

MICROPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS REVESTIDAS COM OVOALBUMINA E OBTIDAS POR SPRAY DRYING

Raquel M. Oliveira*; **Cristina Jansen-Alves;** **Caroline D. Borges;** **Bruna Wendt Böhmer;** **Fernanda D. Krumreich;** **Rui C. Zambiasi.**

Laboratório de Cromatografia e Frutas e Hortaliças, Curso de Bacharelado em Química de Alimentos,
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS

*E-mail: raquelmoroli@gmail.com

RESUMO – A própolis é um produto elaborado pelas abelhas através de substâncias resinosas e gomas retiradas das plantas. Apesar de todos os efeitos benéficos já relatados sobre a própolis, seu consumo ainda é dificultado devido ao seu sabor amargo, além da baixa solubilidade. Assim, objetivou-se com este estudo microencapsular extrato de própolis por *spray drying*, e avaliar a eficiência de encapsulação e liberação gastrointestinal *in vitro*. O extrato de própolis e a solução de proteína foram atomizados em *spray drying*, utilizando diferentes temperaturas de entrada. A eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos variou de 54,60 a 88,20%. Quando se utilizou 4% de ovoalbumina houve maior influência da temperatura de secagem, com a maior eficiência em 120 °C. Na liberação gastrointestinal observou-se liberação de grande parte dos compostos fenólicos encapsulados após 1 h no fluido gástrico, havendo redução dos compostos no fluido intestinal (após 2 h), provavelmente em virtude da degradação dos compostos fenólicos, devido ao pH ácido e a presença de enzimas. Nenhuma das micropartículas apresentou perfil ideal de liberação dos compostos fenólicos nas condições gastrointestinais simuladas. Entretanto, o comportamento inadequado na digestão *in vitro* não impede que as partículas possam ser adicionadas a alimentos em função de sua atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: Compostos fenólicos, extrato de própolis, liberação gastrointestinal.

1 INTRODUÇÃO

A própolis é um produto de origem animal elaborado pelas abelhas através de substâncias resinosas e gomosas, que são coletadas de brotos, flores e exsudados de plantas. (SILVA et al., 2012). A própolis é constituída basicamente por 50% de resina, 30% de cera e 5% de pólen, além de 10% de óleos essenciais e outros 5% de compostos diversos (PARK et al., 2002). Os compostos fenólicos presentes na própolis tem atraído muita atenção devido a sua relação com a atividade antioxidante (MIGUEL, ANTUNES, 2011). A técnica de encapsulação é conhecida por propiciar a proteção dos compostos bioativos instáveis, transformar extratos líquidos em formas sólidas (pós), facilitando sua aplicação e seu armazenamento, tornar possível a liberação do composto ativo sob condições específicas e aumentar a solubilidade, além do fato de minimizar o sabor, odor e cor (TRIFKOVIĆ et al., 2014). Assim, objetivou-se com este estudo microencapsular extrato de própolis utilizando a ovoalbumina como material de parede e secagem por *spray dryer*, caracterizar as micropartículas quanto à eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos e seu perfil de liberação em condições gastrointestinais *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais

A própolis foi obtida de um apicultor da cidade de Rio Grande – RS, Brasil. A proteína ovoalbumina (83%) utilizada como material de parede foi obtida da empresa NaturOvos. A enzima pepsina foi obtida da Merck, a pancreatina e os sais biliares foram obtidos da Sigma Aldrich, a mucina gástrica foi doada pela empresa INLAB confiança. Os demais reagentes de grau analítico.

2.2. Obtenção do extrato de própolis

O extrato de própolis foi preparado de acordo com o descrito por Silva et al., (2012).

2.3. Preparo da proteína

As soluções proteicas de ovoalbumina nas concentrações de 1 e 4% (m/v) foram obtidas como descrito por Costa et al. (2015).

2.4. Microencapsulação do extrato de própolis

As soluções de proteína e o extrato de própolis na proporção de 1:1 (v/v) foram determinados conforme descrito por Silva et al. (2012). A formulação foi atomizada em *spray dryer* (MSDi

1.0, Labmaq, Brasil). No final da secagem, o pó obtido foi acondicionado em frasco plástico de polipropileno e mantido em dessecador até a realização das análises.

2.5. Ruptura das micropartículas

Realizada conforme descrito por Ghorbanzade et al., (2017). Após a separação das fases, foi coletado 1 mL do sobrenadante e realizado a análise de compostos fenólicos para avaliar os compostos que não foram encapsulados.

2.6. Determinação do teor de compostos fenólicos

Para a determinação dos compostos fenólicos no extrato de própolis e nas partículas, foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu (Alves e Kubota, 2013).

2.7. Eficiência de encapsulação

A eficiência da encapsulação foi calculada conforme descrito por Alishahi et al. (2011).

