

DESENVOLVIMENTO DE BIOMEMBRANAS POLIMÉRICAS ENRIQUECIDAS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS

Fernanda Fernandes Alves¹, Marianna Porfirio Brandão², Ana Beatriz Dornelas³, Lais Vanessa de Azevedo Teles da Silva⁴, Arthur Luy Tavares Ferreira Borges⁵, Mailde Jessica Liodorio⁶, Ticiano Gomes do Nascimento⁷

1. Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas/UFAL;
2. Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas/UFAL;
3. Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas/UFAL;
4. Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas/UFAL;
5. Mestrando do PPGCF/ESENFAR/UFAL;
6. Mestranda do PPGCF/ESENFAR/UFAL;
7. Professor da Universidade Federal de Alagoas/ESENFAR/UFAL/Orientador.

Resumo

A própolis é uma resina coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera* de diversas partes das plantas. Ela vem se destacando tanto pelas suas propriedades biológicas, quanto pela possibilidade de aplicação nas indústrias farmacêuticas e alimentícias. O objetivo do trabalho é desenvolver biomembranas poliméricas para serem utilizadas como carreadores do extrato da própolis vermelha a partir de uma matriz polimérica. As técnicas de caracterização utilizadas foram: Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Análise Termogravimétrica (TG) e determinação da atividade antioxidante por DPPH. Os resultados de atividade antioxidante das formulações foram satisfatórios e os dados térmicos e FTIR demonstraram que houve o encapsulamento do extrato bioativo de própolis vermelha pelo sistema matricial. Dessa forma, as biomembranas demonstraram possuir potenciais para serem utilizadas na área cosmeceutica e para tratamentos de estética facial.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Polímeros; Análise Termogravimétrica.

Apoio financeiro: UFAL, CNPq e CAPES.

Trabalho selecionado para a JNIC: UFAL.

Introdução

Própolis (cola de abelha) é um produto resinoso fortemente adesivo coletado pelas abelhas e tem sido utilizado pelo homem desde tempos antigos, devido às suas propriedades terapêuticas (BRUSCHI et al., 2003), como a atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica e antioxidante (SILVA et al., 2009). É uma substância proveniente da coleta das abelhas da espécie *Apis mellifera* de algumas partes das plantas, como brotos, botões florais e exsudatos resinosos. Apresenta coloração e consistência variada, sendo empregada pelas abelhas para fechar pequenas lacunas, proteger a colmeia contra possíveis invasores e embalsamar insetos mortos (GHISALBERTI, 2008).

A sua composição química é diferenciada e depende da flora local, consistindo de maneira geral de ceras, resinas, água, compostos orgânicos, fenólicos, e óleos essenciais (BRUSCHI et al., 2003). A própolis vermelha é classificada como própolis do grupo treze, sendo encontrada no Nordeste brasileiro, esse tipo vem se destacando por apresentar uma composição diferente em relação aos outros tipos existentes (DAUGSCH et al. 2006).

O desenvolvimento de matrizes poliméricas é uma boa alternativa, pois permite carrear compostos bioativos protegendo-o do ambiente externo, além de controlar a sua liberação. O processo se baseia na incorporação das substâncias bioativas numa matriz polimérica que atua como um material de revestimento, obtendo-se biomembranas. Essa matriz é escolhida de acordo com as características do agente que será encapsulado e deve possuir propriedades que agreguem valor ao composto bioativo ou confira a mesma características vistas como positivas (DIXIT; PUTHLI, 2009).

Existem diversos trabalhos publicados que utilizam matrizes como carreadores com diversas finalidades. Um material vastamente utilizado atualmente são os diversos produtos proteicos. Proteínas são uma boa escolha por serem vastamente conhecidas, não serem tóxicas, serem solúveis em meio aquoso e capazes de formar complexo com componentes endógenos, além serem de fácil obtenção. Diante disso o trabalho tem como objetivo, a preparação e caracterização de biomembranas poliméricas enriquecidas com própolis vermelha. Com aplicabilidade nas áreas cosmeceuticas e tratamento de estética facial.

