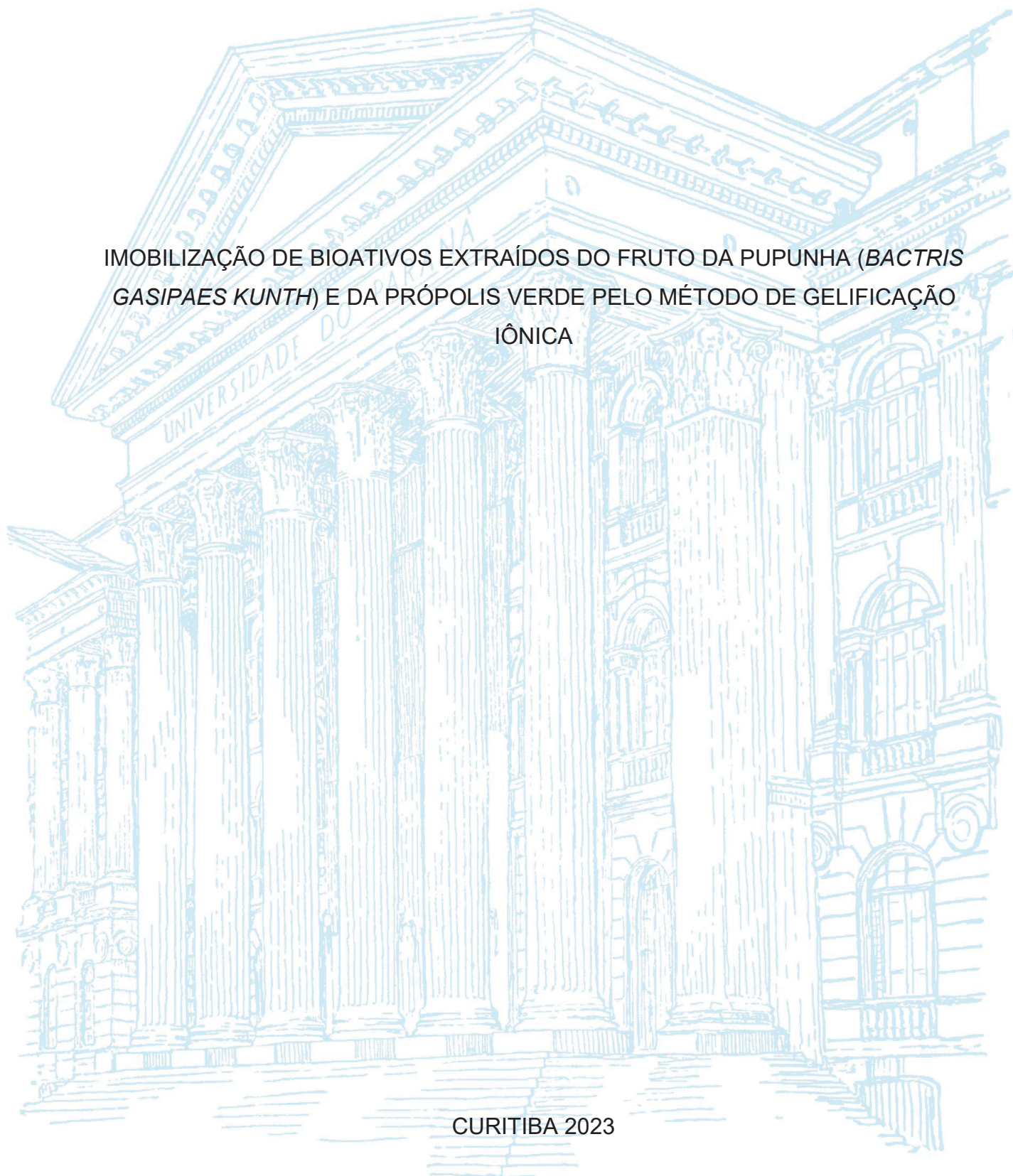


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SHIRLEY CAROLINE NASCIMENTO

IMOBILIZAÇÃO DE BIOATIVOS EXTRAÍDOS DO FRUTO DA PUPUNHA (*BACTRIS
GASIPAES KUNTH*) E DA PRÓPOLIS VERDE PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO
IÔNICA

CURITIBA 2023



SHIRLEY CAROLINE NASCIMENTO

IMOBILIZAÇÃO DE BIOATIVOS EXTRAÍDOS DO FRUTO DA PUPUNHA (*BACTRIS
GASIPAE KUNTH*) E DA PRÓPOLIS VERDE PELO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO
IÔNICA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação
em Engenharia Química, Setor de Ciência e
Tecnologia, Universidade Federal do Paraná como
requisito parcial à obtenção do título de Mestre em
Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Maria Matos Jorge
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Mário de Matos Jorge
Coorientador: Prof. Dr. Álvaro Luiz Mathias

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Nascimento, Shirley Caroline

Imobilização de bioativos extraídos do fruto da pupunha (*bactris gasipae kunth*) e da própolis verde pelo método de gelificação iônica. / Shirley Caroline Nascimento. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Regina Maria Matos Jorge

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Mário de Matos Jorge

Coorientador: Prof. Dr. Álvaro Luiz Mathias

1. Microencapsulação. 2. Alginatos. 3. Quitosana. 4. Própolis. 5. *Bactris gasipae*. 6. *Apis mellifera*. I. Matos Jorge, Regina Maria. II. Matos Jorge, Luiz Mário de. III. Mathias, Álvaro Luiz. IV. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. V. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA QUÍMICA
- 40001016056P9

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **SHIRLEY CAROLINE NASCIMENTO** intitulada: **IMOBILIZAÇÃO de BIOATIVOS EXTRAÍDOS do fruto da PUPUNHA (*bactris gasipae kunth*) E DA PRÓPOLIS VERDE POR EXTRUSÃO A PARTIR DO MÉTODO DE GELIFICAÇÃO IÔNICA**, sob orientação da Profa. Dra. REGINA MARIA MATOS JORGE, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 29 de Março de 2023.

Assinatura Eletrônica
29/03/2023 17:32:05.0
REGINA MARIA MATOS JORGE
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
03/04/2023 10:52:17.0
THAISA CARVALHO VOLPE BALBINOTI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL)

Assinatura Eletrônica
04/04/2023 12:09:01.0
ARION ZANDONÁ FILHO
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
03/04/2023 16:26:56.0
CRISTIANE VIEIRA HELM
Avaliador Externo (EMBRAPA FLORESTAS)

Dedico este trabalho aos meus pais, Doralice e Fernando
e aos meus irmãos Claudia e Fernando Jr. pela
dedicação e incentivo para seguir em frente

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente diariamente em minha vida me dando forças para que eu concluísse esta obra.

À minha família, principalmente aos meus pais Fernando e Doralice pelo carinho, estímulo, ajuda e por permanecerem do meu lado em todos os momentos, seus incentivos contribuíram para que eu não desistisse deste sonho.

À minha orientadora Dra. Regina Maria Matos Jorge pela paciência, atenção, acolhimento e dedicação dada a mim e a este trabalho.

Aos meus coorientadores, Dr. Luiz Mário de Matos Jorge e Dr. Álvaro Luiz Mathias pelo suporte e conhecimento transmitidos.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da UFPR, Professor Dr. Marcos Lúcio Corazza pela compressão e por acreditar na concretização desta conquista.

À EMBRAPA FLORESTAS e à pesquisadora Cristiane Vieira Helm pelo fornecimento de amostras de frutos de pupunha e pela cooperação técnica durante a realização desta pesquisa.

Aos técnicos Gracinha e Maurício do laboratório de Central Analítica do departamento de Farmácia da UFPR pela confiança e facilitação na execução das análises espectrofotométricas.

À professora Dra. Sônia Faria Zawadzki do Departamento de Química da UFPR pela disponibilidade e apoio na realização das análises térmicas.

Ao professor Dr. Bruno José Gonçalves da Silva, do Departamento de Química da UFPR por permitir as análises de CG-MS e ao técnico Tiago pela cordialidade e ajuda durante a realização das análises e uso do software.

À Márcia bibliotecária do Departamento de engenharia florestal por ceder o espaço e computador para a leitura dos meus espectros durante a pandemia de COVID-19.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao CNPq pelo apoio financeiro, sem este incentivo esta conquista não seria possível.

E a todos que de certa forma participaram do meu esforço e me apoiaram para a conclusão deste trabalho.

“Sem sonhos, a vida não tem brilho.
Sem metas, os sonhos não têm alicerces.
Sem prioridades, os sonhos não se tornam reais.
Sonhe, trace metas, estabeleça prioridades
e corra riscos para executar seus sonhos.
Melhor errar por tentar do que errar por se omitir”.

(Augusto Cury)

RESUMO

A produção de bens com uso de tecnologia verde é um dos pré-requisitos da engenharia. Neste sentido, o uso de solventes atóxicos tem sido desejado, bem como uso de produtos naturais para proteger a saúde humana e o meio ambiente. Dentro deste contexto, a produção de alimentos e produtos terapêuticos com propriedades de promover a saúde humana é um grande mercado que tem demandado alimentos e produtos funcionais com aditivos naturais. Para tal, a extração líquido – sólido à temperatura ambiente foi aplicada em farinhas de fruto da pupunheira vermelha (FP) e da própolis verde (PV) na produção de extratos etanólicos (EFP e EPV, respectivamente) com extração de mais de 40 biomoléculas para cada matriz. No caso do EFP, os sete componentes principais (>3% do total) em termos mássicos correspondiam 71% da massa das suas biomoléculas, sendo composto por ácido hidrocínâmico, #2 = 2,5-Dimetil-gama-oxo-ácido benzeno buanoíco, #3 = 9-Metil-S-Octahidrofenantreno, #4 = (E,E,E)- Éster 1,2,3- propanotriil ácido 9- octadecenóico, #5 = 3- Metil- 1- butanol, #6 = (4aR,5S)-1-Hidroxi-4a,5-dimetil-3-(propan-2-ilideno)-4,4a,5,6-tetrahidronaftalen-2(3H)-ona, #7 = Ácido n-Hexadecanoico. Similarmente, no caso do EPV, os quatro componentes principais (>3% do total) em termos mássicos correspondiam 74% da massa das biomoléculas presentes, sendo composto por: ácido oleico, #2 = Ácido n-hexadecanoico, #3 Ácido (Z,Z)- 9,12-Octadecadienoico , #4 = Etil oleato. Quanto à promoção de saúde, destaca-se a presença do ácido hidrocínâmico, principal componente do EFP e presente em baixa quantidade no EPV. Este composto fenólico tem ação reconhecida no controle da diabetes, nos níveis de gordura no sangue e outras doenças de longo prazo. Ainda, o ácido oleico, principal constituinte do EPV, é um ácido graxo que atenua processos inflamatórios e, na redução de doenças cardíacas e estados oxidativos a nível corporal. Assim, uma mistura desses extratos etanólicos na proporção 2:1 (EFP:EPV) foi usado como mistura de solução extraíveis (SE) para ser encapsulada em esferas de hidrogéis de alginato de cálcio sem revestimento e com revestimento de quitosana. A eficiência de encapsulação iônica do SE em esferas homogêneas entre 2 a 3 mm atingiu 96,70% para ambas hidroesferas úmidas. A cobertura do alginato pela quitosana contribui significativamente na manutenção da morfologia esférica, atenuação da porosidade, minimização do aparecimento de trincas e aumenta a termoestabilidade entre 30°C a 300°C no caso de secagem. Isto demonstra que se trata de uma tecnologia com bom potencial para ser aplicada em desenvolvimento de novos produtos alimentares e de prevenção da saúde humana devido a usar reagentes inofensivos, ser ambientalmente sustentável, de baixo custo e de fácil execução. Concluindo, a tecnologia proposta com insumos naturais apresenta requisitos desejáveis para o desenvolvimento de um aditivo alimentar inovador à base de própolis verde produzida pela abelha-européia (*Apis mellífera*) e da fruta brasileira pupunha vermelha (*Bactris gasipaes kunth*).

Palavras-chave: Microencapsulação; Alginato; Quitosana; Própolis; *Bactris gasipaes kunth*; *Apis mellífera*

ABSTRACT

The production of goods using green technology is one of the prerequisites of engineering. In this regard, the use of non-toxic solvents has been desired, as well as the use of natural products to protect human health and the environment. Within this context, producing foods and therapeutic products with properties that promote human health is a significant market demanding functional foods and products with natural additives. To achieve this, liquid–solid extraction at room temperature was applied to fruit flours from the red peach palm (FP) and green propolis (PV) fruit flours in the production of ethanolic extracts (EFP and EPV, respectively) with the extraction of more than 40 biomolecules to each matrix. In the case of EFP, the seven main components (>3% of the total) in mass terms corresponded to 71% of the mass of its biomolecules, consisting of hydrocinnamic acid, #2 = 2,5-Dimethyl-gamma-oxo-benzenepentanoic acid, #3 = 9-Methyl-S-Octahydrophenanthrene, #4 = (E, E, E)- Ester 1,2,3-propanetriyl 9- octadecenoic acid, #5 = 3-Methyl-1-butanol, #6 = (4aR,5S)-1-Hydroxy-4a,5-dimethyl-3-(propan-2-ylidene)-4,4a,5,6-tetrahydronaphthalen-2(3H)-one, #7 = n-Hexadecanoic Acid. Similarly, in the case of EPV, the four main components (>3% of the total) in mass terms corresponded to 74% of the mass of the biomolecules present, consisting of oleic acid, #2 = n-hexadecanoic acid, #3 = (Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid, #4 = Ethyl oleate. Regarding health promotion, the presence of hydrocinnamic acid, the main component of EFP and present in low quantities in EPV, is noteworthy. This phenolic compound has a recognized effect on controlling diabetes, blood lipid levels, and other long-term diseases. Furthermore, oleic acid, the main constituent of EPV, is a fatty acid that mitigates inflammatory processes and reduces heart disease and oxidative states at the body level. Therefore, a mixture of these ethanolic extracts in a 2:1 ratio (EFP: EPV) was used as a mixture of extractable solution (SE) to be encapsulated in uncoated and chitosan-coated calcium alginate hydrogel spheres. The ionic encapsulation SE efficiency in homogeneous spheres ranging from 2 to 3 mm reached 96.70% for both wet hydrospheres. The coverage of alginate by chitosan contributes significantly to maintaining spherical morphology, attenuating porosity, minimizing the appearance of cracks, and enhancing thermal stability between 30°C to 300°C during drying. This demonstrates that it is a technology with great potential for application in the development of new food products and human health prevention due to the use of harmless reagents, environmental sustainability, low cost, and ease of execution. In conclusion, the proposed technology using natural meets the desirable criteria for the development of an innovative food additive based on green propolis produced by the European bee (*Apis mellifera*) and the Brazilian red peach fruit (*Bactris gasipaes* Kunth).

Keywords: Microencapsulation; Alginate; Chitosan; Propolis; *Bactris gasipae kunt*; *Apis mellifera*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – MORFOLOGIAS TÍPICAS DE PARTÍCULAS.....	27
FIGURA 2 – CADEIAS QUE COMPÕEM O ALGINATO.....	30
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DA CADEIA RETICULADA DO ALGINATO.....	31
FIGURA 4 – ESTRUTURA QUÍMICA DA QUITOSANA.....	33
FIGURA 5 – INTERAÇÃO ENTRE AS CADEIAS DE ALGINATO E QUITOSANA ...	33
FIGURA 6 – AMOSTRAS DO FRUTO DA PUPUNHA DA VARIEDADE VERMELHA	37
FIGURA 7 – AMOSTRA DE PRÓPOLIS VERDE.....	37
FIGURA 8 – ETAPAS DE EXTRAÇÃO DO FRUTO DA PUPUNHA.....	39
FIGURA 9 – BANHO DE ULTRASSOM UTILIZADO NA EXTRAÇÃO DA PRÓPOLIS	40
FIGURA 10 – CROMATOGRAFO A GÁS.....	42
FIGURA 11 – ETAPAS REALIZADAS PARA A PRODUÇÃO DAS PARTÍCULAS. .	43
FIGURA 12 – ESPECTROFOTÔMETRO UTILIZADO NAS ANÁLISES.....	45
FIGURA 13 – INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA ANÁLISE TÉRMICA DAS CÁPSULAS.....	46
FIGURA 14 – CONTRIBUIÇÃO MÁSSICA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS (>34%) IDENTIFICADOS NO EXTRATO DE PUPUNHA.	50
FIGURA 15 – CONTRIBUIÇÃO MÁSSICA DOS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS (>34%) IDENTIFICADOS NO EXTRATO DA PROPÓLIS VERDE.....	52
FIGURA 16 – CONTRIBUIÇÃO MÁSSICA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS (>34%) IDENTIFICADOS NA MISTURA DOS EXTRATOS (SE).....	54
FIGURA 17 – DISTRIBUIÇÃO DOS SINAIS ANALÍTICOS DOS SISTEMAS AVALIADOS POR CGMS	57
FIGURA 18 – CURVA PADRÃO PARA A SOLUÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO. .	58
FIGURA 19 – IMAGENS DE MEV DAS PARTÍCULAS.....	60
FIGURA 20 – IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DAS SUPERFÍCIES DAS CÁPSULAS.....	61

FIGURA 21 – TERMOGRAMA DE AQUECIMENTO DO ALGINATO DE SÓDIO PURO.....	62
FIGURA 22 – TERMOGRAMAS DE TODAS AS AMOSTRAS ANALISADAS	65
FIGURA 23 – IMAGENS DAS CÁPSULAS DE ALGINATO COM EXTRATO COM E SEM O REVESTIMENTO DA QUITOSANA	66
FIGURA 24 – IMAGENS AMPLIADAS DAS AMOSTRAS.....	68
FIGURA 25 – GRÁFICO COM O ERRO DAS MÉDIAS	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – NUTRIENTES, ANTIOXIDANTES E VALOR ENERGÉTICO DOS FRUTOS DA PUPUNHA.....	19
TABELA 2 – COLABORADORES NA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	36
TABELA 3 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO EXTRATO DE PUPUNHA C1 (EFP).....	50
TABELA 4 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO EXTRATO DA PRÓPOLIS VERDE C2 (EPV).	53
TABELA 5 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NA MISTURA DOS DOIS EXTRATOS (DE ENCAPSULAÇÃO) C3 (EFP: EPV, 2:1)	55
TABELA 6 – DADOS USADOS NA DETERMINAÇÃO DA EE%	58
TABELA 7 - MEDIDA DOS TAMANHOS DAS CÁPSULAS DE ALGINATO SEM QUITOSANA (AMOSTRA 1 –CAP3) E DAS CÁPSULAS COM QUITOSANA (AMOSTRA 2 – CAP4).....	67
TABELA 8 - TAMANHO MÉDIO DAS CÁPSULAS ANALISADAS	67
TABELA 9 – RESULTADOS DO TESTE ANOVA	68

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

a.C	- Antes de Cristo
AGS	- Alginato de sódio
CAP1	- Cápsulas de alginato sem extrato e revestimento (controle)
CAP2	- Cápsulas de alginato sem extrato e com revestimento (controle)
CAP3	- Cápsulas de alginato com extrato e sem revestimento
CAP4	- Cápsulas de alginato com extrato e com revestimento
CAS	- Chemical Abstracts Service
CASR	- Cápsulas de alginato sem revestimento
CC	- Cloreto de cálcio
CGMS	- Cromatografia em fase gasosa - espectrografia de massa
COPs	- Mecanismo de formação de óxidos a partir do colesterol
DPR	- Desvio padrão relativo
DSC	- Calorimetria exploratória diferencial
EFP	- Extrato dos frutos da pupunha
EPV	- Extrato da própolis verde
EE	- Eficiência de encapsulamento
FDA	- "Food and Drug Administration"
FE	- Fator de esfericidade
GA	- Grau de acetilação
GAE	- Equivalente de ácido gálico
GD	- Grau de desacetilação
GRAS	- Geralmente reconhecido como seguro
MCs	- Microcápsulas
MEV	- Microscopia Eletrônica de Varredura
NIST	- National Institute of Standards and Technology
pH	- Potencial hidrogeniônico
QUI	- Quitosana
SE	- Solução dos extraíveis misturados utilizada na microencapsulação (EFP:EPV, 2:1)
ROS	- Espécies reativas de oxigênio
RNS	- Radicais derivados da molécula de nitrogênio

T1	- Termograma do alginato em pó
T2	- Termograma da quitosana em pó
T3	- Termograma da cápsula de alginato sem extrato e revestimento
T4	- Termograma da cápsula de alginato sem extrato e com revestimento
T5	- Termograma da cápsula de alginato com extrato e sem revestimento
T6	- Termograma da cápsula de alginato com extrato e com revestimento
Tf	- Temperatura de fusão
Tg	- Temperatura de transição vítrea
TGA	- Análise termogravimétrica
UV	- Onda eletromagnética Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

°C - Grau Celsius

cP - centiPoise

eV - Eletro Volt

g - Gramas

L - Unidade de Litros

mg - Miligramas

μm - Micrômetro

% - Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo geral	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 PUPUNHA.....	19
2.2 PRÓPOLIS VERDE.....	21
2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	22
2.3.1 Compostos Fenólicos	23
2.3.2 Antioxidantes	24
2.4 ENCAPSULAÇÃO DE BIOATIVOS.....	25
2.4.1 Aspectos gerais	25
2.4.2 Encapsulação por Gelificação iônica.....	28
2.4.3 Uso do Alginato de sódio como material transportador	29
2.4.4 Quitosana e a formação de complexos polieletrólitos	31
2.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	36
3.1 MATERIAIS E REAGENTES.....	38
3.2 PRODUÇÃO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS	38
3.2.1 Extração sólido-líquido dos frutos da Pupunha (EFP).....	39
3.2.2 Extração sólido-líquido da Própolis verde (EPV).....	39
3.3 IDENTIFICAÇÃO DOS VOLÁTEIS PRESENTES NOS EXTRATOS	40
3.3.1 Determinação do perfil de voláteis dos extratos EFP, EPV e SE	40
3.4 PRODUÇÃO DOS HIDROGÉIS E O REVESTIMENTO DAS PARTICULAS COM A QUITOSANA.....	42
3.5 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO.....	44
3.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MICROCÁPSULAS.....	45
3.6.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	45
3.6.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	46
3.6.3 Análise termogravimétrica (TGA)	46
3.6.4 Distribuição de tamanho das partículas.....	47

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 COMPOSIÇÃO DOS VOLÁTEIS NOS EXTRATOS USADOS COMO BIOATIVOS ENCAPSULADOS.....	49
4.2 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO	57
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS	59
4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	59
4.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	61
4.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)	63
4.4 DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS	66
5 - CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXO 1 – CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS DE PUPUNHA, DA PRÓPOLIS E DA SOLUÇÃO ENCAPSULADA	90
ANEXO 2 – ABSORBÂNCIA DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL ENTRE 190 A 800 NM DOS ADITIVOS E DO EXTRATO MISTO	93

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o interesse pelo consumo de *alimentos funcionais* tem ganhado grande notoriedade, por apresentarem propriedades benéficas para a saúde e atuam sobretudo na prevenção de doenças; Diante disso, vários estudos estão sendo desenvolvidos para encontrar soluções tecnológicas que atenuem a degradação destas substâncias protetoras da saúde humana, predominantemente as termo sensíveis, como as presentes em frutas e vegetais, que demanda o processamento e a exposição a condições extremas, como temperatura, umidade e pH (ADITYA; ESPINOSA; NORTON, 2017).

Neste contexto, as técnicas de encapsulação surgiram como alternativa para armazenar e preservar estes componentes e garantir a sua veiculação e liberação dirigida no organismo (BAMIDELE; EMMAMBUX, 2020). Por exemplo a liberação de insulina encapsulada em hidropartículas de alginato numa região específica do intestino e previamente protegida da ação deletéria do suco gástrico (CEDON *et al.*, 2018). A encapsulação consiste no revestimento de substâncias ou agente ativo por meio de um material encapsulante ou de parede. A escolha do método e do componente de parede devem ser definidos criteriosamente, já que interferem na eficiência de contenção e nas propriedades e estabilidade dos compostos retidos (DIAS *et al.*, 2017).

O alginato é um polissacarídeo aniônico obtido a partir de algas marrons e bactérias, que devido as suas propriedades gelificantes de seu sal na forma sódica em presença de íons bivalentes, tem sido aplicado na obtenção de géis pelo processo de gelificação iônica (DODERO *et al.*, 2019). Este método tem chamado a atenção, por ser de simples execução, em condições brandas de operação e sem a necessidade do uso de solventes tóxicos. De forma geral, a formação dos géis de alginato de sódio por gelificação iônica, ocorrem pela troca dos íons sódio das cadeias dos ácidos gulurônicos do alginato por cátions bivalentes presentes nas soluções complexantes, por exemplo, o cloreto de cálcio. O grau de reticulação e as características resultantes das partículas, dependem da fonte e da composição do polímero utilizado (ABASALIZADEH *et al.*, 2020), bem como dos cátions utilizados (CEDON *et al.*, 2022).

O processo de formação de complexos de polieletrólitos permite por meio de interações eletrostáticas entre polímeros catiônicos e aniônicos melhorar as

propriedades dos géis formados, suprimindo e controlando aspectos relacionados a densidade de cargas e a estabilidade destas partículas em meio fisiológico. Para o desenvolvimento de cápsulas, tem sido empregado polissacarídeos que apresentam esse tipo de interações eletrostáticas como a quitosana e o alginato. A quitosana é um polímero linear obtido pela desacetilação da quitina; que em meio ácido é protonada, resultando em uma solução de polieletrólito catiônico, o que permite a formação de interações eletrostáticas entre a quitosana e outros polímeros aniônicos (SEO *et al.*, 2018). Por esse motivo, o alginato de sódio e a quitosana são polímeros interessantes para o processo de imobilização de substâncias funcionais pelo método de gelificação iônica; logo, foram escolhidos como materiais de parede e revestimento e incorporados no presente estudo.

Os compostos bioativos presentes nos extratos do fruto da pupunha e da própolis são parte do escopo desenvolvido neste projeto devido ao potencial futuro de mercado dos subprodutos destas matrizes.

A pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) ou pupunha é originária da região amazônica. Essa árvore tem sido bastante utilizada na produção de palmitos e os frutos desta palmácea são comestíveis, com sabor agradável e ricos em carotenoides (vitamina A), cálcio, fósforo, ferro, complexo B, carboidratos, gorduras insaturadas e antioxidantes; geralmente, são consumidos na forma de farinhas, cozidos e em conservas (DE LIMA; DA SILVA; FURTADO, 2020). Neste sentido, a considerável subutilização dos frutos da pupunheira faz com que este alimento tenha um potencial econômico ascendente na produção de gêneros alimentícios e na exploração de compostos biologicamente ativos (MESQUITA *et. al*, 2020). Similarmente, a própolis é outra fonte de componentes bioativos, mas já de modo mais consagrada em termos de conhecimento técnico-científico. Ela é uma resina coletada e produzida por abelhas, a qual é rica em bioativos que tem sido bastante utilizada desde a antiguidade no tratamento de muitas doenças, como infecções virais, bacterianas, do trato urinário, artrite, câncer entre outras (ALFAHDAWI, 2017). A literatura científica apresenta um número crescente de estudos que investigam as suas propriedades, mas que tende a objeto de investigações complementares devido à grande variedade dos componentes.

Com base na importância do aproveitamento dos bioativos presentes nos produtos florestais dos biomas brasileiros, este trabalho tem por objetivo avaliar a viabilidade, termoestabilidade e contenção dos *nutracêuticos* contidos nos frutos da

pupunha vermelha e da própolis de Abelha-europeia (*Apis mellifera*), imobilizados em cápsulas de matriz constituída de alginato revestido ou não com a quitosana. O desenvolvimento deste novo material alimentar permitirá contribuir com a proteção e a biodisponibilidade dos bioativos presentes nestas duas matrizes, mediante a formação de complexos com a quitosana e encapsulação por gelificação iônica externa do alginato, possibilitando a utilização deste novo produto em formulações de bebidas e alimentos, tais como produtos à base de cereais, pastas e bolos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral a encapsulação dos extratos obtidos a partir do fruto da pupunha (*Bactris gasipae* kunt) da variedade vermelha e da própolis verde produzida pela Abelha-europeia (*Apis mellifera*), pelo processo de gelificação iônica externa utilizando o alginato de sódio e revestimento eletrostático externo com quitosana.

