during the gastrointestinal digestion process. In this context, there is propolis, which has a complex chemical composition and depends on the botanical sources available in the geographic region where bees are collected (*Apis mellifera*), rich mainly in polyphenols, which have antioxidant action in the body. The objective of this work was to develop bioactive hydrogels based on sorghum starch, chitosan and different proportions of citric acid (0 to 10%), by heating gelatinization method, physically cross-linked by 5 freeze-thaw cycles. The formulation that presented the best parameters was selected to be incorporated from green, brown and black propolis extracts, for later analysis of the bioaccessibility of the bioactive substances present in these extracts. The hydrogel formulations before and after the incorporation of propolis extracts were characterized regarding visual aspects, behavior in the presence of water, pH, texture profile, chemical and morphological characteristics. The green, brown and black propolis extracts were analyzed for their antioxidant capacity by three different methods: ABTS, FRAP and DPPH and their chemical profiles were determined by paper spray mass spectrometry. The phenolic profile of the crude propolis extracts, as well as their bioaccessible fractions, with and without incorporation into the hydrogel, was also studied by Ultra Performance Liquid Chromatography. The characterization of the hydrogels demonstrated the formation of firm, cohesive gels, with good integrity and high strength. The three types of propolis demonstrated significant antioxidant capacity, with the green one exhibiting the highest antioxidant capacity for the three methods used. By the technique of mass spectrometry by paper spray, it was possible to suggest the presence of a total of 116 substances in the three types of propolis. The evaluation of the phenolic compounds profile by Ultra Performance Liquid Chromatography of the green, black and brown propolis extracts proved the diversity of polyphenols present in the three types of propolis. The identification of chlorogenic acid, caffeic acid and ferulic acid in the bioaccessible fractions of the propolis extracts incorporated into the hydrogel proved the protective action promoted by the hydrogel during the in vitro digestion process, demonstrating to be an efficient polymeric matrix for the incorporation and protection of bioactive substances.

Keywords: polymeric gel; *Sorghum bicolor* (L.) Moench; bee substance; polyphenols; bioaccessibility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 - Representação esquemática das ligações químicas e físicas em hidrogéis (a) e formação da rede de hidrogel por ligação de hidrogênio no amido (b).....	17
Figura 2 - Estrutura da rede polimérica formada por processo de reticulação física e química...	17
Figura 3 - Estrutura do amido: estrutura linear da amilose e respectiva conformação coloidal (a) e estrutura da amilopectina e suas ramificações (b).....	20
Figura 4 - Arquitetura molecular dos grânulos de amido: amilopectina e amilose.....	22
Figura 5 - Diagrama esquemático de inchaço dos grânulos de amido.....	23
Figura 6 - Representação da alteração do grânulo de amido em suspensão submetido a processo térmico.....	24
Figura 7 - Ilustração do processo de produção da própolis bruta (resina), pelas abelhas.....	28
Figura 8 - Reação química do método de FRAP.....	31
Figura 9 - Reação química do método DPPH.....	31
Figura 10 - Estrutura molecular do ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico).....	32
Figura 11 - Reação de substâncias redutoras com reagente de Folin-Ciocalteu.....	33
Figura 12 - Esquema representativo utilizando EM-PS.....	33
Figura 13 - Ilustração do processo de digestão e absorção intestinal das substâncias bioativas (bioacessibilidade).....	35

CAPÍTULO I

Figura 1 - Fluxograma do critério de seleção dos estudos.....	50
Figura 2 - Número de artigos por ano de publicação.....	51

CAPÍTULO II

Figura 1 - Fluxograma do processo de obtenção do amido de sorgo.....	70
Figura 2 - Fotos da análise do perfil de textura TPA.....	74
Figura 3 - Aspectos visuais das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC).....	75
Figura 4 - Aspectos visuais dos hidrogéis à base de amido de sorgo e quitosana com diferentes proporções de ácido cítrico, após processo de reticulação física.....	76
Figura 5 - Taxa de sinérese (%) das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC).....	77
Figura 6 - Hidrogéis liofilizados (a) e intumescidos (b).....	78
Figura 7 - Capacidade de absorção de água das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC).....	78
Figura 8 - Morfologia dos hidrogéis de amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido, cítrico (AC).....	85
Figura 9 - Espectros de FTIR das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC).....	92

CAPÍTULO IV

Figura 1 - Fotos das resinas de própolis verde, marrom e preta.....	132
Figura 2 - Fotos dos grãos e amido extraído do sorgo branco (cultivar BR 501).....	132
Figura 3 - Fotos dos extratos obtidos a partir das resinas de própolis verde, marrom e preta..	133
Figura 4 - Teor de lipídeos das amostras brutas de própolis verde, marrom e preta.....	139

Figura 5 - Capacidade de incorporação dos extratos de própolis ao hidrogel.....	140
Figura 6 - Potencial Hidrogeniônico (pH) das amostras de hidrogel incorporado dos extratos de própolis verde, marrom e preto.....	145
Figura 7 - Morfologia dos hidrogéis de amido de sorgo, incorporados com os extratos de própolis verde, marrom e preto.....	147
Figura 8 - Espectros de FTIR do hidrogel incorporado com extratos de própolis verde, marrom e preto.....	152
Figura 9 - Cromatogramas dos fenólicos identificados nos extratos brutos de própolis verde (a), marrom (b) e preto (c), pelos métodos de separação A e B.....	155

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 - Classificação dos hidrogéis.....	19
Tabela 2 - Principais aplicações de hidrogéis de amido para incorporação de substâncias bioativas.....	27
Tabela 3 - Principais polifenóis presentes em diferentes tipos de própolis brasileira.....	30

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Estratégias de busca definida para utilização nas bases de dados.....	48
Tabela 2 - Trabalhos recuperados em pesquisa nas bases de dados.....	50
Tabela 3 - Síntese dos estudos selecionados.....	52

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Delineamento experimental para o desenvolvimento e caracterização de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico (AC).....	70
Tabela 2 - Capacidade de absorção de água dos hidrogéis (%).....	79
Tabela 3 - Atividade de água (a_w), taxa liberação de água e capacidade de retenção de água (CRA) dos hidrogéis.....	81
Tabela 4 - Potencial Hidrogeniônico (pH) dos hidrogéis.....	83
Tabela 5 - Perfil de análise em textura dos hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC).....	88

CAPÍTULO III

Tabela 1 - Compostos Fenólicos Totais (CFT) e capacidade antioxidante da própolis.....	106
Tabela 2 - Perfil químico dos extratos de própolis verde, marrom e preta por espectrometria de massas por <i>paper spray</i> no modo positivo.....	110
Tabela 3 - Perfil químico dos extratos de própolis verde, marrom e preta por espectrometria de massas por <i>paper spray</i> no modo negativo.....	113

CAPÍTULO IV

Tabela 1 - Atividade de água (a_w), sinérese e capacidade de retenção de água (CRA) das amostras de hidrogel incorporado dos extratos de própolis verde, marrom e preta.....	141
Tabela 2 - Perfil de análise em textura (TPA) das amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, incorporado com extratos de própolis verde, marrom e preta.....	149
Tabela 3 - Perfil de fenólicos (mg.g-1 de extrato) nos extratos de própolis verde, marrom e preta, antes e após o processo de digestão <i>in vitro</i>	154

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Hidrogel.....	16
3.2 Amido	20
3.3 Aplicações alimentícias de hidrogéis de amido.....	26
3.4 Própolis.....	28
3.5 Métodos espectrofotométricos de análise da capacidade antioxidante	30
3.6 Métodos de análise do perfil de fenólicos	32
3.7 Bioacessibilidade	35
REFERÊNCIAS	37
CAPÍTULO I.....	44
RESUMO	44
1. INTRODUÇÃO.....	45
2. METODOLOGIA.....	48
2.1 Estratégia de pesquisa.....	48
2.2 Critérios de seleção.....	48
2.3 Análise dos dados	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.1 Aplicações de hidrogéis de amido em alimentos	56
3.2 Considerações finais	61
4. CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS	62
CAPÍTULO II.....	66
RESUMO	66
1. INTRODUÇÃO.....	67
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	69
2.1 Material.....	69
2.2 Métodos	69
2.3 Análise estatística	74
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.1 Avaliação dos aspectos visuais, taxa de sinérese e capacidade de absorção de água dos hidrogéis	75

3.2 Determinação da atividade de água, liberação de água e capacidade de retenção de água dos hidrogéis	81
3.3 Potencial hidrogeniônico (pH).....	83
3.4 Avaliação morfológica dos hidrogéis	84
3.5 Perfil de análise em textura (TPA)	87
3.6 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	91
4. CONCLUSÃO.....	93
REFERÊNCIAS	94
 CAPÍTULO III	 99
RESUMO	99
1. INTRODUÇÃO.....	100
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	103
2.1. Material.....	103
2.2. Métodos	103
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
3.1. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.....	106
3.2. Perfil químico por espectrometria de massas por <i>paper spray</i> (EM/PS)	109
4. CONCLUSÃO.....	120
REFERÊNCIAS	121
 CAPÍTULO IV	 128
RESUMO	128
1. INTRODUÇÃO.....	129
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	132
2.1 Material.....	132
2.2 Métodos	133
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	139
3.1 Teor de lipídeos da própolis verde, marrom e preta	139
3.2 Capacidade de incorporação dos extratos de própolis verde, marrom e preta ao hidrogel	140
3.2 Caracterização do hidrogel à base de amido de sorgo incorporado de extratos de própolis verde, marrom e preta.....	141
3.3 Perfil de fenólicos.....	153
CONCLUSÃO.....	161
REFERÊNCIAS	162
CONSIDERAÇÕES FINAIS	169
APÊNDICES	170

1. APRESENTAÇÃO

O presente trabalho foi estruturado em quatro capítulos, sendo precedidos de uma revisão bibliográfica abrangente sobre hidrogel, amido e suas propriedades, fontes não convencionais de amido, dando destaque ao sorgo e em seguida, foram apresentadas as principais aplicações de hidrogéis de amido na indústria alimentícia, como matrizes poliméricas importantes para a incorporação de misturas fontes de substâncias bioativas.

Após explorados todos esses tópicos, foram trazidas informações sobre a própolis, uma resina produzida pelas abelhas, a partir de exsudatos de diferentes fontes botânicas, bem como sua composição química, com ênfase em polifenóis. Em sequência, foram apresentados os principais métodos espectrométricos utilizados para análise da capacidade antioxidante de substâncias ou misturas, bem como métodos para a análise do perfil de fenólicos. Por último, foi apresentada a importância da análise de bioacessibilidade dos polifenóis.

O primeiro capítulo compreendeu uma revisão integrativa, relacionada às principais aplicações de hidrogéis à base de amido na indústria alimentícia. O segundo capítulo trata do desenvolvimento e caracterização de hidrogel reticulado fisicamente, à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico. O terceiro capítulo apresenta o perfil químico e capacidade antioxidante dos extratos de própolis verde, marrom e preta. Por fim, no quarto e último capítulo do presente trabalho, a formulação de hidrogel que obteve os melhores parâmetros, conforme capítulo II, foi selecionada para ser incorporada dos extratos de própolis verde, marrom e preta, gerando o produto pretendido neste estudo. Os extratos de própolis brutos e incorporados ao hidrogel, foram avaliados quanto ao perfil de compostos fenólicos e bioacessibilidade.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar hidrogéis à base de amido de sorgo, com incorporação de extratos de própolis verde, marrom e preta e analisar a bioacessibilidade dos polifenóis.

2.2 Objetivos específicos

1. Elaborar diferentes formulações de hidrogéis à base de amido de sorgo, quitosana e com diferentes concentrações de ácido cítrico.
2. Avaliar os hidrogéis desenvolvidos quanto à sinérese, capacidade de retenção de água, atividade de água, potencial hidrogeniônico, morfologia, propriedades químicas e perfil de textura.
3. Avaliar o perfil químico e a capacidade antioxidante dos extratos aquosos de própolis preta, marrom e verde.
4. Avaliar as características de atividade de água, sinérese, capacidade de retenção de água, potencial hidrogeniônico (pH), perfil de textura e morfologia do hidrogel incorporado com os extratos de própolis.
5. Analisar o perfil de compostos fenólicos dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta, incorporados ao hidrogel de amido de sorgo, antes e após o processo de digestão gastrointestinal *in vitro*.
6. Avaliar a bioacessibilidade dos polifenóis nas frações bioacessíveis dos extratos brutos de própolis verde, marrom e preta e incorporados ao hidrogel de amido de sorgo, após digestão gastrointestinal *in vitro*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hidrogel

Géis são materiais semissólidos que apresentam propriedades tanto de sólidos quanto de líquidos, em que um líquido é distribuído em uma estrutura sólida tridimensional, frequentemente feita de polímeros ou moléculas auto-organizáveis pequenas. Essa estrutura tridimensional reticulada retém o líquido, dando ao gel uma consistência que pode variar de macia e maleável a rígida. São constituídos, normalmente, por redes poliméricas tridimensionais de macromoléculas fibrosas ou globulares, que são aptas a encapsular proporções consideráveis de meios de dispersão, como água (hidrogéis), gás (aerogéis) ou óleo (oleogéis) (Banerjee; Bhattacharya, 2012; Cao; Mezzenga, 2020).

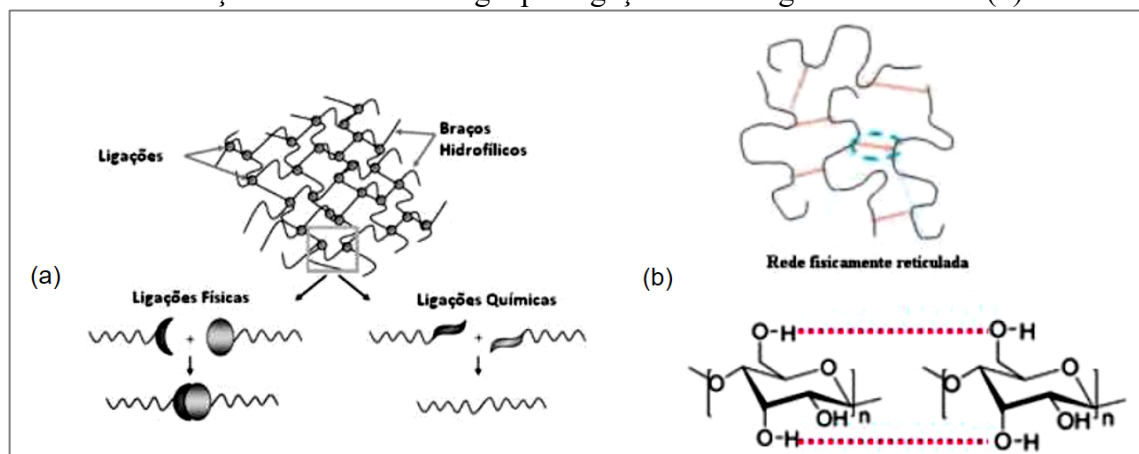
Os hidrogéis são compostos por macromoléculas reticuladas química ou fisicamente, formando uma rede tridimensional altamente hidrofílica, capaz de reter uma grande quantidade de água sem que ocorra a desintegração das moléculas. Podem ser formados por polímeros naturais, semi-sintéticos ou sintéticos, que são capazes de ser projetados em qualquer tamanho ou forma, através do processo de reticulação com a formação de ligações de hidrogênio (quando reticulado fisicamente) ou ligações covalentes (quando inter cruzado quimicamente) entre as cadeias do polímero (Mirzaei *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2016).

A reticulação é utilizada com o objetivo de melhorar as propriedades funcionais e a estabilidade da pasta de amido. Para reticulação química, reagentes multifuncionais são geralmente usados para formar pontes intermoleculares com grupos hidroxila do amido. A rede ligada covalentemente faz com que o amido reticulado inche menos e se torne mais resistente ao cisalhamento, alta temperatura e baixo pH em comparação com seu amido original (Chung; Woo; Lim, 2004).

Já o processo de reticulação física, é formado por meio de interações não covalentes (interações intermoleculares), que são estabilizadas através de ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas e enovelamento das cadeias como que podem resultar em hidrogéis físicos fortes ou fracos, dependendo da força das ligações físicas entre as cadeias do polímero (Li; Jia; Yin, 2021).

Na Figura 1, é possível observar essas referidas diferenças, entre os processos de reticulação química (a) e física (b), bem como as ligações formadas.

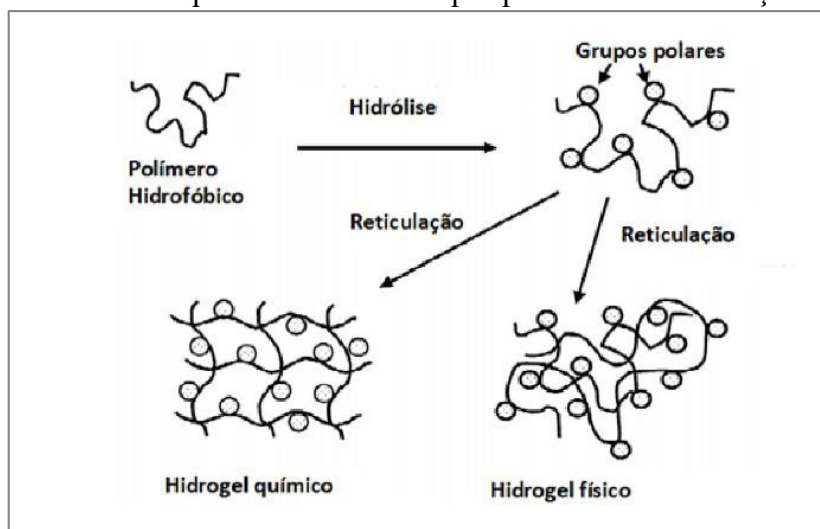
Figura 1 - Representação esquemática das ligações químicas e físicas em hidrogéis (a) e formação da rede de hidrogel por ligação de hidrogênio no amido (b)



Fonte: Adaptado de Borges, (2022)

A Figura 2 compara a formação de uma rede tridimensional resultante da reticulação física e química. Observa-se que a formação da rede polimérica pelo método químico proporciona uma estrutura mais organizada em comparação ao método físico. Essa organização pode resultar em hidrogéis mais resistentes ao esforço mecânico e ao intumescimento.

Figura 2 - Estrutura da rede polimérica formada por processo de reticulação física e química



Fonte: Hoffman, (2012)

Os reagentes mais utilizados para promover a reticulação química em hidrogéis são o cloreto de cálcio, utilizado em hidrogéis à base de polímeros sintéticos, ortofosfato monossódico (SOP), trimetafosfato de sódio (STMP), tripolifosfato de sódio (STPP) e oxicloreto de fósforo (CFR, 2001), comumente utilizados em hidrogéis à base de polímeros naturais ou mistos e o ácido cítrico, utilizado em hidrogéis à base de amido e outros polímeros com grupos hidroxila (Hu; Su; Messersmith, 2009).

A escolha do agente reticulante depende das propriedades desejadas do hidrogel final, da natureza dos grupos funcionais no polímero de base e das condições de reticulação (como temperatura, pH e tempo de reação) (Hennink; Van Nostrum, 2002).

A reticulação altera não apenas as propriedades físicas, mas também as características de transição térmica do amido, e o efeito da reticulação depende da fonte botânica do amido e do agente de reticulação. A diminuição da taxa de retrogradação e o aumento da temperatura de gelatinização têm sido observados com amidos reticulados, e esses fenômenos estão relacionados à mobilidade reduzida de cadeias amorfas no grânulo de amido como resultado das pontes intermoleculares (Chung; Woo; Lim, 2004).

Os métodos de tratamento físico são vantajosos por terem uma reprodução simples, alta eficiência e baixo custo. Um método simples, barato e que apresenta eficácia na reticulação de hidrogéis, é o processo de ciclos sucessivos de congelamento e descongelamento (Cui *et al.*, 2022).

O processo de reticulação de hidrogéis pelo método de congelamento e descongelamento envolve uma série de etapas que permitem a formação de uma rede tridimensional sem a necessidade de agentes químicos reticulantes. Este método é especialmente vantajoso por ser relativamente simples, seguro e não requerer a adição de substâncias potencialmente tóxicas (Hoffman, 2012).

Inicialmente, uma solução aquosa de polímeros, como amido ou outros biopolímeros, é preparada. A concentração e a composição da solução dependem das propriedades desejadas do hidrogel final. A solução polimérica é submetida a temperaturas de congelamento, geralmente abaixo de -20°C . Durante o congelamento, a água na solução se cristaliza, formando cristais de gelo. Este processo exclui os polímeros das regiões de formação de cristais, concentrando-os em áreas intercristalinas (Cui *et al.*, 2022; Hoffman, 2012).

Após o congelamento completo, a solução é gradualmente aquecida de volta à temperatura ambiente. Durante o descongelamento, os cristais de gelo se derretem, liberando a água que estava cristalizada. A água liberada é reabsorvida pelo polímero, que mantém a estrutura tridimensional formada durante o congelamento. O ciclo de congelamento e descongelamento pode ser repetido várias vezes para aumentar a densidade e a uniformidade da rede polimérica. Com cada ciclo adicional, a estrutura do hidrogel se torna mais organizada e resistente (Cui *et al.*, 2022; Pita-López *et al.*, 2021).

Este método de reticulação é amplamente utilizado na fabricação de hidrogéis para aplicações biomédicas, como na liberação controlada de medicamentos, bem como em produtos

alimentares e cosméticos, onde a segurança e a biocompatibilidade são cruciais (Ahmad *et al.*, 2019; Vieira *et al.*, 2023).

Os hidrogéis podem ser divididos com base em sua origem: natural, sintético, que são divididos em hidrogéis híbridos e semi-naturais. Os hidrogéis naturais são desenvolvidos a partir de proteínas e polissacarídeos, principalmente, como dextrano, alginato, quitosana e amido, e também por polímeros sintéticos. Podem também ser classificados de acordo com os mecanismos de reticulação, dentre eles o processo físico ou químico (Tabela 1) (Ganie *et al.*, 2021; Li; Jia; Yin, 2021).

Tabela 1 - Classificação dos hidrogéis

Base de classificação	Tipos de hidrogel
Fonte de polímero	Hidrogéis naturais
	Hidrogéis sintéticos
	Sistemas de hidrogéis híbridos
Mecanismos de reticulação	Reticulação física: Interações não covalentes
	Reticulação química: Ligações covalentes

Fonte: adaptado de Li; Jia; Yin, (2021)

Os hidrogéis compostos por polímeros naturais, apresentam vantagens em relação àqueles constituídos por polímeros sintéticos, por serem biodegradáveis e biocompatíveis, além de serem obtidos a partir de fontes renováveis, servindo como uma estratégia alternativa para promover sistemas sustentáveis (dos Santos *et al.*, 2023).

Além disso, a elaboração de hidrogéis a partir de polissacarídeos (HBPs) constituem mais de 90% da água na forma livre, ligada e semiligada quando analisados no estado inchado, possibilitando aplicações em campos variados, como farmacêutico, agrícola, cosmético, juntamente com a indústria de alimentos. Os HBPs têm atraído grande interesse em pesquisas nas últimas décadas que levaram à síntese e *design* de vários tipos de hidrogéis de polissacarídeos (Ahmad *et al.*, 2019; Batista *et al.*, 2019; Nangia; Warkar; Katyal, 2018).

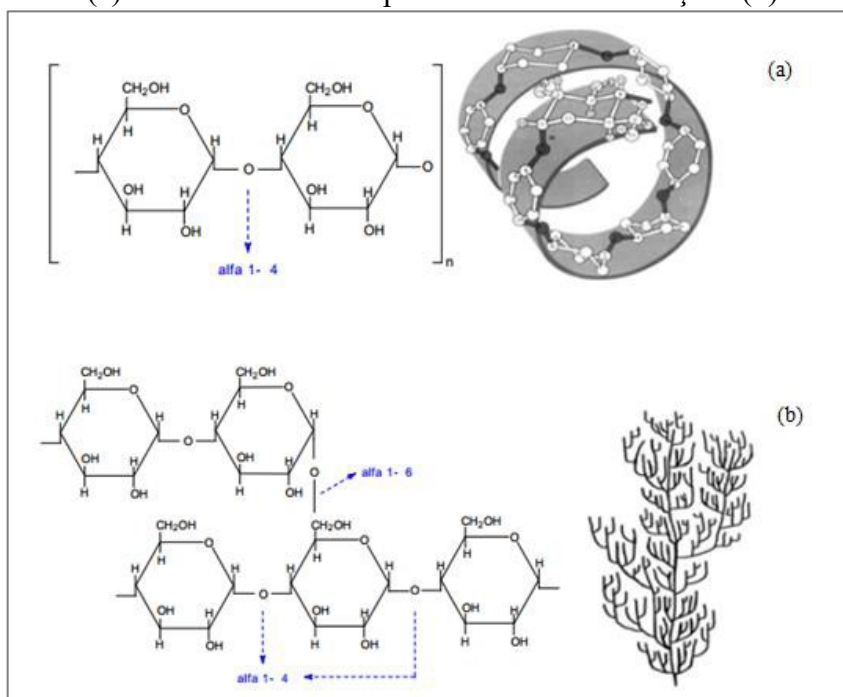
Na indústria alimentícia, podem ser utilizados para encapsular substâncias bioativas, promovendo sua liberação controlada, em sistema de entrega de probióticos, em filmes bioativos, utilizados como tinta para impressão 3D de alimentos, dentre outros (Manzoor *et al.*, 2022; Vieira *et al.*, 2023).

Dentre os polissacarídeos, destaca-se o amido como uma importante base para a elaboração de hidrogéis. Representa um recurso biorrenovável, ecologicamente sustentável, capaz de absorver grandes quantidades de água ou solução aquosa sem se dissolver, devido à presença de grupo OH em sua configuração estrutural, obtendo vantagem em relação às demais matérias-primas utilizadas na fabricação de hidrogéis (dos Santos *et al.*, 2023; Manzoor *et al.*, 2022).

3.2 Amido

O amido é um polissacarídeo natural que consiste em unidades de glicose unidas por ligação glicosídica, sendo composto de amilose (macromolécula essencialmente linear) Figura 3(a) e amilopectina (macromolécula ramificada) Figura 3(b). É um dos biopolímeros mais amplamente utilizados por ser abundante, barato, renovável e totalmente biodegradável. Sua funcionalidade depende de sua fonte botânica, condições de crescimento e fatores ambientais (Yan *et al.*, 2024).

Figura 3 - Estrutura do amido: estrutura linear da amilose e respectiva conformação coloidal (a) e estrutura da amilopectina e suas ramificações (b)



Fonte: Horn, (2012)

A amilopectina é o principal polímero no amido, por estar presente em maior proporção (70 a 80%) e possui cadeias de glicose ligadas a α -1,4 (grau de polimerização (DP) < 100) unidas por pontos de ramificação ligados a α -1,6 (Figura 3). A matriz granular semicristalina é formada por amilopectina, onde as cadeias adjacentes formam duplas hélices que se compactam

em lamelas cristalinas, enquanto os pontos de ramificação dão origem a lamelas amorfas. A amilose constitui < 35% da maioria dos amidos naturais. É composta por longas cadeias lineares ligadas a α -1,4 (tipicamente DP 100-10 000) com raros pontos de ramificação ligados a α -1,6 e acredita-se que resida em regiões amorfas do grânulo (Figura 3). A proporção de amilose/amilopectina influencia muito a cristalinidade, o processo de gelatinização e a ordem molecular (Pycia *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2024).

Constitui a principal fonte de carboidratos na alimentação humana, podendo fornecer 70 a 80% das calorias totais da dieta. Armazenado sob a forma de grânulos nos órgãos de reserva das plantas superiores, como nos grãos, principalmente de cereais, o amido pode ser extraído desses grãos e utilizado para diversas finalidades (Leonel; Cereda, 2002).

Considerado um ingrediente crucial na indústria alimentícia, o amido é amplamente utilizado em uma variedade de produtos como matéria-prima, aditivo alimentar e substituto de gordura. Além disso, serve como agente gelificante, espessante, emulsificante e encapsulante. A escolha dos amidos para diferentes aplicações tecnológicas baseia-se em suas propriedades específicas. A capacidade de gelatinização (formação de pasta e gel) e as propriedades reológicas (como colagem, viscosidade da pasta e características reológicas do gel) são determinantes para suas diversas utilizações funcionais (Yan *et al.*, 2024).

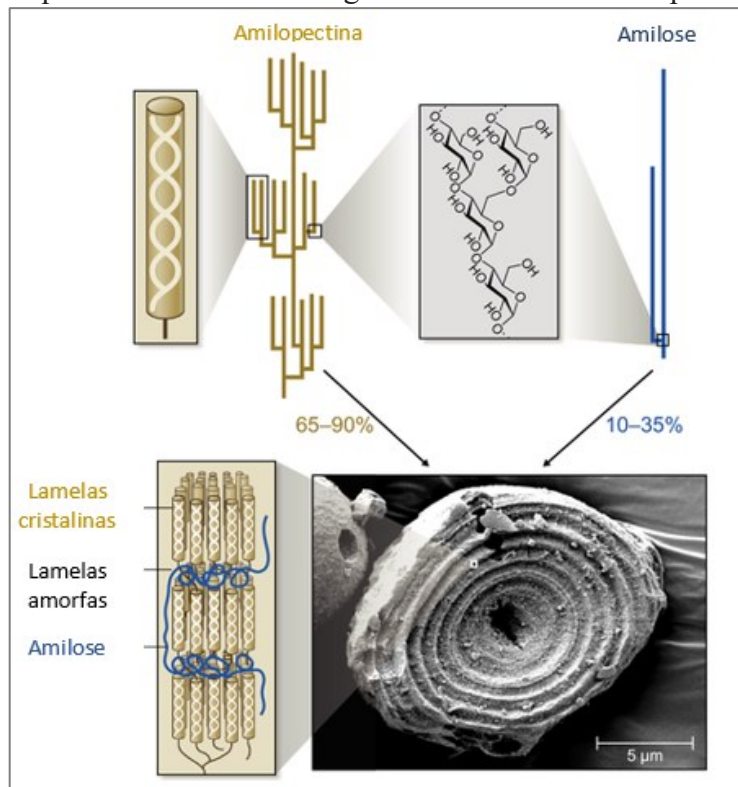
O amido é comumente extraído de fontes convencionais, como trigo, milho, arroz, batata e mandioca para aplicação comercial. Além disso, recentemente, o aumento da demanda por amido na indústria tem sido associado à busca por fontes subutilizadas de amido, que não competem como fonte de alimento para populações humanas. Muitas fontes não convencionais de amido de diferentes plantas/variedades, como semente de jaca, pinhão, inhame, tapioca, feijão, mandioquinha salsa, sorgo, dentre outros, foram isoladas e estudadas quanto às propriedades morfológicas e físico-químicas para aplicações futuras (dos Santos *et al.*, 2023; Ishaq *et al.*, 2024; Kishore *et al.*, 2024; Vieira *et al.*, 2023).

Quando o amido é aquecido em água, ele gelatiniza, e após o resfriamento, ocorre a retrogradação. Essas características são cruciais para a aplicação do amido em produtos alimentícios, pois influenciam a textura, a viscosidade e a estabilidade dos produtos finais (Fu; Jiang; Yao, 2022). As mudanças que o amido sofre durante a gelatinização e a retrogradação são os principais determinantes de suas propriedades funcionais para o processamento de alimentos, durante a digestão e em aplicações industriais (Wang *et al.*, 2015).

A estrutura dos grânulos de amido é composta por regiões amorfas e regiões cristalinas (Figura 4). A zona amorfa é composta de amilose insolúvel em água e pontos de ramificação de amilopectina. A região cristalina é formada por cadeias ramificadas de amilopectina, que é

composta pela agregação e enrolamento de cadeias com comprimento linear superior a 10 unidades de glicose (Han; Shi; Sun, 2020).

Figura 4 - Arquitetura molecular dos grânulos de amido: amilopectina e amilose



Fonte: adaptado de Seung; Smith, (2019)

A amilopectina desempenha um papel vital na estabilização da estrutura dos grânulos de amido (Guo *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2016). O empilhamento de dupla hélice da amilopectina pode produzir diferentes estruturas cristalinas ou polimorfos. De acordo com diferentes espectros de difração de raios X (DRX), o amido é geralmente dividido em três polimorfos principais: tipo A, tipo B e tipo C. Entre eles, o amido tipo A existe principalmente em grãos, o amido tipo B reside em tubérculos e o amido tipo C existe em leguminosas e rizomas (Guo *et al.*, 2017).

Tipicamente, cristais de amido de cereais (por exemplo, milho, trigo, cevada, sorgo etc.) são estruturas cristalinas do tipo A; amido de batata e amido de milho com alto teor de amilose são estruturas cristalinas do tipo B; e o amido de tapioca contém cristais do tipo A ou do tipo C. Além disso, o poder de inchaço dos grânulos de amido está fortemente relacionado à proporção de amilose para amilopectina, estrutura da amilopectina e cristalinidade do amido, (Waterschoot *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2024).

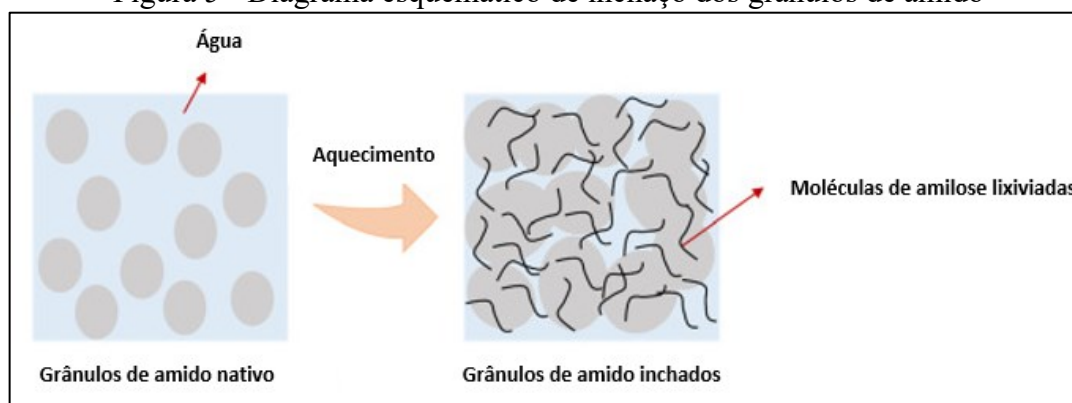
A maior susceptibilidade dos amidos com cristalinidade tipo A à hidrólise ocorre devido à presença de poros superficiais que poderiam ser alargados pela ação das enzimas, facilitando o acesso no interior do grânulo (Shrestha *et al.*, 2012).

Quando submetidos ao aquecimento, os grânulos de amido podem sofrer uma transição irreversível quando aquecidos na presença de água, conhecida como gelatinização. Esse processo envolve a difusão de água através dos grânulos, absorção de água por regiões amorfas, inchaço dos grânulos de amido, perda de birrefringência, redução de regiões cristalinas, ruptura dos grânulos de amido, lixiviação de amilose, solubilização do amido e aumento da viscosidade (Wang *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2024).

No primeiro momento do processo de gelatinização, o amido absorve água suficiente com subsequente inchamento do grânulo. Em seguida, ocorre o resfriamento, processo chamado de retrogradação, pelo qual a amilose e a amilopectina que são lixiviadas dos grânulos de amido durante a gelatinização se reorganizam em uma estrutura microcristalina mais ordenada devido à reticulação de ligações de hidrogênio. A retrogradação do amido é dividida em dois estágios: retrogradação de curto e longo prazo. A retrogradação de curto prazo envolve principalmente a formação de estruturas de dupla hélice de amilose seguidas por sua interação entre si, enquanto a retrogradação de longo prazo envolve principalmente a formação de estruturas de dupla hélice entre ramos curtos de amilopectina seguidas por sua interação entre si (Manzoor *et al.*, 2022; Yan *et al.*, 2024).

Os grânulos de amido são insolúveis em água fria, mas sob condições excessivas de água e aquecimento, absorvem água e incham (Figura 5). Ao mesmo tempo, juntamente com a exsudação das moléculas de amilose, os grânulos de amido perdem sua ordem de cristalização (Cui *et al.*, 2022).

Figura 5 - Diagrama esquemático de inchaço dos grânulos de amido



Fonte: Zhang *et al.*, (2012)

Os géis de amido são predominantemente formados em meio aquoso através da gelificação térmica, que envolve os processos de gelatinização e retrogradação. Essas alterações, fazem parte do processo de formação do gel de amido (Figura 6), considerado um composto, no qual os grânulos gelatinizados, contendo principalmente amilopectina, estão embebidos por uma matriz de amilose, que se encontra dispersa na solução, e grânulos intumescidos de amido, parcialmente desintegrados (Cui *et al.*, 2022; Vamadevan; Bertoft, 2015).

Figura 6 - Representação da alteração do grânulo de amido em suspensão submetido a processo térmico



Fonte: Sanabria, (2010)

Essas propriedades do amido apresentam grande variabilidade, sendo a origem botânica um fator crucial nas características funcionais do amido (Yang *et al.*, 2023). Amidos de fontes convencionais, como milho, arroz, trigo, mandioca e batata, são amplamente utilizados na indústria alimentícia. No entanto, fontes não convencionais de amido têm sido cada vez mais estudadas, oferecendo alternativas aos amidos convencionais e contribuindo para a biodiversidade e a sustentabilidade ambiental (dos Santos *et al.*, 2023).

3.2.1 Fontes não convencionais de amido

A mudança climática é uma preocupação global que tem o potencial de impactar negativamente a produtividade das colheitas. (Kumari; Kaur; Thiruvalluvan, 2024). Devido a isso, a pressão sobre a indústria de amido para atender à crescente demanda por esta matéria prima está aumentando, devido à sua versatilidade e inúmeras aplicações.

A previsão para a produção de amido no mundo, atingirá 156,5 milhões de toneladas antes de 2025. A ampla aplicação do amido, especialmente na aplicação de processamento de

alimentos, alimentou a demanda por novas fontes. As fontes convencionais de amido estão sendo superexploradas, é necessário investigar novas fontes botânicas de amido. Portanto, a pesquisa e a caracterização de amido mais novo e/ou alternativo podem reduzir a carga sobre fontes limitadas de amido (Dereje, 2021).

Neste cenário desafiador, estudar e propor fontes não convencionais de amido, como sorgo por exemplo, torna-se relevante para auxiliar na solução deste problema mundial, visto que o amido constitui a principal fonte de carboidratos na alimentação humana, podendo fornecer 70 a 80% das calorias totais da dieta (Kumari; Kaur; Thiruvalluvan, 2024).

O amido contribui muito para as propriedades texturais de muitos alimentos e tem muitas aplicações industriais como espessante, estabilizador coloidal, agente gelificante, agente de volume, agente de retenção de água e adesivo. O interesse em novos produtos de valor agregado para a indústria resultou em muitos estudos sendo realizados sobre as propriedades morfológicas, reológicas, térmicas e texturais (Singh *et al.*, 2003).

A proporção de amilose e amilopectina presentes no amido é crucial para determinar a funcionalidade do amido, como agente espessante ou estabilizante, substituto de gordura, filme ou revestimento comestível, precursor de enzima ou nanopartículas (Kaur *et al.*, 2023).

Sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) é uma planta herbácea monocotiledônea e, assim como o milho, pertence à família das gramíneas. A versatilidade do sorgo é notória, variando do consumo do grão *in natura* ou farináceo, a uso como matéria prima para amido, cera, bebidas, ração, óleos e produção bioenergéticas como de biocombustível (Ameen *et al.*, 2024).

É uma cultura amplamente cultivada em todo o mundo para a produção de alimentos e ração animal. Quantitativamente, é o quinto cereal de maior plantio depois do trigo, milho, arroz e cevada (Ishaq *et al.*, 2024). O seu cultivo tem grande importância principalmente nos continentes asiático e africano, onde é empregado diretamente na alimentação humana. Já nos países ocidentais (Estados Unidos, Austrália e Brasil) o mesmo é utilizado essencialmente para a alimentação animal (Correia *et al.*, 2022; EMBRAPA, 2015).

No Brasil, o seu cultivo ocupa a sétima posição. A forte expansão do sorgo no Brasil, tanto em área quanto em produção nas últimas quatro décadas, leva a cenários cada vez mais favoráveis para um (ainda) maior desenvolvimento da cultura nos próximos anos. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2023, o incremento da área cultivada de sorgo foi superior ao que ocorreu para o milho e a soja, principalmente em função do menor

custo de produção quando comparado com o milho. A estimativa da produção do sorgo no Brasil, para 2024, é de 3,8 milhões de toneladas (IBGE, 2023).

No contexto das mudanças climáticas e do crescimento populacional, a segurança alimentar é um assunto de preocupação mundial. Por ser cultivado em áreas e situações ambientais muito secas e quentes, o sorgo obtém vantagem em relação ao cultivo de outros cereais, que nessas condições climáticas, a produtividade torna-se antieconômica (Khoddami *et al.*, 2023). Além disso, possui um ciclo vegetativo curto (variando de 90 a 130 dias), ideal para a produção fora de época associada a outras culturas, como cana de açúcar, milho ou soja (Silva *et al.*, 2019).

A composição química dos grãos de sorgo varia de acordo com o genótipo, sendo em todos eles, o amido o principal macronutriente (entre 70 e 80%), o qual pode ser usado em várias aplicações industriais, principalmente como ingrediente alimentício. Além disso, O sorgo é isento de glúten e, portanto, pode ser consumido por pessoas com doença celíaca (Ishaq *et al.*, 2024).

O conhecimento das propriedades físico-químicas do amido de sorgo pode transformá-lo em uma fonte alternativa de amido comercial e diminuir a pressão sobre os amidos alimentares convencionais. Devido ao fato de que os amidos nativos trazem características indesejáveis a alguns alimentos, modificações são muitas vezes necessárias com o objetivo de melhorar a qualidade do produto final (Ishaq *et al.*, 2024; Zhu, 2014).

Devido a este cenário, o sorgo tem excelente potencial como fonte alternativa de amido, classificado como um amido de tamanho médio, Tipo A, caracterizado por um teor médio de amilose de 25,5% e uma cristalinidade relativa médias de 26%. Esta classificação destaca a uniformidade estrutural e composicional dentro das variedades de amido de sorgo, ressaltando seu potencial para a elaboração de hidrogéis (Silva *et al.*, 2019).

3.3 Aplicações alimentícias de hidrogéis de amido

Nas últimas décadas, a fabricação de hidrogéis à base de amido, bem como sua aplicação na indústria alimentícia, ganhou atenção especial. Esse aumento se deve à biodegradabilidade desse material, que promove um desenvolvimento sustentável, resultando em impactos ecológicos mínimos (Zhao *et al.*, 2024).

Como principais aplicações desses materiais, têm-se a utilização como agentes gelificantes e espessantes em diversos produtos alimentícios, como sobremesas, molhos, iogurtes e recheios, como substitutos de gordura em alimentos, ajudando a reduzir o teor calórico sem comprometer a textura e o sabor, como emulsificantes e estabilizantes em produtos

como maioneses, molhos para salada e bebidas, ajudando a manter a estabilidade da emulsão e a prevenir a separação de fases (água e óleo) e também são empregados na produção de filmes e revestimentos comestíveis que podem ser aplicados a frutas, vegetais e outros produtos para prolongar a vida útil, reduzir a perda de umidade e proteger contra microrganismos (Lin *et al.*, 2021; Vieira *et al.*, 2023).

Dentre essas aplicações, destaca-se a utilização de hidrogéis à base de amidos convencionais e não convencionais, para incorporação de substâncias bioativas e avaliação de sua bioacessibilidade, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Principais aplicações de hidrogéis de amido para incorporação de substâncias bioativas

Fonte de amido	Fonte de substância bioativa	Aplicação
Batata	Beta-caroteno	Encapsulação do beta-caroteno, para promover entrega controlada
	Extrato de cogumelo	Incorporação de extrato de cogumelo em um hidrogel de amido de batata (hidrogel funcional)
Arroz	Licopeno	Sistemas de liberação para melhorar a estabilidade química do licopeno e sua liberação controlada no trato gastrointestinal
	Beta-caroteno	Produção de Nutraceutico
Milho	Erva-mate	Proteção e fornecimentos de substâncias com capacidade antioxidante de erva-mate em produtos alimentícios
	Corante amarelo (INS-110)	Retenção e liberação de substâncias bioativas
Tapioca	Curcumina	Proteção de substâncias bioativas

Fonte: Adaptado de Vieira *et al.*, (2023)

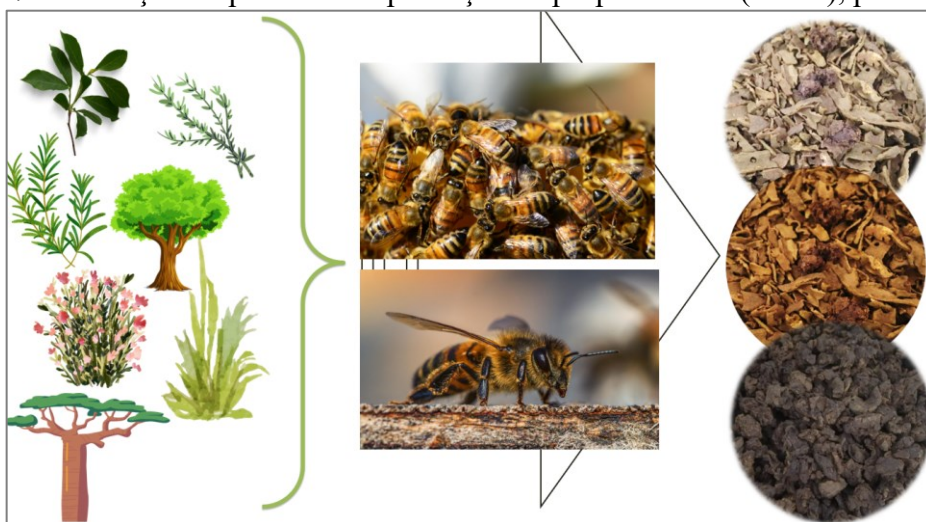
A versatilidade dos hidrogéis de amido, aliada à sua biodegradabilidade e ao potencial para promover a sustentabilidade, faz deles uma opção atraente para a indústria de alimentos em busca de soluções inovadoras e ecológicas.

3.4 Própolis

Própolis é o termo genérico utilizado para definir uma substância resinosa, produzida pelas abelhas (Bittencourt *et al.*, 2015). Trata-se de uma resina biológica complexa, produzida por abelhas (*Apis mellifera*) por meio da coleta de substâncias resinosas, exsudatos e brotos de diversas fontes botânicas. Essa resina é posteriormente misturada com cera e secreções salivares das abelhas, resultando em um produto que é utilizado na colmeia para funções estruturais, como vedação de fissuras, e para sua defesa, devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Seibert *et al.*, 2019).

Este processo de produção de própolis pelas abelhas, está ilustrado na Figura 7.

Figura 7 - Ilustração do processo de produção da própolis bruta (resina), pelas abelhas



Fonte: Autora (2024)

Esta resina produzida, apresenta coloração variada, que vai do amarelo esverdeado ao marrom escuro e essa variação depende da fonte botânica de coleta das abelhas, da localização geográfica das colmeias e da sazonalidade de captação dessa resina. Devido a esses fatores, a composição química da própolis é extremamente complexa (Andrade *et al.*, 2018).

As características de cada tipo de própolis são determinadas por sua localização geográfica, estação, fonte vegetal, condições edafoclimáticas e espécies de abelhas. Os principais ingredientes identificados neste produto são bálsamos e resinas (45–55%), ácidos graxos (5%), ceras (8–35%), substâncias aromáticas e óleos essenciais (5–10%), pólen (5%) e compostos minerais e orgânicos (5%) (Tavares *et al.*, 2022). De acordo com Wieczorek *et al.*, (2022), até o ano de 2018, foram relatados mais de 850 componentes químicos presentes na própolis obtida de diferentes fontes botânicas e geográficas.

Polifenóis

Os polifenóis, são uma classe diversificada de metabólitos secundários de plantas caracterizados pela presença de um ou mais grupos hidroxila ligados a um ou mais anéis aromáticos. Essas substâncias são amplamente distribuídas no reino vegetal e incluem várias classes como flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e stilbenos (Sun; Shahrajabian, 2023).

No organismo humano, as substâncias fenólicas desempenham várias funções essenciais devido às suas propriedades bioativas (Rana *et al.*, 2022). Primeiramente, eles são reconhecidos por sua potente capacidade antioxidante, que permite neutralizar radicais livres e reduzir o estresse oxidativo, um fator contribuinte para várias doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e diabetes (Mileo; Miccadei, 2016).

Além disso, os polifenóis exibem propriedades anti-inflamatórias, modulando a resposta inflamatória por meio da inibição de enzimas e mediadores pró-inflamatórios (Durazzo *et al.*, 2019).

Uma fonte importante dessas substâncias bioativas, é a própolis, de diferentes tipos e regiões geográficas. A maior variação observada na composição química de própolis provenientes de diferentes localidades, está relacionada à ampla biodiversidade existente em cada local (Tavares *et al.*, 2022).

O Brasil, devido à sua grande extensão territorial, apresenta uma vegetação amplamente variada e por isso, fornece a possibilidade de fabricação pelas abelhas, de diferentes tipos de própolis, com composição química variada e ampla, na qual cada tipo de própolis apresenta como característica principal, uma composição química e coloração diferente e específica (Andrade *et al.*, 2018).

As diferentes substâncias presentes na própolis provêm das resinas e exsudados de plantas recolhidas pelas abelhas, substâncias segregadas pelo metabolismo da abelha (cera e enzimas salivares) e outras substâncias introduzidas durante a elaboração da própolis (Contieri *et al.*, 2022).

Sua composição não é totalmente categorizada devido à existência de múltiplas classes de substâncias químicas. Entretanto, as substâncias mais descritas com propriedades bioativas presentes na própolis são os polifenóis, incluindo os flavonoides e ácidos fenólicos (Liu *et al.*, 2024). Os principais polifenóis presentes na própolis brasileira, bem como sua coloração, origem geográfica e botânica, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Principais polifenóis presentes em diferentes tipos de própolis brasileira

Tipo de própolis	Origem geográfica	Origem botânica	Composição química
Castanho escuro	Sul (RS)	<i>Populus alba</i>	Flavonoides
Marrom avermelhado	Nordeste (BA)	<i>Hyptis divaricata</i>	Flavonoides
Verde	Sudeste (SP, MG)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Flavonoides, ácidos fenólicos
Vermelha	Nordeste (AL, BA, PB)	<i>Dalgerbia ecastophillum</i>	Flavonoides, ácidos fenólicos
Própolis preta	Nordeste	<i>Mimosa hostilis benth</i>	Flavonoides e ácidos fenólicos

Fonte: Adaptado de De Souza, (2014)

Os diferentes tipos de própolis do Brasil, um país de clima predominantemente tropical, apresentam ácidos fenólicos em maior abundância, quando comparada com as própolis de outras regiões do mundo com clima similar (Yuan *et al.*, 2020).

Esses são os principais responsáveis por suas propriedades biológicas e potencial terapêutico, como antioxidante, antimicrobiano, imunoestimulante, citotóxico, anti-inflamatório, antiviral hepatoprotetor, anticarcinogênico, anticariogênico, anestésico e cicatrizante (Ferreira *et al.*, 2024).

Evidências de estudos *in vitro* e *in vivo* dão suporte a seus efeitos farmacológicos: antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano, antidiabético, antitumoral, neuroprotetor, efeitos gastroprotetores e imunomoduladores (Shahinozzaman *et al.*, 2020).

Para avaliar a capacidade antioxidante, foram desenvolvidos diferentes métodos de análise.

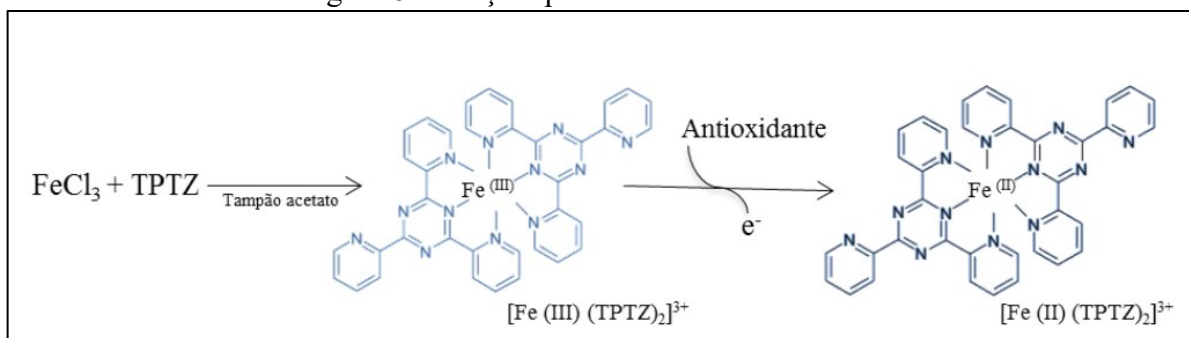
3.5 Métodos espectrofotométricos de análise da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante poder ser expressa por diferentes metodologias. Vários métodos *in vitro* vêm sendo aplicados para avaliar essa capacidade, em diferentes fontes de substâncias bioativas. A combinação de pelo menos dois métodos *in vitro* é preconizada, para que seja possível produzir informações mais confiáveis da capacidade antioxidante total de substâncias ou misturas (Rufino *et al.*, 2010).

Considerando essa recomendação, os métodos mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* são: método de redução do ferro (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*); captura do radical livre ABTS⁺ (ABTS) e captura do radical livre DPPH (DPPH) (Rufino *et al.*, 2010).

A avaliação da capacidade antioxidante pelo método de redução do íon ferro, FRAP, baseia-se na produção do íon Fe^{2+} (forma ferrosa) a partir da redução do íon Fe^{3+} (forma férrica), presente no complexo 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), como demonstrado na Figura 8. Na redução, ocorre mudança na cor de roxo claro para intenso. A absorbância é medida no comprimento de onda de 595 nm, quanto maior a absorbância ou tonalidade da coloração maior o potencial antioxidante (Urrea-Victoria *et al.*, 2016).

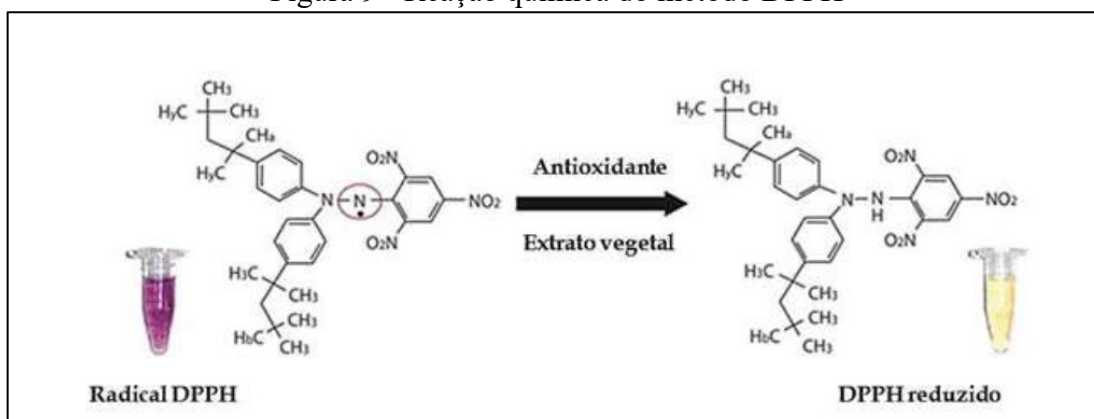
Figura 8 - Reação química do método de FRAP



Fonte: Urrea-Victoria *et al.* (2016)

O método de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), baseia-se no processo de transferência de um elétron, permitindo a detecção da capacidade de um potencial antioxidante em transferir um elétron e reduzir substâncias, como metais, carbonilas e radicais. A substância antioxidante age como doador de um átomo de hidrogênio quando é adicionada à solução de DPPH, reduzindo o radical DPPH e formando a hidrazina, propiciando assim a mudança de coloração na solução, de violeta para amarelo claro, como demonstrado na Figura 9, produzindo um decréscimo da absorbância a 515/517 nm (Pires *et al.*, 2018).

