

# CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE E VERMELHA OBTIDOS POR EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO E EXTRAÇÃO ETANÓLICA

<sup>1</sup>Gabriele de A. Barreto, <sup>2</sup>Francine F. Padilha, <sup>3</sup>Bruna A. S. Machado

<sup>1</sup>Bolsista CNPq PIBIT, Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI  
CIMATEC, Salvador, Bahia

<sup>2</sup>Universidade Tiradentes – UNIT, Aracaju - Sergipe

<sup>3</sup>Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI CIMATEC, Salvador, Bahia

E-mails: <sup>1</sup>abreugabriele@gmail.com, <sup>2</sup>brunam@fieb.org.br, <sup>3</sup>fpadilha@yahoo.com.br


## RESUMO

Pesquisas sobre os diferentes tipos de vegetação afluíram o grande interesse da comunidade científica, pois com o desenvolvimento de novas tecnologias os compostos naturais puderam ser extraídos com larga estabilidade química, possibilitando melhor aproveitamento de seus benefícios para a saúde. O presente trabalho descreve a obtenção de compostos bioativos e/ou funcionais da própolis verde (Paraná) e vermelha (Alagoas) através da técnica de Extração Supercrítica (ESC) e extração etanólica de própolis (EEP). Assim como, dados sobre a caracterização da composição centesimal da própolis bruta. A própolis vermelha destacou-se em grande parte dos resultados das análises. Entretanto, a própolis verde do Paraná apresentou expressividade nas análises de DPPH (extrato supercrítico) e concentração inibitória mínima da bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*).

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os produtos naturais atualmente estudados, a própolis destaca-se pela sua gama de propriedades funcionais. A própolis é um produto elaborado durante a angariação de resinas e ceras pelas abelhas, da espécie *Apis melífera*, nos vegetais<sup>[1]</sup>. Comumente encontrada em regiões tropicais, a própolis possui um leque de características, sendo que mais de 200 substâncias já foram encontradas em diferentes espécies.

A própolis é constituída basicamente por resinas e bálsamos (55%), cera (30%), óleos voláteis (10%) e pólen (5%), incluindo também vitaminas (como provitaminas A e todas do complexo B), ésteres cafeinados, flavonoides e minerais (Al, Ca, Br, Fe, Mg, Si, Sr, Ti e Zn), entretanto, estes constituintes são afetados pela variabilidade genética da rainha e por sua diversidade geográfica<sup>[1]</sup>. Destaca-se ainda que a coloração da própolis varia do marrom passando por um tom esverdeado até o marrom avermelhado e o odor da própolis é característico, entretanto, varia de uma espécie para outra<sup>[2]</sup>.



Dentre os tipos de própolis já conhecidos, a própolis vermelha sobressai-se por dois motivos: 1) matriz pouco estudada e 2) elevado potencial, em relação aos tipos marrom e verde, de funções ativas antimicrobianas, antioxidante e, possivelmente, antitumoral. Os compostos fenólicos são os constituintes mais ativos, sendo cursores às atividades biológicas embolsadas pela própolis<sup>[3]</sup>. Estes compostos são encontrados em maior fração na própolis vermelha e enquadra-se no grupo 13 da própolis<sup>[4]</sup>. Estudos comprovaram a ação antibacteriana promovida pela própolis brasileira, com atenuada atividade contra bactérias Gram positivas e limitações para Gram negativas<sup>[3,5]</sup>.

As extrações de alguns compostos da própolis são dificultadas devido a mistura de componentes, sazonalidade, diversidade geográfica da flora e variabilidade genética das abelhas<sup>[6]</sup>. Grande parcela dos trabalhos relacionados à própolis executa o processo de extração alcoólica, para a impetração do extrato, onde ocorre a infusão do soluto (própolis bruta) em um solvente orgânico, que podem apresentar metais pesados na sua formulação, indo de encontro a problemas ambientais.

