

# Identidade e qualidade da própolis proveniente de quatro regiões do Brasil

## Identity and quality of propolis from four regions of Brazil

RIALA6/1501

Adriane Alexandre Machado de MELO, Adriana Hitomi MATSUDA, Ligia Bicudo de ALMEIDA-MURADIAN\*

\*Endereço para correspondência: Laboratório de Análise de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Avenida Professor Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, CEP: 05508-900, São Paulo, SP, Brasil. Tel.: (55) (11) 3091-3684. E-mail: ligiabi@usp.br  
Recebido: 06.12.2011 – Aceito para publicação: 30.07.2012

### RESUMO

A própolis, substância produzida pelas abelhas a partir de partes das plantas, tem sido consumida para fins terapêuticos. Dada a escassez de dados sobre a própolis comercializada no Brasil, este estudo avaliou os parâmetros de identidade e qualidade de própolis: umidade, resíduo mineral fixo, cera, massa mecânica, fenólicos totais, flavonoides totais, substâncias solúveis em etanol, índice de oxidação e espectro de absorção de radiações ultravioleta e visível, em amostras coletadas nas regiões Nordeste (NE), Sudeste (SE), Sul (SU) e Centro-Oeste (CO) do país. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões estabelecidos na legislação brasileira, e foi realizada uma comparação entre as quatro regiões. As 12 amostras coletadas na região SE e as três da região CO atenderam a todos os requisitos previstos em legislação. Porém, resultados desconformes foram detectados em uma das dez amostras da região SU e em cinco das oito da região NE. As médias nas amostras da região NE foram estatisticamente semelhantes nas amostras da região SU em cinco dos oito parâmetros quantitativos: teor de umidade, massa mecânica, índice de oxidação, fenólicos totais e flavonoides totais. O teor de fenólicos foi o único parâmetro cuja média foi estatisticamente igual nas amostras das quatro regiões.

**Palavras-chave.** própolis, índice de oxidação, fenóis, flavonoides, qualidade.

### ABSTRACT

Propolis is a substance produced by bees from some plant parts, and it has been consumed by the population with therapeutic purposes. Given the lack of data on the propolis commercialized in Brazil, this study aimed at assessing the identity and quality parameters of propolis (moisture, fixed mineral residue, wax, mechanic mass, total phenolics, flavonoids, ethanol-soluble substances, oxidation index, ultraviolet and visible absorption spectra) in samples collected from Brazilian Northeast, Southeast, South and Middle West regions. The found results were compared with those established by the Brazilian legislation, and also among the four regions. Twelve samples collected from the Southeast region and three samples from the Middle West region complied with those limits established by legislation in force. However, noncomplying results were detected in one of 10 samples from the South region and in five of eight samples from the Northeast region. The mean values in samples from the Northeast region were statistically similar to those from the Southeast region in five of eight quantitative parameters: moisture, mechanic mass, oxidation index, total phenolics and flavonoids. Phenolics were the only parameter in which the mean value was statistically equal among the samples from the four regions.

**Keywords.** propolis, oxidative index, phenols, flavanoids, quality.

## INTRODUÇÃO

A própolis é o produto apícola elaborado a partir do material resinoso, gomoso e balsâmico coletado das árvores pelas abelhas, o qual elas modificam acrescentando secreções salivares, cera e pólen<sup>1</sup> e utilizam para diversos propósitos na colmeia, como selar orifícios, o que evita a entrada de intrusos e mantém a temperatura da colmeia em torno de 35 °C, e revestir a parede interna dos opérculos, criando não só uma barreira física como um ambiente asséptico para o desenvolvimento das larvas, possível em razão da ação antimicrobiana de certos componentes da própolis<sup>2</sup>. Sua composição química é bastante complexa e determinada, basicamente, pelo perfil químico da flora visitada pelas abelhas<sup>3</sup>. Entre as fontes vegetais da própolis brasileira estão a *Baccharis* spp., particularmente a *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo); *Dalbergia ecastophyllum* (rabo-de-bugio); *Araucária angustifolia* (pinheiro brasileiro); e o *Eucalyptus citriodora* (eucalipto)<sup>3,4</sup>.

Mais de 200 componentes já foram identificados em diferentes amostras de própolis que, de modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen, além de pequenas quantidades de alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), ácido nicotínico (B3), ácido ascórbico (C), alfa-tocoferol (E) e ácido pantotênico (B5)<sup>5</sup>. Também são encontradas quantidades significativas de metabólitos secundários de plantas, associados a propriedades biológicas de interesse, como ação antimicrobiana<sup>6</sup>, antioxidante<sup>7</sup>, anti-inflamatória<sup>8</sup> e anticarcinogênica<sup>9</sup>.

Não há dados precisos sobre a produção de própolis no Brasil, mas o Serviço Nacional de Apoio às Micro e Pequenas Empresas aponta grande demanda externa pelo produto nacional, sendo a Coreia do Sul, China e Japão os principais compradores<sup>10</sup>, onde o produto tem sido estudado e utilizado em alimentos e bebidas com a finalidade de manter ou melhorar a saúde humana. Em 2001, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), aprovou uma legislação específica onde constam padrões de identidade e qualidade da própolis produzida no país, visando os mercados interno e externo. Porém, não foram estabelecidos os métodos de análises a serem utilizados<sup>1</sup>. Embora a legislação já esteja em vigor há dez anos, poucos dados foram encontrados sobre a qualidade da própolis produzida no Brasil.