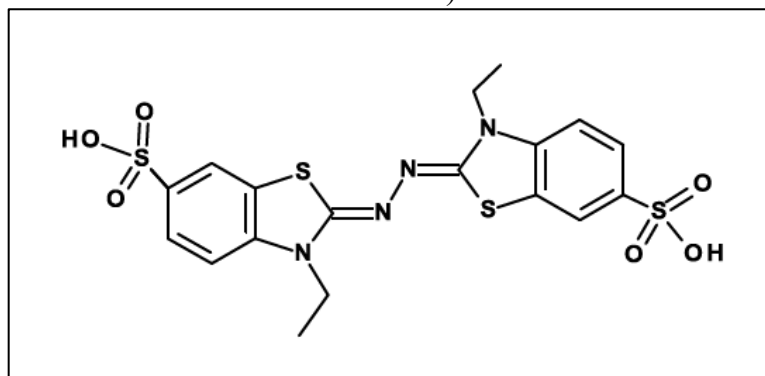
Figura 9 - Reação química do método DPPH



Fonte: Pires *et al.* (2018)

O ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], Figura 10, é uma substância utilizada em ensaios colorimétricos para estimar o potencial antioxidante de substâncias ou misturas. Nesse método, o ABTS, de cor verde clara, reage com o persulfato de potássio e forma o radical catiônico ABTS^{•+} de coloração verde/azulada. A absorção do radical catiônico ABTS^{•+} é comparada com a absorção após a estabilização do ABTS^{•+} por antioxidantes, coloração verde claro, utilizando um espectrofotômetro na faixa de 734 nm. Assim, quanto menor é a absorbância ou mais clara for a coloração, maior é o potencial antioxidante (Torres *et al.*, 2017).

Figura 10 - Estrutura molecular do ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico))



Fonte: Torres *et al.* (2017)

3.6 Métodos de análise do perfil de compostos fenólicos

A composição fenólica da própolis é um dos parâmetros mais relevantes na avaliação da sua qualidade. Esta avaliação é frequentemente efetuada por técnicas cromatográficas, mas também espectrofotométricas, importantes para a avaliação da sua atividade biológica.

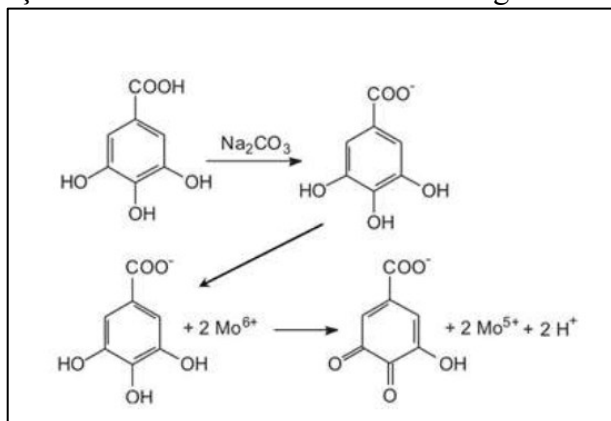
3.6.1 Fenólicos totais por método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu

O ensaio colorimétrico que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu é um método espectrofotométrico simples e baseia-se na interação das substâncias redutoras com o reagente de Folin-Ciocalteu. A composição química deste reagente inclui o ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) e ácido fosfomolibdico ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), que são reduzidos a partir dos extratos ou substâncias testadas e que, originalmente, possuem coloração amarela (Pires *et al.*, 2017).

Um meio com pH alcalino propicia que substâncias redutoras, como as substâncias fenólicas, dissociem um próton, levando à formação do ânion fenolato. Este ânion é capaz de reduzir o reagente de Folin-Ciocalteu formando óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}), como demonstrado na Figura 11 (Pires *et al.*, 2017).

Estes óxidos possuem coloração azul que é detectável na banda do espectro de 760 nm, possibilitando a quantificação dessas substâncias através da espectrofotometria. Assim, a coloração final da reação será tanto mais azul quanto maior a quantidade de substâncias redutoras ou substâncias fenólicas (Pires *et al.*, 2017).

Figura 11 - Reação de substâncias redutoras com reagente de Folin-Ciocalteu



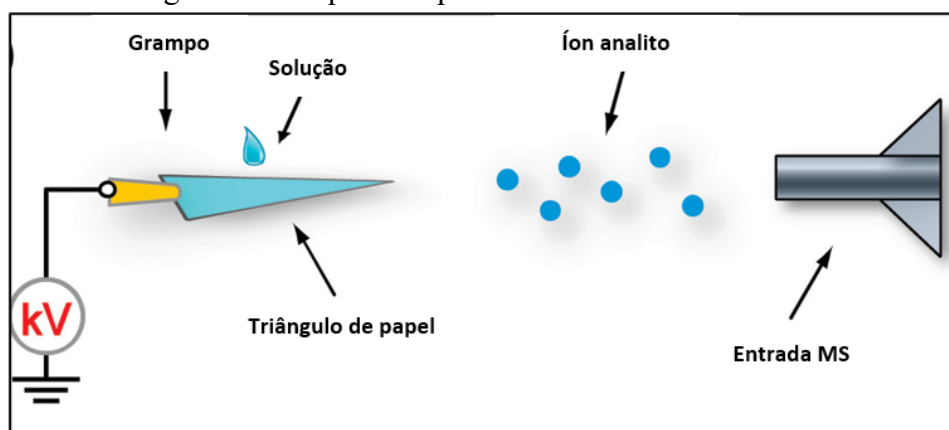
Fonte: Pires *et al.* (2017)

3.6.2 Espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (EM-PS)

A espectrometria de massa (MS) consiste na geração de íons na fonte de ionização e na separação de íons com base em sua relação massa/carga (m/z), em um analisador de massa via efeito de campo elétrico ou magnético, seguida da detecção de íons (da Silva *et al.*, 2019).

A ionização por *paper spray* (PS) é um método de ionização ambiente de amostragem direta para análise espectrométrica de massa de misturas complexas. Íons de analito são gerados pela aplicação de alta voltagem a um triângulo de papel molhado com um pequeno volume ($<10 \mu\text{L}$) de solução (Figura 12). As amostras podem ser pré-carregadas no papel, adicionadas com a solução umectante ou transferidas de superfícies usando o papel como lenço (Liu *et al.*, 2010).

Figura 12 - Esquema representativo utilizando EM-PS



Fonte: Adaptado de Liu *et al.*, (2010)

O *paper spray* gera íons em fase gasosa a partir de amostras depositadas em papel ou outro meio poroso, aplicando uma alta voltagem ao substrato úmido. A voltagem usada para ionização é de, aproximadamente, 4,5 kV no modo positivo e -3 kV no modo negativo, onde os íons gerados são protonados ($[M+H]^+$) ou desprotonados ($[M-H]^-$), respectivamente (Liu *et al.*, 2010).

Esta técnica é aplicável à análise de uma ampla variedade de substâncias, incluindo pequenos compostos orgânicos, peptídeos e proteínas (LIU *et al.*, 2010).

Após realizada a análise, a identificação de compostos químicos no EM-PS, normalmente é realizada após intensa busca manual de espectros de MS para pesquisar os íons precursores, para posteriormente combinar os padrões de fragmentação com os relatados na literatura, uma vez que os bancos de dados atualmente disponíveis são muitas vezes incompletos (Cerrato *et al.*, 2020). Desta forma, a identificação das substâncias biotivas é limitada àquelas que já foram relatados na literatura.

As informações de espectro de massa podem ser obtidas instantaneamente para analitos em concentrações de nível de traço sem a necessidade de procedimentos de separação ou pré-concentração, obtendo vantagem em relação a outros métodos, que exigem um pré-preparo complexo da amostra a ser realizada, apresentando alta versatilidade e baixo custo analítico (Manicke *et al.*, 2009).

Portanto, a espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (EM-PS) é um método que apresenta alta versatilidade e baixo custo analítico, sendo uma ferramenta eficaz pesquisa dos constituintes químicos fixos em amostras vegetais, como a própolis.

3.6.3 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC)

A cromatografia é uma técnica de separação de componentes ou solutos de uma mistura, com base nas quantidades relativas de cada soluto e na sua distribuição entre uma corrente móvel de um fluido, chamada fase móvel, e uma fase estacionária contínua. A fase móvel pode ser um líquido ou um gás, enquanto a fase estacionária é um sólido ou um líquido (Felix Ávila *et al.*, 2024).

A cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC), é a técnica mais adequada para a avaliação do perfil e composição fenólica da própolis, permitindo separar, identificar e quantificar os componentes individuais da mistura (Guzelmeric *et al.*, 2023).

Para a seleção da fase apropriada deve-se ter em atenção a polaridade das substâncias químicas e a seletividade (interações específicas com determinados grupos).

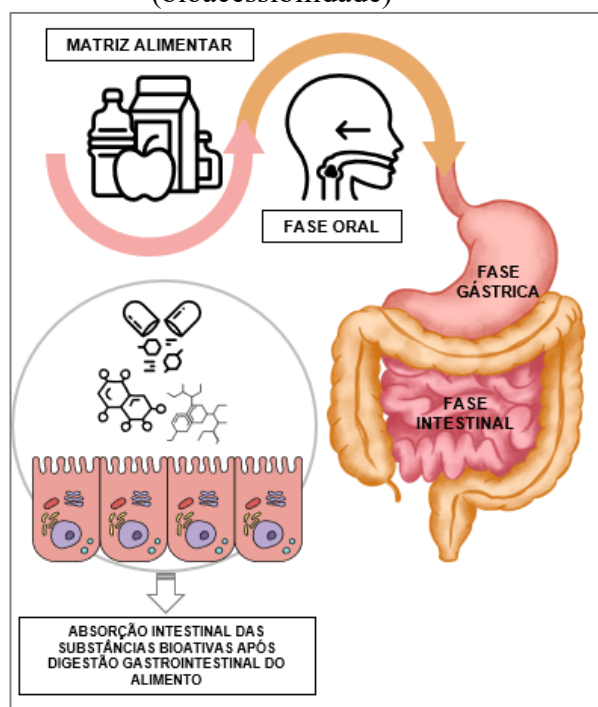
3.7 Bioacessibilidade

A biodisponibilidade e a bioacessibilidade dos polifenóis são fatores críticos que determinam sua eficácia no organismo, uma vez que essas substâncias passam por processos de absorção, metabolismo e excreção que podem influenciar sua concentração e atividade nos tecidos alvo (Rodrigues *et al.*, 2022).

A bioacessibilidade das substâncias fenólicas refere-se à fração desses compostos que é liberada dos alimentos durante o processo de digestão e torna-se disponível para absorção no trato gastrointestinal (Ribas-Agustí *et al.*, 2018). Esse conceito é fundamental para entender a eficácia dos polifenóis na promoção da saúde, uma vez que sua biodisponibilidade depende não apenas da quantidade ingerida, mas também de sua liberação e absorção.

O processo de digestão gastrointestinal, está representado na Figura 13.

Figura 13 - Ilustração do processo de digestão e absorção intestinal das substâncias bioativas (bioacessibilidade)



Fonte: Autora (2024)

Os polifenóis estão frequentemente ligados a componentes da matriz alimentar, como proteínas, fibras e carboidratos, o que pode afetar sua liberação durante a digestão (Hu *et al.*, 2023). A digestão *in vitro* tem sido amplamente utilizada como uma abordagem alternativa aos estudos *in vivo* para avaliar a bioacessibilidade das substâncias fenólicas. Esses métodos simulam as condições do trato gastrointestinal humano, incluindo a ação de enzimas digestivas,

pH variado e tempo de trânsito intestinal, permitindo a avaliação da estabilidade e da liberação dos polifenóis ao longo do processo digestivo (Santos *et al.*, 2019).

Uma vez liberados dos alimentos, essas substâncias podem ser absorvidas no intestino delgado, onde passam por extensas transformações metabólicas, incluindo conjugação com ácidos glucurônicos, sulfatação e metilação, processos que podem alterar suas atividades biológicas. A fração não absorvida continua para o intestino grosso, onde está sujeita à ação da microbiota intestinal, que pode metabolizar esses compostos em formas mais simples e, potencialmente, mais bioativas (Dima *et al.*, 2020).

A bioacessibilidade e a subsequente biodisponibilidade dos polifenóis são influenciadas por diversos fatores, incluindo a composição da matriz alimentar, o estado físico-químico dessas substâncias, e as interações com outros componentes alimentares (Park; Mun; Kim, 2018). Por exemplo, a presença de lipídios pode aumentar a solubilidade de alguns polifenóis, melhorando sua absorção (Tangsriangul; Suphantharika; McClements, 2015). Por outro lado, a presença de fibras pode reduzir a bioacessibilidade ao encapsular as substâncias fenólicas, limitando sua liberação durante a digestão (Mun; McClements, 2017).

Diante desse contexto, a bioacessibilidade dos polifenóis é um determinante crucial de sua eficácia biológica. Compreender os fatores que afetam a bioacessibilidade dos polifenóis presentes na própolis é essencial para o desenvolvimento de estratégias dietéticas e alimentares que maximizem os benefícios à saúde associados ao consumo de própolis (Chaib Saliba *et al.*, 2023).

REFERÊNCIAS

- AHMAD, S. *et al.* A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 870–890, 2019.
- AMEEN, M. *et al.* Sorghum's potential unleashed: A comprehensive exploration of bio-energy production strategies and innovations. **Bioresource Technology Reports**, v. 27, p. 101906, set. 2024.
- ANDRADE, J. K. S. *et al.* 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.
- BANERJEE, S.; BHATTACHARYA, S. Food Gels: Gelling Process and New Applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 334–346, abr. 2012.
- BATISTA, R. A. *et al.* Hydrogel as an alternative structure for food packaging systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 205, p. 106–116, 2019.
- BITTENCOURT, M. L. F. *et al.* Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Research International**, v. 76, p. 449–457, 2015.
- BORGES, M. F. **Reticulação física do hidrogel de amido por ciclos curtos de resfriamento e aquecimento na presença de glicerol para potencial uso como curativo dérmico.** Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, p. 94. 2022.
- CAO, Y.; MEZZENGA, R. Design principles of food gels. **Nature Food**, v. 1, n. 2, p. 106–118, 18 fev. 2020.
- CERRATO, A. *et al.* A new software-assisted analytical workflow based on high-resolution mass spectrometry for the systematic study of phenolic compounds in complex matrices. **Talanta**, v. 209, p. 120573, mar. 2020.
- CHAIB SALIBA, A. S. M. *et al.* Simulated gastrointestinal digestion/Caco-2 cell transport: Effects on biological activities and toxicity of a Brazilian propolis. **Food Chemistry**, v. 403, p. 134330, mar. 2023.
- CHUNG, H.-J.; WOO, K.-S.; LIM, S.-T. Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, n. 1, p. 9–15, jan. 2004.
- CONTIERI, L. S. *et al.* Standardization proposal to quality control of propolis extracts commercialized in Brazil: A fingerprinting methodology using a UHPLC-PDA-MS/MS approach. **Food Research International**, v. 161, 1 nov. 2022.
- CORREIA, V. *et al.* Impact of Gamma Irradiation on Physicochemical, Technological, Antioxidant and Microbiology Properties of Whole Sorghum Flours. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2022.

CUI, C. *et al.* Recent advances in the preparation, characterization, and food application of starch-based hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 291, p. 119624, 2022.

DA SILVA, L. C. *et al.* Paper spray ionization and portable mass spectrometers: A review. **Analytical Methods**, v. 11, n. 8, p. 999–1013, 2019.

DEREJE, B. Composition, morphology and physicochemical properties of starches derived from indigenous Ethiopian tuber crops: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, p. 911–921, set. 2021.

DE SOUZA, N. S. **Determinação do perfil de compostos fenólicos na própolis vermelha de Alagoas usando técnicas de fingerprinting (impressão digital) com LC-Orbitrap-FTMS e o software MZmine**. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas. Alagoas, p. 114. 2014.

DIMA, C. *et al.* Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by *in vitro* methods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2862–2884, 31 nov. 2020.

DOS SANTOS, J. S. *et al.* Hydrogel properties of non-conventional starches from guabiju, pinhão, and uvaia seeds. **Food Research International**, v. 173, p. 113243, 1 nov. 2023.

DURAZZO, A. *et al.* Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 9, p. 2221–2243, 29 set. 2019.

EMBRAPA. **Sorgo, o produtor pergunta a Embrapa responde. Coleção 500 perguntas, 500 respostas**. Brasília, DF. 2015. Disponível em:
<http://www.mais500p500r.sct.embrapa.br/view/pdfs/90000032-ebook-pdf.pdf>

FELIX ÁVILA, P. *et al.* Annona crassiflora suppresses colonic carcinogenesis through its antioxidant effects, bioactive amines, and phenol content in rats. **Food Research International**, v. 175, 1 jan. 2024.

FERREIRA, C. P. *et al.* Nutritional composition, phenolic compounds and biological activities of selected unconventional food plants. **Food Research International**, v. 191, p. 114643, set. 2024.

FU, Y.; JIANG, E.; YAO, Y. New Techniques in Structural Tailoring of Starch Functionality. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 117–143, 25 mar. 2022.

GANIE, S. A. *et al.* Preparation, characterization, release and antianemic studies of guar gum functionalized Iron complexes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1495–1504, 2021.

GUO, P. *et al.* Study on structure-function of starch by asymmetrical flow field-flow fractionation coupled with multiple detectors: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, p. 115330, dez. 2019.

GUO, Z. *et al.* C-type starches and their derivatives: structure and function. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1398, n. 1, p. 47–61, jun. 2017.

GUZELMERIC, E. *et al.* Comprehensive estrogenic/anti-estrogenic, anticancer, mutagenic/anti-mutagenic, and genotoxic/anti-genotoxic activity studies on chemically characterized black poplar and Eurasian aspen propolis types. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 226, 20 mar. 2023.

HAN, Z.; SHI, R.; SUN, D.-W. Effects of novel physical processing techniques on the multi-structures of starch. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 126–135, mar. 2020.

HENNINK, W. E.; VAN NOSTRUM, C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. 13–36, jan. 2002.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 18–23, dez. 2012.

HORN, M. M. **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades.** Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, p. 147. 2012.

HU, B.-H.; SU, J.; MESSERSMITH, P. B. Hydrogels Cross-Linked by Native Chemical Ligation. **Biomacromolecules**, v. 10, n. 8, p. 2194–2200, 10 ago. 2009.

HU, Y. *et al.* Bioaccessibility and bioavailability of phytochemicals: Influencing factors, improvements, and evaluations. **Food Hydrocolloids**, v. 135, p. 108165, fev. 2023.

IBGE. **IBGE prevê safra de 308,5 milhões de toneladas para 2024, com queda de 2,8% frente a 2023.** Agência IBGE notícias. 2023.

Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/38299-ibge-preve-safra-de-308-5-milhoes-de-toneladas-para-2024-com-queda-de-2-8-frente-a-2023>. Acesso em: 09/08/2024.

ISHAQ, M. I. *et al.* Sorghum starch review: Structural properties, interactions with proteins and polyphenols, and modification of physicochemical properties. **Food Chemistry**, p. 139810, maio 2024.

KHODDAMI, A. *et al.* Sorghum in foods: Functionality and potential in innovative products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 9, p. 1170–1186, 3 abr. 2023.

KISHORE, A. *et al.* Jicama (*Pachyrhizus* spp.) a nonconventional starch: A review on isolation, composition, structure, properties, modifications and its application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 258, p. 129095, fev. 2024.

KUMARI, S.; KAUR, B. P.; THIRUVALLUVAN, M. Ultrasound modified millet starch: Changes in functional, pasting, thermal, structural, *in vitro* digestibility properties, and potential food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 153, p. 110008, ago. 2024.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65–69, jan. 2002.

LI, J.; JIA, X.; YIN, L. Hydrogel: Diversity of Structures and Applications in Food Science. **Food Reviews International**, v. 37, n. 3, p. 313–372, 3 abr. 2021.

LIN, L. *et al.* Relationships between amylopectin molecular structures and functional properties of different-sized fractions of normal and high-amylose maize starches. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 359–368, jan. 2016.

LIN, Q. *et al.* Self-healing, stretchable, and freezing-resistant hydroxypropyl starch-based double-network hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, p. 116982, jan. 2021.

LIU, G. *et al.* Biotransformation and metabolite activity analysis of flavonoids from propolis *in vivo*. **Journal of Asian Natural Products Research**, p. 1–15, 25 maio 2024.

LIU, J. *et al.* Development, Characterization, and Application of Paper Spray Ionization. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 6, p. 2463–2471, 2010.

MANICKE, N. E. *et al.* High-throughput quantitative analysis by desorption electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 20, n. 2, p. 321–325, 1 fev. 2009.

MANZOOR, A. *et al.* Recent insights into polysaccharide-based hydrogels and their potential applications in food sector: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 213, p. 987–1006, 2022.

MILEO, A. M.; MICCADEI, S. Polyphenols as Modulator of Oxidative Stress in Cancer Disease: New Therapeutic Strategies. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–17, 2016.

MIRZAEI, M. *et al.* Protein-Based 3D Biofabrication of Biomaterials. **Bioengineering**, v. 8, n. 4, p. 48, 16 abr. 2021.

MUN, S.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of simulated in-mouth processing (size reduction and alpha-amylase addition) on lipid digestion and beta-carotene bioaccessibility in starch-based filled hydrogels. **LWT-Food Science and Technology**, v. 80, p. 113–120, jul. 2017.

NANGIA, S.; WARKAR, S.; KATYAL, D. A review on environmental applications of chitosan biopolymeric hydrogel based composites. **Journal of Macromolecular Science, Part A**, v. 55, n. 11–12, p. 747–763, 2 dez. 2018.

PARK, S.; MUN, S.; KIM, Y.-R. Effect of xanthan gum on lipid digestion and bioaccessibility of β -carotene-loaded rice starch-based filled hydrogels. **Food research international**, v. 105, p. 440–445, mar. 2018.

PIRES, *et al.* Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin Ciocalteu para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, 2017.

PIRES, J. *et al.* Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, 2018.

PITA-LÓPEZ, M. L. *et al.* Physically cross-linked chitosan-based hydrogels for tissue engineering applications: A state-of-the-art review. **European Polymer Journal**, v. 145, p. 110176, fev. 2021.

PYCIA, K. *et al.* Physicochemical, thermal and rheological properties of starches isolated from malting barley varieties. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 8, p. 4797–4807, 7 ago. 2015.

RANA, A. *et al.* Health benefits of polyphenols: A concise review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 46, n. 10, 13 out. 2022.

RIBAS-AGUSTÍ, A. *et al.* Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 15, p. 2531–2548, 13 out. 2018.

RODRIGUES, D. B. *et al.* Trust your gut: Bioavailability and bioaccessibility of dietary compounds. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 228–233, 2022.

RUFINO, M. DO S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SANABRIA, G. G. R. **Propriedades físico-químicas do amido isolado, estudo de parâmetros enzimáticos durante o armazenamento e caracterização de enzimas amilolíticas em raízes de maca (*Lepidium meyenii* Walp)**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 131. 2010.

SANTOS, D. I. *et al.* Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. **Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 23–54.

SEIBERT, J. B. *et al.* Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food Chemistry**, v. 287, n. October 2018, p. 61–67, 2019.

SEUNG, D.; SMITH, A. M. Starch granule initiation and morphogenesis—progress in Arabidopsis and cereals. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 3, p. 771–784, 5 fev. 2019.

SHAHINOZZAMAN, M. *et al.* Artepillin C: A comprehensive review of its chemistry, bioavailability, and pharmacological properties. **Fitoterapia**, v. 147, n. July, p. 104775, 2020.

SHI, Z. *et al.* Electroconductive natural polymer-based hydrogels. **Biomaterials**, v. 111, p. 40–54, 2016.

SHRESTHA, A. K. *et al.* Molecular, mesoscopic and microscopic structure evolution during amylase digestion of maize starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 1, p. 23–33, set. 2012.

- SILVA, E. M. S. *et al.* Sorghum starch as depressant in mineral flotation: part 1 – extraction and characterization. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 1, p. 396–402, 2019.
- SINGH, N. *et al.* Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219–231, maio 2003.
- SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1845, 15 fev. 2023.
- TANGSRIANUGUL, N.; SUPHANTHARIKA, M.; MCCLEMENTS, D. J. Simulated gastrointestinal fate of lipids encapsulated in starch hydrogels: Impact of normal and high amylose corn starch. **Food research international**, v. 78, p. 79–87, 1 dez. 2015.
- TAVARES, L. *et al.* Propolis: Encapsulation and application in the food and pharmaceutical industries. **Trends in Food Science & Technology**, v. 127, p. 169–180, set. 2022.
- TORRES *et al.* Ensaio do potencial antioxidante de extratos de algas através do sequestro do ABTS•+ em microplaca. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, 2017.
- URREA-VICTORIA, V. *et al.* Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, n. Abril 2018, p. 1–6, 2016.
- VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E. Structure-function relationships of starch components. **Starch - Stärke**, v. 67, n. 1–2, p. 55–68, jan. 2015.
- VIEIRA, A. L. S. *et al.* Starch-based hydrogels: current status and applications in food. **Contribuciones a las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 11, p. 28707–28727, 29 nov. 2023.
- WANG, S. *et al.* Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, set. 2015.
- WATERSCHOOT, J. *et al.* Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch - Stärke**, v. 67, n. 1–2, p. 14–29, jan. 2015.
- WIECZOREK, P. P. *et al.* Chemical Variability and Pharmacological Potential of Propolis as a Source for the Development of New Pharmaceutical Products. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1600, 28 fev. 2022.
- YANG, N. *et al.* The relationship between molecular structure and film-forming properties of thermoplastic starches from different botanical sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123114, mar. 2023.
- YAN, X. *et al.* Recent advances in the impact of gelatinization degree on starch: Structure, properties and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 340, p. 122273, set. 2024.

YUAN, M. *et al.* A comparative study between Chinese propolis and Brazilian green propolis: metabolite profile and bioactivity. **Food & Function**, v. 11, n. 3, p. 2368–2379, 2020.

ZHANG, X. *et al.* Rheological, thermal properties, and gelatinization kinetics of tapioca starch-trehalose blends studied by non-isothermal DSC technology. **Starch - Stärke**, v. 64, n. 12, p. 996–1002, dez. 2012.

ZHAO, D. *et al.* Recent advances in the fabrication, characterization and application of starch-based materials for active food packaging: hydrogels and aerogels. **Sustainable Food Technology**, v. 2, n. 3, p. 615–634, 2024.

ZHU, F. Structure, Physicochemical Properties, Modifications, and Uses of Sorghum Starch. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 597–610, jul. 2014.

CAPÍTULO I

Artigo publicado: VIEIRA, A. L. S. *et al.* Starch-based hydrogels: current status and applications in food. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 11, p. 28707–28727, 29 nov. 2023. DOI: <https://doi.org/10.55905/revconv.16n.11-237>

Disponível em: <https://ojs.revistacontribuciones.com/ojs/index.php/clcs/article/view/3360>

Hidrogéis à base de amido: status atual e aplicações em alimentos, uma revisão integrativa

RESUMO

Hidrogel é um gel formado por uma rede tridimensional de polímeros e copolímeros hidrofílicos, amplamente utilizado com diferentes finalidades na indústria têxtil, farmacêutica, cosmética, biomédica e de alimentos. A utilização de hidrogéis de amido em aplicações alimentícias está em crescimento, podendo ser utilizado principalmente como sistema de controle de liberação de compostos bioativos, ingrediente para impressão 3D de alimentos e em filmes bioativos. A presente revisão integrativa teve como objetivo trazer o cenário atual do desenvolvimento de hidrogéis à base de amido e sua utilização na área de alimentos. Foram selecionados estudos publicados no período de 2011 a 2021, disponíveis na íntegra, publicados em português, inglês ou espanhol. Foram encontrados 631 estudos nas bases de dados pesquisadas. Destes, 599 foram excluídos e 32 selecionados. Os estudos revelaram que o desenvolvimento de hidrogéis de amido têm aumentado cada vez mais, sendo amplamente discutido atualmente, com relevância para a aplicação na área de alimentos.

Palavras-chave: aplicações tecnológicas; biopolímero; géis alimentares.

1. INTRODUÇÃO

Hidrogéis são redes de polímeros reticulados com elevada propriedade higroscópica. Sua formação ocorre a partir de macromoléculas física ou quimicamente reticuladas, dando origem a uma rede tridimensional com alta capacidade de retenção de moléculas de água ou outros fluidos biológicos, sem que ocorra a sua desintegração, formando assim estruturas interligadas fortes e estáveis, devido às interações físicas ou através das ligações covalentes formadas (Ismail; Irani; Ahmad, 2013; Koev *et al.*, 2020; Larrea-Wachtendorff; Sousa; Ferrari, 2020).

Nos hidrogéis, a rede é formada pela reação simples de um ou mais polímeros, que são reticuladas por diferentes mecanismos, como ligações covalentes e de hidrogênio, forças de van der Waals ou apenas por interações físicas. Assim, os hidrogéis podem conter uma grande quantidade de água dentro de sua estrutura devido à presença de grupos hidrofílicos nos agentes estruturantes (tais como $-OH$, $-CONH-$, $-CONH_2$, $-COOH$ e $-SO_3H$) (Ahmed, 2015; Flory, 1953; Kamath; Park, 1993).

Os hidrogéis podem ser produzidos à base de polímeros sintéticos (poli(álcool vinílico) (PVA); polimetacrilato de metila (acrílico); poliestireno; policloreto de vinila (PVC); polietileno e polipropileno), naturais (amido; celulose; quitosana; goma xantana; pectina) ou a mistura dos dois. Sua aplicação é dependente da definição do polímero utilizado, de acordo com as suas propriedades. A preparação de hidrogéis à base de polímeros sintéticos obtém grande desvantagem, por serem geralmente derivados de petróleo e apresentarem baixa degradabilidade e não regenerabilidade (Xiao, 2013).

Nos últimos anos, o interesse em desenvolver hidrogéis à base de polímeros naturais aumentou consideravelmente entre os pesquisadores e a indústria, visto que esses materiais são biodegradáveis, levando ao seu desenvolvimento sustentável, com impactos ecológicos mínimos. Além disso, as cadeias moleculares de polímeros naturais, distribuem grupos hidrofílicos (como grupos hidroxila), melhorando as propriedades hidrofílicas e de biocompatibilidade, o que faz com que esses hidrogéis se tornem promissores para variadas aplicações. Entre os biopolímeros, os polímeros à base de amido deram um passo importante para o desenvolvimento de hidrogéis (Niranjana Prabhu; Prashantha, 2018; Zhu *et al.*, 2015).

Recentemente métodos alternativos para a formação de hidrogéis têm sido amplamente estudados, a fim de responder à crescente demanda por processos ecologicamente sustentáveis, como por exemplo a oxidação do amido por ozônio, modificação física do amido por tratamento de aquecimento a seco (DHT) e por homogeneizador de cisalhamento de alta velocidade (Koev

et al., 2020; Lima *et al.*, 2020; Lima, Maniglia *et al.*, 2020; Tangsrianugul; Suphantharika; McClements, 2015). Esses métodos superam os convencionais em suas principais limitações como longa duração do processo e alto custo (Larrea-Wachtendorff; Sousa; Ferrari, 2020).

Os hidrogéis são candidatos promissores à variadas aplicações tecnológicas, devido à estrutura e organização complexa e heterogênea (Koev *et al.*, 2020). Géis hidrofílicos para uso biológico, foi relatado pela primeira vez em 1960 (Wichterle; Lím, 1960).

A partir de então, os hidrogéis foram amplamente estudados e aplicados, com diferentes finalidades, como em fraldas descartáveis, aditivos para solo na agricultura, biosensores (Park *et al.*, 2012), adsorventes de metais pesados (Zhu *et al.*, 2015), liberação controlada de drogas ou proteínas, antimicrobianas (Zhang *et al.*, 2011), estruturas tridimensionais para a adesão e proliferação celular, engenharia de tecidos e medicina regenerativa (Hu *et al.*, 2019), em indústrias de papel, têxtil, plástica, cosmética, adesiva e farmacêutica (Liu *et al.*, 2017).

O amido é um material de interesse para ser empregado na produção de hidrogéis devido ao seu baixo custo e biocompatibilidade (Koev *et al.*, 2020). Por ser amplamente acessível, renovável e biodegradável, além de suas propriedades físico-químicas, reológicas e bioquímicas, é capaz de formar uma matriz contínua com potencial para se tornar a força de reserva de materiais sustentáveis. Para atender aos requisitos específicos de suas aplicações, diferentes técnicas de modificação, tais como métodos físicos, químicos e enzimáticos, têm sido empregados para aumentar ou inibir suas propriedades inerentes ou para dotar propriedades específicas do amido (Liu *et al.*, 2017). Com isso, o amido torna-se promissor para o desenvolvimento de materiais ecologicamente sustentáveis (Biduski *et al.*, 2018; Xiao, 2013; Zhu *et al.*, 2015).

Ainda mais recente é a sua utilização na indústria de alimentos. Nos últimos dez anos, diferentes tipos de hidrogéis à base de amido vêm sendo desenvolvidos para aplicações alimentícias, em encapsulação promovendo a liberação controlada de compostos bioativos, incorporação de beta caroteno e avaliação da bioacessibilidade no trato gastrointestinal (Guedes Silva *et al.*, 2021; Mun *et al.*, 2015, 2016; Mun; Kim; McClements, 2015; Park; Mun; Kim, 2018), encapsulação e controle de liberação de compostos antioxidantes (Doosti *et al.*, 2019; Huamán-Leandro *et al.*, 2020; Kulkarni; Sinha; Kumar, 2014; López Córdoba; Deladino; Martino, 2013), sistema de entrega de probióticos (Dafe *et al.*, 2017) e controle de liberação de corante amarelo em alimentos (Soares *et al.*, 2021).

Hidrogéis produzidos em diferentes estudos, foram desenvolvidos com potencial aplicação de impressões 3D de alimentos (Lima, Maniglia *et al.*, 2020; Maniglia *et al.*, 2019), produção de "tinta" para impressão 3D de alimentos (Maniglia *et al.*, 2020). A impressão 3D

visa construir um objeto tridimensional a partir de um modelo de design auxiliado por computador. A impressão (3D) aplicada a alimentos tem um potencial único para criar estruturas geométricas complexas, permitindo a produção em massa ao mesmo tempo que traz benefícios econômicos e ambientais, permitindo criar alimentos personalizados a partir de propriedades específicas relacionadas às necessidades nutricionais, ingestão calórica, forma, textura, cor ou sabor específicos, por exemplo (Le-Bail; Maniglia; Le-Bail, 2020).

Filmes bioativos à base de hidrogéis de amido também têm sido amplamente estudados, com o objetivo de conservar os alimentos (Bekhit *et al.*, 2018; Shahbazi; Majzoobi; Farahnaky, 2018; Sharmin *et al.*, 2020; Soukoulis *et al.*, 2016).

O futuro dos materiais à base biopolímeros é mostrar que fontes naturais, por serem renováveis e utilizadas de maneira sustentável, com menores impactos ao meio ambiente, podem superar o uso de polímeros sintéticos derivados do petróleo. A aplicação de hidrogéis obtidos de polissacarídeos na indústria de alimentos está em constante aumento, devido à alta demanda de materiais naturais e ambientalmente compatíveis (Huamán-Leandro *et al.*, 2020; López Córdoba; Deladino; Martino, 2013).

Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi revisar estudos que investigaram as aplicações de hidrogéis de amido em alimentos.

2. METODOLOGIA

Trata-se de revisão integrativa da literatura, que visou responder à seguinte pergunta: “*Quais as aplicações de hidrogéis de amidos em alimentos?*”.

A primeira etapa desta pesquisa consistiu na elaboração da pergunta norteadora e através desta, foram realizadas buscas em bases de dados de artigos científicos PUBMED (US National Library of Medicine), Science Direct e Web of Science. Os dados foram coletados nos meses de janeiro e fevereiro de 2020.

2.1 Estratégia de pesquisa

Inicialmente, foram realizadas buscas exploratórias nestas bases de dados com os termos: “starch”, “hydrogel or hydrogels”, para recuperação dos assuntos na literatura. Os descritores e as palavras-chaves foram combinados entre si com a utilização dos operadores booleanos AND e OR e assim foi definida a estratégia de busca a ser utilizada em cada plataforma (Tabela 1).

Tabela 1 - Estratégias de busca definida para utilização nas bases de dados.

Base de dados	Estratégia de busca
<i>PUBMED</i>	"starch"[Title/Abstract] AND "hydrogel"[Title/Abstract]
<i>Web of science</i>	TÓPICO: (starch) AND TÍTULO: (hydrogels)
<i>Science Direct</i>	Title, abstract, keywords: starch AND hydrogels

Fonte: Autores (2021)

2.2 Critérios de seleção

Para inclusão dos artigos, foram adotados os seguintes critérios: estudos disponíveis na íntegra; publicados no período de 2011 a 2021, sendo que este período foi estipulado visando a análise de técnicas ainda aplicadas atualmente e que não ficaram defasadas, nos idiomas português, inglês ou espanhol, sobre hidrogéis de amidos de fontes convencionais e não convencionais, com aplicações tecnológicas em alimentos. Os critérios de exclusão utilizados na seleção foram: estudos de métodos de produção do hidrogel, sem aplicação tecnológica definida e de hidrogéis formados de outras fontes, que não amido; estudos de caracterização química, morfológica, propriedades térmicas dos amidos e hidrogéis; aplicação em fármacos e biomédica.

2.3 Análise dos dados

Em relação à seleção dos artigos, duas etapas foram realizadas. Na primeira etapa, foi feita a leitura de títulos e resumos dos estudos encontrados em cada plataforma e com isso, foi feita a recuperação dos mesmos, bem como a exclusão de duplicatas, com o auxílio de software gerenciador de referências Mendeley e a elaboração de tabela contendo título, resumo e palavras chave dos estudos selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão descritos acima, com auxílio do *software Microsoft office Excel*. Já para a segunda etapa, os artigos selecionados na primeira fase, foram lidos na íntegra e foi feito um fichamento dos mesmos, com base em uma seleção criteriosa, contendo as informações: título, ano de publicação, periódico, autores, tipo de estudo e modificação, principais resultados e aplicações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

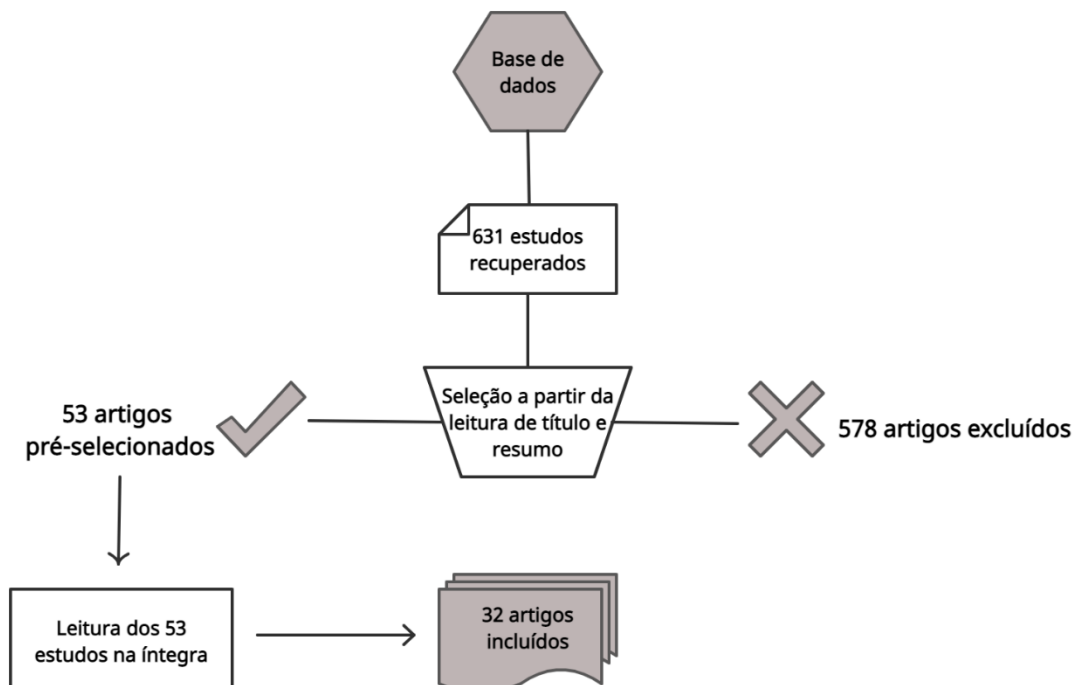
Foram encontrados 176 artigos na base de dados PubMed, 225 na Web of Science e 227 na Science Direct, totalizando 631 artigos (Tabela 2).

Tabela 2 - Trabalhos recuperados em pesquisa nas bases de dados.

Base de dados	Número de trabalhos	Total
<i>PubMed</i>	176	
<i>Web of science</i>	225	631
<i>Science Direct</i>	227	

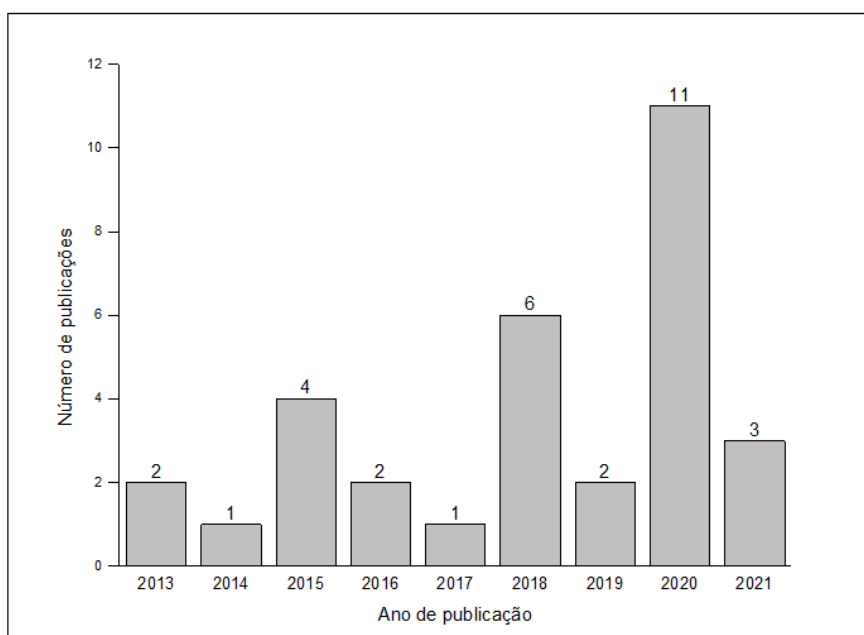
Destes estudos, 578 foram excluídos por meio da análise do título e resumo, por não responderem à pergunta norteadora da revisão ou por estarem duplicados nas bases de dados e 53 foram lidos na íntegra. Ao final, 32 artigos foram selecionados para compor a presente revisão, sobre as aplicações de hidrogéis de amido em alimentos, publicados entre os anos de 2013 e 2021 e redigidos em língua inglesa. O processo de seleção está apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma do critério de seleção dos estudos



A distribuição dos estudos por ano de publicação está apresentada na Figura 2.

Figura 2 - Número de artigos por ano de publicação



Fonte: Autores (2021)

Dos 32 artigos selecionados, todos tratam-se de estudos experimentais. Destes, 13 são sobre hidrogéis como materiais encapsulantes para a proteção e controle de liberação de substância bioativas (Doosti *et al.*, 2019; Guedes Silva *et al.*, 2021; Huamán-Leandro *et al.*, 2020; Jain; Winuprasith; Supphantharika, 2020; Kang *et al.*, 2021; Kulkarni; Sinha; Kumar, 2014; López Córdoba; Deladino; Martino, 2013; Meng *et al.*, 2020; Mun; Kim; McClements, 2015; Mun; McClements, 2017; Park; Mun; Kim, 2018; Silva *et al.*, 2020; Wu; McClements, 2015), 5 sobre o desenvolvimento de filmes para conservação de alimentos (Bekhit *et al.*, 2018; Shahbazi; Majzoobi; Farahnaky, 2018; Sharmin *et al.*, 2020; Soukoulis *et al.*, 2016; Tosati *et al.*, 2018) e 4 produziram hidrogéis a base de amido para aplicação em impressão 3D de alimentos (Lima *et al.*, 2020; Lima, Maniglia *et al.*, 2020; Maniglia *et al.*, 2019, 2020).

Os demais estudos avaliados, propuseram aplicações mais diversificadas sendo elas: um para aplicação do hidrogel de amido como sistema de controle de liberação de corante em alimentos (Soares *et al.*, 2021), um sobre o desenvolvimento de hidrogel como sistema de entrega de probióticos (Dafe *et al.*, 2017), um sobre a produção de um sistema de liberação de lipídeos (ácidos graxos) do leite (Huang *et al.*, 2020), um sobre o desenvolvimento de ingrediente gelificante de baixo índice glicêmico para aplicação em alimentos e bebidas (Liu *et al.*, 2020), um sobre a produção de um hidrogel funcional para aplicação em alimentos (Torres *et al.*, 2020), um sobre o desenvolvimento de hidrogel funcional com aplicação em alimentos e

bebidas para controle do índice glicêmico (Liu *et al.*, 2018), um sobre o desenvolvimento de partículas de hidrogel preenchidas com óleo como substitutos de gordura ou amido em alimentos (Chung; Degner; McClements, 2013), um sobre a formação de xerogel com potencial utilização como um petisco de cereal comestível (Ratish Ramanan; Rifna; Mahendran, 2018) e um sobre o desenvolvimento de matéria alimentar com o objetivo de diminuir a digestão lipídica para aplicação em alimentos funcionais (Tangsrirugul; Supphantharika; McClements, 2015).

A síntese dos resultados está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Síntese dos estudos selecionados

Amido	Método de formação do hidrogel	Aplicação	Referência
Amido solúvel comercial	Amido modificado pelo uso de ácido fumárico. Hidrogel super paramagnético à base de amido enxertado com ácido fumárico. Incorporação da quercetina (flavonoide antioxidante) no hidrogel e a liberação foi analisada <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .	A sustentabilidade e a biodisponibilidade da quercetina aumentaram nos ratos. De acordo com o estudo <i>in vivo</i> , este hidrogel pode aumentar a sustentabilidade do Quercetina no plasma e retardar sua liberação, bem como aumentar a manutenção hepática.	Doosti <i>et al.</i> , (2019)
Batata	O amido de batata nas formas gelatinizada e nativa foi usado em sistemas de encapsulação. o β -caroteno foi incorporado em hidrogéis preenchidos com emulsão composta por alginato, gelatina e amido (nativo e gelatinizado). Microgéis preenchidos com emulsão foram obtidos por atomização.	Os resultados apontam para possíveis aplicações do caroteno encapsulado em alimentos ácidos ou sujeitos a oscilações de temperatura após a fabricação, aumentando sua vida útil e permitindo entrega controlada.	Guedes Silva <i>et al.</i> , (2021)
Batata	Amido de batata como agente gelificante. Autohidrólise.	Elaboração de hidrogel bioativo com extrato de cogumelo. Hidrogéis funcionais com atraentes características reológicas oferece novas possibilidades potenciais para a valorização dos extratos de <i>Lentinus edodes</i> .	Huamán-Leandro <i>et al.</i> , (2020)
Arroz	Amido de arroz duplamente modificado (desramificação enzimática e métodos de esterificação OSA)	O amido de arroz modificado pode ser usado como um material inovador de qualidade alimentar para o projeto de diferentes sistemas de liberação para melhorar a estabilidade química do licopeno e sua liberação controlada no trato gastrointestinal.	Jain; Winuprasith; Supphantharika, (2020)
Arroz	Modificação enzimática, emulsão carregada de curcumina para produzir hidrogéis preenchidos	As aplicações possíveis incluem um transportador biocompatível para administração oral de ingredientes alimentares funcionais sensíveis e em revestimentos de alimentos funcionais e materiais de embalagem para aumentar a vida útil de produtos alimentícios	Kang <i>et al.</i> , (2021)

Amido	Método de formação do hidrogel	Aplicação	Referência
Semente de <i>Lagenaria siceraria</i>	Grânulos de hidrogel de alginato de Ca de extrato de fruta <i>Lagenaria siceraria</i>	A aplicação desta tecnologia melhoraria a estabilidade do extrato de frutas <i>Lagenaria siceraria</i> em produtos farmacêuticos e alimentícios antioxidantes.	Kulkarni; Sinha; Kumar, (2014)
Milho	Hidrogéis formulados por gelificação iônica. Os hidrogéis de alginato de cálcio-amido (CAS) foram obtidos pela adição de diferentes concentrações de amido de milho comercial	Os hidrogéis reforçados com grânulos de amido de milho melhoraram o sistema clássico de alginato de cálcio, levando a uma estratégia promissora para proteger e fornecer antioxidantes de erva-mate em produtos alimentícios.	López Córdoba; Deladino; Martino, (2013)
Tapioca	Esterificação do amido de tapioca com anidrido maleico	Encapsulamento de curcumina (proteção de substâncias bioativas)	Meng <i>et al.</i> , (2020)
Arroz	O β -caroteno foi incorporado em três tipos de sistema de entrega: (I) "emulsões": gotículas de gordura revestidas de proteína dispersas em água; (II) "hidrogéis": géis de amido de arroz; e (III) "hidrogéis preenchidos": gotículas de gordura revestidas de proteína dispersas em géis de amido de arroz.	A bioacessibilidade do β -caroteno foi maior em hidrogéis preenchidos do que em emulsões. Produtos de gel à base de amido de arroz fortificados com nutracêuticos lipofílicos.	Mun; Kim; McClements, (2015)
Arroz, feijão mungu	Emulsão de óleo para a dispersão do beta caroteno. Preparação de hidrogéis preenchidos.	Desenvolvimento de produtos alimentícios funcionais à base de amido fortificados com componentes bioativos lipofílicos que podem melhorar a saúde e o bem-estar humano. Fortificação de produtos gelificados à base de amido com nutracêuticos lipofílicos.	Mun <i>et al.</i> , (2015)
Arroz	Hidrogéis de amido de arroz, beta caroteno encapsulados em gotículas de lipídeos que foram carregados em hidrogéis de amido de arroz contendo diferentes níveis de metilcelulose.	Controlar o destino gastrointestinal de nutracêuticos para melhorar a sua eficácia. Alimentos funcionais com melhores benefícios nutricionais.	Mun <i>et al.</i> , (2016)
Arroz	Mistura de amido de arroz e goma xantana	Digestão de lipídeos e bioacessibilidade do beta caroteno encapsulado; produtos alimentícios com gel fortificado com nutracêuticos lipofílicos	Park; Mun; Kim, (2018)
Batata	Produção de microgéis em função do pH por gelificação iônica, revestidos de alginato e gelatina	Comprovou a capacidade dos sistemas de encapsulação em promover a distribuição direcionada de compostos bioativos. O revestimento pode ser posteriormente funcionalizado pela inclusão de ingredientes bioativos ou nutracêuticos, ampliando sua aplicabilidade	Silva <i>et al.</i> , (2020)
Amido comercial modificado	Produção de microesferas de hidrogel a partir de gelatina e Amido modificado com anidrido octenil succínico (amido OSA).	Potencial aplicação para modificar a textura de produtos alimentícios e para encapsular o sabor ou compostos bioativos.	Wu; McClements, (2015)
Milho	Microesferas de hidrogel de amido de milho e alginato-pectina	Produção de filmes bioativos para a conservação de alimentos.	Bekhit <i>et al.</i> , (2018)

Amido	Método de formação do hidrogel	Aplicação	Referência
Milho	Grânulos de amido de milho fisicamente modificados por meio de um homogeneizador de cisalhamento de alta velocidade. Produção de hidrogel e filme.	Produção de filme com boas propriedades funcionais, melhorando a resistência à água e a propriedade de barreira à água, com potencial de aplicação no setor de embalagens de alimentos.	Shahbazi; Majzoobi; Farahnaky, (2018)
Milho	Hidrogel à base de álcool polivinílico / amido de milho / polioliol de linhaça carregado com nanopartículas de prata biossintetizadas. Preparação de filme.	Embalagens antimicrobianas.	Sharmin <i>et al.</i> , (2020)
Arroz, Milho	Hidrogéis comestíveis (amido de arroz ou milho), gelatina, caseinato de sódio	Incorporação em filmes comestíveis probióticos	Soukoulis <i>et al.</i> , (2016)
Mandioca	Amido de mandioca, curcumina, gelatina. Revestimento antimicrobiano comestível	A combinação de revestimentos de hidrogéis carregados com curcumina e luz UV-A tem grande potencial como revestimentos antimicrobianos para prevenir a contaminação cruzada de <i>L. innocua</i> em salsichas refrigeradas	Tosati <i>et al.</i> , (2018)
Mandioca	Tratamento de aquecimento a seco (DHT)	Impressão 3D de alimentos	Lima, Maniglia <i>et al.</i> , (2020)
Trigo	Amido de trigo modificado por aquecimento a seco (DHT)	Formação de hidrogel para serem utilizados como "tinta" para impressão 3D de alimentos	Maniglia <i>et al.</i> , (2020)
Mandioca	Oxidação do amido por ozônio	Impressão 3D de alimentos	Maniglia <i>et al.</i> , (2019)
Mandioquinha Salsa	Amido de mandioquinha salsa, modificado por tecnologia de ozônio, formação de hidrogéis	O amido de mandioca ozonizado apresentou géis mais duros que a amostra nativa, o que é promissor para uso industrial, uma vez que géis mais fortes são desejados para produtos como sobremesas, balas de geleia e produtos cárneos (linguiças). Além disso, géis de amido com maior firmeza têm despertado interesse na aplicação de impressão 3D de alimentos, apresentando melhor printabilidade	Lima <i>et al.</i> , (2020)
Amido solúvel comercial	Mistura de amido solúvel e quitosana	Controle de liberação de corante amarelo (INS 110). Retenção ou liberação de compostos bioativos ou aditivos alimentares	Soares <i>et al.</i> , (2021)
Milho	Fabricação de novas partículas de hidrogel de qualidade alimentar à base de pectina e amido de milho para entrega de probiótico. Hidrogéis de pectina / amido foram preparados pelo método de gelificação externa em várias razões de pectina / amido	Fabricação de produtos funcionais à base de probióticos com o objetivo de melhorar a saúde do corpo humano, os resultados desta investigação oferecem substratos potenciais para a entrega eficaz de culturas probióticas como um alimento funcional.	Dafe <i>et al.</i> , (2017)

Amido	Método de formação do hidrogel	Aplicação	Referência
Milho, trigo, arroz	Três tipos de géis de amido; liberação de ácidos graxos livres por um modelo de reações múltiplas	Este estudo oferece uma maneira viável de manipular a digestibilidade dos lipídios do leite por estabilização com géis de amido. Os resultados fornecem meios úteis para a fabricação de novas matrizes lipídicas para encapsular nutracêuticos lipofílicos ou para aumentar a digestibilidade dos lipídios do leite em alimentos energéticos.	Huang <i>et al.</i> , (2020)
Milho	Amido de milho desramificado, com diferentes graus de desramificação foram investigados para revelar os efeitos das interações moleculares sobre sua digestibilidade e propriedades do hidrogel.	Grande potencial na preparação de hidrogéis estáveis como ingredientes gelificantes e turvantes de baixo índice glicêmico na indústria de alimentos: alimentos e bebidas com funcionalidades ou propriedades definidas.	Liu <i>et al.</i> , (2020)
Batata	Produção de hidrogéis de amido de batata integral	Produção de hidrogéis bioativos para aplicação em alimentos	Torres <i>et al.</i> , (2020)
Milho	Amido de milho ceroso desramificado enzimaticamente (DBWS).	Aplicações potenciais do DBWS em alimentos e bebidas com qualidade estável, devido à sua digestibilidade e propriedades de hidrogel. A digestão prolongada e a absorção de amido são preferíveis não apenas no controle glicêmico de longo prazo, mas também em indivíduos saudáveis, pois afeta favoravelmente, uma série de fatores fisiológicos.	Liu <i>et al.</i> , (2018)
Milho	Amido de milho modificado, caseinato de sódio, óleo de canola. Partículas de hidrogel preenchidas com óleo formadas em misturas de amido e gordura	Formulação de produtos alimentícios à base de emulsão de calorias reduzidas com atributos físicos e sensoriais aprimorados.	Chung; Degner; McClements, (2013)
Trigo	Hidrogel de farinha de trigo. Formação de xerogel.	O xerogel obtido a partir da farinha de trigo pode ser usado como um petisco de cereal comestível. A estrutura do gel pode ser uma alternativa à estrutura tradicional da massa para algumas funcionalidades em sistemas alimentares. O xerogel desenvolvido pode ser impregnado com componentes bioativos no desenvolvimento de alimentos funcionais e nutracêuticos	Ratish Ramanan; Rifna; Mahendran, (2018)
Milho	Amido de milho normal (nativo), amido alto teor de amilose (amido resistente) em comparação para a formação de hidrogéis	Projetar alimentos funcionais que podem diminuir a taxa de digestão de lipídios e, portanto, controlar os níveis de triacilglicerol sérico, desenvolvimento de alimentos funcionais para melhoria da saúde. Desenvolvimento de alimentos funcionais para combater o diabetes.	Tangsriangul; Supphantharika; McClements, (2015)

Fonte: Autores (2021)

3.1 Aplicações de hidrogéis de amido em alimentos

A análise dos resultados dos estudos incluídos na elaboração da presente revisão integrativa, permitiu demonstrar o elevado potencial de hidrogéis produzidos à base de amido, em diferentes aplicações de alimentos, que serão descritos abaixo.

