

## IDENTIDADE E QUALIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DE PRÓPOLIS

Amara Lina Franco Soares<sup>1</sup>, Paula Jéssica Bilezikdjian<sup>1</sup>, Perceli Gomes Elias<sup>2</sup>, Paulo Cesar Magaldi Medeiros<sup>2</sup>, Leoní Adriana de Souza<sup>2</sup>.

1Curso de Graduação em Farmácia. Faculdades Integradas do Vale do Ribeira (FIVR-UNISEPE). Registro, SP.

2Faculdades Integradas do Vale do Ribeira (FIVR-UNISEPE). Registro, SP.

### RESUMO

A própolis, um produto resinoso coletado por abelhas, de diferentes exsudados vegetais, é útil na manutenção e segurança da colmeia. Essa substância tem despertado o interesse de muitos pesquisadores devido às suas inúmeras propriedades terapêuticas, tais como anti-inflamatória, cicatrizante, antioxidante, antimicrobiana, anestésica, anticancerígena, dentre outras. O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros de identidade e qualidade de 08 diferentes tipos de extrato de própolis comercializados na Região do Vale do Ribeira – SP, bem como realizar algumas análises preconizadas pelo Ministério da Agricultura (características organolépticas, °Brix, % de extrato seco, teor de flavonoides totais, determinação qualitativa de flavonoides, formação de emulsão em água e análise de rotulagem) dos mesmos extratos. A identificação de suas propriedades tem por objetivo, além da pesquisa e desenvolvimento de novas drogas, a agregação de valor econômico à própolis bruta, criando uma fonte econômica de exploração agrícola e extrativismo autossustentável (MENEZES, 2005). Os resultados apresentados demonstram a importância das análises realizadas para determinação da qualidade de diferentes amostras de própolis.

**Palavras chaves:** Própolis - Anti-inflamatório - Cicatrizante - Antioxidante - Propriedades Terapêuticas.

### INTRODUÇÃO

A prática das medicinas naturais e alternativas tem direcionado um interesse cada vez maior sobre os produtos apícolas tais como mel, geléia real, pólen, própolis, dentre outros. Particularmente a própolis, sob a forma de extratos hidroalcoólicos, vem se destacando tanto pelas suas propriedades terapêuticas, tais como atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica e anticariogênica, quanto pela possibilidade de aplicação na indústria farmacêutica e alimentícia, na forma de alimentos funcionais. Assim, a própolis vem se revelando uma mola impulsora da apicultura e de seus desdobramentos comerciais.

A própolis, produto de apiários comercializado em paralelo ao mel, é um material resinoso de consistência viscosa elaborado pelas abelhas que coletam matéria-prima de diversas partes de plantas como brotos, cascas e exsudatos de árvores, transformando-as dentro da colmeia pela adição de secreções salivares, cera e pólen. Dessa maneira a composição da própolis é um reflexo direto da flora vegetal da qual se servem as abelhas (Burdock, 1998; Russo *et al.*, 2002).

Em geral a própolis é composta de 50% de resina e bálsamo, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias (BURDOCK, 1998). É um material quebradiço quando frio e se torna dúctil e maleável quando aquecido. Seu ponto de fusão é variável entre 60 – 70 °C sendo que pode atingir em alguns casos, até 100 °C. A coloração da própolis é dependente de sua procedência e pode variar do marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado, dependendo da flora de origem e idade. Possui um odor característico que pode variar de uma amostra para outra (Marcucci, 1996; Burdock, 1998).

O própolis é conhecida e utilizada pelo homem desde os tempos mais remotos. Os sacerdotes do antigo Egito a utilizavam frequentemente como substância medicinal e como parte integrante dos unguentos e cremes de embalsamar. Mais tarde, persas, romanos e incas também fizeram uso da própolis para tratar infecções (Pereira *et al.*, 2002). Da prática dos gregos originou-se o termo *própolis* onde *pro* significa “em defesa de” e *polis* “cidade”, isto é, em defesa da cidade ou da colmeia (Marcucci, 1996; Burdock, 1998). As abelhas de fato usam esta substância para protegê-las contra insetos e microrganismos empregando-as em finas camadas nas paredes internas das colmeias, para vedar buracos e rachaduras, reparar e fortalecer os favos de mel, proteger a entrada da colmeia, no preparo de locais assépticos para a postura da abelha rainha e na mumificação de insetos invasores (Bankova *et al.*, 2000). Costuma-se encontrar na colmeia pequenos animais ou parte deles envoltos em própolis, em perfeito estado de conservação, já que à própolis é também atribuída ação antimicrobiana, o que impede a decomposição do cadáver (Marcucci, 1996; Park *et al.*, 1998).

A complexidade composicional da própolis, em termos químicos, foi pioneiramente revelada pela técnica de cromatografia e espectrometria de massa, o que permitiu a detecção de mais de 150 componentes (Greenaway, 1991). É considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais, hoje mais de 300

constituintes já foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis (Burdock, 1998), dentre os quais: ácidos graxos e fenólicos, ésteres, ésteres fenólicos, flavonoides (flavonas, flavononas, flavonóis, di-hidroflavonóis, etc.), terpenos, esteroides, aldeídos e ácidos aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno (BURDOCK, 1998; MARCUCCI et al., 2001; PARK; ALENCAR; MASAHARU, 1999). Algumas vitaminas (B1, B2, B6, C, E) e minerais como manganês, ferro, cálcio e alumínio também já foram identificados em amostras de própolis (BURDOCK, 1998; MARCUCCI et al., 2001; PARK; ALENCAR; MASAHARU, 1999).

