



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**KAMILA DE LIMA BARBOSA**

**CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DE MICROCÁPSULAS LIOFILIZADAS**  
**OBTIDAS A PARTIR DE PRÓPOLIS VERDE E ACEROLA**

**FORTALEZA**  
**2024**

KAMILA DE LIMA BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DE MICROCÁPSULAS LIOFILIZADAS  
OBTIDAS A PARTIR DE PRÓPOLIS VERDE E ACEROLA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Alimentos de Origem Vegetal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kaliana Sitonio Eça.

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Da Conceição Tavares Cavalcanti Liberato.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

B198c    Barbosa, Kamila de Lima.

Caracterização da qualidade de microcápsulas liofilizadas obtidas a partir de própolis verde e acerola. / Kamila de Lima Barbosa. – 2024.

100 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Kaliana Sitônio Eça.

Coorientação: Prof. Dr. Maria da Conceição Tavares Cavalcanti Liberato.

1. Compostos fenólicos. 2. Atividade antioxidante. 3. Material de parede. 4. Liofilização. I. Título.

CDD 664

---


KAMILA DE LIMA BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DE MICROCÁPSULAS LIOFILIZADAS  
OBTIDAS A PARTIR DE PRÓPOLIS VERDE E ACEROLA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Alimentos de Origem Vegetal.


Aprovada em: 22/ 04/ 2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente  
 KALIANA SITONIO EÇA  
Data: 31/01/2025 11:39:55-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kaliana Sitonio Eça (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Documento assinado digitalmente  
 JULIANE DOERING GASPARIN CARVALHO  
Data: 31/01/2025 09:40:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliane Doering Gasparin Carvalho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Documento assinado digitalmente  
 DAIANE FINGER FERREIRA  
Data: 31/01/2025 09:04:47-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daiane Finger Ferreira  
Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro)

A Deus, por Sua infinita graça e direção em cada passo desta jornada.

À minha família, por todo amor, apoio e encorajamento.

Aos meus amigos, pela presença, paciência e incentivo constante.

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamentode Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço primeiramente a Deus, fonte de toda sabedoria e força, por me sustentar nos momentos de cansaço, incerteza e desafio. Foi a fé Nele que me guiou até aqui, renovando minha esperança e coragem a cada etapa dessa jornada.

À minha família, meu alicerce. Aos meus pais, Telma e Gilson, que sempre acreditaram em mim, mesmo quando eu duvidei. Seu amor incondicional, apoio constante e palavras de incentivo foram fundamentais para que eu chegasse até este momento. Agradeço também ao meu marido Douglas, que, com carinho e companheirismo, me ajudou a manter o equilíbrio entre a vida acadêmica e pessoal.

A Universidade Federal do Ceará, especialmente ao Departamento de Engenharia de Alimentos e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, por me proporcionarem oportunidades e desafios para meu crescimento.

À Universidade Estadual do Ceará, em particular ao Departamento de Química e ao Labiotec, minha sincera gratidão pelo espaço de formação acadêmica e pelo suporte institucional oferecido ao longo do desenvolvimento desta pesquisa.

A CAPES, pelo apoio financeiro através da bolsa de estudo concebida.

À minha orientadora, Professora Kaliana Sitônio, expresso minha mais profunda gratidão pela orientação dedicada, pelo olhar crítico e pela confiança depositada em mim desde o início desta jornada. Seu compromisso com a pesquisa, sua escuta atenta e suas valiosas contribuições foram essenciais para a construção deste trabalho.

À minha coorientadora, Professora Maria da Conceição, agradeço pela atenção cuidadosa, pelas sugestões enriquecedoras e pela parceria constante ao longo deste processo. Sua experiência e sensibilidade contribuíram significativamente para o amadurecimento deste estudo.

Agradeço também às professoras Juliane Doering e Daiane Finger por gentilmente aceitarem o convite para compor a banca avaliadora. Suas leituras atentas, questionamentos pertinentes e sugestões construtivas agregaram muito valor à minha pesquisa e à minha formação acadêmica.

Aos meus amigos, Giovanna, Ayla, Kananda, Amanda, Matheus e Ciro, que estiveram ao meu lado nos momentos de alegria e nos períodos mais difíceis, meu sincero obrigado. Suas palavras de apoio, escuta atenta e presença constante foram essenciais para que eu mantivesse a motivação e a saúde emocional.

Aos meus companheiros de mestrado e de laboratório, Camila, Tereza, Carlota e João Victor, que compartilharam não apenas conhecimentos, mas também sonhos, dúvidas e conquistas.

Cada pessoa mencionada aqui faz parte desta conquista. A vocês, minha eterna gratidão.

“Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo.” (FREIRE, 1979, p. 84).

## RESUMO

A própolis é um produto é rico em compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória. Assim como a própolis, a aceroleira é reconhecida por seu alto teor de ácido ascórbico (AA), compostos fenólicos totais (CFT), carotenoides, antocianinas e considerável potencial antioxidante. Tais compostos bioativos podem ser protegidos da degradação pela técnica de encapsulação, cujo material de parede tornará a sua liberação possível sob condições específicas. Desta forma, este trabalho teve como objetivo a obtenção dos pós a partir da polpa de acerola, acrescida de extrato de própolis verde e os materiais de parede goma arábica e maltodextrina através da liofilização. As própolis verde e vermelha foram primeiro caracterizadas quanto a determinação de parâmetros físico-químicos, identificação dos constituintes químicos através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e atividade antiacetilcolinesterase. Os extratos de própolis foram avaliados quanto à estabilidade através da atividade antioxidante em um intervalo de (0,5,10,15) dias. As características físico-químicas da polpa também foram avaliadas. Os pós obtidos com a polpa integral de acerola e extrato de própolis foram avaliados quanto à umidade, cor, higroscopicidade, solubilidade, teor de compostos fenólicos, teor de flavonóides, atividade antioxidante e atividade antiacetilcolinesterase contendo 20% (m/m) dos adjuvantes de secagem. Os resultados mostraram que as própolis verde e vermelha apresentaram conformidade com os padrões de identidade e qualidade. No teste de estabilidade, o extrato de própolis verde manteve-se mais estável em relação ao extrato de própolis vermelha, com valores de concentração inibitória (IC 50) que variaram entre 75,45% e 82,87%. Os pós de polpa integral de acerola e extrato de própolis apresentaram umidade entre 2,49% e 6,59%, higroscopicidade 4,61% e 8,69% e solubilidade 85,78% e 95,24%. A adição dos materiais de parede na mistura contribuiu para redução da umidade dos pós, enquanto que a maltodextrina resultou em pós com maior higroscopicidade e solubilidade. Os pós também resultaram em compostos fenólicos variando entre 8,41 e 39,55 mgGAE.g<sup>-1</sup>, flavonoides 3,73 e 5,06 mgQE.g<sup>-1</sup>, atividade antioxidante 17,83% e 25,78% e atividade antiacetilcolinesterase 12,46 e 14,65 µg.mL<sup>-1</sup>. Valores esses que se comparados a polpa integral mostraram-se melhores com efeito sinérgico. Os adjuvantes contribuíram também para uma maior luminosidade nos pós em relação a

polpa integral. Portanto, a secagem por liofilização foi uma técnica adequada para obtenção do pó deste produto, aumento e conservação dos seus compostos bioativos.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos; atividade antioxidante; material de parede; liofilização.

## ABSTRACT

Propolis is a product rich in phenolic compounds that have antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities. Like propolis, acerola is recognized for its high content of ascorbic acid (AA), total phenolic compounds (TPC), carotenoids, anthocyanins and considerable antioxidant potential. These bioactive compounds can be protected from degradation by the encapsulation technique, whose wall material will make their release possible under specific conditions. Thus, this study aimed to obtain powders from acerola pulp, added with green propolis extract and the wall materials gum arabic and maltodextrin through lyophilization. Green and red propolis were first characterized regarding the determination of physicochemical parameters, identification of chemical constituents through high performance liquid chromatography (HPLC) and antiacetylcholinesterase activity. The propolis extracts were evaluated for stability through antioxidant activity over a period of (0.5, 10, 15) days. The physicochemical characteristics of the pulp were also evaluated. The powders obtained with the whole acerola pulp and propolis extract were evaluated for moisture, color, hygroscopicity, solubility, phenolic compound content, flavonoid content, antioxidant activity and antiacetylcholinesterase activity containing 20% (w/w) of the drying adjuvants. The results showed that the green and red propolis complied with the identity and quality standards. In the stability test, the green propolis extract remained more stable than the red propolis extract, with inhibitory concentration (IC 50) values ranging from 75.45% to 82.87%. The acerola whole pulp and propolis extract powders presented moisture content between 2.49% and 6.59%, hygroscopicity 4.61% and 8.69% and solubility 85.78% and 95.24%. The addition of wall materials in the mixture contributed to reducing the moisture content of the powders, while maltodextrin resulted in powders with greater hygroscopicity and solubility. The powders also resulted in phenolic compounds ranging from 8.41 to 39.55 mgGAE.g<sup>-1</sup>, flavonoids 3.73 and 5.06 mgQE.g<sup>-1</sup>, antioxidant activity 17.83% and 25.78% and antiacetylcholinesterase activity 12.46 and 14.65 µg.mL<sup>-1</sup>. These values, when compared to the whole pulp, were better with a synergistic effect. The adjuvants also contributed to a greater luminosity in the powders compared to the whole pulp. Therefore, freeze-drying was an appropriate technique for obtaining the powder of this product, increasing and preserving its bioactive compounds.

**Keywords:** phenolic compounds; antioxidant activity; wall material; freeze-drying.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura química dos Fenóis simples.....	21
Figura 2 –	Estrutura química dos Flavonoides.....	21
Figura 3 –	Substâncias identificadas em própolis.....	23
Figura 4 –	Algumas substâncias encontradas em própolis verde.....	28
Figura 5 –	Estrutura química do Artepillin C.....	29
Figura 6 –	Constituintes químicos da própolis vermelha do nordeste de Brasil.....	31
Figura 7 –	Mecanismo de ação da acetilcolinesterase.....	36
Figura 8 –	Diagrama de fases da água e seu estado em função da pressão e temperatura.....	39
Figura 9 –	Esquema de um liofilizador de bancada. ....	40
Figura 10 –	Estrutura molecular da Goma arábica.....	42
Figura 11–	Estrutura molecular da maltodextrina.....	43
Figura 12 –	Coordenadas do sistema CIE lab de cor.....	51
Figura 13 –	Gráfico de estabilidade do extrato de própolis verde e vermelha.....	59
Figura 14 –	Espectros de UV dos picos significativos do extrato etanólico de própolis verde.....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas e origem.....	26
Tabela 2 –	Formulações submetidas à liofilização.....	52
Tabela 3 –	Caracterização físico-química das amostras de própolis verde e vermelha in natura.....	56
Tabela 4 –	Caracterização físico-química do extrato de própolis verde e vermelha.....	57
Tabela 5 –	Padrões da amostra de própolis verde.....	61
Tabela 6 –	Componentes da amostra do extrato de própolis verde.....	63
Tabela 7 –	Resultado do teste de inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase.....	65
Tabela 8 –	Parâmetros físico-químicos da polpa integral e das microcápsulas obtidas por liofilização.....	67
Tabela 9 –	Resultados de umidade, higroscopicidade e solubilidade dos pós. ....	72

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivos gerais .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Própolis.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2</b>	<b>Composição Química da própolis .....</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Propriedades Biológicas .....</b>	<b>23</b>
<b>3.4</b>	<b>Tipos de própolis .....</b>	<b>25</b>
<b>3.5</b>	<b>Própolis Verde.....</b>	<b>27</b>
<b>3.6</b>	<b>Própolis Vermelha.....</b>	<b>29</b>
<b>3.7</b>	<b>Parâmetros de Qualidade .....</b>	<b>33</b>
<b>3.8</b>	<b>Acerola (<i>Malpighiaemarginata</i>, D. C.).....</b>	<b>33</b>
<b>3.8.1</b>	<b><i>Características físicas, físico-químicas e nutricionais da acerola.....</i></b>	<b>34</b>
<b>3.9</b>	<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....</b>	<b>35</b>
<b>3.10</b>	<b>Acetilcolinesterase.....</b>	<b>35</b>
<b>3.11</b>	<b>Microencapsulação .....</b>	<b>37</b>
<b>3.12</b>	<b>Liofilização.....</b>	<b>37</b>
<b>3.13</b>	<b>Material de Parede .....</b>	<b>40</b>
<b>3.13.1</b>	<b><i>Goma Arábica .....</i></b>	<b>41</b>
<b>3.13.2</b>	<b><i>Maltodextrina.....</i></b>	<b>42</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Etapa 1: Preparo e caracterização da própolis.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1.1</b>	<b><i>Coleta e preparo da própolis bruta.....</i></b>	<b>44</b>
<b>4.1.2</b>	<b><i>Análises de identidade e qualidade da própolis bruta.....</i></b>	<b>44</b>

4.1.2.1	<i>Umidade</i> .....	44
4.1.2.2	<i>Determinação de resíduo mineral fixo (cinza)</i> .....	45
4.2	<b><i>Etapa 2: Extração e caracterização do extrato da própolis verde e vermelha</i></b> .....	45
4.2.1	<b><i>Obtenção do Extrato das Amostras de Própolis Verde e Vermelha (EHAG)</i></b> .....	45
4.2.2	<b><i>Análises de identidade e qualidade do extrato de própolis</i></b> .....	46
4.2.2.1	<i>Determinação de Cera</i> .....	46
4.2.2.2	<i>Determinação de substâncias solúveis em etanol</i> .....	47
4.2.2.3	<i>Massa mecânica (resíduo insolúvel em etanol)</i> .....	47
4.2.2.4	<i>Determinação de compostos fenólicos totais</i> .....	44
4.2.2.5	<i>Determinação de flavonoides totais</i> .....	48
4.2.2.6	<i>Determinação de atividades antioxidantes</i> .....	48
4.2.2.7	<i>Teste de estabilidade dos extratos</i> .....	49
4.3	<b><i>Identificação dos constituintes químicos através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)</i></b> .....	49
4.3.1	<b><i>Preparação dos padrões</i></b> .....	49
4.4	<b><i>Atividade Antiacetilcolinesterase</i></b> .....	49
4.5	<b><i>Análises físico-químicas da polpa integral de acerola</i></b> .....	50
4.5.1	<b><i>Umidade</i></b> .....	50
4.5.2	<b><i>Cor</i></b> .....	50
4.6	<b><i>ETAPA 3: Preparação, secagem e caracterização das microcápsulas</i></b> ....	51
4.6.1	<b><i>Preparação de formulações de carreadores de própolis</i></b> .....	51
4.6.2	<b><i>Liofilização de formulações</i></b> .....	52
4.7	<b><i>Caracterização dos compostos bioativos das microcápsulas do extrato do Própolis</i></b> .....	53

<b>4.7.1</b>	<b><i>Ruptura das microcápsulas</i></b> .....	53
4.7.1.1	<i>Determinação do teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante</i> .....	53
4.7.1.2	<i>Atividade Antiacetilcolinesterase</i> .....	53
4.7.1.3	<i>Umidade</i> .....	54
4.7.1.4	<i>Higroscopicidade</i> .....	54
4.7.1.5	<i>Solubilidade</i> .....	54
<b>4.8</b>	<b><i>Análise Estatística</i></b> .....	54
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	56
5.1	<b>HPLC do extrato de própolis verde e vermelha</b> .....	60
5.2	<b>Inibição da enzima acetilcolinesterase do extrato de própolis verde e vermelha</b> .....	64
5.3	<b>Caracterização físico-química da polpa integral e das partículas</b> .....	66
5.3.1	<b><i>Fenóis totais</i></b> .....	67
5.3.2	<b><i>Flavonoides</i></b> .....	68
5.3.3	<b><i>Atividade antioxidante</i></b> .....	69
5.3.4	<b><i>Antiacetilcolinesterase</i></b> .....	71
5.3.5	<b><i>Umidade</i></b> .....	73
5.3.6	<b><i>Higroscopicidade</i></b> .....	74
5.3.7	<b><i>Solubilidade</i></b> .....	75
5.3.8	<b><i>Análise Colorimétrica</i></b> .....	76
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	80
	<b>REFERENCIAS</b> .....	81

## 1 INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância produzida pelas abelhas a partir de resina e brotos de árvores e de suas secreções orais, pólen e cera. É composta por 50% de resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias. Sua função na vida da colônia está relacionada às suas propriedades mecânicas e antimicrobianas, sendo utilizada na construção e adaptação da colmeia e na garantia de um ambiente asséptico (BANKOVA *et al.*, 2019).

Os principais compostos bioativos presentes na própolis são os compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos e os seus ésteres), terpenoides e esteroides. Porém, dependendo da região de coleta do produto podem haver variações destes constituintes (PELLATI *et al.*, 2011). Além da própolis, outro alimento que apresenta compostos funcionais é a acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). A mesma, é uma fruta tropical de alto valor econômico e nutricional, de interesse da agroindústria principalmente pelo seu alto teor de vitamina C, que, juntamente com carotenóides e antocianinas faz com que se destaque na alimentação, pois esses compostos retêm radicais livres no corpo humano (BATAGLION *et al.*, 2015).

Para proteger e aproveitar melhor as propriedades da própolis e da acerola como ingrediente funcional e/ou fortificação de alimentos é a microencapsulação (SARKAR *et al.*, 2013). As indústrias farmacêuticas e alimentícias usam esse método para proteger os produtos das condições ambientais, prolongar a vida útil do produto e mascarar sabores desagradáveis (JAFARI *et al.*, 2017).

Os agentes encapsulantes são aplicados com a finalidade de aprisionar em sua matriz os ingredientes sensíveis às reações químicas adversas, prevenir a perda de compostos voláteis e mascarar aromas indesejáveis. Entre os agentes encapsulantes tradicionalmente empregados a goma arábica é amplamente utilizada na indústria alimentícia por ser atóxica, inodora e insípida. Ela é o material encapsulante mais utilizado na microencapsulação por *spray-drying* devido às suas boas capacidades emulsificantes e formadoras de filme (PUDZIUVELYTE *et al.*, 2019), bem como sua baixa viscosidade em solução aquosa. Do mesmo modo, outro dos agentes encapsulantes mais amplamente utilizados, além da goma arábica, é a maltodextrina. Por fornecer maior solubilidade ao princípio ativo é descrita como uma

mistura de polímeros sacarídeo nutritivo, não-doce, que consistem em unidades de D-glucose. A maltodextrina é uma boa solução entre o custo e a eficácia porque ele é insípido, com uma proporção alta de teor de sólidos e está disponível em diferentes pesos moleculares. Em geral, têm elevada solubilidade em água, baixa viscosidade e sabor formam soluções incolores e são extensivamente utilizados na indústria alimentar (SAÉNZ *et al.*, 2009).

Nesse contexto, esta pesquisa foi desenvolvida visando à obtenção de microcápsulas liofilizadas contendo extrato de própolis em diferentes concentrações e polpa de acerola para preservar compostos fenólicos e flavonoides utilizando como material de parede a goma arábica e a maltodextrina.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

Obtenção e caracterização da qualidade dos pós liofilizados contendo diferentes concentrações de extrato de própolis verde, polpa de acerola integral e adjuvantes.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Verificar se a determinação de parâmetros físico-químicos e substâncias químicas da própolis verde e vermelha *in natura* e em extrato hidroalcóolico atendem os critérios de qualidade estabelecidos pela legislação;
- b) Avaliar a estabilidade dos extratos frente a atividade antioxidante em um intervalo de 15 dias sob refrigeração;
- c) Obter microcápsulas de extrato de própolis e polpa de acerola integral pelo método de liofilização, utilizando goma arábica e maltodextrina como agentes encapsulantes, totalizando nove formulações;
- d) Averiguar se a atividade antioxidante dos extratos de própolis se mantém estável durante o armazenamento de 15 dias sob resfriamento;
- e) Analisar se as diferentes concentrações de goma arábica e de maltodextrina alteram a qualidade das microcápsulas de extrato de própolis e polpa de acerola obtidas por liofilização.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Própolis

A própolis, material utilizado pelas abelhas para a manutenção e segurança da colmeia, é um produto complexo de natureza resinosa, elaborado a partir dos brotos e exsudatos vegetais. Após ser enriquecido com secreções salivares e enzimáticas das abelhas, como a enzima  $\beta$ -glicosidase, provoca a hidrólise dos flavonoides glicosilados em agliconas. O termo própolis traduz exatamente essa função, pois é derivado do grego “pro” (em defesa) e “polis” (cidade), o que quer dizer em defesa da cidade ou da colmeia (GHISALBERTI, 1979). Então, ela não é vista só como um material de construção, mas também ela é usada como uma arma química contra os microrganismos patogênicos, visto que esta substância pode oferecer à colmeia um ambiente inadequado para o crescimento destes microrganismos (PARK; *et al.* 1998; PALOMINO *et al.*, 2010).

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

A espécie de abelha conhecida pela produção da própolis é a *Apis mellífera*, chamada comumente como abelha doméstica. Ela se destaca por ser uma espécie bastante eficiente, polinizando mais do 30% da comida que comemos; além disso elaboram mel, geleia real e cera (UNIVERSITY OF FLORIDA, 2013).

Da grande quantidade de medicamentos naturais produzidos no Brasil, encontram-se os popularizados extratos etanólicos de própolis. Estes extratos são utilizados pela comunidade para tratar diferentes afecções tais como: infecções bacteriana, virais e fúngicas. É utilizada também como cicatrizante, anti-inflamatória, antioxidantes, anticancerígenas, entre outras propriedades que já foram confirmadas por numerosas pesquisas (OLIVEIRA, *et al.*, 2012; SAYED, ASHRYA, AHMADB, 2012).

#### 3.2 Composição Química da própolis

A composição química da própolis é variável, mudando de acordo com a região, solo, temperatura, florada. O progresso de técnicas analíticas, como cromatografia gasosa acoplado a massa (CG-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), proporcionou compreender melhor a sua composição e estudar a atividade dos componentes. Foi esse avanço também possibilitou saber que a composição química da própolis depende muito de vários fatores como: a flora da região onde ela é coletada (fitogeografia), sazonalidade e locais, técnica empregada para a produção e as diferentes características genéticas das abelhas, o que faz que a própolis apresente variações qualitativas e quantitativas (SILVA, 2016). Sua composição média básica é de 50% de resina de plantas e bálsamos, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen, 5% de outras matérias orgânicas e substâncias coletadas (GHISALBERTI, 1979; MARCUCCI, 1995), secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto.

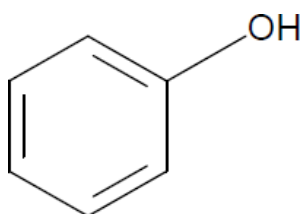
Dos estudos realizados ao própolis, foram identificados mais de 180 compostos principalmente polifenóis, destes a maior parte são flavonoides (pinostrobin, quercetina, pinobanquesina), aos quais estão associados ácidos fenólicos (ácidos benzoico, gálico, ferúlico e caféico), vitaminas (vitamina C e E, pró-vitamina A e vitaminas do grupo B), ácidos gordos não saturados, compostos terpênicos e minerais (cálcio, potássio, sódio, manganês, ferro, alumínio, fósforo, silício, vanádio e estrôncio) (BARBARIC *et al.*, 2011).

Por conta da variedade em relação a composição da própolis, o seu perfil químico, pode ser caracterizado pelos seguintes parâmetros: fenóis totais e teor de flavonoides. Estes compostos são utilizados para expressar parâmetros de avaliação padrão para a própolis, e correlacionam melhor a atividade biológica, sendo mais informativos do que a quantificação de componentes individuais (SAYED, ASHRYA, AHMADB, 2012) visto que os compostos fenólicos, que correspondem a aproximadamente 50% dos constituintes da própolis (MELLO *et al.*, 2010), têm sido apontados como um dos principais elementos biologicamente ativos da própolis caracterizados pela presença de um anel aromático ligado a um grupo hidroxila (Figura 1) e a uma função orgânica de ácido carboxílico (OLIVEIRA, *et al.*, 2012). Enquanto os flavonoides (Figura 2) são moléculas polifenólicas e caracterizam-se pela coloração amarelada dos compostos. Mas pode ocorrer uma variação deste percentual de acordo com a região de coleta do produto, pois a própolis possui uma

composição complexa, onde podem ser destacados os seguintes constituintes:

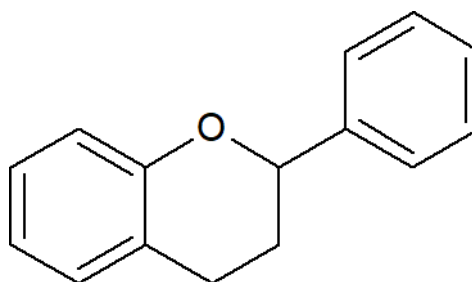
- a) Hidrocarbonetos superiores; álcoois; álcoois graxos de cadeia longa; ácidos graxos superiores típicos de ceras e seus ésteres; aldeídos e cetonas.
- b) Terpenoides e fenilpropanoides (como ácido clorogênico e ácido cafeico); esteróides; aminoácidos; açúcares; lignanas.
- c) Ácidos alifáticos; ácidos aromáticos (derivados benzóico e cinâmicos); ésteres aromáticos derivados.
- d) Flavonas e flavonóis como, crisina, galangina, quercetina, canferol; flavanonas (naringenina, pinocembrina); chalconas e diidrochalconas.
- e) Minerais: Na, K, Mg, Ba, Sr, Cd, Pb, Cu, Mn, Fe, V, Si, Al, Ni, Zn, Cr, Ag, Mo e Co.