3.1.1 Encapsulação e controle de liberação de substâncias bioativas em hidrogéis

A análise dos estudos que desenvolveram hidrogéis como sistema para encapsular e controlar a liberação de substâncias bioativas identificou que esse material foi preparado utilizando fontes variadas de amido (convencionais e não convencionais).

Doosti *et al.*, (2019) utilizaram amido solúvel comercial para a preparação de um hidrogel e incorporaram quercetina, um flavonoide antioxidante, e a liberação dessa substância foi analisada *in vivo* e *in vitro*, concluindo que a biodisponibilidade aumentou em ratos e a liberação dos compostos antioxidantes foi retardada pelo sistema de hidrogel.

Guedes Silva *et al.*, (2021) produziram microgéis compostos de amido de batata, alginato e gelatina e foi feita a incorporação de β -caroteno, propondo possíveis aplicações dessa substância encapsulada em alimentos ácidos, visto que o hidrogel permitiu controlar a entrega e aumentar a vida útil do beta caroteno. Huamán-Leandro *et al.*, (2020) realizaram a extração de componentes com propriedades antioxidantes, de cogumelo (*Lentinus edodes*) e incorporaram ao hidrogel de amido de batata, propondo então o desenvolvimento de um hidrogel funcional, bioativo, carregado de um composto com elevada capacidade antioxidante, para aplicações alimentícias.

Em outro estudo, o amido de arroz foi empregado duplamente modificado por desramificação enzimática e esterificação, com o objetivo de produzir um hidrogel como sistema de liberação controlada para melhorar a estabilidade do licopeno no trato gastrointestinal (Jain; Winuprasith; Suphantharika, 2020). Kang *et al.*, (2021) também produziram hidrogel à base de amido de arroz e realizaram a incorporação de curcumina e propuseram as seguintes aplicações: transportador biocompatível para administração oral de ingredientes alimentares funcionais e como revestimento para alimentos.

Grânulos de hidrogel de alginato de cálcio e extrato da fruta *Lagenaria siceraria* foram produzidos, com o objetivo de melhorar a estabilidade deste extrato em produtos alimentícios com propriedades antioxidantes (Kulkarni; Sinha; Kumar, 2014). Outro estudo preparou hidrogéis utilizando também o alginato de cálcio em sua composição, mas com amido de milho e incorporaram extrato de erva-mate. Este sistema foi proposto para aplicações promissoras

com o objetivo de proteger e fornecer antioxidantes de erva-mate em alimentos (López Córdoba; Deladino; Martino, 2013).

Amido de tapioca modificado foi utilizado para a produção de um hidrogel como material encapsulante de proteção de substâncias bioativas, fornecendo uma base teórica para sua aplicação em alimentos, como o encapsulamento de curcumina (Meng *et al.*, 2020).

Em estudo com a preparação de hidrogel à base de amido de arroz, Mun *et al.*, (2015) examinaram a influência da incorporação de β -caroteno e sua bioacessibilidade, usando um sistema simulado do trato gastrointestinal. A aplicação do hidrogel desenvolvido foi proposta para produtos fortificados como nutracêuticos lipofílicos. Amidos de arroz e de feijão mungu, com emulsão de óleo, foram bases para a preparação de hidrogéis preenchidos. A aplicação proposta foi a utilização desse sistema em produtos alimentícios funcionais com componentes bioativos lipofílicos (Mun *et al.*, 2015).

Mun *et al.*, (2016) realizaram o encapsulamento de β -caroteno em hidrogéis a base de amido de arroz e metilcelulose, com o objetivo de controlar o destino gastrointestinal dessa substância. O sistema desenvolvido demonstrou-se útil para a utilização em alimentos funcionais. Em outro estudo, foi elaborado um hidrogel de amido de arroz e goma xantana, como objetivo de encapsular β -caroteno e a aplicação desse sistema em nutracêuticos lipofílicos foi proposta (Park; Mun; Kim, 2018).

Silva *et al.*, (2020) realizaram um ensaio de digestão *in vitro* de microgéis compostos de amido de batata, alginato e gelatina. Os autores concluíram que estes microgéis forneceram proteção extra durante a digestão, o que demonstra a capacidade dos sistemas de encapsulação de promover a distribuição direcionada de compostos bioativos.

A produção de microesferas de hidrogel a partir de gelatina e amido comercial modificado foi realizada, demonstrando potencial aplicação em produtos alimentícios, com o objetivo de modificar a textura e de encapsular o sabor ou compostos bioativos (Wu; McClements, 2015).

Os estudos apresentados comprovam que tem havido recentemente, um considerável interesse na utilização de materiais naturais e de qualidade para o encapsulamento de diferentes compostos bioativos. De acordo com os dados apresentados, foi possível elucidar os benefícios em desenvolver sistemas de liberação coloidal adequados, de fontes naturais, com a capacidade de liberar os compostos encapsulados no local apropriado no corpo humano após a ingestão, sem causar efeitos indesejáveis à saúde.

3.1.2 Desenvolvimento de filmes

Hidrogéis de amido podem ser também utilizados no revestimento de alimentos e produção de embalagens bioativas. Na presente revisão, diferentes estudos produziram estes materiais, com essa finalidade.

Bekhit *et al.*, (2018) produziram filmes com microesferas de hidrogel de amido de milho e alginato-pectina, como transportadores de células bacterianas de *Lactococcus lactis*. Estes filmes contendo cultura bioativa encapsulada foi capaz de inibir completamente o crescimento listerial durante os primeiros cinco dias de armazenamento. Em estudo que também utilizou o amido de milho, porém empregando técnica de modificação física (homogeneizador de cisalhamento de alta densidade), produziu filmes com propriedades funcionais e resistentes, com potencial aplicação em embalagens de alimentos (Shahbazi; Majzoobi; Farahnaky, 2018).

Sharmin *et al.*, (2020) realizaram a preparação de um filme de hidrogel composto de álcool polivinílico, amido de milho e poliol de linhaça carregado com nanopartículas de prata biossistetizadas. O filme de hidrogel produzido demonstrou potencial aplicação em embalagens antimicrobianas.

Hidrogéis comestíveis à base de amido de arroz ou milho, proteínas e caseinato de sódio, foram formados contendo *Lactobacillus rhamnosus* e incorporados em filmes. Os filmes produzidos à base de amido de arroz apresentaram uma maior estabilidade do que os produzidos à base de amido de milho, formando assim filmes comestíveis com propriedades probióticos (Soukoulis *et al.*, 2016).

Tosati *et al.*, (2018) desenvolveram um revestimento antimicrobiano comestível para aplicação em salsichas. O mesmo foi produzido à base de amido de mandioca, curcumina e gelatina, com a formação de hidrogéis com elevada atividade antimicrobiana quando combinados com luz UV-A, sugerindo que esses hidrogéis podem ser aplicados como revestimentos comestíveis para inibir a contaminação em alimentos embutidos.

Os resultados dos estudos apresentados demonstram que os hidrogéis à base de amido, constituem matrizes que podem atuar como carreadoras eficazes de agentes antimicrobianos, substâncias bioativas e assim serem aplicadas para a produção de filmes, permitindo a aplicação em embalagens de alimentos (sistema de controle de substâncias que podem aumentar a vida útil dos alimentos) e também diretamente como revestimento de alimentos. Além disso, os filmes são fabricados por meio de uma estratégia de produção ecologicamente sustentável, beneficiando a saúde humana e o meio ambiente.

3.1.3 Impressões 3D de alimentos

Hidrogéis produzidos à base de diferentes fontes de amido foram desenvolvidos com a finalidade de fornecer materiais que possam ser utilizados como ingredientes para a tecnologia de impressão 3D de alimentos.

Em estudo com amido de mandioca, Lima, Maniglia *et al.*, (2020) desenvolveram um hidrogel através do tratamento de aquecimento a seco (DTH), utilizado para modificar o amido. Os autores concluíram que por meio deste tratamento, foi possível obter hidrogéis com propriedades de colagem, textura do gel e capacidade de impressão aprimoradas, ampliando o potencial de aplicação do amido de mandioca na impressão 3D de alimentos.

O mesmo grupo de pesquisa, utilizou novamente o DTH, porém para modificar o amido de trigo. Neste estudo foi formulado um hidrogel com potencial utilização como "tinta" para impressão 3D de alimentos (Maniglia *et al.*, 2020). Em outro estudo semelhante, este grupo desenvolveu ainda hidrogéis a base de amido de mandioca, oxidado por ozonização. Os autores demonstraram que o tratamento com ozônio é uma estratégia relevante para a modificação do amido de mandioca destinado à impressão 3D de alimentos (Maniglia *et al.*, 2019).

Lima *et al.*, (2020) desenvolveram hidrogel à base de amido de mandioquinha salsa, modificado por tecnologia de ozônio. O amido de mandioca modificado por esta tecnologia, apresentou géis mais duros que a amostra nativa, o que é promissor para uso industrial, uma vez que géis mais fortes são desejados para produtos como sobremesas, balas, geleia e produtos cárneos (linguiças). Além disso, géis de amido com maior firmeza têm despertado interesse na aplicação de impressão 3D de alimentos, apresentando melhor printabilidade, concluiu o estudo.

Os resultados dos estudos apresentados, demonstram como hidrogéis à base de amido possuem potencial aplicação para a impressão 3D de alimentos. A tecnologia de impressão 3D está ganhando atenção no setor de alimentos, pois pode fornecer novos produtos. O hidrogel de amido pode melhorar as propriedades reológicas das matrizes de alimentos, para alcançar maior capacidade de impressão para aplicações 3D e melhorar seus atributos sensoriais. Isso se deve às suas propriedades de resistência do gel, formação de géis consistentes, estrutura e nas propriedades de printabilidade.

3.1.4 Outras aplicações em alimentos

Aplicações diversas de hidrogéis de amido em alimentos, também foram apresentadas em outros trabalhos, incluídos nesta revisão.

Soares *et al.*, (2021) desenvolveram um hidrogel misto à base amido solúvel comercial e quitosana, como sistema de controle de liberação do corante amarelo (INS 110), amplamente utilizado para intensificar a cor em alimentos.

Um hidrogel à base de amido de milho e pectina, foi desenvolvido com o objetivo de fabricação de produtos funcionais, como sistema de entrega eficaz de culturas probióticas (Dafe *et al.*, 2017). Huang *et al.*, (2020) desenvolveram três tipos de hidrogéis de amido de milho, trigo e arroz, com o objetivo de manipular a digestibilidade dos lipídeos do leite. O estudo forneceu através destes hidrogéis, meios úteis para a fabricação de novas matrizes lipídicas para encapsular nutracêuticos lipofílicos ou para aumentar a digestibilidade dos lipídios do leite em alimentos energéticos.

Liu *et al.*, (2020) realizaram a preparação de hidrogéis estáveis, à base de amido de milho desramificado, com grande potencial de aplicação como ingredientes gelificantes e turvantes de baixo índice glicêmico na indústria de alimentos. Outro estudo, desenvolveu hidrogéis bioativos ricos em compostos fenólicos à base de amido de batata, utilizando tecnologias ambientalmente amigáveis e potencializou a utilização integral de batatas descartadas. O hidrogel desenvolvido apresentou capacidade de ser aplicado na indústria alimentícia (Torres *et al.*, 2020).

Através da técnica de modificação do amido de milho ceroso por desramificação enzimática, Liu *et al.*, (2018) avaliaram as interações moleculares e seus efeitos na digestibilidade e propriedades do hidrogel formado, concluindo que o mesmo possui capacidade de aplicação em alimentos que visem proporcionar a digestão prolongada e a absorção de amido, principalmente em relação ao controle glicêmico a longo prazo.

Em estudo realizado com amido de milho modificado, caseinato de sódio e óleo de canola, Chung; Degner; McClements, (2013) desenvolveram partículas de hidrogéis mistas, que aumentaram a leveza e a viscosidade em produtos alimentícios, demonstrando grande potencial para a criação de alimentos à base de emulsão com calorias reduzidas ou produtos com características sensoriais aprimoradas.

Ratish Ramanan; Rifna; Mahendran, (2018) desenvolveram um xerogel utilizando farinha de trigo, sendo proposta a utilização do mesmo como “petisco” de cereais comestíveis, podendo ser incorporado de compostos bioativos para o desenvolvimento de alimentos

funcionais e nutracêuticos. Ainda com este mesmo objetivo em desenvolver alimentos funcionais, outro estudo produziu hidrogéis a base de amido de milho, como sistema de encapsulação de gotículas de óleo de milho, utilizando um modelo de trato gastrointestinal simulado. O sistema produzido foi capaz de diminuir a taxa de digestão de lipídeos (Tangsriangul; Supphantharika; McClements, 2015).

3.2 Considerações finais

A análise dos trabalhos permitiu identificar diversas aplicações possíveis para hidrogéis de amido, na área de alimentos. A maioria dos estudos analisados nesta revisão, realizaram o desenvolvimento de hidrogéis de amido e propuseram aplicações específicas em alimentos. Porém, alguns não atingiram o ponto da testagem experimental da aplicação proposta, sugerindo as aplicações das matrizes desenvolvidas para pesquisas futuras, ou até mesmo para a indústria. Isso demonstra que a utilização de hidrogéis na área de alimentos está em ascensão, sendo necessários mais estudos que façam pesquisas experimentais destas aplicações.

4. CONCLUSÃO

Com base nos artigos analisados na presente revisão, sobre a aplicação de hidrogéis de amido em alimentos, foi possível concluir que há um interesse crescente e atual sobre o desenvolvimento desse produto com o objetivo de melhorar características sensoriais de alimentos, propor sistemas de entrega sustentáveis de substâncias bioativas, desenvolvimento de filmes para a conservação de alimentos e de novas tecnologias para impressão 3D de alimentos.

REFERÊNCIAS

AHMED, E. M. Hydrogel : Preparation , characterization , and applications : A review. **Journal of Advanced Research**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 105–121, 2015.

BEKHIT, M. *et al.* Bioactive Films Containing Alginate-Pectin Composite Microbeads with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: Physicochemical Characterization and Antilisterial Activity. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 19, n. 2, 2018.

BIDUSKI, B. *et al.* Starch hydrogels: The influence of the amylose content and gelatinization method. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 113, p. 443–449, 2018.

CHUNG, C.; DEGNER, B.; MCCLEMENTS, D. J. Controlled biopolymer phase separation in complex food matrices containing fat droplets, starch granules, and hydrocolloids. **Food Research International**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 829–836, 2013.

DAFE, A. *et al.* Investigation of pectin/starch hydrogel as a carrier for oral delivery of probiotic bacteria. **International journal of biological macromolecules**, Netherlands, v. 97, p. 536–543, 2017.

DOOSTI, M. *et al.* Enhancing quercetin bioavailability by super paramagnetic starch-based hydrogel grafted with fumaric acid: An *in vitro* and *in vivo* study. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, Netherlands, v. 183, p. 110487, 2019.

FLORY, P. J. **Principles of polymer chemistry**. [S. l.: s. n.], 1953.

GUEDES SILVA, K. C. *et al.* Protection and targeted delivery of beta-carotene by starch-alginate-gelatin emulsion-filled hydrogels. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 290, 2021.

HU, W. *et al.* Advances in crosslinking strategies of biomedical hydrogels. **Biomaterials Science**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 843–855, 2019.

HUAMÁN-LEANDRO, L. R. *et al.* Autohydrolysis of *Lentinus edodes* for Obtaining Extracts with Antiradical Properties. **Foods (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2020.

HUANG, Z. *et al.* Milk lipid *in vitro* digestibility in wheat, corn and rice starch hydrogels. **International Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 55, n. 11, p. 3361–3371, 2020.

ISMAIL, H.; IRANI, M.; AHMAD, Z. Starch-based hydrogels: Present status and applications. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, [s. l.], v. 62, n. 7, p. 411–420, 2013.

JAIN, S.; WINUPRASITH, T.; SUPHANTHARIKA, M. Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during *in-vitro* digestion. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 104, p. 105730, 2020.

KAMATH, K. R.; PARK, K. Biodegradable hydrogels in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 11, n. 1–2, p. 59–84, 1993.

KANG, J. *et al.* Improving the Stability and Curcumin Retention Rate of Curcumin-Loaded Filled Hydrogel Prepared Using 4 α Gase-Treated Rice Starch. **Foods (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2021.

KOEV, T. T. *et al.* Structural heterogeneities in starch hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 249, n. August, p. 116834, 2020.

KULKARNI, S. D.; SINHA, B. N.; KUMAR, K. J. Modified release and antioxidant stable *Lagenaria siceraria* extract microspheres using co-precipitated starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 66, p. 40–45, 2014.

LARREA-WACHTENDORFF, D.; SOUSA, I.; FERRARI, G. Starch-Based Hydrogels Produced by High-Pressure Processing (HPP): Effect of the Starch Source and Processing Time. **Food Engineering Reviews**, [s. l.], 2020.

LE-BAIL, A.; MANIGLIA, B. C.; LE-BAIL, P. Recent advances and future perspective in additive manufacturing of foods based on 3D printing. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 35, p. 54–64, 2020.

LIMA, D. C. *et al.* Ozone modification of arracacha starch: Effect on structure and functional properties. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 108, p. 106066, 2020.

LIMA, MANIGLIA, B. C. *et al.* Preparation of cassava starch hydrogels for application in 3D printing using dry heating treatment (DHT): A prospective study on the effects of DHT and gelatinization conditions. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, Canada, v. 128, p. 108803, 2020.

LIU, G. *et al.* Effects of molecular interactions in debranched high amylose starch on digestibility and hydrogel properties. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 101, p. 105498, 2020.

LIU, G. *et al.* Molecular interactions in debranched waxy starch and their effects on digestibility and hydrogel properties. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 84, p. 166–172, 2018.

LIU, G. *et al.* Structure, functionality and applications of debranched starch: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 63, p. 70–79, 2017.

LÓPEZ CÓRDOBA, A.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. **Carbohydrate polymers**, England, v. 95, n. 1, p. 315–323, 2013.

MANIGLIA, B. C. *et al.* Dry heating treatment: A potential tool to improve the wheat starch properties for 3D food printing application. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, Canada, v. 137, p. 109731, 2020.

MANIGLIA, B. C. *et al.* Hydrogels based on ozonated cassava starch: Effect of ozone processing and gelatinization conditions on enhancing 3D-printing applications.

International journal of biological macromolecules, Netherlands, v. 138, p. 1087–1097, 2019.

MENG, R. *et al.* Preparation, characterization, and encapsulation capability of the hydrogel cross-linked by esterified tapioca starch. **International journal of biological macromolecules**, Netherlands, v. 155, p. 1–5, 2020.

MUN, S. *et al.* Control of lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility using starch-based filled hydrogels: Influence of starch and surfactant type. **FOOD HYDROCOLLOIDS**, [s. l.], v. 44, p. 380–389, 2015.

MUN, S. *et al.* Influence of methylcellulose on attributes of β -carotene fortified starch-based filled hydrogels: Optical, rheological, structural, digestibility, and bioaccessibility properties. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, Canada, v. 87, p. 18–24, 2016.

MUN, S.; KIM, Y.-R.; MCCLEMENTS, D. J. Control of β -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. **Food chemistry**, England, v. 173, p. 454–461, 2015.

MUN, S.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of simulated in-mouth processing (size reduction and alpha-amylase addition) on lipid digestion and beta-carotene bioaccessibility in starch-based filled hydrogels. **LWT-Food Science and Technology**, [s. l.], v. 80, p. 113–120, 2017.

NIRANJANA PRABHU, T.; PRASHANTHA, K. A review on present status and future challenges of starch based polymer films and their composites in food packaging applications. **Polymer Composites**, [s. l.], v. 39, n. 7, p. 2499–2522, 2018.

PARK, C. E. *et al.* Changes in physicochemical characteristics of rice during storage at different temperatures. **Journal of Stored Products Research**, [s. l.], v. 48, p. 25–29, 2012.

PARK, S.; MUN, S.; KIM, Y.-R. Effect of xanthan gum on lipid digestion and bioaccessibility of β -carotene-loaded rice starch-based filled hydrogels. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, Canada, v. 105, p. 440–445, 2018.

RATISH RAMANAN, K.; RIFNA, E. J.; MAHENDRAN, R. Effect of concentration and temperature on the formation of wheat hydrogel and xerogel pattern. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s. l.], v. 559, p. 385–391, 2018.

SHAHBAZI, M.; MAJZOobi, M.; FARAHNAKY, A. Impact of shear force on functional properties of native starch and resulting gel and film. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 223, p. 10–21, 2018.

SHARMIN, E. *et al.* Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol/corn starch/linseed polyol-based hydrogel loaded with biosynthesized silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 163, p. 2236–2247, 2020.

SILVA, K. C. G. *et al.* Emulsion-filled hydrogels for food applications: influence of pH on emulsion stability and a coating on microgel protection. **Food & function**, England, v. 11, n. 9, p. 8331–8341, 2020.

SOARES, L. de S. *et al.* Mixed starch/chitosan hydrogels: elastic properties as modelled through simulated annealing algorithm and their ability to strongly reduce yellow sunset (INS 110) release. **Carbohydrate polymers**, England, v. 255, p. 117526, 2021.

SOUKOULIS, C. *et al.* Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 52, p. 876–887, 2016.

TANGSRIANUGUL, N.; SUPHANTHARIKA, M.; MCCLEMENTS, D. J. Simulated gastrointestinal fate of lipids encapsulated in starch hydrogels: Impact of normal and high amylose corn starch. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, Canada, v. 78, p. 79–87, 2015.

TORRES, M. D. *et al.* Biorefinery concept for discarded potatoes: Recovery of starch and bioactive compounds. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 275, p. 109886, 2020.

TOSATI, J. V *et al.* Light-activated antimicrobial activity of turmeric residue edible coatings against cross-contamination of *Listeria innocua* on sausages. **Food Control**, [s. l.], v. 84, p. 177–185, 2018.

WICHTERLE, O.; LÍM, D. Hydrophilic Gels for Biological Use. **Nature**, [s. l.], v. 185, n. 4706, p. 117–118, 1960.

WU, B.; MCCLEMENTS, D. J. Microgels formed by electrostatic complexation of gelatin and OSA starch: Potential fat or starch mimetics. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 47, p. 87–93, 2015.

XIAO, C. Current advances of chemical and physical starch-based hydrogels. **Starch/Staerke**, [s. l.], v. 65, n. 1–2, p. 82–88, 2013.

ZHANG, L. *et al.* Preparation of collagen-chondroitin sulfate-hyaluronic acid hybrid hydrogel scaffolds and cell compatibility *in vitro*. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 84, n. 1, p. 118–125, 2011.

ZHU, B. *et al.* Structure and properties of semi-interpenetrating network hydrogel based on starch. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 133, p. 448–455, 2015.

CAPÍTULO II

Hidrogel reticulado fisicamente à base de amido de sorgo: desenvolvimento e caracterização

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver hidrogéis à base de amido de sorgo branco, quitosana e ácido cítrico e caracterizar quanto aos aspectos visuais, comportamento em presença de água, morfologia e perfil de textura. Para isso, foram desenvolvidas 6 formulações de hidrogéis à base de amido de sorgo, com a adição de quitosana e o ácido cítrico foi adicionado em proporções variadas, conforme calculado em termos de porcentagem de peso (% p/p), por meio de gelatinização por aquecimento. Os hidrogéis foram então fisicamente reticulados por 5 ciclos de congelamento e descongelamento. A avaliação dos aspectos visuais possibilitou a identificação de características como presença de grumos, consistência e coloração dos hidrogéis desenvolvidos. Os seis tratamentos obtiveram uma alta capacidade de absorção de água e baixa taxa de sinérese, que variou de 0,35 (tratamento 5 com maior concentração de ácido cítrico) a 9,75 % (tratamento 6, sem adição de ácido cítrico). Após liofilizados, todos os seis tratamentos apresentaram estrutura estável e íntegra após a imersão em água, no entanto, as amostras com adição de ácido cítrico mantiveram uma maior integridade estrutural após 24 horas. A análise morfológica dos hidrogéis, revelou a eficácia do processo de reticulação em promover a formação da matriz polimérica tridimensional. A adição de ácido cítrico intensificou essa formação, resultando em hidrogéis altamente porosos e com elevada capacidade de absorção de água. O perfil de textura dos hidrogéis desenvolvidos permitiu demonstrar que todas as formulações resistiram ao processo de compressão de 2 ciclos em 50% da sua altura inicial, o que demonstra a formação de géis firmes, coesos, com boa integridade e alta resistência. A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) identificou os grupos funcionais característicos do amido e do ácido cítrico. Portanto, o amido de sorgo mostrou-se promissor para ser utilizado como matéria prima no desenvolvimento de hidrogéis naturais.

Palavras-chave: gel polimérico; biopolímero; *Sorghum bicolor* L. Moench; ácido cítrico; quitosana.

1. INTRODUÇÃO

Os hidrogéis de amido são caracterizados como uma matriz polimérica com uma estrutura tridimensional altamente hidrofílica, que tem a capacidade de absorver e reter grandes quantidades de água sem se dissolver. Isso ocorre através da formação de uma rede tridimensional reticulada, em que a água é capaz de entrar nos grânulos do polímero, formando estruturas interligadas fortes e estáveis (Dahal & Janaswamy, 2024; Liu *et al.*, 2021).

A reticulação do hidrogel de amido pode ser promovida por meio de processos físicos ou químicos, nos quais a água penetra nos grânulos do polímero, formando estruturas interligadas e altamente resistentes (dos Santos *et al.*, 2023; Qin *et al.*, 2019). A reticulação física obtém vantagem em relação à química, por ser um processo que não envolve a utilização de reagentes que podem ser tóxicos, resultando em um produto mais natural e ecologicamente sustentável (Cui *et al.*, 2022).

A reticulação física dos géis de amido pode ser promovida através de ciclos de congelamento e descongelamento. Durante o congelamento, quando a pasta ou gel é congelado, ocorre a separação de fases quando se formam cristais de gelo. Após o descongelamento, a pasta de polímero e o gel sofrem sinérese, ou seja, ocorre a liberação da água. Esses ciclos promovem o aumento das associações moleculares entre as cadeias de polímero, formando um sistema poroso (Cui *et al.*, 2022; de Lima *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no uso de hidrogéis à base de amidos convencionais e não convencionais como matriz para a liberação de compostos bioativos (Vieira *et al.*, 2023). Exemplos incluem amido de batata (Silva *et al.*, 2021); de arroz (Biduski *et al.*, 2018); de feijão mungo (Mun *et al.*, 2015); de trigo (Huang *et al.*, 2020); de tapioca (Meng *et al.*, 2020); e de mandioca salsa (Lima *et al.*, 2020), sendo o amido de milho o mais amplamente utilizado, reconhecido como o amido comercial predominante globalmente (López Córdoba *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2021; Wu & McClements, 2015).

As fontes de amido não convencionais desempenham um papel crucial no atendimento da demanda por materiais e embalagens biodegradáveis, servindo como uma alternativa para promover sistemas ecologicamente sustentáveis (dos Santos *et al.*, 2023). Uma fonte alternativa promissora de amido, é o sorgo, produzido mundialmente e também no Brasil. É um cereal rico em amido (70 a 80%) e pode ser cultivado durante todo o ano, sendo considerada uma cultura importante para a segurança do abastecimento alimentar, por ser cultivado em áreas e situações ambientais muito secas e quentes. Devido a esses fatores, o cultivo do sorgo apresenta vantagem

em relação ao cultivo de outros cereais, cuja produção nessas condições climáticas é antieconômica (Biduski *et al.*, 2017; Correia *et al.*, 2022; Vieira *et al.*, 2020).

Nesse contexto, a hipótese de utilizar amido de sorgo para elaborar hidrogéis naturais se mostra relevante. Essa abordagem sugere que o amido de sorgo pode ser uma matriz polimérica eficaz para a incorporação de compostos bioativos. Portanto, o objetivo desse estudo foi desenvolver um hidrogel à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes concentrações de ácido cítrico, reticulado fisicamente, para diferentes aplicações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

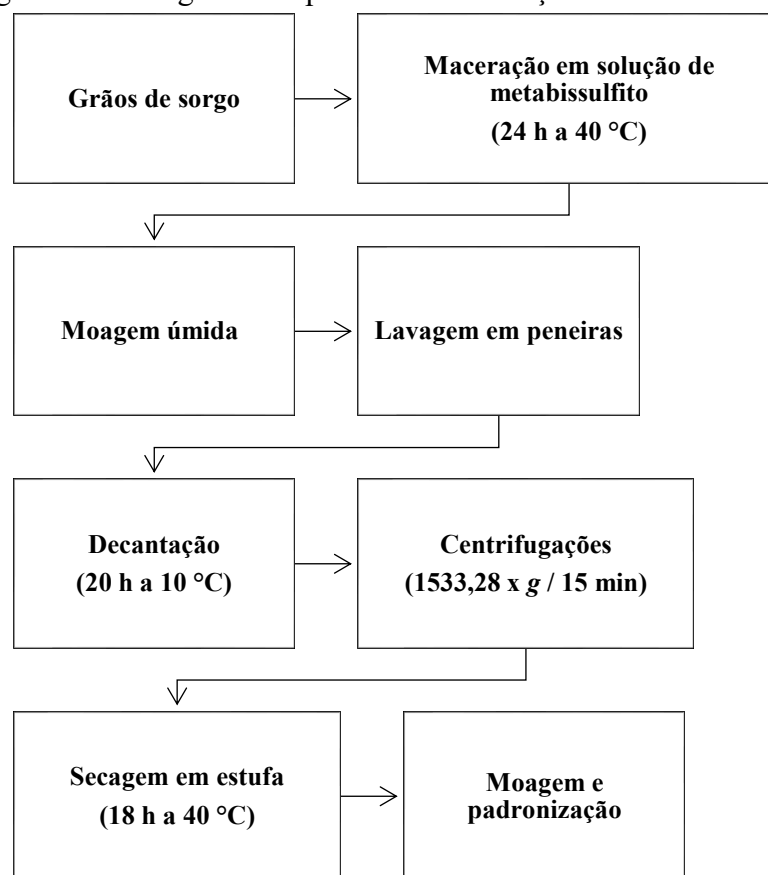
Os grãos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] do genótipo BR 501 (pericarpo branco e sem tanino), foram doados pelo Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) pela EMBRAPA Milho e Sorgo, localizado em Sete Lagoas, estado de Minas Gerais, Brasil (latitude 19°28'S, longitude 44°15'W). Para elaboração dos hidrogéis, o amido foi extraído dos grãos de sorgo e utilizado como base para elaboração dos hidrogéis, juntamente com a quitosa (Xingcheng Biochemical) e ácido cítrico (Dinâmica Química Contemporânea LTDA).

2.2 Métodos

2.2.1 Extração do amido de sorgo

Para a extração do amido, foi utilizado o método descrito por Vieira *et al.* (2020), com modificações, conforme fluxograma apresentado na Figura 1. Os grãos de sorgo (500 g), foram adicionados em solução aquosa de metabissulfito de sódio 0.15% e acondicionados em estufa BOD (Incubadora BOD com Fotoperíodo SL – 224, SOLAB) a 40 °C por 24 h. Após drenagem e lavagem extensiva, os grãos foram moídos em liquidificador industrial (Poli Metalúrgica Siemens, modelo TR-02, frequência 60 Hz, potência 245 W) e o material proveniente foi padronizado com peneiras de 80 mesh e 120 mesh, seguido de repouso a 10 °C por 20 h. O material decantado foi resuspenso em água destilada e centrifugado em centrífuga (Mod Jouan BR4), a 1533,28 x g por 15 min centrifugado, até obter amido puro, confirmado visualmente pela coloração. O material proveniente das centrifugações, foi seco em estufa de circulação de ar forçado (Mod 320-SE – Circulação Mecânica, FANEM) a 40 °C por 12h. Após a secagem, o amido foi passado em uma peneira de 0,153 mm de abertura para padronizar a granulometria, uniformizando a sua aparência.

Figura 1 - Fluxograma do processo de obtenção do amido de sorgo



Fonte: Autor (2024)

2.2.2 Delineamento experimental

As formulações de hidrogéis foram definidas através de pré-testes, tendo como base, a formulação 5g de amido de sorgo para 0,5g de quitosana, variando a proporção de ácido cítrico em termos de porcentagem de peso (% p/p de amido), de acordo com método descrito por Demitri *et al.* (2008), com algumas modificações. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Delineamento experimental para o desenvolvimento e caracterização de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico (AC)

Amostra	Amido de sorgo (g)	Quitosana (g)	Ácido cítrico (%)
S1	5	0,5	2
S2	5	0,5	3
S3	5	0,5	4
S4	5	0,5	6
S5	5	0,5	10
S6	5	0,5	0

2.2.3 Elaboração dos hidrogéis de amido

Os hidrogéis foram elaborados por método de gelatinização por aquecimento, conforme descrito por Biduski *et al.* (2018), com algumas modificações. As suspensões de amido de sorgo (5g de amido e 50 mL de água destilada - valores estabelecidos de acordo com testes preliminares), foram aquecidas em banho-maria (GMA Medical™, Brasil) a 90 °C sob agitação constante. Em seguida, 0,5g de quitosana, 50 mL de água e as diferentes proporções de ácido cítrico (para melhorar a gelatinização da quitosana), conforme descritas anteriormente (Tabela 1), foram homogeneizadas em agitador magnético e adicionadas às suspensões de amido e água, aguardando-se o tempo de aquecimento (30 minutos), a fim de que completasse o processo de gelificação do amido. As dispersões resultantes foram acondicionadas em placas Petri de poliestireno (15 cm de diâmetro) e resfriadas à temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

2.2.4 Reticulação física dos hidrogéis

Os hidrogéis foram submetidos ao processo de reticulação física, por 5 ciclos de congelamento e descongelamento, conforme método descrito por da Silva *et al.* (2020). As 6 amostras de hidrogéis foram congeladas à -20 °C, seguido de descongelamento total à 30 ± 2 °C. Este processo de congelamento e descongelamento foi repetido por 5 vezes.

2.2.5 Avaliação dos aspectos visuais, taxa de sinérese e capacidade de absorção de água dos hidrogéis

Após a obtenção das seis amostras de hidrogéis e o processo de reticulação física por congelamento e descongelamento, as mesmas foram fotografadas para avaliação dos aspectos visuais.

Taxa de sinérese

A taxa de sinérese dos hidrogéis após reticulação física (tratamento por congelamento/descongelamento), foi determinada de acordo com método descrito por Li *et al.* (2023) com algumas modificações. Após a reticulação física, os hidrogéis foram armazenados por 24 h a 10 ± 2 °C, pesados (p_i), a água liberada foi decantada e os hidrogéis foram pesados novamente (p_f). A taxa de sinérese foi determinada de acordo com a Equação 1.

$$TS (\%) = \frac{p_i - p_f}{p_f} \times 100 \quad (1)$$

Após essa etapa, as seis amostras foram liofilizadas por 72h. Os hidrogéis liofilizados, bem como intumescidos foram fotografados e avaliados quanto a integridade estrutural após a imersão em água destilada por 24 h.

Capacidade de absorção de água

A capacidade de absorção de água dos hidrogéis de amido foi realizada pela imersão em água destilada de acordo com o método descrito por Biduski *et al.* (2018). A medida foi realizada por pesagem das amostras liofilizadas e após 24h de imersão em água a temperatura ambiente. A capacidade de absorção foi medida gravimetricamente de acordo com a Equação 2.

$$\text{Capacidade de absorção (\%)} = \frac{\text{Peso}_{\text{intumescido}} - \text{Peso}_{\text{seco}}}{\text{Peso}_{\text{seco}}} \times 100 \quad (2)$$

2.2.6 Determinação da atividade de água, liberação de água e capacidade de retenção de água dos hidrogéis

Atividade de água (a_w)

A análise de atividade de água (a_w) das amostras foi realizada de acordo com método descrito por Shrotri; Saini, (2022), por meio da leitura direta das amostras, em equipamento AquaLab Lite 2T, da Decagon Devices Inc, (Pullman, EUA), operando em temperatura de 25°C. Para calibração foi utilizado água destilada e solução saturada de cloreto de lítio (A_a $0,112 \pm 0,003$). As amostras foram dimensionadas em cápsulas plásticas, as quais foram inseridas no equipamento e as leituras dos valores de a_w foram mensuradas. As análises foram feitas em triplicata.

Liberação de água (%)

A taxa de liberação de água foi determinada de acordo com o método descrito por Li *et al.* (2023), com algumas modificações. Resumidamente, suspensões de amido, quitosana e ácido cítrico (Tabela 1), após submetidas à gelatinização por aquecimento, os hidrogéis foram armazenados a 0 °C por 24 horas e aquecidas até temperatura ambiente para a realização da análise. A taxa de liberação de água foi medida gravimetricamente como a quantidade de água (g de água/100 g de gel) liberada após centrifugação a 1500 x g por 15 min. A análise foi feita em triplicata.

Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada de acordo com método descrito por Li *et al.* (2023), com algumas modificações. Amostras de hidrogéis (2 g, p_1) foram secas em estufa (Fanem, Modelo 320-SE, São Paulo, Brasil) a 40 °C por 2 h e depois centrifugadas (Centrífuga Excelsa II, Fanem, 206BL, São Paulo) a 4.000 rpm por 20 minutos. Após a retirada da água com papel filtro, o restante da água foi pesado (p_2). A CRA foi calculada de acordo com a Equação 3.

$$CRA = p_1 - p_2 \quad (3)$$

2.2.7 Potencial hidrogeniônico (pH)

A leitura de pH foi realizada utilizando-se pHmetro de bancada (Bante, modelo 920). A leitura foi realizada em triplicata.

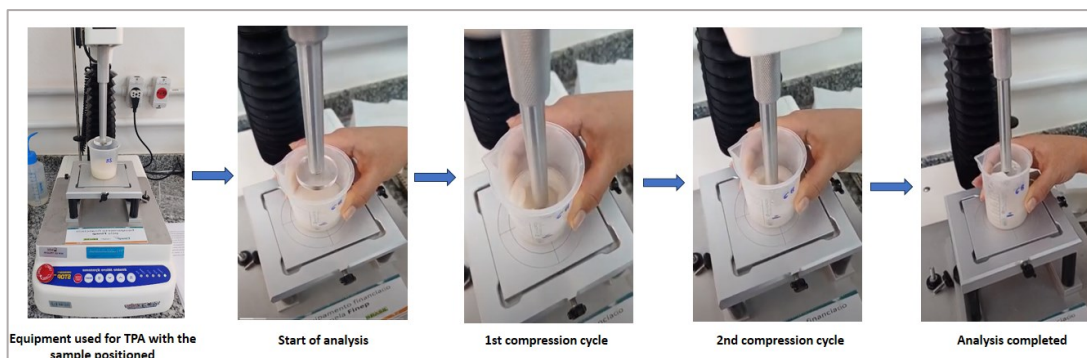
2.2.8 Avaliação morfológica dos hidrogéis

A morfologia dos hidrogéis foi avaliada utilizando Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL JSM - 6360LV). Os parâmetros utilizados para análise, foram de acordo com o estudo de Biduski *et al.*, (2018). As amostras foram previamente liofilizadas e posteriormente, uma pequena fração de cada amostra foi coletada, fixada em fita de carbono, pulverizada e revestida com ouro. A análise de visualização foi feita usando ampliação variando de 50 a 350 × com uma voltagem de 5.0 V.

2.2.9 Análise do perfil de textura (TPA)

O TPA dos hidrogéis foi determinado de acordo com método descrito por Biduski *et al.* (2018) com algumas modificações. Para isso, utilizou-se um analisador de textura texturômetro TAXTPLUS (*Stable Micro Systems*) e os dados coletados por meio do programa *Exponent Lite*, versão 5.1.1.0, 2010, utilizando dois ciclos de compressão. As amostras foram dispostas em embalagens de plástico de 100 ml (5 cm diâmetro x altura 7 cm), a uma altura de 2 cm, todas em quadruplicata e tiveram 50% da sua altura inicial comprimida em uma velocidade de 5 mm.s⁻¹ por uma sonda cilíndrica de 35 mm de diâmetro, com um período de atraso definido (10s), entre o começo da segunda e o fim da primeira compressão. As etapas da análise estão representadas na Figura 2. Foram analisados os atributos dureza, coesividade, gomosidade, resiliência e adesividade.

Figura 2 - Fotos da análise do perfil de textura TPA



Fonte: dados da pesquisa

2.2.10 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros dos hidrogéis foram adquiridos em um Espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (Shimadzu, modelo IR-Prestige 21) equipado com amostrador de Refletância Total Atenuada (ATR). Este recurso possibilitou a inserção direta de cada amostra para análise, sem preparo prévio. O equipamento foi configurado para realizar 20 varreduras, com resolução igual a 1 cm^{-1} , entre $4000\text{ e }400\text{ cm}^{-1}$.

2.3 Análise estatística

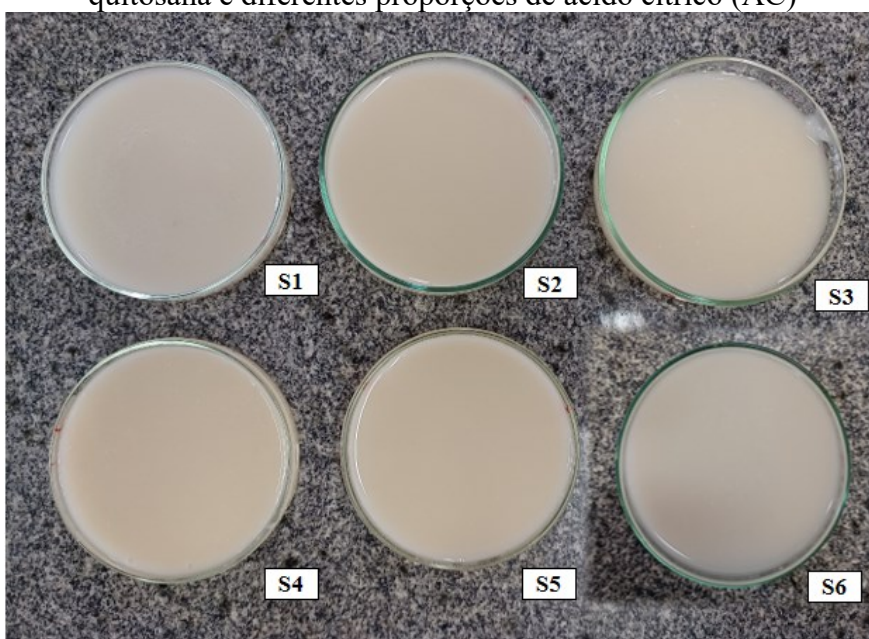
Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa SPSS 15.0 (SPSS Inc., EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação dos aspectos visuais, taxa de sinérese e capacidade de absorção de água dos hidrogéis

As fotografias dos hidrogéis elaborados à base de amido de sorgo e quitosana, com diferentes proporções de ácido cítrico, gelatinizados por aquecimento, estão apresentadas nas Figura 3.

Figura 3 - Aspectos visuais das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC)

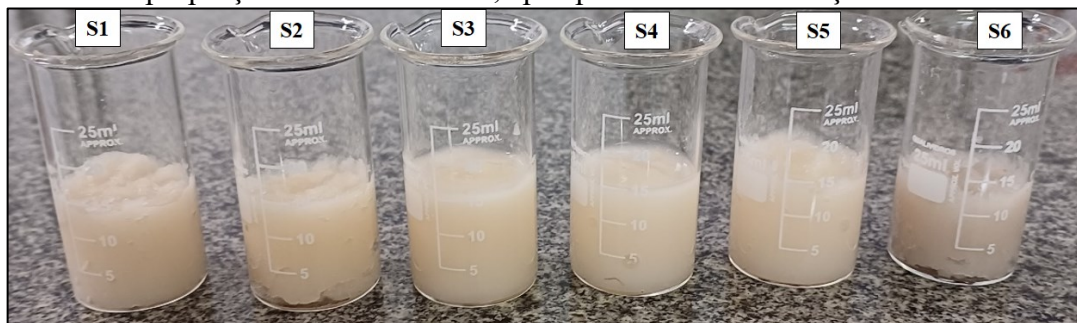


Legenda: S1: hidrogel elaborado com 2% AC; S2: hidrogel elaborado com 3% AC; S3: hidrogel elaborado com 4% AC; S4: hidrogel elaborado com 6% AC; S5: hidrogel elaborado com 10% AC; S6: hidrogel elaborado com 0% AC.

Através das fotografias realizadas (Figura 3) das 6 amostras de hidrogéis, é possível observar diferenças nos aspectos visuais entre as elas, principalmente em relação à intensidade da cor e consistência dos géis.

Após a elaboração das seis amostras de hidrogéis, as mesmas foram submetidas ao processo de reticulação física e os aspectos visuais estão apresentados na Figura 4.

Figura 4 - Aspectos visuais dos hidrogéis à base de amido de sorgo e quitosana com diferentes proporções de ácido cítrico, após processo de reticulação física



Legenda: S1: hidrogel elaborado com 2% AC; S2: hidrogel elaborado com 3% AC; S3: hidrogel elaborado com 4% AC; S4: hidrogel elaborado com 6% AC; S5: hidrogel elaborado com 10% AC; S6: hidrogel elaborado com 0% AC.

Foi possível observar que, após serem gelatinizadas novamente em banho maria à 90 °C por 30 minutos, as amostras S1, S2 e S5 apresentaram uma consistência mais firme e foi notada a presença de grumos. A amostra S6 (0% de ácido cítrico), também apresentou consistência firme e coloração mais escura em relação às demais, além de presença de grumos.

Já as amostras S3 e S4, formaram um gel fluido, homogêneo, liso e sem a presença de grumos. Essas duas amostras, portanto, apresentaram melhores aspectos visuais em relação às demais, com menores concentrações de ácido cítrico (S1 e S2), com maior concentração de ácido cítrico (S5) e do que a amostra S6, sem adição de ácido cítrico, demonstrando que níveis intermediários de ácido cítrico, foram suficientes para melhorar o processo de gelatinização dos hidrogéis compostos de amido de sorgo e quitosana, por fornecer um meio ácido que promove uma melhor solubilidade da quitosana (Saqib *et al.*, 2022).

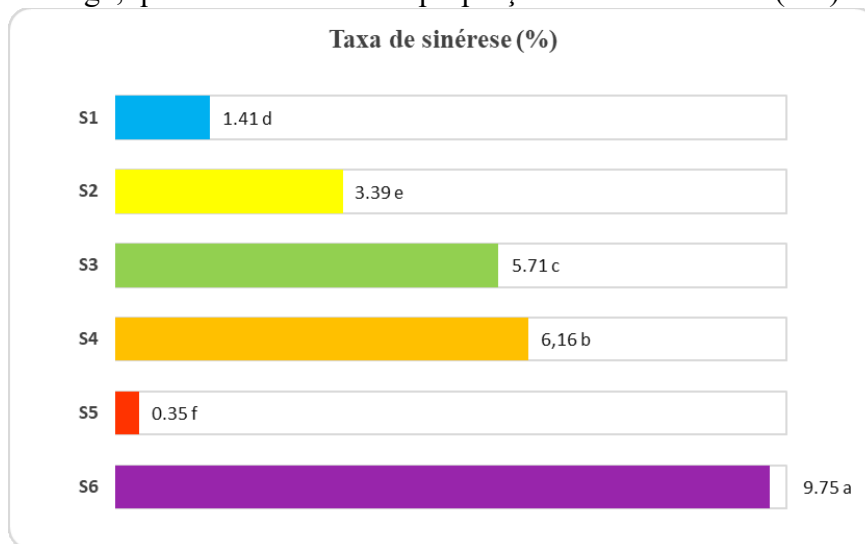
Essas diferenças observadas visualmente entre as amostras, podem estar relacionadas às concentrações de ácido cítrico (AC), que é um reticulante eficiente utilizado em hidrogéis, não apenas devido à sua não toxicidade, mas também devido às ligações cruzadas estáveis que forma com a quitosana e com o amido. Além disso, o AC é amplamente acessível e de baixíssimo custo, o que o torna um reagente muito interessante para aplicações industriais (Almeida *et al.*, 2022; Aswathy *et al.*, 2023; Salihu *et al.*, 2021).

Taxa de sinérese

As médias dos resultados da taxa de sinérese das seis amostras de hidrogel, estão representadas na Figura 5. Como é possível observar, as taxas de sinérese das seis amostras de hidrogéis, com diferentes proporções de ácido cítrico, diferiram estatisticamente entre si, sendo a amostra 6, sem adição de ácido cítrico, a que apresentou a maior taxa de sinérese e a amostra

5 com 10% de ácido cítrico, a menor. As amostras 1, 2, 3 e 4 tiveram a taxa de sinérese que variou de 3,39 a 6,16 %.

Figura 5 - Taxa de sinérese (%) das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC)



Legenda: S1: hidrogel elaborado com 2% AC; S2: hidrogel elaborado com 3% AC; S3: hidrogel elaborado com 4% AC; S4: hidrogel elaborado com 6% AC; S5: hidrogel elaborado com 10% AC; S6: hidrogel elaborado com 0% AC.

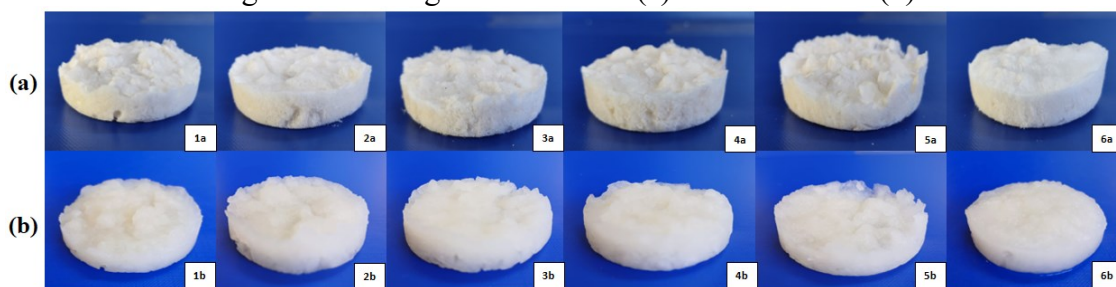
*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

Li *et al.* (2023), ao desenvolverem hidrogéis com amido de milho e tapioca, encontraram taxa de sinérese entre 1 e 9 %, valores próximos aos encontrados na presente pesquisa. Os autores justificaram esses valores devido à presença de amidos no sistema, exercendo um forte efeito na minimização da sinérese durante o processo de congelamento-descongelamento, reduzindo a água disponível para formar cristais de gelo, levando à diminuição significativa da taxa de sinérese.

No presente estudo, foi observado que a amostra 5 apresentou a menor taxa de sinérese, contendo a maior concentração de ácido cítrico, 10%. Por outro lado, a amostra 6, sem adição de ácido cítrico em sua composição, exibiu a maior taxa de sinérese, atingindo 9,75%, o que demonstra a influência do AC na retenção da água dos hidrogéis, por participar no processo de reticulação e na formação de uma rede tridimensional, com elevada capacidade de retenção hídrica (Almeida *et al.*, 2022; Aswathy *et al.*, 2023).

Após a elaboração das 6 amostras de hidrogel, as mesmas foram liofilizadas, fotografadas (Figura 6a) e intumescidas em água por 24h e fotografadas novamente (Figura 6b).

Figura 6 - Hidrogéis liofilizados (a) e intumescidos (b)



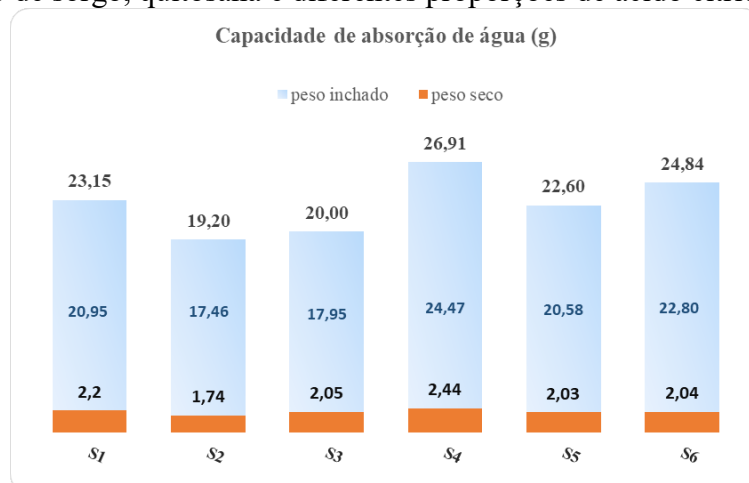
Legenda: 1a e 1b: 2% AC; 2a e 2b: 3% AC; 3a e 3b: 4% AC; 4a e 4b: 6% AC; 5a e 5b: 10% AC; 6a e 6b: 0% AC.

Durante a avaliação visual dos hidrogéis liofilizados (Figura 6a) e intumescidos (Figura 6b), foi possível observar que as 6 amostras apresentaram estrutura estável e íntegra após a imersão em água. No entanto, as amostras com a adição de ácido cítrico (1b, 2b, 3b, 4b e 5b), revelaram-se mais resistentes, após intumescimento, demonstrando a função do mesmo em potencializar a gelatinização (Saqib *et al.*, 2022). A absorção de água e a integridade estrutural dos hidrogéis são importantes características para definir sua aplicação final (Biduski *et al.*, 2018).

Capacidade de absorção de água dos hidrogéis

Os valores de peso em gramas dos hidrogéis liofilizados (peso seco), intumescidos (peso inchado) e a diferença entre eles estão apresentados na Figura 7. As seis formulações exibiram uma elevada absorção de água, evidenciando a alta capacidade de absorção de água, característica de hidrogéis.

Figura 7 - Capacidade de absorção de água das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC)



Legenda: S1: hidrogel elaborado com 2% AC; S2: hidrogel elaborado com 3% AC; S3: hidrogel elaborado com 4% AC; S4: hidrogel elaborado com 6% AC; S5: hidrogel elaborado com 10% AC; S6: hidrogel elaborado com 0% AC.