1.1.2 Objetivos específicos

- Produzir extratos etanólicos da pupunha e da própolis;
- Identificar os compostos voláteis dos extratos vegetais;
- Encapsular os extratos obtidos em esferas por gelificação iônica do alginato de sódio com cloreto de cálcio e revesti-los eletrostaticamente ou não com quitosana;
- Avaliar as propriedades das cápsulas, contendo os extratos, obtidas na forma de esferas por gelificação iônica do alginato de sódio revestidas com quitosana;
- Caracterizar as micropartículas obtidas, quanto à eficiência de encapsulação; ao tamanho das partículas; uniformidade, esfericidade, morfologia superficial e comportamento térmico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PUPUNHA

A pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*) é encontrada no Brasil principalmente na região amazônica (FONSECA *et al.*, 2019). Pertence à família de palmeiras Arecaceae e é originária da América latina. Aproximadamente 2600 espécies de palmeiras Arecaceae já foram identificadas, dentre elas o buriti e o açaí e correspondem a uma importante fonte de desenvolvimento socioeconômico para as áreas de floresta amazônica, caatinga e cerrado (DE SOUZA *et al.*, 2020).

As variedades da pupunha são classificadas em domesticadas e selvagens e de acordo com as condições de cultivo, as características do fruto como cor e sabor são diretamente afetadas (RIBEIRO *et al.*, 2021). Existem também outras denominações em relação a coloração das cascas, pelo conteúdo lipídico, pela presença ou ausência de sementes e conforme a espessura da polpa (PIRES *et al.*, 2019). De um modo geral, os frutos são constituídos por pequenas drupas com diâmetros que variam entre 3 e 4 centímetros, com epicarpo variando principalmente entre as colorações amarela e vermelha (MATOS *et al.*, 2019). Uma vez que um relato sobre a pupunheira branca foi descrito como resultante das constantes hibridizações do fruto (DOS SANTOS *et al.*, 2022).

O mesocarpo é amiláceo e oleoso, composto por aproximadamente 10% a 30% de óleos (DOS SANTOS *et al.*, 2020). Os frutos apresentam sabor agradável e elevados índices nutricionais e energéticos, além dos óleos, são ricos em carboidrato e carotenoide, principalmente, o beta caroteno (BASTO *et al.*, 2016). Além disso, são fontes de niacina, vitaminas A, C, B1, B2 e minerais, como ferro, cálcio e fosforo (TABELA 1) (FELISBERTO *et al.*, 2020).

TABELA 1 – NUTRIENTES, ANTIOXIDANTES E VALOR ENERGÉTICO DOS FRUTOS DA PUPUNHA

Constituintes	Conteúdo
Proteínas	3,90%
Lipídeos	18,73%
Carboidratos	62,28%
Cinzas	2,64%
Cálcio, Ca	21,8 mg/100g

Potássio, K	289,3 mg/100g
Sódio, Na	0,2 mg/ 100g
Magnésio, Mg	16,9 mg/ 100g
Zinco, Zn	277,7 µg/ 100g
Fosforo, F	-
Cobre, Cu	-
Ferro, Fe	565,6 µg/ 100g
Manganês, Mn	84,3 µg/ 100g
Cromo, Cr	8,2 µg/ 100g
Selênio, Se	3,5 µg/ 100g
Vitamina C	14 mg/ 100g
Fenólicos totais	65,7 GAE/ 100g
Valor energético total	173, 76 Kcal/ 100g

FONTE: ARAUJO (2021). (*): GAE do inglês significa equivalente de ácido gálico (mg de ácido gálico/ g de extrato em peso seco).

Segundo Carvalho, E. A. e Colaboradores (2018) a indústria de processamento da pupunha tem despertado a atenção e interesse para o setor nas últimas décadas. Ainda, o valor de mercado global é estimado em aproximadamente 500 milhões dólares, com geração de aproximadamente 37% de resíduos em relação ao volume total de matéria-prima utilizada.

No entanto, a comercialização nacional dos frutos ainda é limitada, sendo predominantemente dominante na região norte do país, onde é consumido em feiras em pratos típicos locais, geralmente após o cozimento em salmoura (MATOS *et al.*, 2019). As raízes são usadas como vermífugo, os resíduos e folhas da produção de palmito utilizados na fabricação de painéis de aglomerados e artesanatos e a parte externa do caule aplicada como pseudo-madeira na construção de móveis (PINHEIRO; D'ALMEIDA, 2020). Além disso, o fruto pode ser beneficiado na forma de farinha, na produção de massa, óleos e bebidas fermentadas (COSTA; RODRIGUES; DA SILVA, 2022).

O palmito da pupunha começou a ser produzido a partir da década de 1940 nas regiões sul e sudeste do país, reduzindo a exploração predatória de palmeiras tradicionais do gênero *Euterpe*, como a Juçara e o açaí (SANTOS, 2017). No agronegócio, o produto tem se destacado frente as demais espécies de palmeiras, devido a melhor palatabilidade, pelo crescimento precoce, rusticidade e pela manutenção da cor após o corte (BORGES, 2016). Estimativas realizadas pela

Embrapa indicam que dos 30 mil hectares de palmitos cultivados no país, 20 mil correspondem a cultura de pupunha e entre os principais estados produtores estão Santa Catarina, Paraná, Vale do Ribeira (SP), Goiás e Bahia (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, AGROPECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2023).

Em virtude disso, o aproveitamento dos fitos-químicos presentes em frutos e resíduos da atividade de manufatura da Pupunha criam uma grande oportunidade de comércio e um potencial real para o desenvolvimento de novos produtos com propriedades funcionais para a indústria de alimentos e farmacêutica.

2.2 PRÓPOLIS VERDE

Desde os primórdios, há 300 a.C. o uso da própolis pelo homem é reconhecido, mediante aplicações em tratamentos medicinais, como curativo para os feridos durante a segunda guerra e na preservação de cadáveres pelos povos egípcios (ANJUM, 2019). E no decorrer dos anos a compreensão das suas propriedades foram aos poucos reveladas, tais como ação antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antiparasitária, antitumoral, anti-inflamatória, imunomoduladora e hepatoprotetora (SANTOS, 2019). Estas características tornam a própolis um poderoso aditivo para fabricação de medicamentos, fármacos, cosméticos e principalmente produtos alimentícios saudáveis.

O termo Própolis tem origem no alfabeto grego, no qual o vocábulo pro designa “a favor” ou “em defesa de” e polis se refere a cidade, logo significa “defesa da cidade” (SIHERI, 2017). Corresponde a uma resina de consistência pegajosa, constituída por centenas de compostos, dentre eles os polifenóis, aminoácidos, esteroides e algumas substâncias inorgânicas, a composição está relacionada com a localização geográfica e a origem da flora (ELNAKADY, 2017). De forma geral, a composição destes materiais resinosos varia de 45 a 55% resinas e bálsamos vegetais, 8–35% de cera, 5–10% de óleos aromáticos e essenciais, 5% de ácidos graxos, 5% de pólen e 5% de outros componentes orgânicos como os açúcares e minerais como o ferro e o zinco (FARAG *et al.*, 2021).

A resina é produzida por certas espécies de abelhas, como a *Apis mellifera*, a partir de inúmeras reações enzimáticas desenvolvidas entre os resíduos de plantas e flores coletados e armazenados dentro da colmeia, em contato com secreções, tais como saliva e cera (YUAN, 2020). No alveário a própolis atua no

preenchimento de fissuras, na proteção contra invasores e condições meteorológicas e no estabelecimento de um ambiente improlífero para microrganismos (SILVA *et al.*, 2021).

No que diz respeito ao tipo de fonte botânica existem algumas denominações específicas como própolis álamo (*Populus spp.*), própolis Eucalyptus; Baccharis (própolis verde brasileira), Clusia (própolis vermelha brasileira) e a própolis Macaranga (própolis verde taiwanesa) (DA SILVA *et al.*, 2020). A própolis verde utilizada neste estudo, é de origem brasileira, rica em substâncias orgânicas e proveniente da região sudeste do país, produzida a partir de espécies de vegetais como a *Baccharis spp.*, especialmente a *Baccharis dracunculifolia* ou alecrim selvagem (MIKAMI *et al.*, 2021). Os principais constituintes biologicamente ativos identificados neste tipo de material e relatados na literatura são o kaempferide, o ácido p-cumárico, o kaempferol, o artepillin C, o ácido ferúlico, o ácido caféico e a pinocembrina (MARTINS *et al.*, 2020).

Dentre estes compostos, o artepillin C se destaca por ser encontrado em maior quantidade e devido a sua importância econômica, o que contribui para a valorização comercial do produto, em vista disso cerca de 75% da produção de própolis é exportada, significativamente para o Japão (ARRUDA *et al.*, 2020). Vale ressaltar o quão consolidado é o setor, que apesar dos impactos gerados na cadeia produtiva em 2020 ocasionados pelas medidas restritivas da pandemia de COVID-19, as projeções de crescimento são satisfatórias e segundo estimativas há previsão de expansão de 5,48% até o ano de 2026 (IRIGOITI *et al.*, 2021).

Baseado neste contexto e na descrição anterior sobre os constituintes bioativos presentes em frutos da pupunha, surge o intuito de unir todos estes compostos com a finalidade de potencializar o produto elaborado, protegido pela formação da cápsula polimérica e a partir disso traçar e avaliar o efeito sinérgico esperado.

2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os bioativos são moléculas funcionais com características únicas, que desempenham um papel importante na saúde (MUDALIP *et al.*, 2021). Estão presentes em frutas e vegetais como metabólitos secundários e favorecem na

redução de riscos de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, hipertensão e osteoporose (FIGUEIREDO, 2019).

No entanto, quando extraídos das células vegetais estes compostos ficam suscetíveis a alterações deletérias devido a fatores externos, como: luz, umidade, oxigênio, temperatura e alterações de pH; neste sentido, as técnicas de encapsulamento propiciam a proteção destas substâncias contra a degradação e a inativação de suas propriedades (DA ROCHA, 2018). Dentre os componentes pertencentes a esta classe, pode-se citar os isoprenoides, compostos fenólicos, ácidos graxos, aminoácidos essenciais, vitaminas e as fibras (SINGH, 2015).

Neste sentido, vários estudos estão sendo desenvolvidos sobre os métodos de extração e na obtenção de uma melhor forma de aproveitamento dos compostos biologicamente ativos e desse modo, despertam a consciência para o uso destes agentes naturais na elaboração de novas perspectivas de aplicação e incorporação em produtos mais saudáveis. Uma alternativa ao processamento, geração de valor e aproveitamento massivo de frutas e vegetais, seria a incorporação desta biomassa em um sistema integrado de biorrefinarias (RENARD, 2020).

2.3.1 Compostos Fenólicos

Os fenólicos são compostos também produzidos pelo metabolismo secundário de plantas, nestes organismos estão envolvidos em mecanismos de defesa contra as ações dos raios UV, predadores, patógenos, adversidades climáticas e do estresse oxidativo (IFIE; MARSHAL, 2018).

Aspectos como o potencial antioxidante aliado ao efeito benéfico destas substâncias no combate ao câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, intensificaram o interesse por esta vasta classe de bioativos, que contam com um acervo de 8000 moléculas catalogadas (COSME *et al.*, 2020). São caracterizados pela presença do grupo hidroxílico ligado ao anel aromático, podem ser classificados em fenóis simples representados pelos ácidos fenólicos e álcoois fenólicos e a classe dos polifenóis retratados pelos flavonóides, lignanas, estilbenos e os taninos (KORZENIOWSKA; LESKA; WIECZOREK, 2020). Em relação a solubilidade, os ácidos fenólicos, flavonoides, fenilpropanóides e quinonas são solúveis em água, já os taninos condensados, ligninas e os ácidos hidroxicinâmicos são insolúveis (SWALLAH *et al.*, 2020).

Segundo Rathinavel *et al.*, (2020) são eficazes também como antivirais, proporcionando principalmente o fortalecimento do sistema imunológico e inibição de patógenos como o rinovírus, vírus da hepatite C, HIV, febre amarela, herpes simplex e vírus influenza. A avaliação de extratos hidro alcoólicos também foi objeto de estudo realizado por Chojnacka e colaboradores (2020), que relataram a eficiência do uso de fenólicos naturais presentes nestes concentrados como agentes terapêuticos na desativação do processo de replicação do vírus da COVID-19 no organismo. Este agente infeccioso foi detectado pela primeira vez em Wuhan (China) em 31 de dezembro de 2019 e desde então mais de 180 milhões de pessoas já foram infectadas pelo mundo e cerca de três milhões de pessoas perderam suas vidas (OMS, 2021).

2.3.2 Antioxidantes

Compostos antioxidantes são substâncias capazes de atuar na regulação e inibição de reações em cadeia realizadas por radicais livres, nos alimentos são responsáveis por impedir a peroxidação lipídica, garantindo a manutenção do sabor, cor e aspecto dos produtos armazenados (GULCIN, 2020). Atuam na presença de um excesso de moléculas tóxicas como as espécies reativas de oxigênio, do inglês ROS, representadas principalmente pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$), contribuem significativamente para o surgimento de várias patologias, como doenças cardiovasculares e câncer (SÁNCHEZ *et al.*, 2019). Além disso, existem os radicais derivados da molécula de nitrogênio e são identificados do inglês pela sigla RNS (HAIDA; HAKIMAN, 2019).

Esta classe de substâncias pode ser agrupada em enzimáticas e não enzimáticas. Os antioxidantes pertencentes a esta primeira categoria promovem por intermédio de mecanismos enzimáticos e em várias etapas a conversão dos radicais livres em substâncias inofensivas. Já os não enzimáticos, tais como a vitamina C, vitamina E, polifenóis, carotenoides e glutatona, colaboram com a interrupção da reação em cadeia proporcionada pela presença destes constituintes nocivos à saúde (NIMSE; PAL, 2015). São ordenados também em relação a afinidade ou não com a água, em hidrofílicos ou hidrossolúveis representados pelos compostos fenólicos, agem no citoplasma celular e no plasma sanguíneo e os lipofílicos ou Lipossolúveis,

são exemplos os carotenoides que são responsáveis pela inibição da oxidação lipídica (KEDDAR *et al.*, 2020).

Segundo os autores Lammi; Arnold (2020), existem evidências de que o consumo de alimentos ricos em antioxidantes (fenólicos, vitaminas e carotenoides) atenuam a ocorrência de casos graves de COVID-19, que advêm principalmente, a partir dos processos de estresse oxidativo e inflamatório. No organismo o estresse oxidativo compreende na disfunção relacionada pela maior concentração de radicais livres (espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre) em relação a quantidade de antioxidantes, desencadeando o processo de envelhecimento e o desenvolvimento de diversas doenças (AZIZ; DIAB; MOHAMMED, 2019).

Há alguns anos a oxidação lipídica é considerada um desafio para a indústria de alimentos, estes processos ocasionam a formação de cor, odor e sabores desagradáveis nos produtos (FAROOQ *et al.*, 2021). A utilização de antioxidantes em alimentos, por exemplo, pode inibir a oxidação do colesterol, um mecanismo responsável pela formação de óxidos, conhecidos como COPs e quando ingeridos promovem o surgimento de várias doenças degenerativas como o Alzheimer, Parkinson, osteoporose e a formação de catarata ocular (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Neste cenário, a exploração e uso dos antioxidantes naturais tem ganhado cada vez mais espaço na área alimentícia, especialmente por sua baixa toxicidade em relação aos produzidos sinteticamente e pela fácil obtenção destes compostos a partir de plantas, frutas e vegetais (BORDIM *et al.*, 2021). A encapsulação destes ativos como será visto nos próximos tópicos deste trabalho, permite dentre outras vantagens prolongar as propriedades benéficas a saúde, mascarar odores e sabores indesejáveis, melhorar a solubilidade no meio, proporcionar a coloração de produtos por meio do uso de pigmentos naturais e garantir uma liberação segura e em local desejado.

2.4 ENCAPSULAÇÃO DE BIOATIVOS

2.4.1 Aspectos gerais

O crescimento populacional aliado a busca por hábitos saudáveis estimula o interesse, consumo e a fabricação de produtos alimentares com atributos funcionais (TOLVE *et al.*, 2021). Em vista disso, os nutracêuticos são fontes importantes de

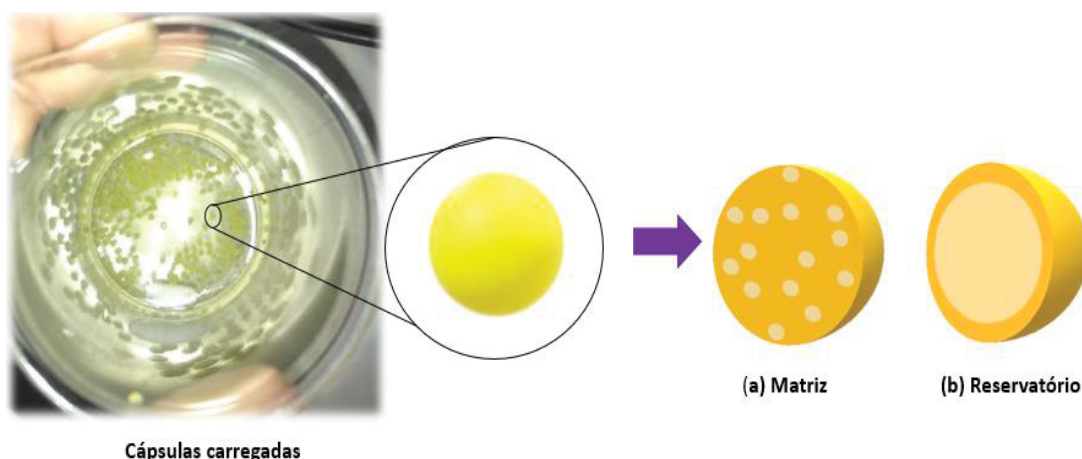
nutrientes que garantem muitos benefícios para a saúde, o desenvolvimento de estudos sobre a encapsulação dos ativos presentes nestes alimentos, permitem assegurar a sua biodisponibilidade e minimizar a perda das propriedades (FRANGMEIER *et al.*, 2019). Principalmente durante o processamento, transporte, na exposição aos fatores externos, fisiológicos e de reações de oxidação (ADINEPOUR *et al.*, 2022). As etapas de cozimento e fervura durante a fabricação de produtos à base de cereais, por exemplo, propiciam circunstâncias análogas que podem ser contornadas com o enriquecimento destes alimentos com encapsulados comestíveis (ROUSTA *et al.*, 2021).

O mascaramento de sabores desagradáveis, coloração, textura e o favorecimento da miscibilidade entre substâncias lipofílicas e hidrofílicas, são outras vantagens proporcionadas pelo uso deste dispositivo (MADAJI; PENA; CHISTÉ, 2022). Além de garantir a absorção dos nutrientes no intestino, a partir do qual são direcionados para as células (THAKUR *et al.* 2020). O princípio desta tecnologia surgiu por volta de 1957 nos Estados Unidos da América com o desenvolvimento dos papéis autocopiáveis e empregada pela primeira vez com outros fins em 1967 por J. Fergason pelo uso da coacervação complexa da gelatina e goma acácia (MAMUSA *et al.*, 2021).

A encapsulação pode ser conceituada como a incorporação de um composto (sólido, líquido ou gasoso) em uma embalagem ou material de parede, que propicia a proteção e a liberação controlada da substância em local desejado (REQUE; BRANDELLI, 2021). O processo resulta em tamanhos variados de cápsulas, que são identificadas como micro, nano e macrocápsulas, quando suas dimensões estão dentro das faixas de 1 a 5000 μm , para valores abaixo de 1 μm e acima de 5000 μm , respectivamente (TAVARES *et al.*, 2022).

De forma semelhante, também são categorizadas de acordo com o tipo de estrutura formada, sendo identificadas como reservatório ou matriz (FIGURA 1), nesta primeira classificação o recheio é envolvido pela camada do polímero e pode originar um único ou múltiplos núcleos; já o tipo matriz, o material de recheio é disperso por toda a extensão do material de revestimento (RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2021).

FIGURA 1 – MORFOLOGIAS TÍPICAS DE PARTÍCULAS.



FONTE: A autora (2022).

Os métodos mais utilizados no preparo destas partículas incluem a secagem por pulverização, liofilização, coacervação, complexação por inclusão, emulsificação e formação de lipossomas (SMAOUI *et al.*, 2021). Da mesma forma é possível encontrar uma gama de matérias que podem ser usados como envoltório do núcleo, dentre eles temos os hidrocolóides (goma arábica, alginato, quitosana, pectina); carboidratos (amido modificado, maltodextrina, ciclodextrinas); proteínas (caseína, proteína de soro de leite, gelatina, proteína de soja) e lipídios (óleos vegetais hidrogenados, fosfolipídios, mono- e triglicerídeos) (MARCILLO-PARRA *et al.*, 2021). A escolha do polímero de revestimento depende da sua compatibilidade com o recheio, da sua estabilidade em relação ao ambiente externo e dos custos requeridos na obtenção das matérias-primas e no processo de produção (BAKSHI *et al.*, 2022).

Segundo Koop e Colaboradores (2022) o interesse sobre os bioativos envolvem diversas áreas do conhecimento, como Farmácia, Medicina e Engenharia química; de acordo com os autores o país ocupa o quarto lugar mundial em volume de publicações correspondendo a 10% do total, logo após a China com 30%, Índia e Estados Unidos com 15%. Além disso, a estabilidade dos hidrogéis de alginato em condições climáticas diversas colabora na propagação do uso do excipiente na Indústria (CAMACHO *et al.*, 2019). Em suma, neste trabalho a metodologia de gelificação iônica será executada para a elaboração das cápsulas incorporadas com os extratos ricos em compostos biologicamente ativos da pupunha e da própolis verde. (GARAVAND *et al.*, 2021).

2.4.2 Encapsulação por Gelificação iônica

A gelificação iônica é um método amplamente utilizado para encapsular bioativos e probióticos, na qual, sais de polímeros aniônicos na presença de íons divalentes, como o cálcio, formam géis estáveis (SAMPAIO *et al.*, 2019). A técnica é categorizada em interna e externa. Na primeira as partículas obtidas são mais macias, possuem baixa eficiência de encapsulação e liberação rápida, já no método externo, as cápsulas originadas são mais heterogêneas e com superfícies mais rígidas do que o seu interior (UYEN *et al.*, 2020).

Este método de encapsulamento é o mais utilizado para obter partículas esféricas e micropartículas. Consiste na formação de uma rede de gel quando o polímero é colocado em um meio contendo íons de cargas opostas que se difundem em cadeias de polieletrólitos, desenvolvendo uma estrutura tridimensional (VIEIRA *et al.*, 2022). A técnica é simples, permite operações com condições amenas de temperatura, de baixo custo e não necessita de uso de solventes orgânicos tóxicos (KESKIN, 2019).

Como mencionado anteriormente, esta metodologia pode ser classificada em gelificação interna ou externa. A primeira ocorre por meio da adição de sais de cálcio insolúveis em uma solução contendo o composto ativo (núcleo) e agente encapsulante, seguida da dispersão desta mistura em uma fase oleosa com surfactante, com acidez controlada para que possa ocorrer a complexação e a liberação dos íons cálcio no meio reacional (DE SOUSA, 2019). Já a gelificação externa consiste no gotejamento de uma solução contendo o composto encapsulante e o material a ser encapsulado em uma solução catiônica, na qual ocorre a interação entre os íons e a formação do gel (POLETTTO, 2018).

Os grânulos obtidos possuem um núcleo aquoso, do tipo reservatório (SAQIB *et al.*, 2022). O Sistema de co-encapsulação é o termo utilizado para designar o sistema de entrega formado por vários agentes funcionais, que juntos potencializam os benefícios promovidos à saúde vinculados a cada substância (LIU *et al.*, 2022). As interações físicas responsáveis pela formação de hidrogéis a partir de polissacarídeos catiônicos e aniônicos, como o alginato e a quitosana, são de natureza eletrostáticas e reversíveis diante de estímulos no meio, como força iônica e pH (YANG *et al.*, 2022).

No entanto, os desafios enfrentados durante o desenvolvimento desta metodologia, estão relacionados com a qualidade e a eficiência de retenção das capsulas obtidas a partir do revestimento de compostos hidrofílicos (KUROSZAWA; HUBINGER, 2017). A porosidade e a irregularidade dos grânulos também poderão ser contornadas com a incorporação de outros materiais, tais como a gelatina e a maltodextrina ou pelo revestimento das esferas com outras substâncias com cargas opostas, como a quitosana e algumas proteínas, em condições abaixo do seu ponto isoelétrico (SAMPAIO, 2019).

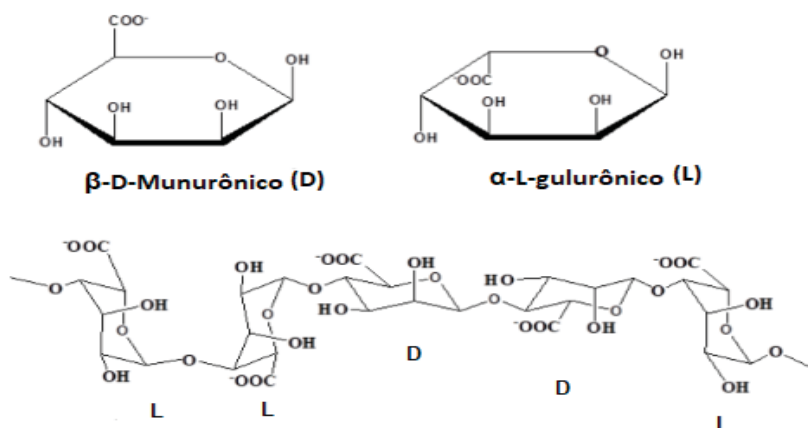
Neste contexto, outro aspecto importante que deve ser considerado durante o estudo da imobilização de compostos é o perfil de liberação das substâncias, que está intimamente relacionado com o tipo de interações entre o bioativo e o material de parede, a proporção entre eles, a volatilidade do núcleo, o tamanho das partículas e a viscosidade do material de parede (DHAKAL; HE, 2020). Vale ressaltar que os processos de difusão, erosão, intumescimento, osmose, degradação e fragmentação são os principais dispositivos responsáveis pelo desprendimento do conteúdo retido pelas cápsulas (MALEKJANI; JAFARI, 2020). (BOOSTANI; JAFARI, 2021).

2.4.3 Uso do Alginato de sódio como material transportador

O alginato de sódio (AS) é um polissacarídeo que têm despertado a atenção de vários setores industriais, como o alimentício e farmacêutico, em razão das suas propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade (FAIDI, 2019). Segundo a instituição *Food and Drug Adminisration* (FDA) dos Estados Unidos é classificado como geralmente reconhecido como seguro ou pela sigla GRAS e não estimula a produção de anticorpos pelo organismo quando consumido (BENNACEF *et al.*, 2021).

Estruturalmente, o polímero é linear, não ramificado e composto por unidades de β -D ácido manurônico (D) e seu diastereoisômero α -L ácido gulurônico (G), unidos entre si por ligações glicosídicas (1,4) (FIGURA 2) (KARMAKAR *et al.*, 2020), descoberto por Stanford em 1881, pode ser encontrado em algumas algas e bactérias (RAUS *et al.*, 2021) A composição e distribuição das frações D e L no polissacarídeo depende da fonte, região e estação climática (MING *et al.*, 2021).

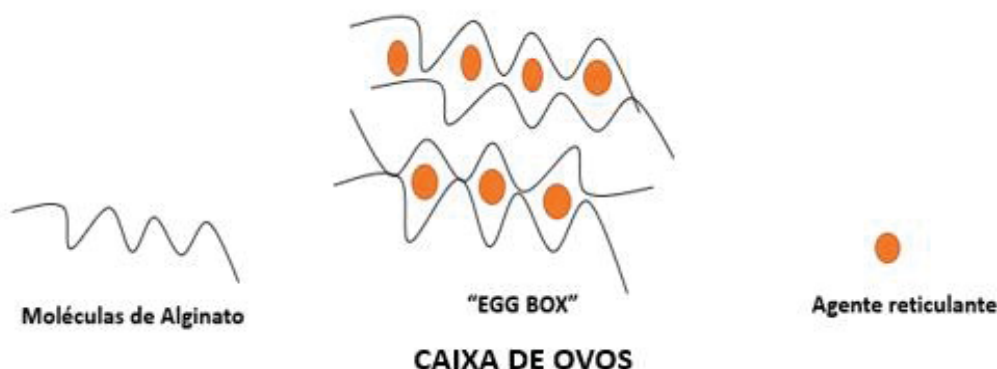
FIGURA 2 – CADEIAS QUE COMPÕEM O ALGINATO



FONTE: NATARAJ; REDDY (2020).

A produção do AS teve início em 1929 nos Estados Unidos e atualmente pode ser adquirido mediante a extração alcalina de algas, como Kelp, Gulfweed, Ascophyllum e Macroalgae e por fermentação bacteriana (GUO *et al.*, 2020). (FERNANDO *et al.*, 2020). No que diz respeito aos géis de AS, a produção ocorre principalmente por gelificação iônica interna ou externa, a rede tridimensional formada a partir da interação entre cátions, como o íon cálcio e as frações L da molécula, dá origem a uma estrutura conhecida como “caixa de ovos” (FIGURA 3) (RAMDHAN, *et al.*, 2020). As propriedades do alginato e dos hidrogéis obtidos estão relacionados de acordo com a proporção entre as unidades D e L na cadeia, peso molecular, tipo de gelificação e cátion utilizado no processamento (FLAMMINII *et al.*, 2021).

FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DA CADEIA RETICULADA DO ALGINATO



FONTE: A autora (2022).

Apesar de estar bem estabelecido o alginato ainda é alvo de vários estudos e pesquisas. Em um pH ácido de cerca de 4, o carboxil grupos são desprotonados para ânions COO^- . Isso permite a reticulação com os íons de cálcio (JADACH *et al.*, 2022). A viscosidade da solução de alginato de sódio afeta a forma das cápsulas formadas. Conforme descrito por Karim *et al.* (2022), a concentração da solução de alginato deve ser de pelo menos 1,2 - 1,5% (p/v) e sua viscosidade deve variar de 30 a 51 cP. Em termos de eficiência de encapsulamento (EE), eles comprovaram que os melhores resultados foram obtidos com uma concentração de alginato de 3% (EE igual a 65%), a 1% de alginato concentração, a solução resultante é pouco viscosa, o processo de encapsulamento, neste caso é menos eficiente. Todavia, elevadas concentrações de AS, por exemplo acima de 4%, tornam o processo de imobilização dificultoso e ocasiona a formação de aglomerados e o entupimento do sistema de injeção.

2.4.4 Quitosana e a formação de complexos polieletrólitos

Descoberta no ano de 1859, a quitosana é o segundo biopolímero mais abundante na natureza, sendo o primeiro a celulose (OLADZADABBASABADJ *et al.*, 2022). É um polissacarídeo linear, obtido a partir da desacetilação em meio alcalino da quitina, encontrada em exoesqueleto de crustáceos, moluscos e insetos e até em alguns fungos (RAZA *et al.*, 2020); (HAMED I *et al.*, 2022).

A quitosana é quimicamente formada por agrupamentos de 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopirranose, que são fragmentos desacetilados e pela 2-acetamido-2-

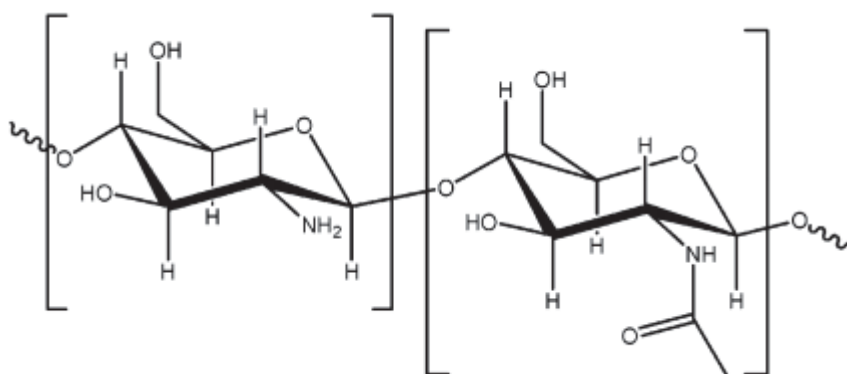
desoxi- β -D-glucopiranoose, as unidades acetiladas, ligadas entre si por ligações glicosídicas do tipo β (1 $\rightarrow$ 4) (GAO; WU, 2022), conforme ilustrado na FIGURA 4.

O grau de desacetilação (GD) consiste na quantificação de grupos aminos livres presentes na quitosana (KOU; PETERS; MUCALO, 2022). Este parâmetro é importante na definição do polímero, já que a quitina passa a ser definida como quitosana quando o GD alcança patamares acima de 60%. Além disso, comercialmente o polissacarídeo é vendido com GD em torno de 70- 95% (VALLE *et al.*, 2022). Já o grau de acetilação (GA) quantifica a quantidade de N-Acetil remanecente na estrutura, fator determinante assim como o GD na solubilidade em água e na intensidade do efeito antibacteriano (KOU *et al.*, 2022).

Atualmente o material é reconhecido como seguro (GRAS) para o uso como curativo, aprovado para suplementação dietética em alguns países como Estados Unidos e Finlândia (KANTAK; BHARATE, 2022). Segundo Cao *et al.* (2022) este polissacarídeo detém permissão pela FDA para o uso em sistemas para cicatrização de feridas, no tratamento de doenças e na promoção da saúde.

As ligações covalentes cruzadas garantem aos hidrogéis produzidos pela quitosana estabilidade e irreversibilidade, diante de condições específicas de pH (YUAN *et al.*, 2022). O polímero é solúvel em meios ácidos, com alta densidade de carga positiva devido protonação das aminas disponíveis em sua estrutura (ADMOUR; ISLAM, 2021). O surgimento destas cargas em soluções com pKa em torno de 6,5, possibilita a interação com polímeros de cargas opostas, como o alginato (ABDELKADER *et al.*, 2018). Está é uma característica relevante para o estudo atual que quer ver se a aplicação da quitosana cria uma película protetora das hidroesferas de alginato frente a agentes extremos de processo de transformação para seu uso.

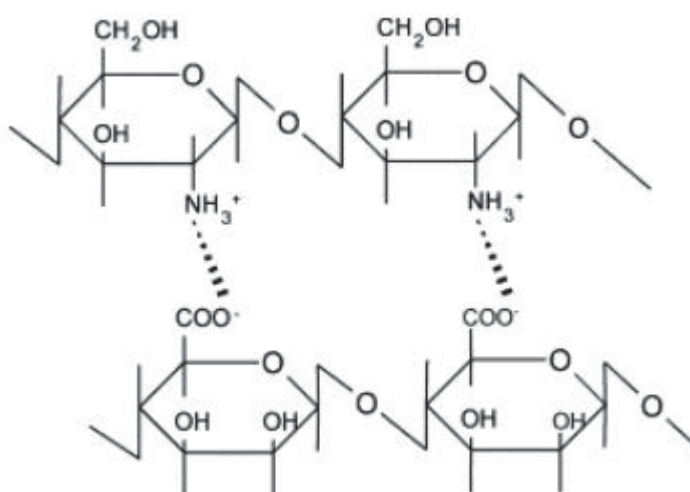
FIGURA 4 – ESTRUTURA QUÍMICA DA QUITOSANA.



FONTE: Adaptado de LAWRIE *et al.*, (2007).

A interação eletrostática consiste na formação de complexos polieletrólitos, mediante a junção de polímeros com cargas diferentes; a quitosana e outros compostos com características catiônicas, por exemplo, formam interações fortes com o alginato, possibilitando a redução de porosidade, maior estabilidade e controle durante a liberação das substâncias revestidas por estes materiais (ETCHEPARE, 2017). Esse mecanismo é resultante do arranjo entre os grupos amina e carboxila presentes na quitosana e no alginato, respectivamente, conforme observado na FIGURA 5; que torna a junção entre os dois polímeros uma alternativa vantajosa em relação a utilização de cada um separadamente (PATINÑO-RUIZ *et al.*, 2020).

FIGURA 5 – INTERAÇÃO ENTRE AS CADEIAS DE ALGINATO E QUITOSANA



FONTE: CARVALHO, A. G. S. (2017).

Os desafios encontrados no descarte correto do elevado volume de resíduos gerados pela indústria de frutos do mar é um grande problema, que foi em partes contornado pela produção da quitosana, uma alternativa economicamente viável. Atualmente, esses resíduos abundantes são fontes primárias para a produção do polissacarídeo, o que torna acessível a sua aquisição no mercado (HUQ *et al.*, 2022). O custo baixo deste insumo é um dos aspectos considerados durante a pesquisa e desenvolvimento de produtos, como alguns adsorventes como o carvão ativado (SAMOILA *et al.*, 2019).

Além disso, as propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade e ação antibacteriana, estende a aplicação da quitosana a outros campos, a exemplo da indústria têxtil; cosmética; na produção de curativos; como revestimento na liberação controlada de medicamentos, inseticidas e fertilizantes; no tratamento de águas, como adsorvente de poluentes; no desenvolvimento de materiais para regeneração óssea e na fabricação de embalagens ativas (MUXIKA *et al.*, 2017).

Desta forma, o revestimento das cápsulas com a quitosana, possibilita a formação de uma camada protetora extra, a fim de prolongar a dissolução dos bioativos presentes nestas matrizes.

2.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O consumo de *alimentos funcionais*, ou seja, desempenham funções adicionais além da nutrição básica, tem despertado um grande interesse pelos consumidores, devido aos benefícios propiciados por seus constituintes a saúde. No entanto, a instabilidade destes compostos frente a fatores externos, tais como temperatura, pH e processamento, torna vulnerável a sua disponibilidade para o organismo. Diante disso, os estudos sobre o encapsulamento de bioativos estão sendo realizados para mitigar estes problemas (MAR *et al.*, 2020); (SHU *et al.*, 2023) e (MOHAMMADALINEJHAD *et al.*, 2023).

Neste sentido, o levantamento do estado da arte científica realizado possibilita uma elucidação dos mecanismos envolvidos e necessários para a execução desta pesquisa, além de apontar os principais gargalos e oportunidades de atuação. Desta forma, a escolha do fruto da pupunha para a realização deste trabalho está ligada a existência de poucos relatos sobre os seus constituintes na literatura, além de configurar uma forma de atribuir valor, fomentar a sua

comercialização e popularidade na dieta do brasileiro. A incorporação do extrato da própolis permite potencializar as propriedades do material encapsulado, através da atribuição dos seus compostos ativos e benefícios já descritos acima.

Os componentes empregados neste trabalho, desde o agente encapsulante, complexante, até o solvente extrator (etanol), foram selecionados por apresentarem propriedades satisfatórias, como biodegradabilidade, reatividade e principalmente baixa toxicidade. A determinação da produção das cápsulas por gelificação iônica externa foi atribuída pela simplicidade de execução conferida pelo método, que geralmente ocorre em circunstâncias amenas de temperatura e pressão e sem a exigência do uso de *solventes tóxicos*.

Além disso, a combinação das esferas de alginato com a quitosana, relatadas nos trabalhos apresentados anteriormente, exibem um grande potencial para a elaboração de cápsulas com ótimas características, como porosidades reduzidas e melhores retenções dos ativos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no LEPSP – Laboratório de Engenharia de Processos em Sistemas Particulados do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná (UFPR), campus Politécnico, Curitiba-PR e em laboratórios parceiros (TABELA 2).

TABELA 2 – COLABORADORES NA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Análises realizadas	Laboratório	Departamento	Responsável
CG-MS	Central analítica	Química - UFPR	Profº Bruno Silva
DSC	Central analítica	Química - UFPR	Profª Sônia Zawadzki
TGA	Central analítica Usinas Piloto	Eng. Química -UFPR	Técnica Andrea Bonassoli
Espetroscopia UV-Vis	Central analítica	Farmácia - UFPR	Técnicos Maurício e Gracinha
MEV	Centro de microscopia eletrônica	-	Profº Ney Mattoso

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Os frutos da pupunha (*Bactris gasipaes*) (polpa e casca) da variedade vermelha foram cedidos pela Embrapa Floresta, situada na estrada da Ribeira, Km 111, Parque Monte Castelo (coordenadas GPS: -25.3214650 e -49.1596064) em Colombo - Paraná, cultivados e coletados no ano de 2019 na fazenda experimental da Embrapa Soja localizada na Rodovia Carlos João Strass, Distrito de Warta (coordenadas GPS: -23.1915491 e -51.1827425) em Londrina – Paraná. As amostras foram secas em estufa a 60°C, fragmentadas com gral de porcelana com pistilo (FIGURA 6) acondicionadas hermeticamente em sacos de polietileno e armazenadas sob refrigeração a -10 °C em freezer modelo H300 (ELECTROLUX DO BRASIL - Curitiba, Paraná) até o momento da realização das análises. Eventualmente foram armazenados temporariamente em caixa térmica durante o deslocamento entre os laboratórios.

FIGURA 6 – AMOSTRAS DO FRUTO DA PUPUNHA DA VARIEDADE VERMELHA



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: (A): Fruto in natura; (B): Farinha do fruto.

As amostras da própolis verde foram a própolis Verde de abelha *Apis mellífera* produzida em Muzambinho, - Minas Gerais, Brasil (coordenadas geográficas: 21° 22' 33" S 46° 31' 33" O), Safra do ano de 2021 (FIGURA 7). Elas foram fragmentadas em um moinho, acondicionadas hermeticamente em sacos de polietileno e armazenadas sob refrigeração a -10°C em freezer modelo H300 (ELECTROLUX DO BRASIL - Curitiba, Paraná) até o momento da realização das análises.

FIGURA 7 – AMOSTRA DE PRÓPOLIS VERDE.



FONTE: A autora (2023).

3.1 MATERIAIS E REAGENTES

Para a formação das partículas o alginato de sódio (SIGMA-ALDRICH BRASIL LTDA - São Paulo, Brasil) foi utilizado como agente gelificante e para o processo de recobrimento das partículas de gel, foi utilizada quitosana de baixa massa molecular (desacetilação 75% - 85%), da empresa (POLYMAR - Ceará, Brasil). Outros produtos utilizados: Álcool etílico Absoluto 99,8% P.A. (NEON - São Paulo, Brasil; CAS: 64-17-5); Ácido clorídrico P.A. (ALPHATEC PRODUTOS QUÍMICOS LTDA - São Paulo, Brasil; CAS: 7647-01-0); Ácido acético UV/HPLC (VETEC QUÍMICA FINA LTDA - Rio de Janeiro, Brasil; CAS: 64-19-7); Cloreto de cálcio anidro P.A. (ALPHATEC PRODUTOS QUÍMICOS LTDA - São Paulo, Brasil; CAS: 10043-52-4); Sulfato de sódio anidro P.A. (ALPHATEC PRODUTOS QUÍMICOS LTDA - São Paulo, Brasil; CAS: 7757-82-6); Acetato de etila Grau HPLC (SIGMA-ALDRICH BRASIL LTDA - São Paulo, Brasil; CAS: 141-78-6); Citrato de sódio PA. ACS ISSO- Tri básico (VETEC QUÍMICA FINA LTDA - Rio de Janeiro, Brasil; CAS: 6132-04-3); Cloreto de sódio P.A. (ALPHATEC PRODUTOS QUÍMICOS LTDA - São Paulo, Brasil; CAS: 7647-14-5); Fosfato de sódio monobásico anidro (ÊXODO CIENTÍFICA - São Paulo, Brasil; CAS: 10049-21-5).

Materiais utilizados: Papel de filtro qualitativo, 150 mm de diâmetro e gramatura de 80g/m² (UNIFIL); Balança analítica, máx. 220 g e sensibilidade de 0,1mg, modelo AYY 220 (SHIMADZU - Kyoto, Japão); Micropipeta volume: 10 - 100 µL (MDI INDUSTRIAL – Bahia, Brasil); Micropipeta volume: 100 - 1000 µL CE (DIGIPET – Curitiba, Paraná, Brasil); Micropipeta volume: 100 - 1000 µL (LABMATE LTDA – St Albans, Reino Unido); Bomba a vácuo modelo n° 2750TGH152/48-221 E (THOMAS, SHEBOYGAN, WI, USA); Agitador magnético (FISATOM – São Paulo, Brasil), Medidor de pH (MS TECNOPON – São Paulo, Brasil).

3.2 PRODUÇÃO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS

A partir da mistura dos extratos dos frutos da pupunha (polpa e casca), denominado pela sigla EFP correspondente as iniciais da expressão acima e da própolis nomeado como EPV ou seja, extrato de própolis verde na mesma proporção entre o fruto e Própolis utilizada por Dallabona *et al.*, (2020) de 2:1

(EFP:EPV, v/v); foi obtida a solução dos extraíveis (SE) utilizada na etapa de microencapsulação como fonte de bioativos. Todos os protocolos utilizados seguiram os parâmetros otimizados e descritos na literatura para matrizes semelhantes.

3.2.1 Extração sólido-líquido dos frutos da Pupunha (EFP)

A obtenção do concentrado da Pupunha foi guiada segundo adaptações do protocolo proposto para o mesmo fruto e sob autoria de Seraglio *et al.*, (2015). Em um béquer cerca de 1 g de amostra foram maceradas com o etanol 99,8% acidificado com 0,1% (v/v) de ácido clorídrico P.A. sob agitação constante por aproximadamente 30 min, em temperatura ambiente (cerca de 25°C) e no escuro (FIGURA 8). A seguir, foi efetuada a filtração a vácuo da solução, seguida da concentração em banho-maria digital LUCA-150 (LUKADEMA, São José do Rio Preto, SP) a 45 °C e por fim, o armazenamento em tubos falcon de 50 mL cobertos por papel alumínio e refrigerados a -10°C em freezer modelo H300 (ELECTROLUX DO BRASIL - Curitiba, Paraná) até o momento da execução das demais análises.

FIGURA 8 – ETAPAS DE EXTRAÇÃO DO FRUTO DA PUPUNHA.



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: (i): Extrato sob agitação em ausência de luz; (ii): Montagem do sistema de filtração a vácuo.

3.2.2 Extração sólido-líquido da Própolis verde (EPV)

O protocolo utilizado para a obtenção do extrato etanoico da própolis verde foi embasado no relato de Cavalaro e Colaboradores (2019), descrito para resina

semelhante. A mistura entre a amostra e solvente (etanol 99%) na proporção de 1:35 (p/v) foi mantida por 20 min em um banho de ultrassom (Digital ultrasonic clear CD-4860 KONDETECH, 6000 mL) (FIGURA 9) com potência 40 KHz em temperatura de 25°C. Em seguida, a solução foi filtrada sob vácuo e concentrada em banho-maria digital LUCA-150 (LUKADEMA, São José do Rio Preto, SP) a 45°C (informar o tempo e o volume). Por fim, armazenada em tubos falcon de 50 mL envoltos por papel alumínio e mantidos sob refrigeração em freezer modelo H300 (ELECTROLUX DO BRASIL - Curitiba, Paraná).

FIGURA 9 – BANHO DE ULTRASSOM UTILIZADO NA EXTRAÇÃO DA PRÓPOLIS



FONTE: A autora (2023).

3.3 IDENTIFICAÇÃO DOS VOLÁTEIS PRESENTES NOS EXTRATOS

3.3.1 Determinação do perfil de voláteis dos extratos EFP, EPV e SE

As soluções mãe para as análises no cromatógrafo foram obtidas a partir de uma extração Líquido-Líquido, seguida por uma destilação simples das misturas contendo os extratos EFP, EPV e SE (EFP:EPV, 2:1) e o solvente extrator, acetato de etila (Grau HPLC) (1:3, v/v). Posteriormente, as três amostras agora denominadas por C1(EFP), C2 (EPV) e C3 (SE), respectivamente; foram mantidas sob agitação por 1 hora, em condições ambientais. Filtradas em filtros-seringas de 0,45 µm umedecidos com uma mistura envolvendo o solvente e sulfato de sódio anidro para a remoção das moléculas de água residuais, em seguida, concentrados em banho-maria digital LUCA-150 (LUKADEMA, São José do Rio Preto, SP) a 40°C

e armazenados em eppendorfs de 2 mL envoltos com papel alumínio até o momento da injeção no equipamento (AKBARIBAZM; KHAZAEI; KHAZAEI, 2020). A separação e a determinação dos compostos voláteis contidos nos extratos foram efetuadas por intermédio de um sistema de cromatografia em fase gasosa (modelo GC-2010Plus) acoplado a um espectrômetro de massas da marca SHIMADZU, modelo GCMS-TQ8040 (FIGURA 10), equipado com uma coluna capilar SH- Rtx- 5MS, diâmetro de 0,25 mm e 30 m de comprimento. As análises foram realizadas em triplicata e os parâmetros utilizados foram adaptados do procedimento operacional descrito por Aguilar-Galvez e Colaboradores (2021), com a incorporação de duas etapas extras de aquecimento na programação do forno. O hélio foi usado como gás de transporte com uma taxa de fluxo de 1 mL/ min. O Modo de injeção do tipo Split (razão Split 1:50), em temperatura de 250°C, pressão 60,6 kPa e usando um volume de amostra de 1 µL. A temperatura do forno foi programada da seguinte forma: a partir de 40 ° C (mantida por 5 min), depois foi aumentada para 60 ° C (mantida por 5 min.) com uma taxa de aquecimento de 2°C/min; em seguida elevada para 180°C a uma taxa de 4°C/min (mantida por 3 min.). Por fim, foi promovido um novo aquecimento até 240°C (2 min.) a uma taxa de 12°C/min, permanecendo nessa temperatura por 10 min, totalizando um tempo de execução de 60 min para cada amostra. A corrida do branco foi obtida da mesma forma, porém utilizando-se o acetato de etila como amostra controle (branco). O detector de massas do tipo triplo quadrupolo, modelo TQ8040 com ionização por elétrons de (70eV) e injetor automático modelo AOC-5000 Plus. As aquisições dos espectros CR1, CR2 e CR3 referentes as soluções C1, C2 e C3 descritas anteriormente, foram realizadas em modo de varredura completa, em uma faixa de varredura de 50 a 650 m/z. Cada composto volátil foi identificado e selecionado combinando o espectro de massa (com um mínimo de 90% de similaridade) com base na biblioteca do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) (versão 2.0).

FIGURA 10 – CROMATOGRAFO A GÁS



FONTE: A autora (2023).

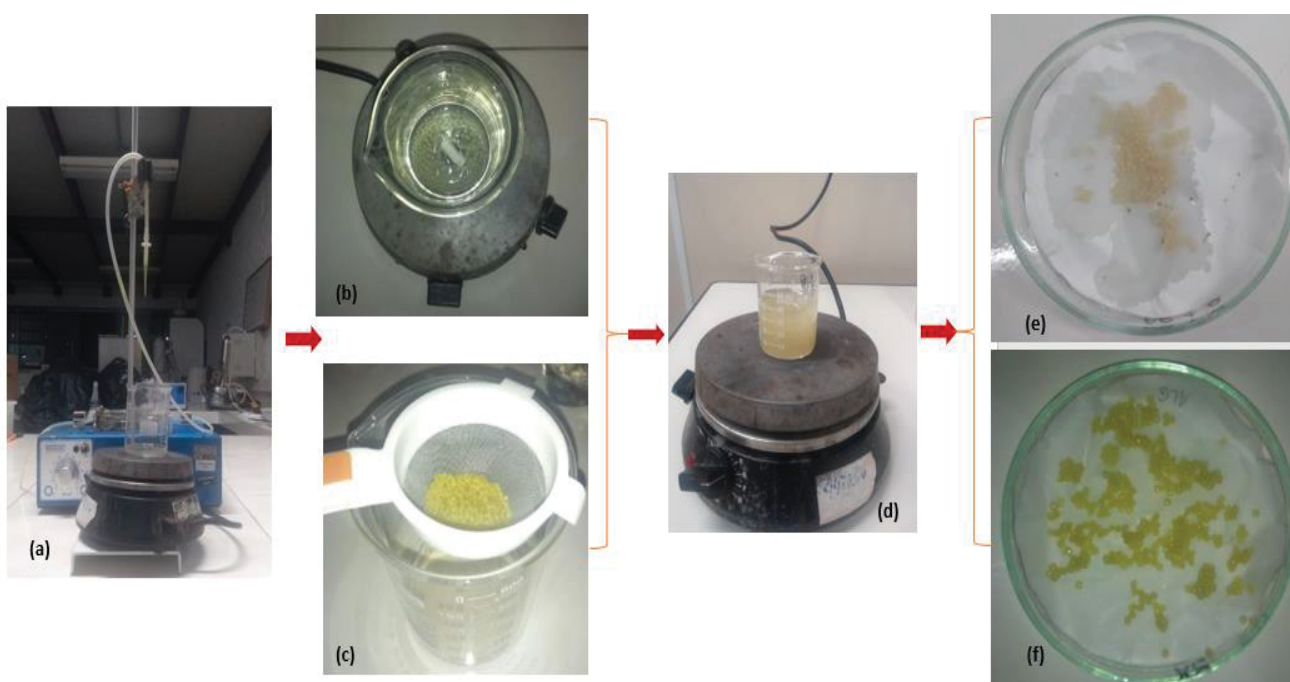
Além disso, as identificações dos voláteis isolados nas três amostras C1 (EFP), C2 (EPV) e C3 (SE – Solução de mistura dos extraíveis; EFP:EPV, 2:1) estudadas foram estabelecidas considerando a probabilidade de similaridade igual ou superior a 90 % de acordo com a biblioteca NIST. A integração dos picos, a geração dos tempos de retenção e porcentagem de área de cada componente, assim como os espectros foram estabelecidos mediante o software LabSolution da SHIMADZU.

3.4 PRODUÇÃO DOS HIDROGÉIS E O REVESTIMENTO DAS PARTICULAS COM A QUITOSANA

A partir dos extratos obtidos a síntese das cápsulas de alginato revestidas contendo o extrato da própolis e pupunha foram produzidas mediante a adaptação das metodologias propostas pelos autores Dallabona *et al* (2020) e Yousefi *et al.*, (2020), sendo utilizadas nas etapas de produção das cápsulas e no revestimento com a quitosana, respectivamente. A mistura (SE) resultante da adição dos extratos (EFP) e (EPV) na proporção (2:1) foi adicionada em uma solução de alginato de sódio 3% (p/v), previamente preparada a partir da dissolução em água destilada durante 12 h para garantir a sua total solubilização. Logo após, homogeneização do extrato com o gelificante foi extrusada por meio de uma ponteira de micropipeta de

200 μ L (diâmetro interno de 1,2 mm) mediante a uma bomba peristáltica MODELO 204 (MILAN, Colombo, PR) em uma solução de cloreto de cálcio 4%(p/v) sob agitação suave (FIGURA 11), em temperatura ambiente (cerca de 25°C) e em velocidade de produção de 100-130 gotas / min. Em seguida, mantidas em solução de cloreto de cálcio durante aproximadamente 30 min com agitação branda, depois filtradas e lavadas com água destilada para a remoção dos resíduos de cloreto.

FIGURA 11 – ETAPAS REALIZADAS PARA A PRODUÇÃO DAS PARTÍCULAS.



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: (a): Produção das micropartículas (gelificação iônica); (b): Reticulação em solução Cloreto de cálcio 4 %; (c): Filtração das cápsulas; (d): Etapa de revestimento em solução de quitosana; (e): Cápsulas de alginato obtidas com revestimento e sem revestimento de quitosana (f).

As microcápsulas foram revestidas com quitosana ao serem imersas em sua solução (quitosana pH 4,5) sob agitação suave durante 15 min. Em seguida, a solução foi filtrada e as microcápsulas foram lavadas com água destilada. Todas as pérolas produzidas foram então secas em estufa Modelo Linea 25 (OLIDEF CZ INDÚSTRIA E COM DE APARELHOS HOSPITALARES – Ribeirão Preto, São Paulo) à 40 ° C por 24 h.

Para facilitar a compreensão nas etapas subsequentes deste trabalho as partículas desenvolvidas foram definidas a partir deste tópico como: Cápsulas de alginato carregadas com solução de extraíveis misturados SE (EFP:EPV; 2:1)

(CAP3) e cápsulas carregadas com o extrato SE revestidas com quitosana (CAP4). Além disso, com o objetivo de padronizar o experimento algumas especificações foram fixadas para minimizar a ocorrência de flutuações no decorrer da obtenção dos produtos mediante o protocolo descrito anteriormente, por exemplo, a altura entre a ponta da micropipeta até a superfície do líquido reticulador (Cloreto de cálcio) mantida em 20 cm e a velocidade de agitação estabelecida em 100 rpm.

3.5 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

A partir da varredura dos extratos EFP, EPV e SE entre os comprimentos de onda de 190 a 800 nm no espectrofotômetro SHIMADZU UV-1800 (FIGURA 12), utilizando o etanol como branco (ANEXO 2). Foi determinado o comprimento de onda para a realização dos ensaios de eficiência de encapsulação e cinética de liberação.

A eficiência de encapsulação (EE%) foi determinada a partir da adaptação da metodologia descrita por Szczesna *et al.* (2021), mediante relação entre o volume equivalente de extrato contida na solução de cloreto de cálcio ao final da formação das cápsulas (V_{EQ}) e o volume de extrato (V_0) incorporado inicialmente e esgotado durante a produção das cápsulas.

$$EE\% = \frac{(V_0 - V_{EQ}) * 100}{V_0} \quad \text{(EQUAÇÃO 1)}$$

O volume equivalente da mistura (V_{EQ}) foi identificado por espectrofotometria, mediante a curva de calibração apropriada onde o extrato foi usado como referência a partir de teores conhecidos das substâncias na faixa de volume de extrato de 3,0 – 0 mL, com $R^2 = 0,9691$ e $\lambda = 200$ nm. Já o volume (v_0) foi determinado pelas quantidades volumétricas das misturas dos extratos utilizadas em cada formulação.

FIGURA 12 – ESPECTROFOTÔMETRO UTILIZADO NAS ANÁLISES.