Figura 1 – Estrutura química dos Fenóis simples



Fonte: Pinto 2015.

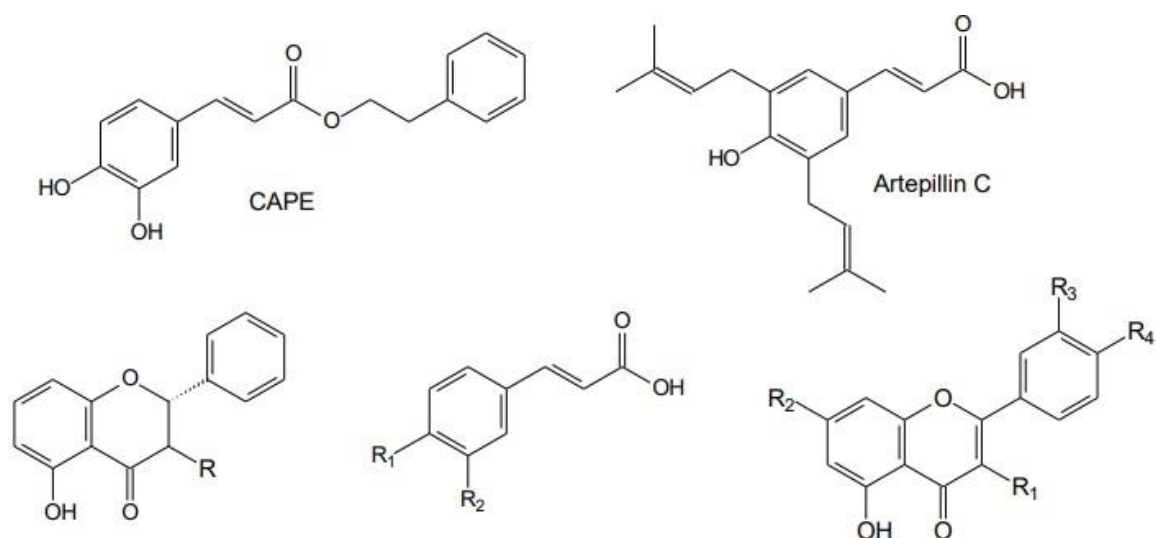
Figura 2 – Estrutura química dos Flavonoides



Fonte: AUTOR.

Uma menor variação da composição química da própolis é observada nas regiões temperadas do planeta, como, por exemplo, na Europa, onde seus principais compostos bioativos são os polifenóis, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos e seus ésteres, entre eles o éster feniletil de ácido caféico (CAPE) (GREENAWAY *et al.*, 1990; HEGAZI *et al.*, 2000; BANKOVA *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2002). A própolis oriunda dessas regiões possui maior teor de flavonoides do que a própolis de zonas tropicais (Brasil), que possuem maiores quantidades de substâncias fenólicas, como os fenilpropanoides prenilados e derivados de do ácido cinâmico (HUANG *et al.*, 2014). Essas amostras tropicais da própolis brasileiras, têm mostrado diferenças significantes nas suas composições químicas em relação à própolis da zona temperada. Por essa razão, a própolis brasileira têm se tornado objeto de grande interesse por parte dos cientistas (TRUSHEVA *et al.*, 2006). No Brasil, são descritas propriedades biológicas e composição química distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Essa variação pode ser explicada pela grande biodiversidade brasileira, assim como, até certo ponto, a habilidade bioquímica das abelhas em alterar a composição nativa ou adicionar componentes próprios à própolis (PEREIRA *et al.*, 2002).

Na Figura 3 estão representados alguns exemplos de substâncias identificadas em própolis.



	R		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Pinocembrina	H	Ácido cinâmico	H	H	Crisina	H	OH	H	H
Pinobanksina	OH	Ácido <i>p</i> -cumárico	OH	H	Galangina	OH	OH	H	H
		Ácido cafeico	OH	OH	Canferol	OH	OH	H	OH
		Ácido ferúlico	OH	OCH <sub>3</sub>	Quercetina	OH	OH	OH	OH

Fonte: Huang *et al.*, 2014.

### 3.3 Propriedades Biológicas

Dependendo da origem da própolis, a mesma pode apresentar diversas propriedades químicas e farmacológicas (BANKOVA, 2005). Por isso, a padronização da própolis é importante. Em alguns países, as autoridades sanitárias veem a própolis apenas como um alimento ou um suplemento alimentar, em outros, a própolis tem grande utilidade terapêutica e industrial. Diversos estudos relatam que a própolis brasileira demonstra atividades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, citotóxica e antitumoral (BRUSCHI *et al.* 2007; TIVERON *et al.* 2016; FRANCISCO *et al.* 2018). Dentre as atividades biológicas atribuídas à própolis, sua atividade antioxidante é bastante estudada. Os compostos fenólicos são apontados na literatura como responsáveis por essa ligação, devido à capacidade de estabilizar radicais livres (espécies reativas ao oxigênio – ERO), oxidando-se elas

mesmas através da doação de átomos de Hidrogênio e com isso, ajudando na prevenção de formação de câncer evitando reações em cadeia de radicais livres que danificam as células de qualquer tecido (HALLIWELL, 1991; SARIKURKCU *et al.*, 2008; SIRISHA, *et al.*, 2010). Chailloua e Nazareno (2009), associaram a alta atividade antioxidante da própolis com o teor de quercetina, ácido siríngico, kaempferol, ácido caféico, ácido clorogênico e ácido 3- 4 dihidroxibenzóico (RUSSO *et al.*, 2002). Estes compostos minimizam a peroxidação lipídica, influenciando não apenas na propagação e formação dos radicais livres, mas inibindo enzimas envolvidas no início da reação por meio da quelação com metais, e podendo ainda inibir o dano oxidativo resultante da reação de Fenton (RUSSO *et al.*, 2002; FROZZA *et al.*, 2013). A reação de Fenton baseia-se na reação entre  $Fe^{2+}$  e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), conhecida como a reação de Fenton, que gera os radicais OH que possuem elevado potencial de oxirredução, atacando indistintamente todas as espécies presentes no meio reacional (AGUIAR *et al.*, 2007).

Propriedades biológicas e farmacêuticas da própolis foram relatadas dentre trabalhos realizados por GHISALBERTI (1979) e MARCUCCI (1995), tais como propriedades imunogênicas; propriedades anestésicas; regeneração de tecido cartilaginoso, de tecido ósseo e de polpa dental; agente hepatoprotetor; ação desintoxicante do fígado; atividade antiúlcera *in vitro*; agente antioxidante; anticânceres em ratos e ação imunomoduladora.

A própolis possui propriedades anti-inflamatórias que foram descritas, principalmente, contra doenças do sistema muscular/articular e outros tipos de inflamações, infecções, reumatismos e torções. Essa propriedade observada na própolis parece ser devida à presença de flavonoides, em particular a galangina. Este flavonoide apresenta atividade inibitória contra a ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase. Tem sido relatado também que o ácido fenil éster caféico, possui atividade antiinflamatória por inibir a liberação de ácido aracdônico da membrana celular, suprimindo as atividades das enzimas COX-1 e COX-2 (BORRELLI *et al.*, 2002). Em estudos, a própolis foi utilizada na dermatologia para cicatrização de ferimentos, regeneração de tecidos, tratamento de queimaduras, neurodermites, eczemas, dermatite de contato, pruridos e dermatófitos (GHISALBERTI, 1979; MARCUCCI, 1995).

A ação bacteriostática e bactericida *in vitro* dos extratos de própolis tem sido testada em diferentes linhagens de bactérias (KORU *et al.*, 2007; ORSI *et al.*, 2005;

TORRES *et al.*, 2000). Diversos trabalhos relataram a atividade sinérgica da própolis associada a inúmeros antibióticos, até mesmo contra cepas resistentes a tetraciclina, benzilpenicilina e eritromicina, podendo ser uma alternativa terapêutica para a resistência microbiana, entretanto deve-se destacar a dependência da composição da própolis (STEPANOVIC *et al.*, 2003; FERNANDES *et al.*, 2005; ONLEN *et al.*, 2007). Os trabalhos apontam uma acentuada atividade da própolis principalmente contra bactérias Gram-positivas e ação limitada contra Gram-negativas. A menor sensibilidade das Gram-negativas deve-se provavelmente às diferenças na constituição química da parede celular destas bactérias ou também possuir um teor lipídico maior, o que pode explicar essa maior resistência (MARCUCCI *et al.*, 2001; PINTO *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2006; VARGAS *et al.*, 2004;). Pesquisas evidenciam ação inibitória da própolis contra as bactérias Grampositivas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus* sp. e *Micobacterium* sp., e as Gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* e *Klebsiella* (VARGAS *et al.*, 2004; FERNANDES JR *et al.*, 1997).

Foi investigada *in vitro* também a atividade fungicida deste produto, sendo efetiva em vários fungos, como por exemplo, contra o *Candida albicans* (LUSTOSA *et al.*, 2008). A ação antifúngica e antibacteriana da própolis é dada principalmente à presença de flavonoides, como à flavona pinocembrina, o flavonol galangina e ao CAPE, juntamente com ácidos fenólicos e ésteres, aldeídos fenólicos e cetonas (UZEL *et al.*, 2005).

### 3.4 Tipos de própolis

A própolis possui odores e colorações específicas que dependem da origem geográfica e da fonte vegetal coletada para sua elaboração. Elas variam entre o amarelo, verde, vermelho intenso, marrom e preto, e tais características servem para categorizá-las (BANKOVA *et al.*, 2000; ALENCAR *et al.*, 2007; CABRAL *et al.*, 2009; HODEL *et al.*, 2020). Em território brasileiro, treze diferentes tipos de própolis já foram classificados, baseando-se na sua composição físico-química e por sua origem botânica (Tabela 1) (PARK *et al.*, 2002; TRUSHEVA *et al.*, 2006; ALENCAR *et al.*, 2007; DAUGSCH *et al.*, 2008). Porém, atualmente, somente a própolis marrom, verde e vermelha são comercializadas, devido às suas propriedades ligadas diretamente aos compostos fenólicos, principalmente a classe dos flavonoides.

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

<b>Própolis</b>	<b>Cor</b>	<b>Principais constituintes</b>	<b>Origem</b>
<b>Tipo 1</b>	Amarela	Triterpenoides	Região Sul
<b>Tipo 2</b>	Castanho claro	Flavonoides e derivados de ácido cinâmico	Região Sul
<b>Tipo 3</b>	Castanho escuro	Ácido caféico, flavonoides, crisina e galangina	Região Sul
<b>Tipo 4</b>	Castanho claro	Ácido cinâmico e derivados	Região Sul
<b>Tipo 5</b>	Marrom esverdeado	Flavonoides e derivados de ácido cinâmico	Região Sul
<b>Tipo 6</b>	Marrom avermelhado	Ácidos graxos, compostos aromáticos, terpenoides e flavonoides	Região Nordeste
<b>Tipo 7</b>	Marrom esverdeado	Flavonoides e derivados de ácido benzoico	Região Nordeste
<b>Tipo 8</b>	Castanho escuro	Flavonoides e derivados de ácido benzoico	Região Nordeste
<b>Tipo 9</b>	Amarelo	Derivados de ácido cinâmico	Região Nordeste
<b>Tipo 10</b>	Castanho escuro	Sesquiterpenos	Região Nordeste
<b>Tipo 11</b>	Amarelo	Diterpênios	Região Nordeste
<b>Tipo 12</b>	Verde e Marrom esverdeado	Compostos fenólicos, flavonoides, artemisinina, C <sub>15</sub> bacarina, flavona, cetona, aldeídos aromáticos, alcoóis, terpenos, ácidos graxos	Região Sudeste
<b>Tipo 13</b>	Vermelha	Compostos fenólicos, flavonoides, formononetina, pinocembrina, rutina, quercetina, ácido ferúlico	Região Nordeste

Fonte: adaptado de PARK et al., 2002 e Franchin et al., 2017.

As propriedades farmacológicas da própolis são principalmente atribuídas à presença de flavonoides. A opinião prevalente dentro do amplo espectro de atividades biológicas dos flavonoides está relacionada, ao menos em parte, a sua habilidade de proteção contra os danos causados pelos radicais livres. De fato, esses polifenóis têm demonstrado interferir não apenas na propagação da reação, mas também na formação de radicais livres, tanto quelando os metais de transição quanto

pela inibição de enzimas envolvidas na inicialização da reação (RUSSO *et al.*, 2002).

Dentre os compostos fenólicos, a catequina possui várias atividades biológicas dentre elas: a diminuição do nível de triglicerídeos, inibição da síntese de prostaglandinas, atividade antiviral, anti-inflamatória, antioxidante e anticoagulante. A catequina diminui a concentração plasmática do colesterol, enquanto a quercetina tem atividade hipolipêmica (CHOI *et al.*, 1991). Entre as atividades terapêuticas da rutina, está a melhora nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos associados com algumas doenças hemorrágicas ou de hipertensão, por possibilitar a normalização da resistência e permeabilidade da parede destes vasos (PATHAK *et al.*, 1991). A galangina, constituinte da própolis europeia, apresenta capacidade anti-peroxidativa e também potente ação redutora de radicais livres (RUSSO *et al.*, 2002).

Park *et al.* (2002) diferenciam a origem botânica de três tipos de própolis, sendo eles os primeiros a descrever os perfis químicos da própolis brasileira e comparar com suas respectivas fontes de plantas. A tipo 3, conhecida por própolis de álamo, que é quimicamente semelhante a Poplar (*Populus L.*, família Salicaceae); a tipo 6, própolis marrom, que é quimicamente similar à árvore de *Hyptis divaricata*; e a tipo 12, própolis verde, que é semelhante à árvore *Baccharis dracunculifolia* (FRANCHIN *et al.* 2017).

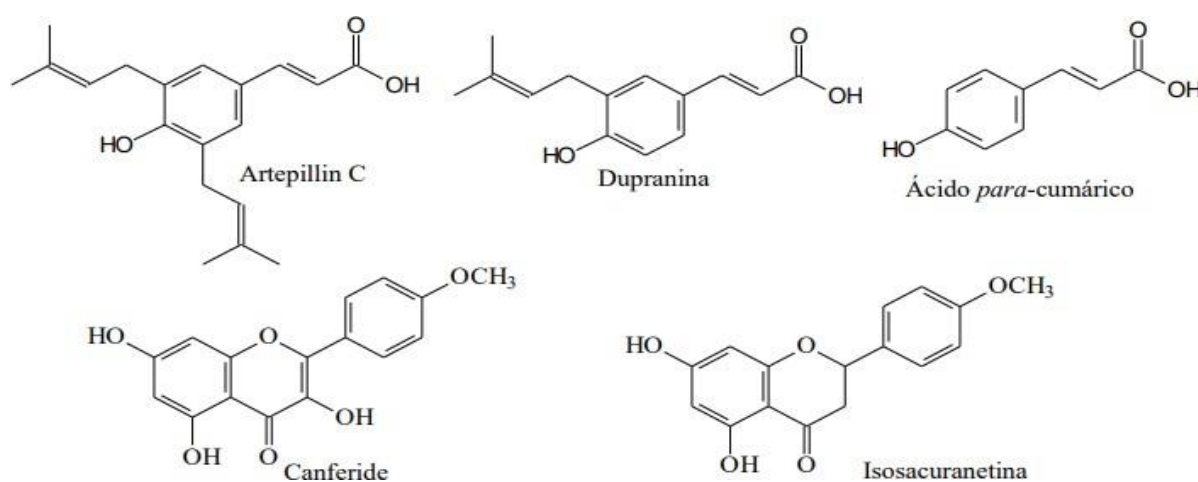
Em 2007 foi identificada a própolis tipo 13, própolis vermelha, produzida em Alagoas. A própolis vermelha é típica de Venezuela e da Cuba onde as origens botânicas foram identificadas como *Clusia nemorosa* e *Clusia scrobiculata* respectivamente (TRUSHEVA *et al.*, 2006). Já a principal origem botânica da própolis vermelha de Alagoas foi identificada como *Dalbergia ecastophyllum*, popularmente conhecida como rabo-de-bugio, encontrada ao longo da praia e região do mangue do nordeste do Brasil (SILVA *et al.*, 2007).

### 3.5 Própolis Verde

Dentre os tipos de própolis brasileira, a mais popular e bem estudada é a própolis verde, também denominada própolis alecrim a qual origina-se de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), é a mais comercializada devido aos mais de 70 compostos químicos diferentes encontrados, alguns isolados e testados com sucesso

no tratamento de câncer (BASTOS, 1998; OLIVEIRA & BASTOS, 1998; BASTOS & OLIVEIRA, 2000; PARK et al., 2002). Nos relatos existentes sobre sua composição destacam-se, derivados prenilados do ácido para-cumárico, como por exemplo, Artepillin C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico) e drupanina (ácido 3-prenil para-cumárico), além dos ácidos benzóico e clorogênico, e flavonoides (SALATINO *et al.*, 2005, SALGUEIRO e CASTRO, 2016). Na Figura 4 estão representadas algumas substâncias características da própolis verde.

Figura 4 – Algumas substâncias encontradas em própolis verde



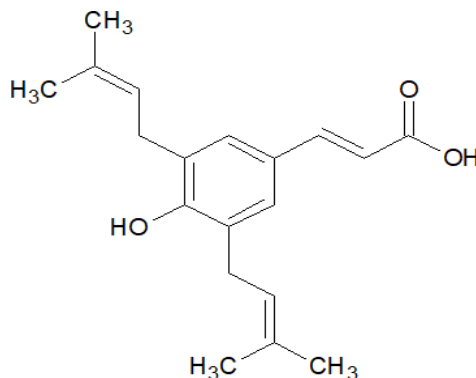
Fonte: Salatino *et al.*, 2005, Salgueiro e Castro, 2016.

Nos estados de Minas Gerais e São Paulo, a própolis verde brasileira produzida é constituída principalmente de derivados prenilados do ácido *p*-cumárico e possui grande quantidade de flavonoides, muitos dos quais não estão presentes em própolis da Europa, América do Norte e Ásia (SIMÕES *et al.*, 2004). Em análises realizadas para o controle de qualidade físico-químico, em estudos de Sousa *et al.* (2007), de amostras de própolis provenientes de seis diferentes localidades de São Paulo e Minas Gerais, correlacionaram a qualidade das amostras de própolis verde dessas regiões com a presença dos ácidos caféico e para-cumárico que foram identificados e quantificados por CLAE-DAD, além dos ácido 3-prenil-para-cumárico (drupanina), ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C) e ácido 3-prenil-4-diidrocinamoiloxi-cinâmico (bacarina), utilizando padrões isolados de amostras de própolis verde de estudos anteriores de Gregório (2003) e Da Silva Filho (2006).

Ultimamente, análises têm se concentrado nos extratos aquoso e etanólico, porque são os mais usados nos diversos tipos de aplicações terapêuticas (SOARES

*et al.*, 2006; TAVARES *et al.*, 2006). A técnica mais utilizada para a identificação dos constituintes nesses extratos é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), acoplada a um detector UV/VIS, para identificar as moléculas que estão neles solubilizadas, principalmente o artepilin C, que é um constituinte químico característico presente na própolis verde, substância fenólica de baixo peso molecular encontrado somente na própolis brasileira. Diversos trabalhos na literatura relatam as principais propriedades biológicas desta substância como, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antitumoral e antioxidante (NOBUSH *et al.*, 2012, SZLISZKA, *et al.*, 2013; SALGUEIRO e CASTRO, 2016). Assim, a presença de Artepillin C (Figura 5), (ácido 3,5-diprenil-pcumárico) na própolis verde confere à mesma não só um alto valor terapêutico, mas também um alto valor comercial em relação à própolis chamada de “comum” (própolis marrom) no mercado nacional e internacional.

Figura 5 – Estrutura química do Artepillin C



Fonte: elaborado pela autora

### 3.6 Própolis Vermelha

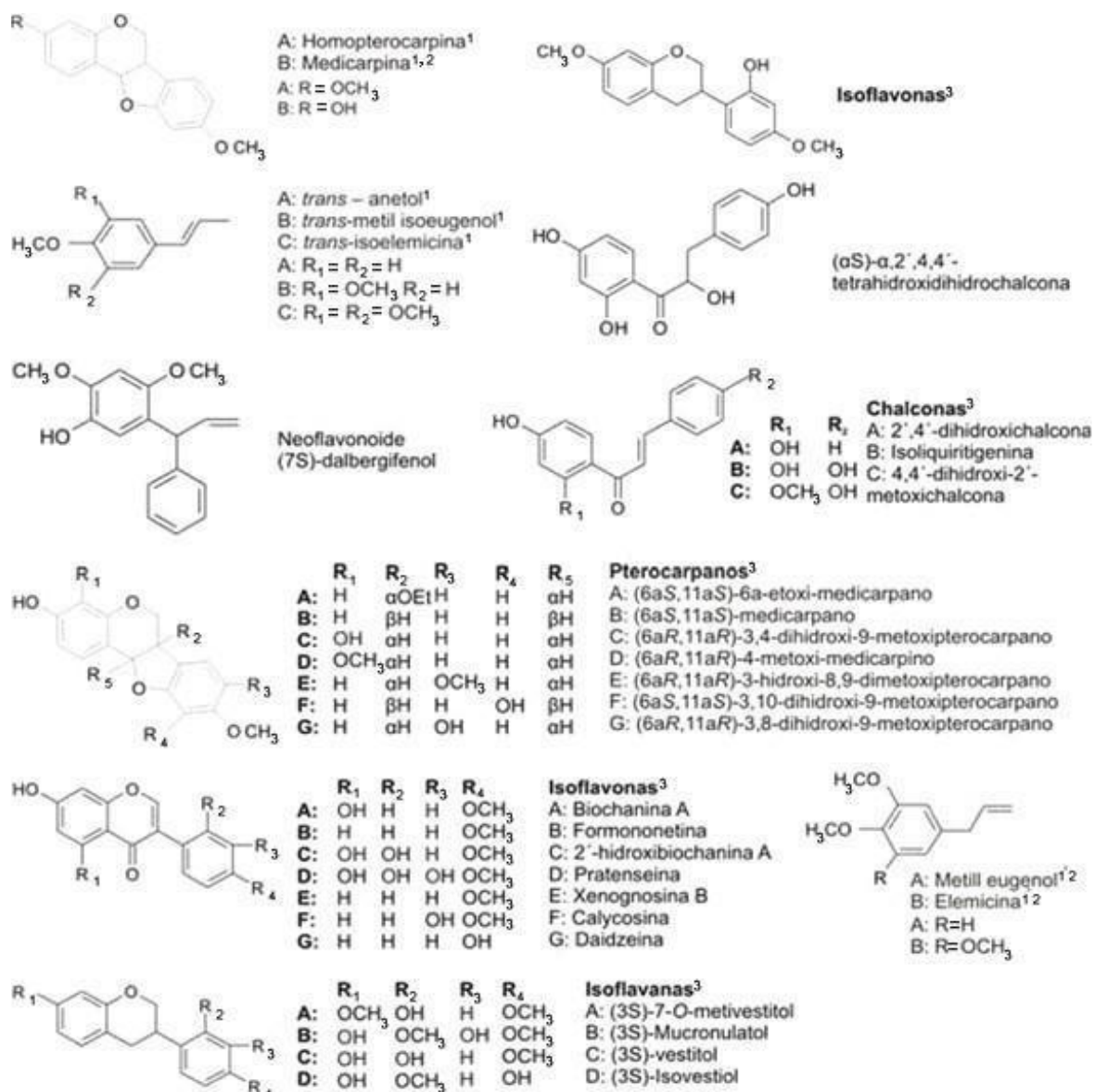
A própolis vermelha caracteriza-se por ter como origem botânica a resina da espécie *Dalbergia ecastophyllum* (L.), popularmente conhecida como rabo-de-bugio ou marmelo-do-mangue, uma espécie de leguminosa da família Fabaceae (LÓPEZ *et al.*, 2014). Por serem os isoflavonoides típicos da família Fabaceae, alguns estudos sugeriram que estes poderiam ser usados como marcadores da origem botânica desse produto (SILVA *et al.*, 2007).

Esta espécie é conhecida no Brasil, por seu pigmento vermelho intenso

(PICCINELLI *et al.*, 2011). As abelhas *A.mellifera* coletam o exsudato vermelho dos orifícios feitos por insetos na superfície do tronco de *D. ecastophyllum* para fabricar a própolis (BUENO-SILVA *et al.*, 2013).