Os resultados da capacidade de absorção de água dos hidrogéis foram tabulados na Tabela 2 e diferiram estatisticamente entre si. Observa-se que os valores variaram de 875,37 a 1119,10 % entre as amostras, indicando uma alta capacidade de absorção de água para todos os hidrogéis desenvolvidos. Entretanto, a amostra 6 apresentou a maior capacidade de absorção, enquanto a amostra 3 mostrou a menor.

Tabela 2 - Capacidade de absorção de água dos hidrogéis (%)	
Amostra	Capacidade de absorção de água (%)
S1 (2% AC)	952,24 ^e
S2 (3% AC)	1002,33 ^c
S3 (4% AC)	875,37 ^f
S4 (6% AC)	1001,84 ^d
S5 (10% AC)	1016,28 ^b
S6 (0% AC)	1119,10 ^a

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

A capacidade de absorção de água é uma importante característica de hidrogéis, mas a capacidade de retenção de água, com menor taxa de sinérese é um fator determinante para avaliar a qualidade do hidrogel e a eficiência do processo de reticulação, em que é formada uma rede tridimensional com alta capacidade de absorção e retenção hídrica (Li *et al.*, 2023; Maniglia *et al.*, 2020a).

Devido a esses fatores, apesar de a amostra S6, sem adição de ácido cítrico, ter apresentado a maior capacidade de absorção de água (1119,10 %), ela também apresentou a maior taxa de sinérese entre as amostras (9,75 %), como foi apresentado anteriormente na Figura 5, o que não é desejável, demonstrando a influência do ácido cítrico no processo de reticulação dos hidrogéis elaborados e, conseqüentemente, na capacidade de absorção e retenção hídrica (Almeida *et al.*, 2022; Aswathy *et al.*, 2023).

As amostras S1 (2% AC) e S2 (3% AC), apresentaram capacidade de absorção de água de 952,24 e 1002,33 % e baixa taxa de sinérese (4,41 e 3,39 %), demonstrando que baixas concentrações de ácido cítrico são suficientes para aumentar a retenção de água. O mesmo ocorreu na amostra S5 (10% AC), que apresentou uma capacidade de absorção de água de 1016,28 %, baixa taxa de sinérese (0,35 %), mas como foi demonstrado na análise dos aspectos visuais, essas amostras apresentaram uma consistência mais firme e foi notada a presença de grumos, o que pode ser uma desvantagem, dependendo da aplicação desejada.

As amostras S3 (4% AC), apresentaram a menor capacidade de absorção de água, mas apesar disso, foi elevada, visto que ela absorveu 875,37 % em água e apresentou uma taxa de sinérese baixa (5,71%), demonstrando que níveis intermediários de ácido cítrico já são suficientes para aumentar a eficiência do processo de reticulação da formulação de hidrogel. O mesmo ocorreu com a formulação S4 (6% AC), que apresentou uma capacidade de absorção de água de 1001,84 % e taxa de sinérese de 6,16 %.

Essas duas amostras (S3 e S4), foram as que obtiverem melhores aspectos visuais em relação às demais, pois formaram um gel fluido, homogêneo, liso e sem a presença de grumos como demonstrado na Figura 4. Biduski *et al.* (2018), ao desenvolverem hidrogéis à base de amido de arroz reticulado quimicamente, encontraram valores de capacidade de absorção de água de 609,98, 862,85 e 1277,99 %, valores próximos aos encontrados no presente estudo.

O processo de reticulação física e as concentrações de ácido cítrico, podem interferir na interação amido-quitosana. Como essa interação ocorre apenas por ligações de hidrogênio, a presença do ácido cítrico pode aumentar o número de ligações de hidrogênio melhorando a estabilidade da rede de tridimensional, característica de hidrogéis (Biduski *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2023).

A solubilidade do amido é resultado da lixiviação de amilose, que se dissocia e se difunde para fora do grânulo de amido durante o intumescimento e do processo de retrogradação do amido, devido ao teor de amilose e comprimento da cadeia das moléculas (Klein *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014).

Em estudo que avaliou o teor de amilose em amido de sorgo branco, cultivar BR 501, o mesmo utilizado neste estudo, Vieira *et al.* (2020) encontraram teor de amilose de 26,88 %, caracterizando como médio teor de amilose, o que corrobora os resultados de capacidade de absorção de água relatados por Biduski *et al.* (2018), que avaliaram a capacidade de absorção de água em hidrogéis à base de amido de arroz de baixo, médio e alto teor de amilose. Os hidrogéis que apresentaram melhores resultados, foram os provenientes do amido de baixo e médio teor de amilose e o hidrogel com alto teor de amilose se dissolveu completamente em água.

Esses fatores demonstram que o amido de sorgo (cultivar BR 501) é uma excelente alternativa para a elaboração de hidrogéis com alta capacidade de absorção de água. Em aplicações como na liberação controlada de compostos, hidrogéis com solubilidade parcial e alta capacidade de absorção de água podem ser empregados para regular a liberação de agentes bioativos (Biduski *et al.*, 2018). Sendo assim, a amostra que apresentou o melhor parâmetro em

relação à capacidade de absorção de água no presente estudo, com baixa taxa de sinérese, foi a S3 com 4 % de ácido cítrico.

3.2 Determinação da atividade de água, liberação de água e capacidade de retenção de água dos hidrogéis

Os valores de atividade de água (a_w), taxa de liberação de água expressos em grama de água/100 g de gel e capacidade de retenção de água (CRA), estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Atividade de água (a_w), taxa liberação de água e capacidade de retenção de água (CRA) dos hidrogéis

Amostra	a_w	Liberação de água (%)	CRA (g)
S1 (2% AC)	$0,996 \pm 0,001^{ab}$	$0,08 \pm 0,03^d$	$0,03 \pm 0,01^b$
S2 (3% AC)	$0,996 \pm 0,002^{ab}$	$0,13 \pm 0,03^d$	$0,03 \pm 0,00^b$
S3 (4% AC)	$0,995 \pm 0,002^b$	$16,03 \pm 0,21^c$	$0,16 \pm 0,08^b$
S4 (6% AC)	$0,997 \pm 0,001^{ab}$	$25,35 \pm 1,90^a$	$0,41 \pm 0,07^a$
S5 (10% AC)	$0,998 \pm 0,001^{ab}$	$21,90 \pm 1,11^b$	$0,44 \pm 0,11^a$
S6 (0% AC)	$0,999 \pm 0,001^a$	$0,14 \pm 0,12^d$	$0,05 \pm 0,02^b$

* Média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

Atividade de água (a_w)

A atividade de água (a_w) é uma medida importante da água livre disponível para o crescimento microbiano em matrizes alimentares. A a_w é avaliada numa escala de 0 a 1, onde 1 representa a água pura (Sun *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024).

Os valores de a_w entre as amostras, variaram entre $0,995 \pm 0,002$ a $0,999 \pm 0,001$, caracterizando uma elevada a_w , visto que ficaram próximo de 1. As amostras S1 (2% AC); S2 (3% AC); S3 (4% AC); S4 (6% AC) e S5 (10% AC) apresentaram valores de a_w que variaram entre $0,995 \pm 0,002$ a $0,998 \pm 0,001$ e não diferiram entre si estatisticamente.

A a_w ($0,995 \pm 0,002$) da amostra S3 (4% AC), diferiu estatisticamente apenas da a_w ($0,999 \pm 0,001$) da amostra S6 (0% AC). Valores elevados de atividade de água em hidrogéis já são esperados, visto que trata-se de uma suspensão de polímero, no caso deste estudo o amido, com elevada capacidade de retenção de água. Além disso, os hidrogéis de amido são caracterizados como uma matriz polimérica hidrofílica com uma estrutura tridimensional reticulada por processos físicos ou químicos. Essa estrutura permite a absorção significativa de água ou soluções aquosas, mantendo sua integridade sem se dissolver (Chen *et al.*, 2021; dos Santos *et al.*, 2023).

Devido ao elevado valor de atividade de água dos hidrogéis desenvolvidos, caracterizando um produto altamente susceptível ao crescimento de microrganismos, torna-se importante adicionar compostos como a quitosana por exemplo, que demonstrou ter atividade antifúngica e propriedades antimicrobianas durante o armazenamento (Fernandes *et al.*, 2020). Quando a mesma é solubilizada em meio ácido (exemplo: ácido cítrico), fornece mais uma barreira para o crescimento de microrganismos (Wu *et al.*, 2023), trazendo aos hidrogéis desenvolvidos, um caráter ácido. Ambos os compostos foram utilizados na elaboração dos hidrogéis no presente estudo.

Liberção de água (%)

Já em relação à liberação de água dos hidrogéis, as seis amostras apresentaram valores que variaram de $0,08 \pm 0,03$ a $25,35 \pm 1,90$ %, havendo diferença estatisticamente significativa entre eles. As amostras S1 (2% AC), S2 (3% AC) e S6 (0% AC), apresentaram os menores valores de liberação de água ($0,08 \pm 0,03$, $0,13 \pm 0,03$ e $0,14 \pm 0,12$ %, respectivamente).

Maniglia *et al.* (2020a) desenvolveram hidrogéis à base de amido de trigo modificado por aquecimento a seco (DHT) e encontraram valores que variaram de $3,62 \pm 0,13$ a $7,38 \pm 0,71$ g água/100 g gel, valores semelhantes aos encontrados neste estudo, nas formulações com menor sinérese.

A amostra S4 (6% AC) apresentou o maior valor de liberação de água entre as amostras ($25,35 \pm 1,90$ %), enquanto as amostras S3 (3% AC) e S5 (10% AC), apresentaram $16,03 \pm 0,21$ e $21,90 \pm 1,11$ % de liberação de água. Todos esses valores diferiram estatisticamente entre si.

Wu *et al.* (2022) elaboraram hidrogéis de copolímero de acrilamida de cloreto de acrilóiloxietil trimetilamônio (AM/DAC) e relataram que a liberação de água variou de 0 a 40,5%, nas diferentes formulações, em função da temperatura. Valores próximos aos encontrados nesse estudo, sendo que a maior liberação de água dos hidrogéis do presente estudo foi de 25,35 %.

Durante o resfriamento dos géis de amido, a retrogradação molecular e a tendência de cristalização da amilose liberam água dos géis (Maniglia *et al.*, 2020b). Este é um parâmetro importante para avaliar a estabilidade do gel formado. Além disso, hidrogéis à base de amido fornecem forte efeito na minimização da liberação de água após o processo de congelamento-descongelamento, reduzindo a água disponível para formar cristais de gelo, levando à diminuição significativa da taxa de liberação de água (Li *et al.*, 2023).

Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água dos hidrogéis, foi determinada através do valor de perda de água (PA) em gramas, conforme apresentado na Tabela 3. Os valores de PA variaram entre 0,03 a 0,44 g entre as seis amostras de hidrogel. As amostras S1 (2% AC), S2 (3% AC), S3 (4% AC) e S6 (0% AC), foram as que apresentaram a menor PA ($0,03 \pm 0,01$, $0,03 \pm 0,00$, $0,16 \pm 0,08$ e $0,05 \pm 0,02$ respectivamente), sendo iguais entre si, estatisticamente e diferentes dos valores de PA das amostras S4 (6% AC) e S5 (10% AC), que tiveram a maior PA ($0,41 \pm 0,07$ e $0,44 \pm 0,11$ respectivamente), sendo esses valores iguais estatisticamente.

Esses resultados indicam que, menores concentrações de ácido cítrico são suficientes para promover um aumento na capacidade de retenção de água dos hidrogéis e podem ser relacionados com a taxa de liberação de água, visto que, como apresentado anteriormente (tabela 3), as formulações S4 e S5 também apresentaram uma maior liberação de água (25,35 e 21,90 %, respectivamente).

Isso demonstra que a capacidade de retenção de água é influenciada pela concentração de ácido cítrico entre as diferentes amostras (Biduski *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2024), mas que maiores concentrações (6 a 10 %), pioram essa capacidade, evidenciando que concentrações entre 2 a 4% de AC, são suficientes para manter a capacidade de retenção de água, assim como ocorreu na amostra sem a adição de AC, melhorando outros aspectos dos géis (já discutidos nos resultados apresentados nesse estudo) e mantendo a capacidade de retenção de água.

3.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

As amostras de hidrogel apresentaram pH, que variaram de $3,36 \pm 0,01$ a $7,66 \pm 0,01$, diferindo estatisticamente, conforme demonstrado na Tabela 4. Devido ao processo de elaboração por meio de gelatinização por aquecimento, com adição de ácido cítrico, justifica-se o pH de caráter ácido das formulações com maiores concentrações de AC (S2, S3, S4 e S5).

Tabela 4 - Potencial Hidrogeniônico (pH) dos hidrogéis

Amostra	pH
S1 (2% AC)	$6,23 \pm 0,01^b$
S2 (3% AC)	$5,19 \pm 0,00^c$
S3 (4% AC)	$4,30 \pm 0,01^d$
S4 (6% AC)	$3,82 \pm 0,01^e$
S5 (10% AC)	$3,36 \pm 0,01^f$
S6 (0% AC)	$7,66 \pm 0,01^a$

*Média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

O pH das amostras diminuiu, conforme a concentração de ácido cítrico aumentou, sendo a S5 (10% AC) a que apresentou o menor valor de pH, ou seja, mais ácido ($3,36 \pm 0,01$) e a S1 (2% AC), apresentou o maior pH ($6,23 \pm 0,01$), dentre as amostras com adição de ácido cítrico. A S6 (0% AC), ou seja, a amostra controle, sem adição de ácido cítrico, apresentou pH mais próximo da neutralidade ($7,66 \pm 0,01$).

Lima *et al.* (2020) elaboraram hidrogéis com amido de mandioca salsa, modificado por tecnologia de ozônio e o pH variou de 4,0 a 8,5, valores próximos aos encontrados nesse estudo. Em outro estudo conduzido por Maniglia *et al.* (2020a), que desenvolveram hidrogéis à base de amido de trigo modificado por tratamento de aquecimento a seco (DHT), encontraram valores de pH que variaram de $5,90 \pm 0,10$ a $6,06 \pm 0,15$, valores próximos às formulações F1 (2% AC) e F2 (3% AC), encontrados na presente pesquisa.

Já em estudo desenvolvido por Lima *et al.* (2020), com hidrogéis de fécula de mandioca ozonizada, os autores relataram valores de pH de $5,23 \pm 0,11$, $5,32 \pm 0,17$ e $5,45 \pm 0,19$, valores próximos ao mensurado na formulação F2 com 3% de ácido cítrico, do presente estudo.

Maniglia *et al.* (2019) desenvolveram hidrogéis à base de amido de mandioca ozonizado e encontraram valores de pH 4,00 e 5,00. Os autores associaram a redução do pH ao maior teor de carboxilas, um grupo funcional de natureza ácida.

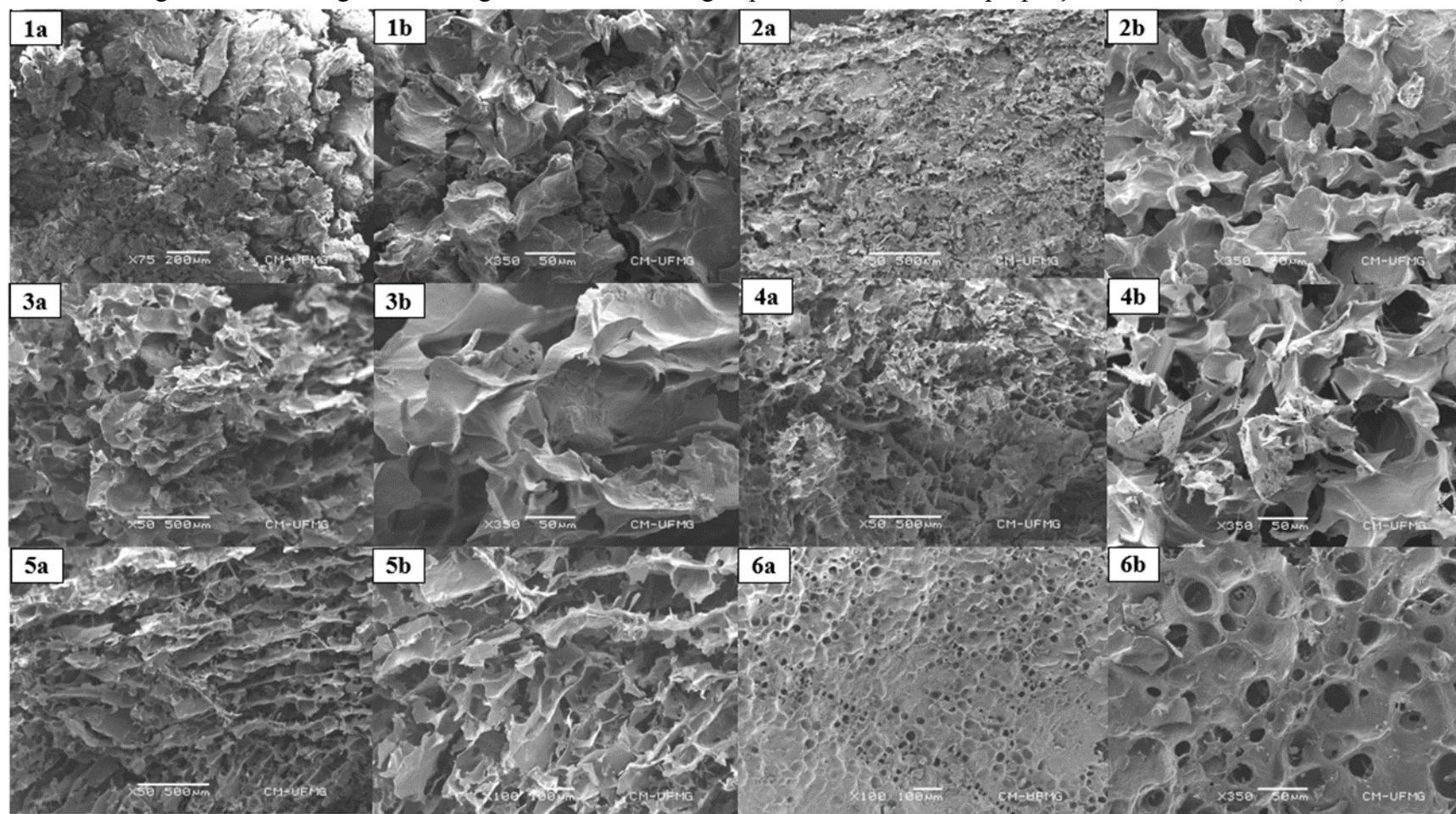
É bem conhecido que as cadeias de amilose e amilopectina (glicose) do amido são hidrolisadas pela adição de ácidos (Hirashima *et al.*, 2012). A adição de um meio ácido, como o ácido cítrico dissolvido em água destilada, pode auxiliar no desenvolvimento de hidrogéis sensíveis ao pH, podendo ser utilizado para modular a liberação de compostos bioativos, além de minimizar o crescimento de microrganismos (de Lima *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2023).

Portanto, a elaboração de hidrogéis de amido em meio ácido (com adição de ácido cítrico, por exemplo), mostra-se promissora para melhorar a gelatinização das suspensões de amido e quitosana, como realizado no presente estudo.

3.4 Avaliação morfológica dos hidrogéis

A morfologia permite avaliar subjetivamente a formação de estruturas porosas ou não na rede tridimensional dos hidrogéis (Biduski *et al.*, 2018). A estrutura interna dos hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes concentrações de ácido cítrico, reticulados fisicamente, estão apresentados na Figura 8.

Figura 8 - Morfologia dos hidrogéis de amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido, cítrico (AC)



Legenda: Imagens em diferentes ampliações (1a 2% AC X75; 1b 2% AC X350; 2a 3% AC X50; 2b 3% AC X350; 3a 4% AC X50; 3b 4% AC X350; 4a 6% AC X50; 4b 6% AC X350; 5a 10% AC X50; 5b 10% AC X100; 6a 0% AC X100; 6b 0% AC X350).

Em geral, os hidrogéis apresentaram microporos com formatos irregulares e regulares, superfície esponjosa e rugosa. De acordo com Lima-Tenório *et al.*, (2015), este tipo de morfologia em hidrogéis, formam um caminho ao longo de toda a estrutura, permitindo o transporte de água através do hidrogel e, possivelmente aumentando sua absorção, como observado na Tabela 2 e também devido à formação e crescimento de cristais de gelo durante o congelamento (Lenie *et al.*, 2024; Zhu, 2019).

Em estudo desenvolvido por Azadikhah & Karimi (2022), que avaliou hidrogéis de álcool polivinílico (PVA), quitosana e ácido tânico, demonstrando que todos os hidrogéis apresentaram estruturas esponjosas, com paredes de poros nanométricas. Os autores atribuíram esse comportamento à reticulação física, indicando que o congelamento e descongelamento dos hidrogéis à base de PVA, promoveram a formação de ligações de hidrogênio entre cadeias poliméricas, evidenciando a formação de estruturas altamente porosas, características também observadas no presente estudo.

Na Figura 5 (a) e (b), associada à maior concentração de ácido cítrico (AC), é possível observar microporos sobrepostos que formam uma rede interconectada, mais numerosos e dispostos de maneira mais ordenada. Essa característica morfológica permite, a formação de um caminho contínuo em toda a estrutura, facilitando o transporte de água através do hidrogel e, conseqüentemente, contribuindo para o aumento de sua capacidade de absorção, explica Biduski *et al.* (2018) em seu estudo. A rede de poros interligados, facilita a difusão de solutos e a transferência eficiente de massa em várias aplicações (Alkhursani *et al.*, 2024).

O hidrogel elaborado com amido de sorgo e quitosana, sem adição de AC, apresentou microporos interligados mais uniformes, com geometria de poros arredondados regulares. Esses poros estão dispostos em uma superfície mais densa e lisa, como evidenciado na Figura 6 (a) e (b). A pesquisa de Chen *et al.* (2022) destacou que, o hidrogel de amido de milho nativo, também apresentava uma rede interligada em sua morfologia interna, semelhante ao observado neste estudo.

No entanto, a presença de poros maiores facilita a penetração da água na estrutura dos hidrogéis, aumentando sua capacidade de intumescimento (Chang *et al.*, 2010), o que foi observado em todos os hidrogéis elaborados com ácido cítrico (figuras 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a e 5b), evidenciando a importância desse componente em intensificar a reticulação, ou seja, a formação de uma rede tridimensional, nos hidrogéis desenvolvidos, com elevada capacidade de absorção de água (Demitri *et al.*, 2008; Raucci *et al.*, 2015).

As figuras 8a e 8b comprovam que, quanto maior a concentração de ácido cítrico, mais intensa será a formação da rede formada e maiores e mais numerosos serão os poros, aumentando assim, a capacidade de absorção e retenção de água do hidrogel, conforme evidenciado anteriormente nas Tabelas 2 e 3.

Atualmente, o ácido cítrico vem ganhando muita atenção dos pesquisadores devido à sua biocompatibilidade, química versátil, disponibilidade e baixo custo e tem sido considerado um reticulador verde. Em virtude de seus três grupos carboxílicos (COOH) e um grupo hidroxila (-OH), o ácido cítrico pode participar ativamente nas interações de ligações de hidrogênio com outras redes poliméricas e melhorar suas características (Aswathy *et al.*, 2023; Salihu *et al.*, 2021).

Sendo assim, a análise morfológica dos hidrogéis elaborados à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes concentrações de ácido cítrico, reticulados fisicamente, demonstrou a eficiência do processo de reticulação física em promover o desenvolvimento da rede tridimensional polimérica e a adição de ácido cítrico, potencializou essa formação, permitindo a elaboração de hidrogéis altamente porosos, com elevada capacidade de absorção e retenção de água.

3.5 Análise do perfil de textura (TPA)

Os perfis de textura dos hidrogéis à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes concentrações de ácido cítrico estão apresentados na Tabela 5. As 6 amostras de hidrogéis, apresentaram comportamento semelhante quanto à resiliência e adesividade, não diferindo significativamente entre si ($p > 0,05$). Já em relação aos parâmetros dureza, coesividade, gomosidade e flexibilidade, houve diferença significativa entre as amostras.

A textura dos géis é examinada por seus vários parâmetros, como dureza, coesão, gomosidade, resiliência, adesividade e flexibilidade. Destes, a dureza e a coesão determinam a integridade estrutural dos géis, enquanto os outros fatores são derivados deles. A dureza é definida como a força máxima necessária para deformar uma amostra durante a compressão inicial (Barrangou *et al.*, 2006; Mahajan *et al.*, 2021).

Tabela 5 - Perfil de análise em textura dos hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC)

Parâmetros	Amostra					
	S1 (2% AC)	S2 (3% AC)	S3 (4% AC)	S4 (6% AC)	S5 (10% AC)	S6 (0% AC)
Dureza	438,16 ± 194,70 ^a	199,09 ± 44,22 ^b	335,14 ± 79,39 ^{ab}	261,72 ± 66,69 ^{ab}	136,58 ± 12,29 ^b	218,58 ± 46,86 ^b
Coesividade	0,34 ± 0,01 ^b	0,40 ± 0,03 ^b	0,37 ± 0,02 ^b	0,36 ± 0,07 ^b	0,56 ± 0,07 ^a	0,38 ± 0,01 ^b
Gomosidade	144,81 ± 58,63 ^a	80,00 ± 16,78 ^b	122,63 ± 22,97 ^{ab}	93,00 ± 19,96 ^{ab}	75,33 ± 5,09 ^b	83,57 ± 15,11 ^{ab}
Resiliência	0,04 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,01 ^a
Adesividade	124,36 ± 29,61 ^a	129,37 ± 49,88 ^a	177,57 ± 65,86 ^a	96,02 ± 24,51 ^a	138,12 ± 45,14 ^a	102,50 ± 44,22 ^a
Flexibilidade	0,95 ± 0,02 ^a	0,94 ± 0,02 ^{ab}	0,95 ± 0,03 ^a	0,90 ± 0,03 ^b	0,94 ± 0,01 ^{ab}	0,92 ± 0,01 ^{ab}

*Média ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

Os valores de dureza dos hidrogéis variaram de $136,58 \pm 12,29$ a $438,16 \pm 194,70$. A amostra S1 com menor concentração de AC (2%), diferiu estatisticamente das amostras S2 (3% AC), S5 (10% AC) e S6 (0% AC), apresentando maior dureza. Isso demonstra que uma menor adição de AC foi suficiente para produzir um gel mais firme, devido ao processo de reticulação intensificado por esse ácido. No entanto, esse resultado também demonstrou que ao aumentar a concentração de ácido cítrico, isso não influenciou na firmeza dos hidrogéis, sendo os valores estatisticamente iguais entre as amostras S1, S3 e S4, com 2, 4 e 6% de AC, respectivamente.

Esses valores foram maiores e estatisticamente iguais nas amostras S1 (2% AC), S3 (4% AC) e S4 (6% AC), isso demonstra que essas amostras apresentaram um gel mais firme em relação às demais. Zhu *et al.* (2020), ao avaliarem a dureza em géis à base de amidos de batata, batata doce e quinoa, encontraram valores que variaram de 20,9 a 62,7, que foram inferiores aos encontrados no presente estudo, o que demonstra que, hidrogéis elaborados com amido de sorgo, apresentam-se mais firmes.

Em estudo que avaliou o perfil de textura em hidrogéis de amido de arroz, nativos e intercruzados, por método de gelatinização por aquecimento, (Biduski *et al.*, 2018) encontraram valores de dureza de 41,94 para o amido nativo e 563,24 para o intercruzado, demonstrando que o processo de intercruzamento permitiu a formação de hidrogéis mais rígidos. Esse resultado, corrobora ao encontrado no presente estudo para o mesmo parâmetro, demonstrando que, mesmo utilizando amido nativo de sorgo, a reticulação física por ciclos de congelamento-descongelamento, foi eficiente para produzir géis firmes. Além disso, géis com alto valor de dureza são referidos como tendo alta integridade estrutural, enquanto o gel com menor dureza perde estrutura com o passar do tempo (Mahajan *et al.*, 2021).

O parâmetro textural de coesividade, também avaliado no TPA dos hidrogéis, está relacionado à medição das forças das ligações internas que constituem a estrutura final do produto. Este parâmetro pode ser utilizado como índice para avaliar a aceitabilidade global de produtos alimentares de amido. O menor grau de coesão indica uma alta plasticidade ou baixa elasticidade dos géis (Mahajan *et al.*, 2021; Teng *et al.*, 2013).

Os valores de coesividade variaram de $0,34 \pm 0,01$ a $0,56 \pm 0,07$ entre as amostras analisadas. Em estudo que avaliou esse mesmo parâmetro, em hidrogéis de amido de arroz, nativos e intercruzados, por método de gelatinização por aquecimento, Biduski *et al.* (2018) encontraram valores de 0,56 para o amido nativo e 0,71 para o intercruzado, associando esse resultado à baixa coesividade dos hidrogéis do amido nativo, à fraca associação intermolecular.

Este resultado foi similar ao encontrado neste estudo, em que o maior valor de coesividade ($0,56 \pm 0,07$), foi da amostra S5, com maior concentração de ácido cítrico, em

relação às demais. Isso demonstra que, uma maior concentração de AC foi capaz de intensificar as ligações internas do amido de sorgo e quitosana, promovendo interações mais intensas entre as cadeias. Além disso, o valor de pH também pode ter influenciado esse resultado. A redução do pH, promovida pela maior adição de ácido cítrico no presente estudo, pode levar à formação de géis, que são difíceis de deformar (Hirashima *et al.*, 2012).

Zhu *et al.* (2020), ao avaliarem a coesividade em géis à base de amidos de batata, batata doce e quinoa, encontraram valores que variaram de 0,34 a 0,68, próximos aos encontrados no presente estudo.

Em relação à gomosidade, este parâmetro textural é importante para produtos alimentícios semissólidos, que é expresso pela multiplicação dos valores de dureza e coesividade. Valores mais elevados de gomosidade indicam maior dureza e menor coesão nos produtos alimentícios (Chandra & Shamasundar, 2015).

Biduski *et al.* (2018) ao avaliarem esse mesmo parâmetro em hidrogéis de amido nativo de arroz, encontrou valor de 19,71, inferior ao relatado no presente estudo. Em outro estudo que desenvolveu hidrogéis à base de amido de milheto, Mahajan *et al.* (2021) encontraram valores de 11,81 a 52,01 para o parâmetro de textura gomosidade. Isso demonstra que os hidrogéis à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes concentrações de ácido cítrico, elaborados na presente pesquisa, resultaram em géis mais firmes.

A gomosidade é a energia necessária para a desintegração do alimento e está diretamente relacionada ao teor de amilose do amido, ou seja, quanto maior o teor de amilose, maior é a força necessária para desintegração do gel. Isso se deve ao fato de que as cadeias lineares de amilose tendem a formar ligações intermoleculares mais fortes. O valor não deve ser muito elevado, pois tornará o produto inaceitável pelos consumidores (Mahajan *et al.*, 2021).

O amido de sorgo utilizado no presente estudo para a elaboração dos hidrogéis, contém uma média 26,88 %, caracterizando como médio teor de amilose (Vieira *et al.*, 2020), o que justifica os altos valores de gomosidade encontrados nas amostras. Sendo assim, as amostras que obtiveram menores valores de gomosidade foram S2, S3, S4, S5 e S6, sendo estes, estatisticamente iguais. Isso demonstra que a adição de ácido cítrico não influenciou na gomosidade dos hidrogéis e foram as que apresentaram melhores resultados para o parâmetro de textura gomosidade.

Quanto aos parâmetros texturais resiliência e adesividade, não houve diferença estatisticamente significativa entre as seis amostras de hidrogéis, demonstrando que a concentração de ácido cítrico, também não influenciou nesses parâmetros.

A resiliência é a medida de recuperação da amostra após compressão, em termos de força derivada e velocidade, enquanto que a adesividade está relacionada à formação de uma estrutura mais resistente dos géis, ou seja, está relacionada à força que o gel exerce sobre a pobre do equipamento, impedindo que ele volte (Biduski *et al.*, 2018).

Esses resultados demonstram que os hidrogéis de amido de sorgo, quitosana, com diferentes concentrações de ácido cítrico, foram capazes de resistir às forças de compressão e recuperar o tamanho e a forma iniciais após os testes de TPA, evidenciando boa integridade e alta resistência, independentemente da concentração do ácido cítrico (Larrea-Wachtendorff *et al.*, 2020).

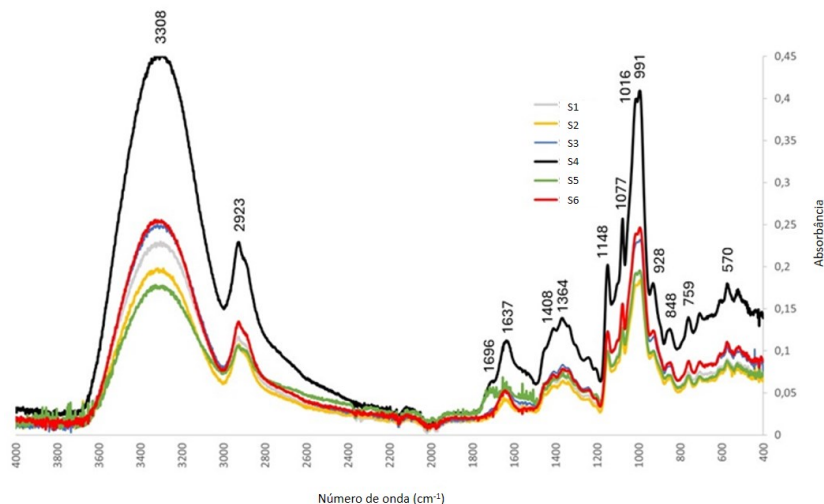
Ao analisar o parâmetro textural de flexibilidade, os valores encontrados foram de $0,92 \pm 0,01$ a $0,95 \pm 0,02$, apresentando diferença estatisticamente significativa apenas entre as amostras S1 (2% AC) e S4 (6% AC), sendo a primeira maior em relação à segunda. Os resultados indicaram que a concentração de ácido cítrico não influenciou na flexibilidade dos hidrogéis, visto que a amostra sem adição de ácido cítrico S6, apresentou resultado estatisticamente igual ao da amostra com a maior concentração de ácido cítrico S5 (10% AC). A flexibilidade corresponde à capacidade da amostra em retornar ao seu estado original após a compressão.

3.6 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de ATR-FTIR das seis formulações de hidrogel elaboradas à base de amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC), estão apresentados na Figura 9.

A análise de infravermelho dos hidrogéis desenvolvidos possibilitou identificar características específicas do amido e do ácido cítrico. A identificação do amido se mostrou mais simples devido à sua maior proporção.

Figura 9 - Espectros de FTIR das seis amostras de hidrogéis elaborados com amido de sorgo, quitosana e diferentes proporções de ácido cítrico (AC)



Legenda: S1: hidrogel elaborado com 2% AC; S2: hidrogel elaborado com 3% AC; S3: hidrogel elaborado com 4% AC; S4: hidrogel elaborado com 6% AC; S5: hidrogel elaborado com 10% AC; S6: hidrogel elaborado com 0% AC.

A presença do amido se relacionou às seguintes bandas: 3308 cm^{-1} , atribuída ao estiramento O-H, tendo elevada amplitude devido às interações intermoleculares; 3000 e 2800 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C-H; 1637 cm^{-1} , atribuída a uma banda de flexão do grupo hidroxila da água, indicando perfil hidroscópico do amido; 1459 e 1350 cm^{-1} , atribuídas à deformação angular de grupos C-H; 1060 e 990 cm^{-1} , sendo características de polissacarídeos e atribuídas a deformações do grupo C-O-C e flexão do grupo O-H; 1016 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C-OH; 575 cm^{-1} , atribuída ao modo de vibração do anel pirano das unidades de glicoses do amido; 1639 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C=O e 994 cm^{-1} , atribuída ao estiramento do grupo C-O-H (Odiongenyi *et al.*, 2016; Ferreira-Villadiego *et al.*, 2018).

O ácido cítrico, por sua vez, foi identificado pela banda em 1696 cm^{-1} , atribuída a um dos seus estiramentos de carbonila (C=O)₄. A não identificação da quitosana foi relacionada à sua baixa proporção na mistura e a semelhança dos valores de parte das frequências de suas bandas com as do amido (Garcia *et al.*, 2011).

Por fim, ao comparar as proporções dos três constituintes das amostras e os resultados dos espectros de infravermelho, percebe-se que as amostras 4 e 5, de maior proporção de ácido cítrico, têm a banda em 1696 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de um dos seus grupos C=O. Portanto, misturas contendo 0,3 g ou mais de ácido cítrico em 5 g de amido e 0,5 g de quitosana podem ter esse ácido identificado via espectroscopia de infravermelho com amostrador de ATR.

4. CONCLUSÃO

O amido de sorgo demonstrou ser uma matéria prima promissora no desenvolvimento de hidrogéis, utilizando a quitosana como agente gelificante e de ácido cítrico para promover o meio ácido e melhorar a gelatinização, com excelentes características, com formação de géis homogêneos, lisos, brilhantes e com elevada capacidade de absorção e retenção de água. A análise morfológica dos hidrogéis desenvolvidos, demonstrou a eficiência do processo de reticulação física, por ciclos de congelamento-descongelamento, formando uma rede tridimensional que foi intensificada pela adição do ácido cítrico. A análise de infravermelho das formulações de hidrogéis possibilitou identificar bandas inerente à composição da matéria prima.

O perfil de textura dos hidrogéis, permitiu demonstrar que todas as formulações resistiram ao processo de compressão de 2 ciclos em 50% da sua altura inicial, o que demonstra a formação de géis firmes, coesos, com boa integridade e alta resistência. Foi possível perceber algumas diferenças entre as formulações, que podem ser requeridas a depender da aplicação ao qual o hidrogel será destinado. Dentre as 6 formulações desenvolvidas, as formulações que apresentaram as melhores características, como homogeneidade, valor de pH e ausência de grumos, foram as formulações F3 e F4, que são constituídas por concentrações intermediárias de ácido cítrico (4 e 6%), dentre as 6 formulações desenvolvidas, demonstrando que essas concentrações são suficientes para promover a melhora na gelatinização da suspensão de amido de sorgo e quitosana, bem como em intensificar a rede tridimensional promovida pela reticulação física.

Por fim, o novo hidrogel elaborado neste estudo, reticulado fisicamente, é ecologicamente sustentável, pois não envolve a adição de reagentes químicos. Além disso, o uso do sorgo, como fonte não convencional de amido, promove a sustentabilidade. Dessa forma, o hidrogel desenvolvido revelou-se uma matriz promissora para diversas aplicações, contribuindo para o avanço da comunidade científica.

REFERÊNCIAS

- ALKHURSANI, S. A. *et al.* pH-Sensitive Hydrogel Membrane-Based Sodium Alginate/Poly(vinyl alcohol) Cross-Linked by Freeze–Thawing Cycles for Dye Water Purification. **ACS ES&T Water**, v. 4, n. 2, p. 509–519, 9 fev. 2024.
- ALMEIDA, A. P. C. *et al.* Crosslinked bacterial cellulose hydrogels for biomedical applications. **European Polymer Journal**, v. 177, p. 111438, 15 ago. 2022.
- ASWATHY, S. H.; NARENDRAKUMAR, U.; MANJUBALA, I. The influence of molecular weight of cellulose on the properties of carboxylic acid crosslinked cellulose hydrogels for biomedical and environmental applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 239, p. 124282, 1 jun. 2023.
- AZADIKHAH, F.; KARIMI, A. R. Injectable photosensitizing supramolecular hydrogels: A robust physically cross-linked system based on polyvinyl alcohol/chitosan/tannic acid with self-healing and antioxidant properties. **Reactive and Functional Polymers**, v. 173, p. 105212, 1 abr. 2022.
- BARRANGOU, L. M. *et al.* Textural properties of agarose gels. II. Relationships between rheological properties and sensory texture. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 2–3, p. 196–203, 1 mar. 2006.
- BIDUSKI, B. *et al.* Impact of acid and oxidative modifications, single or dual, of sorghum starch on biodegradable films. **Food Chemistry**, v. 214, p. 53–60, 1 jan. 2017.
- BIDUSKI, B. *et al.* Starch hydrogels: The influence of the amylose content and gelatinization method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 443–449, 1 jul. 2018.
- CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 3, p. 572–584, 4 mar. 2015.
- CHANG, C. *et al.* Superabsorbent hydrogels based on cellulose for smart swelling and controllable delivery. **European Polymer Journal**, v. 46, n. 1, p. 92–100, 1 jan. 2010.
- CHEN, X. *et al.* Dual Cross-Linked Starch–Borax Double Network Hydrogels with Tough and Self-Healing Properties. **Foods**, v. 11, n. 9, p. 1315, 30 abr. 2022.
- CHEN, Y. *et al.* Preparation of hydroxybutyl starch with a high degree of substitution and its application in temperature-sensitive hydrogels. **Food Chemistry**, v. 355, p. 129472, 1 set. 2021.
- CORREIA, V. *et al.* Impact of Gamma Irradiation on Physicochemical, Technological, Antioxidant and Microbiology Properties of Whole Sorghum Flours. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2022.
- CUI, C. *et al.* Recent advances in the preparation, characterization, and food application of starch-based hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 291, p. 119624, 2022.

DAHAL, P.; JANASWAMY, S. Hydrocolloid-based nutraceutical delivery systems: Potential of κ -carrageenan hydrogel beads for sustained release of curcumin. **Food Research International**, v. 183, p. 114223, 1 maio 2024.

DA SILVA, F. T. *et al.* Physically cross-linked aerogels based on germinated and non-germinated wheat starch and PEO for application as water absorbers for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, p. 6–13, 15 jul. 2020.

DE LIMA, G. G. *et al.* Extraction Method Plays Critical Role in Antibacterial Activity of Propolis-Loaded Hydrogels. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 3, p. 1248–1257, 1 mar. 2016.

DEMITRI, C. *et al.* Novel superabsorbent cellulose-based hydrogels crosslinked with citric acid. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 110, n. 4, p. 2453–2460, 15 nov. 2008.

DOS SANTOS, J. S. *et al.* Hydrogel properties of non-conventional starches from guabiju, pinhão, and uvaia seeds. **Food Research International**, v. 173, p. 113243, 1 nov. 2023.

FERNANDES, L. *et al.* Physicochemical properties and microbial control of chestnuts (*Castanea sativa*) coated with whey protein isolate, chitosan and alginate during storage. **Scientia Horticulturae**, v. 263, p. 109105, 15 mar. 2020.

FERREIRA-VILLADIEGO, J. *et al.* Chemical Modification and Characterization of Starch Derived from Plantain (*Musa paradisiaca*) Peel Waste, as a Source of Biodegradable Material. **Chemical Engineering Transactions**, v. 65, p. 763–768, 2018.

GARCIA, P. S. *et al.* Citric acid as multifunctional agent in blowing films of starch/PBAT. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1507–1510, set. 2011.

HIRASHIMA, M.; TAKAHASHI, R.; NISHINARI, K. The gelatinization and retrogradation of cornstarch gels in the presence of citric acid. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 2, p. 390–393, 1 jun. 2012.

HUANG, Z. *et al.* Milk lipid *in vitro* digestibility in wheat, corn and rice starch hydrogels. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 11, p. 3361–3371, nov. 2020.

JIANG, C. *et al.* Using bacterial cellulose to bridge covalent and physical crosslinks in hydrogels for fabricating multimodal sensors. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 263, p. 130178, 1 abr. 2024.

KLEIN, B. *et al.* Effect of single and dual heat–moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhao starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1578–1584, 6 nov. 2013.

LARREA-WACHTENDORFF, D.; DI NOBILE, G.; FERRARI, G. Effects of processing conditions and glycerol concentration on rheological and texture properties of starch-based hydrogels produced by high pressure processing (HPP). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 590–597, 15 set. 2020.

LENIE, M. D. R. *et al.* Development of a pH-responsive system based on starch and alginate-pectin hydrogels using coaxial 3D food printing. **Food Hydrocolloids**, v. 153, p. 109989, 1 ago. 2024.

LI, J. *et al.* Freeze-thaw stability of konjac glucomannan hydrogels supplemented with natural tapioca/corn starch. **LWT**, v. 182, p. 114841, 1 jun. 2023.

LIMA, D. C. *et al.* Ozone modification of arracacha starch: Effect on structure and functional properties. **Food Hydrocolloids**, v. 108, p. 106066, 2020.

LIMA-TENÓRIO, M. K. *et al.* Water transport properties through starch-based hydrogel nanocomposites responding to both pH and a remote magnetic field. **Chemical Engineering Journal**, v. 259, p. 620–629, 2015.

LIU, J. *et al.* Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 45–52, 1 maio 2014.

LIU, K. *et al.* Research progress on polysaccharide/protein hydrogels: Preparation method, functional property and application as delivery systems for bioactive ingredients. **Food Research International**, v. 147, p. 110542, 2021.

LÓPEZ CÓRDOBA, A.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. **Carbohydrate polymers**, v. 95, n. 1, p. 315–323, jun. 2013.

MAHAJAN, P.; BERA, M. B.; PANESAR, P. S. Modification of Kutki millet (*Panicum sumatrense*) starch properties by the addition of amino acids for the preparation of hydrogels and its characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 9–18, 30 nov. 2021.

MANIGLIA, B. C. *et al.* Hydrogels based on ozonated cassava starch: Effect of ozone processing and gelatinization conditions on enhancing 3D-printing applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 138, p. 1087–1097, out. 2019.

MANIGLIA, B. C. *et al.* Dry heating treatment: A potential tool to improve the wheat starch properties for 3D food printing application. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, v. 137, p. 109731, nov. 2020a.

MANIGLIA, B. C. *et al.* Preparation of cassava starch hydrogels for application in 3D printing using dry heating treatment (DHT): A prospective study on the effects of DHT and gelatinization conditions. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, v. 128, p. 108803, fev. 2020b.

MENG, R. *et al.* Preparation, characterization, and encapsulation capability of the hydrogel cross-linked by esterified tapioca starch. **International journal of biological macromolecules**, v. 155, p. 1–5, jul. 2020.

MUN, S. *et al.* Control of lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility using starch-based filled hydrogels: Influence of starch and surfactant type. **FOOD HYDROCOLLOIDS**, v. 44, p. 380–389, 2015.

ODIONGENYI, A. O.; ESSIEN, N. B.; UKPE, R. A. Corn Starch as a Substitute for Commercial Food Starch: FT-IR and Rheological Characterization. **Journal of Scientific and Engineering Research**, v. 3, n. 6, p. 494–501, 2016.

QIN, Y. *et al.* A Dual Cross-Linked Strategy to Construct Moldable Hydrogels with High Stretchability, Good Self-Recovery, and Self-Healing Capability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 14, p. 3966–3980, 10 abr. 2019.

RAUCCI, M. G. *et al.* Effect of citric acid crosslinking cellulose-based hydrogels on osteogenic differentiation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 103, n. 6, p. 2045–2056, 18 jun. 2015.

SALIHU, R. *et al.* Citric acid: A green cross-linker of biomaterials for biomedical applications. **European Polymer Journal**, v. 146, p. 110271, 5 mar. 2021.

SAQIB, M. N. *et al.* Hydrogel beads for designing future foods: Structures, mechanisms, applications, and challenges. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 2, p. 100073, 1 dez. 2022.

SHROTI, G. K.; SAINI, C. S. Development of edible films from protein of brewer's spent grain: Effect of pH and protein concentration on physical, mechanical and barrier properties of films. **Applied Food Research**, v. 2, n. 1, p. 100043, jun. 2022.

SILVA, K. C. G. *et al.* Protection and targeted delivery of beta-carotene by starch-alginate-gelatin emulsion-filled hydrogels. **Journal of Food Engineering**, v. 290, 2021.

SOARES, L. DE S. *et al.* Mixed starch/chitosan hydrogels: elastic properties as modelled through simulated annealing algorithm and their ability to strongly reduce yellow sunset (INS 110) release. **Carbohydrate polymers**, v. 255, p. 117526, mar. 2021.

SUN, S. *et al.* The effect of water activity on thermal resistance of Salmonella in chocolate products with different fat contents. **Food Control**, v. 162, p. 110443, 1 ago. 2024.

TENG, L. Y.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A. Rheological and textural studies of fresh and freeze-thawed native sago starch–sugar gels. II. Comparisons with other starch sources and reheating effects. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 156–165, 1 jun. 2013.

VIEIRA, A. L. S. *et al.* Caracterização do amido isolado de diferentes cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 24704–24718, 2020.

VIEIRA, A. L. S. *et al.* Starch-based hydrogels: current status and applications in food. **CONTRIBUCIONES A LAS CIENCIAS SOCIALES**, v. 16, n. 11, p. 28707–28727, 29 nov. 2023.

WU, B. *et al.* pH-dependent microbial niches succession and antibiotic resistance genes distribution in an oxygen-based membrane biofilm reactor treating greywater. **Environmental Research**, v. 216, p. 114725, 1 jan. 2023.

WU, B.; MCCLEMENTS, D. J. Microgels formed by electrostatic complexation of gelatin and OSA starch: Potential fat or starch mimetics. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 87–93, 2015.

WU, W. *et al.* Effect of temperature and inorganic salts concentration on syneresis rate of AM/DAC hydrogel. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 641, p. 128561, 20 maio 2022.

ZHANG, A. *et al.* Development of certified reference materials of lithium chloride solution for water activity. **Food Chemistry**, v. 437, p. 137824, 30 mar. 2024.

ZHU, F. Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 85, p. 129–137, 1 mar. 2019.

ZHU, F.; HUA, Y.; LI, G. Physicochemical properties of potato, sweet potato and quinoa starch blends. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105278, 1 mar. 2020.

CAPÍTULO III

Artigo publicado: VIEIRA, A. L. S. *et al.* Evaluation of the Chemical Profile and Antioxidant Capacity of Green, Brown, and Dark Propolis. **Plants**, v. 12, n. 18, p. 3204, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12183204>
Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/18/3204>

Avaliação do perfil químico e da capacidade antioxidante da própolis verde, marrom e preta

RESUMO

A composição química da própolis varia entre os diferentes tipos, devido à vegetação específica encontrada nas proximidades das colmeias e às condições climáticas e edafoclimáticas em todo o mundo. A própolis verde é exclusiva do Brasil, produzida por abelhas, com a resina da planta *Baccharis dracunculifolia*. A própolis marrom é uma variedade específica produzida principalmente no Nordeste do Brasil a partir da planta *Hyptis divaricata*, também conhecida como "maria miraculosa". A própolis preta é uma variedade de própolis produzida pelas abelhas a partir da resina da planta conhecida como Jurema Preta (*Mimosa hostilis benth*). Neste estudo, os extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta foram analisados quanto à sua capacidade antioxidante usando ABTS, FRAP e DPPH, e seus perfis químicos foram determinados usando espectrometria de massa em spray de papel. Entre os três extratos, a própolis verde apresentou o maior teor de fenólicos totais ($2741,71 \pm 49,53$ mg GAE. 100 g^{-1}), seguida pela própolis marrom ($1191,55 \pm 36,79$ mg GAE. 100 g^{-1}), e a própolis preta teve o menor teor ($901,79 \pm 27,80$ mg GAE. 100 g^{-1}). Os três tipos de própolis apresentaram alta capacidade antioxidante, sendo que a verde apresentou a maior capacidade antioxidante para os três métodos utilizados. Usando espectrometria de massa em spray de papel, foi possível sugerir a presença de 116 substâncias, incluindo flavonoides (56), fenilpropanoides (30), terpenos (25), ácido carboxílico (1), derivado de ácido benzóico (1), ácido graxo (1), aminoácido (1) e alcalóide (1). As substâncias presentes nos extratos de própolis verde, marrom e escuro reforçam seu potencial bioativo para aplicação em produtos alimentícios e farmacêuticos desses extratos.

Palavras-chave: extrato de própolis; substâncias bioativas; EM/PS; potencial antioxidante

1. INTRODUÇÃO

A própolis, também chamada de "cola de abelha", é um produto natural coletado por diferentes espécies de abelhas, entre elas *Apis mellifera*. É produzida através dos exsudatos coletados de brotos e flores de diferentes espécies de plantas que crescem nas proximidades da colmeia (Bobiş, 2022; Schepetkin *et al.*, 2022; Widelski *et al.*, 2023). Esses exsudatos são transportados para a colmeia, mastigados pelas abelhas e misturados ao pólen e à saliva da abelha, contendo várias enzimas. Finalmente, após a adição de cera de abelha, forma-se a própolis bruta, composta por aproximadamente 50% de resinas, 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outras substâncias e materiais, incluindo compostos orgânicos (Pellati *et al.*, 2011; Seibert *et al.*, 2019; Touzani *et al.*, 2021).

Os seres humanos fazem uso da própolis desde as primeiras civilizações. Os sacerdotes do antigo Egito usavam continuamente a própolis como substância medicinal e parte integrante das essências de creme de embalsamamento. Posteriormente, persas, romanos e incas empregavam a própolis para tratar infecções, como desinfetantes orais e como agente antisséptico e cicatrizante no tratamento de feridas (Cuesta-Rubio *et al.*, 2022; Giampieri *et al.*, 2022; Karagecili *et al.*, 2023; Soares *et al.*, 2017).

As propriedades físico-químicas (densidade, cor, odor), perfil químico e atividade biológica de uma determinada amostra de própolis são determinadas por alguns fatores, incluindo origem vegetal (precursora), clima, condições climáticas do ano de colheita e, às vezes, a época da colheita (Widelski *et al.*, 2023). Também é classificado de acordo com a flora onde as abelhas coletam as resinas, representando a matéria-prima para a produção de própolis (Kurek-Górecka *et al.*, 2022).

A própolis verde brasileira vem da planta *Baccharis dracunculifolia*, também conhecida popularmente como "alecrim do campo". É nativa das regiões Sudeste e Sul do Brasil e tem sido objeto de vários estudos para fins medicinais, fitoquímicos e farmacológicos (Gazim *et al.*, 2022; Moise; Bobiş, 2020; Teixeira *et al.*, 2023).

Essa variedade de própolis possui mais de 200 compostos químicos identificados. Dentre eles, o polifenol artepillin C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico) é considerado a principal substância bioativa, e os fenólicos bacarina e drupanina são descritos como marcadores químicos para esse tipo de própolis, originários da *B. dracunculifolia* (Altuntaş; Güzel; Özçelik, 2023; Falcão *et al.*, 2023; Moise; Bobiş, 2020).

No que diz respeito à própolis marrom, ela é produzida principalmente no Nordeste do Brasil a partir de *H. divaricata* (Park; Alencar; Aguiar, 2002). Dembogurski *et al.*, (2018)

descreveram em sua pesquisa a caracterização da própolis marrom, composta por flavonoides, ácidos graxos e ácido fenilpropanoide, e seus derivados prenilados, como a artepillin C.

Este tipo de própolis é caracterizado por uma composição rica em flavonoides sem substituintes do anel B (por exemplo, pinocembrina, pinobanksina, galangina, crisina) e seus ésteres, juntamente com fenilpropanoides e seus ésteres (por exemplo, éster feniletil de ácido cafeico, CAPE) (Falcão *et al.*, 2023).

A própolis preta é produzida por abelhas a partir da resina da planta chamada Jurema Preta (*Mimosa Hostilis benth*), uma árvore nordestina do Brasil (APIS-BRASIL, 2018). Em sua pesquisa, Oliveira *et al.*, (2016) revelam que o ácido 3,4-dihidroxibenzóico, a rutina e o ácido trans-cinâmico são os principais compostos químicos responsáveis pela capacidade antioxidante e antibacteriana. Evidências de estudos *in vitro* e *in vivo* corroboram seus efeitos farmacológicos: antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano, antidiabético, antitumoral, neuroprotetor, gastroprotetor e imunomodulador (Shahinozzaman *et al.*, 2020).

Estudos recentes têm demonstrado a promissora capacidade antioxidante da própolis por meio dos mecanismos de eliminação, neutralização e remoção de espécies reativas após a indução do estresse oxidativo e pela prevenção da peroxidação lipídica (Berretta *et al.*, 2023; Tzankova *et al.*, 2019).