Existe, porém, o método de extração com gás carbônico liquefeito (extração com CO<sub>2</sub> supercrítico). Este gás liquefeito, CO<sub>2</sub>, possui a propriedade de dissolver as substâncias oleosas, além de uma vasta quantidade de outros componentes, deixando apenas componentes úteis contidos na própolis. Dentre as vantagens na utilização deste método estão a fácil eliminação dos solventes, já que são gasosos em temperatura ambiente e pressão normal; o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é fisiologicamente inerte e seguro; os extratos não sofrem hidrólise, oxidação, ou alterações térmicas; a adição de co-solventes aumenta a solubilidade da amostra, entre outros. Entretanto, o processo é caro e inviabiliza processos com produtos de baixo rendimento e valor agregado<sup>[7]</sup>.


O objetivo deste trabalho é descrever a obtenção de compostos bioativos e/ou funcionais da própolis verde, vermelha e marrom, de diferentes regiões geográficas, através da técnica de Extração Supercrítica (ESC), realizando a caracterização dos extratos quanto ao teor de compostos antioxidantes (Flavonoides, Compostos Fenólicos Totais e DPPH) e atividade antimicrobiana, comparando os resultados dos extratos obtidos por ESC com os apresentados pelos extratos elaborados por extração etanólica, denominada como extração convencional. Além disso, objetiva-se ainda realizar a caracterização da composição centesimal da própolis bruta (verde e vermelha) de diferentes origens geográficas.

## **2. METODOLOGIA**

### **Materiais**

Para a obtenção dos extratos bioativos foram utilizadas própolis verde oriunda do Paraná (doada pela Empresa Apis Nativa Produtos Naturais LTDA) e própolis vermelha, coletada em apiários do estado de Alagoas. As própolis em seu estado bruto foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer a -10° C. Antes da realização das análises de caracterização as mesmas foram trituradas e armazenadas, separadamente, em tubos de Falcon identificados e mantidos sob -10°C.

### **Caracterização da própolis bruta**



As determinações do teor de umidade, de proteína e cinzas totais foram realizadas de acordo com os métodos oficiais da AOAC<sup>[8]</sup>. Os lipídeos totais das própolis foram extraídos e quantificados pelo método de extração a frio<sup>[9]</sup>. A determinação do teor de minerais nas própolis foi realizada em fotômetro de chamas digital (Digmed), o teor de fibras foi obtido através do analisador automático de fibras (Aknon). A quantificação da atividade de água deu-se com a utilização do decágono, Lab Master (Novasina), com célula eletrolítica CM-2. As análises foram executadas em triplicatas.

### **Obtenção dos extratos por Tecnologia de Extração Supercrítica**

As extrações foram realizadas na unidade de Extração supercrítica *Supercritical Fluids* SFT-110 do SENAI/BA, equipada com bomba para dióxido de carbono líquido, cilindro de CO<sub>2</sub> (99% de pureza), rotâmetro e uma célula de extração de 100mL. O processo teve como início a saída do CO<sub>2</sub> em direção a bomba, onde o solvente líquido foi comprimido para o interior da célula de extração até a pressão programada no experimento. A célula estava acoplada dentro do forno, com temperatura controlada. O solvente fluido percorreu toda a matéria-prima (amostra) e extraiu os compostos solúveis, atingindo ao fim a válvula de expansão (micrométrica) onde a pressão foi reduzida até a ambiente e o solvente voltou a fase gasosa. Os compostos solúveis no solvente fluido precipitaram no vaso coletor e o solvente na fase gasosa passou pelo rotâmetro.


As condições para o processo de extração supercrítica foram: Temperatura de 50°C, Pressão de 350 bar, vazão de saída de CO<sub>2</sub> de 5L/min, durante 2h e 30min e com a presença de 1,6% de co-solvente (etanol) em relação a massa de CO<sub>2</sub>.

O preparo do leito de extração seguiu a seguinte metodologia: em uma das extremidades da célula de extração fechada, foi depositada uma camada de lã de vidro em sua base, acrescentando-se aos poucos a matéria-prima moída e empacotando-a com o auxílio de um bastão cilíndrico, para evitar a formação de caminhos preferenciais, e, posteriormente, depositou-se outra camada de lã de vidro por cima da amostra e fechou-se a célula. Como não houve matéria-prima suficiente para ocupar todo o volume da célula, usou-se pérolas de vidro (2mm de diâmetro) para preencher o espaço ocioso.