Metodologia

Obtenção do extrato de própolis vermelha

O extrato bruto foi obtido utilizando o método de extração denominado maceração, pesou-se 100 g de própolis bruta e submeteu-se a um processo de maceração com 1000 mL de etanol a 80% por 48 horas. O processo foi repetido até o esgotamento do material. Em seguida o extrato foi evaporado (solvente) em rotaevaporador, obtendo assim o extrato concentrado de própolis vermelha.

Método de preparação das biomembranas

Foram desenvolvidas três formulações de biomembranas, tendo o álcool polivinílico (PVA) como agente formador da película, extrato bruto de própolis vermelha como agente ativo e proteínas (caseína, *whey protein* e gelatina) como agente espessante. Estas formulações foram denominadas, BIOCS-PV (biomembranas de caseína), BIOWP-PV (biomembranas de *whey protein*) e BIOGL-PV (biomembranas de gelatina) referente à proteína contida em cada uma das formulações.

Prepararou-se as formulações incorporando o extrato de própolis vermelha de Alagoas, utilizando a metodologia baseada em ARANHA e LUCAS, (2001) com algumas modificações. Inicialmente realizou-se a dispersão do álcool polivinílico (PVA), proteína e a glicerina em água destilada, a uma temperatura de 80-90° C, sob agitação constante. Após a preparação resfriar e atingir uma temperatura inferior a 40° C adicionou-se o etanol, os conservantes, o EDTA tetrassódico e o tensoativo. Em seguida a mistura foi vertida em placas de petri mantida em repouso, posteriormente foram acondicionadas sobre refrigeração.

Atividade antioxidante

Para avaliação da atividade antioxidante foi necessário preparar uma solução estoque de cada formulação. A extração dos constituintes foi realizada utilizando 400 mg das amostras, nas quais foram adicionados 4 mL de etanol, dessa forma atingindo uma concentração de 1000 µg/mL (solução estoque) de cada formulação. Posteriormente foram feitas as diluições nas soluções estoque das biomembranas, retirando os volumes suficientes para atingir as concentrações finais estabelecidas transferindo para um balão volumétrico de 5 mL, adicionando 2 mL de reagente DPPH e aferindo com etanol. As amostras ficaram em repouso durante 30 minutos na ausência de luz e então foram submetidas à leitura no espectrofotômetro UV-mini. No modo fotometria em um comprimento de onda de 518 nm, para se observar o valor da absorbância das amostras. A partir desses resultados, conseguiu-se avaliar a porcentagem da atividade antioxidante.

Análise Termogravimétrica (TG)

Foi realizada em equipamento TG/DTA Shimadzu em atmosfera de ar sintético com fluxo 50mL/min, razão de aquecimento de 10°C/min. numa faixa de temperatura entre 25° a 900° C. Foram pesadas massas de 10 mg de cada amostra e transferida para um cadinho de alumínio.

Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

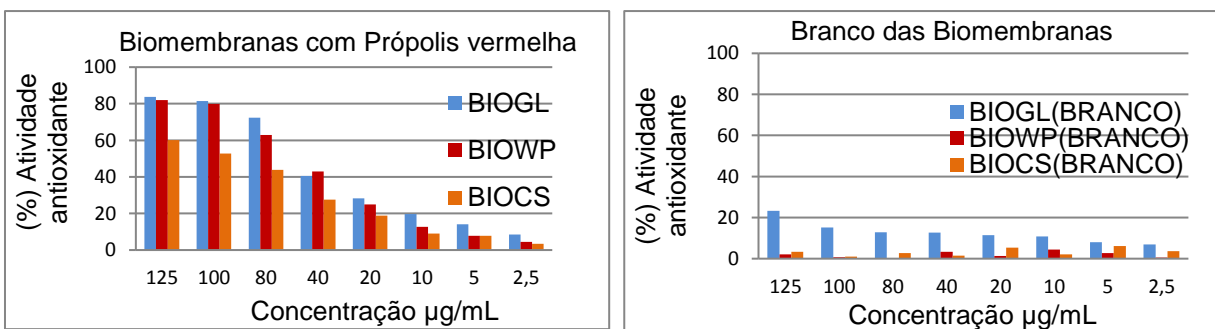
Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrômetro FTIR-ATR Thermo Scientific, modelo Nicolet S10, com número de onda entre 4000 e 650 cm⁻¹.