Existem diferentes métodos de avaliação da capacidade antioxidante de um produto. Vários métodos *in vitro* têm sido aplicados para avaliar a capacidade antioxidante de produtos vegetais. Recomenda-se a combinação de pelo menos dois métodos *in vitro* para produzir informações mais confiáveis sobre a capacidade antioxidante total de um alimento. O método de redução de ferro FRAP (poder antioxidante redutor férrico), captura de radicais livres ABTS+ (2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) e captura de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) são, de acordo com a literatura, os mais utilizados para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* (Kurek-Górecka *et al.*, 2022; Rufino *et al.*, 2010).

Várias técnicas podem ser utilizadas para uma caracterização mais detalhada das substâncias antioxidantes presentes nas espécies vegetais, como a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida, que quantificam os compostos, combinados ou não, com a espectrometria de massas (EM), que identifica o perfil dos compostos nas amostras. A ionização ambiente pa-per spray (PS) destaca-se entre as técnicas de identificação (Correia *et al.*, 2023; Do Nascimento *et al.*, 2021).

A espectrometria de massa por pulverização de papel (EM-PS) é uma técnica eficiente e de baixo custo para analisar o perfil químico de substâncias em matrizes complexas. Permite a

rápida obtenção de impressões digitais de diferentes amostras sem gerar resíduos químicos. A técnica usa ionização ambiente de spray de alta tensão para registrar os analitos de um extrato de solvente em papel (Correia *et al.*, 2023).

O EM-PS é semelhante à técnica de ionização por eletrospray (ESI) e tem sido aplicado na detecção de fraudes, análise de pesticidas e caracterização fitoquímica de vários alimentos. Esta técnica fornece uma abordagem rápida e versátil para análise de amostras complexas, com uma ampla faixa de massa e preparação mínima de amostras (E Loyola *et al.*, 2021).

As vantagens da espectrometria de massa em spray de papel variam de maior replicabilidade a menor tempo de aquisição de dados para maior estabilidade do sinal. Neste método, um solvente extrai os compostos presentes na matéria-prima. Assim, o arrasto dos analitos extraídos é registrado em papel e uma ionização por spray é usada, devido à alta tensão aplicada (Ramos *et al.*, 2020).

A própolis é, portanto, uma importante fonte de substâncias bioativas, com potenciais efeitos benéficos à saúde humana. No entanto, não há relatos sobre a presença e dados comparativos dos tipos de substâncias fenólicas e capacidade antioxidante entre as diferentes variedades de própolis brasileiras. Assim, é essencial investigar a composição química de diferentes espécies e sua avaliação comparativa (E Loyola *et al.*, 2021). Nesse contexto, ao avaliar a capacidade antioxidante e o perfil químico da própolis verde, marrom e preta da região da Serra da Canastra, Bambuí, Minas Gerais, o estudo busca contribuir para o conhecimento científico desses produtos naturais e sua possível aplicação em medicamentos e produtos de saúde e bem-estar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

As amostras de própolis (resinas) verde, marrom e preta utilizadas na pesquisa foram doadas pela empresa Bee Própolis Brasil, oriundas de apiários, cuja flora nativa é rica em alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), coletadas na Serra da Canastra no município de Bambuí, Minas Gerais, (Latitude: 20°1'17" Sul, Longitude: 45°57'39" Oeste) em 2022. Além disso, também foi realizado o registro da presente pesquisa no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), com o código AA093FE. As amostras foram armazenadas separadamente em freezer a -18 °C até o momento das análises.

2.2. Métodos

2.2.1. Obtenção dos extratos

O extrato aquoso foi escolhido para ser utilizado no presente estudo, devido à toxicidade do metanol e à necessidade de uma etapa adicional de evaporação rotativa para o extrato alcoólico. Isso reduz o número de etapas no processo de extração, além do fato de que o extrato aquoso é o mais adequado para ingestão.

A extração dos compostos das amostras de própolis foi realizada de acordo com Rufino *et al.* (2010), com modificações, para determinar o teor de fenólicos, avaliar a capacidade antioxidante e analisar o perfil químico. Para a obtenção dos extratos de própolis, pesou-se 1,0 g de cada amostra em tubo Falcon de 50 mL, ao qual foram adicionados 10 mL de água destilada. As amostras foram agitadas em agitador de tubos (Nova instruments, NI 1066, Piracicaba, SP, Brasil) por 30 s e mantidas em repouso por 1 h em temperatura ambiente (25 °C). Posteriormente, a centrifugação foi realizada em uma centrífuga (Mod Jouan BR4) por 20 min com rotação de $25.407 \times g$. O sobrenadante foi transferido para microtubos (2 mL), e os extratos foram armazenados em temperatura de congelamento (-18 °C) até o momento das análises. Todo o processo de extração e as análises da capacidade antioxidante foram realizadas ao abrigo de luz e em triplicata.

2.2.2. Determinação do teor de compostos fenólicos totais

O método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu foi utilizado (Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós, 1998), com algumas modificações, para determinar o teor total de

compostos fenólicos dos extratos de própolis verde, marrom e preta. Os extratos foram diluídos em solução de acetona a 70% (v/v) em tubos falcon de 10 mL cobertos com papel alumínio, e 5 mL de solução de Folin-Ciocalteu a 10% foram adicionados. Essa mistura foi homogeneizada em um agitador de tubos (Nova instruments, NI 1066, Piracicaba, SP, Brasil) por 5 s, e mantida em repouso por 5 min. Após esse período, foram adicionados 4 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (p/v) e os tubos foram incubados em temperatura ambiente por 60 min. Após essa incubação, a amostra foi lida a 760 nm em um espectrofotômetro de absorção UV-visível (Analytik Jena, Spekol 1300, Jena, Alemanha), usando solução de acetona a 70% (v/v) como branco. O resultado foi expresso em equivalente de ácido gálico (mg GAE/100 g de amostra).

2.2.3. Determinação da Capacidade Antioxidante Total

Três métodos foram utilizados para determinar a capacidade antioxidante total dos extratos de própolis verde, marrom e preta: (1) reação com 2,2'-difeníl-1-picrilhidrazil (DPPH); (2) captura do radical livre ABTS*⁺; e (3) reação de redução de ferro (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Power).

Capacidade antioxidante por reação com o radical livre DPPH

A análise do DPPH foi realizada de acordo com o método oficial 2012.04 da AOAC, (2012), com algumas adaptações. Três diluições diferentes em triplicata foram preparadas em tubos falcon de 10 mL: 20 µL, 40 µL e 60 µL de amostra para 980 µL, 960 µL e 940 µL de metanol. Posteriormente, uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato foi transferida para tubos falcon de 10 mL com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizada em um agitador de tubos. As amostras foram lidas a 515 nm em um espectrofotômetro de absorção UV-visível (Analytik Je-na, Spekol 1300, Alemanha), após a redução da absorbância até a estabilização. O álcool metílico foi utilizado como branco para calibração do equipamento. Os resultados foram expressos em valores de EC50 em g de amostra/g de DPPH.

Capacidade antioxidante pela captura do radical livre ABTS

A técnica descrita por Rufino *et al.* (2010) foi empregada para determinar a capacidade antioxidante por meio da captura de ABTS*⁺. Três diferentes diluições de extratos de própolis verde, marrom e preta foram preparadas em triplicata: 20 µL, 40 µL e 60 µL de amostra para 980 µL, 960 µL e 940 µL de álcool etílico. Em tubos falcon, uma alíquota de 30 µL de cada

diluição do extrato com 3,0 mL do radical ABTS^{•+} foi transferida e homogeneizada em um agitador de tubo. Após a incubação por 6 min, a leitura da absorbância foi realizada a 734 nm, utilizando-se álcool etílico para calibrar o equipamento.

Capacidade antioxidante pela reação de redução de ferro (FRAP)

O método FRAP foi realizado conforme descrito por Rufino *et al.* (2010). Foram preparadas três diferentes diluições em tubos falcon de 10 mL, em triplicata, de extratos de própolis verde, marrom e preta: 20 µL, 40 µL e 60 µL de amostra para 980 µL, 960 µL e 940 µL de água destilada. Uma alíquota de 90 µL de cada diluição do extrato foi transferida para tubos falcon, e 270 µL de água destilada foi adicionado. Posteriormente, foram adicionados 2,7 mL do reagente FRAP, e a mistura foi homogeneizada em um agitador de tubos e mantida em banho-maria a 37 °C por 30 min. A leitura da absorbância foi realizada a 595 nm em espectrofotômetro, e o reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o equipamento.

2.2.4. Perfil químico por espectrometria de massas por *paper spray* (EM/PS)

O perfil químico dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta foi analisado usando um espectrômetro de massas LCQ (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) equipado com uma fonte de ionização por *paper spray*. Para a análise, foram aplicados 2 µL das amostras e 40 µL de metanol em papel cromatográfico, cortados em formato triangular (equivalente a 1,5 cm) acoplados ao equipamento. As condições instrumentais de análise foram as seguintes: tensão da fonte EM-PS igual a -3,5 kV (modo de ionização negativa) e +4,5 kV (modo de ionização positiva), tensão capilar de 40 V, tensão da lente do tubo de 120 V, temperatura do tubo de transferência de 275 °C e faixa de massa de 100 a 1000 para os modos de ionização positiva e negativa. Foi feita uma comparação entre as razões massa/carga (m/z) obtidas no estudo com as encontradas na literatura por meio de fragmentação por espectrometria de massas sequencial, a fim de identificar os compostos em análise. A energia de colisão usada para fragmentar os compostos variou de 15 a 40 V (Campelo *et al.*, 2020; García *et al.*, 2021; Ramos *et al.*, 2023).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

O teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante das amostras de própolis verde, marrom e preta, de acordo com os métodos ABTS, FRAP e DPPH, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Compostos Fenólicos Totais (CFT) e capacidade antioxidante da própolis				
Amostras	Análise			
	CFT (mg EAG/ 100g)	ABTS (μ M de Trolox/g)	FRAP (μ M de sulfato ferroso/g)	DPPH (EC50 expresso em g de amostra/g de DPPH)
Própolis Verde	2741,71 $\pm$ 49,53	293,90 $\pm$ 11,18	422,83 $\pm$ 21,42	491,68 $\pm$ 44,55
Própolis Marrom	1191,55 $\pm$ 36,79	109,29 $\pm$ 10,37	179,54 $\pm$ 14,71	1054,38 $\pm$ 73,66
Própolis Preta	901,79 $\pm$ 27,80	162,57 $\pm$ 20,77	161,29 $\pm$ 2,59	1090,72 $\pm$ 55,28

EC50 = Quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50%. CFT = Compostos fenólicos totais. EAG = Equivalente de ácido gálico. Valores médios $\pm$ desvio padrão (n = 3).

Diferentes testes foram aplicados para avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de própolis verde, marrom e preta, o que possibilita uma avaliação abrangente do potencial antioxidante das amostras.

A composição química da própolis é muito diversa e complexa. Essa composição depende de fatores como a flora ao redor da colmeia acessível às abelhas, o tempo de coleta e a diversidade de árvores e espécies vegetais coletadas pelas abelhas (Altuntaş; Güzel; Özçelik, 2023; Bankova, 2005), o que justifica os diferentes teores de compostos fenólicos totais entre os três tipos de própolis estudados.

Os teores de compostos fenólicos totais dos extratos de própolis foram de 2741,71 $\pm$ 49,53 mg EAG/100 g para o extrato de própolis verde, 1191,55 $\pm$ 36,79 mg EAG/100 g para o extrato de própolis marrom e 901,79 $\pm$ 27,80 mg EAG/100 g para o extrato de própolis preta.

Esses resultados demonstraram que o extrato de própolis verde apresentou o maior teor de compostos fenólicos entre os três extratos. Este tipo de própolis, de origem vegetal *Baccharis dracunculifolia*, é a principal fonte de própolis verde do Brasil, sendo caracterizada por seu alto teor de compostos fenólicos totais (Bankova, 2005; Cavalaro *et al.*, 2019).

Berretta *et al.*, (2023), ao estudarem o teor de compostos fenólicos totais na própolis verde brasileira em três diferentes formulações de extrato de própolis (fração polar de própolis, extrato seco de própolis solúvel e extrato de própolis microencapsulado), encontraram valores variando

de 2258 a 6162 mg EAG/100 g. O presente estudo encontrou um valor de $2741,71 \pm 49,53$ mg EAG/100 g para o extrato de própolis verde.

A diferença entre os teores de compostos fenólicos totais pode ser explicada devido às diferentes tecnologias utilizadas para produzir os extratos, que afetam seu perfil químico e atividade biológica.

Barbosa *et al.*, (2016) determinaram o teor de compostos fenólicos na própolis produzida em Roraima pela abelha *Apis*. Eles encontraram 639 e 4089 mg EAG/100 g para amostras de floresta e savana, respectivamente, nas quais os pesquisadores usaram o extrato etanólico de própolis. Isso pode explicar a diferença nos resultados quando comparados aos encontrados neste estudo, que utilizou o extrato aquoso de própolis.

A região de coleta da própolis também pode influenciar sua composição. Devido à vegetação específica encontrada nas áreas próximas às colmeias e às condições climáticas e edafoclimáticas, a própolis de Roraima (região Nordeste do Brasil) não é proveniente da mesma região que a própolis deste estudo.

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais na própolis marrom, foi encontrado um valor intermediário ($2741,71 \pm 49,53$ mg EAG/100 g), inferior à quantidade encontrada no extrato de própolis verde ($1191,55 \pm 36,79$ mg EAG /100 g) e superior à quantidade encontrada no extrato de própolis preta ($901,79 \pm 27,80$ mg EAG /100 g).

Em um estudo que avaliou o teor de compostos fenólicos totais da própolis marrom do estado de Santa Catarina, o valor encontrado foi de 873,3 mg EAG/100 g, valor inferior ao encontrado no presente estudo para a própolis marrom, que foi de 1191,55 mg EAG/100 g (Meneghelli *et al.*, 2013).

Essa variação pode ser explicada pelas diferentes regiões de origem da própolis marrom entre os dois estudos e pela variação nos processos de extração utilizados pelos pesquisadores. No estudo analisado, os pesquisadores utilizaram um método no qual obtiveram um extrato hidroalcoólico como produto final.

A própolis possui alta capacidade antioxidante, atribuída principalmente aos seus compostos fenólicos (Bobiş, 2022).

Considerando diferentes origens botânicas, sazonalidade e diferentes métodos de extração entre o presente estudo e outros que avaliaram a capacidade antioxidante de diferentes tipos de própolis, verificou-se que os resultados da capacidade antioxidante descritos na literatura são variados, conforme apresentado a seguir.

Em relação aos resultados da Tabela 1, a amostra de própolis verde apresentou a maior capacidade antioxidante entre as demais em todos os métodos aplicados.

A capacidade antioxidante da própolis pode variar dependendo de sua composição química, influenciada pelas plantas da região de origem. Portanto, cada variedade de própolis tem uma composição diferente, podendo haver tipos de própolis que apresentam uma maior capacidade antioxidante do que outras (Andrade *et al.*, 2017).

Estudos indicam que algumas variedades de própolis demonstraram uma capacidade antioxidante mais pronunciada. Por exemplo, a própolis verde brasileira, especialmente a proveniente da planta *Baccharis dracunculifolia*, é conhecida por ter um alto teor de artepillin C, um composto fenólico com intensa capacidade antioxidante (Andrade *et al.*, 2017; Bankova, 2005; Cottica *et al.*, 2011).

Andrade *et al.*, (2017) também relataram maior capacidade antioxidante da própolis verde (ABTS: 2214,96 μM Trolox/g; FRAP: 604,20 μM de sulfato ferroso/g) quando comparado à própolis marrom (ABTS: 1868,45 μM Trolox/g; FRAP: 471,51 μM de sulfato ferroso/g).

Em relação ao método DPPH, um valor de EC₅₀ mais baixo indica uma capacidade antioxidante mais significativa, uma vez que uma menor massa de extrato é necessária para inibir 50% do radical DPPH (Cottica *et al.*, 2011). O presente estudo encontrou uma maior capacidade antioxidante da própolis verde ($491,68 \pm 44,55$ EC₅₀ $\mu\text{g g}^{-1}$ para DPPH) quando comparada à relatada por Skaba *et al.*, (2013) que foi de 1230,07 EC₅₀ $\mu\text{g g}^{-1}$ para DPPH.

Utilizando o método FRAP, o valor encontrado para a própolis verde foi de 422,83 μM de sulfato ferroso/g, Mello; Hubinger, (2012), ao estudarem a capacidade antioxidante da própolis verde brasileira no Estado de São Paulo, relataram valores que variaram de 180,95 a 1038,09 para o extrato aquoso em diferentes faixas de pH.

Essa diferença pode ser explicada pela região de origem da própolis e pela influência do método de extração com modificação do pH.

Em um estudo que avaliou a capacidade antioxidante da própolis verde brasileira pelo método FRAP, Casagrande *et al.*, (2018) encontraram um valor de 458,75 μM de sulfato ferroso/g, muito próximo ao relatado no presente estudo.

Andrade *et al.*, (2018), ao aplicarem o método FRAP para avaliar a capacidade antioxidante da própolis verde e marrom, encontraram 293,49 μM de sulfato ferroso/g e 213,76 μM de sulfato ferroso/g, respectivamente. No presente estudo, os resultados foram 422,83 μM de sulfato ferroso/g para própolis verde e 179,54 μM de sulfato ferroso/g para própolis marrom.

Outro estudo, que avaliou a capacidade antioxidante de 47 amostras de própolis coletadas em diferentes locais, na região do Mar Negro da Turquia, incluindo própolis preta, encontrou um valor médio de 112,98 μM de sulfato ferroso/g. Este resultado foi inferior ao encontrado

neste estudo para própolis preta, utilizando o método FRAP ($161,29 \pm 2,59 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g) (Guzelmeric *et al.*, 2021).

Salgueiro e Castro, (2016), ao estudarem extratos de própolis verde *in natura* e comercial, relataram os seguintes valores: $84,86 \pm 0,01$ a $246,83 \pm 0,05 \mu\text{M}$ de Trolox/g para ABTS. O presente estudo encontrou um valor de $293,90 \mu\text{M}$ de Trolox/g, utilizando este mesmo método.

Vários fatores podem explicar a diferença entre os resultados encontrados no presente estudo e os relatados na literatura, como fonte botânica, região de origem da própolis, sazonalidade e método de extração.

O tipo de própolis é denominado com base na fonte vegetal e exerce influência em sua composição. Assim, dependendo do tipo de própolis, sua composição química difere, o que pode resultar em diferenças na capacidade antioxidante (Guzelmeric *et al.*, 2021).

A concentração e a composição do extrato de própolis dependem da escolha e eficácia do método de extração utilizado. Parâmetros de processamento, como proporção amostra-solvente, temperatura e tempo de extração, afetam significativamente a diversidade e a concentração de compostos presentes no extrato final (Bittencourt *et al.*, 2015; Bulduk; Gezer; Cengiz, 2015).

3.2. Perfil químico por espectrometria de massas por *paper spray* (EM/PS)

Os extratos de própolis verde, marrom e preta foram analisados por espectrometria de massa com ionização por *paper spray* (EM-PS) nos modos de ionização positivo e negativo. A análise dos espectros dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta, indicou que o modo de ionização negativo proporcionou um nível de sensibilidade maior que o positivo, permitindo a identificação de diversos compostos. O modo de ionização positivo permitiu a possível identificação de 18 compostos (Tabela 2) e 98 compostos no modo de ionização negativo (Tabela 3), sendo um total de 116 compostos possivelmente identificados.

A varredura completa nos modos positivo e negativo dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta, bem como dos principais compostos provisoriamente identificados, pode ser encontrada no Apêndice A deste trabalho.

Os íons e seus fragmentos obtidos nesta análise foram identificados com base nos dados descritos na literatura. Os possíveis compostos identificados pertencem às seguintes classes químicas: flavonoides (56), fenilpropanoides (30), terpenos (25), ácidos carboxílicos (1), derivados do ácido benzóico (1), ácidos graxos (1), aminoácidos (1) e alcaloides (1).

Tabela 2 - Perfil químico dos extratos de própolis verde, marrom e preta por espectrometria de massas por *paper spray* no modo positivo

<i>m/z</i>	Tentativa de identificação	Classe química	MS/MS	Tipo de Própolis			Referência
				Verde	Marrom	Preta	
285	Biochanina A	Flavonoide	213, 225, 229, 242, 253, 257, 270, 285	X		X	Frozza <i>et al.</i> , (2013); Dos Santos <i>et al.</i> , (2019)
	Galangina-5-metil-éter	Flavonoide	239, 270	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Metoxi-crisina	Flavonoide	242, 257, 270	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Galangina-5-metil-éter	Flavonoide	270	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Homopterocarpina	Flavonoide	149, 163, 257, 270, 285	X		X	Dos Santos <i>et al.</i> , (2019)
	7,3'-Dihidroxi-5'-Metoxi-isoflavona	Flavonoide	225, 229, 253, 257,	X		X	Zhang <i>et al.</i> , (2014)
	Éster feniletílico do ácido cafeico (CAPE)	Fenilpropanoide	163	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
301	Artepillin C	Fenilpropanoide	203, 245, 269	X	X		Bonin <i>et al.</i> , (2020)
317	Quercetina-3-metil-éter	Flavonoide	285, 302	X	X		Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Isorhamnetina	Flavonoide	257, 285, 302	X	X		Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Quercetina-7-metil-éter	Flavonoide	167, 243, 261, 271, 302	X	X		Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	(3S)- violanona	Flavonoide	271, 289, 299	X	X		Dos Santos <i>et al.</i> , (2019)
	Ácido 7-hidroxi-desidroabiético	Terpeno	215, 243, 271, 275, 299	X	X		Cisilotto <i>et al.</i> , (2018)
331	Quercetina-dimetiléter	Flavonoide	316	X			Pellati <i>et al.</i> , (2011)
340	Lobelanidina	Alcaloide	202, 322			X	Cisilotto <i>et al.</i> , (2018)
371	Pinobanksina-3- <i>O</i> -hexanoato	Flavonoide	227, 255, 273	X			Pellati <i>et al.</i> , (2011)
771	Escopolósido II	Terpeno	762	X	X		Mohamed <i>et al.</i> , (2022)

Os fragmentos MS/MS representados na mesma linha que os íons *m/z* referem-se ao mesmo íon.

Dos possíveis compostos identificados nos extratos de própolis verde, marrom e escuro com o modo de ionização positiva, a maioria pertence à classe dos flavonoides (12), mas também existem compostos pertencentes ao terpeno (2), fenilpropanoide (2) e alcaloides (1).

Dentre essas classes, os flavonoides estiverem em maior número nos três extratos analisados: 13 na própolis verde, 7 na preta e 4 na marrom.

Os flavonoides são importantes por suas propriedades antioxidantes, ou seja, podem se ligar a radicais livres e proteger as células da peroxidação lipídica. Eles também exibem propriedades anti-inflamatórias (Righi; Negri; Salatino, 2013).

Em estudo comparativo da própolis verde de diferentes estados brasileiros, Righi; Negri; Salatino, (2013) relataram compostos fenólicos e flavonoides como as principais classes químicas, o que corrobora ao perfil químico deste estudo.

Os flavonoides e outros compostos fenólicos protegem as células dos danos causados pela oxidação, agindo como potentes inibidores do estresse oxidativo, que está envolvido na patogênese de doenças neurodegenerativas (Zheng *et al.*, 2017).

Além disso, as capacidades intracelulares de eliminação de radicais livres dos compostos fenólicos podem proteger as membranas celulares contra a peroxidação lipídica (Daleprane; Abdalla, 2013). Os compostos fenólicos exercem capacidade antioxidante ao doar átomos de hidrogênio de um grupo hidroxila aromático, levando ao sequestro de radicais livres (Amorati *et al.*, 2017).

De Funari; Ferro; Mathor, (2007) determinaram o perfil químico da própolis verde brasileira. Os flavonoides e os compostos fenólicos totais foram determinados por espectrofotometria e a composição química, por HPLC, foi caracterizado principalmente por flavonoides e ácidos aromáticos. Os compostos identificados no extrato etanólico e no extrato metanólico da própolis foram artepillin C, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido transcinâmico, ácido clorogênico, ácido cafeico, kaempferol, kaempferida e isosakuranetina. A maioria desses compostos também foi identificada neste estudo.

Berretta *et al.*, (2023), ao estudarem a própolis verde brasileira, relataram a presença de galangina, artepillin C e bacarina, compostos que também foram possivelmente identificados no extrato de própolis verde analisado neste estudo.

O ácido fenólico a m/z 301, artepillin C, é um derivado prenilado do ácido p-cumárico, isolado da espécie *Baccharis*, é um dos principais compostos fenólicos encontrados na própolis verde brasileira, que agrega alto valor a este produto apícola. É um componente importante e único deste tipo de própolis. É responsável por várias propriedades benéficas para a saúde, como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antidiabéticos, neuroprotetores,

gastroprotetores, imunomoduladores e anticancerígenos (Shahinozzaman *et al.*, 2020). As abelhas coletam exsudatos de *Baccharis dracunculifolia* para produzir própolis verde, que contém uma alta concentração desse composto (Paulino *et al.*, 2008).

Embora a própolis verde contenha o maior nível de artepillin C como principal composto da *Baccharis dracunculifolia*, concentrações elevadas também foram relatadas na própolis marrom brasileira (Machado *et al.*, 2016). Esses relatos na literatura corroboram o resultado encontrado no estudo apresentado, que identificou artepillin C como possível composto presente nos extratos de própolis verde e marrom.

O composto artepillin C ganhou imensa atenção globalmente e, portanto, a própolis verde alcançou um alto valor comercial no mercado global. A própolis contendo este composto é considerada de alta qualidade (Machado *et al.*, 2016; Paulino *et al.*, 2008).

No presente estudo, dois compostos pertencentes à classe dos terpenos foram identificados no modo de ionização positiva no extrato de própolis marrom: sugiol (m/z 301) e ácido 7-hidroxi dehidroabiético (m/z 317), e em um estudo que analisou o perfil químico da própolis marrom brasileira, os constituintes mais abundantes pertenciam à classe dos terpenos (Olegário *et al.*, 2019).

A própolis do tipo álamo, predominante no hemisfério norte, contém vários componentes fenólicos, incluindo aldeídos aromáticos, flavonoides e ácidos fenólicos, e seus ésteres, como os ésteres fenólicos do ácido cafeico (Guzelmeric *et al.*, 2023).

Em um estudo que avaliou o perfil químico da própolis do tipo choupo da região do Mar Negro (Turquia), o ácido cafeico, a quercetina e o CAPE foram identificados como compostos dominantes. Os autores também enfatizaram que o CAPE é o marcador característico da própolis de choupo preto, além das agliconas flavonoides (Jug; Končić; Kosalec, 2014). Este composto também foi identificado na própolis preta no presente estudo.

Em um estudo que determinou o perfil químico dos óleos essenciais de própolis polonesa e choupo preto, os autores encontraram como principais classes químicas ácidos fenólicos livres, flavonoides e monoésteres de ácidos fenólicos e flavonoides (Okińczyc *et al.*, 2018), perfil semelhante ao encontrado no presente estudo para própolis preta.

Tabela 3 - Perfil químico dos extratos de própolis verde, marrom e preta por espectrometria de massas por *paper spray* no modo negativo

m/z	Tentativa de identificação	Classe química	MS/MS	Tipo de própolis			Referência
				Verde	Marrom	Preta	
163	Ácido <i>p</i> -cumárico	Fenilpropanoide	119			X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Ácido <i>m</i> -cumárico	Fenilpropanoide	119			X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
	Ácido 2-hidroxicinâmico	Fenilpropanoide	119			X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
173	Ácido chiquímico	Ácido carboxílico	93	X			Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
179	Ácido cafeico	Fenilpropanoide	179,135	X		X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023); Cuesta-rubio <i>et al.</i> , (2022)
191	Ácido quínico	Fenilpropanoide	59, 85, 93, 127, 176, 191	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022); Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
231	Drupanina	Fenilpropanoide	132, 187, 231	X		X	Moura <i>et al.</i> , (2011)
	Éster de prenol <i>p</i> -cumárico	Fenilpropanoide	163	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
247	Éster de prenol de ácido cafeico	Fenilpropanoide	179	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
253	Crisina	Flavonoide	165, 181, 209, 253			X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Isômero de crisina (I)	Flavonoide	209, 253			X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
	Éster benzílico <i>p</i> -cumárico	Fenilpropanoide	162, 145			X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
255	liquiritigenina — Isoliquiritigenin	Flavonoide	193, 200, 227, 255	X	X	X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023); Rufatto <i>et al.</i> , (2018)
	Pinocembrina	Flavonoide	171, 211, 227, 255	X	X	X	Castro <i>et al.</i> , (2014); Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
267	Formononetina	Flavonoide	267, 268			X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023)
	Crisina-5-metil-éter	Fenilpropanoide	195, 224			X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
269	Medicarpina	Flavonoide	197, 225, 241, 251, 254, 269	X	X	X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023); Rufatto <i>et al.</i> , (2018)
	Apigenina	Flavonoide	181, 183, 197, 201, 225, 227	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Éster benzílico de ácido cafeico	Fenilpropanoide	134, 225	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
271	Pinobanksina	Flavonoide	107, 151, 169, 185, 209, 215, 225	X		X	Castro <i>et al.</i> , (2014); Pellati <i>et al.</i> , (2011); Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Naringenina	Flavonoide	93, 107, 121, 151, 177, 225, 253	X		X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023); Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Neovestitol	Flavonoide	271	X		X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023)
	Vestitol	Flavonoide	271	X		X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023)
	Biochanina A	Flavonoide	227, 255, 268, 269, 284	X		X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023); Rufatto <i>et al.</i> , (2018)
283	Galangina-5-metil-éter	Flavonoide	211, 239, 240, 268	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011); Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Metoxi-crisina	Flavonoide	211, 239, 268	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Éster feniletílico do ácido cafeico (CAPE)	Fenilpropanoide	135, 179	X		X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)

<i>m/z</i>	Tentativa de identificação	Classe química	MS/MS	Tipo de própolis			Referência
				Verde	Marrom	Preta	
285	Luteolina	Flavonoide	132, 151, 285	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Vestitone	Flavonoide	151, 270, 285	X	X	X	De Alencar <i>et al.</i> , (2023)
	Sakuranetina	Flavonoide	150, 165	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
289	(+)-Catequina—(±)-Epi-catequina	Flavonoide	245			X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
295	Éster cinnamyl do ácido cafeico	Fenilpropanoide	159, 251	X		X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
299	Kaempferol	Flavonoide	200, 255, 256, 284	X	X	X	Carvalho <i>et al.</i> , (2011); Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Luteolina-metil-éter	Flavonoide	255, 256, 284, 285, 299	X	X	X	Castro <i>et al.</i> , (2014); Pellati <i>et al.</i> , (2011); Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Diosmetina	Flavonoide	284, 285, 299	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido desidroabiético	Terpeno	299, 300	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
301	Dihidrokaempferol	Flavonoide	107, 125, 151, 152, 180, 255	X	X	X	Carvalho <i>et al.</i> , (2011)
	Quercetina	Flavonoide	107, 151, 179, 229, 245, 257	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022); Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Hesperetina	Flavonoide	151, 257, 268, 286	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido trans-cumárico	Terpeno	301, 302	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Esterubina	Flavonoide	165, 223, 239, 255, 268, 283	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido diterpeno	Terpeno	257, 268, 273, 283, 286	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido elágico	Derivado do ácido benzóico	229, 284	X	X	X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
	Ácido eicosapentaenoico	Ácido graxo	301	X	X	X	Surek <i>et al.</i> , (2021)
303	Taxifolina	Flavonoide	125			X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
305	Epigallocatequina	Flavonoide	125, 219		X		Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
311	Ácido cafeico 4- <i>O</i> -arabinosídeo	Fenilpropanoide	183	X		X	Righi; Negri; Salatino, (2013)
	Derivado ao ácido cumárico	Fenilpropanoide	119, 163, 267	X		X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
313	Pinobanksina-3- <i>O</i> -acetate	Flavonoide	185, 225, 254	X	X	X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023); Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Ermanina	Flavonoide	255, 283, 298	X	X	X	Castro <i>et al.</i> , (2014)

<i>m/z</i>	Tentativa de identificação	Classe química	MS/MS	Tipo de própolis			Referência
				Verde	Marrom	Preta	
315	Isorhamnetina	Flavonoide	163, 241, 243, 253, 255, 271, 300	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022); Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023); Righi; Negri; Salatino, (2013)
	Quercetina-3-metil-éter	Flavonoide	243, 245, 271, 300	X	X	X	Castro <i>et al.</i> , (2014); Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Quercetina-7- metil-éter	Flavonoide	243, 271, 300	X	X	X	Castro <i>et al.</i> , (2014)
	Rhamnetina	Flavonoide	271, 287, 300	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	5,4'-dihidroxi-7,3'-dimethoxyflavanona	Flavonoide	271, 300	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Derivado do ácido cafeico	Fenilpropanoide	271	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido diterpeno	Terpeno	253, 297	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero ácido hidroxideshidroabiético (I)	Terpeno	253, 315, 316	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido hidroxideshidroabiético (II)	Terpeno	297, 315, 316	X	X	X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
316	3- <i>O</i> -metilquercetina	Flavonoide	187, 301	X		X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
317	Miricetina	Flavonoide	179	X		X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
	Isômero do ácido hidroxiisopimárico (I)	Terpeno	225, 317, 318	X		X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido hidroxiisopimárico (II)	Terpeno	299, 300, 317, 318	X		X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido hidroxiisopimárico 4	Terpeno	317, 318	X		X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido cupressico 1	Terpeno	319, 320			X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
319	Isômero do ácido cupressico 2	Terpeno	287, 319, 320			X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido diterpeno	Terpeno	275, 301			X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
327	Pinobanksina-5-metil-éter-3- <i>O</i> -acetato	Flavonoide	165, 195	X		X	Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Pinobanksina-3- <i>O</i> -propionato	Flavonoide	165, 197, 199, 209, 227, 253, 254	X		X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022); Pellati <i>et al.</i> , (2011); Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Derivado do ácido cafeico	Fenilpropanoide	133, 283	X		X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
329	Quercetina-dimetil-éter	Flavonoide	239, 255, 271, 285, 286, 299, 300	X	X	X	Castro <i>et al.</i> , (2014); Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022); Pellati <i>et al.</i> , (2011)
	Éster di-hidroxifenílico etílico do ácido ferúlico	Fenilpropanoide	285, 299, 314	X	X	X	Righi; Negri; Salatino, (2013)
	Derivado do artepillin C	Fenilpropanoide	255, 299	X	X	X	Surek <i>et al.</i> , (2021)

<i>m/z</i>	Tentativa de identificação	Classe química	MS/MS	Tipo de própolis			Referência
				Verde	Marrom	Preta	
331	Laricitina	Flavonoide	229, 261, 287, 313	X	X	X	Righi; Negri; Salatino, (2013)
	3,5,4'-trihidroxy-7,3'-dimetoxiflavanone	Flavonoide	179, 271, 273, 288, 303, 313	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido di-hidroxide-hidroabiético (I)	Terpeno	331, 332	X	X	X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
	Isômero do ácido di-hidroxide-hidroabiético (II)	Terpeno	313, 314, 331, 332	X	X	X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
333	Isômero (I) do ácido agático	Terpeno	333, 334			X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
	Isômero (II) do ácido agático	Terpeno	333, 334			X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
	Isômero (III) do ácido agático	Terpeno	315, 333, 334			X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
	Isômero (I) do ácido agático	Terpeno	333, 334			X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero (IV) do ácido agático	Terpeno	333, 334			X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
345	Eupatolitina	Flavonoide	223, 237, 285, 286, 287, 301, 312	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
347	Ácido diterpeno	Terpeno	201, 271, 273, 315	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
353	Ácido clorogênico	Fenilpropanoide	173, 179, 191	X	X	X	Guzelmeric <i>et al.</i> , (2023)
355	Pinobanksina-3- <i>O</i> -pentanoato	Flavonoide	180, 181			X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
357	Matairesinol	Fenilpropanoide	342, 357			X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
361	(-)-Secoisolariciresinol	Fenilpropanoide	346, 361	X		X	Chaib Saliba <i>et al.</i> , (2023)
	Ácido 15-acetoxi-cupressico	Terpeno	361, 362,	X		X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
469	Ácido triterpeno cicloartano	Terpeno	351, 383, 391, 407, 408, 423, 425		X		Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
471	Ácido triterpeno cicloartano	Terpeno	339, 359, 391, 393, 403, 407, 409		X		Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
515	Isômero do ácido dicafeoilquínico 1	Fenilpropanoide	179, 191, 353	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido dicafeoilquínico 2	Fenilpropanoide	179, 191, 353	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido dicafeoilquínico 3	Fenilpropanoide	173, 179, 191, 353	X	X	X	Sartori <i>et al.</i> , (2022)
	Ácido dicafeoilquínico	Fenilpropanoide	173, 179, 191, 203, 255, 299, 335	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
	Isômero do ácido dicafeoilquínico	Fenilpropanoide	173, 179, 191, 203, 299, 353	X	X	X	Cuesta-Rubio <i>et al.</i> , (2022)
677	Ácido tricafeoilquínico	Fenilpropanoide	299, 317, 353, 497, 515	X	X	X	Righi; Negri; Salatino, (2013)
747	Leucina-aspartato-lisina	Aminoácido	419, 567	X			Mohamed <i>et al.</i> , (2022)

Os fragmentos MS/MS representados na mesma linha que os íons *m/z* referem-se ao mesmo íon.

Os possíveis compostos identificados nos extratos de própolis verde, marrom e preta com o modo de ionização negativo, pertencem principalmente às classes de flavonoides (42), fenilpropanoides (28) e terpenos (19).

Em relação a essas classes entre os três tipos de própolis estudados, elas são divididas da seguinte forma: própolis verde: 36 flavonoides, 22 fenilpropanoides e 13 terpenos; própolis marrom: 26 flavonoides, 12 fenilpropanoides e 11 terpenos; e própolis preta: 42 flavonoides, 28 fenilpropanoides e 21 terpenos.

Guimarães *et al.*, (2012) investigaram as propriedades antioxidantes da propólis verde brasileira e identificaram principalmente polifenóis. Foram identificados ácidos cafeico, p-cumárico, transcinâmico, éter aromadendrina-4-O-metílico, isossakuranetina, quercetina e kaempferol.

Dentre estes, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido cinâmico, quercetina e kaempferol também foram possivelmente identificados no presente estudo para o modo de ionização negativo, referentes ao extrato de própolis verde. O perfil químico apresentado neste estudo corrobora a similaridade entre os compostos identificados em outros estudos de própolis verde (De Sousa *et al.*, 2011; Guimarães *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2004).

Berretta *et al.*, (2023), ao estudarem a própolis verde brasileira, relataram a presença dos compostos ácido cafeico e ácido p-cumárico, ácido descafeoilquínico, drupanina, crisina, e galangina na amostra analisada, compostos também provisoriamente identificados no extrato de própolis verde analisado no presente estudo.

Falcão *et al.*, (2023), ao analisarem o perfil químico da própolis verde brasileira, identificaram 21 compostos fenólicos, sendo seis ácidos fenólicos (dos quais ácido p-cumárico; m/z 163, e ácido dicaffeoilquínico; m/z 515, foram os mais representativos) e quatro flavonoides (que incluíram kaempferol; m/z 285, e kaempferida e seu isômero de kaempferide; m/z 299). O perfil químico relatado por esses pesquisadores mostrou-se semelhante ao encontrado no presente estudo, para o mesmo tipo de própolis.

A própolis verde é amplamente pesquisada em relação aos demais tipos de própolis, devido a isso, os dados disponíveis desse tipo de própolis são maiores quando comparados aos da própolis marrom e preta.

Falcão *et al.*, (2023), ao avaliarem o perfil químico da própolis marrom, relataram uma alta quantidade de compostos pertencentes às classes dos flavonoides e fenilpropanoides, o que corrobora o resultado encontrado no presente estudo, onde as principais classes químicas do extrato de própolis marrom foram flavonoides, terpenos e fenilpropanoides.

No presente estudo, 11 compostos pertencentes à classe dos terpenos foram identificados provisoriamente no modo de ionização negativo no extrato de própolis marrom, a saber: ácido desidroabiético (m/z 299); ácido transcomúnico e ácido diterpênico (m/z 301); isômero do ácido hidroxissidroabiético (I); isômero do ácido hidroxissidroabiético (II) e ácido diterpênico (m/z 315); isômero do ácido hidroxissidroabiético (I) e isômero do ácido hidroxissidroabiético (II) (m/z 331); ácido diterpênico (m/z 347); triterpenos de ácido cicloartano (m/z 469) e triterpenos de ácido cicloartano (m/z 471).

Em um estudo que analisou o perfil químico da própolis marrom brasileira, a classe mais prevalente foi a dos terpenos (Olegário *et al.*, 2019).

As plantas produzem terpenos para interações com outros organismos. Os terpenos protegem as plantas contra patógenos como mofo, fungos e bactérias, e podem atrair insetos polinizadores ou repelir herbívoros (Nuutinen, 2018). Quando ingeridos através de suas fontes botânicas por humanos, eles fornecem várias propriedades medicinais, incluindo antimicrobiana, antioxidante, anticancerígeno, antiarrítmica, anestésica, anti-inflamatória, anti-histamínica, antiespasmódica, antitumoral e antidiabética (Koziol *et al.*, 2015).

Alguns terpenos, como limoneno, linalol e beta-cariofileno, têm propriedades anti-inflamatórias. Eles podem ajudar a reduzir a produção de mediadores inflamatórios e modular a resposta do sistema imunológico, diminuindo a inflamação em várias condições (Mizushina *et al.*, 2000).

Muitos terpenos exibem propriedades antioxidantes, o que significa que podem neutralizar os radicais livres e reduzir o estresse oxidativo no corpo. Essas propriedades podem ajudar a proteger células e tecidos dos danos causados pelos radicais livres, contribuindo para a saúde geral e a prevenção de doenças (López Carreras; Miguel; Aleixandre, 2012).

Em um estudo que avaliou a própolis marrom, foram relatados 39 compostos fenólicos identificados. Entre eles, o éster benzílico de ácido cafeico e apigenina (m/z 269), quercetina-3-metil-éter e isorhamnetina (m/z 315), kaempferol (m/z 299), galangina-5-metil-éter (m/z 283, éster benzílico de ácido cafeico (m/z 269), pinocembrina (m/z 255) e pinobaskin-3-o-acetato (m/z 313) foram possivelmente identificados (Falcão *et al.*, 2023). O presente estudo também identificou esses mesmos compostos ao analisar o extrato de própolis marrom.

A própolis preta é uma variedade específica de própolis que apresenta um perfil químico distinto em comparação com outras variedades. Seu perfil químico pode variar dependendo de fatores como a região de origem, as plantas fontes da resina e as condições ambientais. No geral, a própolis preta é rica em compostos fenólicos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos e seus respectivos derivados.

No presente estudo, foram possivelmente identificados compostos encontrados exclusivamente na própolis preta, como lobelanidina, ácido p-cumárico, ácido 2-hidroxicinâmico, ácido m-cumárico, crisina, éster benzílico p-cumárico, isômero de crisina (I), éter metílico de crisina-5, formononetina, (+)-catequina—(±)-epicatequina, taxifolina, isômero 1 do ácido cupressico, isômero 2 do ácido cupressico, ácido diterpeno, isômero (I) do ácido agático (I), isômero do ácido agático (II), isômero do ácido agático (III), isômero de ácido agático 4, pinobanksina-3-*O*-pentanoato e matairesinol.

Esses compostos são divididos em flavonoides, terpenos, ácidos carboxílicos, ácidos fenólicos, alcaloides, fenilpropanoides e ácidos hidroxinâmicos.

Dentre estes, o ácido p-cumárico (m/z 163), provisoriamente identificado no modo de ionização negativo, apresenta propriedades anti-inflamatórias. Em um estudo que avaliou os efeitos do ácido p-cumárico em vários parâmetros inflamatórios, concluiu-se que o tratamento com ácido p-cumárico não apenas reduziu os níveis de mediadores inflamatórios (citocinas e lipídios), mas também aumentou a produção da citocina anti-inflamatória IL-10 (Ferreira *et al.*, 2021).

Em outro estudo, a origem botânica da própolis brasileira foi investigada usando cromatografia em camada fina de fase reversa de alta eficiência (RP-HPTLC), cromatografia líquida de fase reversa de alta eficiência (RP-HPLC) e espectrometria de massa de cromatografia gasosa (GCMS) (Park; Alencar; Aguiar, 2002). Vários compostos foram identificados, incluindo derivados do ácido hidroxicinâmico (ácido cumárico e ácido ferúlico - m/z 119) e flavonoides (pinobanksina - m/z 271 e kaempferol - m/z 313), compostos também identificados no presente estudo, para a própolis preta.

4. CONCLUSÃO

Os extratos de própolis verde, marrom e preta apresentaram capacidade antioxidante significativa e a presença de variados polifenóis, sendo o extrato de própolis verde o que demonstrou o maior teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, seguido pela própolis marrom e preta.

O perfil químico desses extratos utilizando espectrometria de massas por *paper spray* (EM-PS) permitiu a possível identificação de 116 compostos, dentre eles o artepillin C, um dos principais componentes fenólicos biologicamente ativos da própolis.

Os perfis químicos encontrados neste estudo foram semelhantes aos relatados na literatura para os três tipos de própolis. No entanto, a própolis preta não é extensivamente estudada, demonstrando a relevância desta pesquisa ao analisar seu perfil químico e identificar compostos encontrados apenas neste tipo de própolis.

Além disso, a espectrometria de massas por *paper spray* para análise do perfil químico dos extratos de própolis verde, marrom e preta, juntamente com a análise da capacidade antioxidante e dos compostos fenólicos totais desses extratos, mostrou-se eficiente na avaliação de seus perfis químicos, demonstrando o potencial bioativo dos três extratos estudados para aplicação em produtos alimentícios e farmacêuticos.

O estudo da composição química da própolis é essencial para compreender sua atividade biológica, estabelecer correlações com seus benefícios à saúde e promover o desenvolvimento de produtos de qualidade com base científica. Esse resultado contribui para o uso adequado e seguro da própolis como recurso terapêutico natural.

REFERÊNCIAS

- ALTUNTAŞ, Ü.; GÜZEL, İ.; ÖZÇELİK, B. Phenolic Constituents, Antioxidant and Antimicrobial Activity and Clustering Analysis of Propolis Samples Based on PCA from Different Regions of Anatolia. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1121, 22 jan. 2023.
- AMORATI, R. *et al.* The Antioxidant Activity of Quercetin in Water Solution. **Biomimetics**, v. 2, n. 4, p. 9, 27 jun. 2017.
- ANDRADE, J. K. S. *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, nov. 2017.
- ANDRADE, J. K. S. *et al.* 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.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, n. 19, 2012.
- APIS-BRASIL. **Os principais tipos de própolis do Brasil**. Disponível em: <<https://apisbrasil.com.br/post/37/os-principais-tipos-de-prpolis-do-brasil>>. Acesso em: 16 abr. 2023.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 114–117, ago. 2005.
- BARBOSA, S. R. M. *et al.* Teor de fenólicos e atividade antioxidante de própolis em áreas de floresta e savana de Roraima. **RCT - Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 2, n. 3, 2016.
- BERRETTA, A. A. *et al.* 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, 16 abr. 2023.
- BITTENCOURT, M. L. F. *et al.* Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Research International**, v. 76, p. 449–457, 2015.
- BOBIŞ, O. Plants: Sources of Diversity in Propolis Properties. **Plants**, v. 11, n. 17, p. 2298, 2 set. 2022.
- BONIN, E. *et al.* *Baccharis dracunculifolia*: Chemical constituents, cytotoxicity and antimicrobial activity. **LWT**, v. 120, p. 108920, 2020.
- BULDUK, I.; GEZER, B.; CENGİZ, M. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Morphine from Capsules of *Papaver somniferum* by Response Surface Methodology. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2015, p. 1–8, 2015.

CAMPELO, F. *et al.* Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2020.

CARVALHO, A. A. *et al.* *In vivo* antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1239–1245, 2011.

CASAGRANDE, M. *et al.* Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: *In vitro* antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 207–219, 2018.

CASTRO, C. *et al.* Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. **Food Research International**, v. 64, p. 873–879, 2014.

CAVALARO, R. I. *et al.* *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasound-assisted extraction. **Food Chemistry: X**, v. 4, p. 100054, dez. 2019.

CHAIB SALIBA, A. S. M. *et al.* Simulated gastrointestinal digestion/Caco-2 cell transport: Effects on biological activities and toxicity of a Brazilian propolis. **Food Chemistry**, v. 403, p. 134330, mar. 2023.

CISILOTTO, J. *et al.* Cytotoxicity mechanisms in melanoma cells and UPLC-QTOF/MS2 chemical characterization of two Brazilian stingless bee propolis: Uncommon presence of piperidinic alkaloids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 149, p. 502–511, 2018.

CORREIA, V. T. DA V. *et al.* Efficiency of Different Solvents in the Extraction of Bioactive Compounds from *Plinia cauliflora* and *Syzygium cumini* Fruits as Evaluated by Paper Spray Mass Spectrometry. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2359, 3 mar. 2023.

COTTICA, S. M. *et al.* Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 5, p. 929–935, maio 2011.

CUESTA-RUBIO, O. *et al.* Chemical characterization and antioxidant potential of ecuadorian propolis. **Phytochemistry**, v. 203, p. 113415, nov. 2022.

DALEPRANE, J. B.; ABDALLA, D. S. Emerging Roles of Propolis: Antioxidant, Cardioprotective, and Antiangiogenic Actions. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

DE ALENCAR, S. M. *et al.* Dynamic gastrointestinal digestion/intestinal permeability of encapsulated and nonencapsulated Brazilian red propolis: Active compounds stability and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 411, p. 135469, jun. 2023.

DE FUNARI, C. S.; DE OLIVEIRA FERRO, V.; MATHOR, M. B. Analysis of propolis from *Baccharis dracunculifolia* DC. (Compositae) and its effects on mouse fibroblasts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 206–212, 2007.

DE OLIVEIRA DEMBOGURSKI, D. S. *et al.* Brown propolis-metabolomic innovative approach to determine compounds capable of killing *Staphylococcus aureus* biofilm and *Trichomonas vaginalis*. **Food Research International**, v. 111, p. 661–673, 1 set. 2018.

DE SOUSA, J. P. B. *et al.* Seasonality Role on the Phenolics from Cultivated *Baccharis dracunculifolia*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1–8, 2011.

DO NASCIMENTO, C. D. *et al.* Paper Spray Mass Spectrometry on the Analysis of Phenolic Compounds in *Rhynchelytrum repens*: A Tropical Grass with Hypoglycemic Activity. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1617, 6 ago. 2021.

DOS SANTOS, D. A. *et al.* Brazilian red propolis extracts: study of chemical composition by ESI-MS/MS (ESI+) and cytotoxic profiles against colon cancer cell lines. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 3, n. 1, p. 120–130, jan. 2019.

E LOYOLA, A. C. *et al.* Use of Paper Spray Mass Spectrometry for Determining the Chemical Profile of Green Cavendish Banana (*Musa AAA*) Peel and Pulp Flours and Evaluation of Its Functional Potential. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2021.

FALCÃO, S. I. *et al.* Improvement of the *In Vitro* Cytotoxic Effect on HT-29 Colon Cancer Cells by Combining 5-Fluorouracil and Fluphenazine with Green, Red or Brown Propolis. **Molecules**, v. 28, n. 8, p. 3393, 12 abr. 2023.

FERREIRA, J. C. *et al.* Baccharin and p-coumaric acid from green propolis mitigate inflammation by modulating the production of cytokines and eicosanoids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, p. 114255, 2021.

FROZZA, C. O.S. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 52, p. 137–142, fev. 2013.

GARCÍA, Y. M. *et al.* Physicochemical Characterization and Paper Spray Mass Spectrometry Analysis of *Myrciaria Floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg Accessions. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7206, 27 nov. 2021.

GAZIM, Z. C. *et al.* Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Baccharis dracunculifolia* DC. (ASTERACEAE). **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 28 nov. 2022.

GIAMPIERI, F. *et al.* Bee Products: An Emblematic Example of Underutilized Sources of Bioactive Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 23, p. 6833–6848, 15 jun. 2022.

GUIMARÃES, N. S. S. *et al.* *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3–4, p. 1091–1097, mar. 2012.

GUZELMERIC, E. *et al.* Comparison of antioxidant and anti-inflammatory activity profiles of various chemically characterized Turkish propolis sub-types: Which propolis type is a promising source for pharmaceutical product development? **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 203, p. 114196, 2021.

GUZELMERIC, E. *et al.* Comprehensive estrogenic/anti-estrogenic, anticancer, mutagenic/anti-mutagenic, and genotoxic/anti-genotoxic activity studies on chemically characterized black poplar and Eurasian aspen propolis types. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 226, 20 mar. 2023.

JUG, M.; KONČIĆ, M. Z.; KOSALEC, I. Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procures. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 530–537, 2014.

KARAGECILI, H. *et al.* Comprehensive Metabolite Profiling of Berdav Propolis Using LC-MS/MS: Determination of Antioxidant, Anticholinergic, Antiglaucoma, and Antidiabetic Effects. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1739, 11 fev. 2023.

KOZIOL, A. *et al.* An Overview of the Pharmacological Properties and Potential Applications of Natural Monoterpenes. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 14, p. 1156–1168, 16 fev. 2015.

KUREK-GÓRECKA, A. *et al.* Comparison of the Antioxidant Activity of Propolis Samples from Different Geographical Regions. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1203, 29 abr. 2022.

LÓPEZ CARRERAS, N. ;; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v. 32, n. 3, p. 81–91, 2012.

MACHADO, B. A. S. *et al.* Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. **PLOS ONE**, v. 11, n. 1, p. e0145954, 8 jan. 2016.

MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 12, p. 2510–2518, 2012.

MENEGHELLI, C. *et al.* Southern Brazilian autumnal propolis shows anti-angiogenic activity: An *in vitro* and *in vivo* study. **Microvascular Research**, v. 88, p. 1–11, 2013.

MIZUSHINA, Y. *et al.* Novel anti-inflammatory compounds from *Myrsine seguinii*, terpeno-benzoic acids, are inhibitors of mammalian DNA polymerases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1475, n. 1, p. 1–4, jun. 2000.

MOHAMED, W. A. S. *et al.* Q-TOF LC-MS compounds evaluation of propolis extract derived from Malaysian stingless bees, *Tetrigona apicalis*, and their bioactivities in breast cancer cell, MCF7. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 10, p. 103403, 2022.

MOISE, A. R.; BOBIŞ, O. *Baccharis dracunculifolia* and *Dalbergia ecastophyllum*, Main Plant Sources for Bioactive Properties in Green and Red Brazilian Propolis. **Plants**, v. 9, n. 11, p. 1619, 21 nov. 2020.

MOURA, S. A. L. DE *et al.* Aqueous Extract of Brazilian Green Propolis: Primary Components, Evaluation of Inflammation and Wound Healing by Using Subcutaneous Implanted Sponges. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1–8, 2011.

NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 198–228, set. 2018.

OKIŃCZYK, P. *et al.* Profile of Polyphenolic and Essential Oil Composition of Polish Propolis, Black Poplar and Aspens Buds. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1262, 25 maio 2018.

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

OLIVEIRA, V. B. *et al.* Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clade de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 1 suppl 1, p. 230–239, 2016.

PARK, Y. K. *et al.* Chemical Constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the Main Botanical Origin of Southeastern Brazilian Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100–1103, 1 mar. 2004.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502–2506, 1 abr. 2002.

PAULINO, N. *et al.* Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, n. 1–3, p. 296–301, jun. 2008.

PELLATI, F. *et al.* HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 5, p. 934–948, jul. 2011.

RAMOS, A. L. C. C. *et al.* Chemical profile of *Eugenia brasiliensis* (Grumixama) pulp by PS/MS paper spray and SPME-GC / MS solid-phase microextraction. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 7, p. e318974008, 2020..