Os constituintes principais são os compostos fenólicos, que se caracterizam pela presença de pelo menos um grupo hidroxila ligado diretamente a um anel aromático. Estas substâncias na própolis são representadas pelas agliconas de flavonoides, ácidos fenólicos e seus ésteres, os quais são responsáveis pela bioatividade contra vários microrganismos patogênicos (Banskota *et al.*, 1998; Burdock, 1998).

Sabe-se que a ingestão de flavonoides interfere em diversos processos fisiológicos, e auxilia na absorção e na ação de vitaminas, por atuar nos processos de cicatrização, como antioxidantes, além de apresentarem atividade antimicrobiana (MENEZES, 2005). Pesquisas recentes sugerem que na própolis brasileira os ácidos fenólicos são bem mais abundantes que os flavonoides. Talvez seja essa particularidade um dos fatores responsáveis pela enorme preferência do mercado internacional em relação à própolis produzida no Brasil (FUNARI; FERRO, 2006; MARCUCCI, 1996; ORSI et al., 2005; PARK; ALENCAR; MASAHARU, 1999; PARK et al., 2002).

Um dos principais componentes químicos presente na própolis brasileira é o composto chamado artepillin C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico), um composto fenólico de baixa massa molecular encontrado somente em própolis brasileira, sendo considerado um marcador químico para este tipo de própolis.

Ainda que amplamente utilizada na medicina popular, por muito tempo a própolis foi considerada um subproduto das abelhas. Entretanto, o interesse de pesquisadores de todo o mundo vem sendo despertado pelas suas inúmeras propriedades terapêuticas. Extratos etanólicos, hidroalcoólicos e aquosos da própolis têm sido utilizados e analisados em diversas situações como agentes bactericidas, antivirais, fungicidas, anti-inflamatórios, antitripanossomais, antiparasitários, imunostimulantes, hepatoprotetores, antioxidantes, cicatrizante, anestésicos e até mesmo anticancerígenos

(FUNARI; FERRO, 2006; GHISALBERTI, 1979; MARCUCCI et al., 2001; VARGAS et al., 2004).

Em relação às suas propriedades farmacológicas, vários trabalhos nacionais e internacionais demonstram a diversidade de atividades biológicas da própolis e, dentre elas, a antimicrobiana. A ação bacteriostática e bactericida in vitro dos extratos de própolis tem sido testada em diferentes linhagens de bactérias (KORU et al., 2007; ORSI et al., 2005; TORRES et al., 2000). Os trabalhos apontam uma acentuada atividade da própolis principalmente contra bactérias Gram-positivas e ação limitada contra Gram-negativas. A menor sensibilidade das Gram-negativas deve-se provavelmente às diferenças na constituição química da parede celular destas bactérias (MARCUCI et al., 2001; MENEZES, 2005; PINTO et al., 2001; SILVA et al., 2006; VARGAS et al., 2004;). Quanto à ação fungicida, algumas linhagens de fungos, em especial o gênero *Candida*, revelam-se susceptíveis aos extratos de própolis (SFORCIN et al., 2001).

A identificação de suas propriedades tem por objetivo, além da pesquisa e desenvolvimento de novas drogas, a agregação de valor econômico à própolis bruta, criando uma fonte econômica de exploração agrícola e extrativismo autossustentável (MENEZES, 2005).

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

No Brasil, o “Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Extrato de Própolis”, presente na normativa nº. 03, de 19 de Janeiro de 2001 do MAPA, preconiza os limites para fixação de identidade e qualidade da própolis e visa manter a qualidade do extrato alcoólico de própolis brasileiro e determinar os requisitos mínimos de qualidade. Algumas dessas especificações são: determinar características sensoriais como aroma, cor, sabor, aspecto, características físico-químicas como teor mínimo de extrato seco (11% m/v), teor máximo de cera do extrato seco (1% m/m), teor mínimo de flavonoides (0,25% m/m) teor mínimo de compostos fenólicos (0,25% m/m), propriedades antioxidantes (máximo 22 segundos), não autorização de uso de aditivos,

critérios macroscópicos e microscópicos, acondicionamento, rotulagem, dentre outros (BRASIL, 2001).

Essa instrução normativa contém o anexo VI, que regulamenta os padrões para fixação de identidade e qualidade de própolis, e o anexo VII, que regulamenta a identidade e qualidade de extrato de própolis, proveniente da extração dos componentes solúveis em álcool neutro (grau alimentício).

Os métodos analíticos aplicados à pesquisas sobre a própolis têm evoluído ao longo dos últimos anos, impulsionados pela necessidade de identificar os componentes responsáveis por suas atividades farmacológicas, bem como para garantir a qualidade da mesma.

Por esse motivo, muito vem se discutindo sobre como reestabelecer padrões de qualidade da própolis, pelo fato desta obter ação terapêutica sobre muitas das suas substâncias, e não ter princípios ativos definidos. Diferentes países têm diferentes exigências na qualidade da própolis, maior quantidade de flavonoides, coloração verde e presença de artemisinina são exemplos. Atualmente, o Brasil considera a porcentagem de extrato seco na amostra como um dos principais parâmetros para estabelecer a qualidade da própolis.