Assim, este estudo teve por objetivo avaliar parâmetros de identidade e qualidade da própolis coletada em quatro regiões do Brasil (Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste) e comparar os resultados obtidos com os padrões estabelecidos na legislação brasileira, e ainda realizar um comparativo entre as quatro regiões.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

As amostras de própolis de abelha *Apis mellifera* foram adquiridas *in natura*, entre os anos de 2003 e 2005, de apicultores ou entrepostos de quatro regiões do Brasil, perfazendo um total de 33 amostras (Tabela 1). As impurezas (poeira, pedaços de madeira, abelhas mortas, traças e qualquer outro tipo de material estranho) foram retiradas e, em seguida, as amostras foram trituradas, peneiradas em tamis de 18 “mesh” (1.000 micras), homogeneizadas, pesadas e armazenadas a 5°C até o momento das análises.

**Tabela 1.** Localidades de coleta de amostras de própolis *in natura* em quatro regiões do país

Região/Estado	Município
<b>Nordeste</b>	
Bahia	Mucuri, Irecê, Palmeiras, Lençóis
Rio Grande do Norte	João Câmara
Maranhão	São Luiz
Paraíba	Santa Terezinha, João Pessoa
<b>Sudeste</b>	
Minas Gerais	Barbacena, Itabira, Lavras, Patrocínio, Juiz de Fora
São Paulo	Salesópolis, Barra do Chapéu, Paraibuna, Cajamar, Pilar do Sul
Rio de Janeiro	Itaboraí, Paraíba do Sul
<b>Sul</b>	
Paraná	São José da Boa Vista, São Mateus do Sul, Wenceslau Brás, Ivaí
Santa Catarina	Içara, Anitápolis, Itajaí, Araranguá
Rio Grande do Sul	Pelotas, Taquara
<b>Centro-Oeste</b>	
Mato Grosso do Sul	Campo Grande, Mundo Novo, Angélica

### Métodos

#### *Preparo do extrato etanólico de própolis (EEP)*

O extrato foi preparado com base no procedimento descrito por Park et al.<sup>11</sup> com modificações propostas por Matsuda<sup>12</sup>. Para tal, fez-se a adição de 15 mL de etanol a 80% em 0,3 g de própolis triturada,

previamente desidratada em estufa a 60 °C, e procedeu-se incubação por 10 minutos, sob agitação. Em seguida, fez-se a centrifugação a 3.000 rpm por 3 min (centrífuga Hermle Z 320) e o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro (Advantec 5A com 0,06 mg cinzas/90 mm) e transferido para um balão volumétrico de 50 mL. O mesmo procedimento foi realizado por mais três vezes, porém com 10 mL de etanol a 80%. O resultado de cada extração foi transferido para o mesmo balão e o volume completado com etanol a 80%.

#### *Umidade*

O teor de umidade foi determinado por gravimetria pela perda de água por secagem sob infravermelho, em analisador de umidade modelo MA 45 marca Sartorius<sup>12,14</sup>.

#### *Resíduo mineral fixo*

A determinação foi realizada por gravimetria, por incineração em mufla, marca EDG Equipamentos modelo EDGCON 1P, a 550 °C<sup>12,15</sup>.

#### *Cera*

O teor de cera foi determinado a partir de 1 g de amostra, previamente triturada, que foi pesada em cartucho de celulose e extraída em aparelho Soxhlet com 110 mL etanol absoluto por 6 horas. Após esse processo, o extrato obtido permaneceu por 24 h a 5 °C. Em seguida, foi realizada a filtração a frio em papel de filtro nº 3, previamente pesado. O papel de filtro foi seco em estufa a 105 °C e, em seguida, colocado em dessecador até peso constante. Após a filtração, o papel foi novamente pesado<sup>12,16,17</sup>. Para o cálculo, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Cera (\%)} = (P3 - P2) / P1$$

Sendo: P1 = massa inicial da amostra (g); P2 = peso do papel de filtro (g); P3 = peso do papel de filtro + cera (g)

#### *Massa mecânica*

A partir do resíduo da determinação do teor de cera, foi determinada a massa mecânica. Para tanto, o cartucho de celulose contendo o resíduo foi seco em estufa a 80 °C por 2 horas e, em seguida, foi colocado em dessecador e pesado. Esse procedimento foi repetido até peso constante<sup>12,17</sup>.

#### *Substâncias solúveis em etanol*

A partir do EEP foi determinada a quantidade de substâncias solúveis em etanol pesando, em pesa-filtro previamente tarado, 3 g de extrato etanólico, e submetido à secagem em banho-maria, sob agitação ocasional, até evaporação. Por fim, o resíduo foi seco em estufa à temperatura de 105 °C até peso constante<sup>12</sup>.

#### *Índice de oxidação*

Para a determinação do índice de oxidação, foi pesado 0,2 g de amostra de própolis, dissolvida em 5 mL de álcool etílico e deixada em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, foram acrescentados 100 mL de água destilada e a solução filtrada em papel de filtro nº 3. A 1 mL do filtrado foram adicionados 40 mL de água destilada e 1 mL do ácido sulfúrico a 20%. A mistura foi agitada por 1 min e, depois, foi acrescentado 5µL de permanganato de potássio 0,1 N. Com o auxílio de um cronômetro foi medido o tempo, em segundos, que corresponde ao tempo gasto para o desaparecimento da cor rosa, a qual determina o índice de oxidação<sup>12,16</sup>.

#### *Determinação qualitativa de compostos fenólicos*

A determinação do espectro de absorção dos extratos etanólicos de própolis foi realizada segundo o método descrito por Park et al.<sup>18</sup> e Matsuda<sup>12</sup>, e os espectros de absorção na região UV-visível foram determinados na faixa de comprimento de onda de 195 a 450 nm, em espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1700).