RAMOS, A. L. C. C. *et al.* Evaluation of the total phenolic content, antioxidative capacity, and chemical fingerprint of *Annona crassiflora* Mart. Bioaccessible molecules. **Food Research International**, v. 165, p. 112514, mar. 2023.

- RIGHI, A. A.; NEGRI, G.; SALATINO, A. Comparative Chemistry of Propolis from Eight Brazilian Localities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 267878, 2013.
- RUFATTO, L. C. *et al.* Brazilian red propolis: Chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. **Microbiological Research**, v. 214, p. 74–82, 2018.
- RUFINO, M. DO S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, ago. 2010.
- SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192–1199, 2016.
- SARTORI, A. G. DE O. *et al.* Plant genetic diversity by DNA barcoding to investigate propolis origin. **Phytochemistry**, v. 200, p. 113226, 2022.
- SCHEPETKIN, I. A. *et al.* Neutrophil Immunomodulatory Activity of Nerolidol, a Major Component of Essential Oils from *Populus balsamifera* Buds and Propolis. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 3399, 6 dez. 2022.
- SEIBERT, J. B. *et al.* Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food Chemistry**, v. 287, n. October 2018, p. 61–67, 2019.
- SHAHINOZZAMAN, M. *et al.* Artepillin C: A comprehensive review of its chemistry, bioavailability, and pharmacological properties. **Fitoterapia**, v. 147, n. July, p. 104775, 2020.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, n. 1974, p. 152–178, 1998.
- SKABA, D. *et al.* Influence of the Toothpaste with Brazilian Ethanol Extract Propolis on the Oral Cavity Health. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 215391, 2013.
- SOARES, A. L. F. *et al.* Identidade e Qualidade de Diferentes Extratos de Própolis. **Revista Gestão em Foco**, n. 9, p. 255–275, 2017.
- SUREK, M. *et al.* Chemical composition, cytotoxicity, and antibacterial activity of propolis from Africanized honeybees and three different Meliponini species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 269, p. 113662, 2021.
- TEIXEIRA, T. D. *et al.* Extraction of Antioxidant Compounds from Brazilian Green Propolis Using Ultrasound-Assisted Associated with Low- and High-Pressure Extraction Methods. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2338, 3 mar. 2023.

TOUZANI, S. *et al.* Determination of Phenolic Compounds in Various Propolis Samples Collected from an African and an Asian Region and Their Impact on Antioxidant and Antibacterial Activities. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4589, 29 jul. 2021.

TZANKOVA, V. *et al.* Micellar propolis nanoformulation of high antioxidant and hepatoprotective activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 364–372, 2019.

WIDELSKI, J. *et al.* Phytochemical Profile and Antimicrobial Potential of Propolis Samples from Kazakhstan. **Molecules**, v. 28, n. 7, p. 2984, 27 mar. 2023.

ZHANG, F. *et al.* Qualitative and quantitative analysis of the major constituents in *Acorus tatarinowii* Schott by HPLC/ESI-QTOF-MS/MS. **Biomedical Chromatography**, v. 29, n. 6, p. 890–901, 2014.

ZHENG, Y.-Z. *et al.* Antioxidant Activity of Quercetin and Its Glucosides from Propolis: A Theoretical Study. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 7543, 8 ago. 2017.

CAPÍTULO IV

Extratos de própolis verde, marrom e preta: perfil de fenólicos, incorporação em um hidrogel à base de amido de sorgo e análise da bioacessibilidade

RESUMO

A própolis é uma resina natural formada por material vegetal coletado pelas abelhas (*Apis mellifera*) pela coleta de diferentes partes de plantas e exsudatos misturados com cera de abelha e secreções salivares na colmeia. Sua composição química é complexa e depende das fontes botânicas disponíveis na região geográfica de produção da própolis. A própolis Verde, exclusiva do Brasil, é feita com a resina da planta *Baccharis dracunculifolia*, a própolis marrom, originária no Nordeste do brasileiro, a partir da planta *Hyptis divaricata*. Já a própolis preta brasileira, tem como provável origem botânica, a resina da planta Jurema Preta (*Mimosa hostilis benth*). Esses três tipos de própolis são ricos principalmente em compostos fenólicos, que apresentam, entre outras, ação antioxidante no organismo. Para comprovar esse efeito, é importante conhecer a bioacessibilidade desses compostos fenólicos e se os mesmos resistem ao processo de digestão, o que aumentaria sua biodisponibilidade. Diante desse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil de compostos fenólicos e a sua bioacessibilidade em extratos de própolis verde, marrom e preta, incorporados em uma matriz hidrogel de amido de sorgo, antes e após o processo de digestão gastrointestinal *in vitro*. Para isso, após a incorporação dos extratos no hidrogel, as amostras foram avaliadas quanto à atividade de água, sinérese, pH, morfologia, perfil de textura (através da compressão de 2 ciclos em 50% da sua altura), características químicas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e identificação e quantificação dos compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC), antes e após processo de digestão gastrointestinal *in vitro*. A incorporação dos extratos ao hidrogel, apresentou-se eficiente, com baixas taxas de liberação de água (0,05 a 0,15 g), além de morfologias internas que demonstraram a retenção dos extratos na rede tridimensional do hidrogel. O perfil de textura dos hidrogéis incorporados com os extratos de própolis demonstrou que todas as formulações resistiram ao processo de compressão de 2 ciclos em 50% da sua altura inicial, o que demonstra géis firmes, coesos, com boa integridade e elevada resistência. A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) identificou os grupos funcionais característicos do amido e do ácido cítrico empregados na formulação. O perfil de fenólicos dos extratos de própolis verde, preta e marrom, comprovou a diversidade dos compostos fenólicos presentes nos três tipos de própolis. A identificação do ácido clorogênico e ácido cafeico na fração bioacessível do hidrogel incorporado com extrato de própolis marrom, ácido cafeico na fração bioacessível do hidrogel incorporado com própolis preta e ácido ferúlico nas frações bioacessíveis de hidrogel com extrato de própolis verde, marrom e preta, comprovou a ação protetora promovida pelo hidrogel, durante o processo de digestão *in vitro*, demonstrando ser uma matriz polimérica, para a incorporação de compostos bioativos.

Palavras-chave: produto apícola; polifenóis; gel polimérico; digestão gastrointestinal.

1. INTRODUÇÃO

A própolis é uma resina produzida pelas abelhas melíferas (*Apis mellifera*), através da coleta de diferentes partes de plantas e exsudatos misturados com cera de abelha e secreções salivares na colmeia (Ribeiro *et al.*, 2023). Sua composição está diretamente relacionada com a sua origem botânica e geográfica, ou seja, diferentes fontes de própolis podem influenciar em suas substâncias funcionais (Pu *et al.*, 2023).

Pelo menos 500 compostos químicos já foram identificados na própolis, incluindo polifenóis, terpenos, aldeídos, álcoois aromáticos, ácidos graxos e esteróides, que são compostos orgânicos essenciais comumente encontrados como metabólitos secundários de plantas (Šuran *et al.*, 2021). Essas propriedades tornam a própolis uma candidata ideal para uso como ingrediente funcional em alimentos, além de seu conhecido uso como nutracêutico (Franchin *et al.*, 2024).

A própolis pode apresentar diferentes cores (verde, marrom e preta), apresentando composições químicas e propriedades biológicas distintas (Ribeiro *et al.*, 2023). Os constituintes químicos apresentados na própolis brasileira são principalmente flavonoides, ácidos clorogênicos, terpenos, ácidos fenólicos e derivados, ácidos graxos, benzofenonas preniladas e ácidos fenilpropanoides prenilados (Dembogurski *et al.*, 2018).

Minas Gerais é o maior estado brasileiro produtor de própolis, responsável por 70% de toda a produção de própolis no Brasil da produção total estimada de 120 toneladas por ano, sendo 85% de própolis verde e 15% de própolis marrom (Ribeiro *et al.*, 2023).

Comercialmente, a própolis verde do Sudeste, produzida principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo, é a mais importante. A principal planta utilizada para a produção desta é a *Baccharis dracunculifolia*. A própolis verde possui uma composição química característica, contendo principalmente compostos fenólicos prenilados, como artepillina C, bacarina e drupanina, além de ácidos fenólicos como seu precursor biossintético ácido p-cumárico. Os compostos fenólicos, incluindo os prenilados, são conhecidos por apresentarem diversos efeitos biológicos (Arruda *et al.*, 2020).

A própolis marrom é o segundo tipo de própolis mais produzido no Brasil e tem importância econômica e medicinal. É produzida principalmente a partir da resina da planta *H. divaricata*. É comumente composta por flavonoides, ácidos graxos, ácido fenilpropanoide e seus derivados prenilados, como a artepillina C (Dembogurski *et al.*, 2018; Vieira *et al.*, 2023a).

A própolis preta brasileira é pouco estudada, tendo como provável origem botânica a resina da planta chamada Jurema Preta (*Mimosa Hostilis benth*), uma árvore nordestina do

Brasil. É rica em compostos fenólicos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos e seus derivados (Vieira *et al.*, 2023a).

Portanto, a composição química da própolis é variável e complexa, dependendo de fatores como a origem da amostra, que está intimamente relacionada com a flora que circunda a colmeia, as características geográficas e climáticas do local, espécies de abelhas, fatores botânicos e geográficos (Ozdal *et al.*, 2019).

Estudos recentes têm demonstrado os efeitos antioxidantes da própolis, a aplicação da própolis como alimento funcional e nutracêutico nas indústrias alimentícia e farmacêutica (Ribeiro *et al.*, 2023). A fim de se justificar o crescente uso da própolis, é importante determinar como o processo de digestão no trato gastrointestinal afeta a estabilidade dos compostos químicos, bem como sua bioacessibilidade para absorção intestinal. Sabendo-se que a bioacessibilidade depende de vários fatores, como o estado químico do composto, sua liberação da matriz alimentar, possíveis interações com outros componentes alimentares, a presença de supressores ou cofatores, a determinação analítica torna-se importante e cada vez mais necessária (Ozdal *et al.*, 2019).

É crucial entender a bioacessibilidade dos compostos fenólicos da própolis, pois isso possibilita observar os efeitos benéficos para a saúde mencionados anteriormente. Métodos de digestão *in vitro* foram desenvolvidos como uma alternativa aos estudos *in vivo* e são considerados ferramentas simples, econômicas e reprodutíveis para avaliar a estabilidade digestiva de diversos constituintes alimentares (Ozdal *et al.*, 2019).

Considerando a própolis como uma fonte promissora de compostos bioativos, consumida amplamente em forma de extrato, torna-se necessária a busca de opções que possam aumentar a bioacessibilidade dos compostos bioativos presentes, visando protegê-los durante o processo de digestão gastrointestinal e também melhorando a palatabilidade e aceitação desse produto (Habryka; Socha; Juszczak, 2020). Sendo assim, o estudo de novas matrizes para incorporação de extratos de própolis torna-se necessário, dentre as quais podemos citar os hidrogéis (Vieira *et al.*, 2023b).

Os hidrogéis de amido são definidos como uma matriz polimérica com estrutura tridimensional altamente hidrofílica, capaz de absorver e reter grandes quantidades de água sem se dissolver (Medha *et al.*, 2024). Essa capacidade decorre da formação de uma rede tridimensional reticulada, onde a água penetra nos grânulos do polímero, criando estruturas interligadas fortes e estáveis. Nos últimos anos, o uso de hidrogéis à base de amidos convencionais e não convencionais para a liberação de compostos bioativos aumentou significativamente (dos Santos *et al.*, 2023).

A utilização de amidos não convencionais para a fabricação de hidrogéis vem ganhando destaque, sendo uma estratégia alternativa para valorizar a biodiversidade (Kishore *et al.*, 2024). Dentre essas fontes, destaca-se o amido de sorgo, por ser mais econômico que o amido de milho, ocupando o 5º lugar no mundo como ingrediente alimentar com maior teor de amido (70–80%) e está incluído na categoria como fonte alternativa de amido (de Carvalho *et al.*, 2024; Ishaq *et al.*, 2024).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um hidrogel à base de amido de sorgo utilizando a quitosana como agente gelificante e o ácido cítrico para promover o meio ácido e melhorar a gelatinização, com excelentes características, formando géis homogêneos, lisos, brilhantes e com elevada capacidade de absorção e retenção de água.

Esse hidrogel desenvolvido, demonstrou ser uma matriz promissora para diversas aplicações, permitindo a incorporação de extratos ricos em compostos bioativos e contribuindo para o avanço da comunidade científica.

Diante desse contexto, o objetivo do presente estudo, foi avaliar o efeito de um hidrogel à base de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, como matriz para incorporação de extratos de própolis verde, marrom e preta e analisar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos, após o processo de digestão *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As amostras de própolis (resinas) verde, marrom e preta utilizadas na pesquisa, foram coletadas na Serra da Canastra no município de Bambuí, Minas Gerais, em 2022 e doadas pela empresa Bee Própolis Brasil. Além disso, também foi realizado o registro da presente pesquisa no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), com o código AA093FE. As mesmas foram armazenadas em embalagens plásticas de polipropileno e mantidas sob congelamento (-25 °C), até o momento das análises.

Figura 1 - Fotos das resinas de própolis verde, marrom e preta



Fonte: Fotografia da autora, 2024. PV: própolis verde; PM: própolis marrom; PP: própolis preta.

Os grãos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] do genótipo BR 501 (pericarpo branco e sem tanino), foram doados pelo Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) pela EMBRAPA Milho e Sorgo, localizado em Sete Lagoas, estado de Minas Gerais, Brasil. O amido de sorgo utilizado na pesquisa, foi extraído de acordo com método descrito por Vieira *et al.* (2020).

Figura 2 - Fotos dos grãos e amido extraído do sorgo branco (cultivar BR 501)



Fonte: Autora, 2024

2.2 Métodos

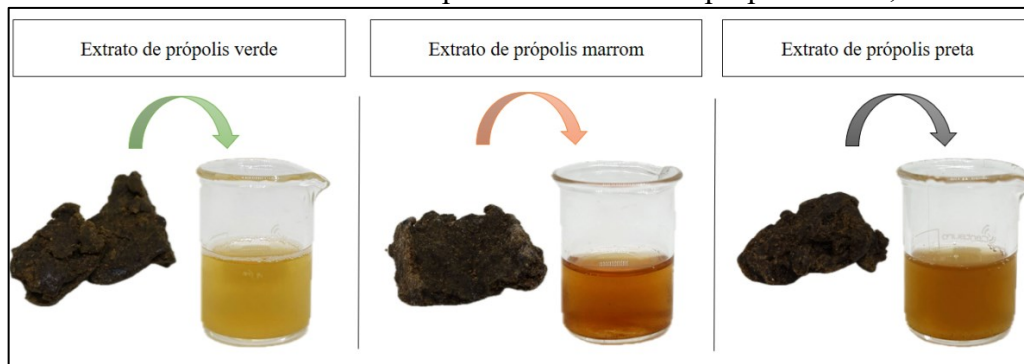
2.2.1 Teor de lipídeos da própolis verde, marrom e preta

O teor de lipídeos das amostras brutas de própolis verde, marrom e preta, foi determinado utilizando o método de extração a frio descrito por Bligh & Dyer (1959). Em média, 2 g das amostras em triplicata foram pesadas em erlenmeyer e acrescidas de 15 mL de clorofórmio, 30 mL de metanol e 12 mL de água destilada. Posteriormente, foram agitadas por 30 min em incubadora shaker (Labinfarma Scientific, modelo LIF650S) e após esse tempo, foram adicionados 15 mL de clorofórmio e de solução de sulfato de sódio 1,5%, seguido de agitação por 2 min. Essas soluções foram transferidas individualmente a um funil de separação, aguardando por aproximadamente 2 min a separação das camadas. A camada inferior foi recolhida e uma alíquota de 5 mL foi recolhida e transferida em placa de petri previamente tarada e pesada. O excesso de solvente foi evaporado e a placa de petri foi pesada novamente.

2.2.1 Obtenção dos extratos

A extração dos compostos fenólicos das amostras de própolis verde, marrom e preta foi realizada conforme descrito por Vieira *et al.* (2023a). Os extratos foram armazenados em temperatura de congelamento (-18 °C) até a o momento das análises. O processo de extração foi realizado em triplicata, ao abrigo da luz e as amostras foram cobertas com papel alumínio para evitar a fotodegradação dos compostos.

Figura 3 - Fotos dos extratos obtidos a partir das resinas de própolis verde, marrom e preta



Fonte: Autora, 2024

2.2.2 Elaboração dos hidrogéis de amido

A formulação de hidrogel de amido de sorgo a ser utilizada nesta etapa da pesquisa, foi determinada conforme os resultados obtidos no capítulo II. Sendo assim, foi utilizada a formulação F3, elaborada com 5 g de amido de sorgo, 0,5 g de quitosana e 4% de ácido cítrico. O hidrogel foi elaborado por método de gelatinização por aquecimento e submetidos ao processo de reticulação física, por 5 ciclos de congelamento e descongelamento, conforme descrito no capítulo II.

2.2.3 Incorporação dos extratos de própolis verde, marrom e preta ao hidrogel

Os extratos de própolis verde, marrom e preta foram incorporados ao hidrogel de amido de sorgo, conforme método descrito por Meng *et al.* (2020), com algumas modificações. Amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico foram pesadas em béqueres, obtendo-se 30 g em triplicata. Os extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta foram então adicionados gota a gota ao hidrogel, até a obtenção de uma proporção de 10:1 (g hidrogel: g extrato de própolis). Essa proporção foi determinada através de pré-testes, simulando a ingestão de uma porção de hidrogel, de acordo com a posologia de extratos de própolis. As misturas foram mantidas por 1 hora em agitador magnético, até a completa dissolução dos extratos no hidrogel. Para evitar a fotodegradação dos compostos presentes nos extratos, os béqueres foram cobertos com papel alumínio.

2.2.4 Capacidade de incorporação dos extratos de própolis verde, marrom e preta ao hidrogel

A capacidade de incorporação dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta foi determinada segundo método descrito por Alavi *et al.* (2018), com algumas modificações. Assim 2 g de hidrogel incorporado com os extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta (concentração 100 mg de própolis/mL de água), foi diluído em 10 mL de etanol absoluto, seguido por sonicação (Ultrassom Sanders, SoniClear 2 modelo Thornton T14) por 2 min. A mistura foi então agitada em agitador de tubos (Novainstruments, NI 1066, Piracicaba, SP) por 2 min e centrifugadas (Centrífuga Excelsa II, Fanem, 206BL, São Paulo) a 3500 rpm por 20 min. O sobrenadante foi recolhido e levado para leitura da absorbância a 426 nm, em espectrofotômetro (Analytik Jena, Spekol 1300, Alemanha). A mesma quantidade do extrato puro que foi incorporada ao hidrogel, foi diluída em 10 mL de etanol absoluto e foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 426 nm. As leituras dos extratos puros e incorporados ao hidrogel foram comparadas para determinar a capacidade de incorporação dos extratos de

própolis verde, marrom e preta ao hidrogel. A concentração de própolis foi determinada utilizando uma curva padrão estabelecida de própolis, em 6 pontos, variando de 0 a 25 µL dos extratos.

2.3 Caracterização do hidrogel à base de amido de sorgo incorporado dos extratos de própolis verde, marrom e preta

2.3.1 Determinação da atividade de água, sinérese e capacidade de retenção de água

Atividade de água (a_w)

A análise de atividade de água (a_w) das amostras foi realizada de acordo com método descrito por Shroti; Saini, (2022), por meio da leitura direta das amostras, através do equipamento AquaLab Lite 2T, da Decagon Devices Inc, (Pullman, EUA), operando-se à temperatura de 25°C. A análise foi realizada em triplicata.

Sinérese (%)

A sinérese foi determinada de acordo com o método descrito por Li *et al.* (2023), com algumas modificações. A sinérese foi medida gravimetricamente como a quantidade de água (g de água/100 g de gel) liberada após centrifugação a 1500 x g por 15 min. A análise foi realizada em triplicata.

Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada de acordo com método descrito por Li *et al.* (2023), com algumas modificações. A CRA foi calculada de acordo com a Equação 3.

Equação 3:

$$CRA = w_1 - w_2 \quad (3)$$

2.3.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

A leitura de pH foi realizada utilizando-se pHmetro de bancada (Bante, modelo 920). A leitura foi realizada em triplicata.

2.3.3 Avaliação morfológica

A morfologia dos hidrogéis foi avaliada utilizando Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL JSM - 6360LV), no Centro de Microscopia da UFMG. Os parâmetros utilizados para análise, foram de acordo com o estudo de Biduski *et al.*, (2018). Para isso, as amostras foram previamente liofilizadas e posteriormente, uma pequena fração de cada amostra foi coletada, fixada em fita de carbono, pulverizada e revestida com ouro. A análise de visualização foi feita usando ampliação variando de 50 a 350 $\times$ com uma voltagem de 5.0 V.

2.3.4 Análise do perfil de textura (TPA)

O TPA dos hidrogéis foi determinado de acordo com método descrito por Biduski *et al.* (2018) com algumas modificações. Para isso, utilizou-se um analisador de textura texturômetro TAXTPLUS (*Stable Micro Systems*) e os dados coletados por meio do programa *Exponent Lite*, versão 5.1.1.0, 2010, utilizando dois ciclos de compressão. Foram analisados os atributos dureza, coesividade, gomosidade, resiliência e adesividade.

2.3.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros dos hidrogéis incorporados com os extratos de própolis verde, marrom e preta foram adquiridos em um Espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (Shimadzu, modelo IR-Prestige 21) equipado com amostrador de Refletância Total Atenuada (ATR). Este recurso possibilitou a inserção direta de cada amostra para análise, sem preparo prévio. O equipamento foi configurado para realizar 20 varreduras, com resolução igual a 1 cm^{-1} , entre 4000 e 400 cm^{-1} .

2.4 Digestão gastrointestinal *in vitro*

Um modelo simulado de digestão gastrointestinal, consistindo nas fases oral gástrica e intestinal, foi realizado conforme o método estático, harmonizado, proposto por Minekus *et al.* (2014) e aprimorado por Brodkorb *et al.* (2019).

Fase oral

O fluido salivar simulado (SSF), contendo (15,10 mmol/L KCl; 3,70 mmol/L KH_2PO_4 ; 13,60 mmol/L NaHCO_3 ; 0,15 mmol/L $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$; 0,06 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$; 1,50 mmol/L $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$; pH 6,5 $\pm$ 0,1) na proporção 1:2, por 15 minutos, foi utilizado para hidratar as amostras de hidrogel com extratos de própolis. Posteriormente, adicionou-se 5 mL de fluido salivar simulado composto por α -amilase (75 U/mL Sigma-Aldrich A3176-500KU) e as

amostras foram incubadas (Incubadora Tecnal TE- 424) sob agitação (122 rpm) e temperatura (37°C) constantes por 2 minutos.

Fase gástrica

Em seguida, para iniciar a fase gástrica, 5 mL de fluido gástrico simulado (6,90 mmol/L KCl; 0,90 mmol/L KH_2PO_4 ; 25,00 mmol/L NaHCO_3 ; 47,20 mmol/L NaCl; 0,10 mmol/L $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$; 0,50 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$; 0,15 mmol/L $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$; pH $3,0 \pm 0,1$) contendo pepsina (2000 U/mL Sigma-Aldrich P7000), foi adicionado às amostras e o pH foi ajustado para $3,0 \pm 0,1$ (HCl 1 mol/L) e a amostra incubada por 2 horas sob as mesmas condições da fase oral.

Fase do intestino delgado

Após esse período, a fase do intestino delgado foi inicializada pela adição de 5 mL de fluido intestinal simulado (6,80 mmol/L KCl; 0,80 mmol/L KH_2PO_4 ; 85,00 mmol/L NaHCO_3 ; 38,40 mmol/L NaCl; 0,33 mmol/L $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$; 0,60 mmol/L $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$; pH $7,0 \pm 0,1$) contendo bile (1,40 $\mu\text{mol/mg}$ Sigma-Aldrich B8631) e 5 mL de fluido intestinal simulado contendo pancreatina (3,60 U/ mL Sigma-Aldrich P1750). O pH foi ajustado para $7,0 \pm 0,1$ (NaOH 1 mol/L) e a amostra incubada por 2 horas.

Para finalizar o processo de digestão gastrointestinal *in vitro* a amostra foi centrifugada por 30 minutos a $8.790 \times g$, a 4°C (Novatecnica - NT 825). A fração bioacessível foi recolhida e armazenada a -18°C, até o momento das posteriores análises. Todo o procedimento foi realizado em triplicata, juntamente com uma amostra controle (branco).

2.5 Perfil de fenólicos

Identificação e quantificação de fenólicos

O perfil de fenólicos dos extratos aquosos brutos e incorporados ao hidrogel, de própolis verde, marrom e preta, antes e após o processo de digestão gastrointestinal *in vitro*, foi determinado conforme o método cromatográfico descrito por Felix Ávila *et al.* (2024). As análises de cromatografia líquida de ultra-desempenho acoplada à detecção de arranjo de diodos (UPLC-DAD) dos compostos fenólicos nas amostras foram realizadas em um cromatógrafo líquido de ultra eficiência Waters ACQUITY UPLC (Waters Corporation, Milford, MA, USA), constituído de uma bomba quartenária, desgaseificador on-line, amostrador automático,

controlador de temperatura da coluna (35°C) e um detector de arranjo. A separação ocorreu em uma coluna Acquity BEH, C18 (1,7 μm x 2,1 x 100mm).

Portanto, foram construídas duas curvas padrões, ambas em triplicata, uma composta por três padrões (ácido gálico, catequina e ácido clorogênico) diluídos em metanol e outra com nove padrões (ácido caféico, epicatequina, ácido p-coumárico, ácido ferúlico, rutina, miricetina, quercetina, apigenina e campferol) também diluídos em metanol. As absorbâncias (nm) obtidas foram: 271 (ácido gálico), 277 (epicatequina), 279 (catequina), 309 (ácido p-coumárico), 322 (ácido caféico), 322 (ácido ferúlico), 325 (ácido clorogênico), 338 (apigenina), 354 (rutina), 366 (campferol) 372 (miricetina), 372 (quercetina).

Para o primeiro método, foram utilizadas as seguintes condições cromatográficas, volume de injeção de 1 μL ; a fase móvel era composta por água/ácido fórmico (99,75:0,25 v/v) como eluente A e acetonitrila/ácido fórmico (99,75:0,25, v/v) como eluente B utilizando os seguintes gradientes: 0-3,5 min, 100% A; 3,5 a 4 min, 100-92% A, 0-8% B; 4-10 min, 92% A, 8% B, com vazão de 0,30 mL/min. Para o segundo método, foram utilizados os mesmos eluentes, vazão e volume de injeção do primeiro método. Com as seguintes condições de gradiente das fases móveis: 0-10 min, 90% A, 10% B; 10 a 10,5 min, 90-82% A, 10-8% B; 10,5-16 min, 82% A, 18% B; 16-16,5 min, 82-75% A, 18-25% B; 16,5 a 25 min, 75% A, 25% B.

Para ambas as condições analíticas, os compostos fenólicos foram quantificados por interpolação em curvas analíticas externas ($R^2 > 0,993$) utilizando sete pontos de padrões (1–7 $\mu\text{g/mL}$), em triplicata. Os dados foram processados no software Empower® e os resultados foram expressos em mg.g^{-1} de extrato.

2.6 Análise estatística

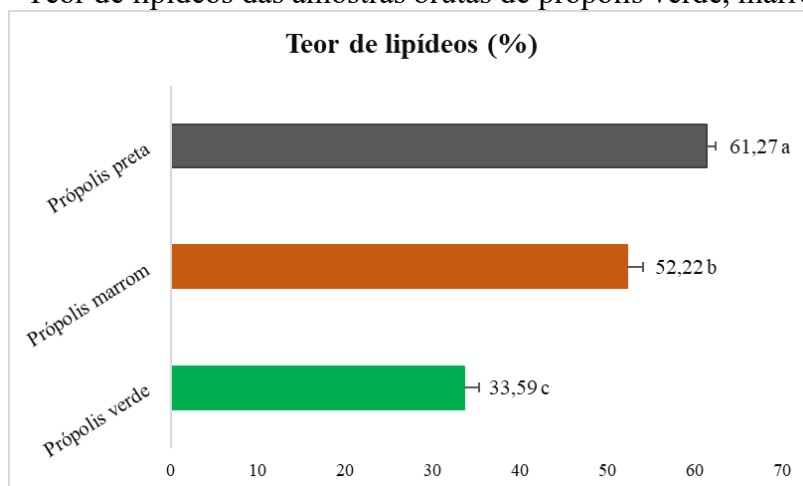
Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5%, após avaliação da normalidade e homogeneidade. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa SPSS 15.0 (SPSS Inc., EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teor de lipídeos da própolis verde, marrom e preta

Os teores de lipídeos (%) das amostras brutas de própolis verde, marrom e preta, estão representados na Figura 4. Como é possível observar, houve diferença estatisticamente significativa do teor de lipídeos entre as amostras.

Figura 4 - Teor de lipídeos das amostras brutas de própolis verde, marrom e preta



Legenda: HV: hidrogel + extrato de própolis verde; HM: hidrogel + extrato de própolis marrom; HP: hidrogel + extrato de própolis preta

*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

A própolis preta apresentou o maior teor de lipídeos entre as três amostras analisadas. Essa variação no teor de lipídeos entre os três tipos de própolis é esperada, pois diferentes tipos de própolis exibem composições químicas distintas, principalmente devido às suas origens botânicas diferentes.

Existem dados limitados disponíveis sobre a composição centesimal de própolis bruta e consequentemente, sobre o teor de lipídeos (Pant *et al.*, 2024). Entretanto, os valores obtidos neste estudo (33,59 a 62,27%) corroboram aos encontrados na literatura, que apresentaram uma variação de 29,27 a 64,14% em alguns estudos, que utilizaram o mesmo método de extração de lipídeos, realizado no presente estudo (Barbosa, 2017; Machado *et al.*, 2015; Nunes, 2019).

O maior percentual da composição química da própolis consiste em lipídeos, um alto teor justificado por se tratar de um recurso natural produzido a partir de resinas, bálsamos e ceras, que são ricas em lipídeos (Barbosa, 2017).

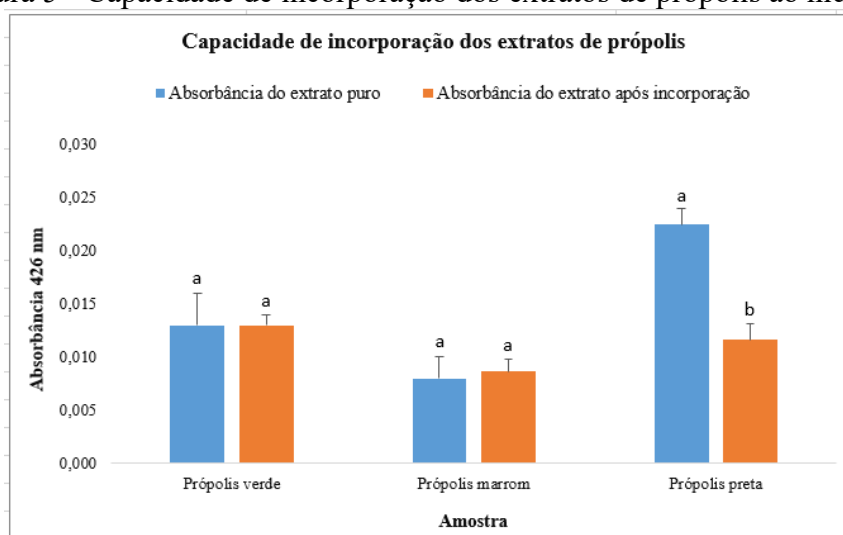
A dificuldade na comparação dos dados referentes aos teores de lipídeos de diferentes tipos de própolis, está relacionada à influência exercida pela fonte botânica de coleta das abelhas, região de origem da própolis, sazonalidade e método de análise utilizado. Sua

composição química apresenta uma grande variedade, dependendo do tipo de própolis, o que pode resultar em diferenças em seu teor de lipídeos (Guzelmeric *et al.*, 2021).

3.2 Capacidade de incorporação dos extratos de própolis verde, marrom e preto ao hidrogel de amido de sorgo

As leituras das absorbâncias à 426 nm das amostras de extrato de própolis verde, marrom e preto, antes e após incorporação ao hidrogel, estão representadas na Figura 5. As comparações das médias foram realizadas para o mesmo tipo de própolis, antes e após a incorporação dos extratos ao hidrogel.

Figura 5 - Capacidade de incorporação dos extratos de própolis ao hidrogel



Legenda: representação gráfica das médias das absorbâncias das amostras de extrato de própolis verde, marrom e preto, antes e após incorporação ao hidrogel.

*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si para o mesmo tipo de própolis, pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

Sobre o extrato de própolis verde, os valores das leituras das absorbâncias antes da incorporação ao hidrogel de amido de sorgo foi de $0,013 \pm 0,003$ e após a incorporação ao hidrogel foi de $0,013 \pm 0,001$, valores iguais estatisticamente. O mesmo ocorreu em relação à própolis marrom, em que os valores das leituras das absorbâncias antes da incorporação ao hidrogel foi de $0,008 \pm 0,002$ e a absorbância do extrato após incorporação ao hidrogel foi $0,009 \pm 0,001$.

Esses resultados demonstram que houve a incorporação dos extratos ao hidrogel de amido de sorgo, evidenciando a capacidade desta matriz polimérica em incorporar os extratos aquosos de própolis, utilizados no presente estudo, como fonte de substâncias bioativas.

Como é possível observar na Figura 5, houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de absorbância, para a própolis preta, antes ($0,023 \pm 0,002$) e após a

incorporação do extrato ao hidrogel ($0,012 \pm 0,002$), sendo que o valor da leitura da absorbância desse extrato, antes da incorporação ao hidrogel, foi maior do que após a incorporação.

Esse resultado demonstra que, a própolis preta, por apresentar maior teor de lipídeos em relação às própolis verde e marrom, ou seja, por característica mais lipofílica, apresenta uma afinidade elevada por ambientes apolares, devido à sua estrutura química predominantemente hidrofóbica. Essas substâncias geralmente contêm longas cadeias de hidrocarbonetos ou grupos funcionais apolares que não interagem favoravelmente com moléculas de água, que são polares, dificultando assim a sua incorporação no hidrogel, que apresenta característica altamente hidrofílica (Dahal; Janaswamy, 2024; Liu *et al.*, 2018).

As substâncias bioativas apresentam as características de serem degradáveis e sensíveis, sendo altamente suscetíveis à oxidação e outros fatores externos, como alta temperatura e presença de luz e oxigênio, e podem ter sabor e aroma indesejáveis, o que pode limitar seu uso na indústria (Gomes Sá *et al.*, 2023; Tavares *et al.*, 2022). Devido a isso, encontrar alternativas que possam manter a estabilidade dessas substâncias, torna-se relevante, como a incorporação em hidrogéis, que, devido às suas propriedades de retenção ou liberação de compostos bioativos (Soares *et al.*, 2021).

Diante desse contexto, incorporar extratos de própolis em matrizes poliméricas, como em hidrogéis de amido, torna-se uma alternativa promissora para promover a proteção desses compostos, ampliando assim a gama de aplicações desses extratos, garantindo e mantendo seus efeitos bioativos (Cui *et al.*, 2022; Medha *et al.*, 2024; Meng *et al.*, 2020).

3.2 Caracterização do hidrogel à base de amido de sorgo incorporado de extratos de própolis verde, marrom e preta

3.2.1 Determinação da atividade de água, sinérese e capacidade de retenção de água

Os valores de atividade de água (a_w), taxa de liberação de água expressos em grama de água/100 g de gel e capacidade de retenção de água (CRA), estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Atividade de água (a_w), sinérese e capacidade de retenção de água (CRA) das amostras de hidrogel incorporado dos extratos de própolis verde, marrom e preta

Amostra	a_w	Sinérese (%)	CRA (g)
HV	$0,932 \pm 0,03^b$	$8,45 \pm 1,07^b$	$0,09 \pm 0,07^a$
HM	$0,980 \pm 0,02^{ab}$	$3,75 \pm 0,72^b$	$0,05 \pm 0,00^a$
HP	$0,996 \pm 0,00^a$	$21,50 \pm 3,97^a$	$0,15 \pm 0,09^a$

HV: hidrogel incorporado com extrato de própolis verde; HM: hidrogel incorporado com extrato de própolis marrom; HP: hidrogel incorporado com extrato de própolis preta.

* Média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

Atividade de água (a_w)

A atividade da água é uma propriedade física medida na indústria alimentícia que ajuda a prever a vida útil e a atividade microbiana. Trata-se de uma representação das propriedades coligativas: pressão de vapor, depressão do ponto de congelamento, elevação do ponto de ebulição e pressão osmótica, todas as quais são medidas únicas e quantitativas do potencial químico de uma solução em uma dada concentração, temperatura e pressão (Subbiah; Blank; Morison, 2020).

Em uma solução ideal, essa proporção é igual à fração molar de água na solução, mas normalmente é menor que isso, então o coeficiente de atividade da água é introduzido. É avaliada em uma escala de 0 a 1, onde 1 representa a água pura (Subbiah; Blank; Morison, 2020; Sun *et al.*, 2024).

Os valores de a_w das amostras de hidrogel, incorporado dos extratos de própolis verde, marrom e preta, foram de $0,932 \pm 0,03$ para o hidrogel com extrato de própolis verde, $0,980 \pm 0,02$ para o hidrogel com extrato de própolis marrom e de $0,996 \pm 0,00$ para o hidrogel com extrato de própolis preta, conforme demonstrado na Tabela 1, caracterizando uma elevada a_w , visto que esses valores ficaram bem próximos de 1.

A a_w foi maior e estatisticamente igual para as amostras HM e HP e a amostra HV apresentou uma menor a_w em relação à amostra HP. A adição de diferentes tipos de extratos, podem influenciar na atividade de água do hidrogel, visto que o número médio de moléculas de água pode ser afetado pelas interações entre o soluto e o solvente, resultando assim em mais ou menos água livre na solução (Burakowski; Gliński, 2012).

As diferenças observadas indicam que o tipo de própolis influenciou na a_w . As amostras HV e HP podem ter apresentado maior a_w devido aos extratos mais fluidos e ao maior teor de água livre. Esta variação pode ser explicada pela composição química dos três tipos de própolis, especialmente pelo teor de lipídeos. A análise dos lipídeos totais revelou que a própolis preta possui o maior teor (61,27%), seguida pela própolis marrom (52,22%) e pela própolis verde, que apresentou o menor teor (33,59%).

As diferenças no teor de lipídeos entre os três tipos de própolis conferem à própolis preta características mais lipofílicas. Quando misturada com água, ocorre uma segregação espontânea devido à natureza polar da água e à natureza apolar dos lipídios, resultando em um maior teor de água livre. Isso acontece porque a interação entre as moléculas de água é mediada por fortes ligações de hidrogênio, enquanto as moléculas lipofílicas interagem entre si por meio

de forças de van der Waals e interações hidrofóbicas, formando ligações mais fracas (Das; Mitra, 2014; Van Balen *et al.*, 2004).

Valores elevados de atividade de água em hidrogéis são esperados, considerando que se trata de uma suspensão de polímero, neste caso, o amido, com alta capacidade de retenção de água. Além disso, os hidrogéis de amido são definidos como uma matriz polimérica hidrofílica com uma estrutura tridimensional reticulada por processos físicos ou químicos. Essa configuração estrutural permite a absorção significativa de água ou soluções aquosas, mantendo a integridade do gel sem dissolução (Cui *et al.*, 2022; Larrea-Wachtendorff; Sousa; Ferrari, 2020).

Ai incorporar extratos que apresentem atividade antimicrobiana, como a própolis, esta limitação de elevada atividade de água do hidrogel, que favorece a proliferação de microrganismos, pode ser minimizada, visto que essa substância apícula apresenta uma notável atividade antimicrobiana e antifúngica, amplamente documentada em diversos estudos científicos. Este efeito é atribuído à presença de substâncias bioativas como flavonoides, ácidos fenólicos e ésteres (Bouchelaghem, 2022; Çelekli; Akhras; Bozkurt, 2024; Queiroga *et al.*, 2023).

Sinérese (%)

Em relação à sinérese das amostras de hidrogel, incorporado com os extratos de própolis verde, marrom e preta, os valores foram de $8,45 \pm 1,07$ % para HV, $3,75 \pm 0,72$ % para HM e $21,50 \pm 2,97$ % para HP. Dentre esses valores, a amostra HP foi a que apresentou a maior sinérese, em relação à HV e HM, que foram iguais estatisticamente.

Sinérese é um fenômeno comum em géis, caracterizado pela liberação de líquido da estrutura do gel. Esse processo ocorre quando o gel se contrai e libera parte da água ou solvente que estava retido inicialmente. A sinérese pode ser influenciada por vários fatores, como a composição química do gel, a quantidade de polímeros, as condições de armazenamento e as interações entre as moléculas presentes na matriz do gel. Em contextos alimentícios, a sinérese pode impactar a textura, aparência e estabilidade dos produtos, sendo um aspecto crucial a ser considerado no desenvolvimento e fabricação de géis alimentares (Ako, 2015; Panja; Dietrich; Adams, 2022; Wu *et al.*, 2023b).

O hidrogel de amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico, incorporado com o extrato de própolis preta, apresentou maior sinérese, ou seja, teve a maior quantidade de água liberada após 24 h de armazenamento. Isso demonstra que esse extrato aquoso, formou menos interações intermoleculares ou interações mais fracas, quando comparado às amostras HV e HM, o que

pode ser associado à característica mais lipofílica da própolis preta. Em estudo que avaliou a sinérese de hidrogéis à base de trigo, Maniglia *et al.* (2020), encontraram valores que variaram de $3,62 \pm 0,13$ a $7,38 \pm 0,71$ g água/100 g gel, valores semelhantes aos encontrados neste estudo, nas formulações com menor sinérese (HV e HM).

Wu *et al.*, (2022), ao avaliarem a sinérese de um hidrogel de copolímero de acrilamida de cloreto de acrilóiloxietil trimetilamônio (AM/DAC), encontraram um valor de sinérese de 40,5%, ou seja, superior ao relatado neste estudo, onde o maior valor de sinérese foi de 21,50% para a amostra HP. Isso demonstra que as amostras de hidrogel, incorporado com extratos de própolis verde, marrom e preta, apresentaram uma baixa sinérese (HV e HM) e intermediária para a amostra HP.

A sinérese em géis de amido é um fenômeno que ocorre quando há a expulsão de água da rede tridimensional do gel. Esse processo é influenciado principalmente pela retrogradação, que é a reorganização das moléculas de amido, especialmente a amilose, após a gelatinização. Durante o resfriamento dos géis de amido, as moléculas de amilose e amilopectina se reassociam, formando uma rede mais ordenada e densa, o que resulta na expulsão de água anteriormente retida na matriz do gel (Costa *et al.*, 2020; Tovar *et al.*, 2002).

Esse processo complexo é influenciado por múltiplos fatores, incluindo a composição do amido, as condições de armazenamento, o pH e a presença de solutos, bem como o método de gelificação utilizado. A compreensão detalhada desses fatores é essencial para controlar e minimizar a sinérese em aplicações industriais, garantindo a estabilidade e a qualidade dos produtos alimentícios (Costa *et al.*, 2020).

Capacidade de retenção de água (WHC)

A capacidade de retenção de água das amostras de hidrogel incorporado com extratos de própolis verde, marrom e preta, foi determinada através do valor de perda de água (WL) em gramas, conforme apresentado na Tabela 1. Os valores foram de $0,09 \pm 0,07$ g para HV, $0,05 \pm 0,05$ g para HM e $0,15 \pm 0,09$ g para HP. Esses valores não diferiram entre si estatisticamente.

Esses resultados demonstraram que a adição de extratos de própolis, provenientes de fontes diferentes, não influenciou na capacidade de retenção de água do hidrogel, apresentando as três amostras, baixos valores de perda de água.

Durante o resfriamento dos géis de amido, as moléculas de amilose e amilopectina se reassociam, formando uma rede mais ordenada e densa, resultando na expulsão de água anteriormente retida na matriz do gel. Este processo é chamado retrogradação e resulta na

liberação de água que estava previamente ligada às cadeias de amilose e amilopectina (Costa *et al.*, 2020).

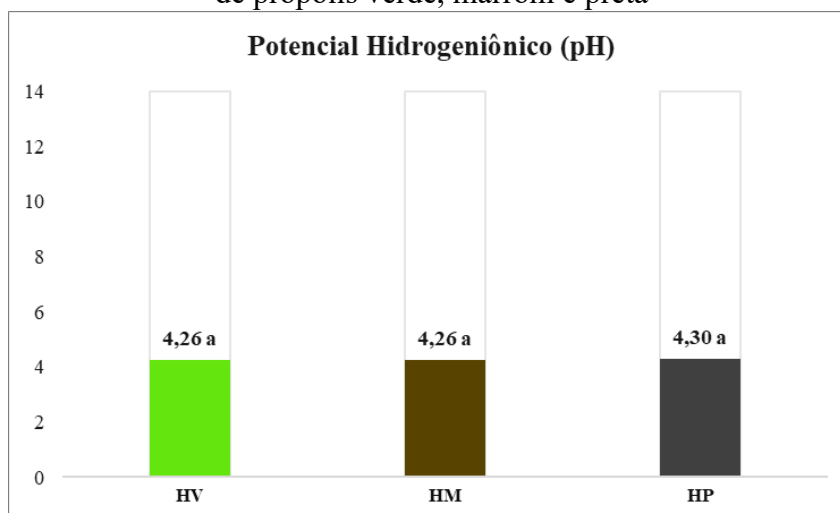
A retrogradação é responsável pela formação de géis de amido mas também pela separação de líquido (água) do sólido (amido). Essa característica inerente aos géis de amido, pode ser prejudicial à qualidade de produtos alimentícios, pois essa liberação de água pode influenciar na aparência e na textura desses produtos (Li *et al.*, 2023).

Avaliar a capacidade de retenção de água em hidrogéis à base de amido é, portanto, um parâmetro extremamente importante para avaliar a estabilidade do gel formado. Os resultados encontrados no presente estudo, demonstraram que a formulação de hidrogel à base de amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico, apresentou boa estabilidade e baixa taxa de liberação de água, sendo promissora para a incorporação de extratos ricos em substâncias bioativas, como a própolis.

3.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

As amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, incorporados com extratos aquosos de própolis verde (HV), marrom (HM) e preta (HP), apresentaram valor de pH de $4,26 \pm 0,03$, $4,26 \pm 0,03$ e $4,30 \pm 0,05$ respectivamente, sendo iguais estatisticamente entre si, conforme apresentado na Figura 6.

Figura 6 - Potencial Hidrogeniônico (pH) das amostras de hidrogel incorporado dos extratos de própolis verde, marrom e preta



Legenda: Potencial hidrogeniônico (pH) das amostras de de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, incorporados com extratos aquosos de própolis verde (HV), marrom (HM) e preta (HP).

*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

Esses resultados demonstram que a adição dos extratos aquosos de própolis não influenciou no pH do hidrogel. Conforme apresentado no capítulo III, devido a formulação desenvolvida ter a adição de 4% de ácido cítrico, justifica-se o pH de caráter ácido das amostras.

Meng *et al.* (2020) desenvolveram hidrogéis à base de amido de tapioca esterificado, encontraram valores de pH que variaram de 3 a 8, concluindo que quando o pH era menor que 6, o grau de inchaço dos hidrogéis aumentou significativamente. O grau de inchaço em hidrogéis está relacionado à capacidade desses materiais de absorver e reter água ou fluidos biológicos sem dissolver o polímero.

Em estudo que desenvolveu hidrogel à base de amido modificado de milheto, Mahajan; Bera; Panesar, (2021) relataram que a reticulação aumentou em pH baixo e diminuiu gradualmente ao aumentar o pH. Os autores atribuíram esse resultado aos altos íons H^+ em condições de pH baixo que se ligam às cadeias de amido intramolecularmente, isolando as moléculas de água.

Wang *et al.* (2023) avaliaram o impacto do pH em hidrogel de proteína de ervilha e os resultados mostraram que o pH afetou significativamente o processo de gelificação do hidrogel desenvolvido, formando uma estrutura lamelar em pH 3, uma estrutura de rede de agregação de grânulos em pH 5 e estruturas porosas em pH 7. A variação do pH alterou a microestrutura do hidrogel e apresentou a maior força de gel e autorrecuperação em pH 3.

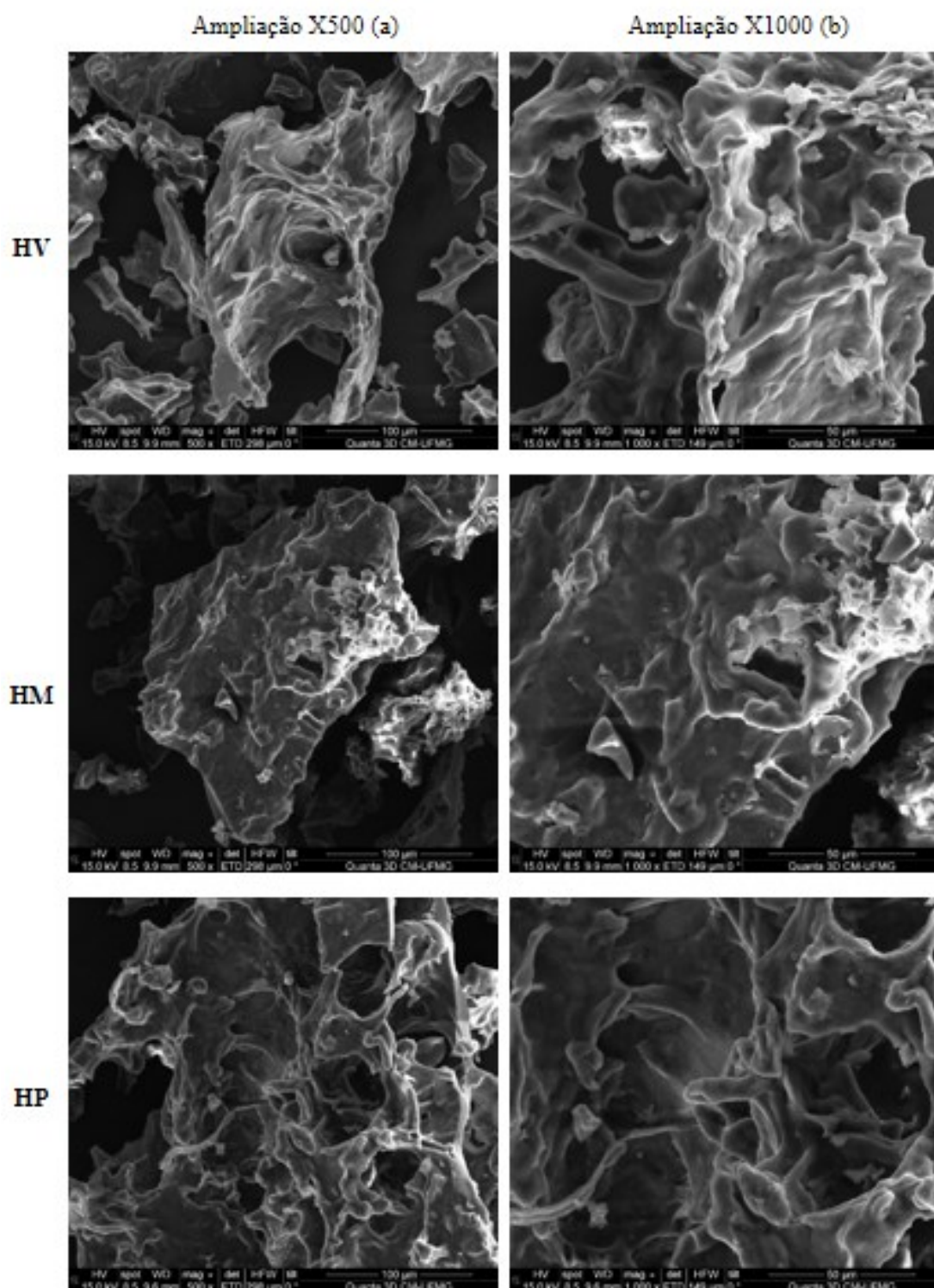
O pH ácido é importante para a formação de géis de amido, por protonação dos grupos carboxílicos, diminuindo a repulsão eletrostática entre as moléculas e estabilizando o gel (Hirashima; Takahashi; Nishinari, 2012).

Esses resultados demonstram que a adição de um meio ácido, como o ácido cítrico dissolvido em água, utilizado na formulação do hidrogel de amido de sorgo e quitosana no presente estudo, pode ajudar no desenvolvimento de hidrogéis sensíveis ao pH, com potencial para incorporação de compostos bioativos e além disso, reduzir o crescimento de microrganismos (de Lima *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2023a).

3.2.3 Avaliação morfológica

A morfologia das amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico, com incorporação dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta, está apresentada na Figura 7.

Figura 7 - Morfologia dos hidrogéis de amido de sorgo, incorporados com os extratos de própolis verde, marrom e preta



Morfologia dos hidrogéis de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, incorporado com os extratos de própolis verde, preta e marrom. Figura (a): X500 de ampliação e figura (b): X1000 de Ampliação. HV: hidrogel + extrato de própolis verde; HM: hidrogel + extrato de própolis marrom; HP: hidrogel + extrato de própolis preta

A morfologia deste hidrogel foi apresentada no capítulo III deste trabalho, na qual foi possível observar a presença de poros, o que facilita a penetração de água ou outras soluções aquosas, que pode ser aprisionada em sua rede tridimensional (Chang *et al.*, 2010).

Na Figura 7, HV, HM e HP (a) e (b), nota-se que esses poros anteriormente formados estão aparentemente preenchidos com os extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta, que foram incorporados à formulação de hidrogel. Observa-se que a amostra HP apresenta uma maior quantidade de poros ociosos, em relação às amostras HV e HM, o que pode significar que o extrato de própolis preta pode não ter sido bem aprisionado na estrutura tridimensional do hidrogel, o que pode ser explicado pela natureza mais lipofílica da própolis preta.

Essa diferença também pode ser confirmada na análise de sinérese, apresentada na Tabela 1, em que a amostra HP apresentou uma maior porcentagem de perda de água (21,50%) em relação às amostras HV e HM, que apresentaram uma perda de água de 8,45 e 3,75%, respectivamente. Essa sinérese mais intensa, demonstra que esse extrato aquoso, formou menos ou mais fracas interações intermoleculares com o hidrogel, quando comparado às amostras HV e HM.

No entanto, a formação de uma estrutura porosa, tridimensional em hidrogéis é ideal para a permeabilidade de líquidos, aumentando sua capacidade de absorção e facilitando a penetração de soluções aquosas (Biduski *et al.*, 2018; Mousavi *et al.*, 2019).

Estas características, que puderam ser observadas na morfologia do hidrogel desenvolvido no presente estudo, no capítulo III, comprovam que a formulação desenvolvida representa uma excelente matriz polimérica, para a incorporação de extratos com propriedades bioativas, como os utilizados neste estudo.

3.2.4 Análise do perfil de textura (TPA)

Os perfis de textura das amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, com incorporação dos extratos aquosos de própolis verde (HV), marrom (HM) e preta (HP), estão apresentados na Tabela 2. A análise de textura é uma ferramenta importante para avaliar a qualidade sensorial de produtos alimentícios. Ela permite medir a resistência mecânica de um material quando submetido a forças de compressão, cisalhamento ou penetração (Chen; Opara, 2013). No presente estudo, os parâmetros texturais avaliados foram dureza, coesividade, gomosidade, resiliência, adesividade e flexibilidade.