FONTE: A autora (2023).

3.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MICROCAPSULAS

Para elucidar as propriedades das partículas produzidas em relação a tamanho, morfologia e comportamento térmico foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Calorimetria exploratória diferencial (DSC), Análise termogravimétrica (TGA) e distribuição de tamanho (Microscopia óptica de varredura).

3.6.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

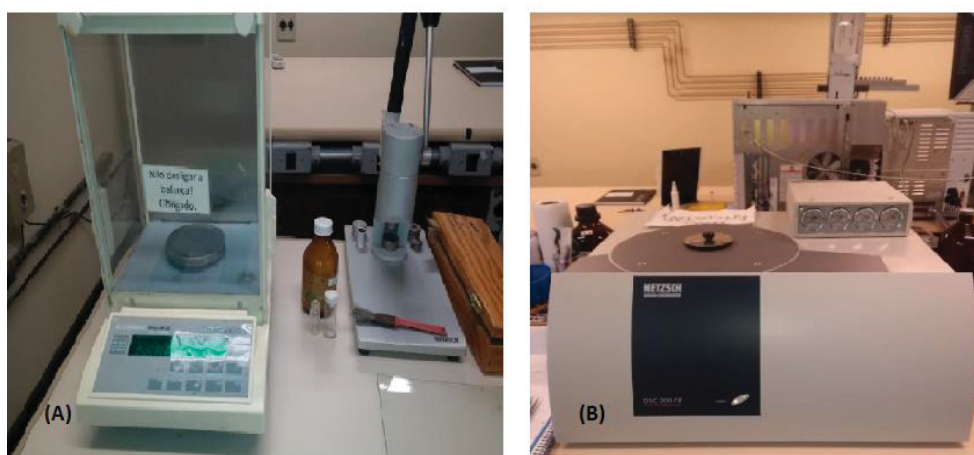
As imagens de alta resolução da superfície das partículas foram realizadas no centro de microscopia eletrônica (CME) da Universidade Federal do Paraná a uma voltagem de aceleração de 15 kV usando o Microscópio eletrônico de varredura VEGA 3 TESCAN. As amostras das cápsulas de alginato sem extrato e quitosana (CAP1), alginato sem extrato e com quitosana (CAP2), alginato e extrato sem quitosana (CAP3) e alginato-extrato com a camada de quitosana (CAP4) foram fixadas em suportes metálicos e recobertas com uma fina camada de ouro e após a metalização as observações foram obtidas com aumentos de 44 e 2000 vezes (CARVALHO, A.G.D.S. *et al.*, 2019).

3.6.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise térmica do material e a identificação de interações entre os polímeros e o núcleo foram elucidadas na Central analítica do departamento de Química da UFPR, a partir do equipamento DSC 200 F3 MAIA (NETZSCH) FIGURA 13, devidamente calibrado com padrão índio e por intermédio de adaptações realizadas no protocolo experimental proposto por Anbinder *et al.*, (2011), utilizando uma temperatura inicial menor para as amostras.

As partículas foram secas em estufa a 40°C por aproximadamente 12 h, foram colocadas em cápsulas de alumínio, pesadas em uma balança de precisão FA-2104N (BIOPRECISA) e hermeticamente seladas, admitindo-se uma cápsula vazia como referência. Os termogramas padrões das amostras puras de alginato (AGS) e quitosana (QUI) em pó e das cápsulas vazias de alginato (CAP1), alginato revestido de quitosana (CAP2), cápsulas de alginato com o extrato (CAP3) e com extrato-alginato-quitosana (CAP4), foram obtidos a partir da programação de temperatura de 19°C a 300°C com taxa de aquecimento de 10°C/min e quantidade de amostra de aproximadamente 10 mg.

FIGURA 13 – INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA ANÁLISE TÉRMICA DAS CÁPSULAS



FONTE: A autora (2023).

3.6.3 Análise termogravimétrica (TGA)

Para o TGA o experimento foi executado sob atmosfera de nitrogênio em um Analisador Termogravimétrico, modelo TGA-4000 (PERKIN ELMER, Massachusetts,

EUA). Cerca de 3 a 8 mg de amostras foram aquecidas de 30°C a 700 °C a uma taxa de 10 °C/min. (TEXEIRA-COSTA *et al.*, 2020).

3.6.4 Distribuição de tamanho das partículas

Para realização das análises foi utilizado o Estereoscópio ZEISS STEREO Discovery.V20, e utilizado o software ZEN para obtenção das imagens e medição das partículas. Foram realizadas imagens em 23 amostras aleatórias e representativas das de cápsulas úmidas de alginato sem revestimento (CAP3) e com revestimento de quitosana, identificadas como CAP4.

Para determinar a uniformidade dos grânulos o Desvio Padrão Relativo (% DPR) foi calculado EQUAÇÃO 2 (APSARINA *et al.*, 2020).

$$\%DPR = \frac{\text{Desvio padrão do tamanho da cápsula}}{\text{Média do tamanho das cápsulas}} \times 100 \quad (\text{EQUAÇÃO 2})$$

A avaliação da esfericidade da produção efetuada pelo fator de esfericidade (FE) (EQUAÇÃO 3), mencionado no trabalho de Lee *et al.* (2013).

$$FE = \frac{\text{Diâmetro máx.} - \text{Diâmetro mín}}{\text{Diâmetro máx.} + \text{Diâmetro mín}} \quad (\text{EQUAÇÃO 3})$$

Os ensaios foram realizados no INSTITUTO SENAI DE INOVAÇÃO EM ELETROQUÍMICA, localizado no SENAI – Campus da Indústria na Av. Comendador Franco, 1341, Bairro Jardim Botânico, CEP 80215-090, Curitiba – PR.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos foram avaliados em relação as duas premissas fundamentais da estatística, a normalidade dos dados, por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias mediante aplicação do método de Levene. A

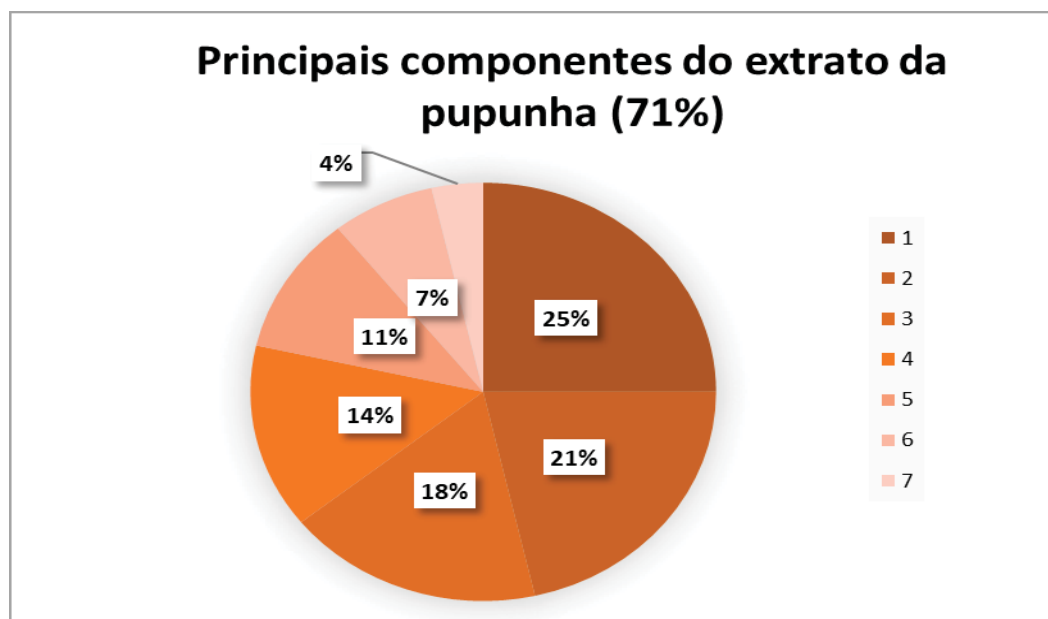
partir disso, os testes de ANOVA foram realizados utilizando o Software OriginLab 2023 (Versão trial).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO DOS VOLÁTEIS NOS EXTRATOS USADOS COMO BIOATIVOS ENCAPSULADOS

A partir da relação direta entre a área compreendida por cada pico gerada pelos componentes presentes nos cromatogramas foi possível estipular as predominâncias destas substâncias nos três extratos investigados (TABELAS 2, 3 e 4). Cerca de 8 substâncias apareceram em todos os cromatogramas (CR1, CR2 e CR3), tais como o Metil isobutirato; 1- Etoxi-butano; 3-Metil 1 Butanol; 2-Metil 1 Butanol; ácido hidrocinâmico; Trans- 1- Etoxi-1-Buteno; ácido n- Hexadecanoico e 2,5-dimetil- gama- oxo- ácido benzeno butanoico. No extrato da pupunha (C1) os sete principais componentes, apresentaram teores acima de 3%, compuseram 71,06% da massa total (FIGURA 14), sendo que estão destacados com # e a posição de importância a seguir (TABELA 3), e desta porção avaliada 25% corresponde ao ácido hidrocinâmico e 21% pelo 2,5 - Dimetil- gama-oxo-ácido benzeno butanoico. Além dos compostos descritos na TABELA 3, os ácidos oxálicos e succínico, também foram encontrados nas amostras de pupunha em algumas das triplicatas injetadas no equipamento, porém em baixas concentrações, ou seja, com porcentagem de área dos picos menor que 1.

FIGURA 14 – CONTRIBUIÇÃO MÁSSICA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS (>34%) IDENTIFICADOS NO EXTRATO DE PUPUNHA.



LEGENDA: (1): Ácido hidrocinâmico; (2): 2,5 – Dimetil- gama-oxo-ácido benzeno butanoico; (3): 9-Metil-S-octahidrofenantreno; (4) (E,E,E)- Éster 1,2,3- propanotriil ácido 9- octadecenóico; (5): 3- Metil-1- butanol; (6): (4aR,5S)-1-Hidroxi-4a,5-dimetil-3-(propan-2-ilideno)-4,4a,5,6-tetrahidronaftalen-2(3H)-ona; (7): Ácido n-Hexadecanoico.

TABELA 3 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO EXTRATO DE PUPUNHA C1 (EFP).

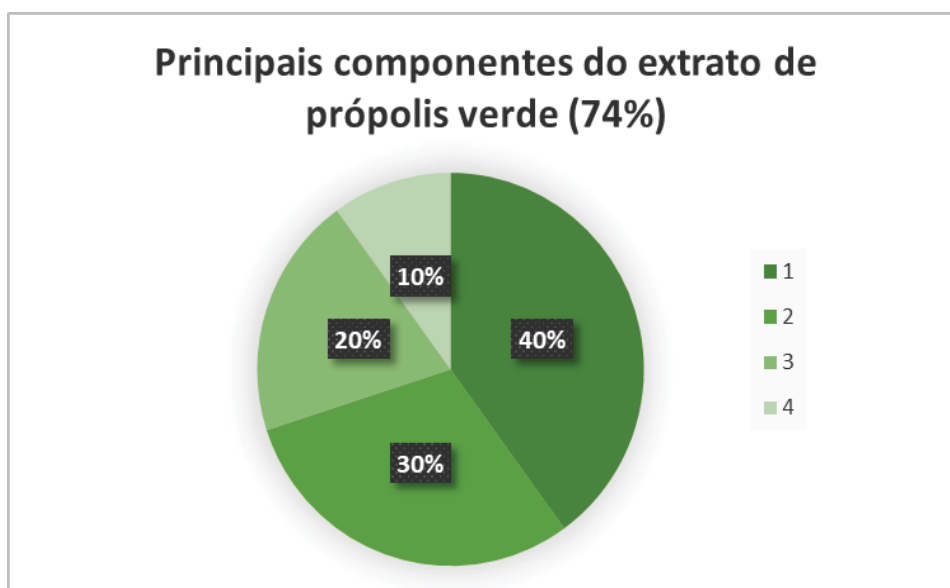
Composto	TR (a)	CAS (b)	A% (c)	Fórmula molecular
Metil Isobutirato	3,809	547-63-7	1,73	C ₅ H ₁₀ O ₂
1-Etoxi butano	3,990	628-81-9	1,3	C ₆ H ₁₄ O
Trans- 1- Etoxi-1-Buteno	4,100	1528-20-7	0,35	C ₆ H ₁₂ O
Éter diglicidílico de etileno glicol	4,790	2224-15-9	0,57	C ₈ H ₁₄ O ₄
3-Metil-1-Butanol	5,044	123-51-3	6,81^{#5}	C₅H₁₂O
2-Metil-1-Butanol	5,173	137-32-6	1,48	C ₅ H ₁₂ O
2,3-dihidro-benzofurano	33,977	496-16-2	0,43	C ₈ H ₈ O
Ácido hidrocinâmico	38,534	331-39-5	19,46^{#1}	C₉H₈O₄
Ácido benzenopropanóico, éster etílico	38,734	2021-28-5	1	C ₁₁ H ₁₄ O ₂
2,3,6,7,8,8a-Hexahidro-1,4,9,9-tetrametil (1 alfa,3a.alfa,7.alfa,8a beta) 1H-3a,7Metanoazuleno	41,302	560 - 32 - 7	0,27	C ₁₅ H ₂₄
2,3-Di-hidro-2-oxo-N-(8-quinolinil) 1,3Benzotiazol-3-acetamida	42,074	-	0,42	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂ S
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a. alfa.)-	44,320	39029- 41 - 9	0.44	C ₁₅ H ₂₄
Isoledene	44,469	95910 - 36 -4	0,27	C ₁₅ H ₂₄
1-(4-hidroxi-3-metoxifenil) - 2-Propanona	44,595	-	0,27	

(E)-1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimetil	45,669	40716- 66 - 3	1,02	C ₁₅ H ₂₆ O
1H-Cicloprop[e]azulen-7-ol, decahidro-1,1,7 trimetil-4-metileno-, [1ar-(1a.alfa,4a.alfa,7.beta,7a.beta. ,7b.alfa)]-	46,292	6750 - 60 - 3	1,26	C ₁₅ H ₂₄ O
Tetradecanal	47,204	124 - 25 - 4	1,12	C ₁₄ H ₂₈ O
2,5 dimetil- gama -oxo- ácido benzeno butanoico	47,693	1453-06-1	14,12^{#2}	C₁₂H₁₆O₂
3-(1,1-dimetiletil)-1,2-dihidro- Naftaleno	50,938	55682- 81 - 0	0,5	C ₁₄ H ₁₈
Henicosanal	53,296	230947	1,21	C ₂₁ H
l-Fenilalanina, n-heptafluorobutiril-, éster butílico	53,540	-	0,28	C ₁₇ H ₁₈ F ₇ NO ₃
Fenol, 4-[3-(acetiloxi)-1-propenil]-2-metoxi-acetato	54,800	38209- 46 - 0	1,52	C ₁₄ H ₁₆ O ₅
2-Heptadecanona	55,400	2922 - 51 - 2	0,26	C ₁₇ H ₃₄ O
1,1'-(5-metil-1,3-fenileno)bis- pirrolidina	55,894	-	1,05	C ₁₅ H ₂₂ N ₂
7,7-Dimetil-7,8-di-hidro-6H-5,9-dioxadibenzo [a,c] ciclononeno	55,947	161895-54- 1	1,1	C ₁₇ H ₁₈ O ₂
Ácido oleico	56,140	112-80-1	0,35	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
7-Isopropil-1,1,4a-trimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno	56,309	109680-0 - 5	0,27	C ₂₀ H ₃₀
Ácido n-Hexadecanoico	56,488	57-10-3	4,31^{#7}	C₁₆H₃₂O
Ácido ftálico, éster di(3-metilfenil)	56,696	59935-80-7	0,49	C ₂₂ H ₁₈ O ₄
9-Metil-S-octahidrofenantreno	57,292	23861-81- 6	10,47^{#3}	C₁₅H₂₀
Henicosanal	57,391	51227- 32 - 8	0,78	C ₂₁ H ₄₂ O
Ácido palmítico	57,666	55520-89-3	0,46	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si
Tetrapentacontano	57,745	5856 - 66 - 6	0,33	C ₅₄ H ₁₁₀
Hexadecametil- Ciclooctasiloxano	57,949	556 - 68 - 3	0,24	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈
1-iodo- Triacontano	58,383	-	1,15	C ₃₀ H ₆₁ I
Ácido glutárico	58,474	-	1,08	C ₂₂ H ₃₉ F ₃ O ₄
1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidro-1,1,4a-trimetil-7-(1-metiletil)-, (4aS-trans)- Fenantreno	58,652	19407- 28 - 4	0,38	C ₂₀ H ₃₀
Ácido 9,12-octadecadienóico (Z,Z)-	58,814	60 - 33 - 3	1,14	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
(E,E,E)- Éster 1,2,3- propanotriil ácido 9-octadecenóico	58,987	537 - 39 - 3	9,87^{#4}	C₅₇H₁₀₄O₆
Ácido octadecanóico	59,199	57 - 11 - 4	1,54	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
Ácido succínico	59,250	-	0,62	C ₂₅ H ₃₈ O ₄
1,4-Benzenodiol, 2,5-bis(3-metil-2-buten-1-il)-il)decahidronaftaleno-1-carboxílico	59,357	-	1,22	C ₁₆ H ₂₂ O ₂
(4aR,5S)-1-Hidroxi-4a,5-dimetil-3-(propan-2-ilideno)-4,4a,5,6-tetrahidronaftalen-2(3H)-ona	59,654	27538-41-6	6,02^{#6}	C₂₄H₅₀
Hexadecanoic acid, 4-[(trimethylsilyl)oxy]butyl ester	59,815	56630- 47 - 8	0,64	C ₂₃ H ₄₈ O ₃ Si
(E)- ácido 9-octadecenóico	59,890	96851 - 47- 7	0,4	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si

FONTE: A AUTORA (2023). (a):Tempo de retenção, (b): Número de registro fornecido pelo Chemical Abstrats Service – CAS; (c): Porcentagem da área representativa do composto em relação ao total e #n: Importante quantitativamente e grau (posição).

No extrato de própolis verde (C2), quatro são os principais componentes, que apresentaram teores acima de 3% e compuseram 73,86% da massa total (FIGURA 15), sendo que estão destacados com # e a posição de importância a seguir (TABELA 4). Vale ressaltar que entre os voláteis detectados de maior teor o ácido oleico corresponde a 40 % da composição do extrato, seguido do ácido n-hexadecanoico (30%), Ácido (Z, Z)- 9,12-Octadecadienoico (20%) e o Etil Oleato com 10% . Substâncias como o ácido glutárico, cloreto de oleoíla, oleato de glicidila e a 3,4,5,6-tetrahidro-6,8a-epidioxi-4a-metil- Cumarina foram também isoladas em algumas das triplicatas dos extratos da própolis verde, porém em baixas concentrações.

FIGURA 15 – CONTRIBUIÇÃO MÁSSICA DOS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS (>34%) IDENTIFICADOS NO EXTRATO DA PROPÓLIS VERDE.



LEGENDA: (1): Ácido oleico; (2): Ácido n-hexadecanoico; (3): Ácido (Z,Z)- 9,12-Octadecadienoico; (4) Etil Oleato.

TABELA 4 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO EXTRATO DA PRÓPOLIS VERDE C2 (EPV).

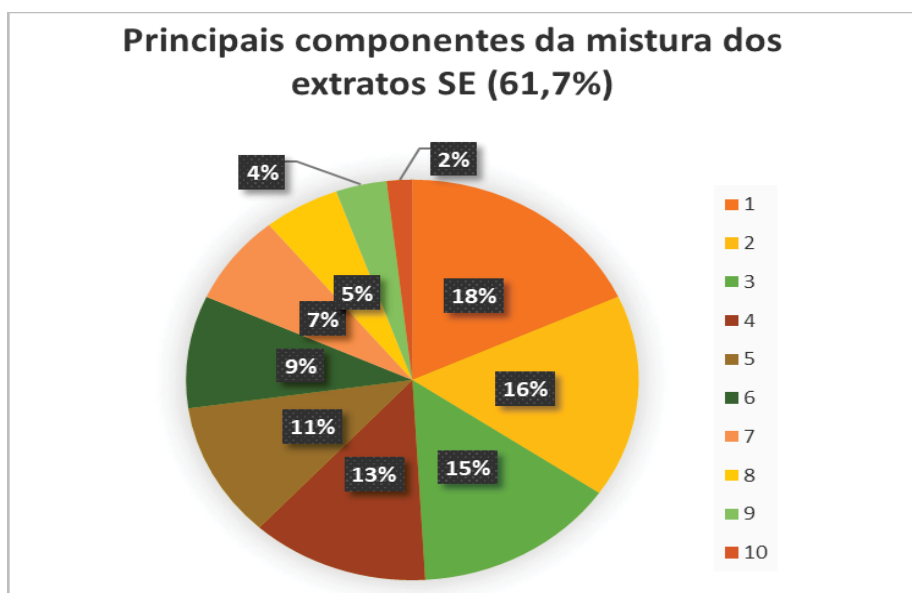
Composto	TR (a)	CAS (b)	A% (c)	Fórmula molecular
Metil Isobutirato	3,812	547-63-7	1,45	C ₅ H ₁₀ O ₂
1-Etoxi butano	3,994	628-81-9	1	C ₆ H ₁₄ O
Trans- 1- Etoxi-1-Buteno	4,103	1528-20-7	0,28	C ₆ H ₁₂ O
1,1- Dietoxi etano	4,788	105-57-7	0,82	C ₆ H ₁₄ O ₂
3-Metil-1-Butanol	5,062	123-51-3	2,17	C ₅ H ₁₂ O
2-Metil-1-Butanol	5,189	137-32-6	0,51	C ₅ H ₁₂ O
2,5-dimetil-2-Hexeno	5,820	3404 - 78 - 2	0,1	C ₈ H ₁₆
2,4-Dimetil- Benzaldeído	33,598	15764 - 16 - 6	0,06	C ₉ H ₁₀ O
2,5-Dimetil-gama-oxo- ácido benzenobutanóico	47,699	5394 - 59 - 2	1,14	C ₁₂ H ₁₄ O ₃
Octadecametil- Ciclononasiloxano	52,028	556 - 71 - 8	0,1	C ₁₈ H ₅₄ O ₉ Si ₉
Hexadec-9- enoato de metila	55,448	10030 - 74 - 7	0,11	C ₁₇ H ₃₂ O ₂
Eicosametil- ciclodecasiloxano	55,866	18772 - 36 - 6	0,12	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀
(E)- Ácido 9-Octadecenoico	56,155	112 - 79 - 8	1,84	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
3-Isopropil- Piperidina	56,330	13603 - 18 - 4	0,06	C ₈ H ₁₇ N
Ácido n-hexadecanóico	56,530	57 - 10 - 3	23,87^{#2}	C₁₆H₃₂O₂
9- Hexadecenoato de etila	56,645	54546 - 22 - 4	0,18	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
Ácido hexadecanóico, éster etílico	56,979	628 - 97 - 7	0,31	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
9-Butil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- fenantreno	57,296	16703 - 29 - 0	1,03	C ₁₈ H ₂₆
(Z)- Ácido 9-hexadecenóico	57,380	-	0,12	C ₁₉ H ₃₈ O ₂ Si
Estradiol	57,494	50 - 28 - 2	0,03	C ₁₈ H ₂₄ O ₂
Ácido palmítico	57,670	55520 - 89 - 3	0,77	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si
Tetrapentacontano	57,746	5856 - 66 - 6	1,47	C ₅₄ H ₁₁₀
Hexadecametil- ciclooctasiloxano	57,942	556 - 68 - 3	0,18	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈
(2)- Óxido de aloaromadendreno	58,011	-	0,27	C ₁₅ H ₂₄ O
1-(2,4-Dimetilfenil) - 3-(fúril-2) propano	58,095	-	0,04	C ₁₅ H ₁₈ O
Ácido 9,12-octadecadienóico (Z,Z)-, éster metílico	58,309	112 - 63 - 0	0,79	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
Ácido 9-octadecenóico, éster metílico, (E)-	58,393	1937 - 62 - 8	1,02	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
Ácido 9-octadecenóico, éster metílico, (E)-	58,471	1937 - 62 - 8	0,19	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
(Z, Z)- Ácido 9,12-octadecadienóico	58,839	60 - 33 - 3	6,98^{#3}	C₁₈H₃₂O₂
Ácido oleico	58,936	112 - 80 - 1	39,19^{#1}	C₁₈H₃₄O₂
Éster etílico do ácido linoléico	59,175	544 - 35 - 4	2,91	C ₂₀ H ₃₆ O ₂
Ácido octadecanóico	59,221	57 - 11 - 4	2,14	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
Oleato de etila	59,258	111 - 62 - 6	3,82^{#4}	C₂₀H₃₈O₂
Oleato de etila	59,344	111 - 62 - 6	1,46	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
7-metil-1-Oxaciclododec-6-eno-2,10-diona	59,425	-	0,52	C ₁₂ H ₁₈ O ₃
Bis(dodecanamido) metano	59,483	10436 - 15 - 4	0,44	C ₄₅ H ₉₀ N ₂ O ₂

22,25-Dihidroxi- colest-5-en-3-ona	59,515	17205 - 76 - 4	0,36	C ₂₇ H ₄₄ O ₃
3-hidroxi- ácido ciclohexanopropanóico, éster metílico	59,545	70260 - 41 - 2	0,32	C ₁₀ H ₁₈ O ₃
E-11,13-Tetradecadienal	59,580	111876 -44 - 9	0,30	C ₁₄ H ₂₄ O
Ácido heptadecanóico, éster 15-metil-, etílico	59,615	57274 - 46 - 1	0,27	C ₂₀ H ₄₀ O ₂
Octadecametil- ciclononasiloxano	59,672	556 - 71 - 8	0,61	C ₁₈ H ₅₄ O ₉ Si ₉
Ácido 3-ciclopentilpropionico, éster 8-clorooctil	59,725	-	0,14	C ₁₆ H ₂₉ ClO ₂
4,4-Difluororetinol (trans)	59,780	90660 - 21 - 2	0,12	C ₂₀ H ₂₈ F ₂ O
2-brom-uridina	59,835	-	0,17	C ₉ H ₁₁ BrN ₂ O ₅
Ácido oleico	59,899	21556 - 26 - 3	0,22	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si

FONTE: A AUTORA (2023). (a):Tempo de retenção, (b): Número de registro fornecido pelo Chemical Abstrats Service – CAS; (c): Porcentagem da área representativa do composto em relação ao total e #n: Importante quantitativamente e grau (posição).

Os principais componentes constatados C3, com teores acima de 3%, compuseram 61,7% da massa total (FIGURA 16), correspondendo a cerca de 10 substâncias, uma quantidade maior em relação as outras amostras avaliadas anteriormente e de forma semelhante, foram destacadas com # e a posição de importância a seguir (TABELA 5).

FIGURA 16 – CONTRIBUIÇÃO MÁSSICA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS VOLÁTEIS (>34%) IDENTIFICADOS NA MISTURA DOS EXTRATOS (SE)



LEGENDA: (1): 2,5-dimetil-gama-oxo- ácido benzeno; (2): (E,E,E)-Ácido 9-octadecenóico, éster 1,2,3-propanotrilíco; (3): 9-Butil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- fenantreno; (4) ácido hidrodinâmico; (5): (E, E, E) - Ácido 9-octadecenóico, éster 1,2,3-propanotrilíco; (6): 9-Metiltriciclo [4.2.1.1(2,5)]deca-3,7-dieno-9,10-diol; (7): 3,3-Dimetil-2,3-di-hidro-1H-benzo[f]cromen-8ol; (8): tetrapentacontano e metil Isobutirato; (9): 3-Metil-1-Butanol e (10): ácido n-hexadecanóico.