A própolis vermelha possui uma composição química específica e apresenta novos componentes nunca antes reportados em outras variedades de própolis, responsáveis por inúmeras atividades biológicas. Sendo a maioria dessas substâncias, compostos fenólicos pertencentes a classe isoflavonóides, chalconas e benzefenonas, principalmente, vestiol, medicarpia e isoliquiretigenina (Figura 6), compostos estes que não são encontrados em outras própolis (WANG *et al.*, 2004; MILITAO *et al.*, 2005; RUFER; KULLING, 2006; ALENCAR *et al.*, 2007; PICCINELLI *et al.*, 2011; BUENO-SILVA *et al.*, 2013).

Figura 6 - Constituintes químicos da própolis vermelha do nordeste de Brasil



Fonte: Lustosa, 2008.

Alencar *et al.* (2007) identificaram outros 20 compostos na própolis vermelha de Alagoas, sendo que sete deles (metil-o-arselinato; metil abietato; 2,4,6-trimetilfenol; homopterocarpina; medicarpina; 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol e 7,4'-diidroxiflavona) foram identificados pela primeira vez em amostras de própolis brasileiras. Pelo menos 3 isoflavonóides, tais como a homopterocarpina, medicarpina e 4',7-dimetoxi-2'-isoflavonol apresentaram-se como os compostos majoritários. A própolis vermelha produzida no Brasil tem uma composição química semelhante a um tipo específico de própolis vermelha cubana, produzida na província de Pinar Del Rio.

As duas, possuem em comum dois isoflavonóides, a homopterocarpina e a medicarpina (PICCINELLI, *et al.*, 2005; ALENCAR *et al.*, 2007) e duas isoflavonas, a formononetina e a biochanina (PICCINELLI *et al.*, 2005). Além destes compostos, outros 7 isoflavonóides foram encontrados nesta amostra de própolis cubana sendo três isoflavanos e outras quatro pterocarpanas. Trusheva *et al.* (2006) também observaram a presença de isoflavonóides na própolis vermelha. Além destes autores, Oldoni (2007) identificou dois isoflavonóides metilados de alta atividade antioxidante da própolis vermelha brasileira. Um deles, identificado como vestitol, também já foi isolado da própolis vermelha cubana (PICCINELLI *et al.*, 2005).

Os isoflavonóides são metabólitos secundários de plantas com variados efeitos biológicos e farmacológicos (OLDONI *et al.*, 2011). A formononetina, um isoflavonóide com atividade estrogênica, antiradical e antifúngica foi encontrado em maior quantidade em amostras de própolis vermelha da Paraíba. Essa isoflavona, quando consumida por mamíferos, é metabolizada em daidzeína que é um isoflavonóide presente na soja usado no tratamento de câncer de mama e próstata (MORAES, 2009). A atividade antioxidante desta substância está relacionada à prevenção da formação, neutralização e remoção de radicais livres associado à inibição da cadeia de reações oxidativas pela própolis vermelha (FROZZA *et al.*, 2013).

Em relação à atividade antifúngica, o efeito da própolis vermelha parece estar associado ao dano causado na membrana fúngica, afetando o ergosterol da membrana e alterando sua permeabilidade (PIPPI *et al.*, 2015). Quanto aos efeitos anti-inflamatórios e imunomodulatórios, têm-se estudado diferentes modelos de estudo agudo e crônico utilizando a própolis vermelha. A inibição da prostaglandina, inibição de prostanoídes (especialmente PGE2) e citocinas pro-inflamatórias (LUSTOSA *et al.*, 2008), redução da atividade da via do óxido nítrico (NOS), redução da adesão leucocitária (BUENO-SILVA *et al.*, 2013) e da atividade enzimática durante o processo de cura e inibição do TNF- $\alpha$  devem ser considerados como diferentes mecanismos utilizados por esta substância.

No entanto, esses constituintes e sua atividade farmacológica podem variar largamente de região para região de acordo com a flora local, época de coleta e método de extração (PARK *et al.*, 2002; MASSARO *et al.*, 2014).

### 3.7 Parâmetros de Qualidade

A partir do início da década de 90, a demanda crescente no consumo da própolis como suplemento alimentar, vem exigindo o estabelecimento de normas de controle de qualidade, até então inexistentes, principalmente para atender e competir no mercado internacional (Brasil, 2001), onde a própolis brasileira tem como principais destinos os mercados do Japão, Coreia do Sul, Taiwan, Omã, Tailândia, China e Estados Unidos. Cerca de 90% da produção são voltados para o mercado externo (DIÁRIO DO COMÉRCIO, 2019).

As exigências internacionais para a qualidade dos produtos apícolas obrigaram o Brasil a estabelecer normas para definir padrões mínimos de qualidade para comercialização destes produtos. Tanto a própolis bruta quanto o extrato de própolis devem atender a algumas especificações, conforme Ministério da Agricultura e Abastecimento.

Muitos produtos à base de própolis comercializados no Brasil possuem registro no Ministério da Agricultura, que preconiza os limites para fixação de identidade e qualidade da própolis na Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Algumas dessas especificações são características físico-químicas como teor de umidade (máximo de 8% m/m), determinação de cinzas (máximo 5% m/m), teor máximo de cera do extrato seco (máximo 1% m/m), teor mínimo de flavonoides (0,25% m/m), teor mínimo de compostos fenólicos (0,50% m/m), propriedades antioxidantes (máximo 22 segundos), dentre outras (BRASIL, 2001).

### 3.8 Acerola (*Malpighia emarginata*, D. C.)

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C) é uma fruta das Américas, com as maiores plantações do Brasil (MALEGORI *et al*, 2017). O sabor agradável e o alto teor de compostos antioxidantes como ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos incluindo flavonóides e antocianinas aumentaram seu consumo como fruta fresca ou em produtos industrializados como polpas, sucos, geleias, cremes, xaropes e licores. (BELWAL *et al.*, 2018; SILVA, DUARTE e BARROZO, 2016).

Além do valor nutricional, a acerola possui polpa suculenta e refrescante, sabor azedo e característico, além de propriedades sensoriais adequadas para

elaboração de sucos e bebidas fermentadas (CAPPATO *et al*, 2018).

Porém, a Acerola é uma fruta climática e perecível que requer comercialização e processamento rápido e habilidoso. Neste último, as etapas dos processos térmicos relacionados à transferência de calor (aquecimento, resfriamento e congelamento) exigem dimensões e condições que favoreçam a preservação dos nutrientes e das propriedades sensoriais (PEREIRA, RESENDE e GIAROLA, 2014).

### **3.8.1 Características físicas, físico-químicas e nutricionais da acerola.**

Os frutos da aceroleira variam em tamanho, formato e peso. A forma pode ser oval ou subglobosa, com formato trilobado. A casca (epicarpo) é uma membrana fina e delicada, o mesocarpo ou polpa representa 70 a 80% do peso total do fruto e o endocarpo é constituído por três caroços unidos, com textura pergaminácea, que dão ao fruto o aspecto trilobado. Cada caroço pode conter no seu interior uma semente, com 3 a 5 mm de comprimento, de forma ovóide e com dois cotilédones (ALMEIDA *et al.*, 2002). O tamanho do fruto varia de 1 a 2,5 cm de diâmetro e o peso de 3 a 15 g. Quanto à cor, os frutos maduros podem apresentar diferentes tonalidades, que vão do amarelo ao vermelho intenso ou roxo. Seu sabor varia de levemente ácido a muito ácido (ADRIANO, 2011). Trata-se de um fruto climatérico, ou seja, pode amadurecer na planta ou após a colheita, quando colhido imaturo (NOGUEIRA, 2002).

Diferentes parâmetros podem ser utilizados para avaliar a qualidade dos frutos, sejam eles físicos (peso, comprimento, diâmetro, forma, cor e firmeza) ou químicos (sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e outros), que são influenciados pelos seguintes fatores: condições edafoclimáticas, variedade, época e local de colheita, tratamentos de cultivo, manejo durante e após a colheita e exigências do mercado consumidor (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001).

Além disso, é um alimento de baixo valor calórico, características que têm valorizado o produto no mercado e provocado aumento de consumo (RITZINGER; RITZINGER, 2011). Como fonte de vitamina C, a acerola supera frutos como a goiaba, a laranja, o limão e o caju (KNIGHT, 1980). Como fonte nutricional é capaz de suprir as necessidades diárias de vitamina C de uma pessoa adulta normal (45mg), com apenas 3 frutos médios (BLISKA; LEITE, 1995). Segundo Aranha *et al* (2004), foi observado que o consumo de acerola, 500 mg de vitamina C, durante 20 dias foi satisfatório na normalização dos níveis séricos desta vitamina em idosos.

### 3.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Para a separação de componentes de uma mistura complexa pode ser utilizada a técnica de cromatografia. Nessa técnica a separação acontece pela passagem diferencial dos componentes na fase estacionária, enquanto a fase móvel flui através dela. Os componentes que interagem menos com a fase estacionária, se movem rapidamente, enquanto os componentes retidos na fase estacionária se movem lentamente na fase móvel. A análise qualitativa e/ou quantitativa ocorre em função da diferença de velocidade de mobilidade, dos componentes da amostra. (Peres, 2002; Goulart, 2012). Na cromatografia líquida de alta eficiência a distribuição seletiva dos componentes da amostra faz com que as migrações diferenciadas dos compostos permitam a sua identificação (Penteado et al, 2008; Goulart, 2012; Assis, 2015).

A cromatografia pode ser de fase normal ou reversa. O princípio de separação na cromatografia líquida de fase normal se baseia na interação dos grupos funcionais dos respectivos analitos com os sítios polares de adsorção da sílica cromatográfica, ou de grupos polares ligados ou adsorvidos na sílica. O princípio da cromatografia líquida de fase reversa consiste em uma fase estacionária de menor polaridade que a fase móvel (Vigna, 2004). Compostos em alimentos podem ser quantificados pela técnica cromatográfica (Gilbert-López et al, 2012; Xu *et al*, 2012). Como a cromatografia líquida de alta eficiência é considerada uma ótima técnica para a análise de compostos não voláteis, a partir da década de 1980 a sua utilização como ferramenta na análise de flavonoides em *Passiflora* começou a apresentar crescimento. Esse método é considerado versátil, estável, apresenta boa sensibilidade e exatidão, além de boa reprodutibilidade (PEREIRA, 2000; MERKEN, 2000; MCNAIR, 1985), e continua sendo utilizado atualmente.

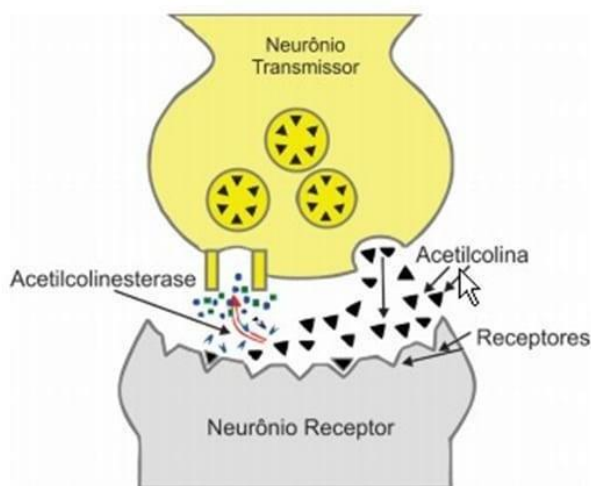
### 3.10 Acetilcolinesterase

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima pertencente à família das colinesterases, sendo responsável pela finalização da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses colinérgicas pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh). A AChE está presente no sistema nervoso central e periférico (Rang, 2001).

Sua função principal de modulação dos impulsos nervosos responsáveis por comunicação neuronal, pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina. Quando exposta aos agrotóxicos, carbamatos e organofosforados a sua ação normal é interrompida (ASSIS, 2011).

A acetilcolina é um neurotransmissor colinérgico (FRAGA, 2010). Em algumas sinapses, age como neurotransmissor excitatório ao se ligar aos receptores ionotrópicos, canais de cátion se abrem. E atua também como neurotransmissor inibitório ao se ligar em receptores metabotrópicos acoplados às proteínas G, canais de  $K^+$  se abrem (TORTORA; DERRICKSON, 2010). Sua degradação, armazenamento e produção acontecem em diferentes seres vivos, como bactérias, protozoários, fungos e plantas (FRAGA, 2010). No Sistema Nervoso, a AChE se comporta como mediador nas sinapses colinérgicas, quebrando o neurotransmissor acetilcolina (Figura 7). A degradação imediata da acetilcolina é essencial para que as transmissões sinápticas colinérgicas ocorram antes da chegada de um novo impulso elétrico (SANTOS, 2009). A retirada da acetilcolina da fenda sináptica é fundamental para o funcionamento normal das sinapses. Caso um neurotransmissor permaneça por um período prolongado na fenda sináptica, o neurônio pós-ganglionar, fibra muscular e célula glandular seriam influenciados (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Figura 7 – Mecanismo de ação da acetilcolinesterase



Fonte: Petronilho *et al.*, 2011.

A hidrólise da ACh ocorre através da catálise da AChE, que é então convertida em colina e acetato com a liberação de um próton. Na membrana pós-sináptica, há conexão com um receptor nicotínico que permite a abertura dos canais

iônicos  $\text{Na}^+$  e a membrana se despolariza, o que aumenta o impulso (SANTOS, 2009). Quando o estímulo despolariza a membrana, os canais iônicos  $\text{Na}^+$  se abrem e o  $\text{Na}^+$  flui para dentro da célula, o que altera o potencial da membrana de -55 mV para +30 mV. O interior da célula torna-se mais positivo que o exterior (TORTORA; DERRICKSON, 2010). Quando a função da AChE é inibida, a hidrólise da ACh não ocorre nas sinapses, levando a um grande acúmulo anormal de ACh, resultando em estimulação severa que leva a mudanças comportamentais, asfixia, hiperatividade e, por fim, morte. Em caso de intoxicação aguda, o sistema nervoso parassimpático, as articulações musculares e o sistema nervoso central são afetados (SANTOS, 2009).

### **3.11 Microencapsulação**

Microencapsulação é a tecnologia de recobrir partículas sólidas ou pequenas gotas de material líquido ou gasoso, formando cápsulas em miniatura, as quais são capazes de liberar seu conteúdo em condições específicas e/ou taxas controladas. Essas microcápsulas podem apresentar dimensões que variam desde frações de micron até vários milímetros, em diferentes formas, dependendo dos materiais e métodos utilizados em sua preparação. O material externo é o agente encapsulante, enquanto o ingrediente interno é o material ativo. A indústria de alimentos utiliza a microencapsulação por várias razões, sendo as principais: Transformar líquidos em sólidos para uso em sistemas secos, reduzir a reatividade do material ativo em relação ao ambiente externo (luz, oxigênio e umidade), diminuir as taxas de evaporação de compostos voláteis ou de transferência de massa do material ativo para o ambiente externo, controlar a liberação do material ativo, retardando-a até o estímulo apropriado, mascarar o sabor e o odor do material ativo e melhorar as condições de manuseio do material ativo através da redução da higroscopicidade e da prevenção da formação de aglomerados (AZEREDO, 2005; MADENE *et al.*, 2006; SANTOS; TRINDADE; GROSSO, 2005; SHAHIDI; HAN, 1993).

### **3.12 Liofilização**

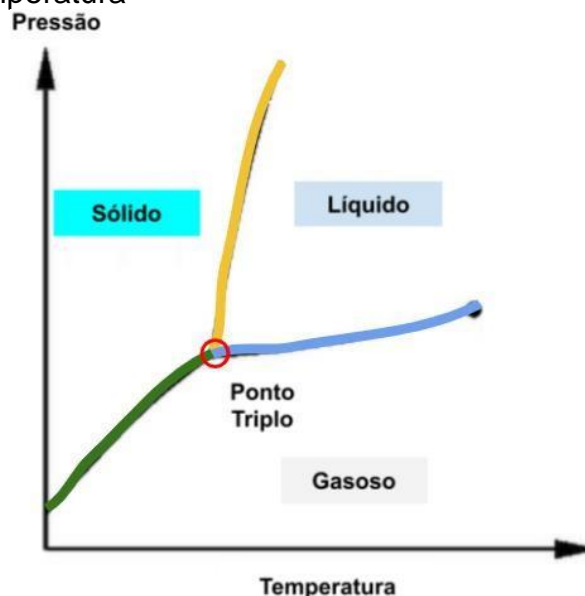
A liofilização é um processo no qual um material congelado é sublimado no vácuo. A eficiência desta técnica está intimamente relacionada às condições de

trabalho e à análise criteriosa das variáveis durante o processamento, o que garante a boa qualidade do produto obtido. Utilizando baixas temperaturas, esta técnica permite a preservação de características sensoriais, como aromas, que são muito afetados pelos processos tradicionais de secagem utilizando altas temperaturas. Entre as vantagens, a liofilização permite uma contração mínima do material a ser seco, sem a formação de camadas duras e impermeáveis (case-hardening), bem como não há migração de sólidos solúveis para a superfície, durante a secagem (VIEIRA *et al.*, 2012)

Além do aroma, a baixa temperatura preserva grande parte dos nutrientes originais, aumentando o valor dos alimentos liofilizados. Por outro lado, os seus custos são em média três vezes superiores aos de outras tecnologias. Portanto, é necessário aumentar pesquisas que possam reduzir custos e tornar esses alimentos mais competitivos comercialmente (VIEIRA *et al.*, 2012).

O método de liofilização baseia-se na retirada de água do alimento através da sublimação, onde o material congelado é submetido a baixas pressões e o produto final costuma apresentar uma umidade final inferior a 3% (CELESTINO, 2010; MARQUES; COSTA, 2015). A secagem por liofilização pode ser dividida em 3 etapas: congelamento, sublimação e dessorção. Na primeira etapa ocorre o congelamento, onde são formados 24 os cristais de gelo e etapa de cristalização que influenciará na estrutura final do produto seco, pois quanto menor forem os cristais de gelo menos danos serão causados ao alimento (MARQUES; COSTA, 2015). No estágio de sublimação ou secagem primária a água congelada é removida por sublimação. E para que isso ocorra, o material congelado deve permanecer a uma temperatura e pressão inferior ao ponto triplo da água (Figura 8). Nessa etapa da liofilização ocorre a grande retirada da água do produto, mas o seu interior continua sob congelamento (MARQUES; COSTA, 2015).

Figura 8 – Diagrama de fases da água e seu estado em função da pressão e temperatura



Fonte: Elias 2022.

Na dessorção é realizada a retirada da água adsorvida nos sólidos do produto, sendo empregadas temperaturas entre 20 a 60 °C. Ao final da liofilização, devido às baixas temperaturas utilizadas o produto pode manter sua estrutura mais preservada (MARQUES; COSTA, 2015). Os produtos liofilizados conseguem atingir alto padrão de qualidade de alimento em pó em relação à cor, sabor e textura. Todavia, seu alto custo e o longo tempo de processamento se tornam fatores que minimizam o uso dessa metodologia (SHOFIAN et al., 2011).

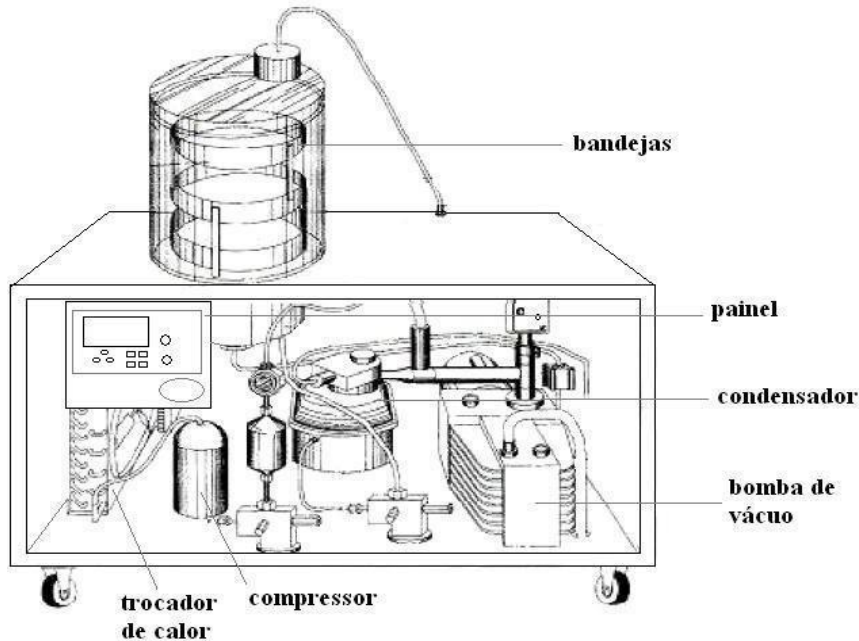
A sublimação evita o efeito de contração (colapso), que ocorre durante a secagem convencional. Ao contrário, ocorre a formação de poros e o formato do produto é mantido, o que facilita e acelera a reidratação, além de manter a aparência do produto desidratado mais semelhante à do material original. O reduzido movimento de solutos evita ainda a ocorrência do case hardening (RATTI, 2001).

O estado vítreo que se forma no congelamento de sucos de frutas e extratos concentrados deve ser evitado, pois torna difícil a retirada de vapor, podendo ser realizado o congelamento dos mesmos na forma de espuma ou com polpa para alcançar as condições necessárias de saída do vapor (FELLOWS, 2006).

O liofilizador é constituído de equipamento de produção de vácuo, câmara de vácuo, sistema de aquecimento do produto, seja por condução ou radiação e condensador para converter o vapor produzido durante a sublimação em gelo (Figura

9) (ORDÓÑEZ, 2005; RODRIGUES, 2008).

Figura 9 – Esquema de um liofilizador de bancada.



Fonte: Ribeiro 2014.

### 3.13 Material de Parede

O material da parede é oriundo de compostos que criam uma rede cuja principal finalidade é a proteção do material do núcleo. Esses compostos geralmente são protetores hidrofílicos e/ou grupos hidrofóbicos, cuja seleção depende do material do núcleo e as características desejadas das microcápsulas, tais como, a natureza e a estabilidade do material a ser encapsulado (CARMO, FERNANDES e BORGES, 2015). Geralmente, são usados polímeros, que podem ser naturais ou sintéticos. Os de origem natural podem ser de quatro origens: vegetal, animal, marinha e microbiana.

Para a formação da microcápsula, em geral um composto polimérico que atua como um filme protetor chamado de agente encapsulante, isola-se a substância ativa (partículas sólidas, gotículas líquidas ou material gasoso) e evita o efeito de sua exposição inadequada. Essa membrana se desfaz sob estímulo específico (CARMO, FERNANDES E BORGES, 2015). Muitos revestimentos têm sido usados para encapsular diferentes tipos de bioativos. Contudo, eles devem ser estáveis e biodegradáveis para evitar a reação com o bioativo e manter a estrutura bioativa, melhorar a sua funcionalidade durante o processamento e armazenagem em condições diferentes.

A escolha do material de parede é um atributo essencial na microencapsulação. Segundo Gharsallaoui *et al.* (2007) e Costa *et al.* (2015), este material tem consequência direta na eficiência da microencapsulação, pois depende do núcleo, da barreira de oxigênio desejada, e a qualidade sensorial do produto final para a alta eficiência da encapsulação, para promover a estabilidade do bioativo durante o armazenamento. Para que possa ter aplicabilidade nos alimentos, o material de parede deve ser biodegradável, de grau alimentar e capaz de formar uma barreira entre o agente ativo e o meio (ZHANG *et al.*, 2015). O método de encapsulação e as propriedades físico-químicas influenciam na natureza do material, dentre elas: peso molecular, solubilidade, difusibilidade, formação de filme e propriedades emulsificantes. Desta forma, o material usado como agente encapsulante deve apresentar características de elevada solubilidade em água baixa viscosidade, baixa higroscopicidade para evitar a aglomeração, fácil manuseamento durante o processo, compatibilidade com o composto ativo, proteção do composto sob condições ambientais adversas, boa capacidade de retenção, ser económico, e apresentar propriedades organoléticas desejadas ou ser neutro no sabor (RAY, RAYCHAUDHURI E CHAKRABORTY, 2016).