Resultados e Discussão

Análise do potencial antioxidante por DPPH

A atividade antioxidante por sequestro de radicais DPPH foi avaliada e os resultados obtidos foram expressos em porcentagens, correspondente a quantidade de DPPH consumido pelas amostras, quanto maior o consumo de DPPH maior sua atividade antioxidante. De modo geral, que as formulações de biomembranas incorporadas com extrato da própolis vermelha apresentaram os maiores percentuais de atividade antioxidante, com média de 75,27%, com relação a concentração de 125 µg/mL em comparação ao branco suas respectivas formulações, que não ultrapassaram a média de 9,55 % na mesma concentração (**figura 1**). Conforme os resultados obtidos em Chang-Bravo et al., (2014) e Siripatrawan et al., (2013) avaliando a atividade antioxidante de biofilmes incorporados com extrato de própolis.

Figura 1: Comparação entre os percentuais da atividade antioxidante das biomembranas.



Fonte: AUTOR, 2019.

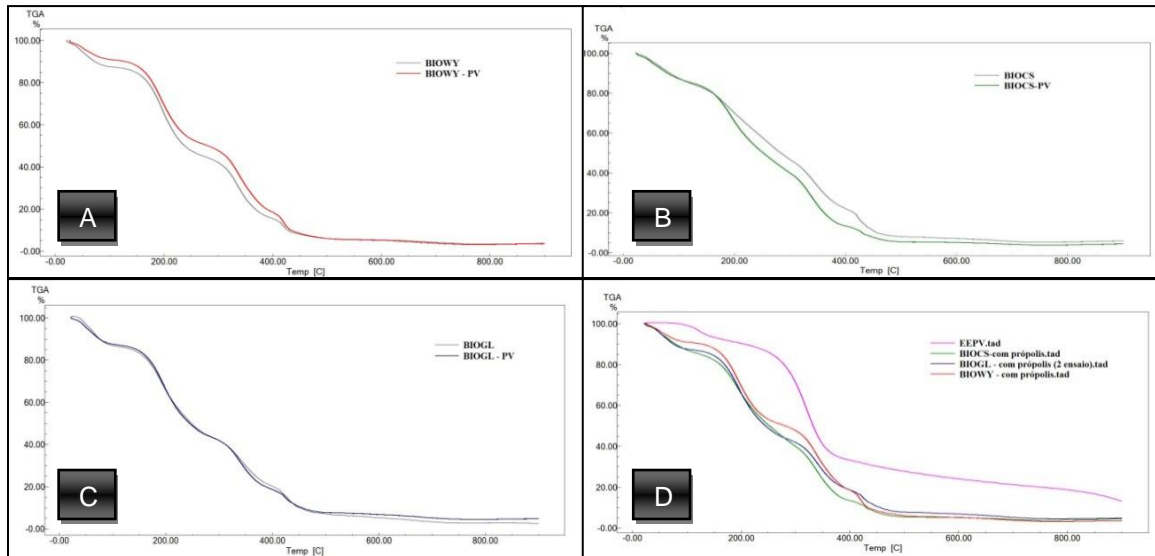
Análises térmicas: Termogravimétrica (TG)

Por meio da análise termogravimétrica, foi possível determinar o perfil de degradação e estabilidade térmica das formulações desenvolvidas e do bioativo. A figura 2 corresponde às curvas termogravimétricas das biomembranas com o extrato e sem o extrato (branco). No qual podemos identificar quatro eventos consecutivos de perda de massa em todas as amostras. Observa-se na figura 2A que a formulação de *Whey*

protein com a incorporação do extrato de própolis vermelha proporcionou uma maior estabilidade térmica, visto que obteve um início de perda de massa em uma temperatura maior em relação ao branco da sua formulação.