Avaliar parâmetros de identidade e qualidade de diferentes marcas de extrato de própolis comercializados na Região do Vale do Ribeira – SP foi o objetivo desse trabalho.

## **METODO**

Foram obtidos 08 (oito) extratos de própolis de diferentes marcas e tipos, identificadas como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, comercializados na Região do Vale do Ribeira. Todas as amostras apresentavam o carimbo do Serviço de Inspeção Federal - SIF, estando sob supervisão sanitária do Ministério da Agricultura. Os estudos foram realizados no laboratório físico químico da empresa PRONATU – Laboratório de Produtos Naturais- LTDA, localizado na cidade de Pariquera – Açu/SP. As análises foram determinadas de acordo com a metodologia Adolfo Lutz, Marcucci e metodologias próprias adaptadas, conforme legislação vigente.

Os extratos foram submetidos às análises para determinação organoléptica, leitura do °Brix, determinação da % de extrato seco, determinação qualitativa de

flavonoides, teor de flavonoides totais, formação de emulsão em água e análise de rotulagem.

Os equipamentos utilizados foram Espectrofotômetro UV-Visível 752 UV Grating Spectrophotometer, Balança eletrônica – OHAUS – AS200, Estufa Microbacter – Estufa de incubação, Refratômetro de bancada – 2 WAJ – 950142 e Capela para exaustão de gases CE 0701.

Questões legais, como o registro do produto e da empresa, rotulagem e adequação da embalagem, segundo a legislação vigente RDC 360 (BRASIL, 2003<sup>TM</sup>) e RE 08 (Brasil, 2001<sup>TM</sup>) foram avaliadas, bem como, as características organolépticas e alguns parâmetros físico-químicos do produto de acordo com o Ministério da Agricultura (Brasil, 2001b).

### *Características organolépticas*

Foram realizadas análises sensoriais preconizadas pelo Ministério da Agricultura para afixação de identidade e qualidade de própolis, sendo elas: aspecto (límpido, turvo, homogêneo e heterogêneo), aroma (resinoso ou balsâmico), cor (âmbar, avermelhada ou esverdeada) e sabor (suave, forte, amargo e/ou picante). Procurou-se expressar os resultados dentro das possibilidades descritas pelo Ministério, visto que a avaliação é feita por meio dos órgãos do sentido e assumem, portanto, um aspecto subjetivo, próprio do analista (ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE APICULTORES CRIADORES DE ABELHAS MELÍFERAS EUROPEIAS, 1999).

As amostras foram inseridas em tubos de ensaio numerados (imagem 1) para visualização do aspecto e cor, posteriormente realizou aroma e sabor.

### *Grau Brix - °Brix*

O método utilizado foi o refratométrico, preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) e pela AOAC (1990 – Item 969.38B). Realizado através do Refratômetro de bancada – 2 WAJ – 950142, procedeu a leitura no grau na escala Brix e índice de refração. O °Brix é um método comparativo rápido para porcentagem de extrato na amostra de própolis, quando este se encontra na escala de 33° sabe-se que o

Extrato Seco encontra-se em torno de 11%, sendo estes valores o mínimo considerado pela legislação.

### ***Extrato Seco***

Método da Farmacopeia Brasileira 3ª Edição (adaptado), fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é aquecido em estufa, com evaporação total de toda matéria volátil (umidade) a temperatura regulada. O peso evaporado corresponde a perda por dessecação ou umidade, e o peso resultante da amostra correspondem ao extrato seco.

Utilizou-se cadinhos identificados e numerados (1 a 8) com caneta de retro, inseridos em estufa previamente aquecida, por 1 hora. Em seguida retirou-se da estufa com auxílio de uma pinça aonde foram colocados em dessecador até atingirem temperatura ambiente. Posteriormente realizou-se a pesagem anotando o peso exato (Ci).

Um mililitro (ml) de cada amostra foi colocado diretamente nos cadinhos correspondente através do método de pipetagem (imagem 2), e inseridos novamente em estufa regulada, por 1 hora, e em dessecador até temperatura ambiente. Posteriormente realizou-se a pesagem anotando o peso exato (Cf).

O calculo de % de extrato seco foi realizado através da formula:

$$\% \text{ de Extrato Seco na amostra} = \frac{(Cf - Ci) \times 100}{A}$$

A

Resultados obtidos para todas as amostras, expresso em % (massa/volume).

### ***Teor de Flavonoides Totais***

A concentração de flavonóides totais foi determinada através do método descrito por M.C Marcucci (1987). A metodologia baseia-se na quantificação espectrofotométrica de compostos flavonoides na presença de Cloreto de Alumínio

(AlCl<sub>3</sub>), através da formação de complexos estáveis entre o cátion alumínio com os flavonóides em meio metanólico.

A formação do complexo promove um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção na análise espectrofotométrica. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonóides nos tecidos vegetais. A leitura é feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se cloreto de alumínio a 2% em metanol (Marcucci, 1998).

Para quantificar o teor de flavonóides totais nas amostras, iniciou-se preparando a Solução de Cloreto de Alumínio, na qual dissolveu-se 0,5g de AlCl<sub>3</sub> em 10 ml de metanol a 15°C.