TABELA 5 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NA MISTURA DOS DOIS EXTRATOS (DE ENCAPSULAÇÃO) C3 (EFP: EPV, 2:1)

Composto	TR ^(a)	CAS ^(b)	A% ^(c)	Fórmula molecular
Metil Isobutirato	3,806	547-63-7	3,36^{#8}	C₅H₁₀O₂
1-Etoxi butano	3,988	628-81-9	2,42	C₆H₁₄O
Trans- 1- Etoxi-1-Buteno	4,100	1528-20-7	0,67	C ₆ H ₁₂ O
2,5- Dimetil-Hexano	4,791	592-13-2	0,81	C ₈ H ₁₈
3-Metil-1-Butanol	5,056	123-51-3	3,24^{#9}	C₅H₁₂O
2-Metil-1-Butanol	5,176	137-32-6	0,90	C ₅ H ₁₂ O
Ácido hidrocinâmico	38,406	331-39-5	7,09^{#4}	C₉H₈O₄
(E)- 3,7,11-trimetil-, 1,6,10-Dodecatrien-3-ol	45,666	142 - 50 - 7	0,54	C ₁₅ H ₂₆ O
1H-Cicloprop[e]azulen-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4 metileno[1ar(1a.alfa.,4a.alfa.,7.beta.,7a.beta.7b.alfa.)]-	46,288	6750- 60 - 3	0,61	C ₁₅ H ₂₄ O
Tetradecanal	47,200	124 - 25 - 4	0,25	C ₁₄ H ₂₈ O
2,5-dimetil-gama-oxo- ácido benzeno	46,693	30316-31- 5	13,05^{#1}	C ₁₃ H ₁₆ O
Eicosanal	53,291	2400 -66 - 0	0,31	C ₂₀ H ₄₀ O
Fenol, 4-[3-(acetiloxi)-1-propenil]-2-metoxi acetato	54,807	38209-46- 0	0,33	C ₁₄ H ₁₆ O ₅
Espiro[1,3,3-trimetilindolina]-2,5'-pirrolidin-2-ona	55,894	-	0,72	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O
Bis(etil)- Harmol	55,945	-	0,58	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O
Ácido n-hexadecanóico	56,479	57 - 10 - 3	3,03^{#10}	C₁₆H₃₂O₂
9-Butil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- fenantreno	57,291	16703- 29-0	7,33^{#3}	C₁₈H₂₆
9-Metiltriciclo [4.2.1.1(2,5)]deca-3,7-dieno-9,10-diol	57,389	78323-73-6	5,36^{#6}	C₁₁H₁₄O₂
3,3-Dimetil-2,3-di-hidro-1H-benzo[f]cromen-8ol	57,849	-	3,7^{#7}	C₁₈H₂₄O₂Si
Hexadecametil- Ciclooctasiloxano	57,935	556 - 68 - 3	1,96	C ₁₆ H ₄₈ O ₈ Si ₈
4-pentil-1-(4-propilciclohexil)- Ciclohexeno	58,146	108067-17-0	1,41	C ₂₀ H ₃₆
Ácido retinóico	58,235	302 - 79 - 4	0,75	C ₂₀ H ₂₈ O ₂
(Z)-Hexadec-11-en-1-il octanoato	58,310	-	0,29	C ₂₄ H ₄₆ O ₂
4,4a,9,10-Tetrahidro-4a-metil-2(3H) - fenantrenona	58,376	6606 - 34 - 4	1,08	C ₁₅ H ₁₆ O
Neoergostatrieno	58,472	15165 - 45 - 4	1,01	C ₂₇ H ₄₂
1,2,3,4,4a,9,10,10a-Octahidro-1,1,4a-trimetil-7-(1-metiletil)-, (4aS-trans)- Fenantreno	58,653	19407 - 28 - 4	0,25	C ₂₀ H ₃₀
Cloreto de oleoíla	58,709	112 - 77 - 6	0,42	C ₁₈ H ₃₃ ClO
(Z,Z)- Ácido 9,12-octadecadienóico	58,811	60 - 33 - 3	1,39	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
(E,E,E)-Ácido 9-octadecenóico, éster 1,2,3-propanotriílico	58,892	537 - 39 - 3	8,27^{#2}	C₅₇H₁₀₄O₆
Ácido octadecanóico	59,195	57 - 11 - 4	0,82	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
2,5-bis(3-metil-2-buten-1-il)- 1,4-benzenodiol	59,359	-	0,53	C ₁₆ H ₂₂ O ₂
Ácido 4-hidroxi-4-metil-hex-5-enóico, éster terc-butílico	59,420	-	0,25	C ₁₁ H ₂₀ O ₃

(4aR,5S)-1-Hidroxi-4a,5-dimetil-3-(propan-2-ilideno)-4,4a,5,6-tetrahidronaftalen-2(3H)-ona	59,642	669064- 29- 3	2,6	C ₁₅ H ₂₀ O ₂
7,11,14- Eicosatrienoato de metila	59,805	-	2,48	C ₂₁ H ₃₆ O ₂
(E, E, E) - Ácido 9-octadecenóico, éster 1,2,3-propanotriílico	59,977	537 - 39 - 3	6,4^{#5}	C₅₇H₁₀₄O₆
10a-Metil-1,9,10,10a-tetrahidro-3(2H) - fenantrenona	60,139	51593 - 72 - 7	2,67	C ₁₅ H ₁₆ O
7-Isopropil-1,1,4a-trimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno	60,700	109680- 0 - 5	1,87	C ₂₀ H ₃₀
2-Metilhexacosano	61,221	1561 - 02 - 0	0,59	C ₂₇ H ₅₆
3-(alfa,alfa-Dimetilalil)- Psoraleno	61,308	13164 - 03 - 9	1,02	C ₁₆ H ₁₄ O ₃
Pentafluoropropionato de nonadecil	62,377	-	0,43	C ₂₂ H ₃₉ F ₅ O ₂
Ácido (1S,4aR,5S,8aR)-1,4a-Dimetil-6-metileno-5-((E)-3-metilpenta-2,4-dien-1-il)decahidronaftaleno-1-carboxílico	62,606	2761 - 77 - 5	0,47	C ₂₀ H ₃₀ O ₂
Tetrapentacontano	63,652	5856 - 66 - 6	3,36^{#8}	C₅₄H₁₁₀
Tetrapentacontano	65,352	5856 - 66 - 6	1,01	C ₅₄ H ₁₁₀
3,3-Dimetil-2,3-di-hidro-1H-benzo[f]cromen-8-ol derivado de TMS	67,175	-	2,29	C ₁₈ H ₂₄ O ₂ Si
2,2a,3a,4,6a,6b-hexahidro-3a-metil-1,2,4-Meteno-1H-ciclobuta[b]ciclopenta[d]furano	67,567	78323 - 74 - 7	2,08	C ₁₁ H ₁₂ O

FONTE: A AUTORA (2023). (a):Tempo de retenção, (b): Número de registro fornecido pelo Chemical Abstrats Service – CAS; (c): Porcentagem da área representativa do composto em relação ao total e #n: Importante quantitativamente e grau (posição).

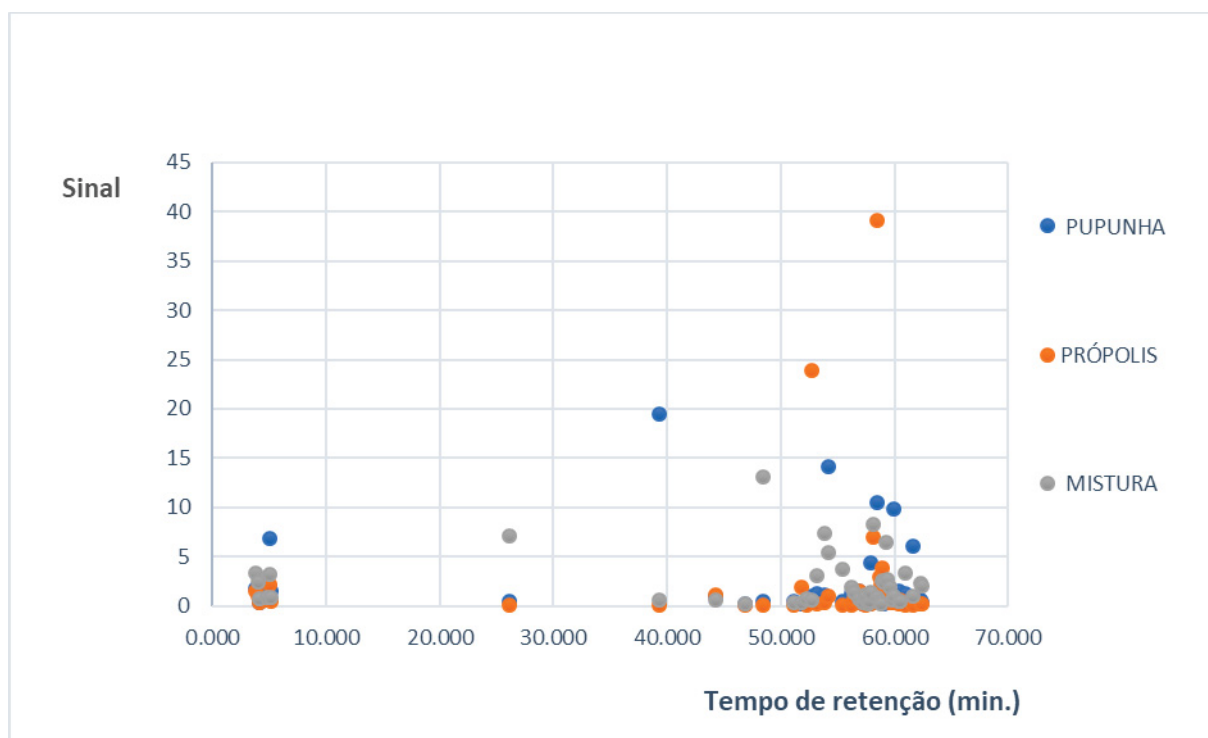
Dentre os voláteis contidos na amostra C3, estão presentes o 2,5-dimetil-gama-oxo- ácido benzeno (13,05%), (E,E,E)-Ácido 9-octadecenóico, éster 1,2,3-propanotriílico (8, 27%), 9-Butil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- fenantreno (7,33%), ácido hidrodinâmico (7,09%), (E, E, E) - Ácido 9-octadecenóico, éster 1,2,3-propanotriílico (6,4%), 9-Metiltriciclo [4.2.1.1(2,5)]deca-3,7-dieno-9,10-diol (5,36%), 3,3-Dimetil-2,3-di-hidro-1H-benzo[f]cromen-8ol (3,7%), tetrapentacontano e metil Isobutirato com 3,6%, 3-Metil-1-Butanol (3,24%) e o ácido n-hexadecanóico (3,03%). Nota-se que o ácido hidrocínâmico é constatado em menor quantidade. Todavia, o ácido oleico exibido em C2 não foi observado, o que pode estar relacionado a ocorrência de alguma reação com outras substâncias durante a junção dos dois extratos para compor C3 ou SE.

No que diz respeito ao potencial de mercado e bioatividade destes compostos pode se destacar o ácido hidrocínâmico, um fenólico com ação

conhecido no controle da diabetes, nos níveis de gordura no sangue e outras doenças (RESSAISSI; SERRALHEIRO, 2022) e o ácido oleico principal constituinte do azeite de oliva, um ácido graxo que atua na atenuação do processo inflamativo, na redução de doenças cardíacas e do estado oxidativo (LOPES *et al.*, 2010).

Relacionando o tempo de retenção médio das três amostras estudadas e os seus respectivos sinais quantitativos, pode-se inferir que as características dos compostos isolados são de uma forma geral semelhantes, destacando-se poucos pontos flutuantes referentes a pupunha e a própolis aproximadamente nos tempos de retenção de 5, 25, 39, 55 e 59 minutos (FIGURA 17). Estas discrepâncias podem estar relacionadas a ocorrência de reações químicas entre as espécies e a formação de novas moléculas na mistura (SE).

FIGURA 17 – DISTRIBUIÇÃO DOS SINAIS ANALÍTICOS DOS SISTEMAS AVALIADOS POR CGMS



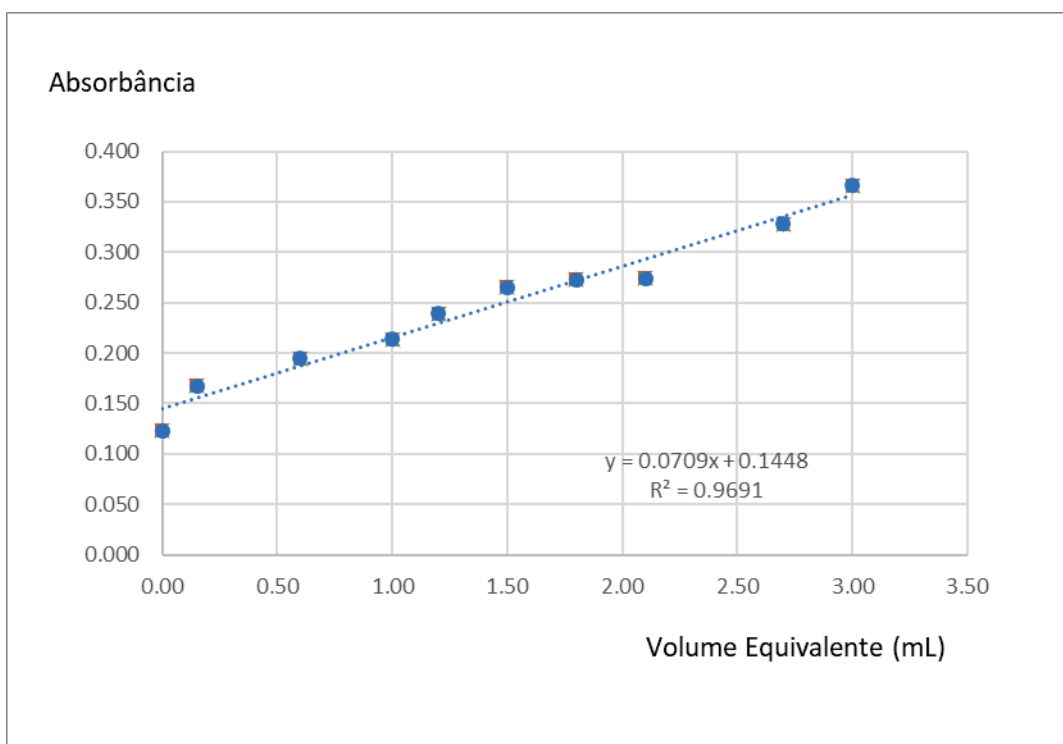
FONTE: A AUTORA (2023).

4.2 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

Foram testadas três distintas formulações F1, F2 e F3 para as cápsulas variando-se a proporção em volume (v/v) entre o núcleo e o carreador (Alginato de

sódio 3%) adicionados na solução a ser encapsulada (TABELA 6). A partir disso, a melhor condição foi selecionada para a produção das partículas utilizadas neste trabalho pela comparação entre os valores da eficiência de encapsulamento obtidos; com o intuito de realização estes cálculos a curva padrão construída por intermédio da solução de cloreto cálcio 4% (FIGURA 14), assim como o extrato e os dados de massa inicial e sobrenadante foram empregados para a determinação do parâmetro (VER EQUAÇÃO 1).

FIGURA 18 – CURVA PADRÃO PARA A SOLUÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO.



FONTE: A AUTORA (2023).

Para a realização da produção das cápsulas as soluções extrusadas (Extrato + Alginato de sódio) e gelificantes de cloreto de cálcio empregadas em cada um dos ensaios apresentaram volumes finais de 30 mL e 50 mL, respectivamente.

TABELA 6 – DADOS USADOS NA DETERMINAÇÃO DA EE%

Formulação	Volume de extrato - V_0 (mL)	Volume equivalente – V_{EQ} (mL)	EE%
F1	15	2,71	96,67
F2	10	2,07	96,54
F3	7,5	1,48	96,70

FONTE: A AUTORA (2023).

Para obter o volume teórico V_{EQ} , a variável (x) foi isolada na equação da reta originada pela curva padrão (FIGURA 14), com coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9691, seguida da substituição do valor da absorbância média medida a partir das triplicatas em y e levando em conta nos cálculos o fator de diluição aplicado durante a leitura das absorbâncias das alíquotas.

As medidas revelaram que quanto maior o teor de alginato utilizado no preparo das partículas, mais elevado o valor da eficiência obtida, ou seja, mais substância é retida pelo sistema, conforme observado em F3 (TABELA 6); o que pode estar relacionado com a quantidade de grupos carboxílicos desimpedidos no alginato para interagir com os íons de cálcio presentes na solução cloreto; de modo, a viabilizar a formação de uma rede tridimensional mais espessa e intensa garantindo um maior aprisionamento do extrato. Além disso, dentre todas as formulações testadas, F3 apresentou melhor processabilidade durante a produção das microcápsulas e não formou agregados no momento da junção das soluções de origem (alginato de sódio e extrato), tornando mais fácil a homogeneização da mistura e o gotejamento.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS

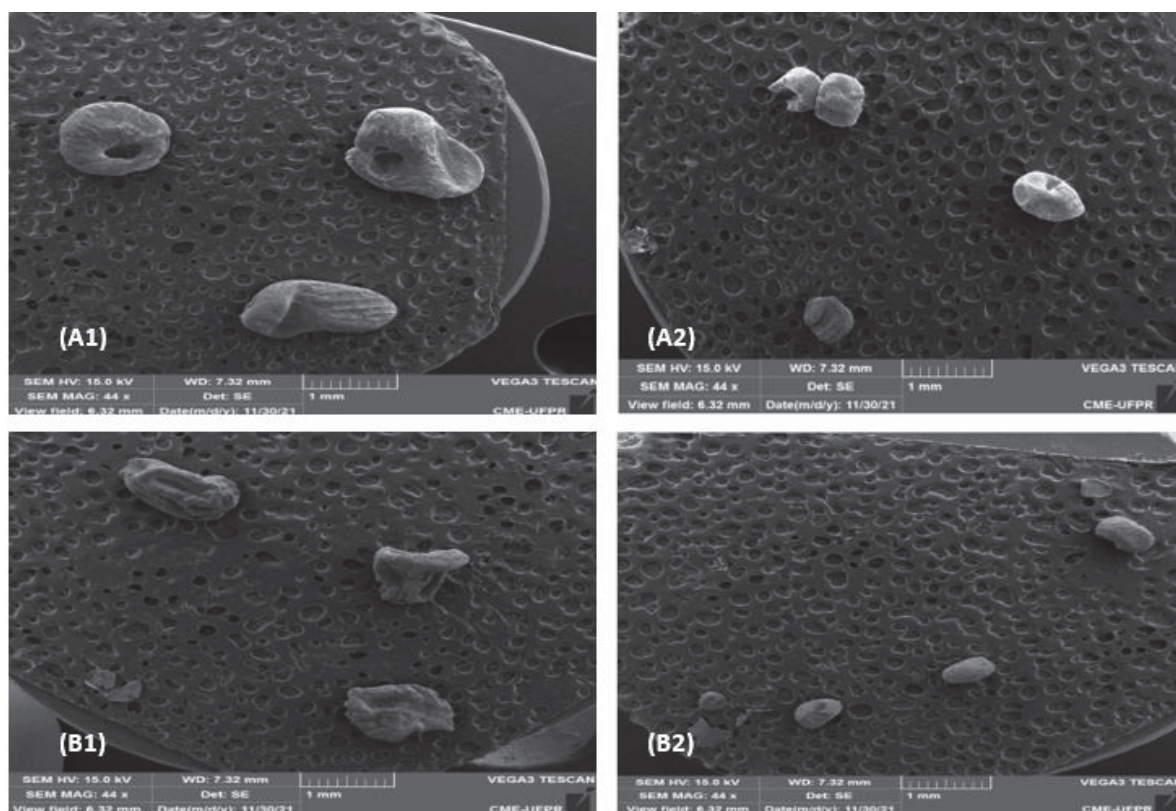
4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise de MEV mostrou o comportamento dos revestimentos e seu efeito superficial nas amostras de alginato. As microfotografias com aumento de 44 (FIGURA 15) e 2000 vezes (FIGURA 16) revelam as partículas de hidrogel com e sem revestimento de quitosana e carregadas ou não com o extrato SE. As cápsulas apresentaram forma irregular (FIGURA 15), devido a remoção de água e solvente, mediante a ação do vácuo provocado pelo equipamento, todavia com efeito menos pronunciado nos géis contendo o extrato e a camada extra de quitosana. Ao contrário dos grânulos revestidos com a quitosana (FIGURA 15- A2) as cápsulas produzidas somente com o alginato (FIGURA 15- A1) apresentaram trincas superficiais que podem contribuir para o rompimento do envoltório e até mesmo resultar em uma maior perda do encapsulado. A superfície livre de fissuras da amostra A2 reforça a função do recobrimento com quitosana que neste caso atua

como selante. O mesmo efeito é observado para nas (FIGURAS 15- B1 e B2 e FIGURA 16) cujas superfícies livres de ranhuras propiciaram menos irregularidades devido a maior flexibilidade durante a secagem através da interação entre os componentes dos grãos potencializados pela ação plastificante do extrato.

Aparentemente não foi observada grande porosidade superficial nas partículas (FIGURA 16).

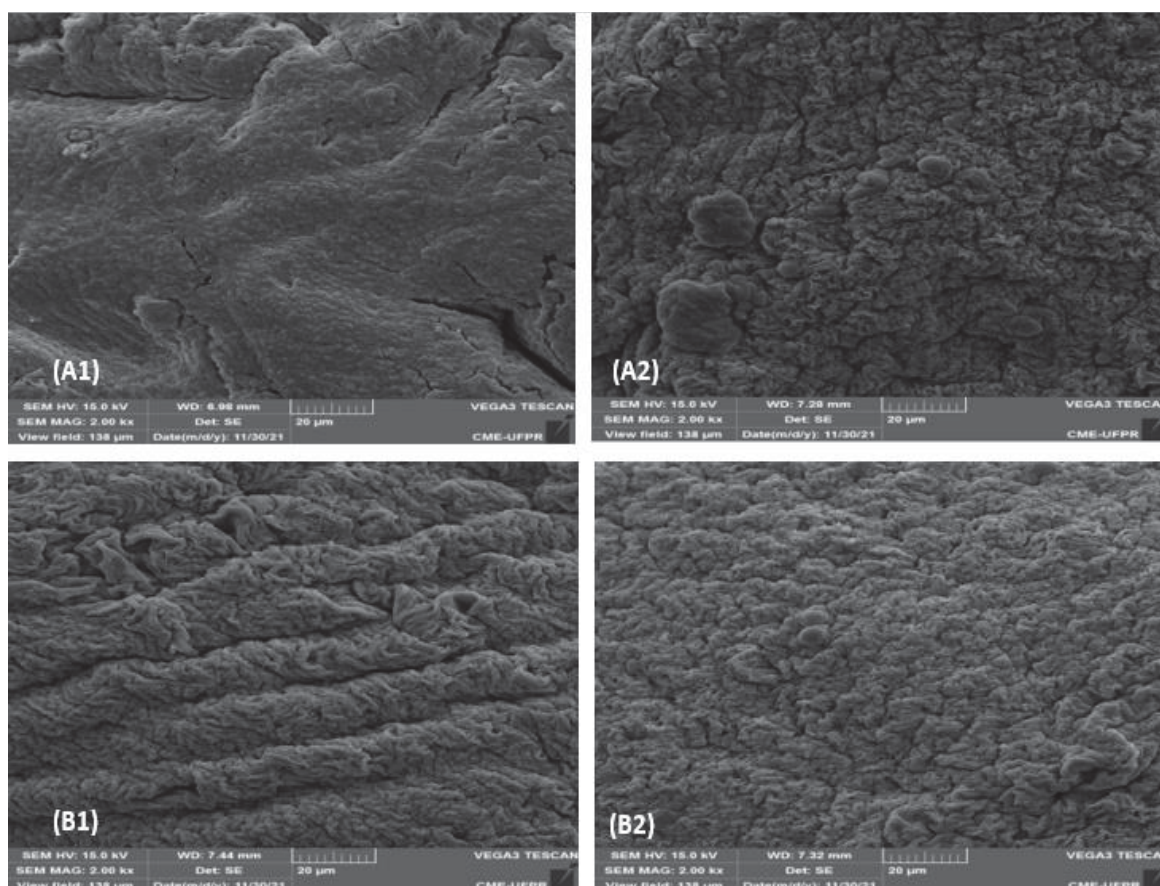
FIGURA 19 – IMAGENS DE MEV DAS PARTÍCULAS



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: (A1): Partículas de alginato sem extrato e revestimento; (A2) Partículas com alginato revestidas com quitosana e sem extrato; (B1): Cápsulas de alginato com extrato e sem revestimento e (B2): Cápsulas de alginato carregadas com o extrato e revestidas com a quitosana.

FIGURA 20 – IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DAS SUPERFÍCIES DAS CÁPSULAS



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: (A1): Partículas de alginato sem extrato e revestimento; (A2) Partículas com alginato revestidas com quitosana e sem extrato; (B1): Cápsulas de alginato com extrato e sem revestimento e (B2): Cápsulas de alginato carregadas com o extrato e revestidas com a quitosana.

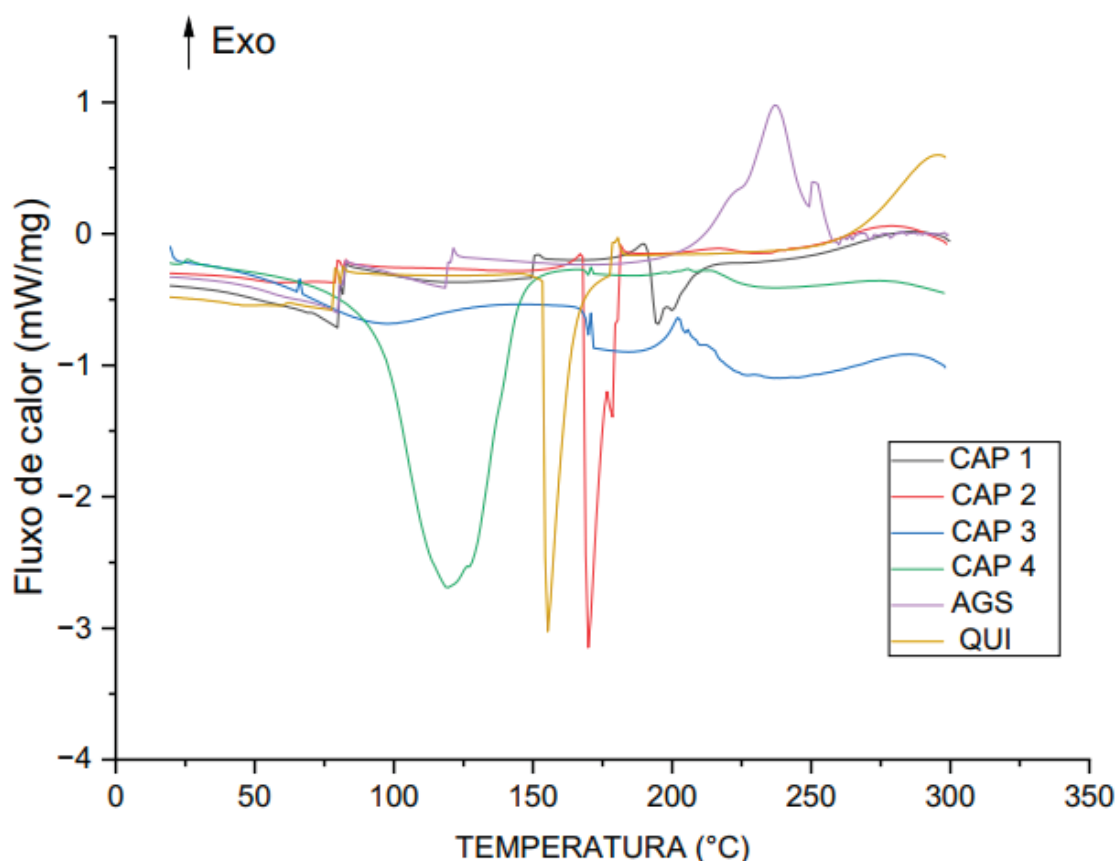
4.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O DSC foi usado para investigar o comportamento térmico na faixa de temperatura de 19°C até 300°C das partículas de alginato sem (CAP 1) e com extrato (CAP 3), cápsulas de alginato revestido com quitosana sem (CAP 2) e carregadas com o extrato (CAP 4), as amostras foram comparadas as análises do alginato e quitosana puros em pó, denominados como AGS e QUI, respectivamente.

A curva de aquecimento do alginato em pó (AGS) (FIGURA 21), apresentou um declínio no sentido endotérmico na faixa de temperatura entre 75 e 100 °C, que pode estar relacionado a perda de água conforme o relato de Alkhatib *et al.* (2022), fenômenos semelhantes ocorreram nos termogramas das cápsula de controle (CAP 1) e da quitosana em pó (QUI) cujas temperaturas de desidratação registradas se

encontram na mesma faixa, porém os fluxos de calor são diferentes. Segundo Faidi *et al.* (2019) a diferença na quantidade de energia necessária para remover a água do polímero em pó e das cápsulas CAP 1 ocorre devido a hidrofilicidade do alginato de sódio puro e da maior disponibilidade dos seus grupos funcionais para formarem ligações de hidrogênio com a água, ou seja, nesta condição o material possui maior hidratação.

FIGURA 21 – TERMOGRAMA DE AQUECIMENTO DO ALGINATO DE SÓDIO PURO



FONTE: A autora (2023).

Picos endotérmicos acentuados são verificados nas amostras CAP 4 em 125°C, CAP 2 (160°C) e para a quitosana pura (QUI) em 155°C. Estes eventos identificados nos materiais com revestimento (CAP2 e CAP4), podem estar associados com as interações envolvendo os grupos funcionais da quitosana presentes na superfície das partículas com a parede da estrutura. Neste sentido, vale ressaltar que esta camada externa impossibilita a remoção de água do sistema e aprisiona com mais intensidade estas moléculas na estrutura do gel, sendo necessário um gasto maior de energia para remove-las.