#### *Determinação quantitativa de compostos fenólicos*

A determinação dos compostos fenólicos totais, com base em ácido gálico, foi realizada a partir do EEP, de acordo com a metodologia descrita por Woisky<sup>19</sup>, Marcucci<sup>20</sup> e Matsuda<sup>12</sup>. A curva de calibração foi feita usando-se uma solução padrão de ácido gálico 1 mg/mL em etanol, no intervalo de 0,1-1,5 mg/mL. Foi estabelecida a equação da reta utilizando-se o método da regressão linear. A absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1700) em comprimento de onda de 760 nm, em cubetas de vidro de 1 cm de caminho óptico. O teor de fenólicos totais em ácido gálico foi calculado conforme a seguinte fórmula:

$$F (\%) = Abs \times CA \times FD / m$$

Sendo: F (%) = Teor de fenólicos totais em ácido gálico em porcentagem (%) de amostra seca; CA = coeficiente angular; FD = fator de diluição; d = massa de própolis testada (g)

#### Determinação quantitativa de flavonoides totais

A determinação quantitativa de flavonoides totais, com base em quercetina, foi realizada a partir do EEP, conforme metodologia descrita por Ikegaki<sup>21</sup> e Matsuda<sup>12</sup>. Fez-se uma curva padrão com quercetina, no intervalo de 0,01-0,2 mg/mL. Foi estabelecida a equação da reta utilizando-se o método da regressão linear. A absorvância das amostras foi medida em espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1700) em comprimento de onda de 425 nm, em cubetas de vidro de 1 cm de caminho óptico. O teor de flavonoides foi calculado conforme a seguinte fórmula:

$$TF (\%) = C_{(mg/mL)} \times 100 / d$$

Sendo: TF (%) = Teor de flavonoides totais em quercetina em porcentagem (%) de amostra seca; C = concentração; d = densidade do extrato (g/mL)

#### Análise estatística

As regiões foram comparadas, inicialmente, em relação a cada característica em estudo por ANOVA *one-way* para a comparação das médias, e esta técnica não produziu um modelo significativo para algumas características (umidade, resíduo mineral fixo, cera, massa mecânica, sólidos solúveis em etanol e fenólicos totais). Aplicou-se, então, o teste não paramétrico equivalente, o teste de mediana de Mood, que apresenta

um intervalo de confiança de 5% para a mediana de cada região, tornando possível a ordenação das mesmas. Para a análise de índice de oxidação e flavonoides totais, os dados foram tratados por meio de ANOVA *one-way*, seguido de testes de comparação múltipla (teste de Tukey) para identificação dos contrastes significativos. Em todas as análises estatísticas considerou-se um nível de significância de 0,05 na tomada de decisões<sup>22</sup>. Os cálculos foram realizados utilizando-se o software estatístico MINITAB 14.1.0 (Minitab Inc.)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Determinações quantitativas

O resultado das determinações de umidade, resíduo mineral fixo, cera, massa mecânica, fenólicos totais, flavonoides totais, substâncias solúveis em etanol e índice de oxidação está disposto nas Tabelas 2, 3, 4 e 5, distribuídos conforme a região do país onde foram coletadas as amostras.

Em relação ao teor de umidade, o teste de Mood apontou diferenças significativas entre algumas regiões (valor-p = 0,000). A região Nordeste (NE) foi estatisticamente semelhante à região Sul (SU), cujas medianas foram, respectivamente, 4,54% e 4,48%, e o mesmo ocorreu entre as regiões Sudeste (SE) e Centro-Oeste (CO), respectivamente 6,30% e 6,64%. Entre todas as amostras analisadas, apenas a procedente do município de Santa Teresina (NE) apresentou umidade acima do limite máximo de 8% estabelecido em legislação<sup>1</sup>. Variações no teor de umidade podem estar relacionadas ao local onde a própolis é depositada dentro da colmeia, pois é possível que quanto maior o contato

**Tabela 2.** Determinações quantitativas em amostras de própolis da região Nordeste e limites estabelecidos pelo MAPA

Município	Umidade (%m/m)	RMF (%m/m)	Cera (%m/m)	MM (%m/m)	SSE (%m/m)	IO (segundos)	Fenólicos Totais (%)	Flavonoides Totais (mg/g)
Mucuri	3,61 ± 0,02	1,70 ± 0,05	9,04 ± 0,10	28,35 ± 0,19	42,90 ± 0,30	4,67 ± 0,58	9,72 ± 0,27	3,84 ± 0,10
Irecê	4,30 ± 0,02	2,84 ± 0,05	11,50 ± 0,16	31,50 ± 0,10	45,70 ± 0,36	5,67 ± 0,58	7,60 ± 0,10	21,85 ± 0,10
Palmeras	4,29 ± 0,03	2,27 ± 0,07	12,43 ± 0,40	32,76 ± 0,25	47,50 ± 0,42	4,67 ± 0,58	5,09 ± 0,23	9,24 ± 0,31
Lençóis	4,55 ± 0,05	2,54 ± 0,11	9,20 ± 0,30	38,50 ± 0,30	35,82 ± 0,24	6,33 ± 0,58	2,77 ± 0,22	1,30 ± 0,09
João Câmara	4,50 ± 0,02	3,07 ± 0,09	6,56 ± 0,19	29,15 ± 0,25	46,73 ± 0,28	7,33 ± 0,58	3,43 ± 0,25	24,28 ± 0,16
São Luiz	2,96 ± 0,04	18,70 ± 0,26	2,92 ± 0,11	56,81 ± 0,28	36,11 ± 0,15	3,67 ± 0,58	0,95 ± 0,09	0,36 ± 0,04
Santa Terezinha	9,89 ± 0,09	2,09 ± 0,07	11,80 ± 0,26	29,45 ± 0,27	62,50 ± 0,37	3,00 ± 0,00	29,52 ± 0,20	33,15 ± 0,24
João Pessoa	2,26 ± 0,05	3,50 ± 0,10	8,85 ± 0,30	26,80 ± 0,26	54,79 ± 0,24	4,33 ± 0,58	27,50 ± 0,36	23,07 ± 0,16
Requisitos em Legislação	Máximo 8%	Máximo 5%	Máximo 25%	Máximo 40%	Mínimo 35%	Máximo 22 seg	Mínimo 5%	Mínimo 0,5% ou 5 mg/g