### **Obtenção do extratos etanólicos**

Os extratos etanólicos das própolis (verde e vermelha) foram preparados com a adição de 15mL de etanol (80%) a 2 gramas de própolis triturada e homogeneizada. A extração se deu a 70°C durante 30 minutos sob agitação constante na Incubadora Shaker (MA 420/MARCONI) em uma rotação de 710 rpm. Após esta etapa, transferiu-se toda a mistura para um tubo de Falcon, acoplou-se o tubo na centrifuga, onde o mesmo foi rotacionado à 8800G por 11 minutos a temperatura de 5°C. Ao final da centrifugação, o sobrenadante foi transferido para béquero de 50mL e ao resíduo do tubo, foi adicionado 10mL de etanol (80%), onde repetiu-se a centrifugação. Os sobrenadantes foram homogeneizados e acondicionados a 50°C até completa secagem e, posteriormente, armazenados a 5°C<sup>[5]</sup>.

### **Determinação dos compostos Fenólicos Totais.**



O teor de fenólicos totais foi determinado usando o reagente de Folin-Ciocalteu<sup>[10]</sup>. Preparou-se a reação contendo uma alíquota de 0,5 ml do extrato etanólico de própolis (dissolvidos em etanol, a fim de se obter uma concentração de 400 µg/mL), 2,5mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0mL de carbonato de sódio 7,5%. A mistura foi mantida em banho-maria a 50°C durante 5 minutos e então realizada a leitura por espectrofotometria a uma absorvância de 765nm. Para a quantificação dos fenólicos totais foi elaborada uma curva padrão através da preparação de soluções conhecidas do padrão ácido gálico e a quantidade de fenólicos totais foi expressa como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico em g de extrato).

### **Determinação do teor de Flavonoides Totais**

A metodologia para determinação de flavonoides baseia-se na formação de complexos estáveis entre o cátion alumínio com os flavonoides em meio metanólico. A formação do complexo promove um desvio para maiores comprimentos de onda (efeito batocrômico) e uma intensificação da absorção na análise espectrofotométrica. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonoides nos tecidos vegetais. A leitura é feita em espectrofotômetro a 415nm, utilizando-se cloreto de alumínio a 2% em metanol<sup>[2]</sup> numa solução 1:1 (extrato:cloreto de alumínio). O mesmo procedimento foi realizado utilizando soluções conhecidas do padrão quercetina para a elaboração de uma curva padrão e a quantidade de flavonoides totais foi expressa como equivalentes de quercetina (mg de quercetina em g de extrato).

### **Determinação da capacidade anti-radical (DPPH)**

A atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH (também chamado de capacidade de sequestrar o radical DPPH), utilizando-se o reativo 1,1-diphenil-2-picrilhidrazil, usado como radical livre para reagir com os compostos antioxidantes presentes no extrato de própolis<sup>[11]</sup>. Foram preparadas 5 diluições (20 a 400µg/mL) do extrato etanólico e supercrítico, em triplicata. Transferiu-se uma alíquota de 1mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,0mL da solução etanólica e aquosa do radical DPPH (0,004%). Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, a redução do radical livre DPPH foi mensurada pela leitura da absorvância em 517nm. O mesmo procedimento foi adotado com etanol no lugar da amostra, sendo considerado como branco. A capacidade de sequestrar radical livre foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme a Equação 01.

Equação 01

$$\% \text{ sequestro} = 100 - [(absorbância \text{ final da amostra} * 100) / absorbância \text{ branco}]$$

O valor de CE<sub>50</sub> foi calculado através da equação da reta feita com base nas concentrações dos extratos e suas respectivas porcentagens de sequestro do radical DPPH.

### **Determinação da Capacidade Antimicrobiana**

A atividade antimicrobiana foi feita por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) com base no documento CLSI/NCCLS M7-A6<sup>[12]</sup>. As cepas



utilizadas foram de *Staphylococcus aureus* ATCC 33951 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Foram removidas biomassas com auxílio de alças descartáveis estéreis e suspensas em solução de NaCl 0,89% estéril, homogeneizando as suspensões microbianas até obter turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de Mac Farland, que equivale a concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL. Um volume de 30µL das suspensões foram inoculadas em 30mL do meio BHI, de modo a se obter uma concentração em torno de  $1-2 \times 10^5$  UFC/mL.