Os picos exotérmicos que aparecem nos termogramas do alginato puro (AGS), quitosana pura (QUI) e para as cápsulas com extrato e sem revestimento (CAP3) centrados em 200°C, 300°C e 250°C respectivamente, referem-se possivelmente ao processo de pirólise do alginato, devido as reações de despolimerização e destruição das ligações glicosídicas, o que está de acordo com a literatura (BRASSESCO *et al.*, 2019) e a degradação de CAP3 e QUI. Todavia, não foram observados picos exotérmicos nas amostras das cápsulas com extrato e revestimento (CAP4) e das cápsulas sem extrato e revestimento (CAP1) dentro da programação de temperatura estudada. O pico endotérmico observado para CAP1 em 200°C refere-se à desidratação do material.

As elevações de temperatura dos picos exotérmicos que aparecem nos termogramas apontam um aumento da resistência térmica das cápsulas com extrato sem quitosana para aquelas com revestimento. A partir disso, pode-se afirmar que os produtos gerados com revestimento de quitosana ou CAP 4 são capazes de suportar temperaturas elevadas acima de 300°C, durante o processamento industrial, por exemplo, sem sofrerem danos significativos, já que durante o ensaio com o material não foi observado a sua decomposição; em contraste do comportamento identificado de CAP3, que apresentou um pico exotérmico com menos intensidade na faixa de 200°C em relação ao pico do alginato puro AGS em 250°C, atestando a seu processo de desintegração.

O deslocamento crescente da temperatura de decomposição de um sistema para o outro confirma a presença de interações entre a matriz polimérica e o extrato encapsulado, que restringiu a relaxação da rede tridimensional (FARAHANI *et al.*, 2022), além disso, confirma a efetividade da camada extra concernente com a proteção adicional proporcionada pela quitosana, com requerimento maior de energia para o rompimento das ligações cruzadas.

4.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A partir dos resultados das análises de TGA foi possível observar as variações mássicas das amostras em relação a mudanças de temperatura entre 30°C a 750°C. As cápsulas sem extrato e sem revestimento (CAP1) e com revestimento (CAP2) demonstraram três decaimentos suaves de massa durante o experimento, sendo os valores da perda de peso nas primeiras etapas de 12,95% e

8,22%, respectivamente (FIGURA 22), na faixa de temperatura de 30 até 200°C. A segunda queda da massa dos dois sistemas aconteceu em até aproximadamente 330°C e corresponderam a diminuição de 39,28 % e 41,73% do quantitativo inicial e até a temperatura final de 750°C, restaram cerca de 46% e 40,6% dos dois materiais.

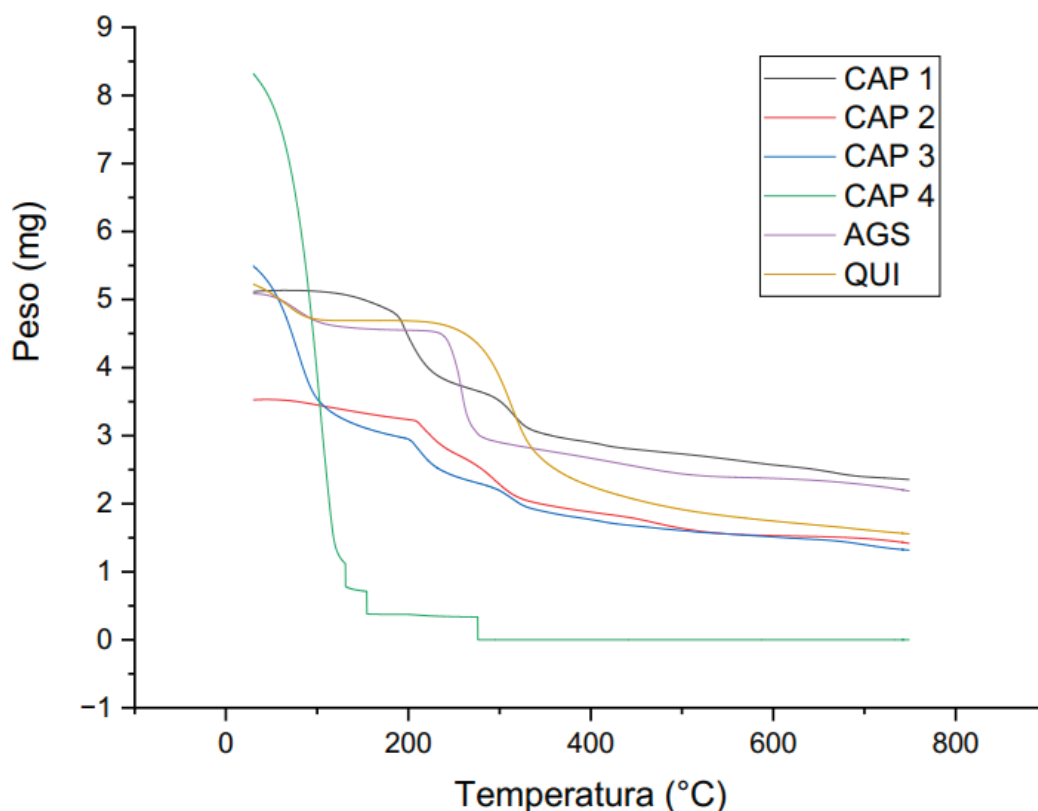
Segundo Li e colaboradores (2020) a primeira oscilação de massa corresponde a uma possível desidratação ou eliminação da água; todavia a segunda parte é referente a decomposição das ligações presentes na rede tridimensional e estrutura das microcápsulas e por fim, verifica-se a carbonização das amostras residuais por meio de uma pirolise lenta.

A curva de TGA das cápsulas de alginato com extrato e sem revestimento (CAP3) exibiram um declínio mássico em quatro estágios. As diminuições que se seguiram no decorrer do estudo apresentaram os valores de 35,6 %, 46,3%, 60% e 76 %, sucessivamente.

Por outro lado, aquelas revestidas ou CAP4 o decréscimo foi acentuado até os 200°C, correspondendo uma diminuição de 95,5% em relação ao valor registrado inicialmente e após permanece constante; a discrepância entre os comportamentos avaliados entre as duas amostras pode estar relacionada com a natureza das interações formadas entre o polímero de parede, o extrato e o revestimento utilizado.

As curvas obtidas para os dois excipientes utilizados, alginato e quitosana, apresentaram perdas de massa na faixa de temperatura de 200 °C a 400 °C, com reduções de 37% e 47% respectivamente. Na sequência e até o final do experimento, na temperatura de 750°C, quantitativamente os dois sistemas ainda obtinham em torno de 30-43% da sua massa inicial.

FIGURA 22 – TERMOGRAMAS DE TODAS AS AMOSTRAS ANALISADAS



FONTE: A autora (2023).

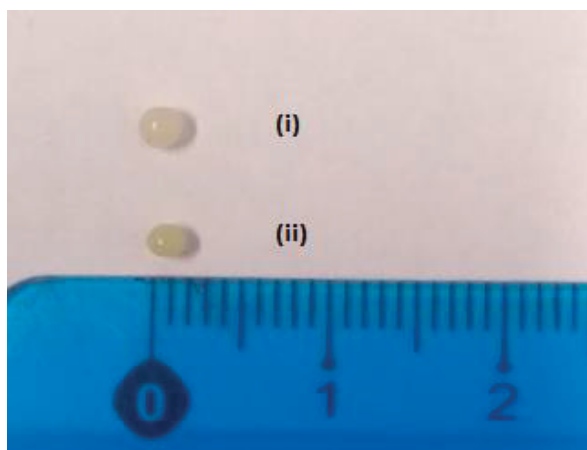
Diante disso, observa-se que o revestimento de quitosana não interferiu significativamente na perda de massa das microcápsulas (MCs) carregadas com o extrato, diferentemente do ocorrido nos ensaios de DSC, nos quais não foram detectados os eventos de decomposição na faixa de temperatura investigada.

As amostras sem extrato obtiveram maior resistência quando comparadas com aquelas com extrato, evidenciando a existência de ligações entre os compostos encapsulados e o alginato, com redução da reticulação deste material de parede com os íons cálcio presentes na solução complexante (KABALAN *et al.*, 2023), sobretudo a modificação da rede tridimensional através do processo de decomposição destas substâncias são fatores que podem ser apontados como causas para a instabilidade dos produtos.

4.4 DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS

O diâmetro das partículas de hidrogel sem revestimento apresentou valor significativamente menor do que o das partículas com a camada extra de quitosana (TABELA 7 e 8). A morfologia dos hidrogéis produzidos por gelificação iônica externa apresentaram-se em formatos esféricos, de coloração amarelada e com tamanhos regulares. Os diâmetros das partículas (FIGURA 17 e 18), variaram entre 2 mm a 3 mm, com valores médios de $2,25 \pm 0,21$ mm para cápsulas de alginato-extrato e $2,74 \pm 0,28$ mm para alginato-extrato-quitosana respectivamente (TABELAS 2 e 3), o que as classifica como micro-cápsulas ou MCs (TAVARES *et al.*, 2022). A camada extra proporcionada pelo banho com a quitosana contribuiu para o aumento médio de 22% no diâmetro das cápsulas e resultou em uma maior opacidade dos materiais obtidos. O tamanho da partícula desempenha um papel importante nas propriedades, principalmente de transferência de massa das cápsulas produzidas, já que quanto maior for a dimensão do diâmetro, menor será a relação área superficial e o volume da cápsula.

FIGURA 23 – IMAGENS DAS CÁPSULAS DE ALGINATO COM EXTRATO COM E SEM O REVESTIMENTO DA QUITOSANA



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: (i): Partículas de alginato carregadas e revestidas com a quitosana; (ii): Cápsulas sem o envoltório de quitosana.

TABELA 7 - MEDIDA DOS TAMANHOS DAS CÁPSULAS DE ALGINATO SEM QUITOSANA (AMOSTRA 1 –CAP3) E DAS CÁPSULAS COM QUITOSANA (AMOSTRA 2 – CAP4)

Identificação das cápsulas	Tamanho da amostra 1 - CAP3 (mm)	Tamanho da amostra 2- CAP4 (mm)
1	1,99	3,48
2	2,48	2,66
3	2,39	3,15
4	2,15	2,71
5	1,91	2,72
6	2,13	2,46
7	2,21	2,92
8	1,92	2,87
9	2,37	3,17
10	2,26	2,78
11	2,20	2,43
12	2,03	2,75
13	2,77	2,82
14	2,89	2,76
15	2,17	2,80
16	2,00	2,36
17	2,13	2,31
18	2,30	2,54
19	2,35	2,58
20	2,19	2,68
21	2,17	2,62
22	2,26	2,88
23	2,24	2,65

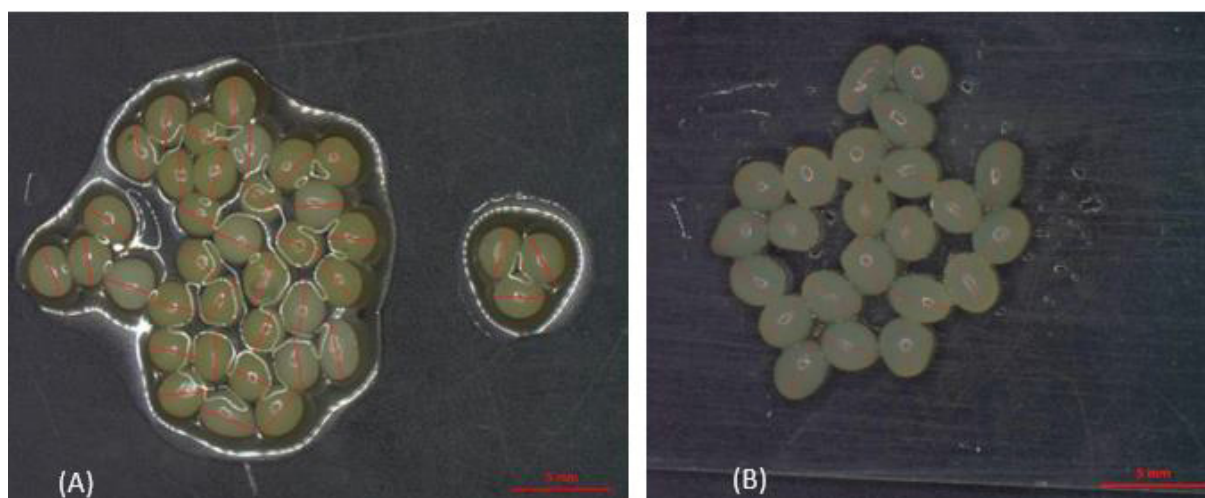
FONTE: A AUTORA (2023).

TABELA 8 - TAMANHO MÉDIO DAS CÁPSULAS ANALISADAS

Amostras	Médias (mm)	IC inferior (mm)	IC superior (mm)
CAP3	2,25 ± 0,21	2,14	2,34
CAP4	2,74 ± 0,28	2,63	2,86

FONTE: A AUTORA (2023). (*) A distribuição média de tamanho está representada pela média, desvio padrão e intervalos de confiança (IC) da média com 95% de confiança.

FIGURA 24 – IMAGENS AMPLIADAS DAS AMOSTRAS



FONTE: A autora (2023).

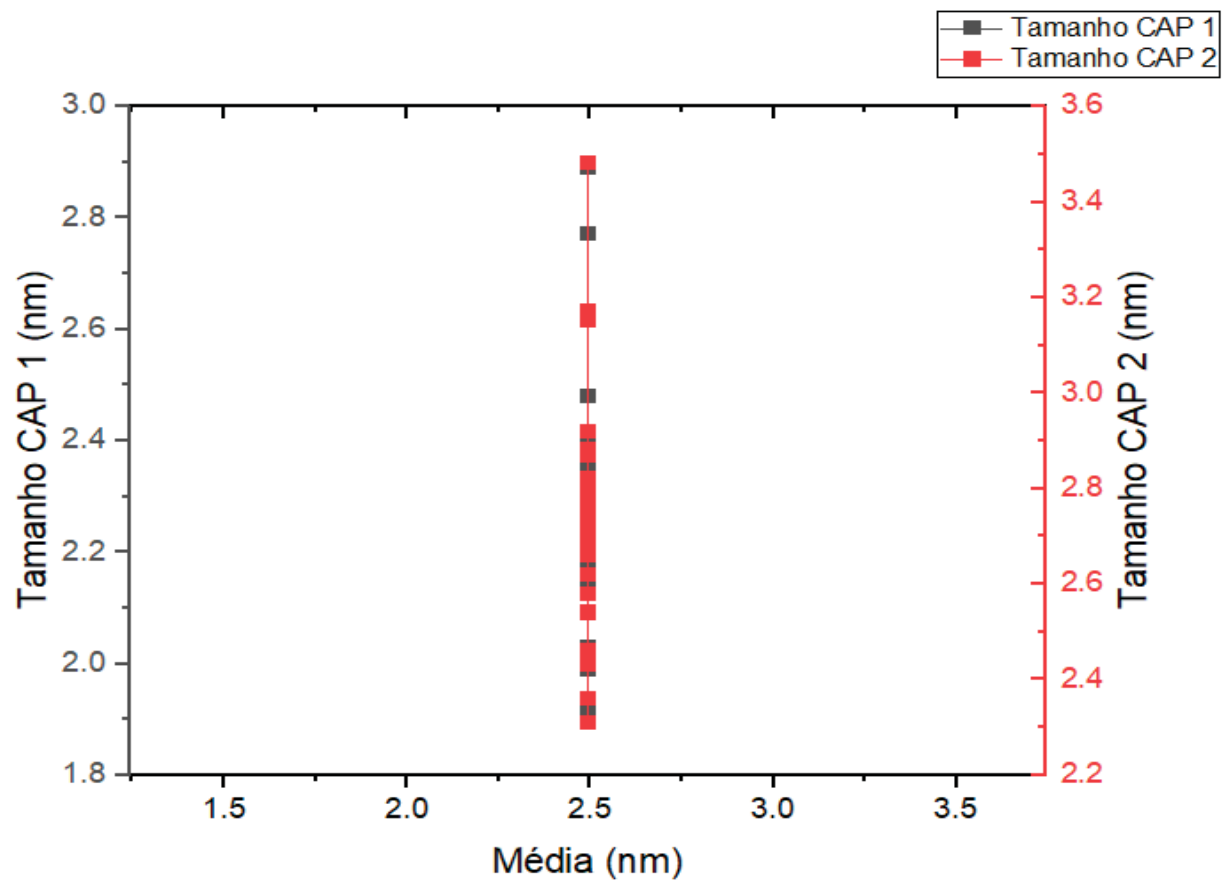
LEGENDA: (A): Partículas de alginato sem revestimento; (B) Partículas com alginato revestidas com quitosana.

Considerando a hipótese nula como sendo a igualdade entre as médias e a partir do valor de P obtido na aplicação do teste ANOVA (TABELA 9), que é maior em relação ao nível de significância de 5% gerado pelo é possível rejeitar a hipótese nula e concluir que as médias são significativamente diferentes.

TABELA 9 – RESULTADOS DO TESTE ANOVA

	GL	SQ	QM	Valor F	Valor P
Modelo	1	2,920	2,920	45,498	<0,0001
Erro	44	2,824	0,064		
Total	45	5,744			

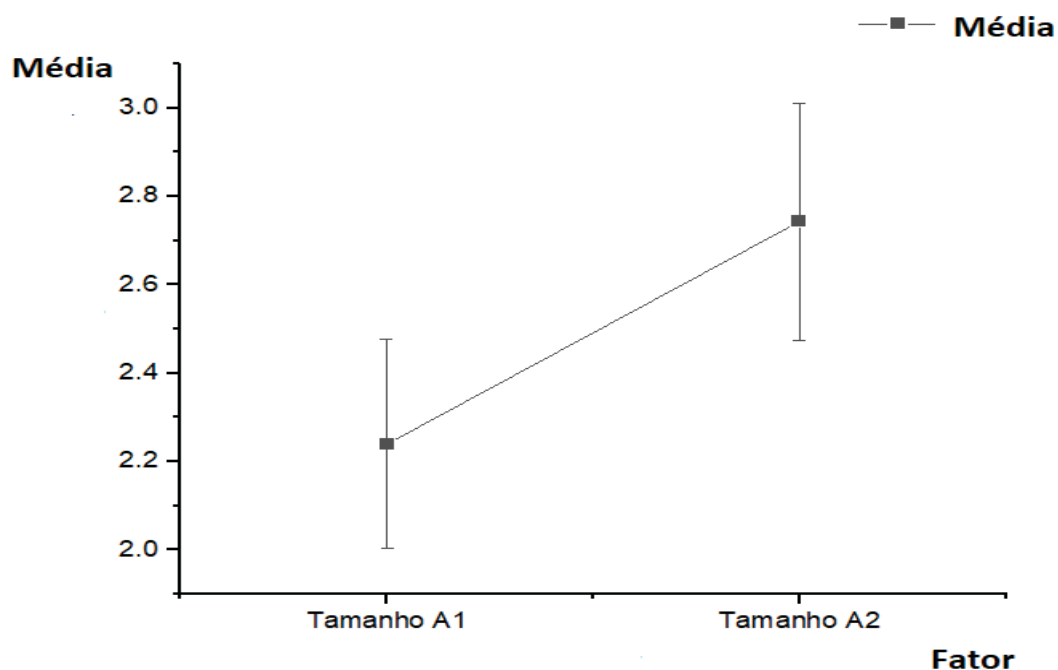
FONTE: A AUTORA (2023).



FONTE: A autora (2023).

As médias dos tamanhos das cápsulas avaliadas (Amostras 1 e 2) apresentadas pela FIGURA 19 demonstram distinções em uma grande faixa de medição, o que reforça os resultados obtidos anteriormente; no entanto, convergem dentro de um limiar de erro

FIGURA 25 – GRÁFICO COM O ERRO DAS MÉDIAS



FONTE: A autora (2023).

O desvio padrão relativo (%DPR) obtido para as cápsulas de alginato carregadas com extrato com e sem o revestimento de quitosana foram de 0,093 e 0,102 %, respectivamente. Segundo critérios do Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira 2ª edição (BRASIL, 2012) para determinação de peso em cápsulas na farmácia magistral as amostras avaliadas podem ser consideradas uniformes já que os resultados obtidos de %DPR são menores que 4%.

A cápsulas apresentaram baixa esfericidade, com valores de FE de 0,204 e 0,202 para as cápsulas de alginato incorporadas com extrato com e sem revestimento, respectivamente. No entanto, observa-se uma melhora no parâmetro da esfericidade nas amostras revestidas com a quitosana, o que confere a esta etapa adicional contribuições significativas no formato das cápsulas. De acordo com Lee et al. (2013) este critério varia entre 0 e 1 e determina formas esféricas para valores do Fator de esfericidade menores que 0,05.

5 - CONCLUSÕES

A avaliação dos compostos voláteis isolados nas 3 amostras, revelou existirem aproximadamente 45 compostos no extrato da pupunha (EFP); no extrato de propólis (EPV) e na mistura dos dois extratos (SE). Cerca de 8 substâncias das 45 encontradas em SE apareceram também nos dois extratos de origem (EFP e EPV). Dentre as quais destaca-se o 2,5-dimetil-gama-oxo-ácido benzenobutanóico, seguido do 9-Metil-S octahidrofenantreno; ácido hidrocinâmico; ácido n-hexadecanoico e do 2,5-bis(3-metil-2-buten-1-il) - 2,5-ciclohexadieno-1,4-diona.

Hidrogéis de alginato de sódio foram preparados com sucesso e as diferentes formulações propostas para o encapsulamento neste estudo, a que apresentou a maior eficiência de encapsulação foi a formulação F3 com 96,70% e uma proporção de extrato/alginato 1/3 (v/v). Porque quanto maior o teor de alginato utilizado no preparo das partículas, em virtude do maior número de iterações, maior quantidade de substância é retida pelo sistema. Supondo-se que pode estar relacionado com a quantidade de grupos carboxílicos livres no alginato para interagir com os íons de cálcio presentes na solução cloreto; de modo, a viabilizar a formação de uma rede tridimensional mais densa garantindo um maior aprisionamento do extrato. Além disso, esta formulação apresentou melhor performance durante o gotejamento e com formação de uma mistura homogênea.

A caracterização das cápsulas mediante análise de imagem MEV, calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA), mostrou que a adição de quitosana conferiu uma superfície mais regular, livre de ranhuras e fissuras que geralmente apresentam o efeito indesejado de perda de material encapsulado, um resultado positivo ocasionado pelo incremento da camada extra de quitosana na produção dos grãos. As análises de DSC e TGA revelaram estabilidade térmica das MCs até 200°C e em relação a perda de massa o revestimento de quitosana não incorporou nas amostras uma diferença significativa em relação as cápsulas sem recobrimento.

A distribuição de partículas mostrou que as partículas revestidas com quitosana gerou cápsulas com camada adicional e conseqüentemente maiores e com maior opacidade. As medidas realizadas classificam em microcápsulas (MCs) com um incremento médio de 22% no diâmetro e como conseqüência um aumento

médio de 21% no volume para as cápsulas revestidas adicionalmente de quitosana. Além disso, os valores de desvio padrão relativo das contas CAP3 e CAP4 de 0,093 e 0,102 na devida ordem, retratam a uniformidade das amostras, uma característica imprescindível para a qualidade em processos produtivos industriais.

A partir do exposto ao longo do estudo, é possível verificar que a encapsulação dos extratos da pupunha e do própolis é uma alternativa viável para a proteção dos ativos e pigmentos presentes nos extratos, garantir a biodisponibilidade e potencializar a aplicação destes como aditivos para usos em produtos farmacêuticos, indústrias cosméticas, indústria de alimentos, bebidas, como águas fortificadas, chá, sucos, bebidas energéticas, além de bebidas antioxidantes com propriedades antienvhecimento ou relaxantes, suplementos funcionais para outros produtos tais como massas para bolos e biscoitos.

A simplicidade de operação da técnica de gelificação iônica empregada, torna este método atrativo para a elaboração de microcapsulas. O alginato de sódio é um agente encapsulante promissor, principalmente para a produção de materiais comestíveis, devido às suas propriedades de biocompatibilidade e atoxicidade. Além disso, a formação de complexos polieletrólitos com a quitosana, possibilita melhorar as propriedades físicas e a estabilidade das microcápsulas produzidas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Efetuar a cinética de hidratação para estimar o nível de retenção de água e o comportamento das partículas em meio aquoso, parâmetros como o inchaço.

Estudar também a cinética de liberação ou absorção do extrato em condições simuladas do sistema gastrointestinal humano, analisar com isso os desempenhos e resistências das estruturas durante o processo; em vista disso, examinar a eficiência da absorção dos nutrientes encapsulados no intestino, compreender o papel do revestimento da quitosana no decorrer da simulação.

Estes estudos auxiliaram na tomada de medidas futuras para aperfeiçoar os produtos desenvolvidos e a técnica de encapsulação utilizada.

REFERÊNCIAS

ABASALIZADEH, *et al.* Alginate-based hydrogels as drug delivery vehicles in cancer treatment and their applications in wound dressing and 3D bioprinting. **Jounal of Biologic Engineering**, 2020.

ABDELKADER, *et al.* Review on micro-encapsulation with Chitosan for pharmaceuticals applications. **MOJ Current Research & Reviews**, v.2, p. 77-84, 2018.

ADITYA; ESPINOSA; NORTON, Encapsulation systems for the delivery of hydrophilic nutraceuticals: Food application. **Biotechnology Advances**, v.35, p. 450-457, 2017.

ADINEPOUR, F. *et al.* Fortification/ enrichment of milk and dairy products by encapsulated bioactive ingredientes. **Food Research International**, v. 157, 2022.

ADMOUR, I.; ISLAM, N. Recent Advances on Chitosan as an Adjuvant for Vaccine Delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, p1-68, 2021.

AGUILAR-GALVEZ, A. *et al.* Metabolites, volatile compounds and *in vitro* functional properties during growth and comercial harvest of Peruvian lucuma (*Pouteria lucuma*). **Food Bioscience**, v. 40, 2021.

AKBARIBAZM, M.: KHAZAEI, M. R.; KHAZAEI, M. Phytochemicals and antioxidant activity of alcoholic/hydroalcoholic extract of *Trifolium pratense*. **Chinese Herbal Medicines**, v.12, p.326-335, 2020.

ALFAHDAWI, I. **Propolis in medicine & dentistry**. Lambert Academic Publishing, 2017.

ALKHATIB, H. *et al.* Optimizing the encapsulation of black seed oil into alginate beads by ionic gelation. **Journal of Food Engineering**, v. 328, p.1-13, 2022.

ANJUM, S. I. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.26, n. 2019, p.1695-1703, 2019.

ANBINDER, P. S. *et al.* Yerba Mate Extract Encapsulation with Alginate and Chitosan Systems: Interactions between Active Compound Encapsulation Polymers, **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, v.1, p. 80-87, 2011.

ARAUJO, N. M. P. *et al.* Functional and nutritional properties of selected Amazon fruits: A review, **Food Research International**. v. 147, p. 1-19, 2021.

ARRUDA, C. *et al.* Effect of light, oxygen and temperature on the stability of Artepillin C and *p*-Cumaric acid from Brazilian green propolis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 178, 2020.

APSARINA, Y. et al. The impact of blending speed and duration on the characteristics of powdered milk product X in PT.XYZ. *In: International Conference and Exhibition on Powder Technology*, 2nd, 2020. Surakarta, Indonesia. 2020. p.1-7.

AZAD, A.K. et al. Encapsulation of Black Seed Oil in Alginate Beads as a pH-Sensitive Carrier for Intestine-Targeted Drug Delivery: In Vitro, In Vivo and Ex Vivo Study. **Pharmaceutics**, v. 12, 2020.

AZIZ, M. A.; DIAB, A. S.; MOHAMMED, A.A. **Antioxidant Categories and Mode of Action**. 2019.

BALDINI, T. F. **Avaliação do potencial antioxidante do Araçá-boi (*Eugenia Stipitata*) liofilizado e do néctar de maçã suplementado com o mesmo**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Campinas, Campinas, São Paulo, 2016.

BAMIDELE; EMMAMBUX. Encapsulation of bioactive compounds by “extrusion” technologies: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2020.

BASTO, G. J. et al. Physicochemical properties and carotenoid content of extruded and non-extruded corn and peach palm (*Bactris gasipaes*, Kunth). **LWT - Food Science and Technology**. v. 69, p. 312-318, 2016.

BAKSHI, R. A. et al. Bioactive constituents of saffron plant: Extration, encapsulation and their food and pharmaceutical applications. **Applied Food research**. v.2, 2022.