Média ± desvio padrão de três determinações; RMF: resíduo mineral fixo; MM: massa mecânica; SSE: substâncias solúveis em etanol; IO: índice de oxidação.

**Tabela 3.** Determinações quantitativas em amostras de própolis da região Sudeste e limites estabelecidos pelo MAPA

Município	Umidade (%m/m)	RMF (%m/m)	Cera (%m/m)	MM (%m/m)	SSE (%m/m)	IO (segundos)	Fenólicos Totais (%)	Flavonoides Totais (mg/g)
Barbacena	6,30 ± 0,04	2,91 ± 0,07	7,47 ± 0,22	29,65 ± 0,10	56,87 ± 0,15	7,33 ± 0,58	7,89 ± 0,29	49,83 ± 0,15
Itabira	6,30 ± 0,03	2,90 ± 0,05	8,36 ± 0,14	30,54 ± 0,10	54,38 ± 0,18	6,33 ± 0,58	8,37 ± 0,26	43,87 ± 0,16
Lavras	6,19 ± 0,01	2,85 ± 0,06	8,33 ± 0,15	29,82 ± 0,10	58,07 ± 0,15	6,00 ± 0,00	10,88 ± 0,21	49,30 ± 0,20
Patrocínio	6,20 ± 0,02	2,90 ± 0,04	7,41 ± 0,21	29,89 ± 0,18	56,48 ± 0,14	5,33 ± 0,58	15,76 ± 0,24	49,41 ± 0,25
Juiz de Fora	5,75 ± 0,01	3,03 ± 0,09	7,65 ± 0,19	33,60 ± 0,10	56,48 ± 0,25	7,00 ± 0,00	19,43 ± 0,21	45,93 ± 0,15
Salesópolis	6,20 ± 0,04	2,83 ± 0,05	7,36 ± 0,15	33,16 ± 0,17	60,81 ± 0,21	8,00 ± 0,00	9,55 ± 0,27	25,05 ± 0,09
Barra do Chapéu	7,00 ± 0,01	2,79 ± 0,06	6,80 ± 0,14	31,23 ± 0,20	61,04 ± 0,15	4,67 ± 0,58	11,31 ± 0,36	38,60 ± 0,15
Paraíba	6,40 ± 0,02	1,95 ± 0,05	9,33 ± 0,17	33,51 ± 0,11	61,59 ± 0,14	9,33 ± 0,58	8,82 ± 0,26	39,70 ± 0,15
Cajamar	5,44 ± 0,01	2,80 ± 0,04	6,79 ± 0,13	33,37 ± 0,19	62,14 ± 0,18	7,67 ± 0,58	12,15 ± 0,20	41,69 ± 0,18
Pilar do Sul	6,20 ± 0,03	2,60 ± 0,09	9,30 ± 0,13	30,33 ± 0,23	63,32 ± 0,21	6,00 ± 0,00	8,12 ± 0,22	42,40 ± 0,14
Itaboraí	7,51 ± 0,01	3,26 ± 0,05	7,76 ± 0,08	31,13 ± 0,12	61,10 ± 0,20	8,00 ± 0,00	11,95 ± 0,29	52,70 ± 0,14
Paraíba do Sul	6,13 ± 0,02	2,76 ± 0,05	7,41 ± 0,18	30,61 ± 0,14	58,93 ± 0,14	9,00 ± 0,00	11,20 ± 0,23	45,41 ± 0,12
Requisitos em Legislação	Máximo 8%	Máximo 5%	Máximo 25%	Máximo 40%	Mínimo 35%	Máximo 22 seg	Mínimo 5%	Mínimo 0,5% ou 5 mg/g

Média ± desvio padrão de três determinações; RMF: resíduo mineral fixo; MM: massa mecânica; SSE: substâncias solúveis em etanol; IO: índice de oxidação.