Na determinação da CIM, foi feita distribuição de 200µL de Caldo BHI em placa de 96 poços, a seguir, 200µL dos extratos a  $3200\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  foram acrescentados ao primeiro poço e, após homogeneização, transferiu-se para o segundo e assim sucessivamente, obtendo-se concentrações que vão variaram de 1600-3,1  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Como controle positivo foi utilizado a Amoxicilina 0,12% (m/v) e como controle negativo foi aplicado o solvente utilizado para solubilizar cada extrato de própolis. As placas foram incubadas a 37°C/24h. Após a incubação, foram adicionados 30µL do corante Resazurina (0,01%; m/v) para se verificar em quais poços houve crescimento microbiano. Nos poços em que não houve mudança na cor do corante, ou seja, permaneceu roxo foi considerada a ausência de microrganismos viáveis. Os resultados foram analisados visualmente, onde qualquer evidência na mudança da coloração foi considerada crescimento microbiano. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### Análise Estatística

Os resultados encontrados foram tratados pelo Teste de Tukey para identificar se as alterações nos parâmetros avaliados foram significativas ao nível de 95% de significância.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização da própolis bruta

Na Tabela 1 são apresentados os resultados para a composição centesimal, ou seja, o teor de umidade, cinzas, proteína bruta, lipídeos, atividade de água (aw) e fibras das amostras de própolis bruta oriundas de diferentes regiões geográficas, enquanto que, na Tabela 2, apresenta-se a quantificação de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li) e cálcio (Ca) para cada amostra analisada.

**Tabela 1.** Resultados da composição centesimal da própolis vermelha e verde (Média  $\pm$  desvio padrão)

Própolis	Parâmetros Físico-químicos (%)					
	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídios	aw	Fibras
Vermelha	7,025 $\pm$ 0,421 <sup>a</sup>	0,958 $\pm$ 0,039 <sup>a</sup>	2,304 $\pm$ 1,005 <sup>a</sup>	8,263 $\pm$ 0,011 <sup>a</sup>	0,787 $\pm$ 0,009 <sup>b</sup>	7,663 $\pm$ 0,907 <sup>a</sup>
Verde	11,455 $\pm$ 0,431 <sup>b</sup>	3,049 $\pm$ 0,037 <sup>b</sup>	9,980 $\pm$ 0,837 <sup>b</sup>	4,462 $\pm$ 0,237 <sup>b</sup>	0,704 $\pm$ 0,008 <sup>a</sup>	20,894 $\pm$ 2,394 <sup>b</sup>

Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) pelo Teste de Tukey a 95% de confiança.

Diante das informações apresentadas na Tabela 1, observa-se que a própolis verde, oriunda do Paraná, obteve maior porcentagem nas análises de umidade (11%), cinzas

(3%) e proteína (9,9%). Entretanto, a taxa percentual de umidade encontrada, não condiz com a fixada pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Própolis, normativa N°. 3 de 19 de janeiro de 2001 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento<sup>[13]</sup>, o qual estabelece uma percentagem máxima de 8% para umidade. A não conformidade físico-química pode ter ocorrido devido ao armazenamento em refrigeração ou devido à qualidade da própolis bruta.

A própolis vermelha apresentou o dobro de teor lipídico em comparação com a própolis verde. A de Alagoas (vermelha) possui quantidade significativa de óleos benéficos que baixam a pressão arterial e os níveis de colesterol no sangue<sup>[4]</sup>. Ainda na composição centesimal da própolis de Alagoas, nota-se a baixa quantidade de cinzas (0,95%).

A presença de fibras na composição das própolis também foi quantificada e os valores são apresentados na Tabela 1. As amostras avaliadas apresentaram diferenças significativas em relação ao teor de fibras. A variação no teor de fibras se deve principalmente a localização geográfica, sendo a vermelha, advinda dos manguezais nordestinos e a verde do Paraná (Alecrim do campo).

A padronização ou fixação de qualidade da própolis é de significativa importância, pois a mesma é comercializada em âmbito nacional e internacional. Sendo assim, estabelecer parâmetros de aceitação físico-química estreita a negociação deste produto.