Transferiu-se 0,2 ml de cada amostra em balões volumétricos de 10 ml contendo 3 ml de metanol a 15°C, devidamente identificados, completou-se com metanol em seguida. Uma alíquota de 1 ml de cada solução foi transferidas para balões de 10 ml contendo 3 ml de metanol a 15°C, acrescentou-se 1ml da solução de cloreto de alumínio prepara anteriormente e completou para 10 ml com metanol a 15°C. As soluções foram agitadas e deixada em repouso por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada espectrofotometricamente a 425 nm.

O calculo para concentração de flavoides expressos em quercetina foi realizado a partir da seguinte formula:

$$X = \frac{Y}{0,005} \text{(equação padrão da quercetina)}$$

$$0,099703$$

Y = Leitura do espectro em absorbância.

X = concentração de flavonoides expressos em quercetina(µg/ml)

Com estes resultados obtidos, multiplicou-se os valores pelo fator de diluição 500 (diluição 1:50) e em seguida dividiu-se por 1000 para transformar µg em mg, resultado final expresso em mg/ml (balão 10 ml).

### *Determinação Qualitativa de Flavonoides*

Baseia-se na identificação de grupamentos característicos de compostos flavonoides através de reações com Hidróxido de Sódio 20%, Acetato de Chumbo 10% e Acido Clorídrico concentrado com fragmentos de magnésio metálico.

Para cada amostra de extrato foram dispostos 3 tubos de ensaio, nestes foram adicionado 1ml de alíquota do extrato. Em capela para exaustão de gases foram realizados os testes.

**1º teste:** no primeiro tubo adicionou-se 1 gota da solução de hidróxido de sódio a 20%. Para resultado positivo o que se verifica nesta reação é o aparecimento de coloração amarela que varia de intensidade.

**2º teste:** no segundo tubo adicionou-se 0,5 ml da solução de acetato de chumbo a 10 %. Na presença de flavonóides, a coloração desenvolvida pode variar amarelo/esverdeado, de acordo com o tipo de composto flavonoídico existente, também ocorre turvação e precipitação.

**3º teste:** no terceiro tubo adicionou-se de um a dois fragmentos de magnésio metálico e 0,5 ml de ácido clorídrico concentrado. A reação ocorre lentamente e se houver a presença de flavonóides há o aparecimento de uma coloração que vai do róseo ao castanho/avermelhado, dependendo dos grupos fenólicos.

### ***Formação de Emulsão em Agua***

Visto que a própolis é composta também por resinas, esta análise baseia-se na comprovação do produto, diluindo 10 gotas da amostra em 10 ml de água destilada, observando a formação de emulsão, com aspecto leitoso.

### ***Análise da Rotulagem***

Análise das embalagens e rotulagem, foi feita por meio de observação e comparação com as informações exigidas legalmente (Brasil, 2001<sup>TM</sup>, 2001b, 2003<sup>TM</sup>).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Todos resultados relatados para a Amostra 8 deverão ser desconsiderados para o método comparativo com os estabelecidos pelo Ministério, visto que o extrato estava com vencimento excedido tornando esses resultados portanto não confiáveis.

### *Características organolépticas*

Os extratos de própolis apresentaram um aroma resinoso e balsâmico característicos, cuja cor variava de âmbar – avermelhado a esverdeado, a amostra 4 apresentou a coloração avermelhada, e trata-se de um extrato obtido da própolis verde, sabor amargo e picante, porém em intensidades variadas. Pelo método comparativo, a amostra 5 apresentou um sabor em intensidade fraca, enquanto a amostra 7 se caracterizou por um sabor forte. Todas as amostras demonstraram aspecto líquido, límpido e brilhante, exceto a amostra 4 com aspecto fosco onde também notou-se a presença de pó, igualmente na amostra 8. O aroma evidenciado nas amostras foi o característico alcoólico, pelo método comparativo, a amostra 8 apresentou um aroma fracamente alcoólico (Tabela 2).

O exame organoléptico dos extratos de própolis merece destaque, pois pode indicar, antecipadamente, algumas características físico-químicas da amostra. Funari e Ferro (2006) ressaltam que a própolis esverdeada (chamada greenpropolis), típica de algumas localidades da Região Sudeste do Brasil, é a mais bem cotada no mercado internacional, sugerindo que existe uma associação entre sua cor e sua composição química, rica em ácidos fenólicos, principalmente em Artepillin C (amostras 4 e 7).

As três amostras observadas se apresentaram adequadas quanto ao aroma, cor, aspecto e sabor que caracterizam os extratos de própolis, não sendo encontrada discordância quanto às características descritas na legislação vigente para esta análise (BRASIL, 2001).