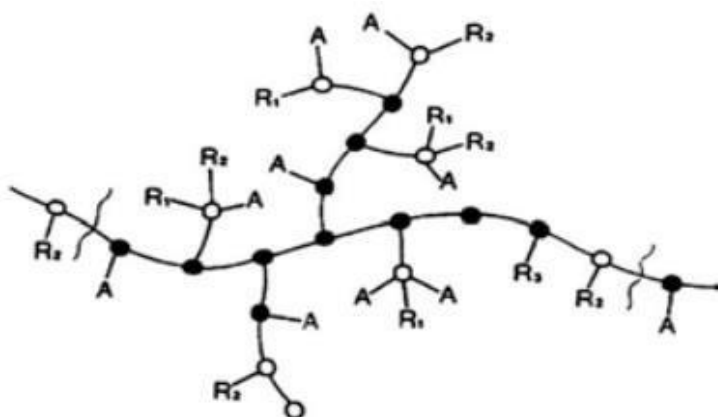
### **3.13.1 Goma Arábica**

A goma arábica, também conhecida como goma acácia, é extraída de espécies de acácia, pertencentes à família das leguminosas. É composta principalmente de glicoproteínas, polissacarídeos e sais de cálcio, magnésio e potássio. Sua cadeia polissacarídica (Figura 10) é composta de ligações de D-galactose com ramificações de L-ramnose, L-arabinose e ácido L-glicurônico (SUKHOTU *et al.*, 2016). Entre todas as gomas usadas na encapsulação, a goma arábica destaca-se devido a sua estrutura molecular, com caráter anfifílico, que permite absorver em superfícies lipofílicas, atuar como colóide protetor, e consequentemente, ser um bom agente formador de película (LOPERA, *et al.*, 2009); essa característica e a resistência a condições físico-químicas, como as ácidas, fazem dela uma boa opção para a microencapsulação de moléculas pouco estáveis em condições ácidas e para o desenho de sistemas de liberação modificada (ZOKTI, *et al.*, 2016). Este material de parede é considerado eficaz para a encapsulação de

gotículas de gordura, visto que satisfaz os papéis tanto de agente tensoativo e de matriz de secagem (IZYDOREZYK; CUI; WANG, 2005; GROSSO; HUBINGER, 2011).

Os produtos obtidos com a goma arábica como material de parede não são higroscópicos, têm rápida liberação do produto (recheio) e dispersão sem afetar a viscosidade destes (BEMILLER; WHISTLER, 2000). Suas aplicações não se restringem à indústria de alimentos, sendo seu uso constantemente relatado na área da saúde e na formação de materiais (SARIKA; NIRMALA, 2016).

Figura 10 – Estrutura molecular da Goma arábica



A: Arabinosil; Radicais baseados em R1: Ramnose; R2: Ácido Glucurônico; R3: Arabinose.

Fonte: ISLAM *et al.*, 1997.

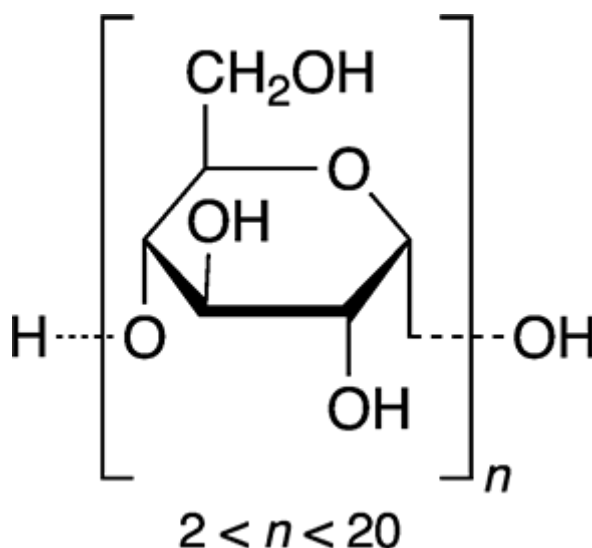
### 3.13.2 Maltodextrina

A maltodextrina  $[(C_6H_{10}O_5)_n H_2O]$  é um polímero de unidades D-glicose ligadas por cadeia  $\alpha$ -1,4 (Figura 11) com peso molecular variado, podendo ser definida também como produto com valores de dextrose equivalente (DE) menores que 20, caso o DE for maior que 20 é denominado de xarope de amido (SANTOS, 2013). Sua obtenção ocorre pela hidrólise enzimática ou ácida do amido ou da fécula. Os hidrolisados são classificados de acordo com a sua DE, que está ligado com o grau de polimerização (DP), isto é, quanto maior o DE menor é o tamanho dos produtos da hidrólise (KENNEDY; KNILL; TAYLOR, 1995). Sua aplicação na microencapsulação ocorre por sua baixa higroscopicidade, alta solubilidade e baixo custo. Em determinados casos mostra efeito antioxidante e boa retenção de substâncias voláteis

(COSTA *et al.*, 2015), exibem também baixa viscosidade (AKHAVAN MAHDAVI *et al.*, 2016).

Este agente também é utilizado na forma de gelificantes e espessantes, previne a cristalização, auxilia na dispersibilidade e controla o congelamento. De modo geral, a maltodextrina é solúvel em água, possui baixa densidade e baixa viscosidade em altas concentrações, é menos higroscópica, não apresenta sabor adocicado ou de amido, além de apresentar baixo custo relativo. A maltodextrina apresenta ainda efeito protetor na oxidação, mostrando retenção de voláteis na faixa de 65 a 80 % (ABURTO; TAVARES; MARTUCCI, 1998; ÓBON *et al.*, 2009; TONON *et al.*, 2009). Características como a solubilidade, higroscopicidade, sabor doce e compressibilidade aumentam com o valor de DE (ALEXANDER, 1992).

Figura 11 – Estrutura molecular da maltodextrina



Fonte: Handbook of pharmaceutical excipients, 2009

As maltodextrinas são usadas principalmente como agente carreador ou encapsulantes em materiais difíceis de secar e para diminuir a pegajosidade e os problemas de aglomeração ao longo do armazenamento, melhorando a estabilidade do produto (BHANDARI; HARTEL, 2005). Esses materiais também são largamente utilizados porque apresentam uma boa relação custo/benefício, além de apresentarem uma baixa viscosidade em altas concentrações e um flavor brando (CLAUDE; UBBINK, 2006).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Etapa 1: Preparo e caracterização da própolis

#### 4.1.1 Coleta e preparo da própolis bruta

A própolis verde (*Bacárisbaccharis dracunculifolia*) e vermelha (*Dalbergia ecastophyllum*) foram coletadas em Quiterianópolis-CE (Latitude: -5.84497, Longitude: -40.6963) e então encaminhadas para o Laboratório de Bioquímica e Tecnologia (LABIOTEC/UECE), onde foram limpas, armazenadas e, posteriormente caracterizadas. Em seguida, elas foram limpas, de forma manual, para a remoção de sujidades (insetos mortos, pedaços de madeiras, folhas), acondicionadas em embalagem plástica e armazenadas sob resfriamento ( $9 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até a realização das análises.

#### 4.1.2 Análises de identidade e qualidade da própolis bruta

Testes de padrão de identidade e qualidade da própolis bruta, de acordo com a Legislação Brasileira Instrução Normativa Nº 03, de 19 de janeiro de 2001, foram utilizados para a caracterização da própolis bruta. Dentre elas, tem-se:

##### 4.1.2.1 Umidade

A metodologia utilizada foi baseada na diferença de massa, antes e após a secagem da amostra em estufa, conforme descrito por Adolfo Lutz (2005). Foram pesados, em triplicata, aproximadamente 5 g das amostras de própolis bruta, em cadinho previamente tarado, os quais foram levados imediatamente para a estufa, a uma temperatura constante de  $105^\circ\text{C}$ , durante 4 horas. Após a secagem, os cadinhos foram retirados da estufa e transferidos para o dessecador, até atingirem a temperatura ambiente. Em seguida, foram realizados os cálculos do percentual de água perdida nas amostras de própolis, utilizando-se a Equação 1.

$$\text{EQUAÇÃO 1:} \quad \text{Umidade (\%)} = \frac{100 - (B - A) \times 100}{p}$$

Onde,

B- massa do cadinho adicionada da amostra após secagem em estufa (g)

A- massa do cadinho sem amostra (g)

p- massa inicial da amostra (g)

#### 4.1.2.2 Determinação de resíduo mineral fixo (cinza)

A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada por gravimetria (IAL, 2005). Pesou-se 1g de amostra de própolis, em um cadinho de porcelana, previamente aquecido em mufla a 550°C, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado (P1). A amostra foi carbonizada em bico de Bunsen com chama baixa e depois foi incinerada em mufla a 550°C, e por fim resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada (P2). A quantificação do percentual de cinzas foi determinada através da Equação 2.

$$\text{EQUAÇÃO 2:} \quad \text{Cinzas (\%)} = \frac{(P2 - P1) \times 100}{W}$$

Onde,

P1- massa do cadinho tarado à 550 °C (g)

P2- massa do cadinho tarado + amostra incinerada à 550 °C (g)

W- massa da amostra de própolis (g)

## 4.2 Etapa 2: Extração e caracterização do extrato da própolis verde e vermelha.

Na Etapa 2, foram obtidos os extratos alcoólicos de própolis verde e vermelha. Testes de padrão de identidade e qualidade do extrato da própolis, de acordo com a Legislação Brasileira Instrução Normativa Nº 03, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), foram utilizados para a caracterização do extrato obtido.

### 4.2.1 Obtenção do Extrato das Amostras de Própolis Verde e Vermelha (EHAG).

Para obtenção dos extratos, aproximadamente 2,5 gramas da amostra triturada (P1) foram colocadas em cartucho de celulose previamente seco em estufa, resfriado em dessecador e pesado, em seguida coberto com algodão e levado ao extrator Soxhlet onde permaneceu por oito horas em refluxo com 170 ml de álcool etílico de grau alcoólico 99,8 °GL (WOISKY, R.G.; SALATINO; 1998). Após resfriamento, a mistura contida no balão foi adicionada em um frasco de vidro e colocada na geladeira. Após 24 horas, o frasco foi retirado do refrigerador, para análise posterior do teor de ceras. Transferiu-se o extrato etanólico para um balão volumétrico depois da retirada da cera por filtração, usando papel filtro nº4 previamente seco e pesado, completou-se o volume e acondicionou-se em refrigeração para uso nas demais análises.

#### **4.2.2 Análises de identidade e qualidade do extrato da própolis**

##### **4.2.2.1 Determinação de Cera**

O teor de cera foi determinado seguindo o método descrito por Funari e Ferro (2006). Uma alíquota de 1,0 g (P1) de cada amostra de própolis, previamente triturada, foi pesada em cartucho de celulose e extraída em aparelho Soxhlet com 110 mL etanol absoluto por 8 horas. Após este processo, o extrato obtido foi a 5°C por 24 horas. Em seguida, foi realizada uma filtração a frio através de papel de filtro, previamente pesado (P2). O papel de filtro foi seco em estufa a 105° e em seguida colocado em um dessecador até o peso constante. Após a filtração, o papel foi novamente pesado (P3). Os resultados foram expressos em g/100g de amostra e calculados de acordo com a Equação 3.

Cálculo da porcentagem de cera:

$$EQUAÇÃO 3: \quad Cera (\%) = \frac{(P3 - P2) \times 100}{P1}$$

Onde,

P1- massa inicial da amostra (g)

P2- massa do papel de filtro (g)

P3- massa do papel de filtro + cera (g)

#### 4.2.2.2 Determinação de substâncias solúveis em etanol

A partir do extrato etanólico da própolis (EEP) obtido no item 4.1, foi determinada a quantidade de substâncias solúveis em etanol. Em pesa-filtro previamente tarado, foram pesados 3,0g de extrato etanólico. A amostra foi evaporada até a secura em banho-maria, sob agitação ocasional e em seguida o resíduo foi seco em estufa a temperatura de 105°C até peso constante (FUNARI E FERRO, 2006). Os resultados foram expressos em g/100g de amostra e calculados de acordo com a Equação 4:

$$\text{EQUAÇÃO 4:} \quad \text{Sólidos solúveis (\%)} = \frac{Ps2 - Ps1 \times 100}{W}$$

Onde,

Ps1- peso inicial da cápsula (g)

Ps2- peso final da cápsula (g)

W- peso da amostra de própolis bruta, correspondente a alíquota de 5 mL do extrato (g)

#### 4.2.2.3 Massa mecânica (resíduo insolúvel em etanol)

Fundamentou-se na medida gravimétrica do teor de sólidos insolúveis em etanol em amostras de própolis (BRASIL, 2001). Retirou o conjunto cartucho mais papel, previamente pesados (P1), com o resíduo insolúvel de própolis do extrator Soxhlet, depositou-se a amostra em um vidro relógio e levou para a capela de exaustão por 1 hora. Depois secou o conjunto em estufa a 105 °C por 2 horas, em seguida retirou-se o conjunto da estufa e deixou-se esfriar em um dessecador por aproximadamente 30 minutos. Por último, pesou-se o conjunto (P2). O cálculo do teor de resíduo insolúvel segue conforme a Equação 5.

$$\text{EQUAÇÃO 5:} \quad \text{Resíduos insolúveis (\%)} = \frac{(P2 - P1) \times 100}{W}$$

Onde,

P1- massa do conjunto (cartucho + papel) (g)

P2- massa do conjunto (cartucho + papel + resíduo insolúvel) (g)

W- massa da própolis

#### *4.2.2.5 Determinação de compostos fenólicos totais*

O teor de compostos fenólicos totais no extrato de própolis verde e vermelha foi determinado utilizando a metodologia de Singleton e Rossi (1965), que é baseada na reação do Folin-Ciocalteu. Preparou-se uma alíquota de 0,5mL de cada amostra, previamente diluída em etanol (95%) nas concentrações 1:10 ( $m/v^{-1}$ ), adicionou-se 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi aquecida em banho-maria a 50°C por 5 minutos e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro UV/Vis a 765 nm. Uma curva padrão de ácido gálico com concentrações (2, 4, 6 e 8  $\mu\text{g/mL}$ ) foi obtida nas mesmas condições e a quantidade de compostos fenólicos totais foi expressa como equivalentes de ácido gálico por grama de amostra ( $\text{mgGAE.g}^{-1}$ ).

#### *4.2.2.6 Determinação de flavonoides totais*

Para a determinação do teor total de flavonoides foi utilizado o método proposto por Francis (1989). Inicialmente 2,0 mL de cada amostra, previamente diluída em etanol (95%) nas concentrações de 1:10 ( $m.v^{-1}$ ), e acrescentados 2,0 mL de solução metanólica de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) a 2%. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em um agitador vortex e acondicionadas sob o abrigo da luz por 30 minutos e posteriormente foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV/Vis no comprimento de onda de 415 nm. Uma curva padrão de quercetina com concentrações (5, 10, 20 e 40  $\mu\text{g/mL}$ ) foi obtida nas mesmas condições e a quantidade de flavonoides totais foram expressas como equivalentes de quercetina por grama de amostra ( $\text{mgQE.g}^{-1}$ ).

#### *4.2.2.7 Determinação da atividade antioxidante*

A quantificação de atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH foi realizada segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995).

Onde, adicionou-se a 0,5 mL do EEP (1:50), 3 mL de etanol P.A e 0,3 mL da solução do radical DPPH 0,5 mmol L<sup>-1</sup> em etanol P.A. A mistura permaneceu por um período de 45 minutos ao abrigo da luz e temperatura ambiente e posteriormente foi realizada a leitura em 517 nm no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de Trolox por grama de própolis ( $\mu\text{mol}$  de Trolox/g própolis). A curva padrão foi construída a partir do antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 15, 25, 50, 75 e 100  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

#### *4.2.2.8 Teste de estabilidade dos extratos*

Os extratos foram avaliados quanto à estabilidade através da atividade antioxidante pelo método do DPPH. Efetuou-se testes para o teor da atividade antioxidante em um intervalo de (0,5,10,15) dias. O extrato de própolis que obteve melhor estabilidade nos dias analisados, foi selecionado para a obtenção de partículas incorporadas com polpa de acerola comercial e materiais de parede goma arábica e maltodextrina.

### **4.3 Identificação dos constituintes químicos através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).**

#### **4.3.1 Preparação dos padrões**

Os padrões analíticos foram adquiridos na Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA) e isolados no LPQN/UECE. Os solventes usados para a extração foram de grau analítico (Vetec®), nas análises os solventes utilizados foram de grau HPLC (J.T. BAKER®). A água foi purificada com um sistema Milli-Q (UV Direct3). Todas as amostras e soluções preparadas para análises por HPLC foram filtradas em membrana de náilon de 0,45  $\mu\text{m}$  e filtro de membrana de 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore), respectivamente, antes do uso. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### **4.4 Atividade Antiacetilcolinesterase**

A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi aferida em placas de 96 poços de fundo chato utilizando leitor Elisa BIOTEK, modelo ELX 800,

software “Gen5 V2.04.11”, baseando-se na metodologia descrita por ELLMAN *et al.* (1961). A porcentagem de inibição da acetilcolinesterase foi calculada através da comparação das velocidades de reação (hidrólise do substrato) das amostras em relação ao branco (considerada atividade total da AChE, 100%). O padrão utilizado como controle positivo é a fisostigmina.

#### 4.5 Análises físico-químicas da polpa integral de acerola

A caracterização da polpa integral de acerola foi realizada no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos e Secagem da Universidade Federal do Ceará. Para realização das análises das polpas, as mesmas foram previamente descongeladas em temperatura de refrigeração ( $8^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). As análises, realizadas em triplicata, foram: teor de compostos fenólicos, flavonoides, atividade antioxidante, atividade antiacetilcolinesterase, seguindo as metodologias descritas nos itens: 4.2.2.5, 4.2.2.6, 4.2.2.7 e 4.4, respectivamente, umidade e cor, sendo as duas últimas análises descritas abaixo:

##### 4.5.1 Umidade

Determinada por dessecação em estufa a vácuo segundo item 013/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008), que consiste pesar 2,0g da amostra em cápsula, tarada previamente uma hora antes em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$ , e aquecer durante 6 horas em estufa a vácuo a  $70^{\circ}\text{C}$ , sob pressão reduzida  $\leq 100$  mm de mercúrio (13,3 kPa), e após resfriar em dessecador até a temperatura ambiente, pesar até peso constante. A umidade foi expressa em porcentagem e calculada através da Equação 6:

Equação 6:

*Umidade (%) =*

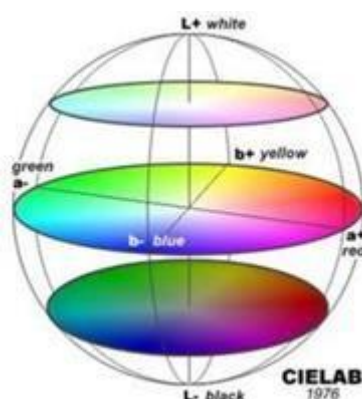
$$\frac{(\text{peso da cápsula} + \text{peso da amostra úmida}) - (\text{peso da cápsula} + \text{peso amostra seca}) \times 100}{\text{peso da amostra úmida}}$$

##### 4.5.2 Cor

A determinação dos parâmetros colorimétricos da polpa de acerola integral foi realizada usando um colorímetro Konica Minolta spectrophotometer modelo

CR410, com determinação no modo CIE lab mostrado na figura 12, conforme orientação do fabricante.

Figura 12 - Coordenadas do sistema CIE lab de cor.



Fonte: Hunter Lab (1976)

Segundo Alves (2008) a coordenada  $L^*$  representa a luminosidade da amostra, cujos valores oscilam do 0 (preto) a 100 (branco). A coordenada de cromaticidade  $a^*$  pode assumir valores de -80 (verde) a +100 (vermelho), a coordenada de cromaticidade  $b^*$  pode variar de -50 (azul) a +70 (amarelo).

#### 4.6 ETAPA 3: Preparação, secagem e caracterização das microcápsulas

Foram desenvolvidas nove formulações, à base de goma arábica e maltodextrina, incorporadas com polpa de acerola comercial e o extrato de própolis verde que apresentou melhor estabilidade frente a atividade antioxidante (Tabela 1). As partículas foram caracterizadas quanto à determinação dos compostos fenólicos, flavonóides, atividade antioxidante, atividade antiacetilcolinesterase, umidade, higroscopicidade e solubilidade.

##### 4.6.1 Preparação de formulações de carreadores de própolis

Soluções dos carreadores goma arábica (GA) e a Maltodextrina foram preparadas na concentração de 16g de material de parede/100g de solução. Para a polpa comercial, manteve-se constante 75% de solução em todos os ensaios. Das nove formulações, as amostras F1, F4 e F7 foram feitas com o material de parede

maltodextrina, as amostras F2, F5 e F8 com os materiais de parede goma arábica e maltodextrina em iguais proporções e por último as amostras F3, F6 e F9 com o material de parede puro de goma arábica. Todos os ensaios foram incorporados com 5%, 2,5% e 7,5% de extrato de própolis verde, respectivamente, de acordo com a Tabela 2. Nas emulsões, foi utilizado 20% de sólidos nas formulações para as paredes das partículas. Os ensaios foram preparados da seguinte forma: 16g dos materiais encapsulantes foram misturados em 80g de polpa comercial sob agitação de 30 a 40 minutos. Após a diluição, adicionou-se extrato de própolis verde, dependendo dos ensaios utilizados, que ficou em agitação por 10 min.

Tabela 2 - Formulações de carreadores de própolis verde submetidas à liofilização

<b>Amostra</b>	<b>Goma arábica (%)</b>	<b>Maltodextrina (%)</b>	<b>Extrato de própolis (%)</b>	<b>Polpa de acerola comercial (%)</b>
<b>F1</b>	-	20	5	75
<b>F2</b>	10	10	5	
<b>F3</b>	20	-	5	
<b>F4</b>	-	20	2,5	
<b>F5</b>	10	10	2,5	
<b>F6</b>	20	-	2,5	
<b>F7</b>	-	20	7,5	
<b>F8</b>	10	10	7,5	
<b>F9</b>	20	-	7,5	

Fonte: elaborado pela autora.

#### **4.6.2 Liofilização das formulações**

As formulações foram acondicionadas em bandejas de aço inox (18 cm de diâmetro), congeladas por 24 horas em ultrafreezer vertical da empresa Terroni Equipamentos Científicos até temperatura -38 °C e, posteriormente, liofilizada em liofilizador modelo LS3000, da empresa Terroni Equipamento Científicos Ltda.

As amostras foram liofilizadas durante 24h a uma pressão de 0,27 mbar a 0,38 mbar e a uma temperatura do condensador de -50°C. As amostras secas foram homogeneizadas em nitrogênio líquido com almofariz e pilão, até a obtenção de pós

finos. As amostras foram acondicionadas em embalagens laminadas submetidas ao vácuo. Essas condições foram escolhidas com base em ensaios preliminares e em resultados de estudos anteriores na literatura (RIBEIRO, 2016).

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

### **4.7.1 Ruptura das microcápsulas**

Primeiramente, 20 mg das micropartículas de extrato de própolis (MEP) foram misturadas com 10 mL de etanol P.A. e centrifugada a 4200 g por 15 min, a 25 °C, sendo realizada conforme descrito por Ghorbanzade *et al.* (2017). Após a separação das fases, o sobrenadante foi sonificado por 10 min, homogeneizado em homogeneizador por 1 min a 12000 rpm e mantido sob agitação por 24h, a 25 °C em banho com água, para que houvesse a liberação dos compostos das micropartículas.

Os extratos obtidos após a ruptura das micropartículas foram utilizados para realizar os ensaios de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante.

#### **4.7.1.1 Determinação do teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante.**

Para a determinação dos compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante na MEP (do item 4.6.1), foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu (descrito no item 4.2.2.5), Cloreto de Alumínio ( $AlCl_3$ ) (descrito no item 4.2.2.6) e o sequestro do radical livre DPPH (descrito no item 4.2.2.7), respectivamente.

#### **4.7.1.2 Atividade Antiacetilcolinesterase**

Para a determinação da atividade antiacetilcolinesterase na MEP (do item 4.5.1) foi utilizado o método antiacetilcolinesterase, descrito no item 4.4.

#### **4.7.1.3 Umidade**

Para a determinação da umidade na MEP (do item 4.5.1) foi utilizado o método por dessecação em estufa a vácuo, descrito no item 4.5.1.

#### *4.7.1.4 Higroscopicidade*

A análise de higroscopicidade foi determinada por meio da pesagem de 1,0 g de pó posteriormente espalhado uniformemente sobre uma placa de Petri colocada em dessecador por 90 min, segundo Goula e Adamopulos (2008), sob condições de 24 °C e 75% de umidade relativa utilizando solução saturada de NaCl. E calculada por meio da Equação 7:

Equação 7:

$$\text{Higroscopicidade} = \frac{x}{U \cdot a} \cdot 100$$

Onde,  $X$  = massa de água absorvida (g);  $U$  = umidade do pó em base seca (g/g);  $a$  = massa da amostra (g).

#### *4.7.1.5 Solubilidade*

A solubilidade foi determinada segundo Cano-Chauca (2005). O método consiste em adicionar 1,0 g da amostra em 100,0 mL de água destilada sob agitação de 2000 rpm em agitador magnético durante 5 min. A solução foi colocada em tubos e centrifugada a 3000 rpm durante 5 min. Uma alíquota de 25,0 mL do sobrenadante foi transferida para placa de Petri e imediatamente seca em estufa a 105 °C durante 5 horas. Em seguida, a solubilidade (%) foi calculada por diferença de peso.

#### *4.7.1.6 Cor*

Para a determinação da análise calorimétrica na MEP (do item 4.5.1) foi utilizado o método descrito no item 4.5.2.