Tabela 2 – Análise do perfil de textura (TPA) das amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, incorporado com extratos de própolis verde, marrom e preta

Parâmetros	Amostra		
	HV	HM	HP
Dureza	1,62 ± 0,18 ^a	1,49 ± 0,34 ^a	1,49 ± 0,06 ^a
Coesividade	0,70 ± 0,01 ^a	0,72 ± 0,00 ^a	0,68 ± 0,01 ^b
Gomosidade	1,14 ± 0,11 ^a	1,07 ± 0,25 ^a	1,01 ± 0,04 ^a
Resiliência	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^a
Adesividade	-194,81 ± 7,93 ^a	-155,83 ± 26,13 ^a	-179,56 ± 23,64 ^a
Flexibilidade	0,93 ± 0,01 ^a	0,95 ± 0,00 ^a	0,93 ± 0,02 ^a

Legenda: HV: hidrogel + extrato de própolis verde; HM: hidrogel + extrato de própolis marrom; HP: hidrogel + extrato de própolis preta

*Média ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de comparação de médias ($p \leq 0,05$).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2, é possível observar que as três amostras apresentaram comportamento semelhante quanto à dureza, gosmosidade, resiliência, adesividade e flexibilidade, não diferindo significativamente entre si ($p > 0,05$). Já em relação ao parâmetro coesividade, houve diferença significativa para a amostra HP, que apresentou o menor valor em relação as amostras HV e HM.

O parâmetro “dureza” no perfil de textura (TPA), está relacionado com a força máxima de compressão extraída da curva força vs. tempo. O valor de força de pico está relacionado à força máxima de compressão (uniaxial), designada como “dureza” na profundidade especificada no teste. Devido à rede estrutural contínua que forma os géis, valores de dureza mais altos se traduzem em uma área maior sob a curva força vs tempo, correspondendo a uma maior quantidade total de força necessária para executar o processo de cisalhamento (Martins *et al.*, 2019).

No presente estudo, os valores de dureza (HV: 1,62 ± 0,18, HM: 1,49 ± 0,34 e HP: 1,49 ± 0,06) não diferiram entre si, demonstrando que a incorporação de extratos de diferentes tipos de própolis, não influenciou neste parâmetro de textura. Esses resultados demonstram que a adição dos extratos aquosos de diferentes tipos de própolis, não afetou a compressibilidade dos hidrogéis nas concentrações utilizadas nas amostras.

Martins *et al.* (2019), desenvolveram hidrogéis à base de alginato de sódio e diferentes concentrações de cera de abelha, relataram valores de dureza que variaram de 0,213 ± 0,001 a 12,60 ± 0,60. Os autores atribuíram essa diferença em relação à dureza dos géis, à concentração de cera de abelha, que diminuía, conforme aumentava essa concentração.

Em outro estudo que avaliou a dureza de hidrogéis à base de isolado de proteína de soja com diferentes concentrações de goma de fibra de milho, Yan *et al.* (2021) encontraram valores

que variaram de 0,5 a 1,8 em média, demonstrando que conforme a concentração de goma de fibra de milho aumentava, o valor de dureza dos géis também aumentou.

Para aplicações alimentares, como objetivado no presente estudo, géis muito firmes, com elevados valores de dureza, não seriam interessantes, pois quanto maior a dureza, mais difícil torna-se comprimir ou mastigar o produto alimentício, o que poderia ocasionar em uma baixa aceitação dos consumidores. Portanto, géis mais fluidos, com menores valores de dureza, como o do presente estudo, seriam mais convenientes.

Na análise do perfil de textura, a sonda é comprimida duas vezes na amostra de gel e a coesividade é definida como a razão da área sob a curva força-tempo produzida no segundo ciclo de compressão para aquela produzida no primeiro ciclo de compressão com compressões sucessivas sendo separadas por um período de recuperação definido (Hurler *et al.*, 2012).

A coesividade é a medida da força das ligações internas que compõem a estrutura. Desta forma, a baixa coesividade das amostras de hidrogel com incorporação de extratos de própolis verde, marrom e preta, pode ser devido a fraca associação intermolecular. Destaca-se neste sentido, que a amostra HP apresentou menor valor de coesividade ($0,68 \pm 0,01$) em relação às amostras HV e HM.

Este resultado demonstra maior fraqueza nas ligações intermoleculares do extrato aquoso de própolis preta, com o hidrogel de amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico. Essa diferença para este extrato também foi apresentada em relação à análise de sinérese no presente estudo, comprovando a formação de menos interações intermoleculares ou interações mais fracas, quando comparado às amostras HV e HM, devido à natureza mais lipofílica da própolis preta.

Biduski, (2018) ao desenvolver hidrogéis à base de amido de arroz, com adição de óleo essencial de alecrim, relatou valores de coesividade entre $0,74 \pm 0,02$ e $0,78 \pm 0,00$, resultados muito próximos ao encontrado no presente estudo para as amostras analisadas.

O parâmetro textural “gomosidade”, refere-se à densidade que persiste durante a mastigação de um produto semi-sólido, ou seja, é a energia necessária para mastigar o alimento. A gomosidade é calculada como o produto da dureza pela coesividade (Chandra; Shamasundar, 2015).

As amostras de hidrogel adicionadas com os extratos de própolis verde, marrom e preta, apresentaram baixos valores de gomosidade, sem diferença estatisticamente significativa entre si, conforme apresentado na Tabela 2. Este resultado foi satisfatório, tendo em vista que produtos alimentícios “gomosos” podem ser pegajosos ou difíceis de mastigar.

Quanto aos parâmetros texturais resiliência e adesividade, não houve diferença estatisticamente significativa entre as três amostras analisadas, demonstrando que o tipo de própolis (verde, marrom e preta) dos extratos adicionais ao hidrogel, não influenciou nesses parâmetros.

A resiliência é a medida de recuperação da amostra após compressão, em termos de força derivada e velocidade. Embora não seja mencionada diretamente, a resiliência está relacionada à capacidade do alimento de recuperar sua forma original após a aplicação de força. Alimentos resilientes retornam à sua forma rapidamente, enquanto alimentos menos resilientes podem permanecer deformados (Biduski *et al.*, 2018).

Durante a última etapa do teste textural, a sonda cônica retira a amostra e qualquer adesividade demonstrada por uma região de força negativa na curva mostrada é registrada, o que está relacionado com o trabalho de adesão (Kamboj; Rana, 2014).

O perfil de adesividade de hidrogéis é uma indicação da resposta do material e sua consequente resistência à separação da base do cone. Quanto mais pegajosa for a amostra, mais negativo será o valor (Martins *et al.*, 2019).

Ao analisar o parâmetro textural de flexibilidade, os valores encontrados foram de $0,93 \pm 0,01$, $0,95 \pm 0,00$ e $0,93 \pm 0,01$, para as amostras HV, HM e HP, respectivamente, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre si. Em estudo que desenvolveu hidrogéis à base de amido de arroz, com adição de óleo essencial de alecrim, Biduski (2018) relatou valores de flexibilidade entre $0,52 \pm 0,01$ e $0,62 \pm 0,00$, resultados próximos aos encontrados no presente estudo. Esses resultados demonstram que a adição de extratos de diferentes tipos de própolis, não influenciou na flexibilidade das amostras analisadas.

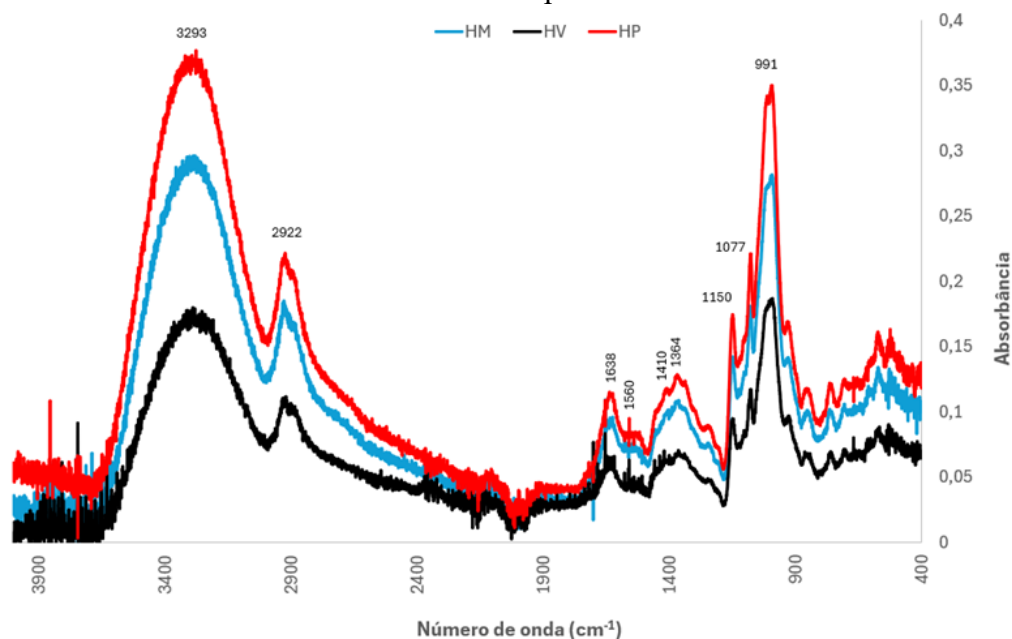
A flexibilidade é determinada pela altura que as amostras recuperam durante o tempo entre as compressões e corresponde à capacidade da amostra em retornar ao seu estado original após a compressão (Biduski *et al.*, 2018).

Sendo assim, o perfil de análise em textura (TPA) das amostras de hidrogel de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, com a incorporação de extrato aquoso de própolis verde, marrom e preta, demonstrou que os diferentes tipos de própolis presentes nos extratos adicionados, não influenciou significativamente na textura das amostras, sendo diferente apenas para a coesividade, para a amostra HP, que demonstrou uma coesividade um pouco menor em relação às amostras HV e HM.

3.2.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de ATR-FTIR das três amostras de hidrogel à base de amido de sorgo, quitosana e 4% de ácido cítrico, com incorporação dos extratos aquosos de própolis verde (HV), marrom (HM) e preta (HP) estão apresentados na Figura 8.

Figura 8 - Espectros de FTIR do hidrogel incorporado com extratos de própolis verde, marrom e preta



Legenda: HV: hidrogel + extrato de própolis verde; HM: hidrogel + extrato de própolis marrom; HP: hidrogel + extrato de própolis preta

De modo geral, as três amostras apresentaram as mesmas bandas, independentemente de sua constituição. Possivelmente as bandas evidenciadas estão vinculadas aos componentes majoritários das amostras, no caso, o hidrogel de amido de sorgo com quitosana e ácido cítrico. A banda em 3293 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de grupos hidroxila (OH) e a banda em 2922 cm^{-1} às vibrações de alongamento C-H do amido (Lin, 2016).

Em 1638 cm^{-1} há uma banda de flexão do grupo hidroxila da água, indicando que o polímero é higroscópico. Em 1364 cm^{-1} há uma banda relacionada à deformação angular de ligações C-H. As bandas entre 1050 e 991 cm^{-1} são características de polissacarídeos e são atribuídas a deformações do grupo C-O-C e flexão do grupo OH (Ferreira-Villadiego et al., 2018).

As bandas características de ácido cítrico, relacionadas ao estiramento dos seus grupos carbonila (C=O), com frequência acima de 1704 cm^{-1} (Garcia et al., 2011) não foram visualizadas.

Esses resultados demonstram que a adição dos extratos de própolis verde, marrom e preta não influenciou nos grupos funcionais do hidrogel à base de amido, quitosana e ácido cítrico.

3.3 Perfil de compostos fenólicos

Identificação e quantificação de compostos fenólicos

Os compostos identificados e quantificados durante a análise, nos extratos aquosos brutos de própolis verde (V), marrom (M) e preta (P), antes do processo de digestão gastrointestinal *in vitro* e suas respectivas frações bioacessíveis, verde (BV), marrom (BM) e preta (BP), bem como as frações bioacessíveis dos extratos incorporados ao hidrogel (própolis verde: HV, própolis marrom: HM, própolis preta: HP), estão apresentados na Tabela 3.

Observa-se que o perfil de compostos fenólicos nos extratos de diferentes tipos de própolis e suas frações bioacessíveis, incorporados ou não ao hidrogel, diferem significativamente entre si. Isso evidencia que a disponibilidade dos compostos analisados, e consequentemente sua degradação, é influenciada pelo processo de digestão no trato gastrointestinal. Sendo assim, os compostos consumidos não necessariamente são os que efetivamente exercerão ação no organismo (Rodrigues *et al.*, 2022).

Vale ressaltar que as médias das concentrações referentes aos compostos identificados, foram comparadas apenas para o mesmo tipo de própolis, ou seja, o extrato bruto, com suas respectivas frações bioacessíveis, com e sem hidrogel.

De acordo com esses resultados (Tabela 3), os compostos que apresentaram uma maior concentração na fração bioacessível dos extratos incorporados ao hidrogel, quando comparada à fração bioacessível do extrato bruto, foram o ácido clorogênico e ácido cafeico, na própolis marrom, o ácido p-cumárico, que se manteve igual em termos de concentração na amostra BM e HM e o ácido ferúlico que manteve sua concentração na própolis verde (amostras HB e HM) e apareceu apenas nas amostras HM e HP.

Tabela 3 - Perfil de compostos fenólicos (mg.g⁻¹ de extrato) nos extratos de própolis verde, marrom e preta, antes e após o processo de digestão *in vitro*

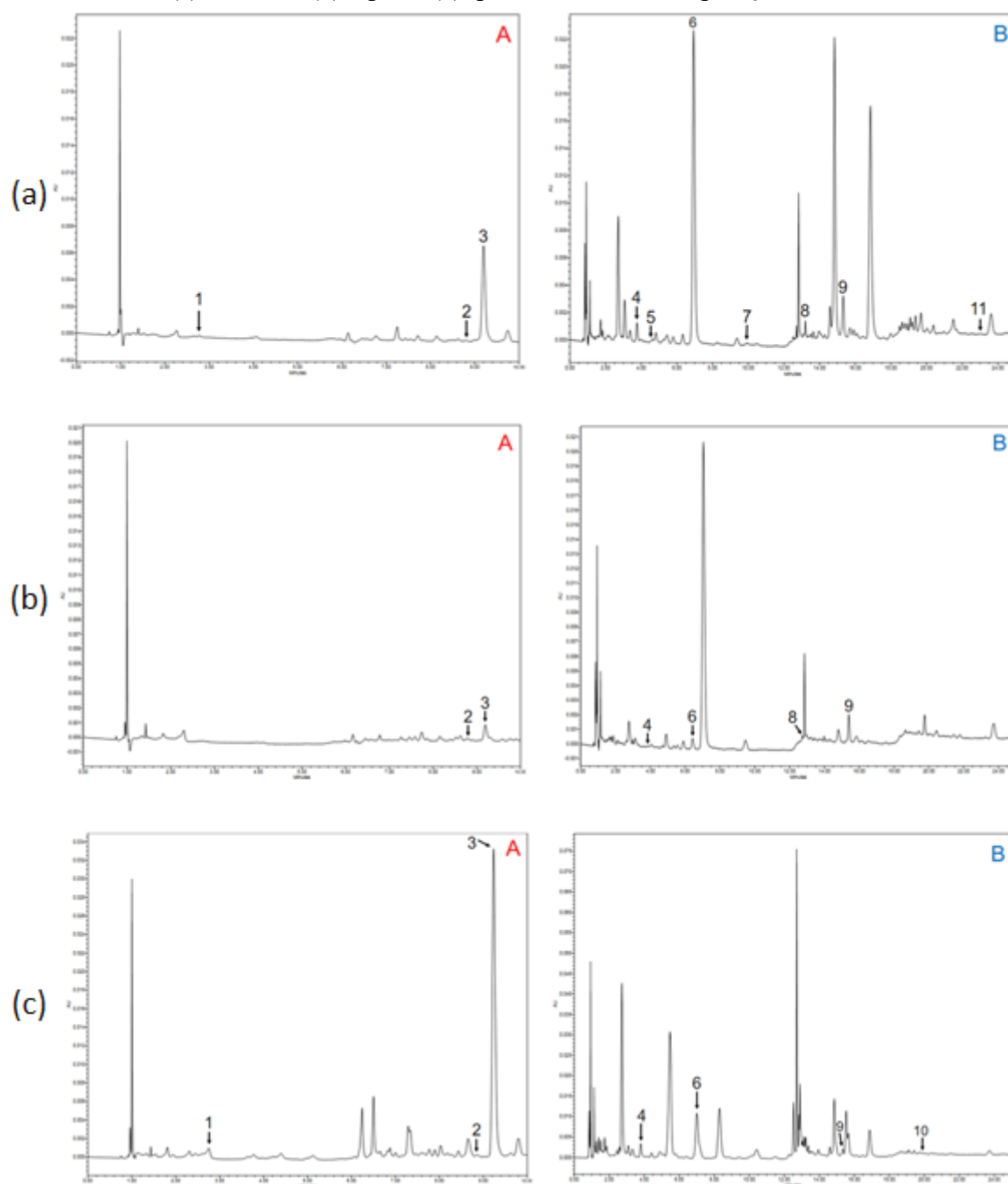
COMPOSTOS	VERDE			MARROM			PRETA		
	V	BV	HV	M	BM	HM	P	BP	HP
Ácido gálico λ (nm): 271 RT (min): 2,86	0,0017 ± 0,0000 a	ND	ND	ND	ND	ND	0,0019 ± 0,0001 a	ND	ND
Catequina λ (nm): 279 RT (min): 8,84	0,0028 ± 0,0000 a	ND	ND	0,0013 ± 0,0003 a	ND	ND	0,0010 ± 0,0003 a	ND	ND
Ácido clorogênico λ (nm): 325 RT (min): 9,20	0,2153 ± 0,0031 a	0,0108 ± 0,0013 B	0,0001 ± 0,0001 c	0,0270 ± 0,0005 a	ND	0,0006 ± 0,0001 b	0,1624 ± 0,0401 a	0,0109 ± 0,0003 b	0,0003 ± 0,0002 c
Ácido cafeico λ (nm): 322 RT (min): 3,77	0,0144 ± 0,0002 a	0,0031 ± 0,0006 B	ND	0,0003 ± 0,0000 a	ND	0,0001 ± 0,0000 b	0,0053 ± 0,0027 a	0,0008 ± 0,0001 b	ND
Epicatequina λ (nm): 277 RT (min): 4,55	0,0037 ± 0,0007 a	0,0018 ± 0,0003 B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido p-cumárico λ (nm): 309 RT (min): 6,95	0,3019 ± 0,0022 a	0,0183 ± 0,0036 B	0,0007 ± 0,0002 c	0,1022 ± 0,0022 a	0,0052 ± 0,0004 b	0,0024 ± 0,0002 b	0,0215 ± 0,0002 a	0,0034 ± 0,0002 b	0,0003 ± 0,0000 c
Ácido Ferúlico λ (nm): 322 RT (min): 9,93	0,0050 ± 0,0003 a	0,0003 ± 0,0001 B	0,0002 ± 0,0000 b	ND	ND	0,0002 ± 0,0000 a	ND	ND	0,0001 ± 0,0000 a
Rutina λ (nm): 354 RT (min): 12,98	0,0011 ± 0,0001 a	ND	ND	0,0003 ± 0,0000 a	ND	ND	ND	ND	ND
Miricetina λ (nm): 372 RT (min): 15,48	0,0020 ± 0,0001 a	ND	ND	0,0003 ± 0,0001 a	ND	ND	0,0005 ± 0,0001 a	ND	ND
Quercetina λ (nm): 372 RT (min): 19,85	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0007 ± 0,0005 a	ND	ND
Apigenina λ (nm): 338 RT (min): 23,1	0,0006 ± 0,0000 a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Campferol λ (nm): 366 RT (min): 23,91	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Legenda: V; M; P: extratos brutos de própolis verde, marrom e preta. BV; BM; BP: fração bioacessível dos extratos de própolis verde, marrom e preta. HV; HM; HP: fração bioacessível dos extratos de própolis verde, marrom e preta incorporados ao hidrogel. λ (nm): comprimento de onda; RT (min): tempo de retenção.

* Valor médio ± desvio padrão; n = 3. Letras iguais na mesma linha (mesmo tipo de própolis) não diferem significativamente entre si a 5%, pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Os perfis cromatográficos dos extratos brutos de própolis verde, marrom e preta, nos métodos A e B, estão representados na Figura 9 e os cromatogramas das frações bioacessíveis dos extratos brutos e incorporados aos hidrogéis, bem como dos padrões utilizados nos métodos A e B, encontram-se no Apêndice B deste trabalho.

Figura 9 - Cromatogramas dos fenólicos identificados nos extratos brutos de própolis verde (a), marrom (b) e preta (c), pelos métodos de separação A e B



Perfis cromatográficos dos extratos aquosos brutos de própolis verde (a), marrom (b) e preta (c). (Método A) 1: ácido gálico; 2: catequina e 3: ácido clorogênico. (Método B) 4: ácido cafeico; 5: epicatequina; 6: ácido p-cumárico; 7: ácido ferúlico; 8: rutina; 9: miricetina; 10: quercetina; 11: apigenina e 12: campferol.

Em relação ao perfil de fenólicos do extrato de própolis verde, conforme apresentado na Tabela 3 e na Figura 9 (a), os compostos fenólicos presentes no extrato bruto de própolis verde (V), foram ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, epicatequina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina, miricetina e apigenina.

Em estudo anterior realizado por Vieira *et al.* (2023a), que analisou o perfil químico do extrato aquoso de própolis verde, da mesma origem ao utilizado no presente estudo, os autores identificaram como possíveis compostos presentes no extrato analisado, ácido cafeico, apigenina, miricetina, ácido clorogênico e derivado do ácido ferúlico. Estes compostos fenólicos, além de terem sido também identificados, foram quantificados no presente estudo, no extrato aquoso de própolis verde.

Chen *et al.* (2019), estudaram o perfil de fenólicos da própolis verde brasileira, tendo quantificado o ácido cafeico ($0,86 \pm 0,08$ mg/g), ácido p-cumárico: ($11,28 \pm 0,79$ mg/g) e ácido ferúlico ($0,69 \pm 0,05$ mg/g), perfil semelhante ao encontrado no presente estudo.

Em outro estudo que também estudou a própolis verde brasileira, Osés *et al.* (2020) encontraram compostos como o ácido gálico ($0,3 \pm 0,0$ mg/g), ácido cafeico ($0,8 \pm 0,0$ mg/g), catequina ($20,8 \pm 0,1$ mg/g), ácido clorogênico ($0,2 \pm 0,0$ mg/g), ácido ferúlico ($0,4 \pm 0,0$ e $0,3 \pm 0,0$ mg/g). Já em estudo que avaliou o perfil de fenólicos em amostras de própolis de diferentes regiões do Brasil, Marcucci *et al.*, (2000) identificaram e quantificaram os compostos ácido cafeico (0,17 mg/g), ácido p-cumárico (0,15 mg/g) e ácido ferúlico (0,11 mg/g).

Dentre estes, o ácido clorogênico foi o que mais se aproximou em relação à sua concentração, ao resultado encontrado no presente estudo, que foi de $0,2153 \pm 0,0031$ mg/g e o ácido p-cumárico apresentou maior concentração ($0,3019 \pm 0,0022$ mg/g) no extrato de própolis verde avaliado.

O ácido clorogênico (ácido 5- O -cafeoilquínico) é um composto fenólico da família do ácido hidroxicinâmico. Este polifenol possui muitas propriedades promotoras da saúde, a maioria delas relacionadas ao tratamento da síndrome metabólica, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antilipidêmicas, antidiabéticas e anti-hipertensivas (Berretta *et al.*, 2023; Santana-Gálvez; Cisneros-Zevallos; Jacobo-Velázquez, 2017).

Já em relação ao ácido p-cumárico, este fenilpropanoide apresenta propriedades antioxidantes e antibacterianas. Além disso, ele tem como derivado, o artepillin C, que é um dos principais compostos fenólicos encontrados na própolis verde brasileira, agregando alto valor a este produto apícola. É um componente principal e único deste tipo de própolis, sendo responsável por várias propriedades benéficas à saúde, como efeitos antioxidantes, anti-

inflamatórios, antidiabéticos, neuroprotetores, gastroprotetores, imunomoduladores e anticancerígenos (Liu *et al.*, 2024; Vieira *et al.*, 2023a).

Sobre as frações bioacessíveis do extrato bruto de própolis verde (BV) e incorporado ao hidrogel (HV), é possível observar na Tabela 3, que para todos os compostos analisados, a concentração diminuiu ou zerou após o processo de digestão gastrointestinal *in vitro* e manteve-se igual estatisticamente, apenas a concentração de ácido ferúlico na amostra sem (BV) e com hidrogel (HV).

Esses resultados demonstram que o processo de digestão gastrointestinal interfere na disponibilidade dos compostos fenólicos, levando à degradação dos compostos analisados. A bioacessibilidade é a fração do composto que é liberada da matriz alimentar no TGI e então se torna disponível para absorção (Park; Mun; Kim, 2018).

O ácido ferúlico, quimicamente conhecido como ácido (2E)-3(4-hidroxi-3-metoxifenil) prop-2enoico, pertence aos derivados do ácido cinâmico. O ácido ferúlico, usado na medicina e na indústria farmacêutica, apresenta potencial no tratamento de doenças cardiovasculares, distúrbios neurológicos como Alzheimer e Parkinson, certos tipos de câncer, diabetes e doenças de pele (Shelar *et al.*, 2024).

A não identificação do ácido cinâmico no extrato de própolis verde antes do processo de digestão gastrointestinal *in vitro*, pode estar relacionada ao método de identificação proposto na presente pesquisa, tendo em vista que Vieira *et al.* (2023a) identificaram este como provável composto presente na própolis verde brasileira.

A presença do ácido ferúlico na fração bioacessível do extrato de própolis verde incorporado ao hidrogel, pode indicar que o hidrogel à base de amido de sorgo, protegeu o ácido cinâmico, indicativamente presente na amostra, durante o processo de digestão *in vitro*, visto que uma das funções essenciais de hidrogéis é baseada na retenção ou liberação de compostos bioativos (dos Santos *et al.*, 2023; Soares *et al.*, 2021).

Em relação ao perfil de fenólicos do extrato de própolis marrom, conforme apresentado na Tabela 3 e na Figura 9 (b), os compostos presentes no extrato bruto de própolis marrom (M), foram catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, rutina e miricetina.

Em estudo que traçou o perfil químico de extrato de própolis marrom, utilizando o mesmo tipo de própolis e mesma origem do avaliado no presente estudo, Vieira *et al.* (2023a) identificaram como possíveis compostos presentes no extrato aquoso de própolis marrom, os compostos fenólicos ácido clorogênico e ácido cafeico, também identificados no presente estudo.

Andrade *et al.*, (2017), avaliaram o perfil de fenólicos da própolis marrom brasileira, relataram a identificação e quantificação por UPLC dos compostos ácido cafeico ($0,01 \pm 0,00$ mg/g), ácido clorogênico ($1,76 \pm 0,03$ mg/g), catequina ($0,01 \pm 0,00$ mg/g mg/g), ácido p-cumárico ($2,64 \pm 0,22$ mg/g), rutina ($0,13 \pm 0,02$ mg/g) e ácido ferúlico ($0,06 \pm 0,00$ mg/g). Este perfil foi semelhante ao encontrado no presente estudo. Assim como descrito no extrato de própolis marrom avaliado, esses autores também relataram maiores concentrações para ácido clorogênico e ácido p-cumárico.

Em relação às frações bioacessíveis do extrato bruto de própolis marrom (BM) e incorporado ao hidrogel (HM), as concentrações de ácido clorogênico e ácido cafeico foram maiores na amostra com, enquanto que sem o hidrogel (BM), essas concentrações foram não detectáveis (ND). Esses resultados demonstram que o hidrogel foi eficaz na proteção desses compostos, durante o processo de digestão *in vitro*.

O ácido clorogênico é um ácido polifenólico natural da família do ácido hidroxicinâmico e atua como agente antioxidante, hepatoprotetor, cardioprotetor e neuroprotetor. Além disso, ele apresenta atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antivirais e anti-hipertensivas (Singh *et al.*, 2023).

Sobre o ácido cafeico, é um fenilpropanoide com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Tem o efeito de proteger os cardiomiócitos de danos oxidativos e seu mecanismo de ação está relacionado à proteção de enzimas antioxidantes, inibindo a peroxidação lipídica, reduzindo o Ca^{2+} e promovendo a apoptose (Cui *et al.*, 2022).

Ao que concerne às concentrações de ácido ferúlico na fração bioacessível do extrato de própolis marrom, com hidrogel (HM), essa concentração foi maior, quando comparada à fração bioacessível do extrato bruto (BM), que foi “não detectável” (ND), como apresentado na Tabela 3, assim como ocorreu na fração bioacessível da própolis verde com hidrogel, podendo estar relacionado ao mesmo mecanismo de ação apresentado.

Quanto ao perfil de fenólicos do extrato de própolis preta, conforme apresentado na Tabela 3 e na Figura 9 (c), os compostos presentes no extrato bruto de própolis preta (P), foram ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, miricetina e quercetina.

Perfil de fenólicos semelhante foi relatado por Guzelmeric *et al.* (2023), em amostras de própolis preta de diferentes regiões da Turquia, no qual foram identificados e quantificados os compostos ácido cafeico ($8,25 \pm 0,57$ e $5,22 \pm 0,36$ mg/g), ácido ferúlico ($0,40 \pm 0,07$ mg/g), ácido p-cumárico ($2,70 \pm 0,48$ e $5,40 \pm 0,10$ mg/g) e quercetina.

Em outro estudo, desenvolvido por Ristivojević *et al.*, (2020), os autores avaliaram o perfil de fenólicos da própolis preta, destacando-se ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, ácido cafeico, rutina, ácido p-cumárico, quercetina e ácido ferúlico, corroborando os dados do presente estudo.

Em relação às frações bioacessíveis do extrato de própolis preta sem (BP) e com hidrogel (HP), de acordo com a Tabela 3, foi possível observar que apenas o ácido ferúlico se mostrou presente em maior concentração na amostra HP, sendo que foi “não detectável” (ND), tanto nas amostras P e BP.

Esse resultado pode ser justificado, assim como ocorreu para as amostras HV e HM, visto que o ácido cinâmico foi identificado como possível composto presente na própolis preta em ou estudo (Vieira *et al.*, 2023a). Devido ao ácido ferúlico ser um derivado desse composto, sugere-se que, após a ação enzimática durante o processo de digestão gastrointestinal, ocorreu uma possível proteção desse composto, pelo hidrogel (Shelar *et al.*, 2024).

Existem poucos estudos na literatura que caracterizem o perfil de fenólicos da própolis preta, principalmente a brasileira. Devido a isso, o presente trabalho torna-se ainda mais relevante por trazer essa contribuição científica.

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários, produzidos por plantas, sendo os principais componentes responsáveis pela propriedade funcional da própolis, como atividades antioxidantes, antiinflamatórias, antitumorais, antibacterianas, antivirais, antifúngicas, antiparasitárias, analgésicas, anti diabéticas, antiaterogênicas, antiproliferativas, bem como cardio e neuroprotetoras (Andrade *et al.*, 2017; Becerra-Herrera *et al.*, 2018; Mihaylova; Dimitrova-Dimova; Popova, 2024).

Apesar das semelhanças em relação ao perfil de fenólicos relatados no presente estudo, para os três tipos de própolis analisados e aos encontrados na literatura, diferenças diversas foram encontradas, principalmente em relação à concentração desses compostos presentes em diferentes tipos de própolis.

Essas diferenças podem ser explicadas pela influência exercida pela fonte botânica de coleta das abelhas, região de origem da própolis, sazonalidade e método de extração dos polifenóis presentes na resina. Dependendo do tipo de própolis, sua composição química difere, o que pode resultar em diferenças na concentração de compostos fenólicos (Guzelmeric *et al.*, 2021).

A maioria dos estudos aqui apresentados, utilizaram o etanol como solvente de extração dos compostos fenólicos presentes na própolis, que é o solvente mais eficaz para este objetivo. No entanto, no presente estudo, foi utilizada a água como solvente, devido à toxicidade do

metanol e à necessidade de uma etapa adicional de evaporação rotativa para o extrato alcoólico. Isso reduz o número de etapas no processo de extração, além do fato de que o extrato aquoso é o mais adequado para ingestão, visto que a aplicação pretendida neste estudo, foi a incorporação dos extratos em um hidrogel, para fins alimentícios.

Em relação à bioacessibilidade dos extratos de própolis verde, marrom e preta, incorporados ao hidrogel de amido de sorgo, quitosana e ácido cítrico, apesar de ter sido reduzida, houve a proteção de alguns polifenóis presentes nos três tipos de própolis, exercida pelo hidrogel. Esses resultados podem estar associados à complexidade da própolis, que é uma matriz rica em substâncias bioativas diversas.

Isso demonstra que, essa proteção menor exercida pelo hidrogel desenvolvido no presente estudo, pode estar mais associada à complexidade da própolis, do que ao hidrogel, visto que em estudos que avaliaram o efeito de hidrogéis de amido na proteção e liberação controlada de compostos bioativos isolados, foram obtidos resultados satisfatórios, como para o ácido fumárico (Doosti *et al.*, 2019), beta-caroteno (Gómez-Mascaraque *et al.*, 2017; Mun *et al.*, 2016; Mun; Kim; McClements, 2015) e curcumina (Kang *et al.*, 2021), comprovando o potencial do uso de hidrogéis para essa finalidade (Vieira, *et al.*, 2023b).

CONCLUSÃO

As amostras de própolis verde, marrom e preta, originárias de Bambuí, Minas Gérias, demonstraram serem fontes importantes de polifenóis, destacando-se os ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, epicatequina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina, miricetina e apigenina, na própolis verde, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, rutina e miricetina, na própolis marrom e ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, miricetina e quercetina, na própolis preta.

O hidrogel desenvolvido no presente estudo, demonstrou ser uma matriz promissora para a incorporação dos extratos dos três tipos de própolis, demonstrando baixas taxas de sinérese e elevada retenção de água. Estes resultados puderam ser observados pela análise morfológica das amostras de hidrogel que demonstrou a eficiência da retenção dos extratos na rede tridimensional do hidrogel. Além disto, o hidrogel incorporado com os extratos de própolis apresentaram-se como géis firmes, coesos, com boa integridade e alta resistência

Em relação à bioacessibilidade dos extratos dos três diferentes tipos de própolis incorporados ao hidrogel, observou-se a proteção de alguns polifenóis, como ácido ferúlico, ácido cafeico e ácido clorogênico, proporcionada pelo hidrogel. No entanto, são necessários mais estudos para que essa proteção se torne mais efetiva. Esses resultados demonstram o potencial dessa matriz polimérica desenvolvida e avaliada no presente estudo para ser utilizada na incorporação de produtos fontes de substâncias bioativas.

REFERÊNCIAS

- AKO, K. Influence of elasticity on the syneresis properties of κ -carrageenan gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 408–414, 22 jan. 2015.
- ALAVI, F. *et al.* Cold gelation of curcumin loaded whey protein aggregates mixed with κ -carrageenan: Impact of gel microstructure on the gastrointestinal fate of curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 85, p. 267–280, 2018.
- ANDRADE, J. K. S. *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 2017.
- ARRUDA, C. *et al.* Effect of light, oxygen and temperature on the stability of artemisinic acid and p-coumaric acid from Brazilian green propolis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 178, 30 jan. 2020.
- BARBOSA, V. M. **Caracterização nutricional e ensaio fitoquímico de propolis de *Scaptotrigona bipunctata*, (LEPELETIER, 1836)**. Dissertação (Mestrado em Alimentação e Nutrição) – Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 77. 2017.
- BIDUSKI, B. **Desenvolvimento de hidrogéis bioativos de amido de arroz com óleo essencial de alecrim**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, p. 117. 2018.
- BECERRA-HERRERA, M. *et al.* Characterization and evaluation of phenolic profiles and color as potential discriminating features among Spanish extra virgin olive oils with protected designation of origin. **Food Chemistry**, v. 241, p. 328–337, 15 fev. 2018.
- BERRETTA, A. A. *et al.* 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, 16 abr. 2023.
- BIDUSKI, B. *et al.* Starch hydrogels: The influence of the amylose content and gelatinization method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 443–449, 2018.
- BLIGHT, E.G. *et al.* A Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemical Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.
- BOUCHELACHEM, S. Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 1936–1946, abr. 2022.
- BRODKORB, A. *et al.* INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019.
- BURAKOWSKI, A.; GLIŃSKI, J. Hydration numbers of nonelectrolytes from acoustic methods. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 4, p. 2059–2081, 11 abr. 2012.
- ÇELEKLI, A.; AKHRAS, N.; BOZKURT, H. Improving antimicrobial activity of brown propolis with incorporation of *Arthrospira platensis*. **Food and Humanity**, v. 2, p. 100191, maio 2024.

CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 3, p. 572–584, 4 mar. 2015.

CHANG, C. *et al.* Superabsorbent hydrogels based on cellulose for smart swelling and controllable delivery. **European Polymer Journal**, v. 46, n. 1, p. 92–100, 1 jan. 2010.

CHEN, L. *et al.* Determination of phenolic compounds in Chinese poplar propolis, Brazil green propolis, and poplar gum by high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and preliminary study of the identification of adulteration. **Chinese Journal of Chromatography**, v. 37, n. 1, p. 40, 2019.

CHEN, L.; OPARA, U. L. Texture measurement approaches in fresh and processed foods - A review. **Food Research International**, v. 51, n. 2, maio 2013.

COSTA, R. A. S. *et al.* Improvement of texture properties and syneresis of arrowroot (*Maranta arundinacea*) starch gels by using hydrocolloids (guar gum and xanthan gum). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 100, n. 7, p. 3204–3211, 2020.

CUI, C. *et al.* Recent advances in the preparation, characterization, and food application of starch-based hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 291, p. 119624, 1 set. 2022.

CUI, J. *et al.* Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. **Fitoterapia**, v. 157, p. 105106, 2022.

DAHAL, P.; JANASWAMY, S. Hydrocolloid-based nutraceutical delivery systems: Potential of κ -carrageenan hydrogel beads for sustained release of curcumin. **Food Research International**, [s. l.], v. 183, p. 114223, 2024.

DAS, A.; MITRA, R. K. Does the Optimum Hydrophilic Lipophilic Balance Condition Affect the Physical Properties of Mixed Reverse Micelles? A Spectroscopic Investigation. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 118, n. 20, p. 5488–5498, 2014.

DE CARVALHO, A. P. A. *et al.* *Sorghum* starch: Extraction, characterization and film development. **Materials Today Communications**, [s. l.], v. 39, p. 109020, 2024.

DE LIMA, G. G. *et al.* Extraction Method Plays Critical Role in Antibacterial Activity of Propolis-Loaded Hydrogels. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 3, p. 1248–1257, 1 mar. 2016.

DEMOGURSKI, D. S.O. *et al.* Brown propolis-metabolomic innovative approach to determine compounds capable of killing *Staphylococcus aureus* biofilm and *Trichomonas vaginalis*. **Food Research International**, v. 111, p. 661–673, 1 set. 2018.

DOOSTI, M. *et al.* Enhancing quercetin bioavailability by super paramagnetic starch-based hydrogel grafted with fumaric acid: An *in vitro* and *in vivo* study. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 183, p. 110487, nov. 2019.

DOS SANTOS, J. S. *et al.* Hydrogel properties of non-conventional starches from guabiju, pinhão, and uvaia seeds. **Food Research International**, v. 173, p. 113243, 2023.

FELIX ÁVILA, P. *et al.* *Annona crassiflora* suppresses colonic carcinogenesis through its antioxidant effects, bioactive amines, and phenol content in rats. **Food Research International**, v. 175, p. 113666, 2024.

FERREIRA-VILLADIEGO, J. *et al.* Chemical modification and characterization of starch derived from plantain (*Musa paradisiaca*) peel waste, as a source of biodegradable material. **Chemical Engineering Transactions**, [s. l.], v. 65, p. 763–768, 2018.

FRANCHIN, M. *et al.* Food-grade delivery systems of Brazilian propolis from *Apis mellifera*: From chemical composition to bioactivities *in vivo*. **Food Chemistry**, v. 432, 30 jan. 2024.

GARCIA, P. S. *et al.* Citric acid as multifunctional agent in blowing films of starch/PBAT. **Química Nova**, [s. l.], v. 34, n. 9, p. 1507–1510, 2011.

GOMES SÁ, S. H. *et al.* 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, 1 fev. 2023.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G. *et al.* Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of β -carotene. **Food Hydrocolloids**, v. 73, p. 1–12, 1 dez. 2017.

GUZELMERIC, E. *et al.* Comparison of antioxidant and anti-inflammatory activity profiles of various chemically characterized Turkish propolis sub-types: Which propolis type is a promising source for pharmaceutical product development? **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 203, p. 114196, 2021.

GUZELMERIC, E. *et al.* Comprehensive estrogenic/anti-estrogenic, anticancer, mutagenic/anti-mutagenic, and genotoxic/anti-genotoxic activity studies on chemically characterized black poplar and Eurasian aspen propolis types. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 226, 20 mar. 2023.

HABRYKA, C.; SOCHA, R.; JUSZCZAK, L. The Effect of Enriching Honey with Propolis on the Antioxidant Activity, Sensory Characteristics, and Quality Parameters. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 1176, 2020.

HIRASHIMA, M.; TAKAHASHI, R.; NISHINARI, K. The gelatinization and retrogradation of cornstarch gels in the presence of citric acid. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 2, p. 390–393, 1 jun. 2012.

HURLER, J. *et al.* Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, n. 1, p. 180–188, 5 jul. 2012.

ISHAQ, M. I. *et al.* *Sorghum* starch review: Structural properties, interactions with proteins and polyphenols, and modification of physicochemical properties. **Food Chemistry**, p. 139810, maio 2024.

KAMBOJ, S.; RANA, V. Physicochemical, rheological and antioxidant potential of corn fiber gum. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 1–9, 2014.

- KANG, J. *et al.* Improving the Stability and Curcumin Retention Rate of Curcumin-Loaded Filled Hydrogel Prepared Using 4 α GTase-Treated Rice Starch. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 1, jan. 2021.
- KISHORE, A. *et al.* Jicama (*Pachyrhizus* spp.) a nonconventional starch: A review on isolation, composition, structure, properties, modifications and its application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 258, p. 129095, fev. 2024.
- LARREA-WACHTENDORFF, D.; SOUSA, I.; FERRARI, G. Starch-Based Hydrogels Produced by High-Pressure Processing (HPP): Effect of the Starch Source and Processing Time. **Food Engineering Reviews**, 11 nov. 2020.
- LI, J. *et al.* Freeze-thaw stability of konjac glucomannan hydrogels supplemented with natural tapioca/corn starch. **LWT**, v. 182, p. 114841, 2023.
- LIN, Q. Determination of starch content in potato powder by differential thermal analysis. **Chemical Engineering Transactions**, [s. l.], v. 55, p. 235–240, 2016.
- LIU, X. *et al.* A transparent p-coumaric acid-grafted-chitosan coating with antimicrobial, antioxidant and antifogging properties for fruit packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 339, 1 set. 2024.
- LIU, Y. *et al.* The influence of natural deep eutectic solvents on bioactive natural products: studying interactions between a hydrogel model and *Schisandra chinensis* metabolites. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 127, p. 212–219, 2018.
- MACHADO, B. A. S. *et al.* Determination of Parameters for the Supercritical Extraction of Antioxidant Compounds from Green Propolis Using Carbon Dioxide and Ethanol as Co-Solvent. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. e0134489, 2015.
- MAHAJAN, P.; BERA, M. B.; PANESAR, P. S. Modification of Kutki millet (*Panicum sumatrense*) starch properties by the addition of amino acids for the preparation of hydrogels and its characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 9–18, 30 nov. 2021.
- MANIGLIA, B. C. *et al.* Dry heating treatment: A potential tool to improve the wheat starch properties for 3D food printing application. **Food Research International**, v. 137, 1 nov. 2020.
- MARCUCCI, M. C. *et al.* Evaluation of Phenolic Compounds in Brazilian Propolis from Different Geographic Regions. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 55, n. 1–2, p. 76–81, 1 fev. 2000.
- MARTINS, A. J. *et al.* Hybrid gels: Influence of oleogel/hydrogel ratio on rheological and textural properties. **Food Research International**, v. 116, p. 1298–1305, 1 fev. 2019.
- MEDHA *et al.* Design and evaluation of fluorescent chitosan-starch hydrogel for drug delivery and sensing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 274, 2024.
- MENG, R. *et al.* Preparation, characterization, and encapsulation capability of the hydrogel cross-linked by esterified tapioca starch. **International journal of biological macromolecules**, v. 155, p. 1–5, jul. 2020.

MIHAYLOVA, D.; DIMITROVA-DIMOVA, M.; POPOVA, A. Dietary Phenolic Compounds—Wellbeing and Perspective Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 9, p. 4769, 2024.

MINEKUS, M. *et al.* A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. **Food and Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

MOUSAVI, S. *et al.* Comparative study of collagen and gelatin in chitosan-based hydrogels for effective wound dressing: Physical properties and fibroblastic cell behavior. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 518, n. 4, p. 625–631, 22 out. 2019.

MUN, S. *et al.* Influence of methylcellulose on attributes of β -carotene fortified starch-based filled hydrogels: Optical, rheological, structural, digestibility, and bioaccessibility properties. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, v. 87, p. 18–24, set. 2016.

MUN, S.; KIM, Y.-R.; MCCLEMENTS, D. J. Control of β -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. **Food chemistry**, v. 173, p. 454–461, abr. 2015.

NUNES, D. D. G. **Composição química e atividade biológica antimicrobiana e leishmanicida de extratos de própolis obtidos pelo método convencional ou por extração supercrítica**. Dissertação (Mestrado em Patologia humana) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, p. 79. 2019.

OSÉS, S. M. *et al.* Phenolic profile, antioxidant capacities and enzymatic inhibitory activities of propolis from different geographical areas: Needs for analytical harmonization. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, 1 jan. 2020.

OZDAL, T. *et al.* Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. **Food Research International**, v. 122, p. 528–536, 1 ago. 2019.

PANJA, S.; DIETRICH, B.; ADAMS, D. J. Controlling Syneresis of Hydrogels Using Organic Salts. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 61, n. 4, 21 jan. 2022.

PANT, K. *et al.* Impact of biodiversification on propolis composition, functionality, and application in foods as natural preservative: A review. **Food Control**, [s. l.], v. 155, p. 110097, 2024.

PARK, S.; MUN, S.; KIM, Y.-R. Effect of xanthan gum on lipid digestion and bioaccessibility of β -carotene-loaded rice starch-based filled hydrogels. **Food research international (Ottawa, Ont.)**, v. 105, p. 440–445, mar. 2018.

PU, Y. *et al.* Advances in propolis and propolis functionalized coatings and films for fruits and vegetables preservation. **Food Chemistry**, v. 414, p. 135–662, jul. 2023.

QUEIROGA, M. C. *et al.* Antimicrobial, Antibiofilm and Toxicological Assessment of Propolis. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, 1 fev. 2023.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian Brown Propolis: an Overview About Its Chemical Composition, Botanical Sources, Quality Control, and Pharmacological Properties. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 33, 2, p. 288–299, 2023.

RISTIVOJEVIĆ, P. *et al.* Phenolic composition and biological activities of geographically different type of propolis and black cottonwood resins against oral streptococci, vaginal microbiota and phytopathogenic *Fusarium* species. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 2, p. 296–310, 1 ago. 2020.

RODRIGUES, D. B. *et al.* Trust your gut: Bioavailability and bioaccessibility of dietary compounds. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 228–233, 2022.

SANTANA-GÁLVEZ, J.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. Chlorogenic Acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. **Molecules**, v. 22, n. 3, 2017.

SHELAR, O. A. *et al.* Development of simple stability indicating RP-HPLC method to estimate ferulic acid in niosomes and marketed products using quality by design approach. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 101, n. 10, 1 out. 2024.

SHROTI, G. K.; SAINI, C. S. Development of edible films from protein of brewer's spent grain: Effect of pH and protein concentration on physical, mechanical and barrier properties of films. **Applied Food Research**, v. 2, n. 1, p. 100043, jun. 2022.

SINGH, S. K. *et al.* Exploring the multifaceted potential of chlorogenic acid: Journey from nutraceutical to nanomedicine. **South African Journal of Botany**, v. 159, p. 658–677, ago. 2023.

SOARES, L. DE S. *et al.* Mixed starch/chitosan hydrogels: elastic properties as modelled through simulated annealing algorithm and their ability to strongly reduce yellow sunset (INS 110) release. **Carbohydrate polymers**, v. 255, p. 117526, mar. 2021.

SUBBIAH, B.; BLANK, U. K. M.; MORISON, K. R. A review, analysis and extension of water activity data of sugars and model honey solutions. **Food Chemistry**, v. 326, 1 out. 2020.

SUN, S. *et al.* The effect of water activity on thermal resistance of *Salmonella* in chocolate products with different fat contents. **Food Control**, v. 162, p. 110443, 1 ago. 2024.

ŠURAN, J. *et al.* Propolis extract and its bioactive compounds—from traditional to modern extraction technologies. **Molecules**, v. 26, n. 10, p. 2930, 2021.

TAVARES, L. *et al.* Propolis: Encapsulation and application in the food and pharmaceutical industries. **Trends in Food Science and Technology**, v. 127, p. 169–180, 2022.

TOVAR, J. *et al.* Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 455–459, 2002.

VAN BALEN, G. P. *et al.* Liposome/water lipophilicity: Methods, information content, and pharmaceutical applications. **Medicinal Research Reviews**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 299–324, 2004.

VIEIRA, A. L. S. *et al.* Caracterização do amido isolado de diferentes cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 24704–24718, 2020.

VIEIRA, A. L. S. *et al.* Evaluation of the Chemical Profile and Antioxidant Capacity of Green, Brown, and Dark Propolis. **Plants**, v. 12, n. 18, p. 3204, 8 set. 2023a.

VIEIRA, A. L. S. *et al.* Starch-based hydrogels: current status and applications in food. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 11, p. 28707–28727, 29 nov. 2023b.

WANG, Y. *et al.* Impact of pH on pea protein–hydroxypropyl starch hydrogel based on interpenetrating network and its application in 3D-printing. **Food Research International**, v. 170, 1 ago. 2023.

WU, B. *et al.* pH-dependent microbial niches succession and antibiotic resistance genes distribution in an oxygen-based membrane biofilm reactor treating greywater. **Environmental Research**, v. 216, p. 114725, 1 jan. 2023a.

WU, Q. *et al.* Spatially heterogenous dynamics in colloidal gels during syneresis. **Soft Matter**, v. 19, n. 28, p. 5336–5344, 29 jun. 2023b.

WU, W. *et al.* Effect of temperature and inorganic salts concentration on syneresis rate of AM/DAC hydrogel. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 641, p. 128561, 20 maio 2022.

YAN, J. *et al.* Double-network hydrogels of corn fiber gum and soy protein isolate: Effect of biopolymer constituents and pH values on textural properties and microstructures. **Foods**, v. 10, n. 2, 1 fev. 2021.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O amido de sorgo demonstrou ser uma matéria-prima promissora para o desenvolvimento de hidrogéis, especialmente quando combinado com quitosana e ácido cítrico, resultando em géis homogêneos, lisos, brilhantes e com elevada capacidade de absorção e retenção de água. A elaboração de hidrogéis fisicamente reticulados, à base de amido de sorgo, sem o uso de reagentes químicos, destaca-se por sua sustentabilidade e pela utilização de uma fonte não convencional de amido, promovendo avanços ecológicos e científicos.

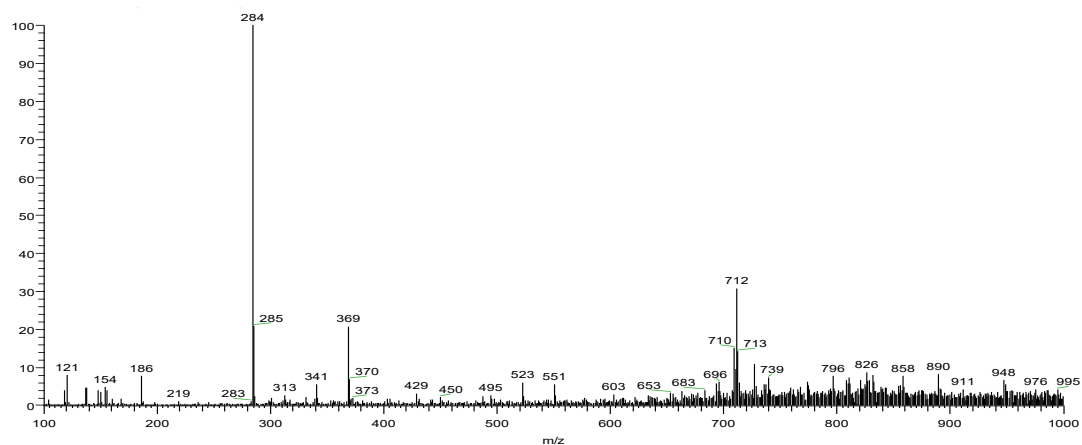
A incorporação dos extratos de própolis verde, marrom e preta ao hidrogel resultou em géis firmes, coesos, com baixa sinérese e alta resistência, demonstrando a eficiência da matriz para a retenção e proteção de substâncias bioativas. Os extratos de própolis, especialmente o verde, evidenciaram uma capacidade antioxidante significativa e alto teor de polifenóis, reforçando a importância do estudo químico da própolis para o desenvolvimento de produtos.

Embora o hidrogel tenha mostrado potencial para proteger polifenóis como ácido ferúlico, ácido cafeico e ácido clorogênico, são necessários mais estudos que possam melhorar essa proteção, incluindo outras fontes de substâncias bioativas e outros métodos de incorporação dessas substâncias. Em suma, o hidrogel desenvolvido neste estudo representa uma matriz polimérica promissora para a incorporação de extratos ricos em substâncias bioativas, contribuindo para o avanço no uso sustentável e eficaz de recursos naturais como o amido de sorgo e a própolis.