**Tabela 4.** Determinações quantitativas em amostras de própolis da região Sul e limites estabelecidos pelo MAPA

Município	Umidade (%m/m)	RMF (%m/m)	Cera (%m/m)	MM (%m/m)	SSE (%m/m)	IO (segundos)	Fenólicos Totais (%)	Flavonoides Totais (mg/g)
São José da Boa Vista	5,33 ± 0,10	2,91 ± 0,08	5,49 ± 0,15	34,96 ± 0,10	56,22 ± 0,17	5,33 ± 0,58	12,19 ± 0,16	38,51 ± 0,13
São Mateus do Sul	5,26 ± 0,04	2,37 ± 0,08	5,87 ± 0,12	32,65 ± 0,12	54,93 ± 0,13	4,00 ± 0,00	10,48 ± 0,22	18,12 ± 0,08
Wenceslau Brás	5,23 ± 0,02	3,24 ± 0,10	6,20 ± 0,20	30,40 ± 0,21	57,06 ± 0,12	4,67 ± 0,58	10,68 ± 0,20	40,70 ± 0,10
Ivaí	5,35 ± 0,03	3,43 ± 0,08	6,55 ± 0,23	32,29 ± 0,20	56,00 ± 0,18	3,00 ± 0,00	12,80 ± 0,17	30,90 ± 0,11
Içara	3,49 ± 0,02	2,42 ± 0,08	10,00 ± 0,12	30,66 ± 0,16	50,87 ± 0,15	7,33 ± 0,58	10,49 ± 0,33	3,91 ± 0,15
Anitápolis	3,27 ± 0,03	2,02 ± 0,09	8,56 ± 0,15	27,86 ± 0,10	51,51 ± 0,10	5,67 ± 0,58	5,15 ± 0,27	7,47 ± 0,14
Itajaí	6,45 ± 0,06	2,77 ± 0,08	10,61 ± 0,28	29,65 ± 0,24	43,83 ± 0,24	3,00 ± 0,00	7,20 ± 0,28	24,03 ± 0,08
Araranguá	3,22 ± 0,07	2,55 ± 0,06	10,35 ± 0,28	29,22 ± 0,25	50,11 ± 0,14	5,33 ± 0,58	5,80 ± 0,28	24,67 ± 0,20
Pelotas	2,58 ± 0,03	1,70 ± 0,05	6,34 ± 0,16	31,72 ± 0,14	57,54 ± 0,10	10,00 ± 0,00	5,91 ± 0,26	14,50 ± 0,09
Taquara	4,60 ± 0,02	1,56 ± 0,06	7,12 ± 0,13	28,82 ± 0,20	58,07 ± 0,12	9,00 ± 0,00	5,27 ± 0,27	14,48 ± 0,06
Requisitos em Legislação	Máximo 8%	Máximo 5%	Máximo 25%	Máximo 40%	Mínimo 35%	Máximo 22 seg	Mínimo 5%	Mínimo 0,5% ou 5 mg/g

Média ± desvio padrão de três determinações; RMF: resíduo mineral fixo; MM: massa mecânica; SSE: substâncias solúveis em etanol; IO: índice de oxidação.

**Tabela 5.** Determinações quantitativas em amostras de própolis da região Centro Oeste e limites estabelecidos pelo MAPA

Município	Umidade (%m/m)	RMF (%m/m)	Cera (%m/m)	MM (%m/m)	SSE (%m/m)	IO (segundos)	Fenólicos Totais (%)	Flavonoides Totais (mg/g)
Campo Grande	7,66 ± 0,06	3,26 ± 0,09	5,62 ± 0,15	31,90 ± 0,20	56,40 ± 0,20	3,67 ± 0,58	13,22 ± 0,24	41,14 ± 0,12
Mundo Novo	7,17 ± 0,06	3,60 ± 0,04	12,23 ± 0,25	35,22 ± 0,22	41,43 ± 0,31	2,33 ± 0,58	5,89 ± 0,24	14,78 ± 0,14
Angélica	5,13 ± 0,06	3,51 ± 0,07	14,67 ± 0,41	37,10 ± 0,23	38,56 ± 0,20	4,00 ± 0,00	5,37 ± 0,25	5,30 ± 0,17
Requisitos em Legislação	Máximo 8%	Máximo 5%	Máximo 25%	Máximo 40%	Mínimo 35%	Máximo 22 seg	Mínimo 5%	Mínimo 0,5% ou 5 mg/g

Média ± desvio padrão de três determinações; RMF: resíduo mineral fixo; MM: massa mecânica; SSE: substâncias solúveis em etanol; IO: índice de oxidação.

com o ambiente externo, maior a influência deste sobre o teor de água da própolis, resultando em maior ou menor umidade<sup>23</sup>.

Funari e Ferro<sup>24</sup> observaram, em própolis do município de Cabreúva (SP), teores de umidade variando de 10,86% a 11,00%. É necessário considerar que os autores fizeram uso do método de secagem convencional, em estufa a 105 °C, e relacionaram os resultados não apenas à perda de água, mas também à perda de compostos aromáticos. Segundo Melo e Almeida-Muradian<sup>14</sup> o método de análise empregado para determinar esse parâmetro influencia no resultado final. As pesquisadoras compararam cinco métodos gravimétricos (estufa convencional a 100 °C, estufa a vácuo a 70 °C, dessecador com ácido sulfúrico, secagem por radiação infravermelha e liofilização) e um volumétrico (titulação Karl Fisher) para determinar a umidade em amostras de pólen apícola desidratado, encontrando valores que variaram significativamente de acordo com o método. A secagem por radiação infravermelha foi considerada a maneira mais precisa para determinar a umidade das amostras.

O resíduo mineral fixo evidencia o grau de substâncias residuais não voláteis presentes na própolis, sendo o limite máximo estabelecido em legislação de 5%<sup>1</sup>. Cunha et al.<sup>25</sup> analisaram amostras de São Paulo e Minas Gerais e observaram valores de 3,80% a 4,23% e 2,55% a 3,25%, respectivamente; enquanto Silva et al.<sup>26</sup> encontraram valores de 1,13% a 1,70% em amostras colhidas na cidade de Areia, no estado da Paraíba. Entre as regiões, com base no teste de Mood, a mediana dos valores variou estatisticamente (valor-p = 0,004), havendo igualdade estatística apenas entre amostras procedentes do NE, SE e SU, respectivamente 2,57%, 2,80% e 2,50%, que diferiram significativamente das amostras procedentes do CO (3,47%). Apenas a própolis procedente da cidade de São Luiz (NE) mostrou teor de resíduo mineral fixo acima do limite máximo estabelecido pelo MAPA, o que pode indicar contaminação por terra, areia ou outros resíduos, que pode ter ocorrido durante a coleta e manipulação do produto.