2.8. Digestão *in vitro*

Foram realizados ensaios de digestão *in vitro* com 0,05 g das micropartículas. As simulações do meio digestivo utilizando o suco gástrico e intestinal foram realizadas segundo procedimentos descritos por Donhowe et al. (2014), com algumas modificações (Tabela 1).

Tabela 1. Composição dos fluidos gástrico e intestinal utilizados na digestão *in vitro*.

Suco Gástrico	Suco Intestinal	Sais Biliares
5,5 mg mL ⁻¹ NaCl	14 mg mL ⁻¹ NaCl	10,58 mg mL ⁻¹ NaCl
1,6 mg mL ⁻¹ KCl	1,1 mg mL ⁻¹ KCl	0,75 mg mL ⁻¹ KCl
0,5 mg mL ⁻¹ NAH ₂ PO ₄	6,8 mg mL ⁻¹ NaHCO ₃	11,57 mg mL ⁻¹ NaHCO ₃
0,8 mg mL ⁻¹ CaCl ₂ .2H ₂ O	0,16 mg mL ⁻¹ KH ₂ PO ₄	
0,6 mg mL ⁻¹ NH ₄ Cl	0,1 mg mL ⁻¹ MgCl ₂	
6 mg mL ⁻¹ mucina		
6,5 mL HCl	180 µL HCl	150 µL HCl
0,2 mg mL ⁻¹ ureia	0,2 mg mL ⁻¹ ureia	0,5 mg mL ⁻¹ ureia
5 mg mL ⁻¹ pepsina	18 mg mL ⁻¹ pancreatina	60 mg mL ⁻¹ sais biliares
pH: 1,3 ± 0,2	pH: 8,1 ± 0,2	pH: 8,2 ± 0,2

2.9. Análise estatística

As análises foram submetidas a análise de variância. O teste de Tukey (p≤0,05) foi utilizado na comparação dos resultados dos materiais de parede quanto à eficiência e digestão *in vitro*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Eficiência de encapsulação

O extrato de própolis utilizado para microencapsulação apresentou 35 mg.g⁻¹ de compostos fenólicos, e a eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos por *spray drying* variou de 54,60 a 88,20% (tab. 2).

Tabela 2. Porcentagem de eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos das micropartículas de própolis utilizando diferentes concentrações de material de parede (ovoalbumina) e temperatura de entrada no *spray drying*.

Concentração da Ovoalbumina (%)	Temperatura de entrada no <i>spray drying</i> (°C)	Eficiência de encapsulação (%)
1	120	73,40 ± 0,04 Ab
1	160	74,80 ± 5,5 Aa
4	120	88,20 ± 1,3 Aa
4	160	54,60 ± 4,9 Bb

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre pelo teste t (LSD) ($p < 0,05$) avaliando a concentração da ovoalbumina. Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre pelo teste t (LSD) ($p < 0,05$) avaliando a temperatura de entrada no *spray drying*.

Observou-se que não houve diferença significativa na eficiência dos compostos fenólicos quando utilizado 1% de material de parede. Já quando se utilizou 4% de ovoalbumina, houve maior influência da temperatura de secagem do *spray drying*, sendo que na temperatura de 120 °C, a eficiência foi superior. Entretanto, comportamento distinto foi observado em relação a temperatura, pois quando aplicada a temperatura de 120 °C, a eficiência foi significativamente superior para a solução composta de 4% de material de parede, porém quando se utilizou 160 °C, a eficiência foi significativamente superior com a utilização da solução de 1% de ovoalbumina. O aumento na temperatura de entrada do ar causou aumento na temperatura de saída, a qual foi de 72 ± 3 °C quando a temperatura de entrada foi de 120 °C, e 78 ± 3 °C quando a temperatura de entrada utilizada foi de 160 °C, independente da concentração de proteína. A temperatura utilizada na microencapsulação é um fator muito importante quando se deseja preservar os compostos fenólicos, já que estes são suscetíveis à oxidação quando expostos a elevadas temperaturas (Çam et al., 2014). No entanto, no processo de secagem por atomização os compostos são expostos à temperatura do ar na

entrada do *spray drying* por apenas alguns segundos. Neste sentido, segundo Çam et al. (2014) a temperatura de saída da amostra e o tempo total de secagem podem ser considerados fatores críticos, pois as micropartículas ficam em contato por mais tempo no tubo coletor.

3.2 Liberação gastrointestinal *in vitro*

Na digestão *in vitro* são simulados os fluidos gástrico e intestinal para que ocorra a liberação dos compostos fenólicos encapsulados. Durante as duas primeiras horas analisadas, é simulada a fase gástrica (estômago), e após as duas horas, a fase intestinal (intestino delgado) (DONHOWE et al., 2014).