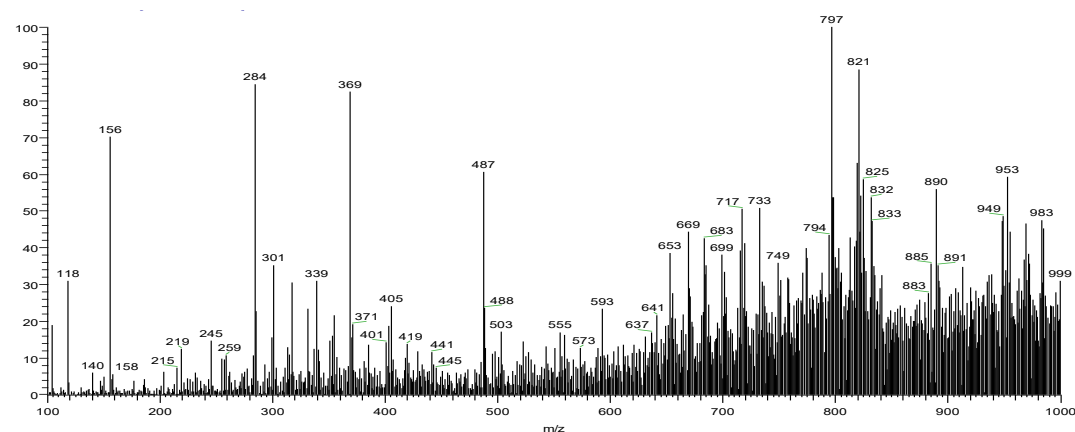
APÊNDICES

APÊNDICE A - Representação dos espectros de massas por Paper nos modos positivo e negativo dos extratos aquosos de própolis verde, marrom e preta

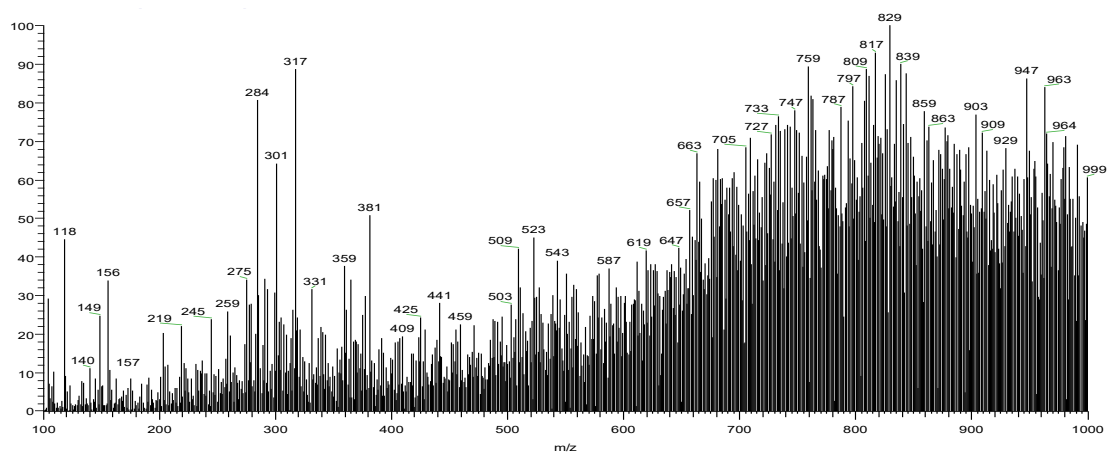
A.1 PS(+)-MS do extrato aquoso da própolis preta



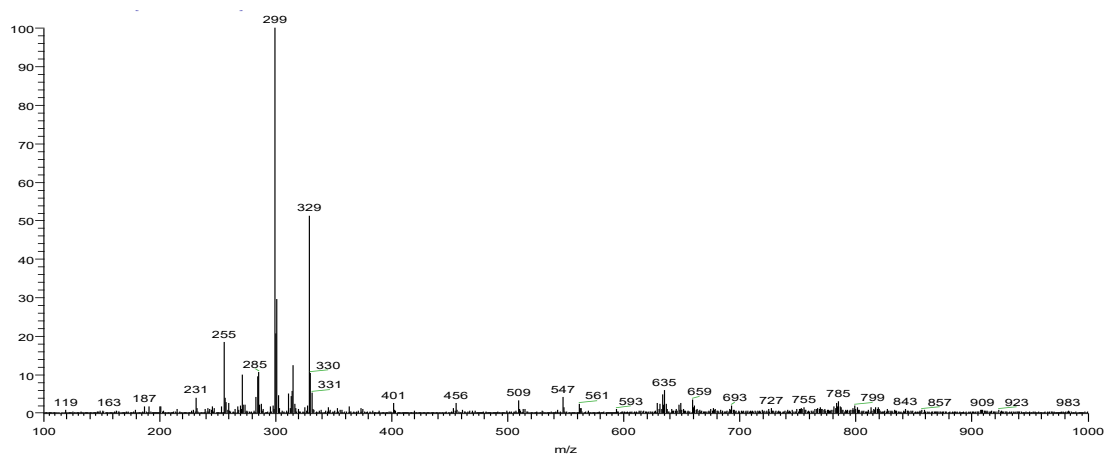
A.2 PS(+)-MS do extrato aquoso da própolis verde



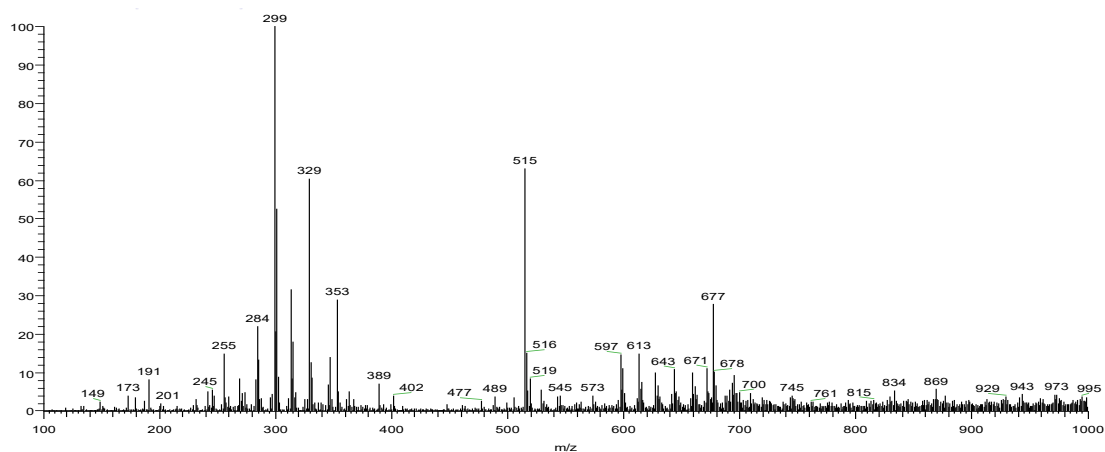
A.3 PS(+)-MS do extrato aquoso da própolis marrom



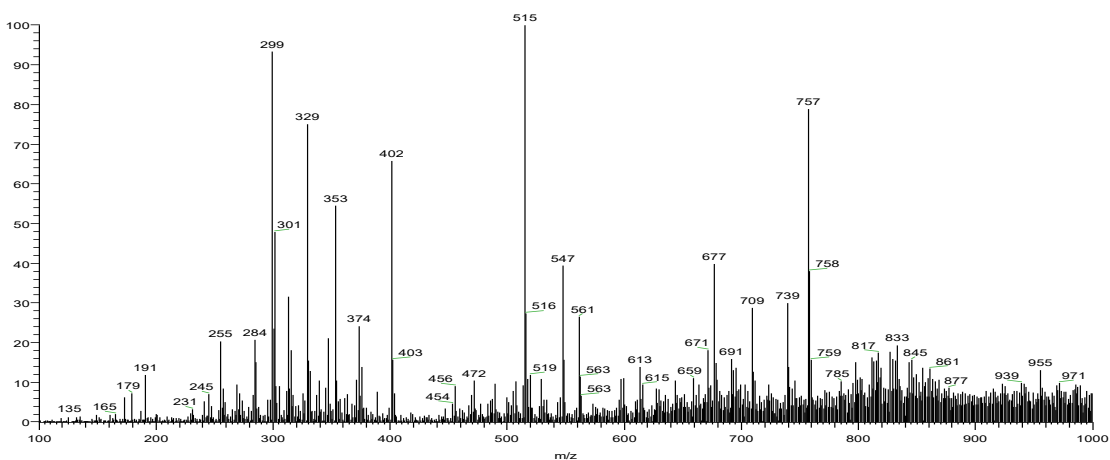
A.4 PS(-)MS do extrato aquoso da própolis preta



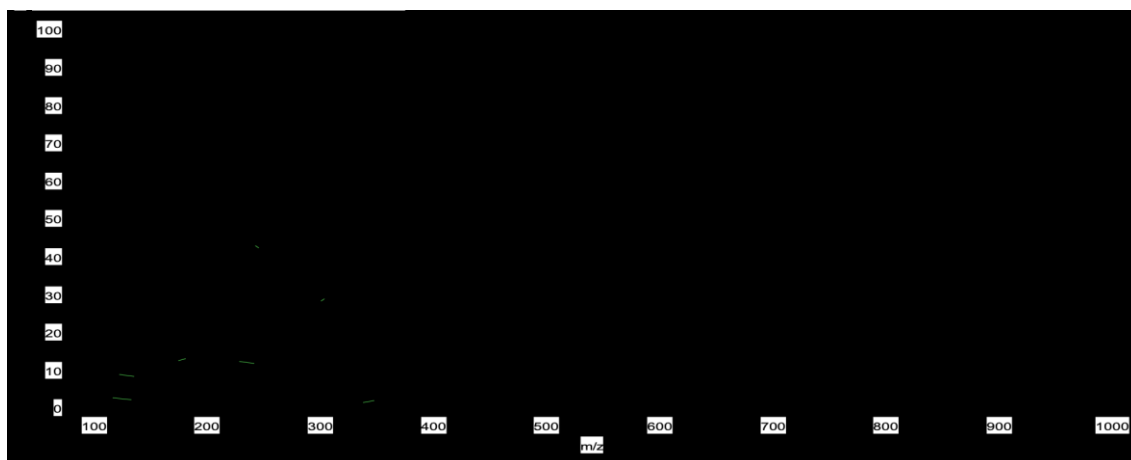
A.5 PS(-)MS do extrato aquoso da própolis verde



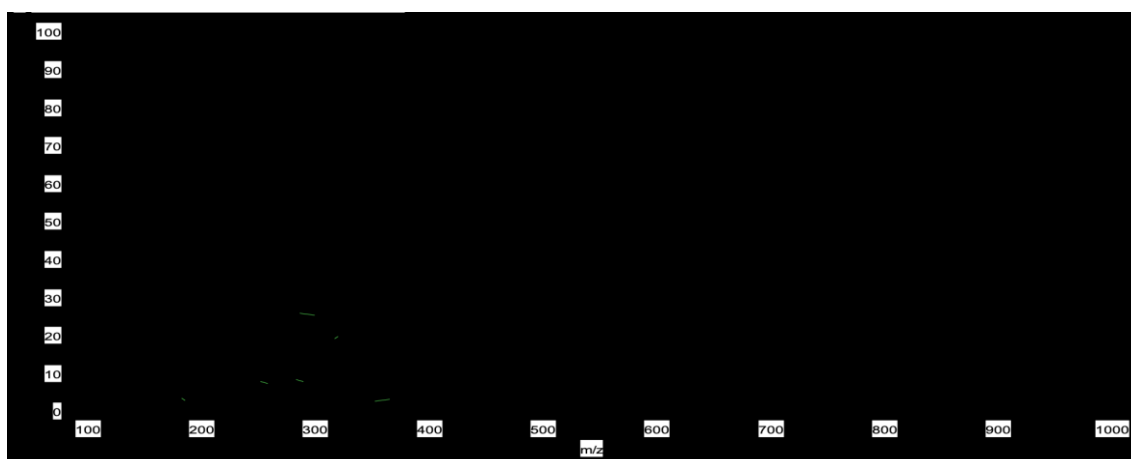
A.6 PS(-)MS do extrato aquoso da própolis marrom



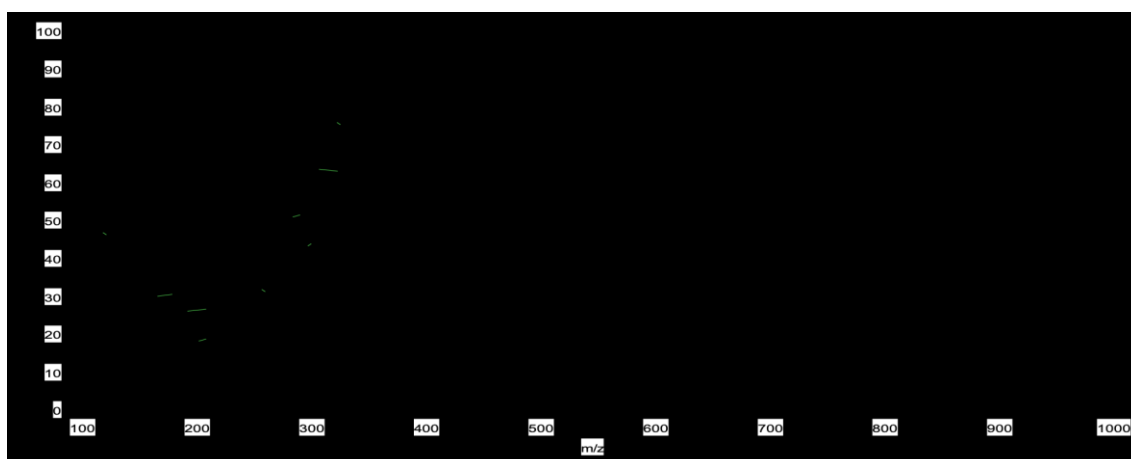
A.7 Espectro de massa de íons do produto (MS / MS) do íon de m/z 301 (atribuído como Artepillin C protonado)



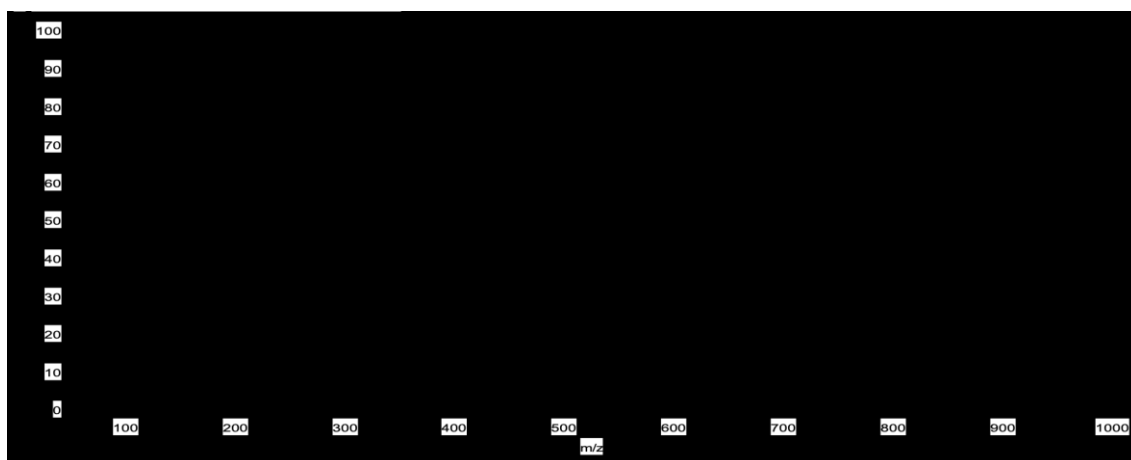
A.8 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 317 (atribuído como ácido 7-hidroxidesidroabiético prototonado)



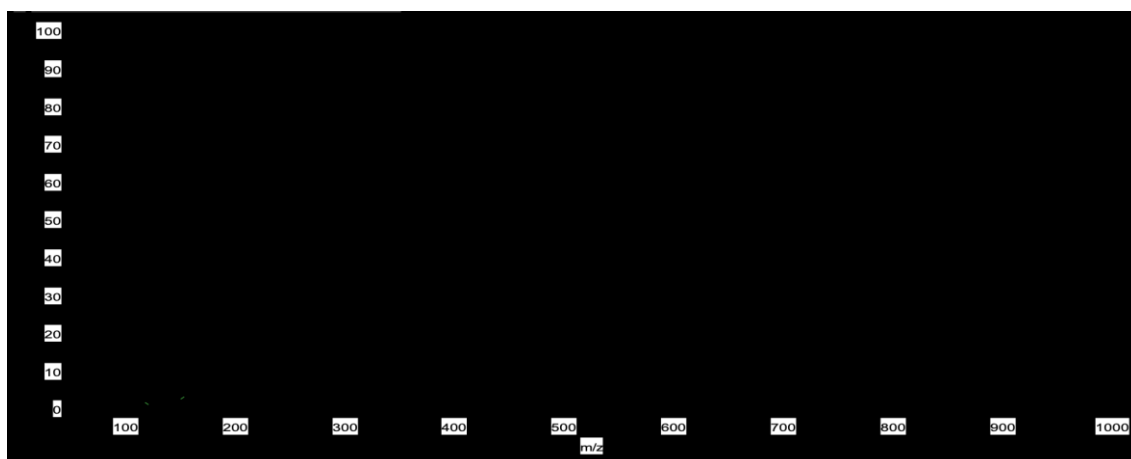
A.9 Espectro de massa de íons de produto (MS/MS) do íon de m/z 340 (atribuído como Lobelanidina protonada)



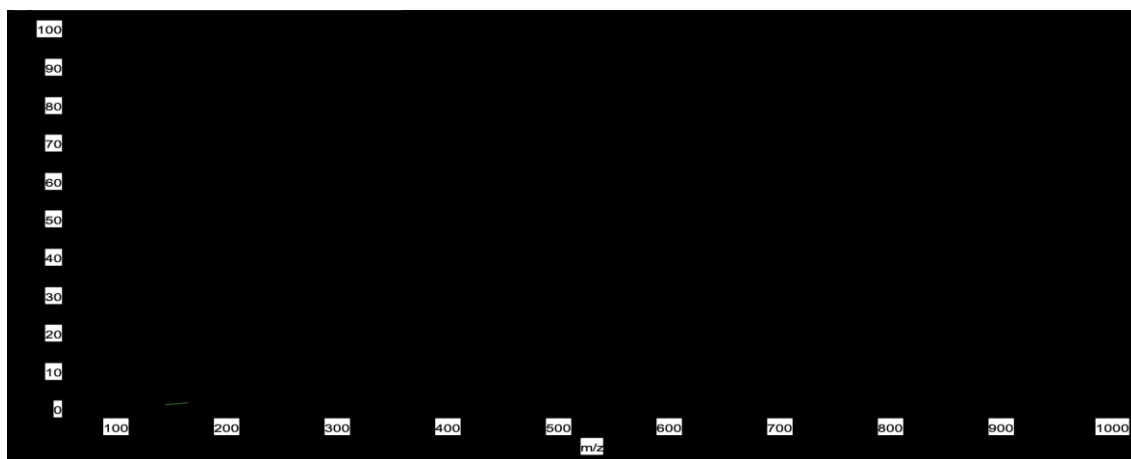
A.10 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 163 (atribuído como p-ácido cumárico desprotonado)



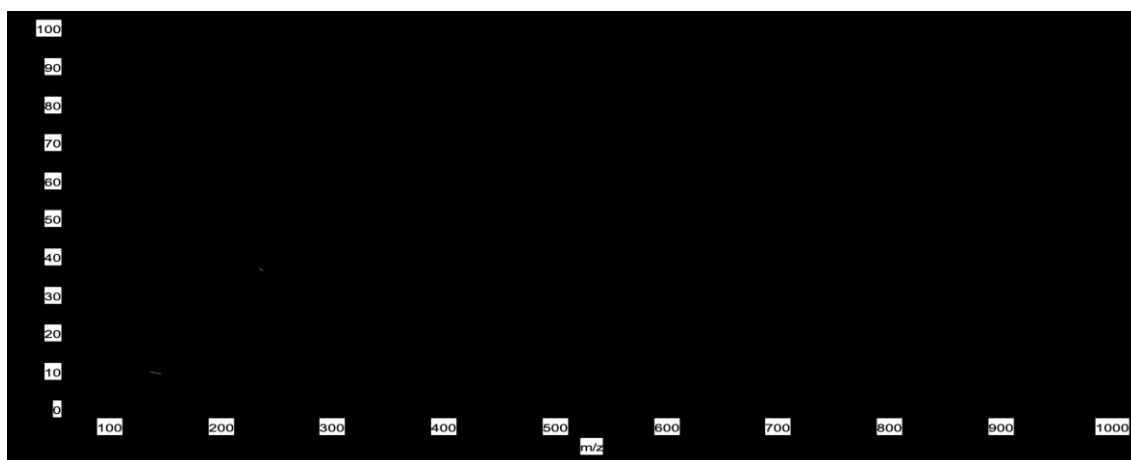
A.11 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 179 (atribuído como ácido cafeico desprotonado)



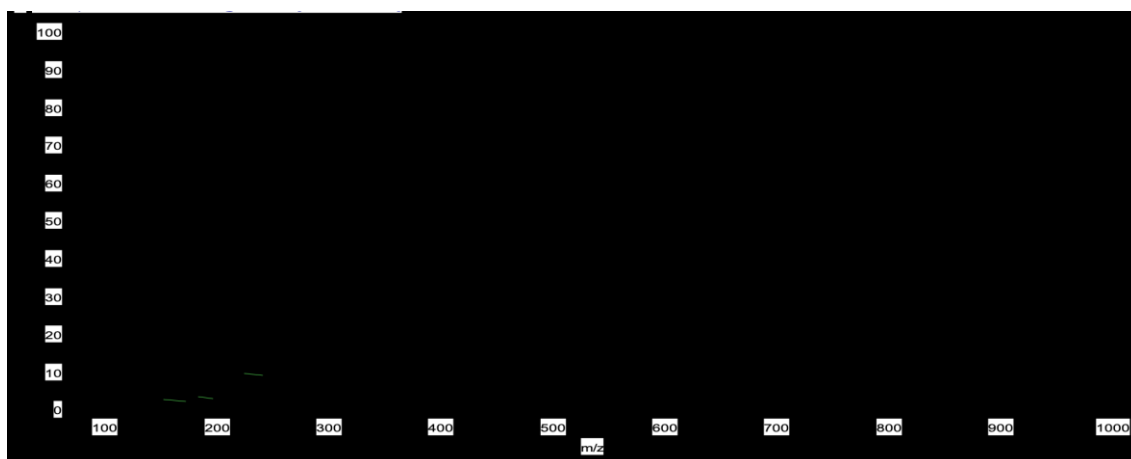
A.12 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 231 (atribuído como Drupanina desprotonada)



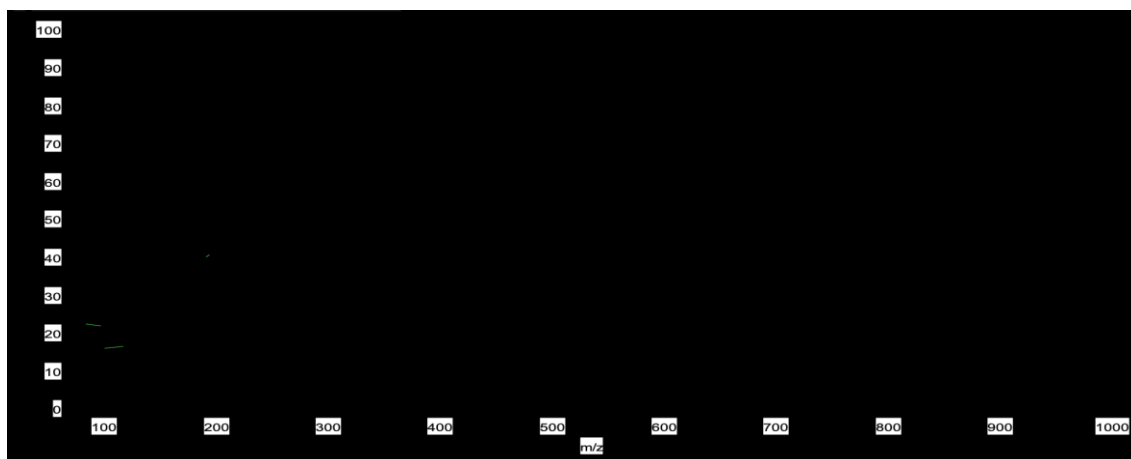
A.13 Espectro de massa de íons do produto (MS / MS) do íon de m/z 253 (atribuído como crisina desprotonada)



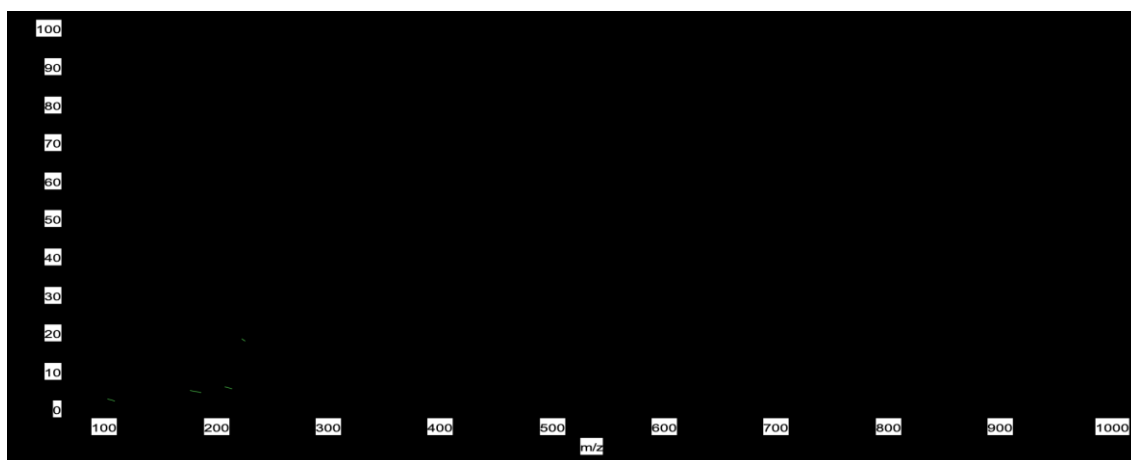
A.14 Espectro de massa de íons do produto (MS / MS) do íon de m/z 255 (atribuído como Pinocembrina desprotonada).



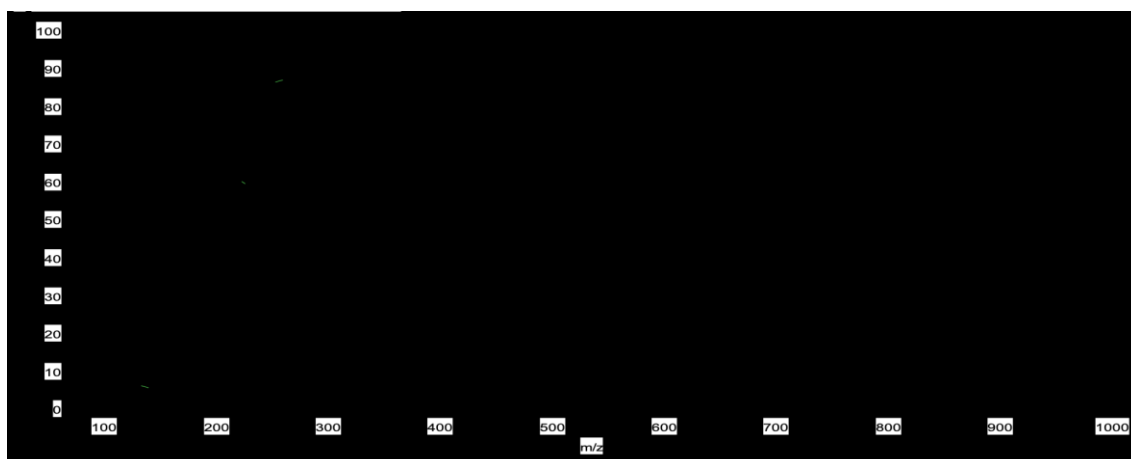
A.15 Espectro de massa de íons de produto (MS / MS) do íon de m/z 267 (atribuído como apigenina desprotonada).



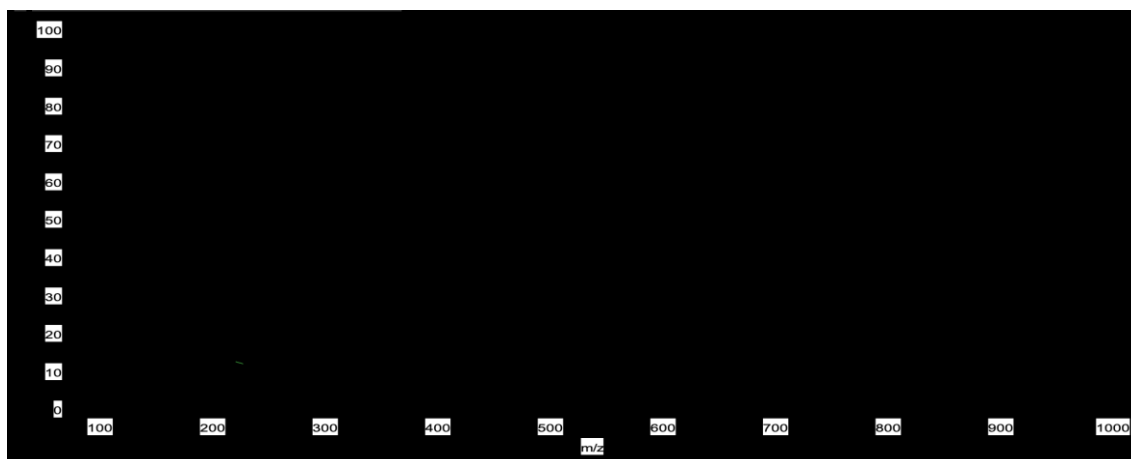
A.16 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 269 (atribuído como éster benzílico de ácido cafeico desprotonado)



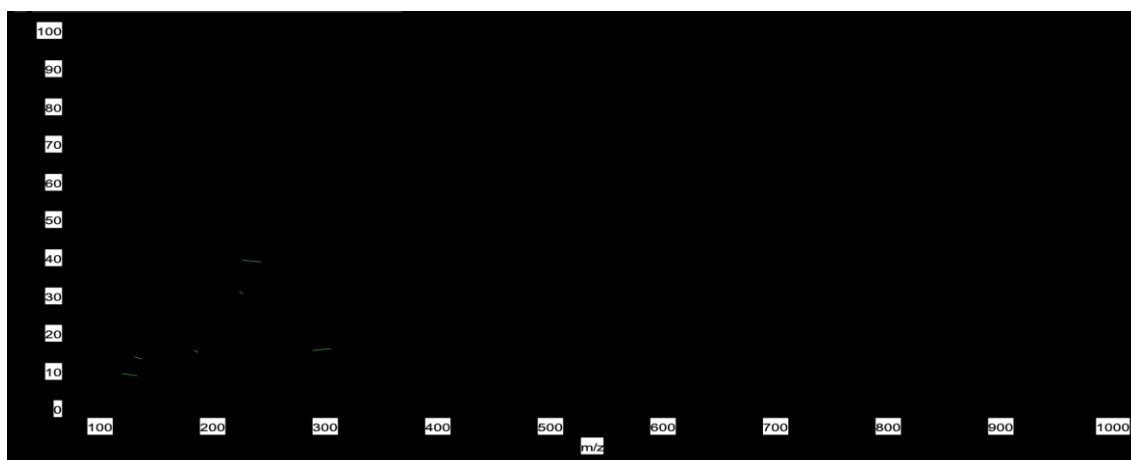
A.17 Espectro de massa de íons de produto (MS/MS) do íon de m/z 271 (atribuído como Naringenina desprotonada)



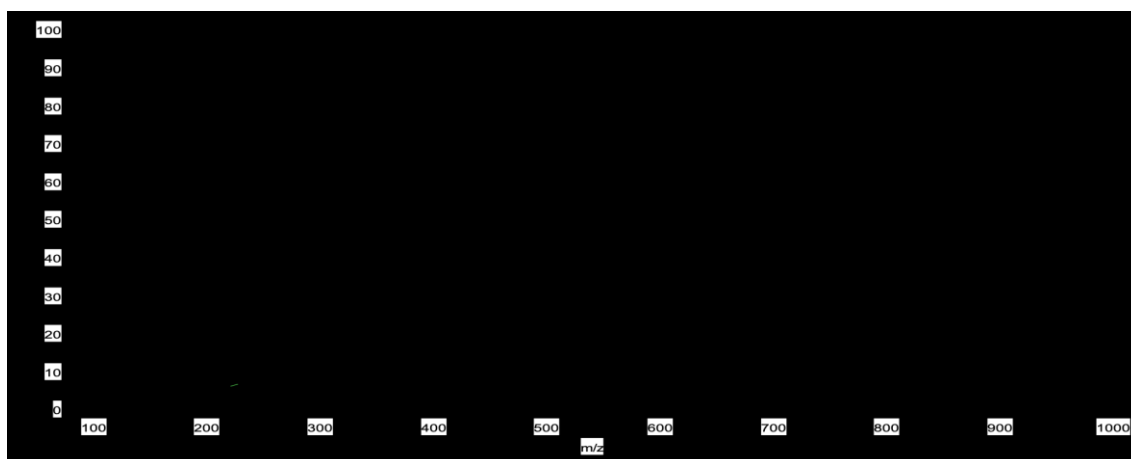
A.18. Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 283 (atribuído como galangina-5-metiléter desprotonado)



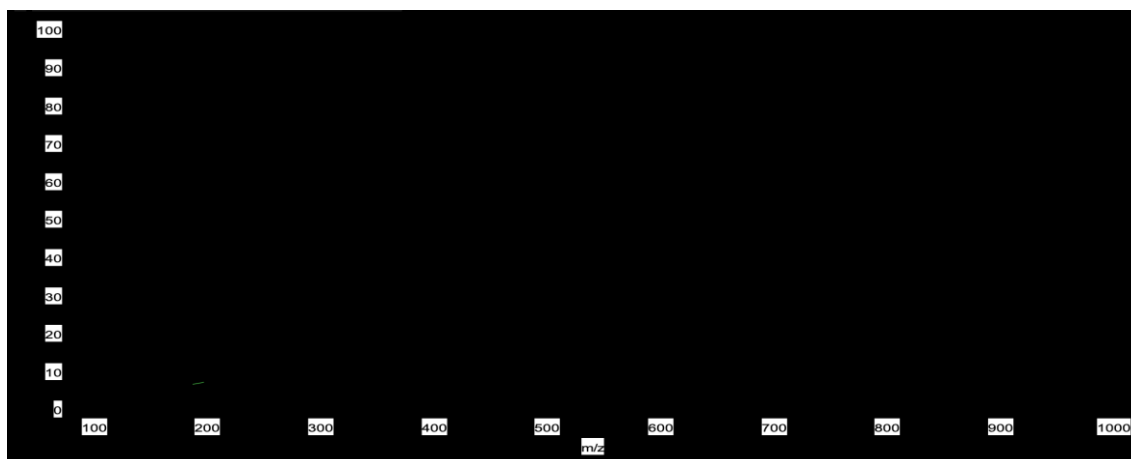
A.19. Espectro de massa do íon produto (MS / MS) do íon de m/z 289 (atribuído como epicatequina desprotonada)



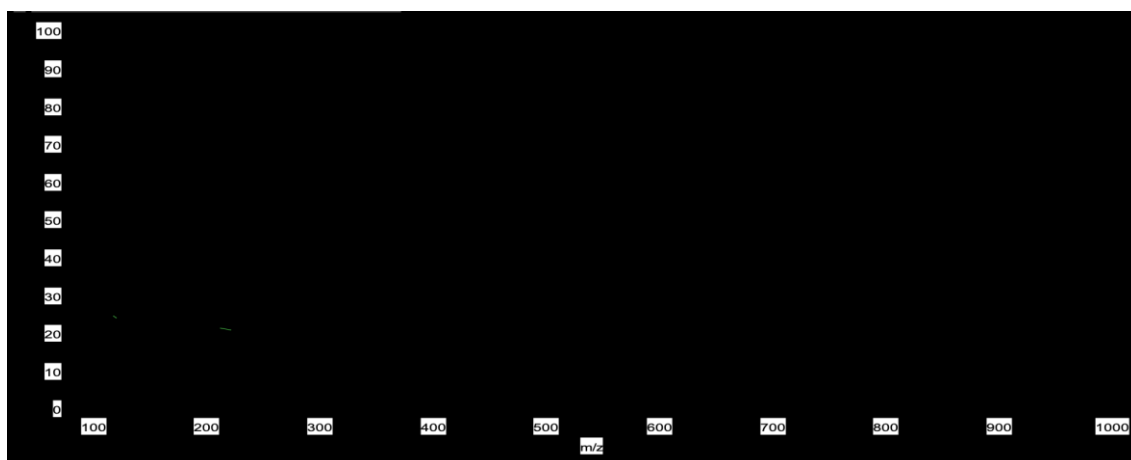
A.20. Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 295 (atribuído como Kaempferide desprotonado)



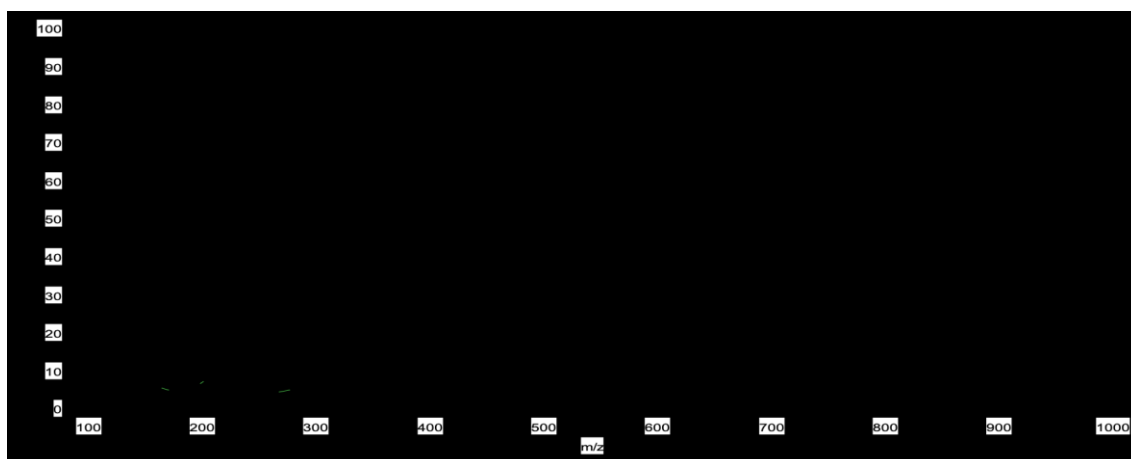
A.21. Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 301 (atribuído como quercetina desprotonada)



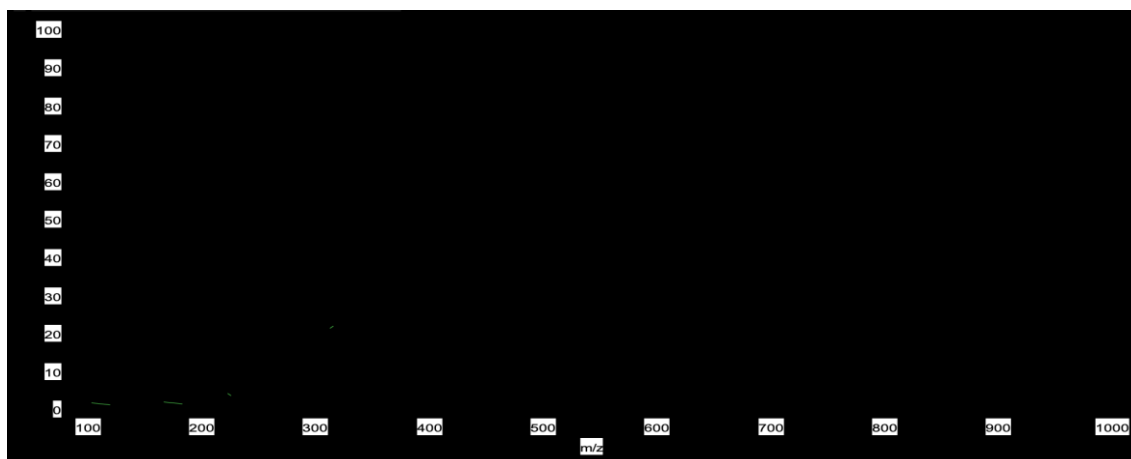
A.22 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 303 (atribuído como Taxifolina desprotonada)



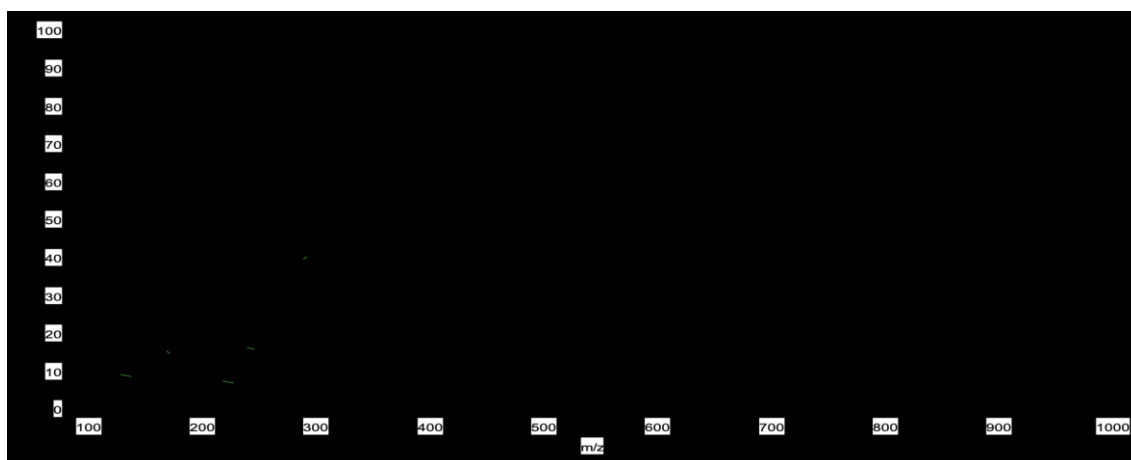
A.23 Espectro de massa de íons de produto (MS/MS) do íon de m/z 311 (atribuído como acetato de pinobanksina-3 desprotonado).



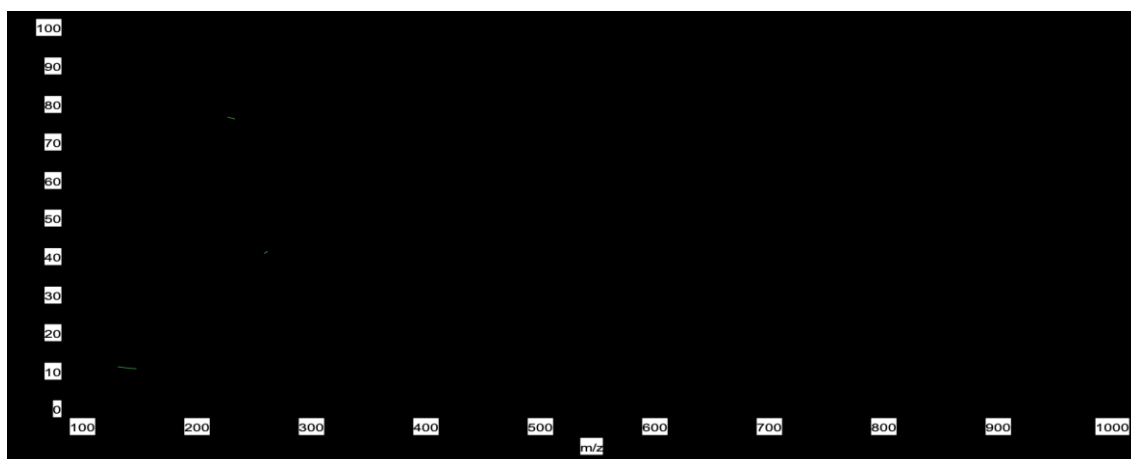
A.24 Espectro de massa de íons do produto (MS/MS) do íon de m/z 313 (atribuído como éter 3-metílico de quercetina desprotonado)



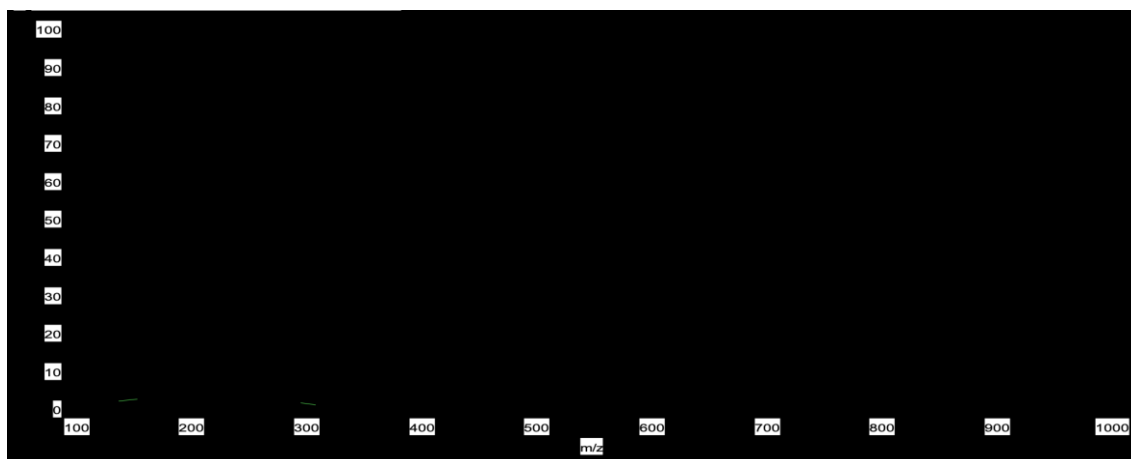
A.25 Espectro de massa de íons do produto (MS / MS) do íon de m/z 319 (atribuído como ácido cupressico desprotonado).



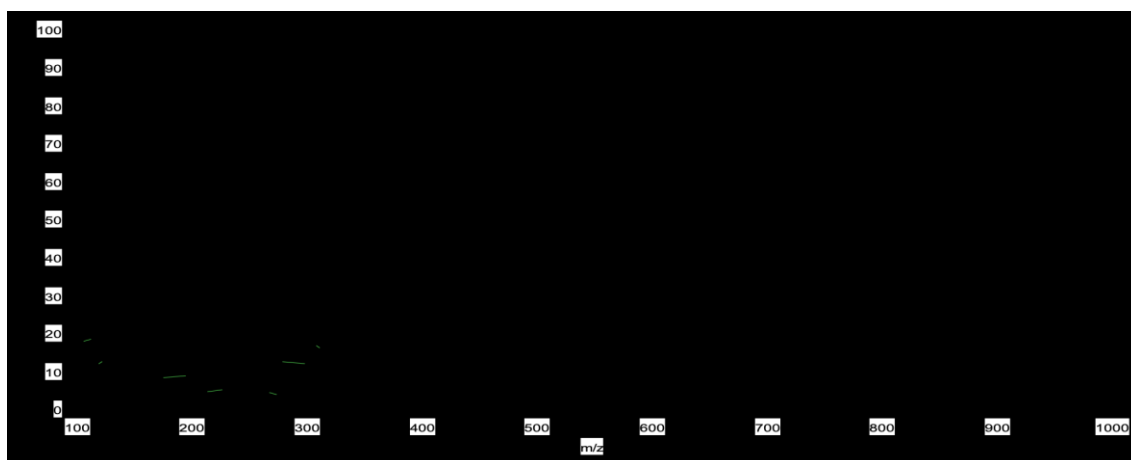
A.26 Espectro de massa de íons de produto (MS/MS) do íon de m/z 333 (atribuído como ácido atagônico desprotonado).



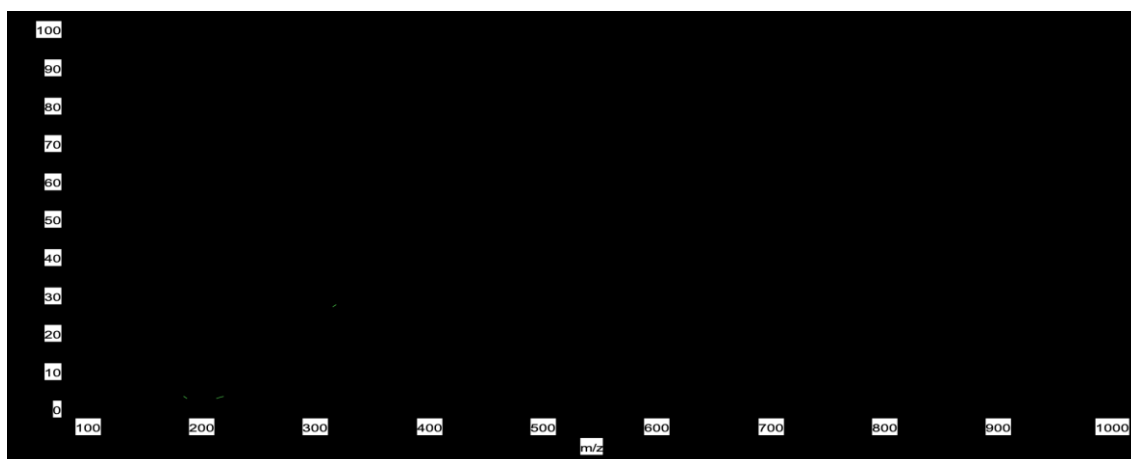
A.27 Espectro de massa de íons do produto (MS / MS) do íon de m/z 353 (atribuído como ácido clorogênico desprotonado).



A.28 Espectro de massa de íons de produto (MS/MS) do íon de m/z 357 (atribuído como Matairesinol desprotonado)

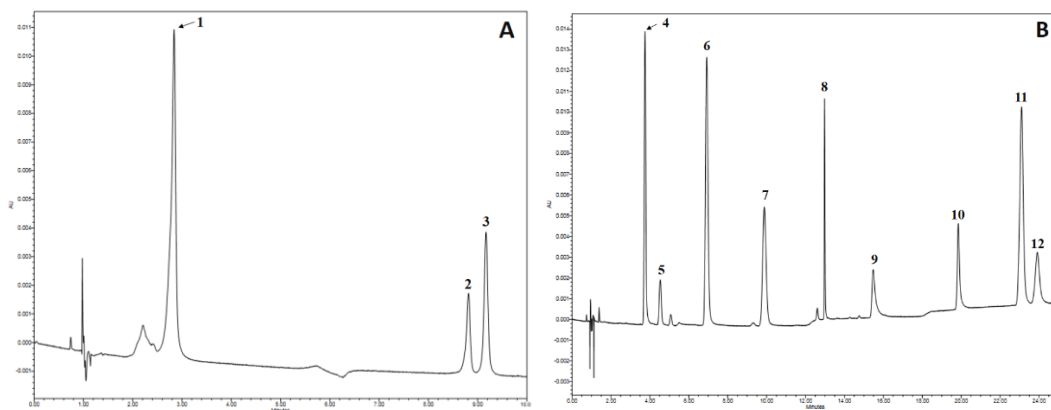


A.29 Espectro de massa de íons de produto (MS / MS) do íon de m/z 515 (atribuído como ácido dicafeoilquínico desprotonado)

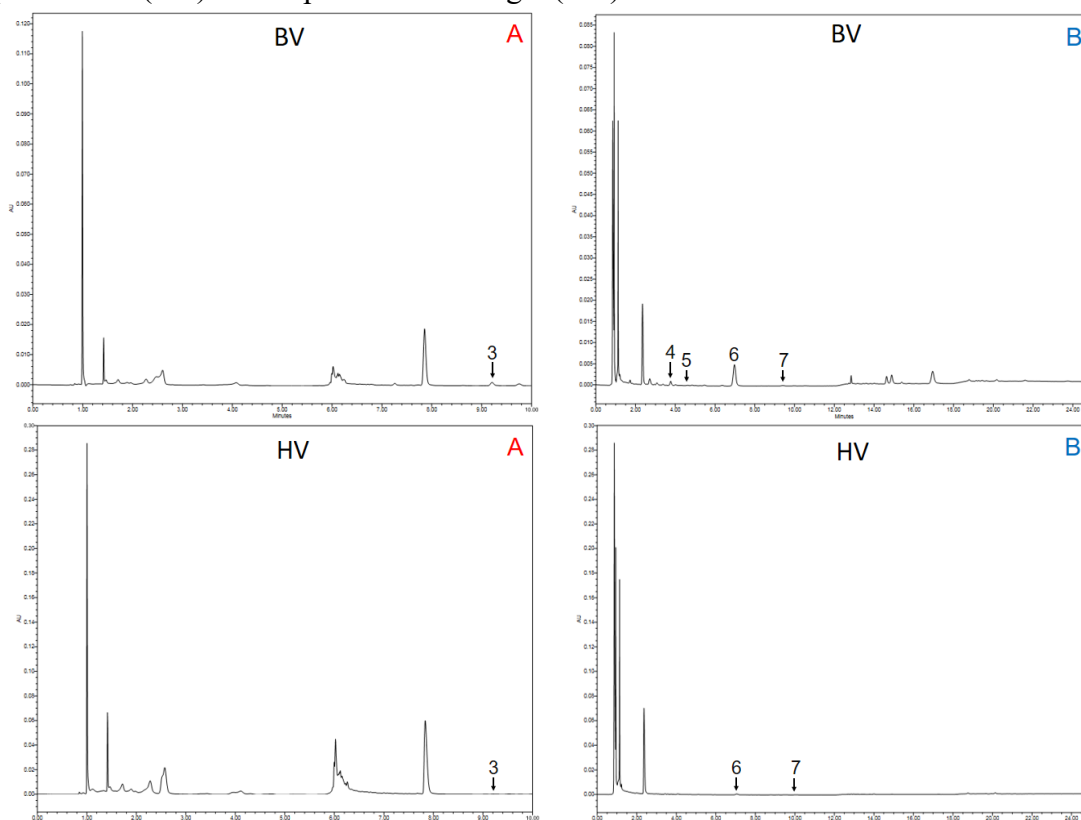


APÊNDICE B - Perfis Cromatográficos obtidos por UPLC e dos padrões utilizados nos métodos A e B e das frações bioacessíveis dos extratos brutos e incorporados ao hidrogel

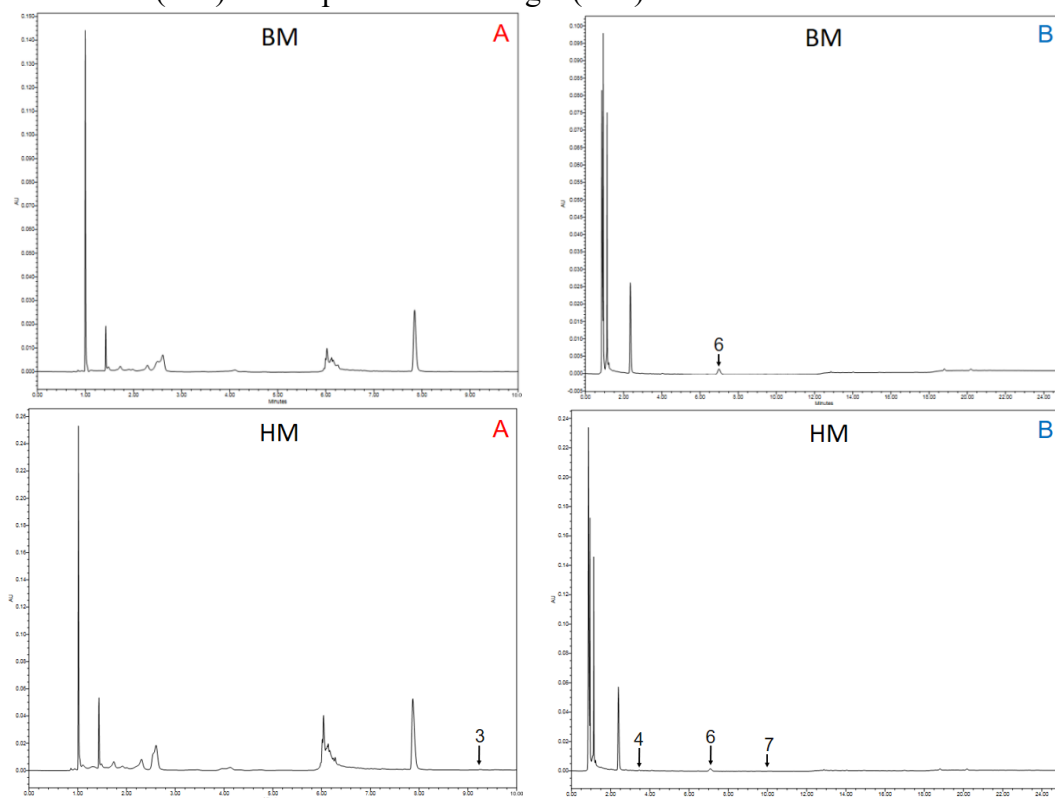
B.1 Perfis cromatográficos dos padrões utilizados nos métodos A (1: ácido gálico; 2: catequina e 3: ácido clorogênico) e B (4: ácido cafeico; 5: epicatequina; 6: ácido p-cumárico; 7: ácido ferúlico; 8: rutina; 9: miricetina; 10: quercetina; 11: apigenina e 12: campferol)



B.2 Perfis Cromatográficos (métodos A e B) das frações bioacessíveis do extrato bruto de própolis verde (BV) e incorporado ao hidrogel (HV)



B.3 Perfis Cromatográficos (métodos A e B) das frações bioacessíveis do extrato bruto de própolis marrom (BM) e incorporado ao hidrogel (HM)



B.4 Perfis Cromatográficos (métodos A e B) das frações bioacessíveis do extrato bruto de própolis preta (BP) e incorporado ao hidrogel (HP)