O teor de cera variou significativamente entre algumas regiões pelo teste de Mood (valor-p = 0,012). As medianas das amostras procedentes do NE e CO, respectivamente 9,03% e 10,84%, foram semelhantes estatisticamente, e as medianas das amostras procedentes do SU e SE, respectivamente 7,71% e 7,83%, também. Gregório<sup>27</sup> determinou o teor de cera em amostras de própolis da cidade de Cajuru (SP) e encontrou valores

de 7,44 a 15,76%, enquanto Funari e Ferro<sup>24</sup> encontraram média de apenas 2,25% de cera em amostras provenientes da Serra do Japi (SP), valor próximo ao observado na própolis da cidade de São Luiz (2,92%). Bastos<sup>28</sup> observou valores de 20,86 a 35,53% em amostras provenientes de Minas Gerais, e Bastos et al.<sup>29</sup> valores de 3,4 a 74,6% em amostras coletadas na região sudoeste de Mato Grosso. As abelhas podem incorporar mais cera à própolis durante os períodos em que as resinas são escassas ou de difícil coleta, e períodos em que a vedação da colmeia deve ser maior, como no inverno<sup>23,26</sup>. Quantidade elevada de cera é a principal causa de turvação dos extratos de própolis, quando armazenados em baixas temperaturas<sup>19</sup>. Além disso, quanto maior o teor de cera, menor o teor de demais substâncias, como resinas e bálsamos, onde são encontrados os compostos bioativos<sup>24</sup>.

O teor de massa mecânica refere-se às partículas incorporadas à própolis durante o beneficiamento pelas abelhas ou no processo de retirada das colmeias (fragmentos de folhas, pedaços de insetos)<sup>30</sup>. Pelo teste de Mood não houve igualdade entre as medianas das regiões (valor-p = 0,014). A região SE apresentou mediana estatisticamente semelhante às das regiões NE e SU, respectivamente 31,40%, 34,16% e 30,82%, enquanto as medianas observadas nas regiões NE e SU foram significativamente menores a mediana da região CO (34,74%). Matsuda<sup>17</sup> e Bastos<sup>28</sup> avaliaram o teor de massa mecânica em amostras de própolis provenientes de Minas Gerais e encontraram valores de 28,90 a 30,30% e 22,25 a 40,73%, respectivamente. Funari e Ferro<sup>24</sup> encontraram valor médio de 35,22% em amostras provenientes da Serra do Japi (SP). A legislação brasileira estipula valor máximo de 40% para este parâmetro<sup>1</sup>, de modo que a própolis de São Luiz (NE) foi a única a ser classificada fora do padrão.

Em relação ao teor de substâncias solúveis em etanol, entre algumas regiões avaliadas foram observadas variações pelo teste de Mood (valor-p = 0,000). A região NE, cuja mediana foi de 46,51%, diferiu significativamente das regiões SE e SU, respectivamente 59,27% e 53,62%, porém foi estatisticamente semelhante à região CO (45,46%). A região SE apresentou mediana superior e estatisticamente diferente das demais regiões. Estudos indicam que alguns compostos bioativos são solúveis em etanol<sup>12,31</sup>, de modo que o interesse é por própolis com elevados teores desse parâmetro em razão de um maior potencial terapêutico. Ikegaki<sup>21</sup> analisou amostras de própolis provenientes da região do Sul do Brasil, encontrando valores que variaram de 54,5 a

60,5%. Alencar<sup>32</sup>, avaliando amostras provenientes da região Nordeste e Sudeste, encontrou valores de 24,1 a 61,0%, respectivamente.

O índice de oxidação é um parâmetro frequentemente utilizado para sugerir o tempo decorrido desde a colheita da própolis, o tipo de armazenamento e a atividade antioxidante da amostra. Altos índices de oxidação em própolis indicam longo período de armazenamento em temperaturas elevadas, seja no interior da colmeia ou em depósitos de armazenamento<sup>33</sup>, de modo que a legislação em vigor limita o índice em até 22 segundos. Com o teste de Tukey, pode-se verificar variações significativas (valor-p = 0,000), com exceção à região NE, cuja média (4,96%) foi estatisticamente semelhante à região SU (5,73%). A média do índice de oxidação na região SE foi de 7,05%, enquanto na região CO foi de apenas 3,33%. Bastos<sup>28</sup> avaliou o índice de oxidação de amostras provenientes de Minas Gerais e encontrou valores de 3,3 a 40,6 s.

Pelo teste de Mood pode-se verificar que, dada a dispersão de valores, o teor de compostos fenólicos nas quatro regiões foi estatisticamente igual (valor-p = 0,092), sendo NE = 9,72%; SE = 11,28%; SU = 8,60%; e CO = 8,16%. A legislação brasileira estabelece limite mínimo de 5% de compostos fenólicos em própolis, e nota-se que, em algumas amostras, os valores encontrados ficaram muito acima desse limite, como nas amostras de Santa Terezinha (NE) (29,52%) e João Pessoa (NE) (27,50%), sendo possível inferir maior atividade biológica a essas amostras. Os compostos fenólicos fazem parte de um grupo de compostos chamados de bioativos, substâncias não sintetizadas pelo organismo humano e que, quando presentes na dieta em quantidades significativas, contribuem para a prevenção de doenças graves, como alguns tipos de câncer, cardiopatias, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias<sup>34,35</sup>. Cunha et al.<sup>25</sup>, avaliando amostras de própolis provenientes de Sorocaba (SP), encontraram valor médio de 8,53%, enquanto Funari e Ferro<sup>24</sup> encontraram valor médio de 7,39% de fenólicos totais.