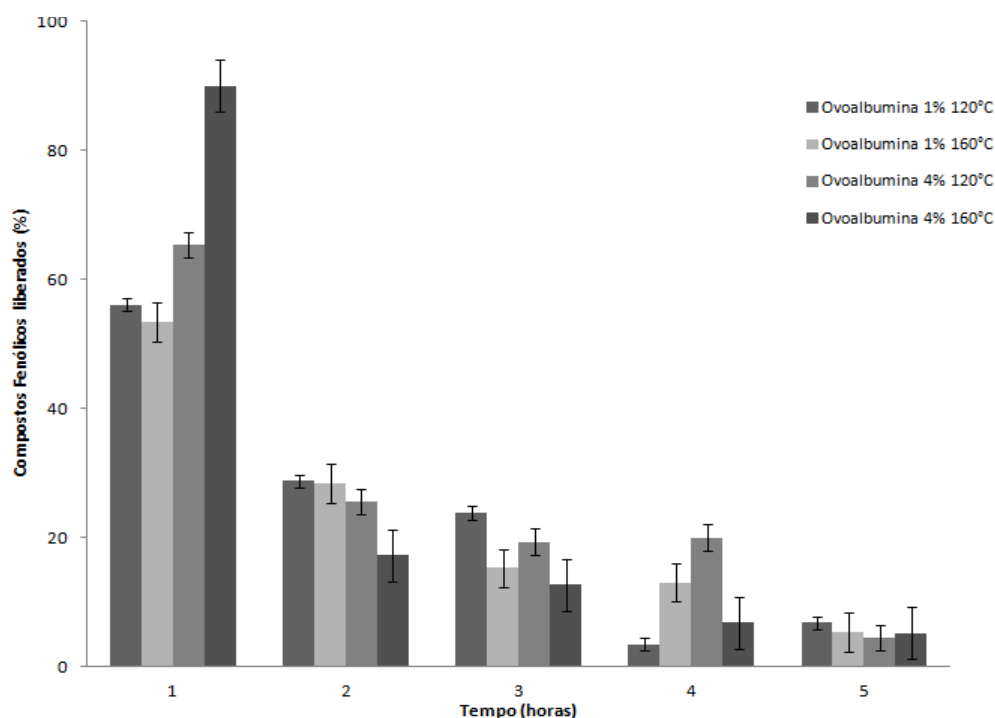


Figura 1. Liberação dos compostos fenólicos do extrato de própolis no fluido gástrico intestinal simulado. As barras verticais representam o erro padrão.

Pode-se observar que grande parte dos compostos fenólicos encapsulados foram liberados após 1 h no fluido gástrico, havendo redução dos compostos após 2 h, em virtude da degradação dos compostos fenólicos, devido ao pH ácido (pH= 1,3) e a presença de enzimas. No fluido intestinal (após 2h) houve redução dos compostos fenólicos em todas as microcápsulas. O perfil considerado como ideal para liberação seria uma baixa liberação em condições gástricas e uma liberação gradual e total no intestino delgado, onde os nutrientes são absorvidos (JIA et al., 2016). Levando-se em conta o perfil de liberação considerado ideal, nenhuma das micropartículas apresentou liberação gradual ou manteve os compostos

fenólicos até o final da digestão *in vitro*. O uso de carboidratos associados a proteínas pode ser uma alternativa para melhorar a digestão *in vitro* das micropartículas de própolis.

4 CONCLUSÃO

Foi possível encapsular extrato de própolis utilizando a proteína ovoalbumina como material de parede, e secagem por *spray drying*. A micropartícula com 4% de ovoalbumina e temperatura de entrada de 120 °C apresentou a maior eficiência de encapsulação. Quanto à digestão *in vitro*, nenhuma micropartícula apresentou perfil ideal de liberação dos compostos fenólicos nas condições gastrointestinais simuladas.

5 REFERÊNCIAS

- ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 55, 117-123, 2014.
- DONHOWE, E. G.; FLORES, F. P.; KERR, W. L.; WICKER, L.; KONG, F. Characterization and in vitro bioavailability of b-carotene: Effects of microencapsulation method and food matrix. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 42-48, 2014.
- MIGUEL, M. G.; ANTUNES, M. D. Review: Is própolis safe as an alternative medicine. **Journal of Pharmacy & BioAllied Science**, v. 3, n. 4, p. 479-495, 2011.
- PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.
- SILVA, J. C.; RODRIGUES, S.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of própolis. **Food and Chemical Toxicology**, 50, 1790–1795, 2012.
- TRIFKOVIĆ, K. T.; MILAŠINOVIĆ, N. Z.; DJORDJEVIĆ, V. B.; KRUŠIĆ, M. T. K.; KNEŽEVIĆ-JUGOVIĆ, Z. D.; NEDOVIĆ, V. A.; BUGARSKI, B. M. Chitosan microbeads for encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) polyphenols. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 901–907, 2014.