**Tabela 2** – Análises Organolépticas nas amostras de própolis

<b>Aroma</b>	<b>Cor</b>	<b>Sabor</b>	<b>Aspecto</b>
--------------	------------	--------------	----------------

<b>Amostra 1</b>	Característico	Âmbar/Marrom	Amargo e picante	Líquido/Límpido
<b>Amostra 2</b>	Característico	Âmbar/Marrom	Amargo e picante	Líquido/Límpido
<b>Amostra 3</b>	Característico	Âmbar/Marrom	Amargo e picante	Líquido/Límpido
<b>Amostra 4</b>	Característico	Âmbar/Avermelhado	Amargo e picante	Líquido/Fosco/PP*
<b>Amostra 5</b>	Característico	Âmbar/Marrom	Amargo e picante	Líquido/Límpido
<b>Amostra 6</b>	Característico	Âmbar/Marrom	Amargo e picante	Líquido/Límpido
<b>Amostra 7</b>	Característico	Esverdeado	Amargo e picante (forte)	Líquido/Límpido
<b>Amostra 8</b>	Característico (fraco)	Âmbar/Marrom	Amargo e picante (fraco)	Líquido/Límpido/PP*

\*PP – Presença de Pó

*Fonte: Autores.*

### **Grau Brix - °Brix**

Nas leituras do °Brix, utilizou-se como parâmetro a legislação vigente de 2001 da MAPA, que preconiza o mínimo de 33%. A tabela 3 e o gráfico 1 expõem os valores encontrados em cada uma das amostras. Observa-se que as amostras 2, 4, 5, 6 e 8 estão com valores inferiores ao mínimo permitido, portanto estas amostras provavelmente encontram-se com a porcentagem de extrato seco menor de 11%, o que estabelece o regulamento técnico para identidade e qualidade dos extratos de própolis, sugerida pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2001).

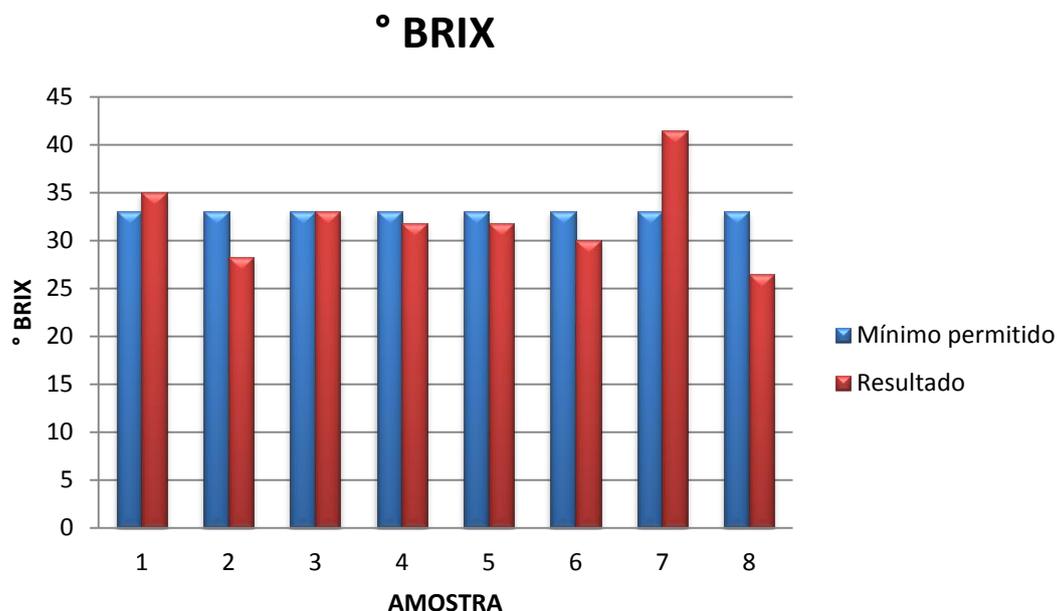
**Tabela 3** – Leitura de °Brix das amostras de extrato de própolis.

	<b>Resultados<sup>1</sup></b>	<b>Requisito do Ministério<sup>2</sup></b>
Amostra 1	35	Mínimo de 33°
Amostra 2	28,25	Mínimo de 33°
Amostra 3	33	Mínimo de 33°
Amostra 4	31,75	Mínimo de 33°

Amostra 5	31,75	Mínimo de 33°
Amostra 6	30	Mínimo de 33°
Amostra 7	41,50	Mínimo de 33°
Amostra 8	26,50	Mínimo de 33°
<b><i>1 – Resultados expressos na escala de grau °</i></b>	<b><i>2 – Limite proposto pelo Ministério da Agricultura</i></b>	

*Fonte: Autores.*

**Gráfico 1** – Leitura de °Brix (resultados das amostras x mínimo permitido)



*Fonte: Autores.*

#### *Extrato Seco*

Os resultados para a análise de extrato seco foram obtidos através do cálculo da fórmula descrita anteriormente nos métodos, representados na tabela 4, fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é aquecido em estufa, com evaporação total de toda matéria volátil (umidade) a temperatura regulada.

O cálculo de % de extrato seco foi realizado através da fórmula:

$$\% \text{ de Extrato Seco na amostra} = \frac{(Cf - Ci) \times 100}{A}$$

A

Resultados expressos em % (massa/volume).