Quanto ao teor de compostos flavonoides, uma das classes mais estudadas de compostos fenólicos, o teste de Mood revelou a região SE com mediana estatisticamente superior as demais regiões (43,66 mg/g), enquanto as medianas das regiões NE (14,64 mg/g), SU (21,73 mg/g) e CO (20,41 mg/g), dada a dispersão dos dados, foram estatisticamente semelhantes. Nota-se que, na amostra

de São Luiz, onde foram encontrados os maiores teores de cera e resíduo mineral fixo, foram encontrados os menores teores de compostos fenólicos e flavonoides, de modo que pode-se inferir à essa amostra a menor atividade biológica entre as trinta e três analisadas. É necessário considerar que o método utilizado quantifica o teor de flavonoides com base em quercetina (flavonol), porém as amostras de própolis analisadas podem conter outras classes de flavonoides.

De modo geral, os flavonoides são frequentemente utilizados como marcadores taxonômicos, dada sua abundância relativa no reino vegetal, especificidade em algumas espécies, relativa facilidade de identificação, relativa estabilidade e acúmulo com pouca influência do meio ambiente<sup>36</sup>. Ikegaki<sup>21</sup> analisou amostras do Rio Grande do Sul e do Paraná, obtendo valores de 3,4 a 18,5 mg/g e 1,39 a 11,97 mg/g, respectivamente. Embora a própolis comercializada seja elaborada pela mesma espécie de abelha (*Apis mellifera*), o teor de flavonoides sofre variação com a estação do ano, localização geográfica e origem botânica da própolis<sup>2,3,26</sup>.

### Determinações qualitativas

Os espectros de absorção gerados na determinação qualitativa de compostos fenólicos por espectrofotometria na região ultravioleta-visível (UV-Scanning) variaram de 270 a 315 nm. A análise por espectrofotometria dos EEP fornece uma característica geral de todos os compostos fenólicos presentes na própolis. Como descrito por Markham<sup>37</sup>, os flavonoides também apresentam valores máximos de absorção na faixa de 250 a 350 nm.

Da região NE, as quatro amostras da Bahia apresentaram absorção no valor máximo entre 281 nm e 309 nm; as amostras da Paraíba, entre 271 nm e 281 nm; a amostra do Maranhão, de 278 nm; e a amostra do Rio Grande do Norte, absorção no valor máximo de comprimento de onda de 270 nm. Na região SE, as cinco amostras de Minas Gerais apresentaram absorção no valor máximo entre 303 nm e 312 nm, as cinco amostras de São Paulo entre 310 nm e 313 nm, e as duas amostras do Rio de Janeiro entre 312 nm e 314 nm. Das amostras da região SU, quatro delas, do Paraná, apresentaram absorção no valor máximo entre 301 nm e 308 nm; quatro, de Santa Catarina, entre 272 nm e 315 nm; e duas delas, do Rio Grande do Sul, absorção no valor máximo de comprimento de onda de 270 nm. Na região CO, as três amostras procedentes de Mato Grosso do Sul

apresentaram absorção no valor máximo entre 300 nm e 315 nm.

O teor de compostos fenólicos e, conseqüentemente, os espectros de absorção estão relacionados à origem botânica da própolis. Alencar et al.<sup>38</sup> encontraram absorção máxima de 300 nm em amostras de própolis coletadas nos estados de São Paulo e Minas Gerais, e os autores concluíram, ao analisarem o perfil químico das amostras, que a *Baccharis dracunculifolia* foi a principal fonte vegetal para a elaboração da própolis da região sudeste do Brasil, e que a composição da planta influenciou diretamente no teor de compostos fenólicos da própolis. Silva et al.<sup>4</sup>, ao analisarem amostras de própolis coletadas no estado do Alagoas, na região Nordeste do país, observaram absorção máxima de 282 nm e perfil químico indicando a *Dalbergia ecastophyllum* como fonte botânica, perfil este que influenciou no teor de compostos fenólicos e absorção da própolis.

## CONCLUSÃO

Das trinta e três amostras analisadas, somente seis deixaram de atender um ou mais parâmetros de identidade e qualidade estabelecidos em legislação, sendo cinco amostras da região Nordeste e uma amostra da região Sul. Nessas seis amostras, foram identificados dez parâmetros em desacordo, sendo quatro teores de flavonoides abaixo do limite mínimo de 5 mg/g (Murici/NE, Lençóis/NE, São Luiz/NE, Içara/SU), três teores de fenólicos abaixo do limite mínimo de 5% (Lençóis/NE, João Câmara/NE, São Luiz/NE), um teor de umidade acima de 8% (Santa Terezinha/NE), um mineral fixo acima de 5% (São Luiz/NE) e um teor de cera acima de 40% (São Luiz/NE).

As medianas das amostras da região NE foram estatisticamente semelhantes às amostras da região SU em cinco dos oito parâmetros quantitativos: teor de umidade, massa mecânica, índice de oxidação, fenólicos totais e flavonoides totais. Em amostras da região NE, foram encontrados tanto o maior quanto o menor teor de compostos fenólicos e flavonoides, respectivamente nas amostras de Santa Terezinha e São Luiz, de modo que se espera maior e menor atividade biológica nessas amostras, respectivamente. O teor de fenólicos foi o único parâmetro cuja mediana foi estatisticamente igual nas amostras das quatro regiões. O teor de flavonoides nas amostras da região sudeste foi bastante superior ao encontrado nas demais regiões.