### **4.8 Análise Estatística**

A análise estatística dos resultados foi realizada com auxílio do programa STATISTICA 7.0. Os resultados de testes de qualidade da própolis e dos extratos obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram

comparadas entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de significância. Todas as análises de caracterização e avaliação foram realizadas no mínimo em triplicata e os processos de obtenção do extrato e das microcápsulas foram realizados no mínimo em duplicata.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Caracterização da própolis verde e vermelha in natura e extrato

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2001) estabelece um limite máximo de 8% de umidade para a própolis. Portanto, as médias apresentadas para a própolis verde de 3,44% e vermelha de 6,74% estão em conformidade com a legislação (Tabela 3). Considerando que as abelhas conseguem manter as condições internas desejáveis para o crescimento da colônia, como controle de temperatura e umidade, a maior ou menor umidade da própolis é relevante no que diz respeito ao manuseio inadequado do produto durante a coleta e armazenamento (NÚÑEZ, *et al.*, 2018)

Própolis com alto teor de umidade sofre oxidação com facilidade, fica suscetível ao ataque de fungos, além de sofrer perdas consideráveis de suas propriedades, podendo ter o seu valor comercial muito reduzido (BRASIL, 2001). A taxa de oxidação varia em função do período pós-colheita e das condições de armazenamento da própolis. O longo armazenamento da própolis em alta temperatura aumenta a oxidação, o que afeta sua atividade biológica (MELO *et al.*, 2012). Assim, o teor de umidade observado dentro dos limites estabelecidos pelo MAPA, indicou o manuseio e armazenamento adequado da própolis coletada durante este estudo.

Tabela 3 - Caracterização físico-química das amostras de própolis verde e vermelha in natura

Parâmetros	Própolis Verde	Própolis Vermelha	Padrões da Legislação
<b>Cinzas (%)</b>	2,02 ± 0,04b	2,17 ± 0,10b	Máximo de 5% (m/m)
<b>Umidade (%)</b>	3,44 ± 0,34a	6,74 ± 0,27a	Máximo de 8% (m/m)

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) no nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Fonte: elaborado pela autora.

.Observou-se que entre as duas amostras estudadas, as própolis verde e vermelha apresentaram um teor de cinzas dentro do limite estabelecido pela

legislação de até 5% (Tabela 3). Essa determinação permitiu detectar a contaminação em produtos, principalmente em produtos comercializados na forma de pó, onde a adição de impurezas, como terra, por exemplo, resultaria em altos níveis de adulteração e com isso grande porcentagem de cinzas (WOISKY, R.G.; SALATINO; 1998).

Sousa *et al.* (2007) analisaram amostras de própolis verde *in natura* das localidades de Capetinga-MG e de Chave da Taquara-SP e obtiveram resultados de 10,90% e 9,68%, respectivamente, teores equivalentes a duas vezes o limite estabelecido pela legislação. Siqueira *et al.* (2014) ao avaliarem a própolis vermelha da região Nordeste do estado de Sergipe encontrou um valor de 4,39%.

Tabela 4 - Caracterização físico-química do extrato de própolis verde e vermelha

Parâmetros	Própolis Verde	Própolis Vermelha	Padrões da Legislação
<b>Teor de Cera (%)</b>	9,70 ± 0,00b	14,27 ± 0,02a	Máximo de 25% (m/m)
<b>Resíduo Insolúvel (%)</b>	19,50 ± 0,02b	23,54 ± 0,04a	Máximo de 40% (m/m)
<b>Sólidos solúveis em etanol (%)</b>	38,90 ± 0,20a	36,18 ± 0,12b	Mínimo de 35% (m/m)
<b>Teor flavonoides (mgQE.g<sup>-1</sup>)</b>	2,77 ± 0,62a	2,03 ± 0,53b	Mínimo de 0,5
<b>Teor fenólicos totais (mgGAE.g<sup>-1</sup>).</b>	31,94 ± 5,56a	23,36 ± 3,71b	Mínimo de 5

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) no nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Fonte: elaborado pela autora.

Os resultados obtidos para o teor de cera (Tabela 4) mostram que os extratos de própolis verde e vermelha atenderam aos requisitos estabelecidos pela Legislação de até 25% (BRASIL, 2001). Valor importante visto que as substâncias formadoras de cera não são consideradas farmacologicamente ativas, sendo, assim, sua presença nos extratos e tinturas são indesejáveis. Além disso, quantidades

significativas de cera conduzem à turvação nos extratos de própolis, inclusive naqueles armazenados em temperaturas baixas, ou seja, temperaturas abaixo da refrigeração.

Segundo MAPA (2001), a composição da cera está diretamente relacionada com a vegetação da área de coleta nas pesquisas já feitas com a própolis, sua consistência em temperatura ambiente indica a proporção de resina e teor de cera na composição.

Outros fatores que se tornam importantes na determinação de ceras estão relacionados ao potencial de adulteração quando a cera do favo é adicionada para aumentar o volume e os incentivos que muitos apicultores usam para colocar tela de nylon entre a tampa e a colméia (WOISKY, R.G.; SALATINO; 1998). Fernandes-Silva (2008), ao avaliar o teor de cera de amostras de própolis verde de Minas Gerais e Paraná, obteve resultados que variam de 3,8 a 10%. Essa variação foi bem inferior à encontrada na própolis do Rio Grande do Norte, que variou de 2,20% a 39,14%.

Os resultados para resíduos insolúveis e sólidos solúveis em etanol neste estudo, também conhecidos como “massa mecânica” e “extrato seco”, estão de acordo com o exigido pela legislação, sendo abaixo de 40% e acima de 35% (Tabela 4), respectivamente (BRASIL, 2001), parâmetros altamente relacionados ao solvente utilizado e solubilidade da amostra neste (FUNARI; FERRO, 2006). O resíduo insolúvel refere-se às substâncias que se incorporam às própolis durante o beneficiamento, tais como fragmentos de insetos, folhas, madeiras, os quais não são facilmente solubilizados por solventes (MELO; MATSUDA; MURADIAN-ALMEIDA, 2012). Portanto, quanto maior o “sólido solúvel” obtido a partir de um extrato de própolis e, ao contrário, quanto menor o “resíduo insolúvel”, calculados sobre a matéria-prima que originou aquele extrato, mais solúvel é a amostra bruta no solvente utilizado.

García *et al* (2010) destacam alguns fatores importantes para a obtenção de bons resultados com substâncias solúveis em etanol, destacando o tamanho da superfície de contato, a natureza do solvente de extração e o tempo de extração. Melo, Matsuda e Almeida-Muradian (2012) relataram a solubilidade da própolis em compostos bioativos e o interesse do mercado pela própolis com alto teor de sólidos solúveis devido ao seu maior potencial terapêutico.

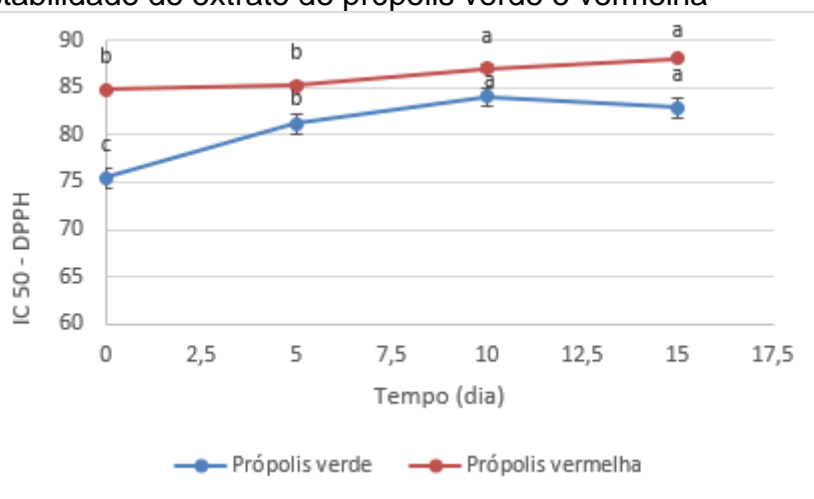
Os extratos etanólicos de própolis devem conter, no mínimo, 0,5% de flavonóides e 5% de fenólicos (Brasil, 2001). As amostras apresentaram teores de

flavonóides e teor de fenóis totais, estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ). maiores do que preconiza a legislação brasileira (Tabela 4).

Os resultados apresentados nesse trabalho foram superiores tanto no conteúdo de flavonóides quanto no teor de fenólicos totais. No mesmo, o conteúdo de flavonoides para o extrato de própolis verde variou de 2,55 – 4,68 mg EQ.100 mg<sup>-1</sup> e a vermelha de 5,81 – 5,76 mg EQ.100 mg<sup>-1</sup>. Quanto ao teor de fenólicos totais os resultados variaram entre 16,09 – 18,17 mg EAG.100mg<sup>-1</sup> para o extrato de própolis verde e para a própolis vermelha variou 19,87 – 30,03 mg EQE.100mg<sup>-1</sup>. Os compostos fenólicos estão presentes na própolis em quantidades variadas e isso se deve principalmente à grande influência de seu tipo e localização geográfica (CABRAL *et al.*, 2009).

A determinação de flavonóides é de extrema importância, tendo em vista que o referido composto promove a absorção e atividade de vitaminas no organismo, pois afeta os processos de cicatrização e a atividade antimicrobiana (OLIVEIRA *et al.*, 2012) e por isso é relevante identificá-los e quantificá-los em alimentos e extratos vegetais.

Figura 13 - Estabilidade do extrato de própolis verde e vermelha



Fonte: elaborado pela autora.

As atividades sequestrantes dos extratos em relação ao radical DPPH apresentaram diferenças estatísticas ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ). O extrato de própolis verde apresentou maior inibição no dia 0, em relação ao extrato de própolis vermelha, com um IC50 de 75,45%. Já no intervalo de 0 e 5 dias a mesma teve um decréscimo de 5,71% ( $p < 0,05$ ), diferente do extrato de própolis vermelha que no

mesmo intervalo não apresentou diferença estatística ( $p>0,05$ ) de acordo com a Figura 13. Os dois extratos não apresentaram diferenças estatísticas significativas ( $p>0,05$ ), no intervalo de 10 a 25 dias, mantendo-se estáveis. A maior estabilidade foi apresentada pela própolis verde com um IC50 82,87%.

O efeito antioxidante da própolis deve-se principalmente à presença de compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos e álcoois, estilbenos, tocoferóis e tocotrienóis). Os flavonóides podem ser divididos nos seguintes subgrupos: antocianinas, catequinas, flavononas, flavonas (luteonina), flavonóis e isoflavonóides. São capazes de diminuir a peroxidação lipídica, inibir a ativação de enzimas envolvidas na conversão de ácidos graxos polinsaturados na ativação de mediadores, como a fosfolipase A2, cicloxigenase e lipoxigenase, combatendo os radicais livres (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

Os compostos fenólicos, dos quais os ácidos fenólicos e flavonóides fazem parte, são potenciais conservantes naturais de alimentos devido às suas propriedades antioxidantes e antibacterianas. Esses compostos podem atuar por efeito sinérgico sobre a atividade antimicrobiana, além de agir como doadoras de elétrons, protegendo as células contra espécies reativas de oxigênio (MARK, LYU, LEE, PARRA-SALDÍVAR, & CHEN, 2019).

## 5.2 HPLC do extrato de própolis verde e vermelha

A própolis tem uma composição complexa e algumas de suas propriedades promotoras de saúde vêm de compostos bioativos biológicos, neuroprotetores, anticancerígenos, antiinflamatórios, antioxidantes e antimicrobianos derivados de compostos como ácido gálico, ácido cafeico, ácido cumárico ácido dicafeoilquínico (MOON, 2016; BOCCO, 2013; SOARES, 2002).

Por meio do uso de CLAE-DAD foi possível separar as substâncias (visualizadas através dos seus diferentes tempos de retenção), e simultaneamente identificá-las através dos seus espectros de absorção no UV em comparação com os padrões (Tabela 5). Na Figura 14 estão os espectros de UV dos picos significativos do extrato etanólico de própolis (EEP). Neste extrato foram identificados os ácidos clorogênico, caféico e p-cumárico, além de Canferol-3-O-rutinosídeo e Quercetina descritos na Tabela 6.

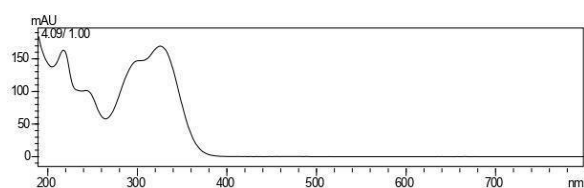
Tabela 5 – Identificação dos compostos padrões da amostra de própolis verde por meio dos seus espectros de absorção no UV

<b>Nº</b>	<b>Tempo de Retenção</b>	<b>Descrição</b>	<b>Área</b>	<b>Comprimento de onda máximo</b>
<b>1</b>	3.91 min	Ácido clorogênico	22213599	219nm, 239nm, 328nm
<b>2</b>	2.50min	Ácido caféico	9457599	219nm,238nm, 325nm
<b>3</b>	3.36min	Ácido p-cumárico	9686541	211nm;226nm;309nm
<b>4</b>	9.287min	Canferol-3-O-rutinosídeo	5018149	196nm;264nm;347nm
<b>5</b>	22.29 mim	Quercetina	2495066	202nm;255nm;370nm

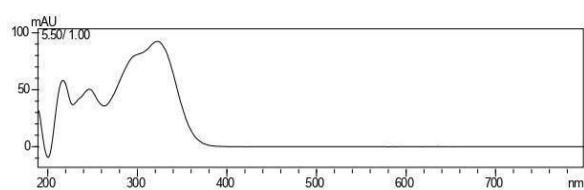
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 14 – Espectros de UV dos picos significativos do extrato etanólico de própolis verde

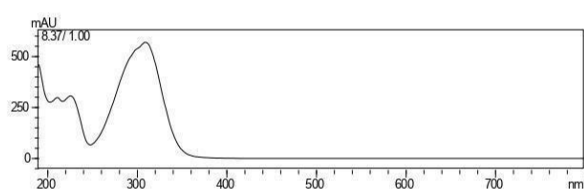
Curva UV Pico 1



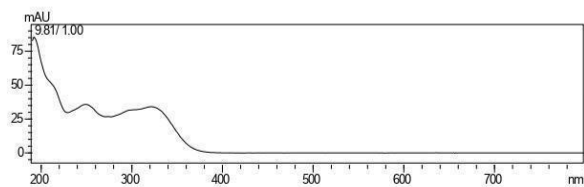
Curva UV Pico 2



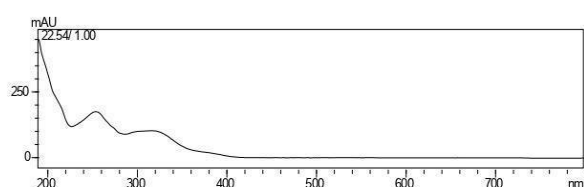
Curva UV Pico 3



Curva UV Pico 4



Curva UV Pico 5



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 6 – Concentração dos componentes químicos da amostra do extrato de própolis verde

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (mg/g de extrato)</b>	<b>T<sub>R</sub> (min)</b>
Ácido clorogênico	2,62 ± 0,03	4.09
Ácido caféico	0,52 ± 0,004	5.50
Ácido <i>p</i> -cumárico	2,10 ± 0,02	8.37
Canferol-3- <i>O</i> -rutinosídeo	2,88 ± 0,99	9.81
Quercetina	3,28 ± 0,01	22.54

Fonte: elaborado pela autora.

Dentre os picos que não puderam ser identificados no extrato de própolis verde, devido à falta de padrões existentes na biblioteca do LACES, está o ácido 3-5-diprenil-4-hidroxinâmico (Artepillin C) com comprimento de onda máximo de 314 nm, que por apresentar um tempo de retenção muito próximo ao da quercetina pode ter sido eluído com o mesmo, formando apenas um pico.

Este perfil cromatográfico é semelhante ao descrito por outros autores para extratos etanólicos de própolis verde brasileira. Figueiredo *et al.* (2015) analisaram amostras de própolis verde brasileira coletadas entre 2008 e 2013. Treze substâncias foram identificadas em extratos alcoólicos, incluindo o biomarcador artepillin C, ácido paracumárico, rutina, quercetina, crisina, galangina, apigenina, pinocembrina, pinobanksina, canferide e tectocrisina., kaempferol e acetato de 3-pinobanksina foram analisados por HPLC.

O ácido clorogênico (2,62 ± 0,03 mg/g de extrato), ácido *p*-cumárico (2,10 ± 0,02 mg/g de extrato) e o Canferol-3-*O*-rutinosídeo (2,88 ± 0,99 mg/g de extrato) que foram os compostos mais abundantes detectados, possuem atividades bastante descritas na literatura. O ácido clorogênico é um inibidor competitivo da glucose-6-fosfatase; é ele quem regula a concentração de glicose no sangue. Quando ingerido em alimentos, o ácido clorogênico é absorvido no intestino e passa para a circulação sanguínea (PEREIRA *et al.*, 2003).

Dentre os flavonoides com ação medicinal estão, em especial, as quercetinas e o canferol. Esses dois compostos, em ação conjunta, demonstram grande potencial anti-inflamatório ao modular a ação de componentes celulares envolvidos no mecanismo da inflamação, como a proliferação de linfócitos T, a

produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL- 1., e a atividade de enzimas da via do ácido araquidônico, como fosfolipase A2, ciclooxigenase e lipoxigenase. Essas ações promovem a agregação plaquetária e reduzem a formação de coágulos sanguíneos (TODOROVA; TRENDIFOLOVA, 2014).

O canferol-3-O-rutinosideo (kpf) é um composto flavonóide com efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios comprovados. Brochado *et al.* (2003) demonstraram em seus estudos que esse composto inibe a proliferação de linfócitos T, justificando seu potencial anti-inflamatório (SEIFRIED; ANDERSON; FISHER; MILNER, 2007). O kpf inibiu a expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), bem como a proliferação de células cancerígenas e a angiogênese (RAMOS, 2007; LUO, JIANG, KING, CHEN, 2008). Além disso, descobriu-se que o kpf é muito menos tóxico para as células em comparação com as drogas quimioterápicas convencionais (ZHANG; CHEN; LI; CHEN; YAO, 2008).

Foi demonstrado que a quercetina promove resultados imunorreguladores por meio dos efeitos antiateroscleróticos dos flavonoides em testes *in vitro* e *in vivo* (NICKEL *et al.*, 2010). Em estudos recentes, a quercetina apresentou propriedades nas células tumorais da próstata que modulam a expressão de fatores de crescimento relacionados à insulina e, assim, sinalizam moléculas para induzir apoptose em células cancerígenas (SENTHILKUMAR *et al.*, 2010).

Um dos compostos secundários mais bem definidos na própolis por sua atividade antifúngica é o ácido cafeico, com concentração de 0,52 mg/ml nesta amostra. Em seu trabalho, Araújo (2017) obteve 16 ésteres de ácido cafeico com rendimentos de 11,82 a 93,06%, dos quais 6 derivados não foram publicados na literatura. Seis ésteres apresentaram atividade antifúngica, os ésteres ME7 e ME13 apresentaram a melhor CIM (128 e 256  $\mu$ g/ml) contra *Candida spp.*

### **5.3 Inibição da enzima acetilcolinesterase do extrato de própolis verde e vermelha**

No teste de inibição da enzima acetilcolinesterase, os valores são expressos como a concentração inibitória de 50% (IC50) da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), que está diretamente relacionada ao impulso nervoso do

complexo colinérgico. Os valores de inibição são comparados com o padrão da fisostigmina ( $1,15 \pm 0,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ), que é considerado um alcalóide muito potente.

Tabela 7 – Concentração de inibição da atividade da enzima Acetilcolinesterase das amostras de própolis verde, vermelha e controle

Amostra	<b>IC<sub>50</sub></b> ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	<b>Desvio</b> <b>padrão</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>FISO (controle +)</b>	1,15	0,047	0,996
<b>Própolis Verde</b>	17,45	0,048	0,990
<b>Própolis Vermelha</b>	19,20	0,017	0,994

Fonte: elaborado pela autora.

A atividade antiacetilcolinesterase é inversamente proporcional aos valores de concentração inibitória de 50% da enzima AChE. Nesse sentido, se os valores se aproximarem do padrão, as amostras são consideradas excelentes inibidores de AChE, efeito que pode ser observado no extrato etanólico de própolis verde mencionados na Tabela 7.

Esse efeito provavelmente é facilitado pelos flavonoides presentes nos extratos, como o Camferol-3-O-rutinosídeo e principalmente a quercetina, que possuem atividade anticolinesterásica, que juntamente com a atividade antioxidante, representam possíveis mecanismos pelos quais os flavonoides podem ser utilizados na terapia de neurodegeneração oxidativa induzida por estresse (ADEMOSUN *et al*, 2016).

Estudos em modelos experimentais revelam vários possíveis mecanismos farmacológicos para o tratamento de doenças neurodegenerativas. De acordo com Chen *et al.* (2008) e Nakajima *et al.* (2009) os componentes da própolis, como o éster fenetílico do ácido cafeico (CAPE), têm efeitos neuroprotetores significativos contra danos oxidativos em modelos de doença de Alzheimer (DA). Além disso, em experimentos nos quais foram administrados derivados hidrossolúveis da própolis, observou-se atenuação da amnésia induzida, sugerindo um efeito significativo no declínio cognitivo. Esse efeito está relacionado ao efeito do composto em inibir a

atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) no hipocampo (CHEN *et al.*, 2008). Outros estudos também mostram efeitos neuroprotetores de flavonóides e outros compostos da própolis, principalmente relacionados a efeitos antioxidantes (MARQUELE *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2008; REIS *et al.*, 2014) e efeitos antimorte celular neuronal (IZUTA *et al.*, 2008), tornando-se uma potencial via farmacológica protetora do cérebro para prevenir e retardar a progressão da DA.

Machado e colaboradores (2009) mostraram que extratos metanólicos de duas cultivares de própolis de associações e cooperativas produzidas no Alto Santo e Camocim no Ceará apresentaram atividade anticolinesterásica. Os resultados foram positivos para as duas variedades de própolis analisadas, indicando a possibilidade de utilização desses extratos para a produção de novos medicamentos. A própolis de Camocim apresentou melhor atividade inibitória do que a própolis Alto Santo em comparação com o Carbachol padrão. O potencial anticolinesterásico da própolis também foi demonstrado em amostras de própolis marrom de *Apis mellifera* coletadas em vários locais do estado do Ceará (Crato, Beberibe, Alto Santo e Mombaça) que apresentaram atividade da acetilcolinesterase. A atividade inibitória foi maior na amostra do Crato e Alto Santo em relação ao padrão, sendo que as amostras de Beberibe e Mombaça apresentaram o mesmo nível de inibição do padrão da fisostigmina (LIBERATO *et al.*, 2011).

#### **5.4 Caracterização físico-química da polpa integral e das partículas.**

A polpa integral foi analisada quanto aos parâmetros físico-químicos e caracterização da atividade antioxidante e da enzima acetilcolinesterase, assim como as polpas em pó, adicionadas de extrato aquoso de própolis obtidas nas condições ótimas para cada processo (TABELA 8).

Tabela 8 – Parâmetros físico-químicos da polpa integral e das microcápsulas obtidas por liofilização

<b>Amostras</b>	<b>Fenóis totais (mgGAE.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Flavonoides (mgQE.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Atividade antioxidante (%)</b>	<b>Acetilcolineste rase (µg.mL<sup>-1</sup>)</b>
<b>F1</b>	26,421 ± 5,46d	5,06 ± 0,84a	25,41 ± 1,45c	14,27 ± 1,15c
<b>F2</b>	10,936 ± 6,06g	3,73 ± 0,88f	25,05 ± 1,39d	14,65 ± 1,48b
<b>F3</b>	8,413 ± 6,94h	4,13 ± 0,70d	17,83 ± 1,25j	13,56 ± 1,52d
<b>F4</b>	16,010 ± 6,94f	4,54 ± 0,80c	24,14 ± 1,38e	14,65 ± 1,72b
<b>F5</b>	21,434 ± 6,60e	4,53 ± 0,54c	23,38 ± 1,36g	14,82 ± 1,49b
<b>F6</b>	37,445 ± 4,0b	3,67 ± 0,47f	21,86 ± 1,34h	13,15 ± 1,55e
<b>F7</b>	30,096 ± 5,46c	4,73 ± 0,65b	25,78 ± 1,41b	14,26 ± 1,44c
<b>F8</b>	30,186 ± 6,94c	3,95 ± 0,93e	23,85 ± 1,37f	N/R
<b>F9</b>	39,553 ± 6,72a	5,03 ± 0,62a	20,57 ± 1,23i	12,46 ± 1,42f
<b>Polpa Integral</b>	8,899 ± 3,54h	2,57 ± 0,48g	29,69 ± 1,52a	26,49 ± 1,65a
<b>Galantamin a (Padrão)</b>	-	-	-	1,12 ± 0,02g
<b>Fisostigmin a (Padrão)</b>	-	-	-	1,15 ± 0,05g

N/R: Não reagiu. Resultados expressos como média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) no nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

#### 5.4.1 Fenóis totais

O teor de compostos fenólicos das amostras analisadas e comparadas com a polpa integral de acerola comercial diferiram entre si ( $p < 0,05$ ). Considera-se que a polpa possui baixos teores desses compostos se comparado com os pós liofilizados. Somente não foi observada diferença significativa entre os ensaios F7 e F8. A maior concentração de compostos fenólicos foi da amostra F9 seguida pela amostra F6. Os agentes encapsulantes escolhidos para os testes apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para a retenção dos compostos fenólicos. Assim, considerando os maiores valores F6 e F9, a goma arábica como material encapsulante atuou melhor como barreira frente à adsorção de água e na conservação dos compostos naturais presentes tanto da polpa, como do extrato de própolis. Verificou-se também que a maior incorporação foi observada nas

micropartículas (F7, F8 e F9) onde houve a adição de 7,5% de extrato de própolis verde.