A partir da análise de cinzas, realizou-se a análise de composição mineral das amostras, e os resultados encontrados estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Resultados para a composição mineral em relação aos teores de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li) e cálcio (Ca) (mg/Kg) das própolis vermelha e verde (Média  $\pm$  desvio padrão)

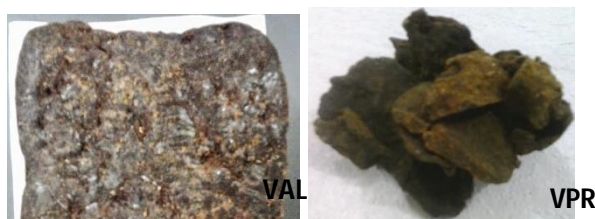
Composição em minerais (mg/Kg)				
Própolis	Na	K	Li	Ca
Vermelha	10,10 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>	28,70 $\pm$ 3,16 <sup>b</sup>	4,50 $\pm$ 0,64 <sup>b</sup>	40,10 $\pm$ 0,72 <sup>b</sup>
Verde	3,00 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	331,70 $\pm$ 35,81 <sup>c</sup>	1,80 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	9,00 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>

Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) pelo Teste de Tukey a 95% de confiança.

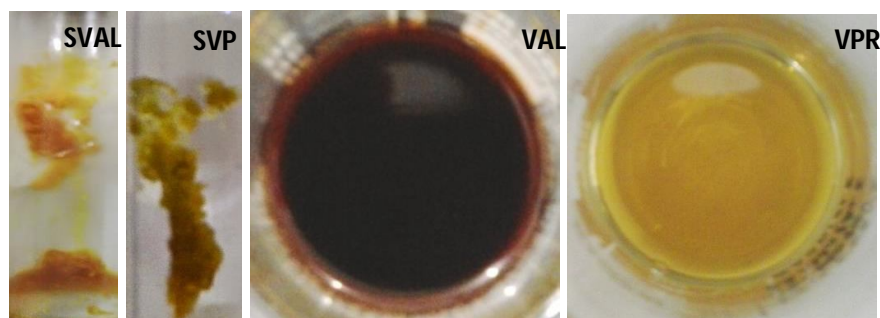
Nesta análise, foram quantificados quatro tipos de minerais: sódio (Na), potássio (K), lítio (Li) e cálcio (Ca). A própolis vermelha obteve a melhor quantidade de sódio e cálcio. Com relação ao mineral potássio a própolis verde teve maior significância deste mineral em sua composição. Entretanto, a menor quantidade de lítio e cálcio se deu também na própolis verde do Paraná, com resultados de 1,80 e 9,00 mg/Kg, respectivamente.

### Obtenção e caracterização dos extratos

As própolis em seu estado bruto e os extratos etanólico e supercríticos das própolis vermelha, e verde estão apresentados, respectivamente, nas Figuras 1 e 2.



**Figura 1.** Imagens ilustrativas de Própolis vermelha de Alagoas (VAL) e verde do Paraná (VPR) em estado bruto.



**Figura 2.** Extratos Supercríticos das própolis vermelha de Alagoas (SVAL) e verde do Paraná (SVPR) e extratos Etanólicos das própolis vermelha de Alagoas (VAL) e verde do Paraná (VPR).

A Tabela 3 apresenta os valores referentes à quantificação de compostos fenólicos, Flavonoides e atividade antioxidante (DPPH) nos diferentes extratos avaliados. Os compostos fenólicos são encontrados em quantidades variáveis na própolis e isso se deve principalmente pela grande influência do seu tipo e a sua localização geográfica<sup>[14]</sup>.


Valores próximos aos identificados para o extrato etanólico para compostos fenólicos de própolis vermelha foram encontrados por outros autores<sup>[14]</sup>. Em relação aos compostos fenólicos, dentre os valores encontrados nos extratos etanólico e supercrítico, os maiores foram nas própolis vermelha. De forma geral, a extração alcoólica se mostrou mais eficaz para a obtenção de compostos fenólicos das amostras.

**Tabela 3.** Resultados determinados para o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e DPPH nos diferentes extratos de própolis vermelha e verde.