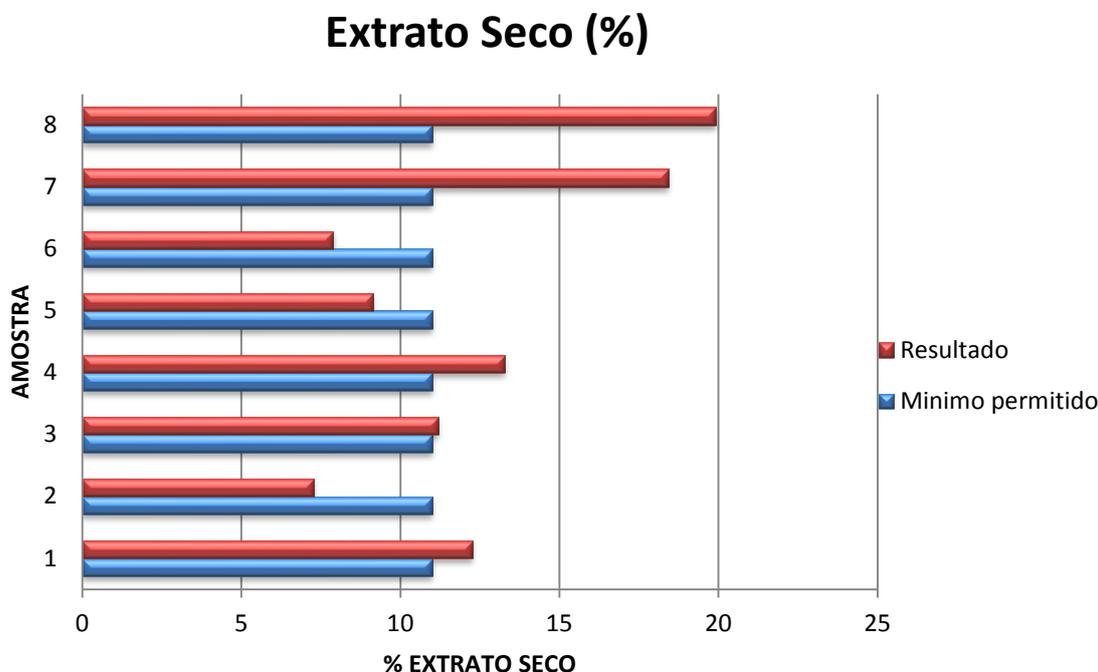
**Tabela 4** – Porcentagem de Extrato Seco nas amostras

	Ci (g)	Cf (g)	Aliquota (A)	Resultados <sup>1</sup>	Requisito do Ministério <sup>2</sup>
<b>Amostra 1</b>	60,6536	60,7762	1 ml	12,26%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 2</b>	60,8604	60,9331	1 ml	7,27%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 3</b>	60,5211	60,6330	1 ml	11,19%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 4</b>	59,1876	59,3203	1 ml	13,27%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 5</b>	60,5560	60,6472	1 ml	9,12%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 6</b>	60,8296	60,9085	1 ml	7,89%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 7</b>	60,8743	61,0585	1 ml	18,42%	Mínimo de 11%
<b>Amostra 8</b>	60,7187	60,9178	1 ml	19,91%	Mínimo de 11%
<b>1 – Resultados expressos Em porcentagem (%) Fonte: Autores.</b>				<b>2 – Limite proposto pelo Ministério da Agricultura</b>	

Com relação ao teor de Extrato Seco (%) das amostras, este variou de 7,27% para a amostra 2, até um máximo de 19,91% para a amostra 8, porém este resultado foi desprezado pelo fato da amostra se tratar de um produto com vencimento excedido, tornando então a porcentagem de 18,42%, amostra 7, como o valor máximo de extrato seco encontrado nas amostras (gráfico 2). Pode-se verificar que as amostras 2, 5 e 6 encontraram-se abaixo dos valores mínimos permitidos pela legislação, conforme já havia sido verificado através da leitura do °Brix, com resultados abaixo do mínimo exigido (33°). O Extrato Seco é uma das principais análises realizadas para garantir a qualidade do extrato de própolis, visto que este mostra a quantidade de própolis in natura presente naquele determinado produto, são valores que variam muito conforme estudos publicados. SATO (2002), por exemplo, obteve valores de extrato seco variando de 1,36% em uma amostra de própolis do Paraná até 95,29% em uma amostra de São

Paulo e, PARK *et al.* (2000) encontrou valores na faixa de 54,00% e 65,00% para amostras provenientes da região Sudeste do Brasil.

**Gráfico 2** - % de Extrato Seco (resultados das amostras x mínimo permitido)



*Fonte:* Autores.

### ***Teor de Flavonoides Totais***

Conforme exposto na tabela 5 e gráfico 3, os teores de flavonóides (%) nas amostras de própolis variaram de 0,526 mg/ml (amostra 8) a 3,57 mg/ml (amostra 7).

De acordo com a legislação em vigor no Brasil, a quantidade mínima de flavonóides no extrato alcoólico de própolis é de 0,50 mg/ml.

Pode-se observar que todas as amostras apresentam valores igual e superior a 0,50 mg/ml, portanto possuem a qualidade exigida no quesito de teor de flavonoides totais.

O cálculo para obtenção desses valores foi realizado conforme exposto em métodos, seguindo o que foi descrito por M.C Marcucci (1987).