Colín-Cruz *et al.* (2019) ao avaliarem a secagem do suco de amora com *Lactobacillus acidophilus*, utilizando goma arábica, maltodextrina e proteína do soro do leite concentrado, isolados e em combinação, observaram que o produto obtido com a mistura de goma arábica com maltodextrina apresentou maior teor de antocianinas e de compostos fenólicos totais, sendo considerada no estudo a formulação mais viável para proteger os compostos bioativos e bactérias probióticas.

No estudo sobre atividade antioxidante em acerola e derivados, Mezdari *et al.* (2008) encontraram valores de compostos fenólicos totais que variaram de 8,05 a 11,50 mg AG/g para a polpa de acerola, em base úmida. Esses autores consideraram essa fruta como sendo de alto conteúdo de fitoquímicos, os quais são responsáveis pela atividade antioxidante.

O método para medir o conteúdo total de fenólicos utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, apesar de muito utilizado, possui algumas limitações relacionadas à superestimação do conteúdo fenólico em larga extensão, segundo Oliveira *et al.* (2009). A vitamina C é considerada como um dos interferentes não fenólico. Em pesquisa realizada por Oliveira *et al.* (2009) foi verificado que a adição de ácido ascórbico a ácido gálico em diferentes proporções provocou aumento de absorbância, uma interferência de 20% quando a razão ascorbato/gálico foi maior ou igual a 1. Esta é uma importante observação a ser considerada, principalmente se tratando do estudo de frutas com alto teor de vitamina C, como a acerola.

#### **5.4.2 Flavonoides**

Os teores de flavonoides totais apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey entre a polpa integral e as amostras em pó liofilizadas. A partir destes dados, pode-se concluir que as microcápsulas produzidas por liofilização exibiram maior quantidade de liberação do conteúdo de flavonoides; isto é, esta técnica encapsulou e protegeu melhor os compostos bioativos. Indicando também, uma interação sinérgica dos constituintes que possivelmente leva a potencialização do conteúdo de flavonoides.

Na secagem por liofilização, o teor médio de flavonóides das amostras F1 F9, F4 e F5 não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ). Tanto a

maltodextrina como a goma arábica de forma separadas e também juntas (50% malto + 50% goma) mostraram alta eficiência no encapsulamento. A maltodextrina é um dos agentes mais utilizados para encapsular, devido às características de baixa higroscopicidade, baixa viscosidade e alta solubilidade. Entretanto, por apresentar baixa capacidade emulsificante seu uso associado a outros agentes, como proteínas e gomas, tende a aumentar essa capacidade, melhorando a eficiência da encapsulação (LEE; TAIP; ABDULLAH; 2018). A goma é também, bastante efetiva como material de parede (encapsulante) por formar emulsão estável e apresentar boa retenção de voláteis, baixa viscosidade e boas propriedades emulsificantes (CHEW; TAN; NYAM, 2018).

Tais substâncias são de fundamental interesse para indústria farmacêutica e de alimentos, pois apresentam propriedades benéficas à saúde, como atividade antioxidante e hepatoprotetora (Marques *et al.*, 2018). Além disso, foram relatados que muitos flavonóides possuem propriedades antibacterianas e antifúngicas (SANTAS; ALMAJANO; CARBO, 2010). Isto tem aumentado o interesse da indústria de alimentos em utilizar esses compostos naturais como componentes para melhorar a estabilidade de alimentos contra agentes de deterioração microbiológica.

No presente estudo, os teores de flavonoides encontrados, aproximam-se aos teores de flavonoides totais de frutas exóticas brasileiras consideradas potentes antioxidantes, tais como camu-camu, maná-cubiu e carambola (3,52; 2,39 e 0,59 mg por grama de amostra seca) (GONÇALVES, 2008). Tavares *et al.* (2019) encontraram valores de flavonoides (11,01 mg/100 g) em pós de espuma de uva (BRS RúbeaxIAC 1398-21) desidratada por liofilização utilizando 15% de maltodextrina. Rezende *et al.* (2018) encontraram quantidades significativas de flavonoides (22,653 a 55,150 mg/100g) no extrato do resíduo da acerola, sendo estas concentrações superiores à polpa.

#### **5.4.3 Atividade antioxidante**

Nos resultados deste estudo, verificou-se que a porcentagem de inibição do DPPH variou de 17,83% a 25,78% para as microcápsulas em relação a polpa comercial 29,69%. A inibição do radical DPPH apresentou maior porcentagem nas amostras F3, seguida pela amostra F9 e F6 formadas a partir do material de parede

goma arábica em relação maltodextrina, havendo diferença significativa entre as médias ( $p > 0,05$ ) dos materiais de parede utilizado e a concentração de extrato de própolis verde no processo liofilização.

Valores referentes à atividade antioxidante podem ser expressos como EC50 (mg / mL) correspondendo à quantidade de extrato necessária para reduzir o radical DPPH em 50%. Segundo Melo *et al.* (2008), quanto menor o EC50 melhor é a capacidade antioxidante do extrato. Diferentes métodos foram desenvolvidos para medir a atividade antioxidante de um alimento. Como a capacidade antioxidante total de uma amostra é determinada por interações sinérgicas entre diferentes compostos antioxidantes, bem como pelo modo de ação específico de cada um deles, é necessário utilizar procedimentos adequados na extração de antioxidantes e na medição da capacidade antioxidante. (THAIPONG *et al.*, 2006).

Os compostos fenólicos são considerados os principais responsáveis pela atividade antioxidante em frutos (JACQUES *et al.*, 2009), apesar de o ácido ascórbico ter papel relevante no estresse oxidativo. Kuskoski *et al.* (2006) observaram a atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas de frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas, incluindo a graviola, com o objetivo de determinar a sua atividade antioxidante in vitro pelo método do DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e compará-la com o conteúdo de polifenóis totais e antocianinas das polpas congeladas e comercializadas no sul do Brasil. Para a graviola encontraram alto índice de polifenóis totais (84,3 mg/100 g); a fruta também demonstrou alta capacidade antioxidante, apresentando 2,88  $\mu\text{mol/g}$  de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (antioxidante sintético e hidrossolúvel similar à vitamina E).

Melo *et al.* (2008) ao avaliarem o teor de fenólicos e a capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas adquiridas em supermercados da Cidade de Recife-PE, também relataram que entre as frutas avaliadas, a polpa de acerola exibiu o mais elevado teor de polifenóis e que extratos metanólicos da polpa deste fruto, juntamente com a polpa de goiaba apresentaram o mais elevado percentual de seqüestro do radical DPPH.

Em geral, as microcápsulas analisadas nesse experimento demonstraram correlação direta entre o conteúdo total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante. O processo de liofilização da polpa de acerola com o extrato de própolis não interferiu nas suas propriedades antioxidantes, podendo ser excelentes fontes de compostos fenólicos.

#### 5.4.4 Antiacetilcolinesterase

As microcápsulas e a polpa integral de acerola apresentaram atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase. Os resultados obtidos na análise foram comparados aos alcaloides fisostigmina e galantamina, para controle positivo. Os experimentos de inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro* para as microcápsulas produziram resultados com potência alta se comparados com a polpa integral de acerola. A associação da polpa de acerola comercial com o extrato de própolis verde nas formulações atuou em sinergismo produzindo o máximo benefício antioxidante.

Beta *et al.*, (2018) encontraram 33 fenólicos no fruto de acerola (*Malpighia emarginata*) e afirmaram ser uma fonte diária de antioxidante natural. Bataglioni *et al.*, (2015) registraram elevados teores dos flavonóides quercetina e kaempferol em frutos de acerola. Dentre os vários benefícios atribuídos à quercetina, em estudos com modelos neurais *in vivo*, foram observados efeitos sobre a neurodegeneração, focando seus benefícios sobre as deficiências cognitivas, isquemia e lesão traumática (KELSEY *et al.*, 2010). Alguns estudos referem a utilização da quercetina na inibição da enzima acetilcolinesterase, nos quais foram observados percentuais inibitórios significativos (ORHAN *et al.*, 2007; KHAN *et al.*, 2009).

A doença de Alzheimer é uma enfermidade neurológica degenerativa progressiva caracterizada por perturbações da memória e do comportamento. O mecanismo bioquímico exato da patogênese da doença de Alzheimer ainda é desconhecido, mas muita atenção é dada a formação das placas amiloides e ao papel da perda massiva do neurotransmissor acetilcolina e a possível implicação de estresse oxidativo em seu desenvolvimento (RICCIARELLI *et al.*, 2007).

Uma das abordagens mais promissoras para o tratamento desta doença é o aumento do nível de acetilcolina no cérebro usando inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE). E, como uma terapia alternativa, a utilização de antioxidantes com o objetivo de minimizar o desequilíbrio oxidativo (ZAINI *et al.*, 2011).

Benamar *et al.*, (2010) mostraram que alguns extratos de plantas com conteúdo fenólico expressivo inibiram a atividade da AChE *in vitro*, e que poderia, portanto, ser sugerido que a inibição da AChE pela casca de romã teria relação com seus compostos fenólicos. No entanto, com a correlação é possível perceber que a quantidade de fenólicos não está fortemente relacionada à inibição da AChE,

demonstrando que possivelmente os fenólicos exercem influência na redução, mas deve ser considerada a natureza dos compostos fenólicos e não apenas sua quantidade.

Os resultados quanto ao teor de umidade, higroscopicidade, solubilidade e análise calorimétrica das microcápsulas e da polpa integral estão dispostas na tabela 9.

Tabela 9 – Resultados de umidade, higroscopicidade, solubilidade e análise colorimétrica dos pós

<b>Amostras</b>	<b>Umidade e (%)</b>	<b>Higroscopicidade e (%)</b>	<b>Solubilidade e (%)</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>F1</b>	4,47 ± 0,063d	5,85 ± 0,23d	90,65 ± 1,96ef	53,42 ± 0,025cd	13,45 ± 0,15c	4,93 ± 0,11cd
<b>F2</b>	4,61 ± 0,11d	5,67 ± 0,47d	90,11 ± 0,95f	54,81 ± 0,10b	12,15 ± 0,05d	4,23 ± 0,02e
<b>F3</b>	2,49 ± 0,26f	8,69 ± 0,023a	66,84 ± 1,81h	55,50 ± 0,10b	14,56 ± 0,04b	4,86 ± 0,06cd
<b>F4</b>	3,43 ± 0,17e	6,59 ± 0,10c	85,78 ± 0,47g	53,26 ± 0,12d	12,54 ± 0,16d	5,02 ± 0,14cd
<b>F5</b>	5,61 ± 0,42c	7,88 ± 1,95b	91,75 ± 0,93cd	55,37 ± 0,96b	11,98 ± 0,29d	4,54 ± 0,03de
<b>F6</b>	6,59 ± 0,25b	4,51 ± 0,43e	92,09 ± 1,34c	56,77 ± 0,18a	13,42 ± 0,21c	5,07 ± 0,27bc
<b>F7</b>	4,54 ± 0,11d	7,62 ± 0,63b	95,24 ± 2,81a	54,49 ± 0,76bc	14,50 ± 0,44b	5,54 ± 0,20b
<b>F8</b>	5,71 ± 0,040c	7,65 ± 0,30b	93,07 ± 0,82b	52,73 ± 0,045d	13,73 ± 0,41c	5,00 ± 0,36cd
<b>F9</b>	4,86 ± 0,060d	5,57 ± 0,11d	91,17 ± 1,46de	54,57 ± 0,07bc	14,83 ± 0,01ab	4,71 ± 0,01cde
<b>Polpa integral</b>	91,40 ± 5,46a	-	-	49,32 ± 0,05e	15,49 ± 0,02a	36,47 ± 0,06a

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) no nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

#### 5.4.5 Umidade

O teor de umidade do alimento é fundamental para que se possa saber o quanto ele é passível à pericibilidade, uma vez que a água é o principal meio pelo qual ocorrem atividades microbianas e enzimáticas, que promovem a deteriorização do alimento (CELESTINO, 2010), sobretudo de frutas. A redução da umidade de 92% da polpa integral não liofilizada para cerca de 6% da polpa adicionada de própolis liofilizada foi observada, demonstrando que a liofilização resultou em partículas com baixa umidade, reduzindo a uma característica oxidante (AKHAVAN *et al.*, 2016).

Os agentes carreadores e a concentração de própolis também apresentaram influência na secagem, pois as amostras F3 (goma arábica) e F4 (maltodextrina) usadas separadamente e adicionadas de 5% e 2,5% do extrato de própolis verde, obtiveram os menores valores para umidade, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Entretanto, as amostras F1, F2, F7 e F9 não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ), indicando que ambos os materiais tiveram efeito positivo quando usadas separadamente ou juntas em concentrações de extrato de própolis a 5% e 7,5%. A legislação vigente não define parâmetros de umidade para produtos desidratados na forma de pó obtidos através de polpa de fruta. Estabelece, no entanto, o valor máximo de 25% de umidade para frutas secas ou desidratadas inteiras ou em pedaços (BRASIL, 2005). Sendo assim, tomando como aproximação a norma estabelecida para frutas secas, os dois produtos obtidos no presente trabalho se apresentam dentro da faixa permitida pela referida legislação.

Em seu experimento, Krumreich *et al.* (2016) obtiveram o valor de 7,18% de umidade no pó de uvaia liofilizada contendo 10% (m/m) de maltodextrina e goma Arábica, sendo esse valor, mais alto que os encontrados nesse trabalho. Silva *et al.* (2006) caracterizaram diferentes pós de frutas tropicais, previamente desidratados em secador de cabine por 24 horas, e encontraram para graviola, 6,67% de umidade. Zea *et al.* (2013) obtiveram umidades de 5,09%, 5,31% e 5,56% para pó de pitáia, pó de goiaba e mistura de pó de pitáia e goiaba, respectivamente, ambos liofilizados com 10% de maltodextrina. Rocha *et al.* (2014) obtiveram valores de umidade entre 1,36 e 3,35% para pó de suco de caju obtido em secador *spray-dryer* adicionado de 30% de maltodextrina. Para Aziz *et al.* (2018), as técnicas de secagem empregadas e seus

parâmetros operacionais têm a maior influência para o teor de umidade dos pós. Esses autores citam ainda que a presença de açúcares de baixo peso molecular e ácidos orgânicos influenciam a umidade do pó. A aplicação de um pó de fruta depende do seu teor de umidade, se inferiores a 4% podem ser usados para preparar doces, caramelos e balas (JAYA E DAS, 2004). O conteúdo de umidade é uma medida de eficiência de secagem, onde o pó para ser microbiologicamente seguro, deve apresentar umidade inferior a 5%, além disso, influencia na fluidez e na estabilidade do pó armazenamento (AZIZ *et al.*, 2018).

#### **5.4.6 Higroscopicidade**

Higroscopicidade é a capacidade de absorver moléculas de água quando em contato com meio úmido. Essa característica é muito importante para produtos desidratados de frutas, pois como já foi dito, as frutas são ricas em açúcares e ácidos de baixo peso molecular. Dessa forma, apresentam baixa temperatura de transição vítrea durante ou após a secagem, podendo apresentar configurações amorfas e elevada higroscopicidade. Alta higroscopicidade é indesejável para alimentos em pó, tendo em vista que promove aspecto pegajoso e dificulta a solubilidade do produto, o que prejudica a qualidade do produto como um todo (CAPARINO *et al.*, 2012).

Os resultados das higroscopicidades dos pós podem classificá-los como não higroscópicos, pois segundo Gea Niro Research Laboratory (2003), pós com higroscopicidade inferior a 10% são considerados não higroscópicos e sua baixa higroscopicidade favorecerá a redução da capacidade de adsorção de água dos pós. Observou-se que a amostra F6 contendo goma arábica e 2,5% do extrato de própolis apresentou menor higroscopicidade e diferiu ( $p < 0,05$ ) das demais amostras de pós. Para as amostras F5, F7 e F8 não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto a adição conjunta dos agentes carreadores em concentração de própolis a 2,5% e 7,5% e a maltodextrina sozinha em uma concentração do extrato de própolis a 7,5%. Nas amostras F1, F2 e F9 também não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) indicando que ambos os materiais de parede juntos em iguais proporções e separados nas concentrações de 5% e 7,5% do extrato de própolis tiveram efeito benéfico.

Conforme Oliveira (2008), a goma arábica por apresentar maiores valores de transição vítrea ( $T_g$ ) quando comparada à maltodextrina, torna-se mais efetiva na redução da higroscopicidade dos pós. As formulações contendo maltodextrina e goma

arábica juntas e em iguais proporções, foram as que apresentaram maior ganho de água durante a exposição do produto à umidade. Resultado similar foi encontrado no trabalho de Frascareli (2010) ao encapsular óleo de café através de secagem por atomização obteve maiores valores de higroscopicidade para microcápsulas com goma arábica e maltodextrina (14,33%) em comparação com isolado proteico e maltodextrina (11,28%). A maltodextrina apresenta este comportamento devido à baixa higroscopicidade do material (TONON *et al*, 2009) já a goma arábica e suas ramificações com grupos hidrofílicos tendem a absorver mais água (FRASCARELI, 2010). O conteúdo de umidade é um dos fatores que mais afetam a estabilidade do pó, uma vez que pequena quantidade de água é suficiente para depreciar a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e, por conseguinte, aumentar a mobilidade da matriz durante a estocagem (BHANDARI E HARTEL, 2005).

Janiszewska (2014) estudou o efeito do tipo de material encapsulante (maltodextrina, goma arábica e uma mistura de ambos (1:1 (m:m))) usados como veículos na estabilidade dos pigmentos de beterraba e observou no extrato microencapsulado com goma arábica, que o mesmo demonstrou maior estabilidade durante o armazenamento, devido à sua menor higroscopicidade. Shaaruddin *et al*. (2017), estudando pó de suco de pitáia contendo maltodextrina obtido por spray-drier obteve teor higroscópico de 14,12%.

Resultado contrário a esse trabalho foi encontrado por Alves, Afonso e Costa (2020) que, ao estudarem o efeito de diferentes adjuvantes sobre a higroscopicidade do pó da polpa de pitáia, encontraram os menores valores nas amostras contendo maltodextrina (6,83%). Maciel *et al*. (2020) observaram no pó da polpa de cupuaçu que o aumento da concentração de maltodextrina resultou na diminuição da higroscopicidade que variou de 3,89 a 4,09%.

#### **5.4.7 Solubilidade**

De acordo com Chen e Patel (2008), a solubilidade é um critério importante para avaliar o desempenho do produto em pó na fase aquosa. A solubilidade em água depende de fatores tais como a composição do extrato e do tamanho das partículas. A seleção do material encapsulante é muito importante, não só para a própria solubilidade, mas também para o estado cristalino que é conferido ao pó.

Os valores de solubilidade dos pós obtidos variaram de 66,84 a 95,24%, com máxima solubilidade obtida na amostra contendo apenas maltodextrina como agente carreador (ensaio F7). O tratamento F1 não diferiu do tratamento F2 e do F9, mostrando que o uso da maltodextrina e goma arábica de forma separadas e juntas na concentração de extrato a 5%, 2,5% e 7,5% não influenciou os valores de solubilidade. O mesmo foi observado quando o tratamento F5 foi comparado com o F6 e com o F9, não houve diferença significativa com materiais de parede e a concentração do extrato de 2,5% e 7,5%. Porém o tratamento F1 apresentou diferença significativa do F5 e F6 com um valor de solubilidade relativamente menor. Já os tratamentos F3, F4, F7 e F8 apresentaram diferença significativa.

Os resultados do presente estudo foram superiores aos encontrados por Araujo (2019) nos pós de coco liofilizados com maltodextrina, apresentando solubilidade inicial de 75,84% e com o passar do tempo de armazenamento (até 90 dias) ocorreu uma redução desses teores. Resultados também inferiores ao nosso foram encontrados por Souza (2009) para a mistura de seriguela, umbu e manga desidratada em leite de jorro (60,15 e 67,82%), usando duas formulações com fontes de gordura diferentes.

Silva (2012) encontrou valores muito altos de solubilidade (98,27 – 96,06%) para encapsulados de pigmentos de resíduos de jabuticaba quando utilizado maltodextrina em diferentes concentrações como material de parede (10 – 30% massa/massa H<sub>2</sub>O). Mesmo devido à natureza hidrofóbica do material do núcleo, sendo muito pouco solúvel em água, a adição da maltodextrina aumentou um pouco a solubilidade final do pó. Tonon *et al.* (2013) observaram alto valor de solubilidade para microcápsulas de açaí com goma arábica como material de parede (94,78 %). Devido à composição com alto teor de carboidratos do açaí, o mesmo tende a ser mais solúvel em água em comparação com a natureza hidrofóbica do óleo essencial de canela que dificulta a solubilidade em água.

#### **5.4.8 Análise colorimétrica**

A cor é uma propriedade muito importante para a indústria alimentícia, pois é um parâmetro de qualidade que pode afetar a aceitabilidade dos alimentos. Ao medir a cor dos alimentos, o sistema de cores L\*a\*b\* é mais frequentemente utilizado, porque as cores são distribuídas uniformemente e a distância entre duas cores

diferentes corresponde aproximadamente à diferença de cor percebida pelo olho humano (WU; SU, 2013).

A diferença na luminosidade é caracterizada pelos valores de  $L^*$ , onde pode-se observar que o extrato não liofilizado diferiu das demais amostras após o processo de encapsulação, evidenciando que a luminosidade dependeu principalmente do material de parede utilizado para o encapsulamento. A polpa de acerola integral apresentou luminosidade de 49,32, enquanto os pós obtidos por liofilização variaram entre 52,73 a 56,77, havendo, portanto, um aumento de  $L^*$  com a secagem. Os tratamentos F1, F4 e F7 não apresentaram diferença significativa para aos valores de  $L^*$ , ou seja, a maltodextrina e as concentrações de 5%, 2,5% e 7,5% não influenciaram esse parâmetro. Os tratamentos F2, F5 e F8 que continham a mistura de 10/10 goma arábica e maltodextrina, não mostraram diferença significativa entre F2 e F5, porém F8 diferiu das duas amostras indicando um valor mais baixo de  $L^*$  quando adicionado os adjuvantes a uma concentração de 7,5% de extrato. Já a amostra F6 resultou em um pó mais claro em comparação às amostras F3 e F9, com uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

A coordenada  $a^*$ , estabelece valores que caracterizam a região de coloração do vermelho ( $+a^*$ ) ao verde ( $-a^*$ ). A polpa de acerola apresentou valores médios para  $a^*$  de 15,49 enquanto os pós obtidos por liofilização variaram de 11,98 a 14,56, diferindo estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. Notou-se um aumento no parâmetro  $a^*$  nas amostras avaliadas, o que já era esperado devido a adição de maltodextrina e goma arábica. Entre os pós ocorreu maior tendência a coloração vermelha, o que é explicado pelo fato da cor do produto ser influenciada pela presença de pigmentos naturais da acerola, sobretudo antocianinas e carotenóides (YAMASHITA *et al.*, 2003).

Para os tratamentos com goma arábica (F3, F6 e F9), F3 e F9 não exibiram diferenças significativas entre os valores de  $a^*$ , já para a amostra F6 mostrou diminuição do parâmetro em relação a F3 e F9 com uma diferença significativa. O mesmo foi observado para os tratamentos com maltodextrina e goma arábica, não houve uma diferença estatística entre os tratamentos F2 e F5, porém o tratamento F8 diferiu estatisticamente dos dois últimos tratamentos citados. Já para as amostras contendo maltodextrina (F1, F4 e F7) diferiram entre si, ou seja, o uso de agentes encapsulantes diminuiu a intensidade.

As amostras de pós apresentaram diferença estatística, apresentando redução da coordenada  $b^*$  para os pós quando comparados a polpa integral, mostrando decréscimo da coloração amarela com a intensificação da coloração azul. A polpa de acerola integral utilizada neste experimento caracterizou-se pela coloração mais amarelada, apresentando valor de  $b^*$  de 36,47. Os pós obtidos por liofilização apresentaram menores valores de  $b^*$  variando entre 4,23 a 5,54 revelando-se como um processo que provoca perda da coloração amarela.