Amostras	Extratos	Análises		
		Compostos Fenólicos (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	DPPH CE <sub>50</sub> (µg/mL)
Vermelha	Etanólico	198,076±0,005 <sup>a</sup>	58,187±0,008 <sup>a</sup>	44,294±0,234 <sup>a</sup>
	Supercrítico	41,978±0,011 <sup>b</sup>	40,648±0,016 <sup>b</sup>	183,111±0,313 <sup>b</sup>
Verde	Etanólico	149,249±0,008 <sup>c</sup>	39,900±0,007 <sup>c</sup>	157,389±0,268 <sup>c</sup>
	Supercrítico	22,1668±0,035 <sup>d</sup>	15,710±0,004 <sup>d</sup>	85,349±0,232 <sup>d</sup>

Valores que apresentam a mesma letra, numa mesma coluna, não apresentam diferenças significativas (p>0,05) pelo Teste de Tukey a 95% de confiança.

Em relação aos flavonoides, sua determinação é de extrema importância tendo em vista que o referido composto auxilia na absorção e ação de vitaminas no organismo, pois atua nos processos de cicatrização e atividade antimicrobiana<sup>[15]</sup>, sendo portanto de



extrema importância a sua identificação e quantificação em amostras de alimentos e extratos vegetais.

Com base nos dados, percebe-se que o extrato etanólico possui a maior quantidade de flavonoides em sua composição, sendo, portanto o método mais eficaz para a extração desses componentes em amostras de própolis. A própolis vermelha apresentou o maior teor de flavonoides, quando comparada com as amostras de própolis verde. Os dados apresentados são condizentes com o de outros trabalhos encontrados na literatura.

Outra determinação bastante importante em extratos de origem vegetal é a capacidade antioxidante apresentado pelo mesmo. O  $CE_{50}$  trata-se da Concentração Efetiva necessária para o antioxidante reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH<sup>[14]</sup>. A própolis vermelha de Alagoas, com o menor  $CE_{50}$  para o extrato etanólico, apresenta-se como a amostra com melhor capacidade antioxidante. As extrações aquosas e supercríticas se mostraram mais eficiente na própolis verde para a determinação da atividade antioxidante por DPPH.

A Tabela 4 apresenta as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) para as bactérias *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 33951. A *E. coli* é uma bactéria Gram negativa encontrada no sistema intestinal dos seres de sangue quente. Trata-se de um micro-organismo altamente adaptativo e sua habilidade em formar biofilmes pode ser fundamental na resistência a tratamentos com antimicrobianos. A avaliação da concentração mínima inibitória (CMI) vem sendo utilizada para verificar a sensibilidade dos micro-organismos aos antimicrobianos<sup>[15]</sup>. Já o *S. aureus*, é Gram positivo, pode ser encontrado nas fossas nasais e também na pele do ser humano; é responsável por uma ampla variedade de enfermidades infecciosas.


**Tabela 4.** Valores identificados para a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a *E. coli* e *S. aureus* nos diferentes extratos de própolis avaliados.

Amostras	Extratos	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 33951
Vermelha	Etanólico	800µg/mL	12,5µg/mL
	Supercrítico	1600µg/mL	12,5µg/mL
Verde	Etanólico	400µg/mL	50µg/mL
	Supercrítico	800µg/mL	50µg/mL

A partir dos resultados apresentados neste trabalho, e conforme já relatado na literatura, a composição química da própolis é bastante complexa e variada, estando intimamente relacionada com a ecologia da flora de cada região visitada pelas abelhas<sup>[5]</sup> e com o período de coleta da resina<sup>[18]</sup>, e diante disso justifica-se as diferenças significativas em relação aos compostos antioxidantes encontrados nas diferentes amostras estudadas, bem como, entre as mesmas amostras modificando o método de obtenção dos extratos. Deste modo, um número significativo de trabalhos com a química da própolis foi e está sendo desenvolvido para entender que sua composição varia grandemente e depende da flora local e da região de coleta<sup>[19] [20] [21]</sup>.

#### 4. CONCLUSÃO





As própolis e seus extratos foram analisados conforme as metodologias descritas. O extrato etanólico teve rendimento satisfatório, acima de 50%. Os resultados foram de encontro com outros autores, com exceção da quantidade os valores de umidade da própolis verde. Em suma, o melhor resultado veio da própolis vermelhas de Alagoas.

## REFERÊNCIAS

<sup>1</sup>SILVA, K. B. da; RODRIGUES, K. C.; TRINDADE, J. L.F. da. Própolis, sua composição e benefícios. V. 2, n. 12, **2008**.