Tabela 5 – Teor de Flavonoides Totais

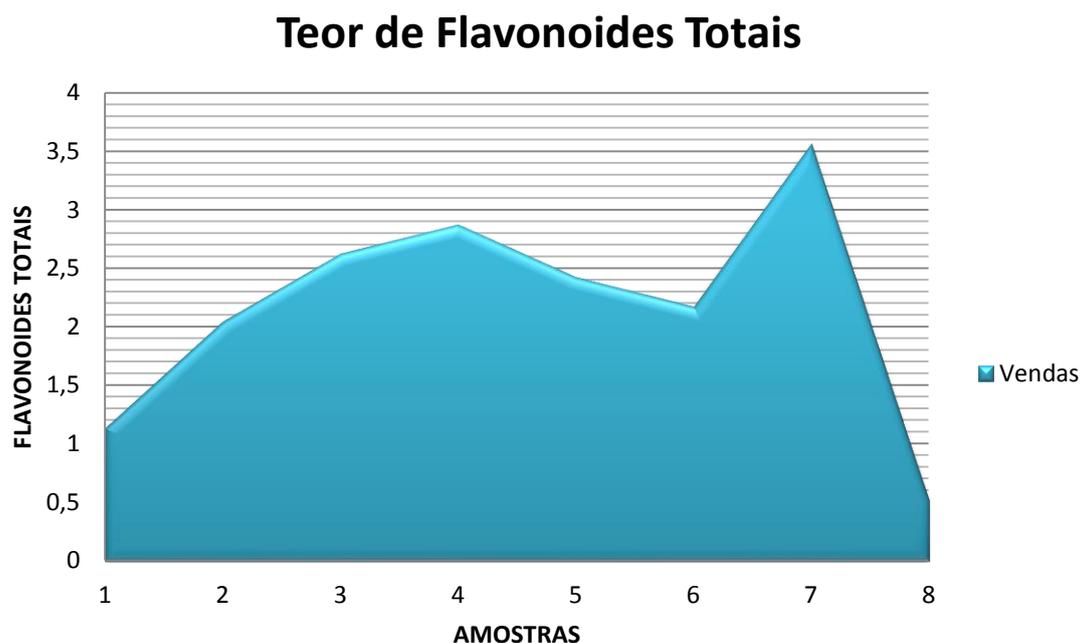
	<b>Leitura emABS*</b>	<b>Resultados<sup>1</sup></b>	<b>Requisito do Ministério<sup>2</sup></b>
<b>Amostra 1</b>	0,223	1,14	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 2</b>	0,404	2,05	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 3</b>	0,520	2,63	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 4</b>	0,570	2,88	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 5</b>	0,481	2,43	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 6</b>	0,430	2,18	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 7</b>	0,707	3,57	Mínimo de 0,50
<b>Amostra 8</b>	0,100	0,52	Mínimo de 0,50

*1 – Resultados expressos emmg/ml*  
*Fonte: Autores.*

**2 Limite proposto pelo Ministério da Agricultura**

**\*ABS - Absorbância**

Gráfico 3 – Teor de flavonoides totais nas amostras de própolis



*Fonte:* Autores.

WOISKY e SALATINO (1998) e MARCUCCI *et al.* (1998) encontraram valores baixos de flavonóides em amostras de própolis brasileiras (0,83mg/ml e 0,84mg/ml, respectivamente). Também TOMÁS-BARBERÁN *et al.* (1993) observaram baixos valores de flavonóides em amostras de própolis da Venezuela. Por outro lado, KUJUMGIEV *et al.* (1999) encontrou altos teores de flavonóides (42mg/ml) na própolis da Bulgária. KOSALEC *et al.* (2005), analisando extratos alcoólicos de própolis da Croácia, encontraram teores de flavonóides totais variando de 0,78 a 18,92mg/ml.

A grande variação da quantidade de flavonoides na própolis já é um fato comprovado, devido aos diversos fatores ligados na composição deste produto, como por exemplo, época de coleta, tipo de abelha e planta envolvida. Sabe-se que a própolis verde possui uma quantidade maior de grupos fenólicos, o que pode ser comprovado na amostra 7.

A qualidade da própolis esta ligada a diversos fatores e substancias que a compõe, não possuindo apenas um responsável pela ação terapêutica, o que explica as diferentes preferencias nacionais e internacionais. De fato, os grupos fenólicos são responsáveis por parte da ação terapêutica da própolis, porém a quantidade desse composto não esta diretamente ligada a um maior ou menor desempenho, simplesmente pelo fato desse produto obter outros responsáveis tão ou ainda mais importantes para o êxito da ação esperada.

### ***Determinação Qualitativa de Flavonoides***

Baseia-se qualitativamente para presença de flavonoides na amostra, resultados expressos em POSITIVO (Presença) e NEGATIVOS (Ausência). A tabela 6 demonstra os resultados obtidos nos três testes realizado, confirmando a presença de flavonoides em todos os extratos analisados, a quantidade, porém já foi estabelecido através da analise de teor de flavonoides totais.

Teste 1 – reagente: Hidróxido de Sódio 20%

Teste 2 – reagente: Acetato de Chumbo 10%

Teste 3 – reagente: Acido Clorídrico concentrado e fragmentos de magnésio metálico.

**Tabela 6** – Determinação Qualitativa de Flavonoides

	<b>Teste 1</b>	<b>Teste 2</b>	<b>Teste 3</b>
Amostra 1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 2	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 3	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 4	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 5	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 6	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 7	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Amostra 8	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

*Fonte:* Autores.