BELSCAK-CVITANOVIC, et al. Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. **Food Research International**, v.44, p. 1094 -1101, 2011.

BENNACEF, C. et al. Advances on alginate use for spherification to encapsulate biomolecules. **Food Hydrocolloids**, v. 118, p.1-14, 2021.

BIDARRA, J. S.; BARRIAS, C.C.; GRANJA, P.L. Injectable alginate hydrogels for cell delivery in tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v., p. 1646-1662, 2014.

BOOSTANI, S.; JAFARI, S. M. Encapsulation methods for phase change materials – A critical review. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v.200, p. 303-320, 2021.

BORGES, C.V. **Avaliações biométricas de caracteres agronômicos em progênies de Pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth)**. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

BORDIM et al. Potential use of naturally colored antioxidants in the food industry-A study of consumers' perception and acceptance, **Journal Sensory Studies**, Ed. 4, v. 36, 2021.

BRASSESCO, M. E. *et al.* Development of alginate microparticles as efficient adsorption matrix for protein recovery. **Process Biochemistry**, v.80, p. 157-163, 2019.

BRANDELI, M. E. *et al.* Development of alginate microparticles as efficient adsorption matrix for protein recovery. **Process Biochemistry**, v.80, p. 157-163, 2019.

BRITTON, G. Carotenoid research: History and new perspectives for chemistry in biological systems. **BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids**, 2020. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1388198120300913> >. Acesso em: 19 de março 2020.

CAO, S. *et al.* Chitosan nanoparticles, as biological macromolecule-based drug delivery systems to improve the healing potential of artificial neural guidance channels: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 201, p.569-579, 2022.

CAMACHO, D. H. *et al.* Encapsulation of folic acid in copper-alginate hydrogels and it's slow in vitro release in physiological pH condition. **Food Research International**, v. 119, p. 15-22, 2019.

CARVALHO, A. P. M. G. **Avaliação de plasma a frio atmosférico na modificação do amido de Ariá (*Goeppertia allouia Aubl.*) Borchs.& S. Suárez): Efeito da alta tensão**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Materiais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.

CARVALHO, A.S. **Valorização da proteína do soro da indústria de queijo pela produção de micropartículas de hidrogéis**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2020.

CARVALHO, E.A. Peach-palm (*Bactris gasipaes* Kunth) waste as substrate for xylanase production by *Trichoderma stromaticum* AM7. **Chemical Engineering Communications**. v. 205, n. 7, p 975-985, 2018.

CARVALHO A.G.D.S. *et al.* Anthocyanins from jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract carried by calcium alginate beads pre-prepared using ionic gelation. **Powder Technology**, v. 345, p.283-291, 2019.

CARVALHO, A. G. S., **Estudo da inclusão de antocianinas de extrato da polpa de juçara (*Euterpe edulis* Martius) em partículas produzidas por Spray drying e Gelificação iônica**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) -Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

CASSOL, L. **Extração de compostos bioativos do hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) por micro-ondas e seu encapsulamento por atomização e liofilização**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

CAVALARO, R.I. *et al.* In vitro and in vivo antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasound-assisted extraction. **Food Chemistry**, p.1-8, 2019.

CEDON, F. V. *et al.* Effect of matrix composition, sphere size and hormone concentration on diffusion coefficient of insulin for controlled gastrointestinal delivery for diabetes treatment. **Journal of Microencapsulation**, v. 35, 2018.

CEDON, F. V. *et al.* Correction to: Comparative Thermostability of whey protein and alginate hydrospheres complexed with divalent cations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2022.

CHOJNACKA, K. *et al.* Phytochemicals containing biologically active polyphenols as an effective agent against COVID-19- Inducing Coronavirus. **Journal of functional foods**, v. 73, p.1-8, 2020.

COOK, M.T. *et al.* Production and Evaluation of Dry Alginate-Chitosan Microcapsules as an Enteric Delivery Vehicle for Probiotic Bacteria. **Biomacromolecules**, v.12, p. 2834 – 2840, 2011.

CÖMERT *et al.* Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. **Current Research in Food Science**, Turkey, p. 1-10, 2020.

COSME, P. *et al.* Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. **Antioxidants**, v. 12, 2020.

COSTA, B, P. **Potencial tecnológico do amido da semente de nêspera (*Eryobotria japonica*): Características e efeitos de diferentes métodos de extração**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2019.

COSTA, R. D. S.; RODRIGUES, A. M. C.; DA SILVA, L. H. M. The fruit of peach palm (*Bactris gasipaes*) and its technological potential: an overview. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

DA COSTA, R. D.S. **Obtenção de um produto alimentício à base de Pupunha e Tucupi por refractance window**. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2015.

DALLABONA, I. D. *et al.* Development of alginate beads with encapsulated jabuticaba peel and propolis extracts to achieve a new natural colorant antioxidant additive. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.163, n.2020, p.1421-1432, 2020.

DA ROCHA, C. B. **Extração de compostos bioativos do resíduo do processamento do suco de uva por micro-ondas e seu posterior encapsulamento**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2018.

DA SILVA, C.C. **“Análise molecular e validação de raças primitivas de pupunha (*Bactris Gasipaes*) por meio de marcadores RAPD”**. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução) - Universidade de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2004.

DA SILVA, M. V. et al. A review of the potential therapeutic and cosmetic use of propolis in topical formulations. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 10, n.1, p.131-141, 2020.

DE LIMA, D.G.; DA SILVA, R.F.; FURTADO, M. T. Composição química e aspectos microbiológicos de pães enriquecidos com polpa integral de pupunha desidratada. **Revista GEINTEC: Gestão inovação e Tecnologias**, v. 10, n.1, p. 5352-5366, 2020.

DE SOUSA, C. R. V. **Extração assistida por ultrassom e encapsulamento de corante da casca de beterraba com potencial para aplicação em iogurte**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2019.

DE SOUZA, F.G. et al. Brazilian fruits of Arecaceae family: An overview of some representatives with promising food, therapeutic and industrial applications. **Food Research International**. v. 138, 2020.

DHAMECHA, D. et al. Applications of alginate microspheres in therapeutics delivery and cell culture: Past, present and future. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, 2019.

DHAKAL, S.P.; HE, J. Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. **Food Research International**, v.37, 2020.

DIAS, et al., Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 31-37, 2017.

DO, N.H. N.; Quyen T. Truong, Phung K. Le, Anh C. Há. Recent developments in chitosan hydrogels carrying natural bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, p. 1-49, 2022.

DODERO, A. et al., Alginate-based hydrogels prepared via ionic gelation: An experimental design approach to predict the crosslinking degree. **European Polymer Journal**, v. 118, p. 586-594, 2019.

DOS SANTOS, M. D. F.G. **Qualidade e potencial funcional da porção comestível e do óleo de frutos de palmeiras nativas oriundas do Amapá**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, 2012.

DOS SANTOS, O. V. et al. Chromatographic profile and bioactive compounds found in the composition of pupunha oil (*Bactris gasipaes* Kunth): implications for human health. **Revista de Nutrição**, 2020.

DOS SANTOS, R. C. **Bioprospecção de ácidos graxos,-Tocoferol e atividade anti-acetilcolinesterásica em óleos e gorduras de frutos amazônicos**. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) - Rede Bionorte, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, 2016.

DOS SANTOS, O. V. *et al.* White peach palm (*pupunha*) a new *Bactris gasipaes* Kunt variety from the Amazon: Nutritional composition, bioactive lipid profile, thermogravimetric and morphological characteristics. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.112, p. 1-9, 2022.

ELNAKADY, Y. A. *et al.* Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia, **Scientific Report**. v. 7, n. 7, 2017.

ETCHEPARE, M.D.A. **Desenvolvimento, caracterização e estudo da viabilidade de micropartículas contendo *Lactobacillus acidophilus* La-14 obtida por gelificação iônica externa associadas às interações eletrostáticas**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2017.

FAIDI, A. *et al.* Application of sodium alginate extracted from a Tunisian brown algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 386-394, 2019.

FARAGI, M. R. *et al.* Propolis: Properties and composition, health benefits and applications in fish nutrition. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 115, n. 2021, p. 179-188, 2021.

FARAHANI, Z. K. *et al.* Modification of sodium alginate by octenyl succinic anhydride to fabricate beads for encapsulating jujube extract. **Current Research in Food Science**, v. 5, p.157-166, 2022.

FAROOQ, S. *et al.* A comprehensive review on polarity, partitioning, and interactions of phenolics antioxidants at oil-water interphase of foodemulsions, **Comprehensive reviews in food Science and food safety**, p. 1-28, 2021.

FERNANDO, I. P. S. *et al.* Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, v.391, p. 1-13, 2020.

FLAMMINII, F. *et al.* Alginate-based microparticles structured with different biopolymers and enriched with a phenolic-rich olive leaves extract: A physico-chemical characterization. **Current Research in Food Science**, v.4, p. 698 -706, 2021.

FRANGMEIER, M. *et al.* Encapsulation of Bioactive Ingredients by Extrusion with Vibrating Technology: Advantages and Challenges. **Food and Bioprocess Technology**, v.12, p.1472-1486, 2019.

FIGUEIREDO, J. A. **Estabilidade dos compostos bioativos do extrato do Camu-Camu em pó**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2019

FONSECA, K. S. *et al.* Physicochemical, physiological and anatomical properties of three segments of peach palm for industrial use and minimal processing. **Springer**, v.13, p. 2871-2886, Jul 2019.

FORMULÁRIO NACIONAL DA FARMACOPEIA BRASILEIRA. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2ª edição, 2012.

FERREIRA, L. P.C. **Microencapsulamento de extrato de beterraba pelo processo de gelificação iônica**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2018.

FELISBERTO, M. H. F. *et al.* Characterization and technological properties of peach palm (*Bactris gasipaes* var. *gasipaes*) fruit starch. **Food Research International**. N 136, 25 July 2020.

GAO, Y.; WU, Y. Recent advances of chitosan-based nanoparticles for biomedical and biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.203, p. 379-388, 2022.

GARAVAND, F. *et al.* Encapsulation of phenolic compounds within nano/microemulsion systems: a review. **Food Chemistry**, v. 364, 2021.

GULCIN, I. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology**, v.94, p. 651- 715, 2020.

GUO, X. *et al.* Structures, properties and application of alginic acid: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p.618-628, 2020.

HAIDA, Z.; HAKIMAN, M. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidante activities. **Food and Science & nutrition**, v. 7, p. 1555-1563, 2019.

HAMED, H. *et al.* Chitosan based bioadhesives for biomedical applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.282, p.1-12, 2022.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J.M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.48, p. 40-50, 2016.

HAMID, H. *et al.* Chitosan based bioadhesives for biomedical applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.282, p. 1-12, 2022.

HULLER, D. **Caracterização e avaliação do potencial citotóxico, antimicrobiano e anti-inflamatório de nanopartículas de ouro**. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, 2018.

HUQ et. al. Sources, production and commercial applications of fungal chitosan: A review. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, v.7, p. 85-98, 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: 4.ed, 2008.

IFIE, I.; MARSHAL, L.J. Food processing and its impact on phenolic constituents in food. **Cogent Food & Agriculture**, p. 1-11, 2018.

IRIGOITI, Y. The use of própolis as a functional food ingredient: A review. **Trends in food Science & tecnologia**, v.115, p. 297- 306, 2021.

JEYAKUMARI A. et al. Microencapsulation of Bioactive Food Ingredients and Controlled Release - A Review. **MOJ Food Processing & Technology**, v. 2, n. 6, 2016.

JADACH, B.; SWIETLIK, W.; FROELICH, A. Sodium Alginate as a Pharmaceutical Excipient: Novel Applications of a Well-know Polymer. **Journal of Pharmaceutical Science**, p.1-12, 2022.

KABALAN, Y. Design and assembly of biodegradable capsules based on alginate hydrogel composite for the encapsulation of blue dye. **International Journal of Biological Macromolecules**, p.1-13, 2023.

KARIM, A. et al. Alginate-based nanocarriers for the delivery and controlled-release of bioactive compounds. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.307, p. 1-14, 2022.

KARMAKAR, S. et al. Recent progress in alginate-based carriers for ocular targeting of therapeutics. **Food Hydrocolloids for Health**, v.2, p. 1-14, 2020.

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

KANTAK, M. N.; BHARATE, S. S. Analysis of clinical trials on biomaterial and therapeutic applications of chitosan: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 278, p.1-13, 2022.

KEDDAR, M. N. et al. Efficient extraction of hydrophilic and lipophilic antioxidants from microalgae with supramolecular solvents, **Separation and Purification Technology**, v. 251, 2020.

KHORSHIDIAN, N. et al. Chitosan-Coated Alginate Microcapsules Loaded with Herbal galactagogue Extract: Formulation Optimization na Characterization, **Iran jornal of Pharmaceutical Research**, v. 18, n.3, p.1180-1195, 2019.

KESKIN, M. *et al.* Preparation of alcohol free propolis-alginate microcapsules, characterization and release property. **LWT - Food Science and Technology**, v.108, p. 89-96, 2019.

KOOP, B. L. *et al.* Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption, **Food Research International**, v. 153, 2022.

KORZENIOWSKA, K.; LESKA, B.; WIECZOREK, P.P. Isolation and determination of phenolic compounds from freshwater *Cladophora glomerata*. **Algal Research**, v.48, 2020.

KOU, G.S.; PETERS, L.; MUCALO, M. Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms. **Carbohydrate Polymers**, v.282, p.1-15, 2022.

KUROZAWA, L.E.; HUBINGER, M.D. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Science Direct**, v.15, p.50-55, 2017.

LADISLAU, H. F. L. **Desenvolvimnto de “iorgute” de soja sabor abacaxi adicionado de *Lactobacillus rhamnosus* com e sem inulina encapsulados em matriz alginato/quitosana**. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2017.

LAMMI, C.; ARNOLD, A. Food-derived antioxidants and COVID-19, **Journal of Food and Biochemistry**, v. 45, n.1, 2020.

LAWRIE *et al.* Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v.8, p.2533-2541, 2007.

LEE, B.; RAVINDRA, P.; CHAN, E. Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Extrusion Dripping. **Chemical Engineering Technology**, v. 36, n. 10, p.1627-1642, 2013.

LEONG, J. *et al.* Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particuology**, v. 24, p.44-60, 2016.

LITING, J.V. *et al.* Carotenoid metabolism at the intestinal barrier. **BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids**, 2019.

LIU, K. *et al.* Co-encapsulation systems for delivery of bioactive ingredients. **Food Research International**, v.115, 2022.

LI, C. *et al.* Modeling and optimization of tea polyphenol-alginate/chitosan magnetic microcapsules. **Journal of Molecular Structure**, p. 1-9, 2020.

LOPES, S. *et al.* Oleic acid: The Main Component of Olive Oil on Postprandial Metabolic Processes. *In: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. 1 ed., 2010. p. 1385-1393.

MACHADO, C. S. *et al.* Comparative Study of Chemical Composition and Biological Activity of Yellow, Green, Brown, and Red Brazilian Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2016, 2016.

MADAJI, C. M.; PENA, R. S.; CHISTÉ, R. C. Encapsulation of bioactive compounds extracted from plants of genus *Hibiscus*: A review of selected techniques and applications. **Food Research International**, v. 151, p.1-16, 2022.

MALEKI, G. WOLTERING, E.J. MOZAFARI, M.R. Applications of chitosan-based carrier as an encapsulating agent in food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 120, p. 88-99, 2022.

MAMUSA, M. *et al.* Encapsulation of volatile compounds in liquid media: Fragrances, flavors, and essential oils in commercial formulation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 298, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102544>.

MAR, J.M. *et al.*, Encapsulation of Amazonian Blueberry juices: Evaluation of bioactive compounds and stability. **LWT- Food Science and Technology**, v.124, p. 1-8, 2020.

MARCILLO-PARRA, V. *et al.* Encapsulation of bioactive compounds from fruit and vegetable by-products for food application - Review, **Trends in Food Science & Technology**, v.116, p. 11- 23, 2021.

MARTINS, M.L. *et al.* **Propolis Benefits in Oral Health**. In: CHAUHAN, D. N. *et al.* Natural Oral Care in Dental Therapy. Hoboken, New Jersey: Wiley- Scrivener Publish, p. 211- 225, 2020.

MATOS, K. A. N. *et al.* Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactris gasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. **Food Chemistry**, v. 272, p. 216-281, 2019.

MAZEPA, L. **Análise do perfil físico-químico, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie vegetal Annona x atemoya Mabb**. Dissertação (Mestrado em Segurança alimentar e nutricional) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2014.

MILCOVICH, G. *et al.* Recent advances in smart biotechnology: Hydrogels and nanocarriers for tailored bioactive molecules depot. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 249, p.163-180, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, AGROPECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Palmeira Pupunha se destaca como matéria-prima do palmito e na preservação de árvores nativas**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/palmeira-pupunha-se-destaca-como-materia-prima-do-palmito-e-na-preservacao-de-arvores-nativas>, Acesso em: jan. 2023.

MIKAMI, N. *et al.* Brazilian green propolis promotes TNFR2 expression on regulatory T cells, **Food Science & nutrition**, p. 3200-32008, 2021.

MING, L. *et al.* Alginate oligosaccharides preparation, biological activities and their application in livestock and poultry. **Journal of Integrative Agriculture**, v.20, n.1, p.24-34, 2021.

MELO, C. C. **Nanopartículas de quitosana como veículo para entrega de oligodeoxiribonucleotídeos antisense**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo 2018.

MEREGALLI, M. M. *et al.* Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araça' peel (*Psidium cattleianum* Sabine). **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, p. 5800-5809, 2020.

MESQUITA, L. M. D. *et al.* Ionic Liquid-Mediated Recovery of Carotenoids from the Bactris gasipaes Fruit Waste and Their Application in Food-Packaging Chitosan Films. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, p. 4085-4095, 2020.

MOHAMMADALINEJHAD, S. *et al.* Alginate microbeads incorporated with anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) using electrostatic extrusion: Microencapsulation optimization, characterization, and stability studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 246, p. 1-14, 2023.

MUDALIP, S. K. A. *et al.* A short review on encapsulation of bioactive compounds using diferente drying techniques. **Materials Today: Proceedings**, v .42, p.288-296, 2021.

MUXIKA, A. *et al.* Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.105, p.1358-1368, 2017.

NATARAJ, D.; REDDY, N. Chemical mofications of alginate and its derivatives. **International Journal of Chemistry Research**, v.4, n.1, 2020.

NERI-NUMA, I. A. *et al.* Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345-360, 2018.

NETO, B.D.B; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Editora da UNICAMP, Campinas, São Paulo, 2001

NIMSE, S.B.; PAL, D. Free radicals antioxidants, and their reaction mechanisms. **Royal Society of Chemistry**, v.5, 2015.

OLADZADABBASABADJ, N. *et al.* Recent advances in extraction, modification, and application of chitosan in packaging industry. **Carbohydrate Polymers**, v.277, p. 1-19, 2022.

OLIVEIRA, V. S *et al.* Use of Natural Antioxidants in the Inhibition of Cholesterol Oxidation: A Review. **Comprehensive Reviews in food Science and Food Safety**, v. 17, p. 1465-1483, 2018.

OMS. **Histórico da pandemia de COVID-19.** Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>. Acesso em: 10 mar. 2021.

OTÁLORA, M.C. *et al.* Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, v. 206, p.373-382, 2016.

ORDÓÑEZ-SANTOS, L.E.; PINZÓN-ZARATE, L. X.; GONZÁLEZ-SALCEDO, L. O. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total carotenoids from peach palm fruit (*Bactris gasipaes*) by-products with sunflower oil using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 560-566, 2015.

PATINÑO-RUIZ *et al.* Ionotropic Gelation Synthesis of Chitosan-Alginate Nanodisks for Delivery System and In Vitro Assessment of Prostate Cancer Cytotoxicity. **International Journal of Polymer Science**, 2020.

PARKY, Y.K. *et al.* Suppressive effects of ethanolic extracts from propolis and its main botanical origin on dioxin toxicity. **J Agric Food Chem**, v. 3, n. 26, 2005.

POLETO, G. **Desenvolvimento de micropartículas simbióticas pela técnica de gelificação iônica externa usando diferentes fontes prebióticas.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2018.

PINHEIRO; D'ALMEIDA. Peach palm: Pseudo-wood for sustainable jewelry design. **Materials Today: Proceedings**, 2020.

PIRES, M.B. *et al.* Peach palm flour (*Bactris gasipae* KUNTH): potential application in the food industry. **Food Science and Technology**, Campinas, v.39, n.3, p. 613-619, July-Sept. 2019.

RAMDHAN, T. *et al.* Physical and mechanical properties of alginate based composite gels. **Trends in Food Science & Technology**, v.106, p.150-159, 2020.

RAUS, R. A. *et al.* Alginate and alginate composites for biomedical applications. **Asian Journal of pharmaceutical sciences**, v.16, p. 280-306, 2021.

RATHINAVEL, T. *et al.* Phytochemical 6-Gingerol – A promising Drug of choice for COVID-19. **International Journal of Advanced Science and Engineering**, v. 6, n. 4, p.1482-1489, 2020.

RAZA, A.Z. *et al.* Recent developments in chitosan encapsulation of various active ingredients for multifunctional applications. **Carbohydrate Research**, v.492, 2020.

REQUE, P.M.; BRANDELLI, A. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Application in functional food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 114, p.1-10, 2021.

RENARD, C.M.G.C. Extraction of bioactives from fruit and vegetables: State of the art and perspectives. **LWT - Food Science and Technology**, v.93, p. 390-395, 2020.

REHMAN, A. *et al.* Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.275, 2020.

RESSAÏSSI, A.; SERRALHEIRO, M.L.M. Hydroxycinnamic acid derivatives effect on hypercholesterolemia, comparison with ezetimibe: Permeability assays and FTIR spectroscopy on Caco-2 cell line. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v.3, p. 1-6, 2022.

RINALDO, M. Biomaterials based on a natural polysaccharide: Alginate. **Revista Especializada em Ciências Químico-Biológicas**, v. 17, n.1, p. 92-96, 2014.

RIBEIRO, N. S. **Estudo termogravimétrico da combustão e oxidação de misturas de carvão mineral-biomassa**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, São Paulo, 2017.

RIBEIRO, G. S. *et al.* Peach palm flour: production, hygroscopic behaviour and application. **Heliyon**, 2021.

RIBEIRO, A. M.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. The progress and application of vitamin E encapsulation- A review. **Food Hydrocolloids**, v. 121, 2021.

RIBEIRO, T.C. **Síntese e Caracterização de Filmes Finos e Nanoestruturas de SnS**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2019.

RIVAS, J.C. **Estudo da aplicabilidade de microcápsulas de polpa mista de manga e maracujá como ingrediente funcional em alimentos**. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

RODRIGUES, D.P. **Diversidade Genética e sistema de reprodução em progênies elites de pupunha inerme (*Bactris gasipaes Kunth*) com marcadores microssatélites: implicações para o melhoramento do palmito**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2007.

ROUSTA, L. K. *et al.* Use of encapsulation technology to enrich and fortify bakery, pasta, and cereal-based products. **Trends in Food Science & Technology**, v.118, p.688 - 700, 2021.

SAMOILA, P. *et al.* Chitin and Chitosan for Water Purification. *In: Chitin and Chitosan: Properties and applications*. John Wiley & Sons Ltd, 2019. p.429-460.

SAQIB, M.N. *et al.* Hydrogel beads for designing future foods: Structures, mechanisms, applications, and challenges. **Food Hydrocolloids for Health**, v.2, p.1-19, 2022.

SÁNCHEZ, N. F. S. *et al.* Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. In: SHALAB, E.; BRZOZOWSKI, T. **Antioxidants**, 2019.

SANTOS, L. M *et al.* Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. **Society of Chemical Industry**, v. 100, p.1369-1382, 2019.

SANTOS, S.S.V. **Análise do risco de contaminação no solo por carbofurano no cultivo de pupunha no alto curso do vale do rio Ribeira de Iguape (SP)**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, letras e Ciências humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2017.

SANTOS, S.D.J.L. **Caracterização das propriedades do amido de cará-roxo (*Dioscorea trifida*) obtido por diferentes métodos de extração**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2016.

SHU, J. *et al.* Effect of internal and external gelation on the physical properties, water distribution, and Lycopene encapsulation properties of alginate-based emulsion gels. **Food and Hydrocolloids**, v. 139, 2023.

SMAOUI, S. *et al.* Recent advancements in encapsulation of bioactive compounds as a promising technique for meat preservation, *Meat Science*, v.181, 2021.

SAMPAIO, G. L. A. *et al.* Encapsulation of a lycopene-rich watermelon concentrate in alginate and pectin beads: Characterization and stability. **LWT - Food Science and Technology**, v. 116, 2019.

SEO, *et al.* Electrostatically Interactive Injectable Hydrogels for Drug Delivery. **Tissue Eng Regen Med**, v. 15, n. 5, p. 513-520, 2018.

SERAGLIO *et al.* Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e determinação de compostos fenólicos em diferentes sistemas de extração em frutos de pupunha. **EMBRAPA**, p. 1- 8, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1029304/avaliacao-da-capacidade-antioxidante-in-vitro-e-determinacao-de-compostos-fenolicos-em-diferentes-sistemas-de-extracao-em-frutos-de-pupunha>. Acessado em: 17 março 2023.

SHISHIR, M. R. I. *et al.* Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 34-60, 2018.

SIHERI, W. *et al.* The Chemical and Biological Properties of Propolis. In: ALVAREZ-SUAREZ, J.M. (Ed.). **Bee Products - Chemical and Biological Properties**. p.137-178, 2017.

SILVA, T. S. *et al.* Green and red Brazilian propolis: antimicrobial potential and antivirulence against ATCC and clinically isolated multidrug-resistant bacteria. **Chemistry & Biodiversity**, p. 1-17, 2021.

SINGH, T. C. **Avaliação de parâmetros físico-químicos e estabilidade de compostos bioativos em óleos de polpa e amêndoa de frutos da Amazônia.** Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, 2015.

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

SOUZA, C. S. *et al.* Análise físico-química do teor de lipídeos da Pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) com e sem caroço. **Saber Científico**, Porto Velho, v. 7, n. 1, p. 23 – 33, 2018.

SCHAFRANSKI, K. **Extração e caracterização de compostos fenólicos de folhas de amoreira preta (*Morus nigra* L.) e encapsulamento em esferas de alginato.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Tecnológica e Federal do Paraná, Ponta grossa, Paraná, 2019.

SWALLAH *et al.* Antioxidant Potential Overviews of Secondary Metabolites (Polyphenols) in Fruits. **International Journal of Food Science**, v. 2020, 2020.
SZCZESNA, W. *et al.* Insight into multilayered alginate/chitosan microparticles for oral administration of large cranberry fruit extract. **European Polymer Journal**, v. 160, 2021.

SZCZESNA, W. *et al.* Insight into multilayered alginate/chitosan microparticles for oral administration of large cranberry fruit extract. **European Polymer Journal**, v.160, p.1-11, 2021.

TAVARES, L. *et al.* Rheological and structural trends on encapsulation of bioactive compounds of essential oils: A global systemic review of recent research, **Food Hydrocolloids**, v. 129, 2022.

TEXEIRA-COSTA, B. E. *et al.* Encapsulation and antioxidant activity of assai pulp oil (*Euterpe oleracea*) in chitosan/alginate polyelectrolyte complexes, **Food Hydrocolloids**, v. 109, 2020.

THAKUR, N. *et al.* Nanoparticles as Smart Carriers for Enhanced Cancer Immunotherapy, **Frontiers in Chemistry**, v.8, 2020.

THAI, H. *et al.* Characterization of chitosan/alginate/lovastatin nanoparticles and investigation of their toxic effects *in vitro* and *in vivo*, **Scientific Reports** v. 10, n. 1, 2020.

TOLVE, R. *et al.* Encapsulation of bioactive compounds for the formulation of functional animal feeds: The biofortification of derivate foods, **Animal Feed Science and Technology**, v. 279, n. 2021, 2021.

TRONI, K.L. **Aprimoramento da técnica da Calorimetria Exploratória Diferencial na determinação de dados de temperatura de ebulição de compostos puros e misturas binárias**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campinas, Campinas, São Paulo, 2017.

TURAK, E.J. Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. **Food Research International**, v. 99, p. 891-901, 2017.

UNEJONO, M.; JÚNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v.30, n. 3, p.616-622, 2007.

UYEN, N.T.T. *et al.* Fabrication of alginate microspheres for drug delivery: a review. **International Journal of Biological macromolecules**, v.153, p. 1035-1046, 2020.

VALLE, J. A. B. *et al.* Chitosan microcapsules: Methods of the production and use in the textile finishing. **Journal of Applied Polymer Science**, p. 1-29, 2020.

VEBER, J. *et al.* Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17, n.2, p. 267-273, Campinas, 2015.

VIEIRA, W. T.*et al.* Natural polysaccharides and proteins applied to the development of gastroresistant multiparticulate systems for anti-inflammatory drug delivery – A systematic review. **European Polymer Journal**, v.172, p.1-28, 2022.