Nos tratamentos utilizando maltodextrina (F1, F4 e F7), as amostras F1 e F4 não apresentaram diferença significativa entre si para  $b^*$ , porém a amostra F7 apresentou diferença em relação aos tratamentos F1 e F4, sendo a amostra que apresentou maior valor de  $b^*$ . Nos tratamentos empregando maltodextrina e goma arábica (F2, F5 e F8), as amostras F2 e F5, como também as amostras F5 e F8, não exibiram diferenças significativas. Distintamente das amostras F2 e F8, as quais foram estatisticamente diferentes, com F2 possuindo o menor valor de  $b^*$  quando comparado aos demais. Esta redução da tonalidade do amarelo está relacionada à diluição da cor, provocada pela presença dos agentes carreadores utilizados (Tonon *et al.*, 2009). Já para aqueles tratamentos com goma arábica (F3, F6 e F9), F3 e F6 não apresentaram diferenças significativas, porém F9 mostrou valor menor em relação a esses dois últimos citados.

Resultados contrários foi observado por Caparino *et al.*, (2012) para pó de manga obtido por diferentes processos, na qual a desidratação por liofilização gerou maiores valores de  $b^*$ . Acredita-se que essa mudança na cor está relacionada ao material de parede utilizado e ao processo de secagem, clareando a amostra, pois os materiais de revestimento tendem ao branco e quando absorvem a cor do extrato, diminuem a intensidade da cor, como indica a tendência dos extratos liofilizados ao clarear e adquirir um tom mais suave de amarelo se comparado ao extrato não liofilizado que foi utilizado como valor de referência, como é indicado pelos valores encontrados para  $a^*$  e  $b^*$ .

A coloração do alimento é um dos fatores determinantes para a obtenção do produto pelo consumidor e a análise colorimétrica é um dos métodos aplicados para verificar se houve ou não alterações na cor do produto durante seu processamento ou armazenamento, como reações como lipídios oxidação, reações enzimáticas, caramelização e adição de corantes podem afetar a aparência ou até mesmo o sabor do produto final (ROCHA; REDD, 2014).

## 7 CONCLUSÃO

As própolis verde e vermelha, tanto *in natura* quanto em extrato, se mostraram dentro dos padrões de identidade e qualidade exigidos pela Legislação Brasileira. Porém, nos parâmetros físico-químicos a própolis verde *in natura* saiu a frente com menor teor de umidade, cinzas, cera e resíduos insolúveis em etanol. Apresentou também maior solubilidade no solvente utilizado e maior extração dos compostos bioativos. Resultados esses que também foram refletidos no teor de fenóis totais, flavonoides, HPLC e na atividade antiacetilcolinesterase.

Na avaliação da estabilidade dos extratos de própolis no período de 0,5, 10 e 15 dias através da atividade antioxidante, o extrato de própolis verde manteve-se mais estável em relação ao extrato de própolis vermelha, ou seja, não houve alterações que pudessem comprometer sua estabilidade durante os 15 dias de análise.

Apesar de todos os parâmetros físico-químicos avaliados na polpa integral sofrerem variação após secagem, a utilização da secagem por liofilização mostrou-se vantajosa para a conservação da coloração, característica da polpa integral utilizada na pesquisa, e dos compostos bioativos presentes tanto na polpa integral quanto no extrato de própolis verde.

Dentre os adjuvantes utilizados, a mistura contendo goma arábica com a polpa integral de acerola e extrato de própolis verde foi aquela que apresentou maior retenção de compostos fenólicos e flavonoides. Além de apresentar menores valores de atividade antioxidante e atividade antiacetilcolinesterase. Desse modo, supõe-se que a partir dessa formulação pode-se elaborar novos estudos para a produção de produtos adicionados do pó da polpa de acerola e extrato de própolis.

## REFERÊNCIAS

ABURTO, L. C.; TAVARES, D. Q. MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.1, p.45-48, 1998.

ADEMOSUN, A. O.; OBOH, G; BELLO, F; AYENI, P. O. Antioxidative Properties and Effect of Quercetin and Its Glycosylated Form (Rutin) on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities. **Journal of Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 21, n. 4, p. 11-17, 2016.

ADRIANO, E. **Fenologia, produção e qualidade dos frutos de aceroleira cultivar Olivier, em Junqueirópolis /SP**. 2011. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2011.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A. Fe<sup>3+</sup> - and Cu<sup>2+</sup> - reduction by phenol derivatives associated with Azure B degradation in Fenton-like reactions. **Chemosphere**, v. 66, p. 947-954, 2007.

AKHAVAN MAHDAVI, S. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, Iran, v. 85, p. 379–385, 1 abr. 2016.

AKHAVAN MAHDAVI, S.; JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; DEHNAD, D. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379-385, 2016.

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

ALEXANDER, R. J. Maltodextrins: production, properties, and applications. In: SCHENCK, F. W.; HEBEDA, R. E. Starch hydrolysis products: worldwide technology, production and applications. New York: **VCH Publishers**, p. 233-275, 1992.

ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI, M. R.; FARAHMAND, H.; SHOJAOSADATI, S.A.; DORKOOSH, F.A.; ELSABEE, M. Z. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 126, p. 935–940, 2011.

ALMEIDA, J.I.L.; LOPES, J.G.V.; OLIVEIRA, F.M.M. **Produtor de acerola**. Fortaleza: Edições Demócrito Rocha, Instituto Centro de Ensino Tecnológico, 2002. 40p.

ALVES, C. C. O.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) liofilizada. **Rev. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n.4, p. 830-839. out.-dez.2008.

ALVES, Thallyne de Brito; AFONSO, Marcos Rodrigues Amorim; COSTA, José Maria Correia da. Efeitos da adição de agentes carreadores sobre o pó da polpa de

pitaia vermelha. **Research, Society and Development**, São Paulo, v. 9, n. 8, 2020.

ARANHA, F.Q.; MOURA, L.S.A.; SIMÕES, M.O.S. *et al.* Normalização dos níveis séricos de ácido ascórbico por suplementação com suco de acerola (*Malpighia glabra* L.) ou farmacológica em idosos institucionalizados. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.3, p.309-317, 2004.

ARAÚJO, M. O. DE. **Preparação de derivados do ácido caféico e avaliação das suas atividades antimicrobianas**. 2017. 178 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

ARAUJO, T. M. R. **Influência da maltodextrina nas propriedades e na microestrutura da polpa de coco verde em pó**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

ASSIS, C. R. D. **Acetilcolinesterase cerebral e eritrocitária como biomarcadores in vitro da exposição a pesticidas organofosforados e carbamatos**. 2011. Tese Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2011.

ASSIS, D. C. S. **Validação de metodologia analítica por UPLC/MS-MS para avaliação da presença de resíduos de antimicrobianos em músculo de frangos de corte após tratamento**. 2015. Tese (Doutorado em Ciência Animal, Universidade Federal de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15 th. Supl 2. Ed. 1990.

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

AZIZ, M. G.; YUSOF, Y. A.; BLANCHARD, C.; SAIFULLAH, M.; FARAHNAKY, A.; SCHEILING, G. Material properties and tableting of fruit powders. **Food Eng Rev**, v. 10, p. 66–80. 2018.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1/2, p.114-117, 2005.

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

BANKOVA, V.; BERTELLI, D.; BORBA, R.; CONTI, B. J.; CUNHA, I. B. S.; DANERT, C.; EBERLIN, M. N.; FALCÃO, S. I.; ISLA, M. I.; MORENO, M. I. N.; PAPOTTI, G.; POPOVA, M.; SANTIAGO, K. B.; SALAS, A.; SAWAYA, A. C. H. F.; SCHWAB, N. V.; SFORCIN, J. M.; FINSTROM, M. S.; SPIVAK, M.; TRUSHEVA, B.; VILAS-BOAS, M.; WILSON, M.; ZAMPINI, C.. **Journal of Apicultural Research: Standard methods for Apis mellifera propolis research**. v. 58, n. 2, p. 1-49, 2019.

BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I.K.; ISHII, E.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; KADOTA, S. Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine**, v.8, p.16-23, 2001.

BARBARIĆ, M., MIŠKOVIĆ, K., BOJIĆ, M., LONČAR, M. B., SMOLČIĆ-BUBALO, A., DEBELJAK, Ž., MEDIĆ-SARIĆ, M. Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. **Journal of Ethnopharmacology**, 135: 772 – 778, 2011.

BARDANA, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 4, p. 341-363. 1998.

BASTOS, E.M.A.F. Indicadores de la calidad y del origen botánico del propóleo producido por abejas *Apis mellifera* en áreas del cerrado del Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE APICULTURA, 6., 1998. Mérida, **Anais...** México, 1998.

BASTOS, E.M.A.F.; OLIVEIRA, V.D.C.; SOARES, A.E.E. Microscopic characterization of the green propolis, produced in Minas Gerais State, Brazil. **Honeybee Sci.**, v. 21, p. 179- 180, 2000.

BATAGLION, G. A., DA SILVA, F. M., EBERLIN, M. N., & KOOLEN, H. H. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food chemistry**, v. 180, p. 280-287, 2015.

BELWAL, T., DEVKOTA, H.P., HASSAN, H. A., AHLUWALIA, S., RAMADAN, M.F., MOCAN, A., ATANASOV, A.G. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia spp.*) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v.74, p. 99– 106, 2018.

BEMILLER, J.; WHISTLER, R. **Carbohidratos**. Química de los Alimentos. [S.l.]: Acirbia, 2000. 189-265 p.

BENAMAR, H.; RACHED, W.; DERDOUR, A.; MAROUF, A. Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Biological Sciences**, New York, v. 10, n. 1, p. 1-9, Jan. 2010.

BETA, F. D., NEHRING, P., SERAGLIO, S. K. T., SCHUL, M. VALESE, A. C., DAGUER, H., GONZAGA, L. V., FETT, R., COSTA, A.C. O. Phenolic Compounds Determined by LCMS/MS and In Vitro Antioxidant Capacity of Brazilian Fruits in Two Edible Ripening Stages. **Plant Foods for Human Nutrition**, p. 1-6. 2018.

BHANDARI, B. R.; HARTEL, R.W. Phase transitions during food powder production and powder stability. In: CHARLES ONWULATA (Org.). **Encapsulated and Powdered Foods**. New York: Taylor & Francis, p. 261-292, 2005.

BLISKA, F. M. M.; LEITE, R. S. S. F. Aspectos econômicos e de mercado. In: SÃO JOSÉ, A. R.; ALVES, R.E. **Acerola no Brasil: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1995.p.107-123.

BOCCO, B. M. L. DA C. **O efeito do ácido caféico e do ácido ferúlico sobre a síndrome metabólica em camundongos**. 2013. 64f. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Medicina) – Unisfesp, São Paulo, 2013.

BORRELLI F, MAFFI AP, PINTO L, IANARO A, RUSSO A, CAPASSO F, IALENTI A. Phytochemical compounds involved in the an ammatory effect of propolis extract. **Fitoterapia**, v.73, p. S53-S63, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity., **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Produtos de Vegetais, produtos de Frutas e Cogumelos Comestíveis. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.

BRASIL. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção 1, p. 18, 2001.

BROCHADO C.O, ALMEIDA A.P, BARRETO B.P, COSTA L.P, RIBEIRO L.S, PEREIRA R.L.C, KOATZ V.L.G, COSTA S.S . Flavonol robinobiosides and rutosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on lymphocyte proliferation in vitro. **J Braz Chem Soc.**, v. 14, p. 449-451, 2003.

BRUSCHI, M. L. et al. Semisolid systems containing propolis for the treatment of periodontal disease: in vitro release kinetics, syringeability, rheological, textural, and mucoadhesive properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 2074 – 2089, 2007.

BUENO-SILVA, B.; KOO, H.; FALSETTA, M.L.; ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P.L. Effect of Neovestitol-vestitol containing Brazilian red propolis on biofilm accumulation in vitro and dental caries development in vivo. **Biofouling**, v. 29, n. 10, 2013.

BURDOCK G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food Chem Toxicol.** v. 36, p. 347-363, 1998.

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M. de. Composição Fenólica, Atividade Antibacteriana e Antioxidante da Própolis Vermelha Brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6p. 152-1527, 2009.

ÇAM, M.; IÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 117-123, 2014.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGUETA, P. C.; RAMOS, A.M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovate Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p. 420-428, 2005.

CAPARINO, O. A. et al. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. **Journal of Food Engineering**, v. 11, p. 135-148, 2012.

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

CAPPATO, L.P., FERREIRA, M.V.S., PIRES, R.P.S., CAVALCANTI, R.N., BISAGGIO, R.C., FREITAS, M.Q., SILVA, M.C., CRUZ, A.G. Whey acerola-flavoured drink submitted ohmic heating processing: Is there an optimal combination of the operational parameters? **Food Chemistry**, v. 245, p. 22–28, 2018.

CARMO, E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, v. 01, n. 02, p. 30-44, 2015.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina, Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2010.

CHAILLOUA, L. L.; NAZARENO, M. A. Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their chemical composition. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1422–1427, 2009.

CHEN, J.; LONG, Y.; HAN, M.; T. WANG; CHEN, Q.; WANG, R. Water-soluble derivative of propolis mitigates scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, v. 90, n. 3, p. 441- 446, set. 2008.

CHEN, X. D.; PATEL, K. C. Manufacturing better quality food powders from spray drying and subsequent treatments. **Drying Technology**, v. 26, p. 1313–1318, 2008.

CHEW, S.C.; TAN, C.P.; NYAM, K.L. Effect of gum arabic,  $\beta$ -cyclodextrin, and sodium caseinate as encapsulating agent on the oxidative stability and bioactive compounds of spray-dried kenaf seed oil. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 83, n.9, set. 2018.

CHOI, J.S.; YOKOZAWA, T.; OURA, H. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. **Journal of Natural Products**, v.54, n.1, p.218-224, 1991.

CLAUDE, J.; UBBINK, J. Thermal degradation of carbohydrate polymers in amorphous states: A physical study including colorimetry. **Food Chemistry**, Reading, v. 96, p. 402-410, 2006.

COLÍN-CRUZ, M.A.; PIMENTEL-GONZÁLEZ, D.J.; CARRILLO-NAVAS, H.; ALVAREZ-RAMÍREZ, J.; GUADARRAMA-LEZAMA, A.Y. Co-encapsulation of bioactive compounds from blackberry juice and probiotic bacteria in biopolymeric matrices. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 110, p.94-101, 2019.

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

COSTA, S.S.; MACHADO, B.A.S.; MARTIN, A.R.; BAGNARA, F.; RAGADALLI, CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Comparison of the antioxidant activity of some acid phenols: structure-activity relationship. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Benkyoku, v.59, p.324-325,1992.

DA SILVA FILHO, A.A. **Estudo fitoquímico, de cultivo e das atividades biológicas de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae), a principal fonte**

**botânica da própolis verde.** 2006. 188f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

DA SILVA, F.C, FONSECA, C.R, ALENCAR, S.M, THOMAZINI, M., BALIEIRO, J.C.C, & PITTIA, P. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 28–36, 2013.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P. PARK, Y. K. Brazilian Red Propolis Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 4, p. 435-441, 2008.

DI BATTISTA, C.A, CONSTENLA, D., RAMÍREZ-RIGO, M.V.; PINA, J. The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. **Powder Technology**, v. 286, p. 193–201, 2015.

8 de novembro de 2019. Própolis verde de MG ganha espaço no exterior. **Diário Do Comércio** Disponível em <https://diariodocomercio.com.br/agronegocio/propolis-verde-de-mg-ganha-espaco-no-exterior/> Acesso em 10 fev. 2022.

ELLMAN, G. C; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FHEATHERSTONE, R. M. A. New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88- 95, 1961.

FAGUNDES, G. R. E YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo 'solo' comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista brasileira de fruticultura**, v.23, n.3, p.541-545, 2001.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERNANDES JÚNIOR, A.; LOPES, C.A.M.; SFORCIN, J.M., FUNARI, S.R.C.

Population analysis of susceptibility to propolis reference strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.3, n.2, p.287-294, 1997.

FERNANDES, J.R. A.; BALESTRIN, E.C.; BETONI, J.E.C.; ORSI, R.O.; CUNHA, M.L.R.S.; MONTELLI, A.C. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 563-66, 2005.

FERNANDES-SILVA, C. C. **Análise química e atividades antioxidante e citotóxica de amostras de própolis de alecrim**. 2008. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área: Botânica) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FIGUEIREDO, F.J.B.; DIAS-SOUZA, M.V.; NASCIMENTO, E.A.; DE LIMA, L.R.P. Physicochemical characterization and flavonoid contents of artisanal brazilian green propolis. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 3, p. 64-68, 2015.

FRAGA, A.S. **Acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, carboxilesterase e a resistência de peixes neotropicais aos pesticidas organofosforados**. 2010. 145f. Tese (Doutorado em Biociências) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

FRANCHIN, M.; FREIRES, I. A.; LAZARINI, J. G.; NANI, B. D.; DA CUNHA, M. G.; COLÓN, D. F.; ROSALEN, P. L. Review. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal**, 2017.

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

FRANCISCO, L.; PINTO, D.; ROSSETO, H.; TOLEDO, L.; SANTOS, R.; TOBALDINI-VALÉRIO, F.; SVIDZINSKI, T.; BRUSCHI, M.; SARMENTO, B.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; RODRIGUES, F. Evaluation of radical scavenging activity, intestinal cell viability and antifungal activity of Brazilian propolis by-product. **Food Research International**, v.105, p. 537–547, 2018.

FRASCARELI, E. C. **Microencapsulação de óleo de café através de secagem por atomização**: avaliação das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó. 2010. 153f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

FROZZA, C. O. da S.; GARCIA, C. S. C.; GAMBATO, G.; SOUZA, M. D. O. de; SALVADOR, M.; MOURA, S.; PADILHA, F. F.; SEIXAS, F. K.; COLLARES, T.; BORSUK, S.; DELLAGOSTIN, O. A.; PÊGAS, J. A.; ROESCH-ELY, M. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 52, p. 137–142, 2013.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. Análise de Própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 171-178, 2006.

GARCÍA, L. P.; GALÁN, J. P. M.; PAJÓN, C. M. G; GONZÁLEZ, J. H. G.; RESTREPO, D. L. D.Caracterización Fisicoquímica y Actividad Antimicrobiana del Propóleos en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 63, p. 5373-5383, 2010.

GEA Niro Research Laboratory. **Analytical methods dry milk products**. GEA Niro analytical methods A14 a. Soeborg, Denmark. 2003. 103 p.

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

GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. **Bee World**, v.60, n.2, p.59-84, 1979.  
GHORBANZADE, T.; JAFARI, S. M.; AKHAVAN, S.; HADAVI, R. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. **Food Chemistry**, v. 216, p. 146–152, 2017.

GONÇALVES, A. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C**. 2008.

**88f.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GOULA, Athanasia M.; ADAMOPOULOS, Konstantinos G. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. Power properties. **Drying technology: Na International Journal**, v. 26, n. 6, p. 726-737, 2008.

GOULART, D. S. **Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico**. 2012. 164f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GRAY, D. A. et al. Antioxidant activity of oat extracts added to human LDL particles and in free radical trapping assays. **Journal of Cereal Science**, v. 36, n. 2, p. 209-218, 2002.

GREENAWAY, W.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F.R. The composition and plant origins of propolis. **Bee World**, v. 71, n. 3, p. 107-118, 1990.

GREGÓRIO, L.E. **Influência da sazonalidade na composição polínica, no perfil químico e na atividade antimicrobiana da própolis produzida em Cajuru-SP**. 2003. 174f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2003.

HALLIWELL, B.; Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. **The American Journal of Medicine**, v. 91, p. 14-22, 1991.

HEGAZI, A. G.; HADY, F. K. A.; ALLAH, F. A. M. A. Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. **Zeitschrift Fur Naturforschung**, v. 55, p. 70-75, 2000.

HODEL, K. V. S.; MACHADO, B. A. S.; SANTOS, N. R.; COSTA, R. G.;

MENEZESFILHO, J. A.; UMSZA-GUEZ, M. A. Metal Content of Nutritional and Toxic Value in Different Types of Brazilian Propolis. **The Scientific World Journal**, v.2020, p. 1-9, 2020.

HUANG, S., ZHANG, C.P., WANG, K., LI, G., HU, F.L. Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. **Molecules**, v. 19, p. 19610–19632, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, p.101, 2005.

ISLAM, A.M.; PHILLIPS, G.O.; SLJIVO, A.; SNOWDEN, M.J.; WILLIAMS, P.A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 11, p. 493-505, 1997.

IZUTA, H.; SHIMAZAWA, M.; TAZAWA, S.; ARAKI, Y.; MISHIMA, S.; HARA, H. Protective effects of chinese propolis and its component, chrysin, against neuronal cell death via inhibition of mitochondrial apoptosis pathway in SH-SY5Y cells. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 8944-8953, out. 2008.

IZYDOREZYK, M.; CUI, S. W.; WANG, Q. Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. In: CUI, S. W. ed. **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**. [S.l.]: Taylor & Francis ed., p. 263-308, 2005.

JACQUES, A.C.; PERTUZATTI, P.B.; BARCIA, M.T. ZAMBIAZI, R.C. Compostos Bioativos em pequenas frutas cultivadas na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.12, p. 123-127, 2009.

JAFARI, S. M.; GHALENOEI, M. G.; DEHNAD, D. Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. **Powder Technology**, v. 311, p.59–65, 2017.

JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190-196, 2014.

JAYA, S.; DAS, H. Effect of Maltodextrin, Glycerol Monostearate and Tricalcium Phosphate on Vacuum Dried Mango Powder Properties. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 125-134, 2004.

KELSEY, N. A.; WILKINS, H. M.; LINSEMAN, D. A. Nutraceutical Antioxidants as Novel Neuroprotective Agents. **Molecules**, v.15, p. 7792-7814, 2010.

KENNEDY, J.F.; KNILL, C.J.; TAYLOR, D.W. Maltodextrins. In: KEARSLEY, M.W.; DZIEDZIC, S.Z. **Blackie Academic & Professional**, p.65-82, 1995.

KHAN, M. T. H.; ORBAN, I.; SENOL, F. S.; KARTAL, M.; SENER, B.; DVORSKA, M.; SMEJKAL, K.; SLAPETOVA, T. Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. **Chemico- Biological Interactions**, v. 181, p. 383–389, 2009.

KNIGHT, J. Origin and world importance of tropical and sub-tropical fruits crops. In: NAGY, S.; SHAW, P.E. **Tropical and sub-tropical fruits: composition, properties and uses**. Westport: Avi, 1980. p.1–120.

KORU, O.; TOKSOY, F.; ACIKEL, C. H.; TUNCA, Y. M.; BAYSALLAR, M.; USKUDAR GUCLU, A.; AKCA, E.; OZKOK TUYLU, A.; SORKUN, K.; TANYUKSEL, M.; SALIH, B. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. **Anaerobe**, London, v. 13, p. 140- 145, 2007.

KRUMREIC , Fernanda; D"AVILA, Roseane Farias; FREDA, Suzan Almeida; CHAVES , Fábio Clasen; CHIM, Josiane Freitas; Análises físico-químicas e estabilidade de compostos bioativos presentes em polpa de uvaia em pó obtidos por métodos de secagem e adição de maltodextrina e goma arábica. **Revista Thema**, Pelotas, v. 14, n. 2, p. 4-17, 2016.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p.1283-1287, jul-ago, 2006.

LEE, J.K.M.; TAIP, F.S.; ABDULLAH. Z. Effectiveness of additives in spray drying performance: a review. **Food Research 2**, [s.l.], v.6, p. 486 – 499, nov. 2018.

LIBERATO, M. C. T. C.; MORAIS, S. M.; MENEZES, J. E. S. A.; SIQUEIRA, S. M. C.; SOUSA, L. S.; SILVA, M. M. O. Teor de fenóis e propriedades biológicas de própolis do Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 51., 2011. São Luis. **Anais...** São Luis: 2011.

LIMA, M. G. **A produção de própolis no Brasil**. São João da Boa Vista: São Sebastião Editora e Gráfica, p.120, 2006.

LIU, R.; GAO, M.; YANG, Z.; DU, G. Pinocembrin protects rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia–reperfusion both in vivo and in vitro. **Brain Research**, v. 1216, p. 104-115, jun. 2008.

LOPERA, C; SENEIDA, M; *et al.* Desarrollo y caracterización de micropartículas de ácido fólico formadas por secado por aspersión, utilizando goma arábica y maltodextrina como materiales de pared. **Vitae**, Medellín, v. 16, n. 1, p. 55-65, 2009.

LÓPEZ, B.G.; SCHMIDT, E.M.; EBERLIN, M.N.; SAWAYA, A.C. Phytochemical markers of different types of red propolis. **Food Chem.**, v.146, p.174-80, 2014.

LOPEZ-FERNÁNDEZ, O. *et al.* Vigilância de resíduos de ditiocarbamato fungicida em frutas e hortaliças. **Food Chemistry**, v. 134, 2012.

LUO H.; JIANG B.; KING S.M.; CHEN Y.C. Inhibition of cell growth and VEGF expression in ovarian cancer cells by flavonoids. **Nutr. Cancer**, v. 60, n. 6, p. 800–809, 2008.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; NETO, P. J. R. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008.