### ***Formação de Emulsão em Agua***

O objetivo desta análise é apenas a comprovação do produto, a própolis é composta por resina, que em contato com a água forma uma emulsão de aparência leitosa, o que foi comprovada em todas as 8 amostras (tabela 7).

**Tabela 7** – Formação de Emulsão em Agua

	<b>Resultado</b>
Amostra 1	POSITIVO
Amostra 2	POSITIVO
Amostra 3	POSITIVO
Amostra 4	POSITIVO
Amostra 5	POSITIVO
Amostra 6	POSITIVO

---

Amostra 7	POSITIVO
Amostra 8	POSITIVO

---

**Fonte: Autores.**

---

### ***Análise da Rotulagem***

O item 9 (Rotulagem) da Instrução Normativa nº. 3 - Anexo VII (Brasil, 2001b) estabelece exigências e proibições de informação referente a rotulagem, constatou-se então os erros descritos a seguir. Apenas a amostra 1 não possuía embalagem secundária e folheto informativo, o que totalizou 87,5% das amostras apresentando tal requisito. O logo do SIF que tem a finalidade de indicar produto sob inspeção federal é obrigatório na embalagem e deveria obter um tamanho mínimo de 2 cm, 100% das amostras apresentaram o logo do SIF, porém as amostras 2 e 7 (25% do total das amostras) estão de desacordo quanto ao tamanho, com medidas inferiores a 2cm.

A amostra 6, utilizou dizeres que indicavam a utilização pra “Saúde e Beleza”, o que é proibido conforme legislação. Informou a quantidade de extrato em 30%, e sabe-se que a quantidade de extrato é a porcentagem em própolis in natura, dados esses obtidos através da % de extrato seco, o que difere com a informação passada no rótulo. Lote e data de validade estavam descritas em todas as 08 amostras analisadas, porém a amostra 8 não especificou a data de fabricação, as demais estavam de acordo. A fiscalização e posteriormente advertências aos fornecedores que não cumprirem com as exigências, deverá ser algo constante e severo, visto que a concorrência poderá ser desleal e as informações contidas nos rótulos são as primeiras observações feitas pelo consumidor, definindo a escolha dele por um determinado produto, que muitas das vezes não apresentará a qualidade descrita, lesando o consumidor e os demais fornecedores.

### **CONCLUSÃO**

Os resultados apresentados demonstram a importância das análises realizadas para determinação da qualidade de diferentes amostras de própolis.

Das oito amostras analisadas, sete deixaram de atender um ou mais parâmetros de identidade e qualidade estabelecidos em legislação. Nessas seis amostras, foram identificados quatro parâmetros em desacordo, sendo dois referente as análises organolépticas (amostra 4 e 8), cinco no °Brix com valores abaixo do limite mínimo de 33° (amostras 2, 4, 5 ,6 e 8), três referente ao percentual de extrato seco, com valores inferior ao exigido de 11% (amostras 2, 5 e 6) e cinco amostras apresentaram desacordos quanto a análise de rotulagem (amostras 1, 2 ,7, 6 e 8). Teores de flavonoides totais, determinação qualitativa de flavonoides e formação de emulsão em agua, não apresentaram valores inferiores ao mínimo permitido. Pode se concluir que a Amostra 7 apresentou melhores resultados em comparação com as demais, possui uma alta quantidade de flavonoides e porcentagem de extrato seco, confirmando uma alta concentração de própolis.

Perante os resultados desse trabalho, podemos dizer que o Brasil, como um dos maiores produtores de própolis do mundo, ainda carece de padronização das análises e pesquisas que explorem e elucidem possíveis aplicações dessa substância, sendo necessário o desenvolvimento de estudos que relacionem sua composição química com a atividade biológica. Dessa maneira seria possível correlacionar o tipo de própolis com a sua aplicação terapêutica. Esta tarefa é indispensável para um mercado cada vez maior e mais exigente em todo o mundo.

## REFERENCIAS

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE APICULTORES CRIADORES DE ABELHAS MELÍFERAS EUROPEIAS. Proposta de Regulamento de Identidade e Qualidade de extrato de Própolis. *Mensagem Doce*, Florianópolis, v. 52, p. 19-20, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e do Abastecimento. *Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001*. Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Brasília, 2001.

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

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da Própolis. *Química Nova*, São Paulo, v. 19, p. 29-36, 1996.

MARCUCCI, M. et al. Chemical Composition of Brazilian from São Paulo State. *ZeitschriftNaturforschung.*, v.53, p.117-9, 1998

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; MASAHARU, F. F. A origem do conhecimento do homem sobre as virtudes alimentícias, curativas e profiláticas dos produtos das abelhas é bastante curiosa e interessante. *Revista OESP – Alimentação*, São Paulo, v. 27, p. 110-115, 1999.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; PIPPA, S. A. R.; LIMA, A. C. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fotoquímicas de sua origem vegetal. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, p. 997-1003, 2002.

PARK, Y. P.; MASAHARU, I.; SILVA, J. A. A.; ALCICI, N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 18, p. 313-318, 1998.

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

PEREIRA ADS, Seixas FRMS, Neto FRDA. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Quim Nova*. 2002;

SOUZA, J. P. B.; NIEGE, A. J. C.; FURTADO, R. J.; SOARES, A. E. E.; BASTOS, J. K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, v. 17, p. 85-93, 2007.