A análise qualitativa dos compostos fenólicos confirmou a presença de flavonoides, mas há também outros grupos cuja absorção máxima está na faixa entre 270 nm e 315 nm.

---

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa concedida à Ligia Bicudo de Almeida Muradian; e ao Laboratório CETAL, pelo apoio técnico durante a coleta de dados.

---

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1, p. 18-23.
2. Salatino A, Teixeira EW, Negri G, Message D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2005;2(1):33-8.
3. Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol*. 2005;100(1-2):114-7.
4. Silva BB, Rosalen PL, Cury JA, Ikegali M, Souza VC, Esteves A, et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2008;5(3):313-6.
5. Ghisalberti VQ. Propolis: a review. *Bee World*. 1979;60(2):59-84.
6. Marcucci MC, Ferreres F, García-Viguera C, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP, et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol*. 2001;74(2):105-12.
7. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem*. 2004; 84(3):329-39.
8. Montpied P. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. *Mol Brain Res*. 2003;115(2):111-20.
9. Sawaya ACHF, Cunha IBS, Marcucci, MC. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. *Chem Central J*. 2011;5(27):1-10.
10. Serviço Nacional de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE. Exportação de cera de abelha (própolis), em bruto. [acesso 2011 nov 30]. Disponível em: [http://www.sebrae.com.br/setor/apicultura/sobre-apicultura/mercado/exportacoes/Exportacoes%20julho.pdf].
11. Park YK, Koo MH, Sato HH, Contado JL. Estudos de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. *Arq Biol Tecnol*. 1995;38(4):1253-9.
12. Matsuda AH. Caracterização e Controle de Qualidade de própolis proveniente de diversas regiões do Brasil. [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.

13. Garcia-Amoedo IH, Almeida-Muradian LB. Comparação de metodologias para determinação de umidade em geleia real. *Quím Nova*. 2002;25(4):676-9.
14. Melo ILP, Almeida-Muradian LB. Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. *Cienc Tecnol Aliment*. 2011;31(1):194-7.
15. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo-Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4. ed. Brasília (DF): Anvisa; 2005.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Decreto nº 78.840, de 25 de novembro de 1976. Aprova a Terceira Edição da Farmacopeia Brasileira e da Outras Providências. Brasília, DF, 6 jan 1977. Seção 1, Suplemento, p. 1.
17. Matsuda AH. Aplicação da técnica de irradiação gama para preservação de própolis. [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares; 2002.
18. Park YK, Ikegaki M, Alencar SM, Moura FF. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. *Honey Bee Sci*. 2000;21(2):85-90.
19. Woisky RG. Métodos químicos para controle de amostras de própolis. [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 1996.
20. Marcucci MC. Apostila de análise de própolis. Pindamonhangaba (SP): Instituto de Zootecnia; 1998.
21. Ikegaki M. Determinação de qualidade de própolis de *Apis mellifera* africanizada da região sul do Brasil: avaliação de algumas propriedades físico-químicas e biológicas da própolis. [tese de doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2001.
22. Costa Neto PLO. Estatística. São Paulo: Edgard Blücher; 1977.
23. Franco SL, Bruschi ML, Moura LPA, Bueno JHF. Avaliação farmacognóstica da própolis da região de Maringá. *Rev Bras Farmacogn*. 2000;9-10(1):1-10.
24. Funari CS, Ferro VO. Análise de própolis. *Cienc Tecnol Aliment*. 2006;26(1):171-8.
25. Cunha IBS, Awaya ACH, Caetano FM, Shimizu MT, Marcucci MC, Drezza TE, et al. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *J Braz Chem Soc*. 2004;15(6):964-70.
26. Silva RA, Rodrigues AE, Ribeiro MCM, Custódio AR, Andrade NED, Pereira WE. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. *Cienc Rural*. 2006;36(6):1842-8.
27. Gregório L.E. Influência da sazonalidade na composição polínica, no perfil químico e na atividade antimicrobiana da própolis produzida em Cajuru-SP. [dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2003.
28. Bastos EMAF. Origem botânica e indicadores de qualidade da "própolis verde" produzida no Estado de Minas Gerais. [tese de doutorado]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2001.
29. Bastos EMAF, Galbiati C, Loureiro EM, Scoaris DO. Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2011;63(5):1255-9.
30. Warakomska Z, Maciejewicz W. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. *Apidologie*. 1992;23:277-83.
31. Marston A, Hostettmann K. Separation and quantification of flavonoids. In: Andersen OM, Markham KR, organizador. *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. Londres: Taylor and Francis, 2006. p. 1-36.
32. Alencar SM. Estudo fitoquímico da origem botânica da própolis e avaliação da composição química de mel de *Apis mellifera* africanizada de diferentes regiões do Brasil. [tese de doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2002.
33. Asis, M. Propóleo, el oro púrpura de las abejas. La Havana: Centro de Información y Documentación Agropecuária; 1989.
34. Carratu E, Sanzini E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. *Annali dell' Instituto Superiore di Sanità*. 2005;41(1):7-16.
35. Horst MA, Lajolo FM. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. [acesso 2011 abr 12]. Disponível em: [http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/LinkAnexos/Biodisponibilidade.pdf].
36. Zuanazzi JAS. Flavonoides. In: Simões, CMO, Shenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR, organizadores. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre (RS): UFRG; 1999. p. 489-516.
37. Markham KR. Ultraviolet and visible absorption spectroscopy. In: Harborne JB, Mabry TJ, Mabry H. *The flavonoids*. Nova York: Academic Press; 1975. p. 47-61.
38. Alencar SM, Aguiar CL, Paredes-Guzmán J, Park YK. Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Cienc Rural*. 2005;35(4):909-15.