MACHADO, B. A. S; SILVA, R. P. D; BARRETO, G. A; COSTA, S. S, SILVA, D. F, BRANDÃO, H. N.; ROCHA, J. L. C; DELLAGOSTIN, O. A; HENRIQUES, J. A. P; UMSZA-GUES, M. A; PADILHA, F. F. 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, e.0145954, 2016.

MACHADO, L. K. A.; MOREIRA, D. R.; COSTA, S. M. O.; LIBERATO, M. C. T. C.; MORAIS, S. M.; ALENCAR, J. E. S. Atividade anticolinesterásica dos extratos metanólicos de própolis de Camocim e Alto Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 51., 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: [s.n.], 2009.

MACIEL, R. M. G.; LIMA, S. B.; COSTA, J. M. C.; AFONSO, M. R. A. Influência da maltodextrina nas propriedades de escoamento do pó da polpa de cupuaçu/Influence of maltodextrin on the flow properties of the cupuaçu pulp powder. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 5829-5839, 2020.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release- a review. **International Journal of Food Science and Technology**, Manchester, v. 41, p. 1-21, 2006.

MALEGORI, C.; NASCIMENTO MARQUES, E. J.; DE FREITAS, S. T.; PIMENTEL,

M. F.; PASQUINI, C.; CASIRAGHI, E. Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, 165, p. 112-116, 2017.

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCÍAVIGUERA, C.; BANKOVA, V. S.; DE CASTRO, S. L.; DANTAS, A. P.; VALENTE, P. H. M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 74, p. 105-112, 2001.

MARCUCCI, M.C. et al. Chemical composition of Brazilian propolis from Sao Paulo State. Zeitschrift fur Naturforsch – Sect. C. **Journal Bioscience**, v. 53, n. 1–2, p. 8–10, 1998.

MARK, R.; LYU, X., LEE, J. J., PARRA-SALDÍVAR, R.; CHEN, W. N. Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 233-254, 2019.

MARQUELE, F. D.; MAMBRO, V. M. D.; GEORGETTI, S. R.; CASAGRANDE, R.; VALIM, Y. M.L.; FONSECA, M. J. V. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, v. 39, n. 3-4, p. 455-462, set. 2005.

MARQUES, E. C; COSTA, S. R. R. Estudo da liofilização pela engenharia de produto no processamento industrial de alimentos. **Acta Tecnologia**, Maranhão, v. 10, n. 1, p. 44-52, 2015.

MARQUES, T. R., CAETANO, A. A., HENRIQUE S. CESAR, P., BRAGA, M. A., HENRIQUE A. MACHADO, G., DE SOUSA, R. V., E CORRÊA, A. D. Antioxidant

activity and hepatoprotective potential of lyophilized extract of acerola bagasse against CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in Wistar rats. **Journal of Food Biochemistry**, v.42, n.6, p.12670, 2018.

MASSARO, C.F.; KATOULI, M.; GRKOVIC, T.; VU, H.; QUINN, R.J.; HEARD, T.A.; CARVALHO, C.; MANLEY-HARRIS, M.; WALLACE, H.M.; BROOKS, P. Anti-staphylococcal activity of C-methyl flavanones from propolis of Australian stingless bees (*Tetragonula carbonaria*) and fruit resins of *Corymbia torelliana* (Myrtaceae). **Fitoterapia**, v.95, p. 247–257, 2014.

MELLO, B. C. B. S. *et al.* Desempenho do processo de concentração de extratos de própolis por nanofiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 166-172, 2010.

MELO, A. A. M.; MATSUDA, A. H.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Identidade e qualidade da própolis proveniente de quatro regiões do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 540-548, 2012.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. A. G. L.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MENDIOLA, J. A. *et al.* Design of natural food antioxidant ingredients through a

chemometric approach. **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, p. 787– 792, 2010.

MERKEN, H.M.; BEECHER, G.R. Measurement of food flavonoids by highperformance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, 2000.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; GARCÍA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 21, p. 282-290, 2008.

MILITAO, G.C.; JIMENEZ, P.C.; WILKE, D.V.; PESSOA, C.; FALCÃO, M.J.; SOUSA LIMA, M.A.; SILVEIRA, E.R.; DE MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, L.V. Antimutagenic properties of pterocarpanes isolated from *Platymiscium floribundum* of sea urchin eggs. **Planta medica**, v. 71, n. 7, p. 683 – 685, 2005.

MOON, P. Estudo Destaca Potencial do Jucá Contra Rugas e Manchas na Pele. **Jornal da USP**, São Paulo, ano 2016, 4 nov. 2016. Ciências da Saúde. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-da-saude/estudo-destaca-potencial-do-juca-contrarugas-manchas-na-pele/>. Acesso em: 10 jan. 2023.

MORAES, C.S. **Isolamento e identificação de formononetina da própolis de joão pessoa-pb, estudo de sua sazonalidade e avaliação de suas atividades biológicas**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2009.

NAKAJIMA, Y.; SHIMAZAWA, M.; MISHIMA, S.; HARA, H. Neuroprotective effects of brazilian green propolis and its main constituents against oxygen-glucose deprivation stress, with a gene expression analysis. **Phytotherapy Research**, v. 23, n. 10, p. 1431-1438, mar. 2009.

NICKEL, T.; HANSEN, H.; SISIC, Z.; PFEILER, S.; SUMMO, C.; SCHMAUSS, D.; HOSTER, E.; WEIS, M. Immunoregulatory effects of flavonol quercetin in vitro and in vivo. **European Journal of nutrition**, v. 50, n. 3, p. 163-172, 2010.

NOBUSHI, Y.; OIKAWA, N.; OKAZAKI, Y.; TSUTSUMI, S.; PARK, Y.K.; KUROKAWA, M.; YASUKAWA, K. Determination of Artepillin-C in Brazilian Propolis by HPLC with Photodiode Array Detector. **Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences**, v. 2, p. 127-131, 2012.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITTY, H. A.; SILVA JÚNIOR, J.F. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico– químicas dos frutos da aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 463– 470, 2002.

NÚÑEZ, D. R.; BALBOA, N. P.; ALVEAR, M. Z.; CERON, A. N.; ABARZUA, K. S.; VASCONCELLOS, A. C. Evaluación de la actividad anti-inflamatoria de propóleos chileno sobre cortes histológicos de orejas de ratón. **Int. J. Morphol**, v. 36, n. 1, p. 189-193, 2018.

ÓBON, J. M.; CASTELLAR, M. R.; ALACID, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Production of red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray dryer and its application in food model system. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p.

471-479, 2009.

OLDONI, T. L.C.; CABRAL, I.C.R.; D'ARCEA, M.A.B.R.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKIC, M.; NASCIMENTO, A.M.; ALENCAR, S.M. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. **Separation and Purification Technology**, v. 77, p. 208–213, 2011.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, K. A. de M.; OLIVEIRA, G. V.; BATALINI, C.; ROSALEM, J. A.; RIBEIRO, L. S.. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fênois Totais em diferentes extratos de própolis. **Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde Humana**, v. 33, n. 2, p. 211-222, 2012.

OLIVEIRA, V.D.C.; BASTOS, E.M. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis. **Acta Bot Bras.**, v. 12, p. 431-439, 1998.

OLIVEIRA, M.A. Avaliação da influência de adjuvantes de secagem sobre as propriedades de suco de caju atomizado. Dissertação (mestrado)- Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

ONLEN Y, TAMER C, OKSUZ H, DURAN N, ALTUG ME, YAKAN S. Comparative trial of different antibacterial combinations with propolis and ciprofloxacin on *Pseudomonas keratitis* in rabbits. **Microbiol Res.**, v. 162, p. 62-68, 2007.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**: Componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, v. 1, 2005. 294p.

ORHAN, I.; KARTAL, M.; TOSUN, F.; SENER, B. Screening of various phenolic acids and flavonoid derivatives for their anticholinesterase potential. **Zeitschrift fur Naturforschung – section C Journal of Biosciences**, v. 62, p. 829–832, 2007.

ORSI, R. O.; SFORCIN, J. M.; RALL, V. L. M.; FUNARI, S. R. C.; BARBOSA, L.; FERNANDES JÚNIOR, A. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 11, p. 109-116, 2005.

PALOMINO, L. *et al.* Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleos en el municipio de la unión (Antioquia, Colombia). Revista Facultad Nacional de Agronomía, **Medellín**, v. 63, n. 1, p. 5373-5383, 2010.

PARK Y.K., ALENCAR S.M., SCAMPARINE A. R. P., AGUIAR C. L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v.32, p. 997-1003, 2002.

PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K., Flavonoids as medicinal agents: recent advances. **Fitoterapia**, v.57, n.5, p.371-389, 1991.

PAZIN, W. M.; MÔNACO, L. M.; SOARES, A. E. E.; MIGUEL, F. G.; BERRETTA, A.

A.; ITOET, A. S. Antioxidant activities of three stingless bee propolis and green propolis types. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 1, p. 40-49, 2017.

PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D.; MASINI, J. C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Quim. Nova**, v. 31, p. 2190-2193, 2008.

PEREIRA, A. dos S.; PEREIRA, A. F. de M.; TRUGO, L. C.; AQUINO NETO, F. R. de. Distribution of Quinic Acid Derivatives and Other Phenolic Compounds in Brazilian Propolis. **Z. Naturforsch.**, v. 58, p. 590-593, 2003

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; NETO, F. R. A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, C.A.M.; VILEGAS, J.H.Y. Constituintes químicos e farmacologia do gênero *Passiflora* com ênfase a *P. alata* Dryander, *P. edulis* Sims, e *P. incarnata* L. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v.3. n.1, 2000.

PEREIRA, C.G., RESENDE, J.V., GIAROLA, T.M.O. Relationship between the thermal conductivity and rheological behavior of acerola pulp: Effect of concentration and temperature **LWT - Food Science and Technology**, v.58,p. 446-453,2014.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

PICCINELLI, A. L.; LOTTI, C.; CAMPONE, L.; CUESTA-RUBIO, O.; FERNANDEZ, M. C.; RASTRELLI, L. Cuban and Brazilian red propolis: botanical origin and comparative analysis by highperformance liquid chromatography- photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **J Agric Food Chem**, v.59, n.12, p.6484-91, 2011.

PICCINELLI, A.N.; FERNANDEZ, M.C.; CUESTA-RUBIO, O.; HERNÁNDEZ, I.M.; SIMONE, F.; RASTRELLI, L. Isoflavonoids isolated from Cuban Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.53, n.1, p.9010-9016, 2005.

PINTO, F.T.R. **Avaliação da qualidade e da atividade biológica de méis produzidos pelas abelhas *apis mellifera* e *melipona subnitida* oriundos do rio grande do norte**. 2015. 65f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2015.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extrato de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, p. 278-283, 2001.

PIPPI, B.; LANA, A.J.; MORAES, R.C.; GÜEZ, C.M.; MACHADO, M.; DE OLIVEIRA, L. F. ; LINO VON POSER, G.; FUENTEFRIA, A.M. In vitro evaluation of the acquisition of resistance, antifungal activity and synergism of Brazilian red propolis with antifungal drugs on *Candida* spp. **J Appl Microbiol.**, v.118, n.4, p. 839-50, 2015.

PUDZIUVELYTE, L.; MARKSA, M.; JAKSTAS, V.; IVANAUSKAS, L.; KOPUSTINSKIENE, D. M.; BERNATONIENE, J. Microencapsulation of Elsholtzia ciliata Herb ethanolic extract by spray-drying: impact of resistant-maltodextrin complemented with sodium caseinate, skim milk, and beta-cyclodextrin on the quality of spray-dried powders. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1461, 2019.

RAMOS, S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention, II **J Nutr Biochem.**, v. 18, 427–442, 2007.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Drogas que Inibem a Cholinesterase**. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2001. p. 110-115,

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 49, n. 4, p. 311-319, 2001.

RAY, S., RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v.13, p. 76-83, 2016.

REIS, J. S. S.; OLIVEIRA, G. B.; MONTEIRO, M. C.; MACHADO, C. S.; TORRES, Y. R.; PREDIGER, R. D.; MAIA, C. S. F. Antidepressant and anxiolytic-like activities of an oil extract of propolis in rats. **Phytomedicine**, v. 21, n. 11, p. 1466-1472, set. 2014.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (Malpighia emarginata DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 254, n. Jan., p. 281–291, 2018.

RIBEIRO, L.C. **Produção de acerola em pó: métodos de secagem e avaliação da estabilidade**. 2014. 145f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

RICCIARELLI, R.; ARGELLATI, F.; PRONZATO, M. A.; DOMENICOTTI, C. Vitamin E and neurodegenerative diseases. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 28, p. 591–606, 2007.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 32, n. 264, p. 17-25, 2011.

ROCHA E. M. F. F. et al. Obtenção de suco de caju atomizado através do controle das condições de secagem. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.18, n.6, p.646–651, 2014.

ROCHA, Danielly Santos; REED, Elaine. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância à saúde. **Revista Estudos Vida e Saúde**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 76-85, 2014.

RODRIGUES, I. **Engenharia Alimentar, processamento geral de alimentos: Liofilização**. ESAC. 2008. Disponível em: [http://anselmo.quimica.ufg.br/up/56/o/FQSol\\_Aula\\_Liofilizacao.pdf](http://anselmo.quimica.ufg.br/up/56/o/FQSol_Aula_Liofilizacao.pdf). Acesso em: 15 de out. 2023.

ROWE, RAIMOND C., SHESKEY, PAUL J., QUINN, MARIAN E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. Great Britain: Pharmaceutical Press, 2009.

RUFER, C.E.; KULLING, S. Antioxidant Activity of Isoflavones and Their Major Metabolites Using Different in Vitro Assays. **J Agric Food Chem**, v. 54, p. 2926 – 2931, 2006.

RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of própolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galang. **Fitoterapia**, v. 73, Suppl. 1, p. 21-29, 2002.

S.A.; ALVES, A.R.C. Drying by spray drying in the food industry: Micro-encapsulation, process parameters and main carriers used. **African Journal of Food Science**, [s.l.], v. 9, p. 462-470, set. 2015.

SAËNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, Columbus, n.114, 2009. p.616–622.

SALATINO A, TEIXEIRA EW, NEGRI G AND MESSAGE D, Origin and chemical variation of Brazilian própolis. **Evidence-Based Complementary Alternative Medicine**, v. 2, p. 33–38, 2005.

SALGUEIRO, F.B.; CASTRO, R.N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, p. 1-8, 2016.

SANTAS, J.; ALMAJANO, M. P.; CARBO, R. Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Allium cepa*, L.) extracts. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 403-409, 2010.

SANTOS, A. B.; TRINDADE, F. C. S.; GROSSO, F. C. R. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005.

SANTOS, P. I. M. Avaliação da toxicidade aguda do inseticida metomil e o seu efeito sobre a atividade de acetilcolinesterase do peixe *Danio rerio*. 2009. 145f. Dissertação (Mestrado em Bioecologia aquática) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

SANTOS, R. C. S. dos. **Microencapsulação de *Lactobacillus casei* por spray drying**. 2013. 165f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SARIKA, P. R.; NIRMALA, R. J. Curcumin loaded gum Arabic aldehyde gelatin nanogels for breast cancer therapy. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 65, p. 331–337, 2016.

SARIKURKCU, C.; TEPE, B.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; HAR, AMDAR. M. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. **Bioresour Technology Journal**, v. 99, p. 4239-4246, 2008.

SARKAR, S., GUPTA, S., VARIYAR, P. S., SHARMA, A., SINGHAL, R. S. Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 177 – 182, 2013.

SAYED, E.; ASHRYA, E.; AHMADB, T. The use of propolis as vaccine's adjuvant. **Elsevier**, Alexandria, v. 31, n. 14, p. 31-39, 2012.

SEIFRIED, H. E.; ANDERSON, D. E.; FISHER, E. I.; MILNER, J. A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **J. Nutr. Biochem.**, v. 18, n. 9, p. 567-579, 2007.

SENTHILKUMAR, K.; ELUMALAI, P.; ARUNKUMAR, R.; BANUDEVI, S.; GUNADHARINI, N. D.; SHARMILA, G.; SELVAKUMAR, K.; ARUNAKARAN, J. Quercetin regulates insulin like growth factor signaling and induces intrinsic and extrinsic pathway mediated apoptosis in androgen independent prostate cancer cells (PC-3). **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 344, n. 1-2, p. 173-184, 2010.

SHAARUDDIN, S., GHAZALI, H. M., MIRHOSSEINI, S. H.; MUHAMMAD, K. Stability of betanin in pitaya powder and confection as affected by resistant maltodextrin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 129-134, 2017.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHOFIAN, Norshahida Mohamad; HAMID, Azizah Abdul; OSMAN, Azizah; SAARI, Nazamid; ANWAR, Farooq; DEK, Mohd Sabri Pak Dek; HAIRUDDIN, Muhammad Redzuan. Effect of freeze-frying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 7, p. 4678-4692, 2011.

SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spraydrying, **Journal of Food Engineering**, v. 76, p. 664 – 669, 2006.

SILVA, B. B., ROSALEN, P. L., CURY, J. A., IKEGAKI, M., SOUZA, V. C., ESTEVES, A., ALENCAR, S. M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, 2007.

SILVA, M. A.; SOBRAL, P. J. A.; KIECKBUSCH, T. G. State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. **J. of Food Eng.**, v. 77, n. 3, p. 426-432, 2006.

SILVA, M. C. **Aproveitamento do resíduo do despulpamento da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) para obtenção de pigmento com propriedades funcionais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2012.

SILVA, P. B., DUARTE, C. R., & BARROZO, M. A. S. Dehydration of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue in a new designed rotary dryer: Effect of process variables on main bioactive compounds. **Food and Bioprocess Processing**, v.98, p. 62–70, 2016.

SILVA, R. A.; RODRIGUES, A. E.; MARCUCCI, M. C.; CUSTÓDIO, A. R.; ANDRADE, N. E. D.; PEREIRA, W. E. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1842-1848, 2006.

SILVA, R. P. D.; MACHADO, B. A. S.; COSTA, S. S.; BARRETO, G. A.; PADILHA, F. F.; UMSZA-GUEZ, M. A. Aplicação de Extrato de Própolis em Produtos Alimentícios: Uma Prospeção Baseada em Documentos de Patentes. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n.5, p. 1-11, 2016.

SIMÕES C. M. O.; SCHENKEL E. P.; GOSMANN G.; MELLO J. C. P.; MENTZ L. A.; PETROVICK P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS / UFSC, 2004.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdenic-phosphotungstic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SIQUEIRA, A. L. et al. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 43, n. 6, p. 359–366, dez. 2014.

SIRISHA, N.; SREENIVASULU, M.; SANGEETA, K.; MADHUSUDHANA, C. Antioxidant properties of Ficus Species – A review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 4, p. 2174-2182. 2010.

SOARES, A.K.A.; CARMO, G.C.; QUENTAL, D.P.; NASCIMENTO, D.F.; BEZERRA, F.A.F.; MORAES, M.O.; MORAES, M.E.A. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, p. 447-454, 2006.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Marília, v. 15, 18 jun 2002.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. V.; AYRES. M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007.

SOUSA, N.P.B; FURTADO, N.A.J.C; JORGE, R; Soares, A.E.E; Bastos, J.K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 85-93, Jan./Mar. 2007.

SOUZA, J. S. **Secagem de misturas de polpa de frutas tropicais em leite de jorro**. Tese (Doutorado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

STEPANOVIC, S.; ANTIC, N.; DAKIC, I.; VLAHOVIC, M.S. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. **Microbiol Res.**, v. 158, p. 353-357, 2003.

SUKHOTU, R.; GUO, S.; XING, J.; HU, Q.; WANG, R.; SHI, X.; NISHINARI, K.; FANG, Y.; GUO, S. Changes in physiochemical properties and stability of peanut oil body emulsions by applying gum arabic. **Food Science and Technology**, v. 68, p. 432-438, 2016.

SZLISZKA, E.; ZENON, P.A.M.; CZUBA, KRÓL, W. Inhibition of Inflammatory Response by Artepillin C in Activated RAW264.7 Macrophages. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 735176, n. 11, 2013.

TAVARES, M. C.; CASTILHOS, B. M.; MAURO, M. A.; RAMOS, A. M.; SOUZA, R. T.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GOMES, E.; SILVA, R.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.;

LAGOVANZELA, E. S. BRS Violeta (BRS Rúbea x IAC 1398-21) grape juice powder produced by foam mat drying. Part I: Effect of drying temperature on phenolic compounds and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 298, e124971, 2019.

TAVARES, J.P.; MARTINS, I.L.; VIEIRA, A.S.; LIMA, F.A.V.; BEZERRA, F.A.F.; MORAES, M.O.; MORAES, M.E.A. Estudo de toxicologia clínica de um fototerápico a base de associações de plantas, mel e própolis. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, p. 350-356, 2006.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669–675, 2006.

TIVERON, A. P.; ROSALEN, P. L.; FRANCHIN, M.; LACERDA, R. C. C.; BUENOSILVA, B.; BENSO, B.; DENNY, C.; IKEGAKI, M.; DE ALENCAR, S. M. Chemical Characterization and Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Inflammatory Activities of South Brazilian Organic Propolis. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, 2016.

TODOROVA, M.; TRENDAFILOVA, A. Sideritis scardica Griseb., an endemic species of Balkan peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 152, n. 2, p. 256-265, 2014.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.444-450, 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Aplicação da secagem por atomização para a obtenção de produtos funcionais com alto valor agregado do açaí. **Inc. Soc.**, v.6, n. 2, p. 70- 76, 2013.

TORRES, C. R. G.; KUBO, C. H.; ANIDO, A. A.; RODRÍGUEZ, J. R. Antimicrobial agents and your potencial of use in odontology. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Campinas, v. 3, p. 43-52, 2000.

TORTORA, G.J.; DERRICKSON, B. **Princípios de anatomia e fisiologia**. [S.l.]: Guanabara, 2010.

TRUSHEVA, B.; POPOVA, M.; BANKOVA, V.; SIMOVA, S.; MARCUCCI, M. M.; MIORIN, P. L.; PASIN, F. R.; TSVETKOVA, I. et al. Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249-254, 2006.

UZEL, A.; SORKUN, K. ÖNÇAG, Ö.; ÇOGULU, D.; GENÇAY, Ö.; SALIH, B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological Research**, v. 160, p. 189-195, 2005.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato etanólico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 159-163, 2004.

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

VIEIRA, A. P.; NICOLETI, J. F.; TELIS, V. R. N. Liofilização de fatias de abacaxi: avaliação da cinética de secagem e da qualidade do produto. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 15, n.1, p. 50-58, 2012.

VIGNA, C. R. M. **Tratamento térmico na imobilização de fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência**. 2004. 104f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2004.

VYNOGRAD, N.; VYNOGRAD, I.; SOSNOWSKI, Z. A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). **Phytomedicine**, v. 7, n. 1, p. 1-6, Mar. 2000.

WANG, B.J.; LIEN, Y.H.; YU, Z.R. Supercritical fluid extractive fractionation- study of the antioxidant activities of propolis. **Food Chem**, v.86, p. 237-243, 2004.

Woisky, R. G., & Salatino, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, 37(2), 99–105, 1998.

WU, D.; SUN, D.-W. Colour measurements by computer vision for food quality control: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 29, n. 1, p. 5–20, 2013.

Xu, X. M., Yu, S., Li, R. et al. Distribution and migration study of pesticides between peel and pulp in grape by online gel permeation chromatography-gas chromatography/mass spectrometry. **Food Chemistry**, Norwich, Reino Unido, v. 135, 2012.

Y. Zhang, A.Y. Chen, M. Li, C. Chen, Q. Yao, Ginkgo biloba extract kaempferol inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cells, **J Surg Res.**, v. 148, n. 1, p. 17– 23, 2008.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e**

**Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n.1, p. 92-94, 2003.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2006.

YU, L. et al. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. **Food Chemistry**, v. 78, n. 4, p. 457-461, 2002.

ZAINI, N. A. M., ANWAR, F., HAMID, A. A.; SAARI, N. Kundur [Benincasa hispida (Thunb.) Cogn.]: A potential source for valuable nutrients and functional foods. **Food Research International**, v. 44, p. 2368–2376, 2011.

ZEA, Lai Pei; YUSOF, Yus Aniza; AZIZ, Mohammad Gulzarul; LING, Chin Nyuk; AMIN, Nor Amaiza Mohd. Compressibility and dissolution characteristics of mixed fruit tablets made from guava and pitaya fruit powders. **Powder Technology**, v. 247, p. 112-119, 2013.

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

ZOKTI, A; et al. Microencapsulation of Green tea Extracts and its Effects on the Physico-Chemical and Functional Properties of Mango Drinks. **International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS**, v. 16, n. 2, p. 16-32, 2016.

PELLATI, F.; ORLANDINI, G.; PINETTI, D.; BENVENUTI, S. HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 934–948, 2011.

SAÉNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 114, p. 616–622, 2009.