<sup>2</sup>MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G. & SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. Mensagem doce, v. 46, p. 3-8, **1998**.

<sup>3</sup>**Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*:** OLDONI, T. L. C.. Dissertação de Mestrado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2007.

<sup>4</sup>LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. N. N.; RANDAU, K. P.; NETO, P. J. R.. Própolis: atualização sobre a química e a Farmacologia. Revista Brasileira de Farmacologia, v. 18, n. 3, p. 447-454, **2008**.

<sup>5</sup>PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINI, A. R. P.; AGUIAR, C. L.. Própolis Produzida no Sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. Ciência Rural, v. 32, n. 6, p. 997-1003, **2002**.

<sup>6</sup>MACHADO, B. A. S.; NUNES, L. S. C.; NUNES, S. B.; GUEZ, M. A. U.; PADILHA, F. F.. Estudo prospectivo da própolis e tecnologias *Nunes* correlatadas sob o enfoque em documentos de patentes depositados no Brasil. Geintec – Gestão, Inovação e Tecnologias, v. 2, n. 3, p. 221-222, **2012**.

<sup>7</sup>MAUL, Aldo Adolar; WASICKY, Roberto and BACCHI, Elfriede Marianne. Extração por fluido supercrítico. Revista Brasileira de Farmacologia. v. 5, n.2, p. 185-200, **1996**.

<sup>8</sup>ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16nd ed. Arlington, **1997**.

<sup>9</sup>BLIGHT, E. G.; DYER W. J.. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Canadian Journal of Biochemistry, v.31, p. 911-917, **1959**.

<sup>10</sup>SINGLETON, V. L. & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, v.16, p. 144-158, **1965**.

<sup>11</sup>BRAND W. W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v. 28, p. 25-30, **1995**.

<sup>12</sup> NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standard, **1997**.

<sup>13</sup>BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa Nº 03, 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**.

<sup>14</sup>CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M. de. Composição Fenólica, Atividade Antibacteriana e Antioxidante da Própolis Vermelha Brasileira. Química Nova, v. 32, n. 6p. 152-1527, **2009**.

<sup>15</sup>OLIVEIRA, K. A. de M.; OLIVEIRA, G. V.; BATALINI, C.; ROSALEM, J. A.; RIBEIRO, L. S.. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fénois Totais em diferentes extratos de própolis. Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde Humana, v. 33, n. 2, p. 211-222, **2012**.

<sup>16</sup>**Avaliação da Toxicidade Oral Aguda e das Atividades Diuréticas e Antioxidante, da *Rudgea viburnoides* (CHAM.) BENTH (Congonhas-de-Bugre):** PUCCI, L. L.; Dissertação de Mestrado – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, 2009.

<sup>17</sup>COSTA, J.C.M.; ESPESCHIT, I.F.; PIERI, F.A.; CARVALHO, I.A.; MOREIRA, M.A.S.. Perfil de Sensibilidade de Células Sésseis e Planctônicas de *Escherichia coli* a Antimicrobianos Usados no Tratamento de Mastite Bovina. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia; 66(1):29-136, fev. **2014**.

<sup>18</sup>ROCHA, L; DOS SANTOS, L.R.; ARCENIO, F; CARVALHO, E.S.; LÚCIO, E.M.R.A.; ARAÚJO, G.L.; TEIXEIRA, L.A.; SHARAPIN, N.. **2003**. Otimização do Processo de Extração de Própolis através da Verificação da Atividade Antimicrobiana. Rev Bras Farmacogn 13: 71-74.

<sup>19</sup>MOREIRA, T.F.. **1986**. Composição Química da Própolis: Vitaminas e aminoácidos. Rev Bras Farmacogn 1: 12-19.

<sup>20</sup>BANKOVA, V. **2005a**. Chemical Diversity of Propolis and the Problem of Standardization. J Ethnopharmacol 100:114-117.

<sup>21</sup>SOUSA, J.P.B.; FURTADO, N.A.J.C.; JORGE, R.; SOARES, A.E.E.; BASTOS, J.K.. **2007**. Perfis Físico-Químico e Cromatográfico de Amostras de Própolis Produzidas nas Microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. Rev Bras Farmacogn 17: 85-93.