Em contrapartida a BIOCS-PV obteve uma perda de massa em uma temperatura menor que o branco, evidenciando uma menor estabilidade com adição do ativo (**figura 2B**). A BIOGL-PV não apresentou mudanças no seu perfil térmico em comparação ao branco (**figura 2C**). É possível identificar uma maior estabilidade térmica da biomembrana de *whey protein* (BIOWP-PV) em relação às outras amostras, visto que seu processo de degradação se inicia em uma temperatura superior as demais (**figura 2D**).

Figura 2: A, B e C: comparação das curvas de TG das formulações das biomembranas com extrato; **D:** Comparação entre as formulações com extrato.

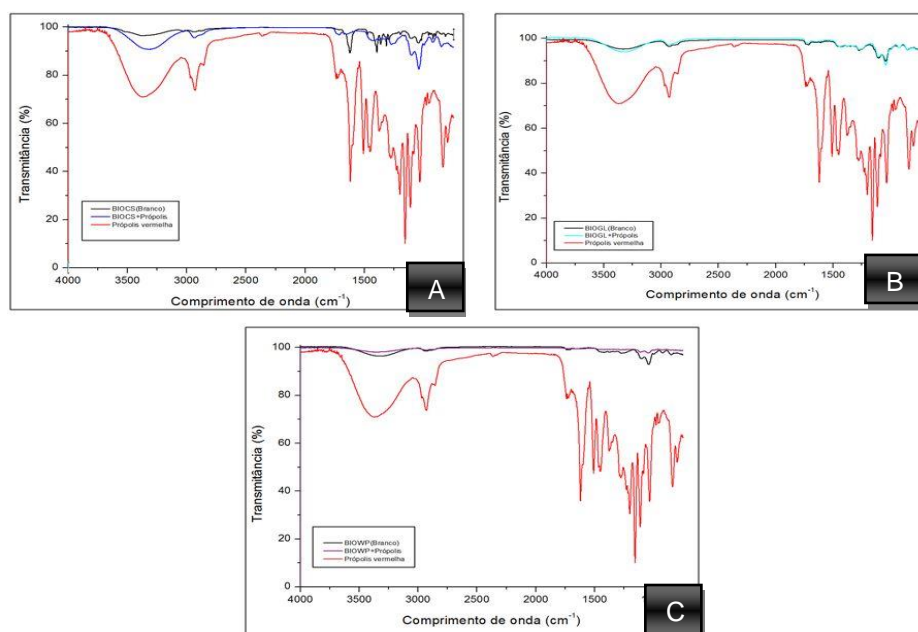


Fonte: AUTOR, 2018.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia FTIR – ATR foi utilizada para analisar a matriz polimérica e o extrato bioativo da própolis e também para identificar a forma de interação entre os componentes. Na figura 3 podem ser observados os espectros do extrato de própolis, das três formulações de biomembranas e das matrizes poliméricas correspondentes as suas formulações.

Figura 3 : Espectros de FTIR do extrato de própolis vermelha, biomembranas carregadas com extrato (BIOWP-PV, BIOCS- e BIOGL-PV) e sem extrato (branco).



Fonte: AUTOR, 2018.