VITHU, P. Optimization of starch isolation process for sweet potato and characterization of the prepared starch. **Journal of food measurement and characterization**, v. 14, p.1520-1532, 2020.

VOLIÉ, M. *et al.* Alginate/soy protein system for essential oil encapsulation with intestinal delivery. **Carbohydrate Polymers**, v.200, 2018.

WANG, J.; ZHUANG, S. Chitosan-based materials: Preparation, modification and application. **Journal of Cleaner Production**, v.355, p.1-25, 2022.

YAN, H *et al.* Diversity of carotenoid composition, sequestering structures and gene transcription in mature fruits of four *Prunus* species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p.113-123, 2020.

YANG, Q. *et al.* Polysaccharide hydrogels: Functionalization, construction and served as for tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, v. 278, 2022.

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

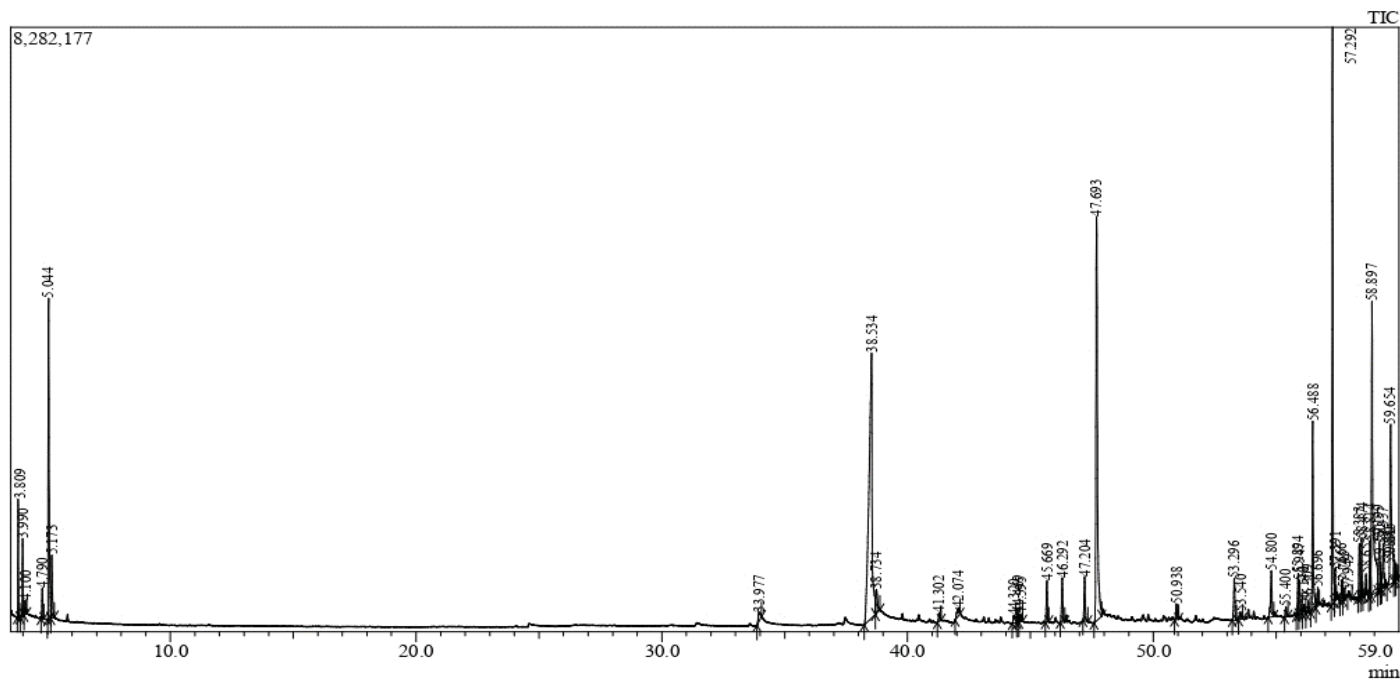
YUAN, Y. *et al.* Chemical composition, antimicrobial activities, and microencapsulation by complex coacervation of tea tree essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, p.1-13, 2022.

YOUSEFI, M. *et al.* Development, characterization and in vitro antioxidante activity of chitosan-coated alginate microcapsules entrapping *Viola odorata* Linn. extract, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p.44-54, 2020.

ZUIDAN; SHIMONI. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In:_. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. p. 3-29, 2014.

ANEXO 1 – CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS DE PUPUNHA, DA PRÓPOLIS E DA SOLUÇÃO ENCAPSULADA

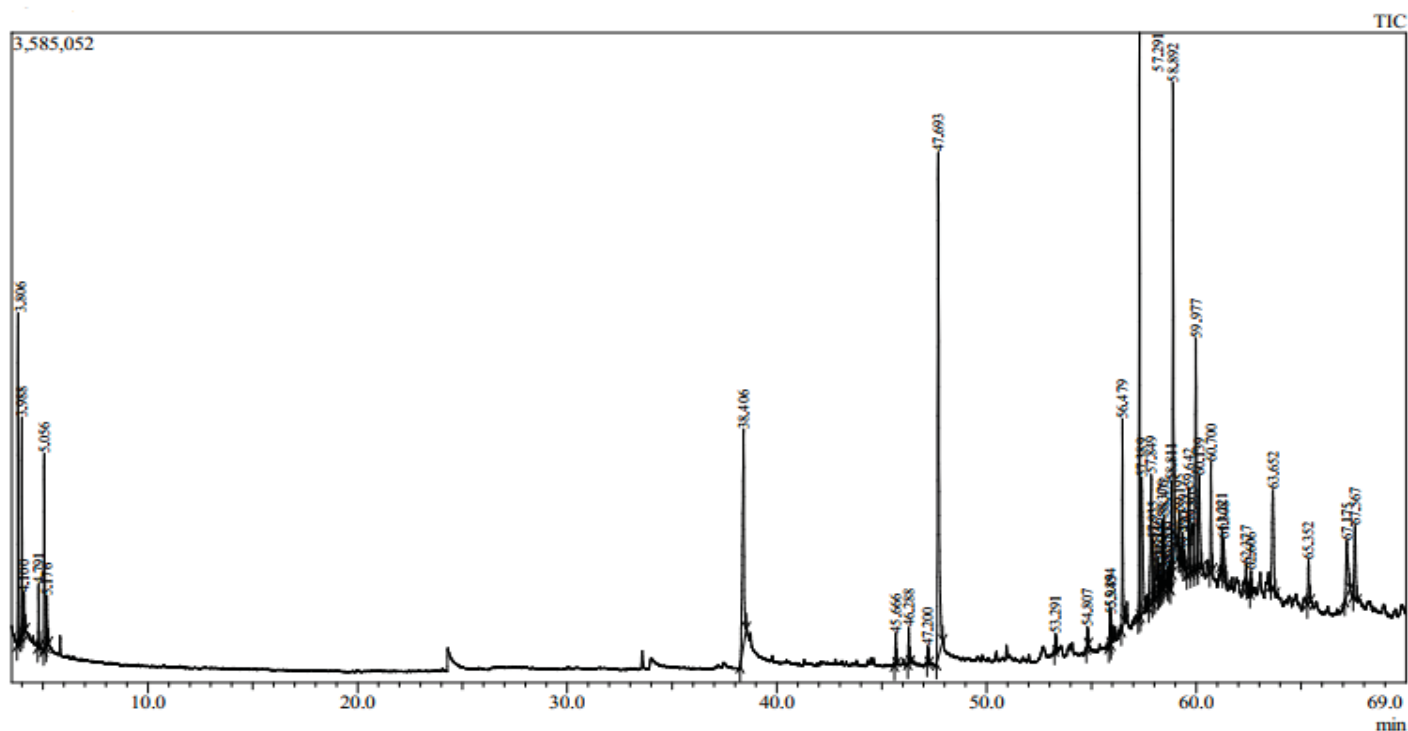
ANEXO 1.1 – CROMATOGRAMA DO EXTRATO DA PUPUNHA



Peak Report TIC										
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	3.809	3.770	3.875	2849981	1.73	1621201	3.52	1.76		Methyl isobutyrate
2	3.990	3.895	4.045	2147279	1.30	1063615	2.31	2.02		Butane, 1-ethoxy-
3	4.100	4.045	4.165	574585	0.35	193697	0.42	2.97	V	trans-1-Ethoxy-1-butene
4	4.790	4.740	4.855	936565	0.57	417662	0.91	2.24		Ethylene glycol diglycidyl ether
5	5.044	5.015	5.140	11221513	6.81	4400244	9.54	2.55		1-Butanol, 3-methyl-
6	5.173	5.140	5.275	2438840	1.48	862247	1.87	2.83	V	1-Butanol, 2-methyl-
7	33.977	33.880	34.055	712815	0.43	109861	0.24	6.49		Benzofuran, 2,3-dihydro-
8	38.534	38.240	38.690	32083859	19.48	3627696	7.87	8.84		Hydrocinnamic acid
9	38.734	38.690	38.880	1640462	1.00	326752	0.71	5.02	V	Benzenepropanoic acid, ethyl ester
10	41.302	41.220	41.370	439928	0.27	113648	0.25	3.87		1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,6,7,8,8a-h
11	42.074	41.935	42.135	692701	0.42	107358	0.23	6.45		1,3-Benzothiazole-3-acetamide, 2,3-dihy
12	44.320	44.255	44.440	717139	0.44	98828	0.21	7.26		Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro
13	44.469	44.440	44.525	441544	0.27	134876	0.29	3.27	V	isolekene
14	44.595	44.525	44.680	444474	0.27	99492	0.22	4.47	V	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxy)pl
15	45.669	45.600	45.750	1676773	1.02	567478	1.23	2.95		1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethy
16	46.292	46.215	46.400	2068303	1.26	605132	1.31	3.42		1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-
17	47.204	47.135	47.330	1848377	1.12	604341	1.31	3.06		Tetradecanal
18	47.693	47.595	47.900	23256640	14.12	5534816	12.00	4.20		Benzenecarboxylic acid, 2,5-dimethyl-4-ga
19	50.938	50.865	51.035	827374	0.50	218849	0.47	3.78		Naphthalene, 3-(1,1-dimethylethyl)-1,2-c
20	53.296	53.215	53.380	1996207	1.21	570952	1.24	3.50		Henicosanal
21	53.540	53.470	53.640	460065	0.28	101324	0.22	4.54		1-Phenylalanine, n-heptafluorobutyl-, b
22	54.800	54.680	54.900	2497303	1.52	636150	1.38	3.93		Phenol, 4-[3-(acetyloxy)-1-propenyl]-2-i
23	55.400	55.335	55.480	428462	0.26	137579	0.30	3.11		2-Heptadecanone
24	55.894	55.815	55.920	1724704	1.05	567815	1.23	3.04		pyrrolidine, 1,1'-(5-methyl-1,3-phenylene
25	55.947	55.920	56.060	1817278	1.10	470696	1.02	3.86	V	7,7-Dimethyl-7,8-dihydro-6H-5,9-dioxac
26	56.140	56.060	56.210	576619	0.35	128866	0.28	4.47	V	Oleic Acid
27	56.309	56.210	56.370	449128	0.27	152239	0.33	2.95	V	7-Isopropyl-1,1,4a-trimethyl-1,2,3,4,4a,5
28	56.488	56.405	56.610	7097529	4.31	2591965	5.62	2.74		n-Hexadecanoic acid
29	56.696	56.610	56.760	802467	0.49	253073	0.55	3.17	V	Phthalic acid, di(3-methylphenyl) ester
30	57.292	57.235	57.360	17238618	10.47	7900591	17.13	2.18		9-Methyl-9-octahydrophenanthrene
31	57.391	57.360	57.455	1287263	0.78	446131	0.97	2.89	V	Henicosanal
32	57.666	57.590	57.700	762166	0.46	283220	0.61	2.69		Palmitic Acid, TMS derivative
33	57.745	57.700	57.800	536855	0.33	159106	0.34	3.37	V	Tetrapentacotane
34	57.949	57.910	58.085	403413	0.24	66279	0.14	6.09		Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
35	58.383	58.330	58.430	1886072	1.15	739997	1.60	2.55		Triacotane, 1-iodo-
36	58.474	58.430	58.535	1773671	1.08	788629	1.71	2.25	V	Glutaric acid, 2,2,2-trihydroethyl pentade
37	58.652	58.535	58.690	627931	0.38	288512	0.63	2.18	V	Phenanthrene, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octah
38	58.814	58.765	58.850	1876982	1.14	752168	1.63	2.50		9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
39	58.897	58.850	59.140	16254801	9.87	4021535	8.72	4.04	V	9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl
40	59.199	59.140	59.235	2540766	1.54	660950	1.43	3.84	V	Octadecanoic acid
41	59.250	59.235	59.300	1020184	0.62	380142	0.82	2.68	V	Succinic acid, dodec-2-en-1-yl 3-phenyl
42	59.357	59.300	59.415	2015769	1.22	606311	1.31	3.32	V	1,4-benzenediol, 2,5-bis(3-methyl-2-but
43	59.654	59.510	59.795	9914271	6.02	2188176	4.74	4.53	V	(4aR,5S)-1-Hydroxy-4a,5-dimethyl-3-(p
44	59.815	59.795	59.865	1048279	0.64	295286	0.64	3.55	V	Hexadecanoic acid, 4-[(trimethylsilyl)ox
45	59.890	59.865	59.955	656819	0.40	224698	0.49	2.92	V	9-Octadecenoic acid, (E)-, TMS derivati
				164712774	100.00	46120183	100.00			

ANEXO 1.2 – CROMATOGRAMA DA PRÓPOLIS VERDE

ANEXO 1.3 – CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO ENCAPSULADA
(MISTURA DOS EXTRATOS)



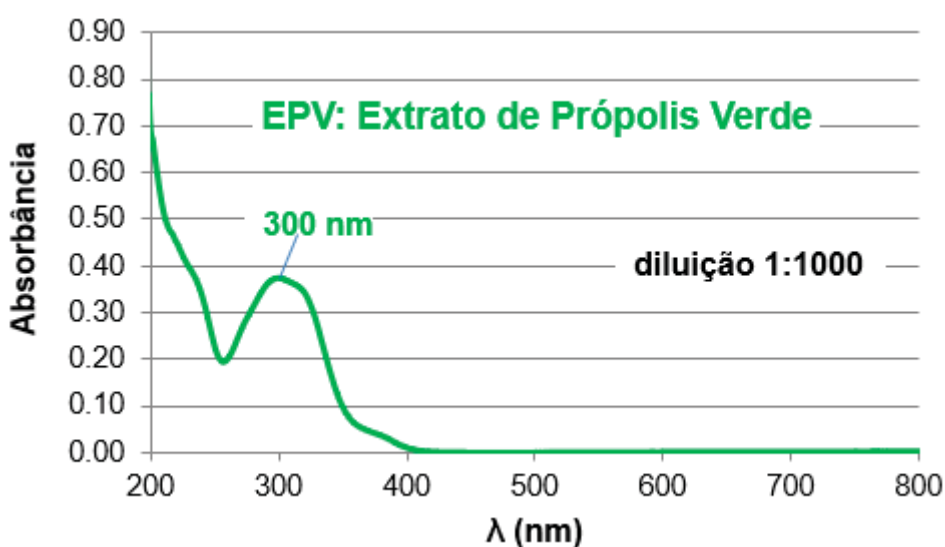
Peak#	R.Time	L.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	3.806	3.760	3.875	322300	3.36	1832918	6.88	1.76		Methyl isobutyrate
2	3.988	3.945	4.040	2323212	2.42	1198511	4.50	1.94		Butane, 1-ethoxy-
3	4.100	4.040	4.160	643211	0.67	216650	0.81	2.97	V	trans-1-Ethoxy-1-butene
4	4.791	4.745	4.840	774141	0.81	348319	1.31	2.22		Hexane, 2,5-dimethyl-
5	5.056	5.020	5.145	3106980	3.24	1080197	4.05	2.88		1-Butanol, 3-methyl-
6	5.176	5.145	5.260	858925	0.90	277365	1.04	3.10	V	1-Butanol, 2-methyl-
7	38.406	38.250	38.545	6795083	7.09	1198695	4.50	5.67		Hydrocinamic acid
8	45.666	45.610	45.730	518099	0.54	174379	0.65	2.97		1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl
9	46.288	46.235	46.350	586332	0.61	194229	0.73	3.02		1H-Cyclop[ro]c[j]azulen-7-ol, decahydro-1-
10	47.200	47.160	47.255	238895	0.25	89802	0.34	2.66		Tetradecanal
11	47.693	47.605	47.905	12512559	13.05	2784689	10.45	4.49		Benzenebutanoic acid, 2,5-dimethyl- gam
12	53.291	53.245	53.350	301789	0.31	94115	0.35	3.21		Eicosanal-
13	54.807	54.760	54.865	314252	0.33	106641	0.40	2.95		Phenol, 4-[3-(acetyloxy)-1-propenyl]-2-m
14	55.894	55.825	55.920	689359	0.72	209048	0.78	3.30		Spiro[1,3,3-trimethylindoline]-2,5'-pyrrol
15	55.945	55.920	56.035	556879	0.58	159694	0.60	3.49	V	Harmol, bis(ethyl)-
16	56.479	56.425	56.585	2902787	3.03	1148472	4.31	2.53		n-Hexadecanoic acid
17	57.291	57.230	57.330	7025494	7.33	3223600	12.10	2.18		Phenanthrene, 9-butyl-1,2,3,4,5,6,7,8-oct
18	57.389	57.330	57.570	5144754	5.36	758922	2.85	6.78	V	9-Methyltricyclo[4.2.1.1(2,5)]deca-3,7-di
19	57.849	57.730	57.900	3544219	3.70	713681	2.68	4.97	V	3,3-Dimethyl-2,3-dihydro-1H-benzof[f]ch
20	57.935	57.900	58.030	1880765	1.96	343058	1.29	5.48	V	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
21	58.146	58.030	58.185	1352255	1.41	216766	0.81	6.24	V	Cyclohexene, 4-pentyl-1-(4-propylcyclo
22	58.235	58.185	58.270	715000	0.75	160675	0.60	4.45	V	Retinoic acid
23	58.310	58.270	58.335	274901	0.29	88369	0.33	3.11	V	(Z)-Hexadec-11-en-1-yl octanoate
24	58.376	58.335	58.420	1035078	1.08	385053	1.45	2.69	V	2(3H)-Phenanthrene, 4,4a,9,10-tetrahy
25	58.472	58.420	58.525	972477	1.01	391361	1.47	2.48	V	Neocorgostatriene
26	58.653	58.615	58.675	235538	0.25	110309	0.41	2.14		Phenanthrene, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahy
27	58.709	58.675	58.770	404497	0.42	145862	0.55	2.77	V	Oleoyl chloride
28	58.811	58.770	58.850	1330386	1.39	548776	2.06	2.42		9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
29	58.892	58.850	59.035	7934087	8.27	2665021	10.00	2.98	V	9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl e
30	59.195	59.150	59.240	790661	0.82	267698	1.00	2.95		Octadecanoic acid
31	59.359	59.315	59.400	512180	0.53	169795	0.64	3.02		1,4-benzenediol, 2,5-bis(3-methyl-2-bute
32	59.420	59.400	59.490	240222	0.25	88389	0.33	2.72	V	4-Hydroxy-4-methylhex-5-enoic acid, tert
33	59.642	59.555	59.735	2492913	2.60	474035	1.78	5.26		(4aR,5S)-1-Hydroxy-4a,5-dimethyl-3-(pn
34	59.805	59.735	59.915	2376190	2.48	263898	0.99	9.00	V	Methyl 7,11,14-eicosatrienoate
35	59.977	59.915	60.080	6137572	6.40	1281228	4.81	4.79	V	9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl e
36	60.139	60.080	60.270	2563877	2.67	513484	1.93	4.99	V	10a-Methyl-1,9,10,10a-tetrahydro-3(2H)-
37	60.700	60.640	60.780	1792435	1.87	599944	2.25	2.99		7-Isopropyl-1,1,4a-trimethyl-1,2,3,4,4a,9
38	61.221	61.170	61.260	570523	0.59	212417	0.80	2.69		2-Methylhexacosane
39	61.308	61.260	61.450	982160	1.02	201353	0.76	4.88	V	Psoralen, 3-(alpha.,alpha.-dimethylallyl)-
40	62.377	62.335	62.475	471160	0.43	107323	0.40	3.89		Nonadecyl pentafluoropropionate
41	62.606	62.555	62.680	449797	0.47	122568	0.46	3.67		(1S,4aR,5S,8aR)-1,4a-Dimethyl-6-methyl
42	63.652	63.550	63.770	3226676	3.36	544306	2.04	5.93		Tetrapentacontane
43	65.352	65.290	65.445	966010	1.01	230754	0.87	4.19		Tetrapentacontane
44	67.175	67.085	67.335	2194834	2.29	303956	1.14	7.22		3,3-Dimethyl-2,3-dihydro-1H-benzo[f]ch
45	67.567	67.480	67.665	1920327	2.08	398356	1.50	5.00		1,2,4-Metheno-1H-cyclobuta[b]cyclopent

ANEXO 2 – ABSORBÂNCIA DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL ENTRE 190 A 800 NM DOS ADITIVOS E DO EXTRATO MISTO

As soluções têm capacidades de absorção bastante diferentes e foram diluídas com os seus respectivos solventes para viabilizar sua faixa de absorção entre 0 e 1. Assim, as diluições foram de 1/100 para o EFP; 1/1000 para o EPV e 1/500 para a mistura dos dois (2 ml de EFP e 1 ml de EPV) para formar o extrato misto quantidade de 2 ml de EFP. Não houve absorção relevante na região do visível para estas diluições.

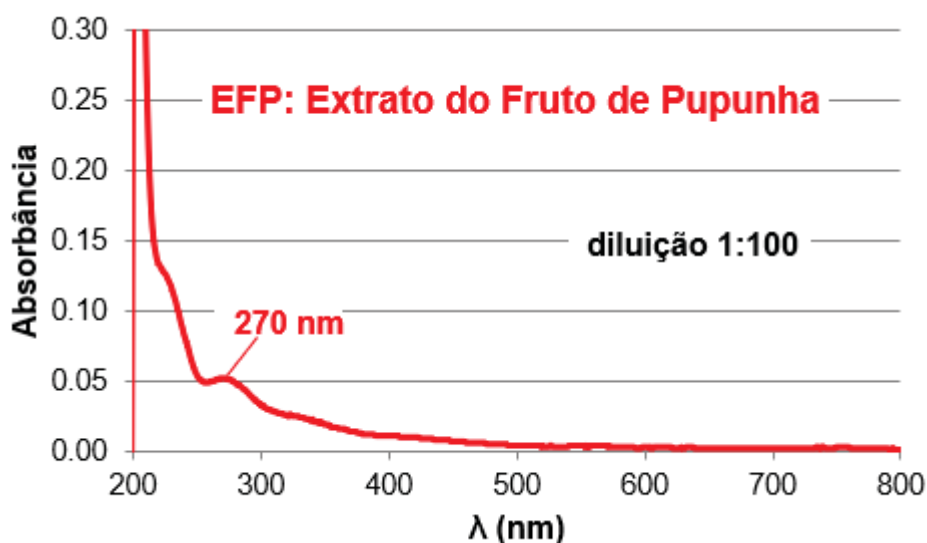
O extrato de própolis verde (EPV) apresentou significativas absorbâncias entre 200 nm e 380 nm, ou seja, ultravioleta próximo (FIGURA A); sendo que praticamente não apresentou absorbância com comprimentos de onda maiores (região da espectrometria visível, ou seja, de 380 nm a 800 nm), exceto declinando sinal até 392 nm (absorbância de 0,02).

FIGURA A – ESPECTRO DO EXTRATO DA PRÓPOLIS VERDE



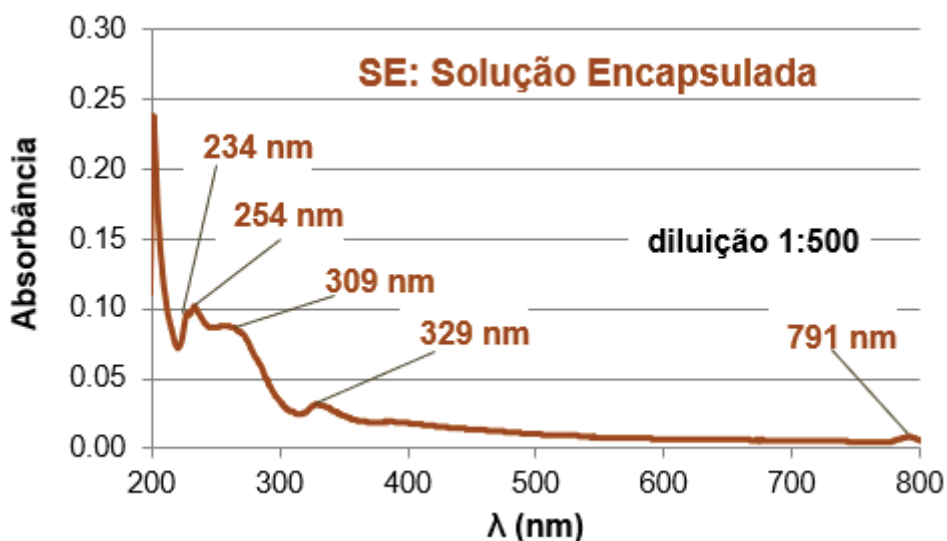
O extrato do fruto de pupunha (EFP) apresentou uma enorme absorbância entre 200-380 nm (UV ultravioleta próximo), mas também relevante na região visível que declina até 518 nm (absorbância de 0,02), conforme a FIGURA B.

FIGURA B – ESPECTRO DO EXTRATO DA PUPUNHA



O SE (FIGURA C) confirmou a importante absorbância entre 200-380 nm (UV ultravioleta próximo), com picos em 234, 254, 309 e 329 nm. 533 nm (absorbância de 0,02), mas também um pico que próximo desse limiar (0,018 nm) em 791 nm.

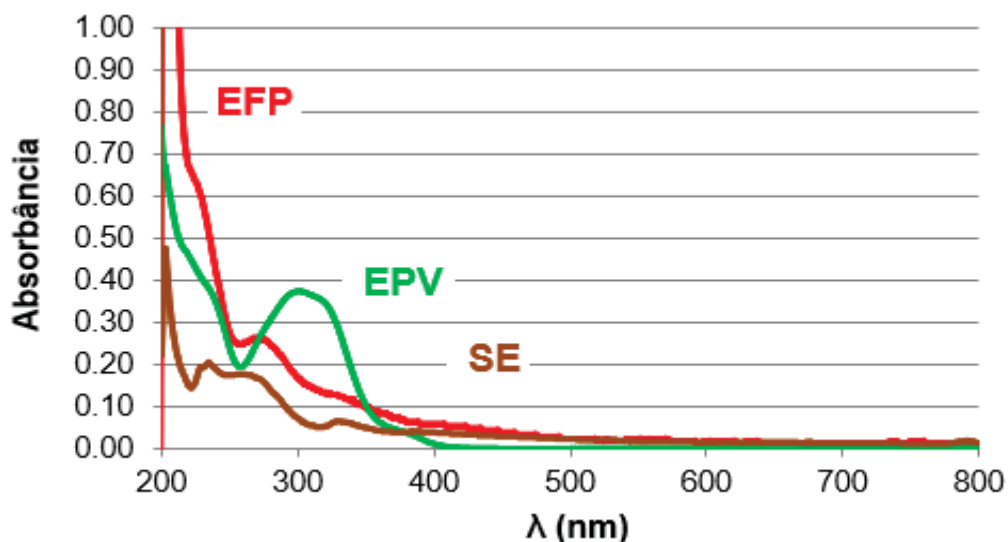
FIGURA C – ESPECTRO DA MISTURA DOS EXTRATOS DA PUPUNHA E DA PRÓPOLIS



A solução encapsulada (SE) não revela os dois padrões individualizados de absorção dos componentes previsto pela lei de Beer. Assim, há necessidade de validar futuramente esse comportamento inesperado. Inclusive para comprovar ou não se há interação de suas moléculas (destacado no último gráfico deste anexo) que justifique essa mudança de interação com os fótons.

O gráfico a seguir releva as absorbâncias com valores corrigidos de acordo com a diluição e a proporção das soluções de composição.

FIGURA D – PERFIS DE ABSORÇÃO DOS ESTRATOS



Diante deste estudo, o comprimento de onda de 200 nm foi escolhido para a realização das análises espectrofotométricas devido a sua expressividade nos espectros de absorção obtidos, principalmente ao que se refere a solução encapsulante SE e, com isso, assegurar que as absorbâncias lidas durante os ensaios abranjam valores satisfatórios para a realização dos cálculos e a compreensão do fenômeno avaliado.