O espectro da BIOCS e da BIOCS-PV (**figura 3A**) apresentaram estiramentos similares, em 3318-3314 cm^{-1} característica de estiramento OH, como também a presença em 2931 cm^{-1} de bandas referente às ligações CH e o desaparecimento em 1429 cm^{-1} , correspondente as vibrações de CH_2 (BASTAMI et al., 2012) da matriz polimérica indicando interação entre a matriz e o bioativo e a evidência de bandas correspondente a própolis vermelha, provavelmente referente ao extrato que ficou adsorvido na superfície. O desaparecimento das bandas em 1647 e 1449 cm^{-1} característicos do anel aromático pertencente aos flavonoides e compostos fenólicos do extrato de própolis vermelha no espectro da formulação de BIOCS, indica que houve encapsulamento do extrato no sistema matricial. De acordo com a figura 3C o espectro da matriz da BIOWP (branco) apresentou uma banda em 1718 cm^{-1} , correspondente ao estiramento C=O de grupos carbonílicos de aminoácidos mas que está presente no BIOWP-PV.

Na Figura 3B demonstra que a BIOGL-PV apresentou encapsulamento da própolis no sistema matricial, devido ao espectro mostrar bandas similares aos da matriz. Revelando uma banda larga em 3329 cm^{-1} , característica de estiramento OH e bandas de absorção correspondente ao estiramento CH em 2928 cm^{-1} . A presença de modos de vibrações características de proteínas em 1713 cm^{-1} , típica de amida primária, devido ao estiramento C=O, observa-se também uma banda em 1442 cm^{-1} , relacionada a amida secundária (vibrações no plano de ligação NH e ao estiramento CN) e amida terciária em 1272 cm^{-1} (estiramento CN e deformação NH) (YAKIMETS et al., 2005).

Conclusões

Usando a técnica de espectroscopia FTIR – ATR observou-se o encapsulamento do extrato de própolis vermelha nas matrizes poliméricas devido ao desaparecimento das bandas e estiramentos característicos do extrato de própolis. No entanto, o FTIR das formulações de BIOWP e BIOCS demonstrou o desaparecimento de bandas da matriz polimérica, indicando possíveis interações entre o extrato e a matriz que caracteriza a formação da rede polimérica da biomembrana.

As biomembranas obtidas apresentam propriedades satisfatórias para serem utilizadas como veículo de substâncias bioativas, de modo a se torna alternativa, eficiente e de baixo custo, com aplicabilidade na área cosmeceutica e também podem auxiliar no processo de cicatrização de feridas.

Referências bibliográficas

ARANHA, I. B.; LUCAS, E. F. Poli (Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. **Polímeros: Ciências e tecnologia**, v. 11, n. 4, p. 174- 181, 2001.

BASTAMI, K.D., BAGHERI, H., HAGHPARAST, S., SOLTANI, F., HAMZEHPOOR, A. and BASTAMI, M.D., 2012. Geochemical and geo-statistical assessment of selected heavy metals in the surface sediments of the Gorgan Bay, Iran. **Marine pollution Bulletin**, 64, 2877-2884.

BRUSCHI, M.L., CARDOSO, M.L.C., LUCCHESI, M.B. e GREMIÃO, M.P.D. Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 264, n. 1-2, p. 45-55, 2003.

CHANG-BRAVO, L.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; MARTINO, M. Biopolymeric matrices made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red propolis and yerba mate. **Reactive and Functional Polymers**, La Habana, v.85, p. 11-19, 2014.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Brazilian red propolis – chemical composition and botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.5, n.4, 435-441, 2007.

DIXIT, R.P.; PUTHLI, S.P. Oral strip technology: Overview and future potential. **Journal of controlled release**, Amsterdam-Holanda, v.139, p. 94-107, 2009.

SILVA, B. B. **Caracterização da própolis vermelha: sua origem botânica e o efeito sazonal sobre sua composição química e atividade biológica**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba/São Paulo, SP, Brasil, 2009.

SIRIPATRAWAN, U., VITCHAYAKITTI, W. Improving functional properties of chitosan films to be used as active food packaging by incorporation with propolis. **Food Hydrocolloids**, 2016.

GHISALBERTI, E.L. **Própolis: a review**. In: CABRAL, I. S. P. Isolamento e Identificação de compostos com atividade antibacteriana da própolis vermelha brasileira. 2008. 94 f.

YAKIMETS, I. et al. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, v. 46, n. 26, p. 12577-12585, 2005.